

Actualité sur la peste

Dr Boutiba Ben Boubaker I.
Laboratoire de Microbiologie
EPS Charles Nicolle
Collège des Maladies Infectieuses, Microbiologie et Parasitologie et Mycologie
Tunis, 27-05-2010

La peste

- Maladie infectieuse spontanément mortelle



Découverte en 1894 à Hong Kong
Alexandre YERSIN
1863 - 1943

- *Yersinia pestis*:

- Bactérie rapidement évolutive, qui a récemment acquis résistance aux antibiotiques

⇒ Classée parmi les **agents de bioterrorisme de groupe A** (par les Centers for Diseases Control and Prevention)

Tableau 1 : Agents de bioterrorisme de la « Catégorie A »⁴

Variole	Fièvre suivie d'une éruption cutanée : maculeuse, vésiculaire
Anthrax	Fièvre, lymphadénopathie médiastinale, épanchements pleuraux ; escarres indolores entourées d'un œdème marqué
Peste	Fièvre, pneumonie
FHV (la fièvre ebola, la maladie de Marburg et la fièvre de Lassa)	Fièvre, syndrome du sepsis, insuffisance multiviscérale
Toxine botulique	Diplopie, dysphagie, faiblesse, paralysie respiratoire
Gaz inervant : Inhibiteurs de la cholinestérase (sarin)	Sécrétions respiratoires importantes, sueurs, bronchospasme, micropupilles, bradycardie/ tachycardie, collapsus cardio-respiratoire

FHV = fièvres hémorragiques virales

La peste

- **Zoonose** dont la chaîne épidémiologique fait intervenir:
 - Rongeurs sauvages
 - Rongeurs anthropophiles
 - Leurs puces
- **Maladie épidémique** ↪ forte mortalité depuis 2 millénaires
- **Fléau historique:** Depuis le début de l'ère chrétienne
 - ↪ Trois grandes pandémies

La première pandémie: 541-767 après J.-C Peste de Justinien



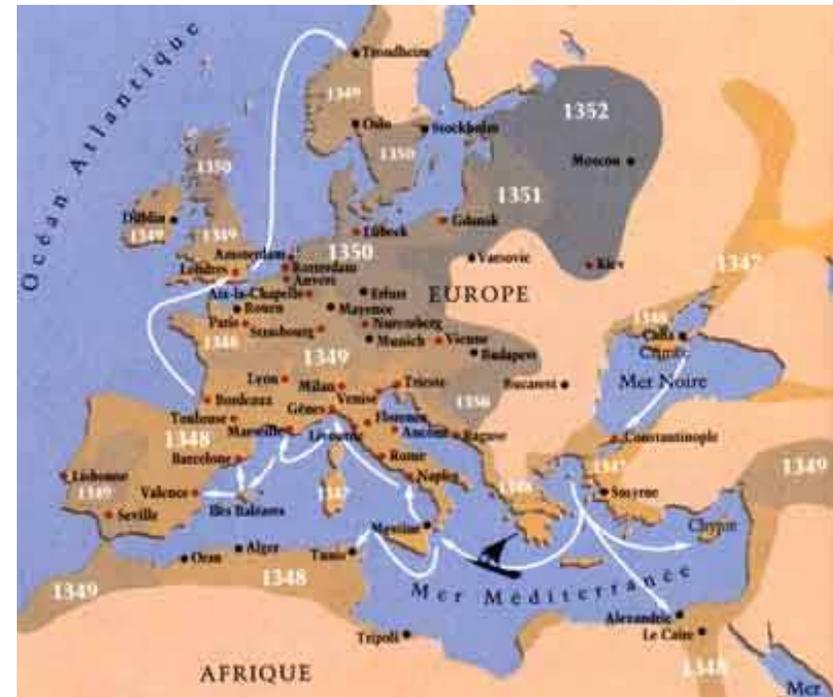
Aurait diffusé à partir de l'Égypte tout autour du bassin méditerranéen
↳ Tuant des dizaines de millions d'êtres humains

Seconde pandémie

Peste médiévale / Peste noire

Fin de la première moitié du XIV^{ème} siècle → 1^{ère} moitié du XIX^{ème} siècle

- Des bords de la mer Noire
⇒ envahi toute l'Europe en 5 ans
- Première vague de cette pandémie
⇒ emporté près de 25 millions d'êtres humains (1/4 population européenne)
- Ré-émergeait à intervalles plus ou moins réguliers
- Régressé à la fin du Moyen-âge



Troisième pandémie

Fin du XIX^{ème} siècle en Chine

- En raison du développement des moyens de communication (bateaux à vapeur) → se répandit dans le **monde entier**, atteignant pour la première fois les continents jusqu'alors épargnés: l'Amérique et l'Australie

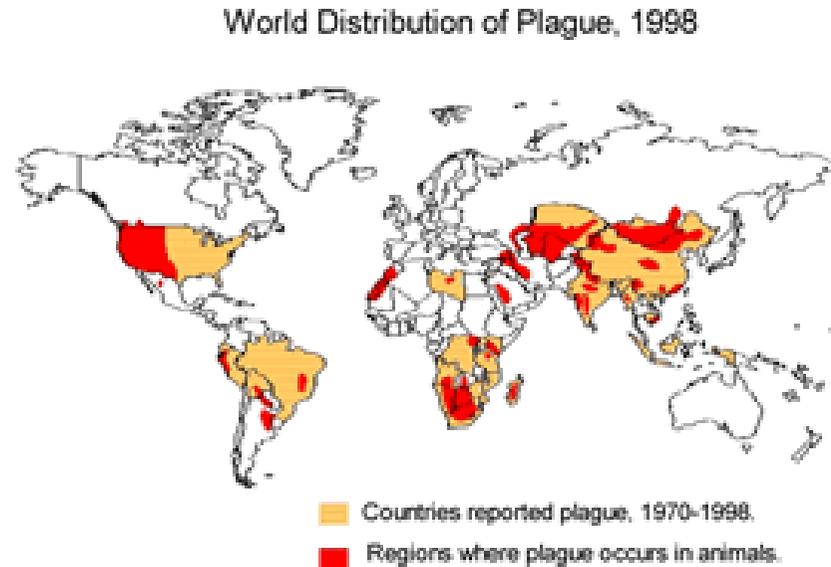


Situation actuelle de la peste dans le monde

- **Début du XX^{ème} siècle ⇒ Déclin de la peste**
- **Persistance de foyers endémiques**
- **Ré-émergence récente de la peste**

Persistance de foyers endémiques

Peste n'a pas été éradiquée et ne le sera probablement jamais
Réservoir s'étend sur de vastes territoires



- Près de 44 000 cas humains ont été déclarés à l'OMS par 26 pays au cours des vingt dernières années. Ce nombre est probablement fortement **sous-estimé**
- Les pays déclarant le plus de cas humains:
 - en **Afrique subsaharienne** (Madagascar, Congo et Tanzanie)
 - Viennent ensuite **l'Asie du Sud-est** (Vietnam, Chine), **l'Asie centrale** (Mongolie, Kazakhstan, Inde), et les **deux sous-continent américains**

- Recrudescence significative des cas humains observée depuis une quinzaine d'années a justifié son inclusion dans la liste des **maladies ré-émergentes**
- En République démocratique du Congo par exemple, trois épidémies meurtrières de peste pulmonaire entre 2005 et 2006, totalisant plus de 2 000 cas
- En Europe, aucun cas de peste n'a été signalé récemment

Ré-émergence récente de la peste

Pays	Derniers cas	Nouvelle épidémie	Durée de silence
Mahajanga (Madagascar)	1928	1991	63 ans
Inde	1964	1994	30 ans
Mozambique	1978	1994	16 ans
Zambie	1954	1997	43 ans
Jordanie	≈1915	1997	>80 ans
Algérie	1946	2003	57 ans
Lybie	1984	2009	25 ans

Pouvoir pathogène

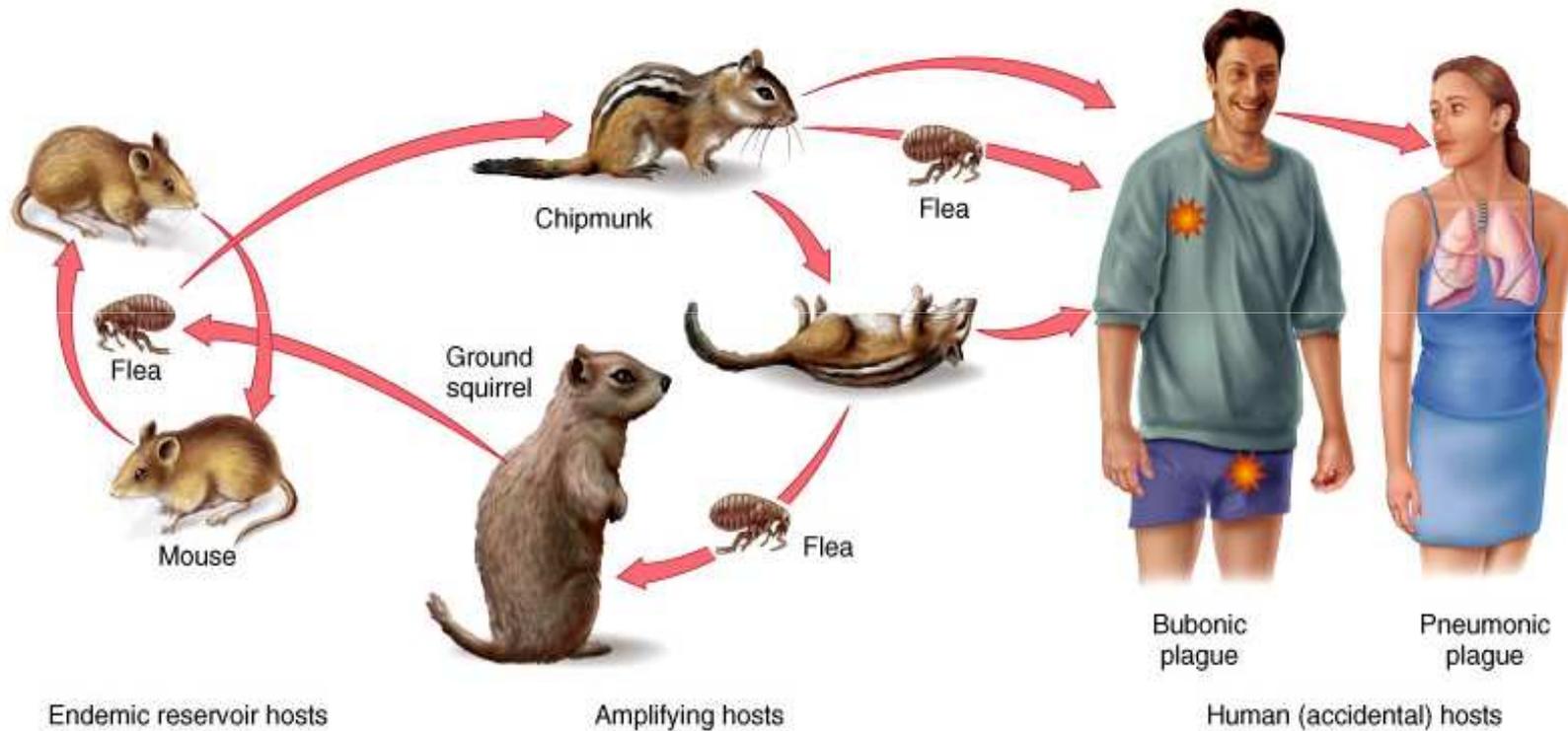
- **Maladie des rongeurs** qui est **transmissible à l'homme** par l'intermédiaire de **puces**
- **Sa symptomatologie chez l'homme**, décrite avec précision par Procope de Césarée durant l'épidémie de Constantinople en 543, **peut revêtir deux aspects majeurs**:
 - **Peste bubonique** (puce):
 - Bubon: adénopathie inguinale++ ou axillaire
 - Bactériémie → foyer pulmonaire
 - Syndrome infectieux sévère
 - **Peste pulmonaire** (la plus grave)
 - Transmission inter-humaine
 - Rapidement mortelle



Épidémiologie

- ***Y. pestis*** : habituellement transmis de rongeur à rongeur ou de rongeur à l'homme par piquûre de **puce**
- Schématiquement, l'épidémiologie de la peste peut se décomposer en **trois cycles** :

1/ Peste sauvage sévit chez les **rongeurs sauvages** (écureuils, marmottes, mérions, gerbilles, chiens de prairies ...) et sa transmission se fait lors de rencontres entre rongeurs, par échanges de puces; l'**atteinte de l'homme** est **exceptionnelle**



2/ Peste rurale passe des rongeurs sauvages aux rats de village

3/ Peste urbaine, importée en ville à partir d'un foyer rural, se propage rapidement de rat à rat.

Institut Pasteur, The American Journal of Tropical Medicine and Hygiène, juin 2009

Une étude (République démocratique du Congo)



qu'à côté du rat, le **poulet et le chat**
peuvent être des **réservoirs potentiels**
dans cette région récemment victime d'une
nouvelle épidémie

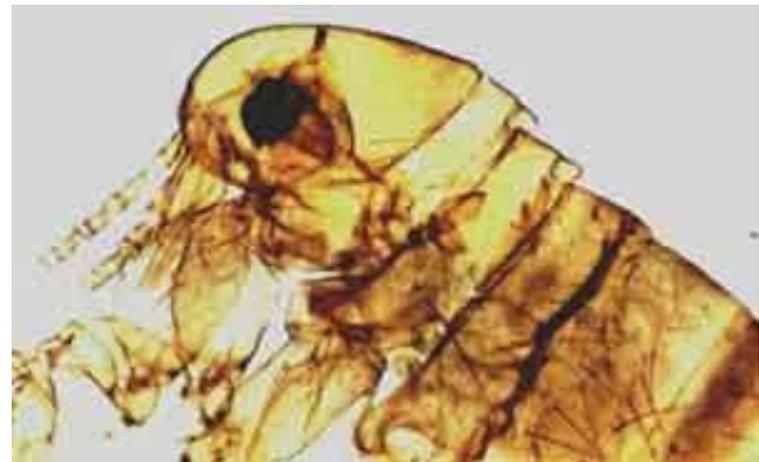
Insectes vecteurs: Puces

Chaque espèce d'insecte parasite a un hôte défini:

Xenopsylla cheopis = **puce**
spécifique du rat, mais peut
accidentellement piquer l'homme

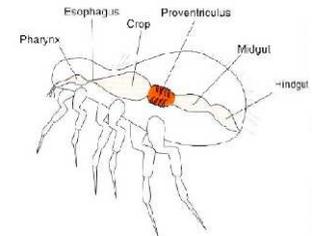


La maladie peut ensuite être
transmise d'homme à homme par la
puce de l'homme, *Pulex irritans*: un
vecteur moins efficace que la puce
du rat pour transmettre la maladie à
l'homme





- **Après piquêre d'un hôte** présentant une septicémie, la puce héberge le bacille de la peste dans son tube digestif
- Les bactéries se multiplient dans le proventricule (dilatation située entre l'oesophage et l'estomac)
- Formation d'un **biofilm +++**:
 - Fixation de *Y pestis*: œsophage, proventricule et estomac de la puce
 - Echappement à la phagocytose → maintient d'une infection chronique
- Obstruction proventricule → **blocage** (le plus souvent partiel): affame la puce et l'oblige à piquer son hôte maintes fois



- **Lors d'une nouvelle piqûre :**
la puce aspire du sang → proventricule (au contact du bouchon bactérien) → empêche le passage du sang dans l'estomac → la puce régurgite dans la plaie le sang souillé → inoculant le bacille de la peste à son hôte
- De plus en plus affamée, **la puce passe de rongeur à rongeur, piquant sans pour autant se nourrir**, jusqu'à ce qu'elle meurt d'inanition
- Les rongeurs peuvent aussi contracter la peste en mangeant le cadavre de leurs congénères infectés (dose bactérienne infectante par voie orale est 1000 à 10 000 x plus élevée que par voie sous-cutanée)
- Les bactéries pourraient être aussi inhalées par les rongeurs lors du fouissage de la terre

- Rongeurs résistants maintiennent la peste à l'état endémique dans la nature
- Par ailleurs, ***Y. pestis* peut persister pendant plusieurs années dans le sol**, dans des conditions climatiques hostiles, sans perdre pour autant sa virulence
- ↪ **Recontaminer** les rongeurs sauvages fouisseurs, des années après la disparition de la maladie chez les animaux décimés



Terrier

- Impossible d'éradiquer *Y. pestis* de l'environnement
- Seule une **surveillance rigoureuse** du réservoir animal (mesure de lutte antipesteuse impérative en **zone endémique**)

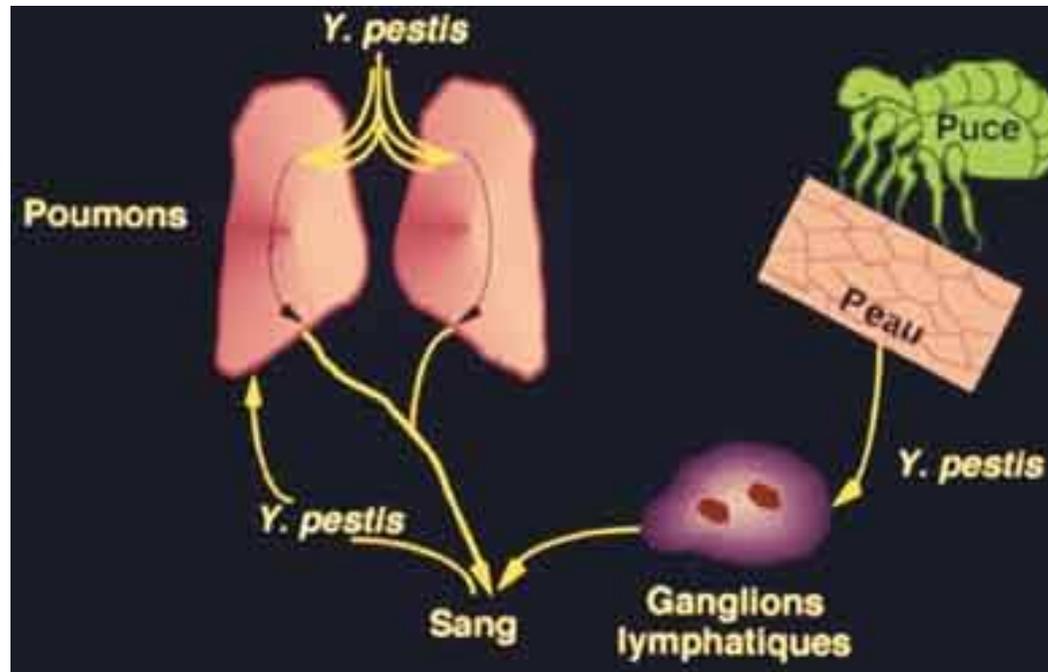


Interdiction routière

Physiopathologie et facteurs de virulence

4- Si l'hôte survit → **foyers infectieux** dans la rate, le foie, les reins, le cerveau et les **poumons** → **Peste pulmonaire** → lésions de pneumonie nécrosante et hémorragique → dissémination sanguine précoce

3- Dissémination sanguine précoce
+ état de **choc** et CIVD



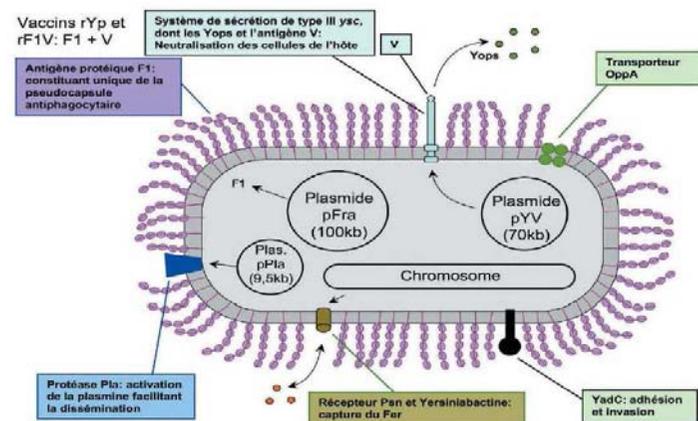
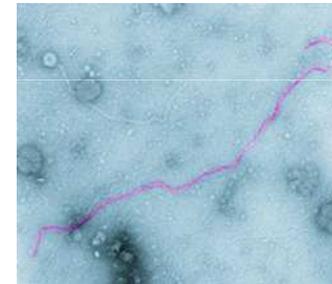
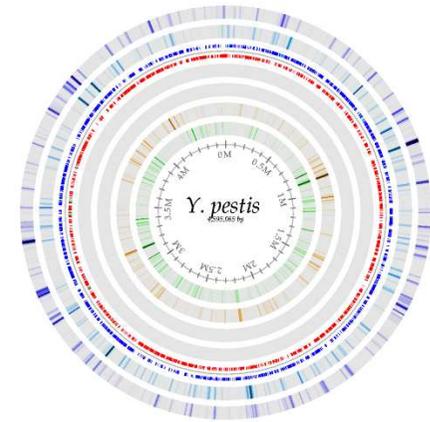
1- Inoculation voie transcutanée

- Rongeurs sensibles (souris, cobaye) et homme: 1-10 bactéries
- Rongeurs résistants (rat): 10^6 bactéries

2- multiplication bactérienne au point d'inoculation → **nécrose** tissulaire → **bubon** (gg lymphatiques hypertrophiés et nécrosés)
Sidération des défenses immunitaires → Faible intensité RI +++

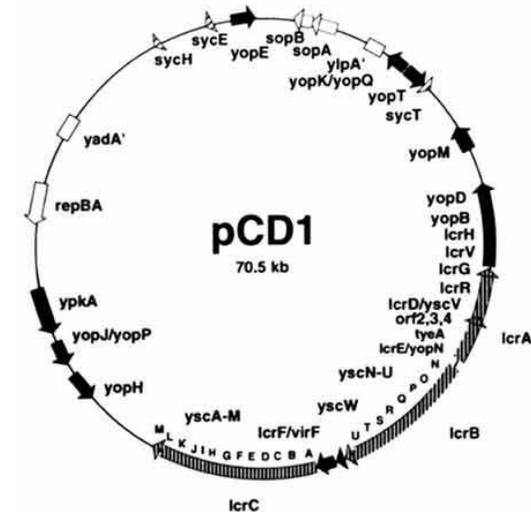
Mécanismes moléculaires de la peste

- *Y. pestis* apparue il y a 20 000 ans à partir de *Y. pseudotuberculosis* (75% de gènes orthologues présentant plus de 97% d'identité)
- Génome entièrement séquencé → 4,6 Mb comportant:
 - **Gènes chromosomiques:**
 - des pseudogènes traçant un mode de vie entéropathogène
 - des évidences de recombinaison intragénomiques, de transfert latéral de facteurs de virulence
 - de nombreuses séquences d'insertion (IS100, IS285, IS1541)
 - des gènes d'origine phagique: "Ypf" (*Y. pestis* filamentous phage) dont l'absence → perte d'une partie de sa pathogénicité
 - des îlots de haute pathogénicité
 - **3 plasmides +++**

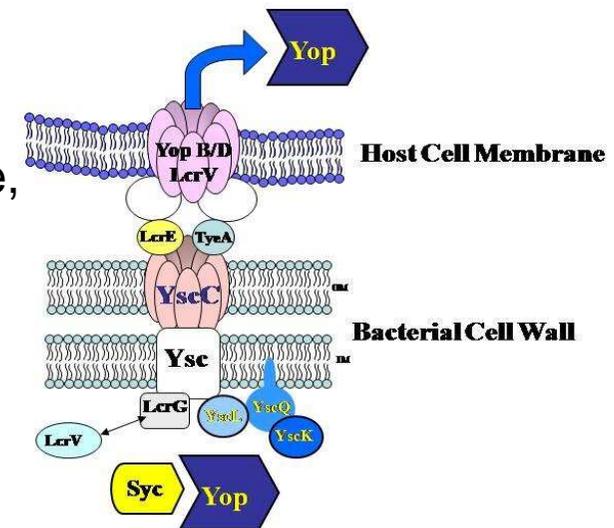


Plasmide pCD (Calcium-Dependency)

- Comporte 35 gènes contigus codant un appareillage de sécrétion-translocation et son système de régulation, flanqué de gènes spécifiant des protéines effectrices appelées **Yop** (Yersinia outer proteins) ainsi que leurs chaperons



- Injectées dans le cytoplasme des cellules de l'hôte, les Yop permettent aux bactéries de:
 - rester extracellulaires
 - échapper à la phagocytose



Graphical representation of the Type III secretion mechanism of *Yersinia pestis*

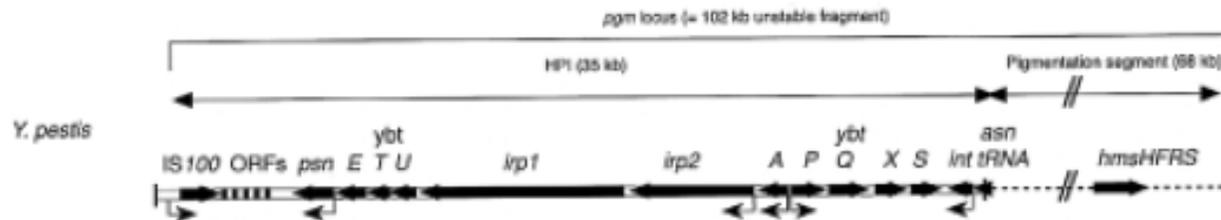
Plasmide pPCP

- Présent en près d'une centaine de copies par cellule
- Code
 - une coagulase → formation de microthrombi
 - **Fibrinolysine: gène *pla* (*plasminogen activator*)**
 - Dissémination des bactéries à partir du site d'inoculation
 - Perte de ce plasmide ou l'inactivation de *pla* → Forte baisse de la virulence des bactéries inoculées à l'animal de laboratoire par voie sous-cutanée, alors que la virulence reste identique par voie veineuse: les puces ne s'infectant par *Y. pestis* que lors des repas sanguins, pPCP contribue à la transmission inter-individuelle de la peste

Plasmide pMT (Murine Toxin)

- Code une **capsule** de nature glycoprotéique (Fraction 1 ou antigène F1)
- **Constituant de surface** permet aux microorganismes de résister à la phagocytose en inhibant leur opsonisation
- Par ailleurs, pMT porte un gène (*ymt*) spécifiant une **phospholipase** (anciennement appelée la toxine murine) qui permet au bacille de la peste de coloniser **le tube digestif de la puce**

Îlot de haute pathogénicité/ IHP



- Grand fragment d'ADN chromosomique: 35 à 45 Kb
- CG% différent du reste du chromosome → origine différente (transfert horizontal)
- Nombreux gènes de virulence → **système de yersinobactine** → captation de fer
- Nombreuses SI et gènes d'origine phagique
- Gènes codant le système Hms → fixation hème → intervient dans la formation de biofilm → blocage chez puce (non indispensable chez les mammifères)

Diagnostic de laboratoire

Le diagnostic de peste doit être évoqué en cas:

- D'adénopathie tendue et douloureuse chez un patient fébrile, prostré, qui a été exposé à des rongeurs
- Pour formes septicémiques et pulmonaires, qui ne présentent aucune particularité clinique les différenciant d'une autre étiologie, la notion **d'exposition à des rongeurs ou à un chat** est capitale
- **Diagnostic rapide** = élément clef

Prélèvements

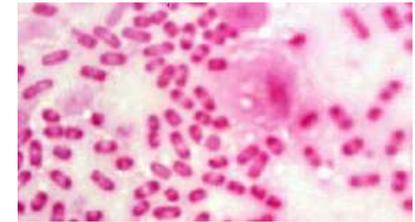
Le diagnostic de la maladie chez l'homme ne peut être affirmé que par l'isolement de *Y. pestis* à partir du produit de **ponction ganglionnaire** (peste bubonique), d'**expectorations** (peste pulmonaire) ou du **sang** (les deux formes de peste).

NB: Bien **préciser la recherche** de *Y pestis* sur le bon de laboratoire

- **ATTENTION: Agent de la classe biologique 3** → manipulé en laboratoire de sécurité P3.
- **AGENT POSSIBLE DE BIOTERRORISME**



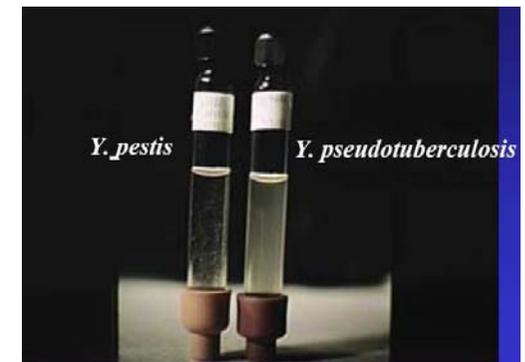
Examen microscopique direct et culture



- Coloration de Gram
→ leucocytes altérés et des BGN à coloration bipolaire
- Culture sur:
 - Gélose au sang 5%,
 - Bouillon cœur cerveau
 - Ainsi que sur milieux sélectifs Mac Conckey et Cefsulodine-Irgasan-Novobiocine CIN



Incubés à 28°C pendant 72 heures



BCC limpide
+ dépôts floconneux

Identification

- **Phénotypique:** Pb diagnostic différentiel avec *Y pseudotuberculosis*
- **Moléculaire:** étude de la séquence *rpoB* (spécifique de l'une des sous unités de l'ARN polymérase) car les 2 espèces ont la même séquence ARNr 16S

Typage

Nécessaire, en raison de son potentiel épidémique et possibilité de son utilisation comme arme de bioterrorisme

- **Biotypage:** aptitude à fermenter le glycérol et à réduire les nitrates en nitrites → 3 biovars:
 - Antiqua (G+N+): Afrique et Asie Centrale
 - Medievalis (G+N-): pourtour de la mer Caspienne
 - Orientalis (G-N-): Asie, Afrique et Amérique, plus communément isolé → génotypage +++
- **Génotypage:** Etude du polymorphisme et de la distribution des IS (100, 285 et 1541) = meilleure approche

Autres méthodes de diagnostic direct

- **Test de Dg rapide +++:**

Immuno-chromatographie sur bandelette développée par l'Institut Pasteur à Paris et l'Institut Pasteur de Madagascar

(S. Chanteau et al., *Lancet*, 2003)

- Détecte l'Ag F1 de *Y. pestis* en 15'
- VPP = 90,6 ; VPN = 86,7



Depuis 2006 → OMS:

Dans une région d'endémie, lorsque aucun autre test de confirmation ne peut être pratiqué, la détection de l'antigène F1 par ce test rapide ↪ Confirmer un cas de peste

- **PCR multiplex** (*pla*, *ARNr16S*, *ymt* et *caf*)

- **PCR en temps réel** (détectant les mêmes gènes)

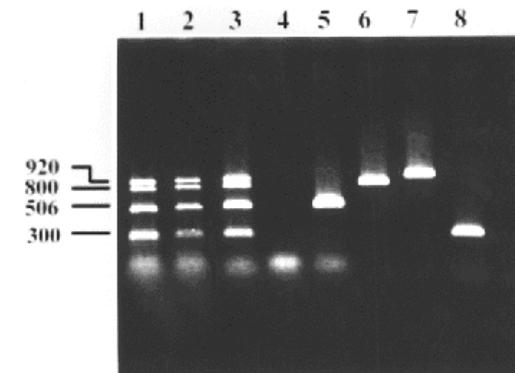
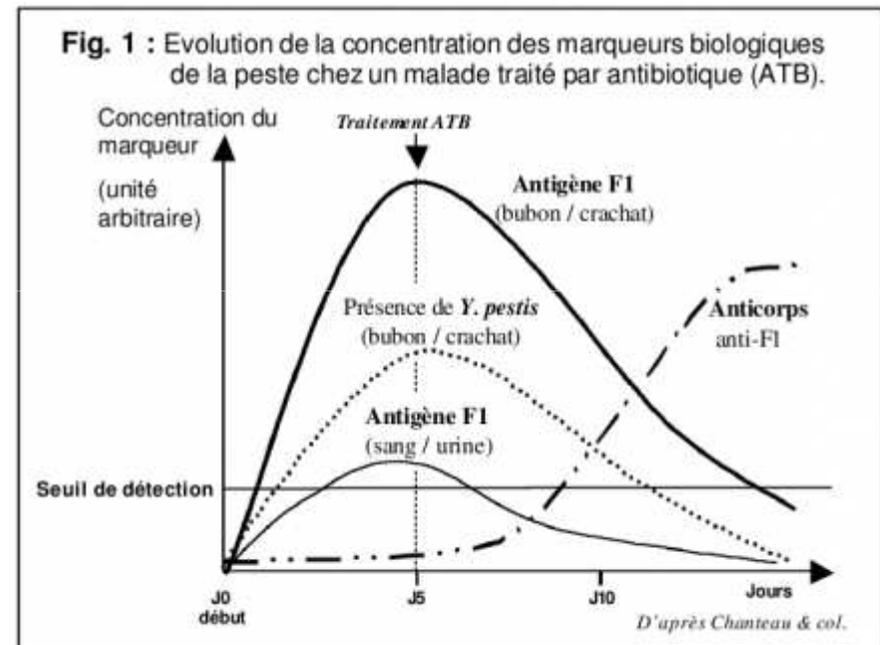


Fig. 2 - Products of amplification of the multiplex-PCR assay. Lines, 1: Processed blood culture; 2: Culture of P. CE 882 strain; 3: Purified DNA from P. CE 882 strain; 4: negative control (without DNA); 5-8: Amplifications from the processed blood culture with individual primers directed at the genes *cafI*, *icrV*, *pla* and *iyp2* respectively.

Diagnostic indirect

- **Diagnostic sérologique:** par technique ELISA pour la détection d'anticorps anti-F1
 - Cependant, très faible VPP pour les patients hors zone d'endémie
 - Un résultat positif doit être confirmé par Western-blot



Traitement

- Antibiotique recommandé = streptomycine [3g/24 h en 2 injections I.M. ou en perfusion I.V. pendant les 3 premiers jours, puis 2 g/24 h les 7 jours]
avec hospitalisation et isolement strict des malades
- Alternative : doxycycline ou les fluoroquinolones
- Le traitement doit être précoce +++:
 - si délai < 72 h en cas de peste bubonique → guérison 100% des cas
 - si délai < 24 h en cas de peste pulmonaire → guérison 90% des cas

Problème émergence de résistances

- En 1997, à l'Institut Pasteur de Madagascar:
- Sur 447 souches testées :
 - 17 résistances intermédiaires à la tétracycline
 - 19 résistances intermédiaire au chloramphénicol
 - 2 multirésistantes à plusieurs antibiotiques !!!

TABLE 2. MINIMAL INHIBITORY CONCENTRATIONS OF VARIOUS ANTIBIOTICS AGAINST THE BACTERIAL STRAINS STUDIED.

STRAIN	MINIMAL INHIBITORY CONCENTRATION								
	AMPICILLIN	CHLORAMPHENICOL	EANAMYCIN	STREPTOMYCIN	SPECTINOMYCIN	TETRACYCLINE	MINOCYCLINE	SULFONAMIDE	TRIMETHOPRIM
	milligrams per liter								
<i>Y. pestis</i>									
17/95	2048	128	2048	>2048	2048	1024	512	1024	1
17/95-1	1	4	1	4	4	8	4	8	0.5
6/69cN	1	4	1	4	4	8	4	8	1
6/69cNR	2048	256	2048	>2048	2048	1024	512	1024	1
<i>E. coli</i>									
K802N	8	8	1	4	4	8	4	8	1
BM4354	1024	1024	1024	256	256	256	32	2048	1

Pb: R portée par plasmide transférable par conjugaison

Prévention

- Déclaration obligatoire et immédiate d'un cas suspect et sa confirmation biologique
- Chimio prophylaxie des sujets contacts (obligatoire en cas de peste pulmonaire)
- Lutte anti-réservoir et la lutte anti-vectorielle combinée

Vaccination

- Largement utilisée autrefois (1932) contre la peste (souche EV de Girard et Robic): clone de virulence atténuée par perte de IHP obtenu par repiquages séquentiels
→ abandonnée depuis 1999
- De nouveaux vaccins sont à l'étude:
 - Vaccins acellulaires constitués de protéines recombinantes purifiées:
 - Les antigènes ciblés: **F1** et **LcrV**
 - L'efficacité de ces vaccins a été validée sur des primates et leur évaluation chez l'homme (phase II)
 - D'autres approches vaccinales utilisant des souches vivantes avirulentes sont en cours d'étude
 - par délétion de gènes tels que *dam*, *yopH* ou *pcm*
 - D'autres stratégies comme l'administration par voie orale d'une souche de *Y. pseudotuberculosis* de virulence atténuée ou d'une *Salmonella* avirulente exprimant les antigènes F1 et V

Conclusion

- Identification récente de souches multirésistantes
 - Utilisation potentielle de *Y. pestis* comme agent de guerre biologique
- ↳ Peste = Menace persistante de santé humaine
- ↳ La vigilance est de rigueur et la recherche de nouvelles cibles thérapeutiques ou vaccinales devrait être une priorité

MERCI