

Charbon (Anthrax)

Pierre Moine
CHU de Bicêtre

Le charbon ou “ pustule maligne ” est une maladie des animaux herbivores domestiques et sauvages qui est transmise à l’homme par contact direct cutané avec des animaux infectés, ingestion de produits animaux contaminés ou inhalation. La contamination inter-humaine n’a jamais été observée. La lésion humaine caractéristique et classique du charbon est un ulcère cutané nécrotique: “ la pustule maligne ”.

Bacillus anthracis est l’agent du charbon. Il s’agit d’un micro-organisme de grande taille, non mobile, encapsulé, Gram positif, aérobie anaérobie facultatif, et sporulant. Les spores n’existent pas en intra-tissulaire chez les animaux infectés et la sporulation apparaît lors de l’exposition à l’oxygène après le décès de l’animal. Les spores sont détruites par ébullition de 10 minutes, mais peuvent survivre plusieurs années sur le sol (36 ans après dispersion est rapporté) et les produits d’origine animale: C’est là un facteur important pour la persistance et la propagation de la maladie.

Le charbon est une maladie mondiale. Ce micro-organisme existe sur le sol sous forme de spores et peut être alors ingéré par les animaux. Des épizooties animales sont encore décrites aux USA malgré l’utilisation vétérinaire de vaccins animaux. Les bœufs, moutons, chèvres et porcs sont les plus communément infectés. Au plan humain, il s’agit essentiellement d’une maladie professionnelle devenue rarissime dans les pays ayant développé une politique de vaccination animale. Aux USA, au cours des 30-40 dernières années, l’incidence annuelle de la maladie chez l’homme est d’un cas par an et il s’agit essentiellement de la forme cutanée. Néanmoins, les deux derniers cas de maladie du charbon (forme cutanée) rapportés étaient respectivement en 1992 et 2000. L’homme contracte la maladie, lors de travaux de boucherie, de tannage ou de dissection sur des carcasses infectées ou en manipulant un matériau d’animaux contaminés: peaux, laines, poils. On l’observe principalement parmi les ouvriers agricoles et les agriculteurs qui manipulent ces produits. La maladie est généralement consécutive à l’inoculation de bacilles ou de spores dans la peau, souvent par l’intermédiaire d’une blessure, d’une piqûre d’insecte ou d’une effraction cutanée. L’infection intestinale fait suite à l’ingestion de viande contaminée; l’inoculation peut aussi se faire par l’inhalation de spores de 1 à 5 µm qui se dépose facilement dans les alvéoles. Jusqu’ici, seulement 18 cas de forme inhalée de maladie du charbon ont été rapportés aux USA au 20^{ème} siècle. Le plus récent date de 1976.

Charbon: Arme biologique. Dans la deuxième moitié du 20^{ème} siècle, le charbon a été développé en tant qu’arme biologique dans le cadre de programme de guerre bactériologique par de nombreux pays (au moins 17 recensés en 1995 et d’autres.... non connus). Ainsi ont été décrits en 1979 à Sverdlovsk en ex-URSS, 79 cas humains de maladie systémique du charbon avec 68 décès lors d’un accident militaire ayant entraîné un relargage sous forme d’aérosol de spores de *Bacillus anthracis*. De façon plus insidieuse, est apparu le spectre du bioterrorisme dès 1995. Il semble que la secte religieuse japonaise Aum Shirikyo, connue pour son utilisation du gaz sarin dans le métro de Tokyo en 1995, ait développé voire utilisé cet agent pathogène à plusieurs reprises sous forme d’aérosols dispersés au dessus de Tokyo. Ces dispersions ne se sont pas accompagnées de pathologies particulières sans que l’on puisse réellement en expliquer les raisons. Néanmoins, l’accident survenu en Russie 25 ans plus tôt a parfaitement démontré le potentiel toxique létal majeur de *Bacillus anthracis* inhalé. Il est estimé que, par conditions météorologiques adéquates (temps et vent), le largage par avion sur une distance d’environ 2 kilomètres de spores de *Bacillus anthracis* pourrait créer un nuage toxique létal d’une vingtaine de kilomètres. Le risque d’inhalation par un nuage toxique persiste tant que les spores de *Bacillus anthracis* restent en aérosol (aérosolisation “ primaire ”) et dépend des conditions

météorologiques. Ce risque peut durer 1 heure à 1 journée. Le risque d'une aérosolisation "secondaire" par resuspension de spores à partir du sol ou d'autres surfaces n'est pas déterminé. Ce nuage serait parfaitement incolore et inodore, donc non détectable. Le premier signe d'attaque bioterroriste serait alors des patients présentant une symptomatologie de maladie du charbon dans sa forme inhalée. Sur une population urbaine de 5 millions d'habitants, un tel aérosol toxique devrait atteindre en termes de pathologie environ 250 000 personnes dont au moins 100 000 décèderaient.

Pathogénèse

Bacillus anthracis possède trois facteurs de virulence exprimés non pas par la spore mais lors de la germination: une capsule composée de polymères d'acide poly-D-glutamique le protégeant de la phagocytose et de la lyse, et deux exotoxines protéiques, la LT "lethal toxin" et la ET "edema toxin". Les souches délétées ne produisant plus de capsule ont une virulence atténuée; de plus la LT est létale dans les modèles animaux. Les 2 toxines sont composées de deux domaines A et B: Le domaine A possède l'activité enzymatique et le domaine de fixation cellulaire B est appelé "protective antigen" PA. La particularité inhabituelle de ces deux toxines est de partager le même domaine B. De ce fait, la "lethal toxin" est constituée de la protéine PA et d'une seconde protéine de la famille des Zinc métalloprotéases, le LF "lethal factor". La ET "edema toxin" est constituée quant à elle du même PA et d'une troisième protéine "edema factor" EF type adénylate cyclase calmoduline dépendante causant lorsqu'elle est injectée en sous-cutané chez l'animal un important oedème. L'expérimentation animale a montré l'importance de PA "protective antigen" puisque la délétion seule du gène de PA atténuait la virulence du germe. Des études récentes ont mis en évidence l'interaction moléculaire de ces trois protéines toxiques (PA, LF et EF). En fait, la protéine PA se fixe en premier par son extrémité C-terminale à un récepteur membranaire cellulaire spécifique. Elle est alors clivée par une protéase de surface laissant en place un fragment de PA et libérant du même coup des sites de fixation des deux autres protéines LF ou EF. Le complexe fragment de PA-LF (ou fragment de PA-EF) est alors internalisé dans le cytosol cellulaire ou la protéine toxique peut alors exprimer sa virulence.

Symptomatologie clinique

Cette maladie infectieuse aiguë revêt essentiellement trois formes selon le mode de contamination: cutanée, gastro-intestinale ou pulmonaire par inhalation. Chacune des formes cliniques peut évoluer en une forme systémique fatale.

Forme cutanée "pustule maligne" : forme clinique la plus fréquente (environ 95%). Usuellement, cette symptomatologie apparaît dans les 5 à 7 jours après la contamination. La pustule maligne du charbon humain débute généralement sur une surface découverte (bras et avant-bras, cou et face), sous la forme d'une papule indolore, prurigineuse, oedémateuse (type piqûre d'insecte) qui se couvre en 1 à 2 jours d'une vésicule et s'ulcère pour former une escarre noirâtre peu douloureuse d'environ 1-3 cm de diamètre. Des petites vésicules satellites sont fréquentes. L'ulcère peut être entouré par un gonflement oedémateux extensif qui est mou et ne crépite pas, trait caractéristique du charbon. Après une évolution d'environ 5-6 jours, l'ulcère commence à régresser mais l'oedème peut persister plusieurs jours ou même semaines. Une lymphangite et des adénopathies satellites sont souvent présentes sensibles. Les signes généraux manquent souvent en dépit des signes locaux importants. En l'absence de traitement, le taux de mortalité approche 20%. Les décès sont par contre rares avec une antibiothérapie adéquate.

Forme inhalée respiratoire Dans ce cadre particulier d'inhalation de spores, la période d'incubation (de germination de *Bacillus anthracis*) paraît extrêmement variable. La symptomatologie grippale peut débiter 48 heures après l'exposition, mais aussi tardivement plus de 6 à 8 semaines après (à Sverdlovsk, un cas est apparu 46 jours après l'exposition). La maladie est d'évolution biphasique. Après inhalation, la symptomatologie initiale est de type grippale non spécifique. Cette symptomatologie non spécifique initiale dure quelques heures à quelques jours. L'évolution secondaire systémique fulminante est rapidement fatale en 1-3 jours dans un tableau de défaillance respiratoire aiguë et choc septique sévère irréversible. La radiographie pulmonaire objective souvent un élargissement du médiastin par lymphadénopathie médiastinale majeure et des épanchements pleuraux (hémorragiques à la ponction). Les lésions

anatomopathologiques pathognomoniques décrites en post-mortem sont une lymphadénite thoracique hémorragique et une médiastinite hémorragique. Il ne s'agit en aucun cas d'une pneumonie bronchoalvéolaire typique. Il peut être décrit par contre des lésions pulmonaires focales nécrotiques hémorragiques. Un syndrome neuroméningé associé avec méningite hémorragique est décrit dans la moitié des cas. Si un traitement antibiotique adéquate n'est pas débuté avant le développement de la symptomatologie fulminante le taux de mortalité est d'environ 90%. Le diagnostic précoce de cette forme inhalatoire est cependant difficile, sauf bien sur dans le contexte. A Sverdlovsk, les cas apparus au delà de 30 jours après l'exposition avaient des taux de survie rapportés meilleurs comparés à ceux des cas apparus plus précocement. Une attaque bioterroriste par le charbon doit être suspectée devant l'apparition de plusieurs cas de maladie pseudo-grippale avec un taux de mortalité élevé, en particulier si les décès surviennent rapidement, ou devant un élargissement médiastinal dans un contexte infectieux aigu chez un patient antérieurement sain.

Forme gastro-intestinale “ charbon intestinal ” : Après ingestion de produits animaux contaminés (viande contaminée insuffisamment cuite), le tableau est celui d'une gastro-entérite aiguë avec diarrhée sévère hémorragique. Une hémorragie digestive haute et une ascite massive sont fréquemment associées au tableau abdominal aigu. Le taux de mortalité en l'absence d'antibiothérapie adéquate est variable mais élevé de 25% à 60%. Des formes oropharyngées (lésions muqueuses oropharyngées voire oesophagiennes, adénopathies cervicales, oedème cervical, sepsis) sont aussi décrites.

Autres formes : Un tableau neuroméningé inaugural avec méningite hémorragique (50% des cas) sans symptomatologie focale primaire est aussi décrit. L'évolution est invariablement fatale.

Diagnostic microbiologique

Le diagnostic se fait sur l'isolement de *Bacillus anthracis* sur des prélèvements des lésions cutanées (liquide vésiculaire), sur hémocultures dans les formes systémiques, dans le liquide pleural, dans le liquide d'ascite ou dans le LCR (examen direct, Gram, culture voire immunofluorescence). Les hémocultures poussent relativement rapidement en 6 à 24 heures, mais le diagnostic définitif nécessite 1 à 2 jours supplémentaires. Les prélèvements pulmonaires en l'absence de processus pneumonique sont à priori illusoire. Les prélèvements des selles ont peu d'intérêt. Des sérologies (Anthrax electrophoretic immunotransblot (EITB)) peuvent aussi permettre de poser le diagnostic mais rétrospectivement.

Traitement et prophylaxie

Les recommandations thérapeutiques restent limitées. Les raisons de ces limitations sont: 1. la rareté de la maladie (pas de cas rapporté de forme respiratoire aux USA depuis 1976); 2. le nombre limité d'études expérimentales animales; 3. la connaissance relative des résistances et de leurs mécanismes; et 4. la possibilité d'avoir brutalement à traiter une très large population dans le cadre d'un acte terroriste. Ces recommandations ne sont donc que des recommandations d'experts restant à valider et basées sur le peu d'évidence à disposition. Il en ressort:

1. Au plan thérapeutique

- Le traitement antibiotique doit être extrêmement précocement administré. Le moindre délai même de quelques heures grève le pronostic vital du patient. Le diagnostic microbiologique étant difficile et long, toute personne avec une simple symptomatologie grippale dans un contexte de maladie du charbon doit être systématiquement traitée jusqu'à ce que la maladie soit exclue.

- La plupart des souches naturelles de *Bacillus anthracis* sont sensibles aux pénicillines (pénicilline G et amoxicilline). La pénicilline est ainsi historiquement la molécule de référence. La pénicilline est ainsi approuvée dans cette indication par la FDA (Federal Drug Administration). Il en est de même pour la doxycycline et les tétracyclines. La résistance naturelle de *Bacillus anthracis* porte sur céfuroxime, céfotaxime, aztréonam, ceftazidime, sulfaméthoxazole et triméthoprim.

- La ciprofloxacine paraît être une bonne alternative malgré l'absence de travaux humains. Des études animales suggèrent en effet une excellente efficacité de cette molécule. Des résultats in vitro suggèrent une aussi bonne efficacité des autres fluoroquinolones, mais il n'existe aucune étude animale.

- Il existe des souches modifiées résistantes à la pénicilline et aux tétracyclines développées en Russie en 1996. Jusqu'alors, des mutants résistants aux fluoroquinolones n'ont pas été rapportés.
- Sur ces éléments, ces experts recommandent donc la prescription initiale intra-veineuse de ciprofloxacine ou d'une autre fluoroquinolone chez tous patients présentant une forme inhalée présumée de la maladie du charbon (Tableau 1). Selon la susceptibilité des souches aux pénicillines et tétracyclines, le traitement pourra secondairement être modifié et ces molécules utilisées. La durée totale du traitement sera de 60 jours. Si l'état clinique du patient le permet, le passage à une antibiothérapie orale peut être envisagé. De plus, en cas d'atteinte massive ne permettant pas de subvenir aux besoins nécessaires intraveineux, un traitement par voie orale peut être proposé (Tableau 1).
- Si une vaccination pouvait être envisagée, la durée totale du traitement antibiotique pourrait être diminuée à 30 - 45 jours.
- Dans la forme cutanée historique, un traitement par voie orale par fluoroquinolone, amoxicilline ou tétracyclines est recommandé (Tableau 1). La durée habituelle est de 7 à 10 jours. Le groupe d'expert recommande néanmoins une durée de traitement de 60 jours en cas de bioterrorisme.
- D'autres antimicrobiens peuvent être efficaces sur *Bacillus anthracis*: chloramphénicol, érythromycine et macrolides, clindamycine, aminosides, vancomycine, cefazoline et autres céphalosporines de première génération (les céphalosporines à spectre élargie ne sont pas efficaces) et imipenem. Cependant, aucune étude animale n'est disponible, ni bien sur humaine.

2. Au plan prophylactique après une dispersion aérosol bioterroriste

- En cas d'exposition, cette prophylaxie devrait être rapidement mise en route, au mieux dans les 24 heures suivantes.
- Les experts recommandent un traitement par voie orale identique à celui préconisé à visée thérapeutique (Tableau 1).
- Clairement, cette antibioprophylaxie ne s'adresse pas aux personnes en contact avec des patients atteints de la maladie du charbon (sauf si ils ont été aussi exposés à l'aérosol toxique).
- La protection est d'autant plus importante qu'une immunisation active est associée.

Vaccination

Il existe un vaccin depuis 1970. L'antigène principal utilisé PA est une des trois exotoxines protéiques de *Bacillus anthracis* jouant un rôle majeur dans la pathogénèse de la maladie (PA protective antigen; LF lethal factor; EF edema factor). Ce vaccin est utilisé du moins aux USA sur l'ensemble du personnel militaire américain et sur les sujets à risque (laboratoires bactériologiques, ...etc). Cependant les capacités de production sont modestes et sa production actuelle est largement insuffisante pour envisager son utilisation civile. La vaccination consiste en 3 injections sous-cutanées à 2 semaines d'intervalle, suivies de 3 autres injections à 6, 12 et 18 mois. Il est recommandé de réaliser par la suite un rappel annuel. Son efficacité paraît rapide. Deux semaines après les trois premières injections 83% des patients sont protégés, 93% après deux ou trois doses supplémentaires et 100% aux rappels annuels. Ce vaccin n'a jamais été testé chez l'enfant < 18 ans; néanmoins selon les experts il devrait être sans risque et donc utilisé. Qu'en est-il en France : il n'existe qu'un vaccin animal vétérinaire à priori non utilisable chez l'homme.

Décontamination

Dans la mesure où il n'existe pas de transmission inter-humaine, les mesures recommandées pour les patients hospitalisés sont les précautions standards. L'utilisation de masques, de filtres à air ou de chambres à pression négative n'est pas nécessaire. L'hypochlorite de soude (javel du commerce diluée au 10^{ème}) est suffisante pour les surfaces particulièrement contaminées.

Conclusion

Une meilleure compréhension de la physiopathologie de cette maladie avec une caractérisation de la virulence du bacille et de ces toxines, la compréhension des séquences sporulation-germination-multiplication et le rôle des surfaces de contact dans ces séquences devrait permettre une meilleure approche thérapeutique et préventive, et l'amélioration des vaccins. Le séquençage complet du génome de *Bacillus anthracis* doit permettre ces améliorations. La prise en compte d'un bioterrorisme jusqu'ici jugé inimaginable (sic !) doit faire envisager une accélération du développement et de la production de vaccins de seconde génération.

Références

1. Anthrax. Center for Disease Control and Prevention, US Department of Health and Human Services. www.cdc.gov
2. Inglesby TV et al.. Anthrax as a biological weapon. Medical and public health management. JAMA 1999;281:1735-45.
3. Ashford DA, Rotz LD. Use of anthrax vaccine in the United States. Recommendations of the Advisory Committee on Immunization Practices. Morbidity and Mortality Weekly Report MMWR 2000;49:RR-15
4. Cieslak TJ, Eitzen EM. Clinical and epidemiologic principles of anthrax. Emerging Infectious Diseases 1999;5:552-5.
5. Mock M, Fouet A. Anthrax. Annu. Rev. Microbiol. 2001 ;55:647-671.
6. Friedlander AM. Anthrax. *in* Medical aspects of chemical and biological warfare. Textbook of military medicine. Walter Reed AMC. Chapter 22, pp 467-78.
7. Dixon TC et al. Anthrax. N Engl J Med 1999 ;341:815-26.

Tableau 1. Recommandations thérapeutiques (la deuxième partie du tableau correspond aux recommandations thérapeutiques et prophylactiques par voie orale)

	Traitement initial ¶ ‡	Traitement préconisé si la souche est pénicilline S ou doxycycline -S ¶ ‡	Durée (jours)
<u>i.v.</u>			
Adultes	ciprofloxacine 400 mg/12h i.v. *	pénicilline G 4 millions U i.v./4h doxycycline 100 mg i.v./12h	60
Enfants ^f	ciprofloxacine 10-15 mg/kg i.v. 2 fois par jour sans dépasser 1 g/24h	< 12 ans pénicilline G 50000 U/kg i.v./6h ≥ 12 ans pénicilline G 4 millions U/4h #	60
<u>per os</u>			
Adultes	ciprofloxacine 500 mg/12h per os \$	amoxicilline 500 mg/8h per os doxycycline 100 mg/12h per os †	60
Enfants ^f	ciprofloxacine 10-15 mg/kg/12h per os sans dépasser 1 g/24h	≥ 20 kg amoxicilline 500 mg/8h per os < 20 kg amoxicilline 15 mg/kg/8h per os	60

* Alternatives chez l'adulte: ofloxacine 400 mg/12h i.v. ou levofloxacine 500mg/24h i.v.

doxycycline selon le poids de l'enfant: si > 45 kg, utiliser les doses adultes; si 45 kg et moins, doxycycline 2,5mg/kg i.v. toutes les 12 heures.

\$ Alternatives chez l'adulte: ofloxacine 400 mg/12h per os ou levofloxacine 500mg/24h per os.

† Alternative à la doxycycline: tétracycline 500 mg/6h per os.

¶ Chez la femme enceinte, la doxycycline est à priori à proscrire et à n'utiliser qu'en dernier recours.

‡ Chez les patients immunodéprimés, les recommandations restent identiques.

^f Les fluoroquinolones ne sont habituellement pas recommandées chez l'enfant en raison du risque d'arthropathie décrit. Néanmoins, le risque de souches de *Bacillus anthracis* résistantes justifie la prescription initiale de fluoroquinolones. De la même manière la doxycycline, réputée entraîner des retards de croissance osseuse avec coloration des dents et non recommandée chez l'enfant < 9 ans, pourra être utilisée en cas d'allergie vraie aux pénicillines et fluoroquinolones.