

BACILLUS ANTHRACIS.

BOSERET G., LINDEN A., MAINIL J.

Service de bactériologie et de pathologie des maladies bactériennes

Faculté de médecine vétérinaire

Université de Liège

Bât. B43

Bd de Colonster, 20

B-4000 Liège.

00 32 4 366.40.50

1. BREF APERCU HISTORIQUE :

La maladie du Charbon, ou anthrax, « murrain », « woolsorter's disease », ou encore « sang de rate » est une maladie bien plus ancienne qu'on ne le pense...

La première mention faite à propos d'une infection apparentée à celle provoquée par *Bacillus anthracis* date de l'Antiquité, lorsque Moïse menaça les Egyptiens d'une 5^{ème} Plaie envoyée par Dieu et qui devait décimer les troupeaux et les humains dans d'atroces mais rapides souffrances.

Plus tard, les grecs et les romains, parmi lesquels Homère et Pline, relatent également des épidémies animales et humaines aux symptômes extrêmement proches de la fièvre charbonneuse.

Du Moyen-Age au dix-huitième siècle, divers auteurs décrivent un étrange syndrome de mort subite ou de septicémie associée à des saignements divers, à une rate noire « comme du charbon », à une incoagulabilité marquée, et surtout parlent d'une étrange persistance de ces cas, en certains endroits bien précis, appelés très vite « champs maudits ».

Les travailleurs de la laine (« woolsorter ») semblent être une cible privilégiée et, ce également, dans certaines fabriques bien précises...

Pasteur et Koch (1876) furent les premiers à identifier et isoler l'agent causal de la maladie, *Bacillus anthracis*, appelé aussi bactériodie parce que « très proche d'une bactérie » (d'où le terme actuel de charbon bactériDIEN, à ne pas confondre avec charbon bactériEN, provoqué par *Clostridium chauvoei*), et réalisèrent la première vaccination contre le charbon bactéridien lors d'une démonstration publique à Pouilly-le-Fort en 1881.

Davaine a approfondi les recherches sur *Bacillus anthracis*, nommé depuis le bacille de Davaine.

Une distinction importante de vocabulaire est à faire : Anthrax (de « anthracos » qui signifie « charbon » en grec) représente dans le contexte anglo-saxon toutes les forme de la fièvre charbonneuse, tandis qu'en français, ce terme désigne avant tout la lésion cutanée.

En 1938, drillés par la crainte d'une guerre bactériologique déjà envisagée à l'approche de la 2de guerre mondiale, de nombreux chercheurs firent avancer la science de l'anthrax à grands pas, mettant en évidence ses facteurs de virulence et certaines de ses caractéristiques immunogènes.

Depuis cette date, l'effort ne se relâche pas, et *Bacillus anthracis* est une des bactéries les plus étudiées dans le monde.

La guerre du Golfe de 1990 a réanimé le concept de guerre bactériologique, et les tout derniers événements rendent cette idée plus réelle que jamais...

Mais doit-on réellement s'inquiéter ? Où est l'info ? Où est l'intox ?

Ce texte vise à décrire *Bacillus anthracis* et la maladie y associée, en répondant le plus complètement possible aux questions que peuvent se poser étudiants et médecins vétérinaires.

2. CARACTERISTIQUES BACTERIOLOGIQUES :

Bacillus anthracis est une bactérie Gram positive qui se présente sous la forme d'un bâtonnet épais, aux bouts carrés, immobile, capsulé et capable de former une spore.

Il existe donc sous deux formes : la forme végétative, dans l'organisme de l'hôte, et la forme sporulée (endospore à position centrale), dans le sol ou les déchets d'animaux infectés (os, peau, laine...).

Bacillus anthracis est aéro-anaérobie et croît en 24 heures sur milieu ordinaire, incubé à 37°C sous atmosphère normale, en donnant de grosses colonies à aspect rugueux et à bords festonnés, "en tête de méduse".

Sous le microscope, il apparaît seul, en courtes chaînettes ou en longues associations ressemblant à une tige de bambou.

Cette bactérie possède plusieurs structures « de recouvrement », associées à ses caractères de virulence (cfr infra) : une capsule, composée de polypeptides de poly-D-Glutamate, et une « couche de surface » (S-layer), cristalline et bi-dimensionnelle, située sous la capsule.

3. FACTEURS DE VIRULENCE:

Outre sa capacité de sporulation, *Bacillus anthracis* possède plusieurs facteurs de virulence.

a. La capsule et la « S-layer » :

Comme dit précédemment, la capsule est composée uniquement de polypeptides de poly-D-Glutamate et est codée par des gènes situés sur un plasmide, le pXO2. Cette capsule possède des propriétés antiphagocytaires, et permet ainsi l'adhérence de la bactérie au macrophage sans phagocytose et destruction.

La capsule se forme à 37°C, après 1h *in vivo*, en présence de bicarbonate. Cela signifie qu'elle se forme très vite dès l'entrée de la bactérie dans l'organisme-hôte, et plus ou moins de manière concomitante avec la germination de la spore. Cela laisse peu de temps aux défenses immunitaires de combattre l'infection.

La S-layer est composée de deux protéines abondantes, la Sap (« Surface array protein ») et la EA1 (« Extractable antigen 1 »), assemblées en une structure cristalline bidimensionnelle.

Des expériences ont montré leur rôle dans la virulence de la bactérie, notamment par l'intermédiaire d'un clone délété du plasmide pXO2 (acapsulogène) mais possédant toujours les gènes codant pour EA1 et Sap.

Ces deux couches ne dépendent pas l'une de l'autre mais paraissent avoir une interaction synergétique dans le mécanisme anti-phagocytaire de la bactérie. De plus, la capsule masque les antigènes EA1 et Sap, empêchant une reconnaissance anticorps-antigènes de l'organisme infecté.

b. Les toxines :

Bacillus anthracis produit deux exotoxines de type A-B, codées par des gènes localisés sur le plasmide pXO1. Pour rappel, B correspond au facteur d'adhésion cellulaire, et A au facteur pathogène proprement dit.

La sous-unité B :

Les exotoxines de *B.anthraxis* sont un peu particulières en ce sens qu'elles partagent la même unité B : le facteur II ou PA (« Protective Antigen »).

Ce facteur PA se fixe à la surface cellulaire et est clivée par une protéase.

Le facteur PA, ainsi activé, s'organise en heptamère et forme un pore qui livre le passage à l'une des sous-unités A.

Les sous-unités A :

Le Facteur I est le Facteur Oedématogène (EF, Edema Factor) : il s'agit d'une adénylate-cyclase s'exprimant en présence d'une protéine eucaryote, la calmoduline.

L'action du EF est multiple :

- il augmente la concentration d'AMPc et prive la cellule-hôte d'ATP, énergie nécessaire à la phagocytose.
- il augmente considérablement la perméabilité capillaire
- il inhibe le métabolisme oxydatif des neutrophiles.

La deuxième sous-unité A ou facteur III est le Facteur Létal (LF : Lethal Factor) : il s'agit d'une « métallo-protéase », liant deux atomes de zinc mais sans action protéolytique prouvée.

Sa principale action est l'activation de diverses cytokines (principalement TNF et IL-1), et une action synergétique avec EF exacerbe les effets de celle-ci.

c. Autres facteurs de virulences :

B. anthracis produit un sidérophore, apparenté à l'aérobactine de *E. coli*, et possède une résistance naturelle au lysozyme.

Sa capacité de sporuler lui confère une protection de très longue durée dans le milieu extérieur (jusqu'à 100 ans : les « champs maudits ») et lui permet de résister à la dessiccation ainsi qu'à certains antiseptiques.

La persistance dans le sol est favorisée par un pH neutre ou légèrement alcalin (pH compris entre 6 et 8,5) et un haut degré d'azote.

La sporulation nécessite une température comprise entre 15 et 42 °C, une atmosphère humide et la présence d'oxygène ; une pluie soudaine après une épisode de sécheresse favorise tout particulièrement la re-sporulation.

4. EPIDEMIOLOGIE :

Comme expliqué ci-dessus, la maladie est donc endémique dans les pays à climat humide et chaud, soit l'Afrique, l'Amérique Latine et le sud des Etats-Unis, l'Asie, le Moyen-Orient et une partie de l'Océanie.

Des cas sporadiques sont apparus ces dernières années en Amérique du Nord et en Europe.

Le dernier cas recensé en Belgique (un bovin) date de 1989.

A ce jour, le taux de mortalité humain mondial est de 100000 à 200000/an selon l'OMS.

Outre les conditions climatiques, d'autres facteurs peuvent être imputés à la présence de l'anthrax dans certaines régions :

- le manque d'hygiène et de connaissances vétérinaires et médicales
- la pauvreté (récupération des peaux pour les vendre, manque de moyens thérapeutiques, consommation des cadavres d'animaux infectés...)
- l'oubli de l'emplacement des champs maudits
- les autopsies sans incinération ou suivies d'un enfouissement trop superficiel
- l'abandon des cadavres et leur consommation par des animaux (chiens, oiseaux, ...)
- l'oubli des symptômes par les jeunes vétérinaires ou exploitants...

La sensibilité est variable d'une espèce animale à l'autre ; les plus sensibles sont les souris, les ovins et les caprins, suivis des bovins. Viennent ensuite les équins, les porcs, les carnivores et les humains. Enfin les rats et certains oiseaux (vautours) sont particulièrement résistants et participent à la dissémination des spores.

Les premiers sont le plus souvent victimes d'infections aiguës et suraiguës ; les suivants contractent des formes aiguës et subaiguës, voire chroniques, et les derniers sont porteurs asymptomatiques.

La contamination d'homme à homme est assez rare ; l'homme s'infecte davantage au contact de produits animaux (os, laine, viande...) qu'au contact de ses semblables.

La fréquence de mortalité globale, animale et humaine, est cependant sous-estimée en raison du manque d'informations délivrées et reçues des travailleurs et des vétérinaires.

5. PATHOGENIE :

Trois formes sont définies :

-la forme respiratoire : infection par inhalation (travailleurs de la laine, tanneurs...) ; les humains et les herbivores sont assez sensibles.

-la forme digestive : infection par ingestion (viande contaminée, champs maudits, eau souillée..) : les bovins, les porcs et les carnivores sont les plus exposés.

-la forme cutanée : contamination par le biais d'une plaie ou d'une piqûre d'insecte. 95% des cas humains sont de ce type.

a. Forme respiratoire :

C'est l'infection la plus fulgurante : les spores envahissent le système respiratoire, germinent suite à la présence de CO₂ respiratoire (signal obligatoire) . Les bacilles s'encapsulent et libèrent les facteurs EF et LF activés par le PA tout en continuant à se multiplier.

Suite à l'action des toxines, il y a production de cytokines et autres médiateurs de l'inflammation (lyse des macrophages), et œdème des régions périphériques.

Les bactéries et les toxines envahissent la circulation sanguine et provoquent la mort par septicémie et choc exotoxinique.

Les ovins peuvent mourir en quelques minutes ; les symptômes, dans ce cas, se limitent à un ballonnement et éventuellement un léger saignement au niveau des orifices corporels.

Les autres espèces meurent quelques heures après l'apparition des symptômes cliniques (24h à 48h maximum) : On peut observer une légère dépression respiratoire, suivie de toux, dyspnée, hémoptysie, suffocation, choc et mort.

Les lésions sont de type hémorragique : pétéchies, médiastinite hémorragique, épanchements sanguins..mais peu de symptômes macroscopiques pulmonaires en raison de la rapidité de l'évolution.

b. Forme digestive :

Elle est moins fulgurante que la première (quelques heures à trois jours), mais tout aussi fatale (95 % de mortalité).

L'infection se base sur ingestion de nourriture contaminée, mais la dissémination nécessite une lésion digestive.

Ensuite, le schéma s'apparente à celui de l'infection respiratoire : lésions cellulaires liées à l'œdème, à la production de cytokines et à l'augmentation de la perméabilité cellulaire, inactivation des neutrophiles et macrophages, dissémination dans les flux lymphatique et sanguin, septicémie, choc, mort.

Les symptômes vont de la mort subite à la diarrhée hémorragique, épistaxis, hématurie, pétéchies, hématomène...pour se terminer en choc septicémique et exotoxinique.

Les lésions sont également de type hémorragique : hémosplénomégalie (« sang de rate »), hémopéritoine, entérite hémorragique, néphrite et cystite hémorragiques, incoagulabilité du sang ...Le cadavre se décompose très vite et la rigidité cadavérique est incomplète.

Les chiens développent parfois une gastro-entérite hémorragique, pas nécessairement fatale, et parfois une forme oro-pharyngée, ; la mort dans ce cas est due à la suffocation consécutive à un œdème des voies lymphatiques et des tissus péripharyngés.

Les chevaux présentent un syndrome de coliques, souvent accompagné d'œdème de la gorge, des épaules et de la nuque.

Les bovins et les porcs présentent également de l'œdème, de l'auge, de la tête et des membres.

c. Forme cutanée :

Elle n'est mortelle que dans 5 à 20% et seulement en absence de soins.

C'est la forme infectieuse la plus fréquente chez l'humain (95%).

Les carnivores et les porcs sont également plus enclins à développer cette forme plutôt qu'une des deux autres. Le cheval développe, lui, un fort œdème péri-nuchal.

Elle se propage au départ d'une lésion cutanée ; une papule, puis une vésicule érythémateuse apparaît. Elle se rupture, laissant un escarre, qui se nécrose et devient noirâtre...d'où le nom d'anthrax.

Si la lésion s'étend jusqu'au réseau lymphatique, la bactérie atteindra le flux sanguin, et l'issue est fatale, comme pour les deux autres formes.

6. TRAITEMENT :

La pénicilline est l'antibiotique de choix : 2 000 000 UI / 2h pour toutes les espèces.

Certaines résistances sont mentionnées, notamment dues à une -lactamase ; dans ce cas, la doxycycline, l'érythromycine et les sulfamidés sont des alternatives appréciables. Les fluoroquinolones sont aussi actives mais pas plus que les autres antibiotiques.

Le facteur d'importance dans le traitement n'est d'ailleurs pas le principe actif, mais plutôt la rapidité d'action.

Dans les cas suraigus et aigus, il n'y a rien à faire : la maladie est régie selon un principe de « non-retour », à partir duquel aucune dose ou molécule n'est active.

Dans le cas d'infection respiratoire ou digestive, ce point est atteint 24h après apparition des symptômes. Il convient donc d'agir très vite !

La période d'incubation est de 1 à 7 jours ; dans le cas de « contamination connue », cela laisse une marge de temps pour prévenir l'apparition des symptômes et de l'infection.

7. PROPHYLAXIE :

La première chose dont il faut tenir compte est la capacité de sporulation au contact de l'oxygène ; il ne faut donc JAMAIS AUTOPSIER UN ANIMAL EN CAS DE SUSPICION DE CHARBON !!!

Les mesures à prendre sont :

- incinération du cadavre ou enfouissement à 2m minimum de profondeur avec recouvrement de chaux vive, après obstruction des orifices corporels ;
- information des éleveurs, des travailleurs de la laine, des équarrisseurs, bouchers, tanneurs et des jeunes vétérinaires ;
- vaccination : par soit un vaccin vivant ; soit un vaccin tué.

Deux types de vaccins sont actuellement sur le marché : un vaccin vivant atténué et un vaccin acellulaire.

Le vaccin vivant est la souche Sterne, une souche délétée pour le plasmide pXO2 : elle est donc acapsulogène.

Ce vaccin est employé sur animaux ; il est assez efficace mais dangereux, parce qu'il provoque fréquemment une réaction inflammatoire sévère après inoculation (fièvre, œdème...), et certains individus peuvent même déclarer la maladie.

Dans les régions d'infection endémique, les animaux (bovins-ovins) sont régulièrement vaccinés, et la vaccination semble à ce jour obtenir de bons résultats.

Dans nos régions, la vaccination des animaux est interdite et tout cas suspect doit être signalé à l'inspecteur vétérinaire : mort subite (surtout chez les ruminants), rigidité cadavérique incomplète, sang non coagulé et noirâtre, , écoulement au niveau des orifices...

Le second vaccin est composé de la protéine PA. Il est utilisé en médecine humaine, notamment chez les militaires, selon un protocole de vaccination très lourd: 3 injections à 2 semaines d'intervalle, suivie de 3 autres injections à 6, 12, 18 mois.

Ce vaccin n'est cependant pas sûr à 100% ; la recherche d'un meilleur vaccin s'oriente actuellement dans la voie des recombinaisons génétiques, en utilisant *Bacillus cereus* comme vecteur d'antigènes de *B.anthraxis*.

8. REFERENCES :

BLANCOU, Les anciennes méthodes de surveillance et de contrôle de la fièvre charbonneuse, Ann. Méd. Vét, 1995,139,39-48.

DUBOS , Bacterial and mycotic infections of man, , Ed. Lippincott, 1948, 344-353.

HULL, Diseases transmitted from animals to man, , 5th edition, Ed. Thomas, 82-125.

SCHOENAERS and KAECKENBEECK, Précis de microbiologie vétérinaire, Ed. Derouaux, 30-38.

SHLYAKHOV, BLANCOU, SEGEV, RUBINSTEIN, Cent ans de recherches sur la réponse immune à la fièvre charbonneuse : les acquis, les paradoxes, les problèmes. Ann. Méd. Vét, 1998,142,101-110.

SIRARD, MALVILLE, FOUET, MOCK Physiopathologie moléculaire de la maladie du charbon, , Revue méd.vét., 1996, 147, 10, 653-670.

THEVES, Le charbon, une maladie des animaux et de l'homme qui se cache dans la terre., , Historia Medicinae Veterinariae, 1997, 22 :3,49-63.

3rd international conference on Anthrax, University of Plymouth, 7-10 September 1998. Journal of Applied Microbiology, 1999,87,187-340 (36 reports on 6 themes: natural ecology and global incidence, detection/identification and classification, structure and function, pathogenesis, molecular biology, vaccines and treatment)

Sites Internet:

<http://www.bact.wisc.edu/MicrotextBook/disease/anthrax.html>

<http://www.hc-sc.gc.ca/hpb/lcdc/biosafety/msds/msds12f.html> (Canada santé)

http://www.microvet.arizona.edu/Courses/MIC420/lecture_notes/bacillus_anthraxis/banthrax_disease.html (univ.of Arizona)

<http://www.bacterio.cict.fr/bacdico/bb/anthracis.html> (Euzéby)
<http://www.vetmed.lsu.edu/whocc/belgium.htm> (Vetmed)
http://www.oie.int/fr/normes/mcode/F_00044.htm (Office Intern. Des Epizooties)
http://www.cdc.gov/ncidod/dbmd/diseaseinfo/anthrax_g.htm#How%20common%20is%20anthrax%20and%20who%20can%20get%20it (CDC)
<http://www.cdc.gov/ncidod/EID/vol5no4/pdf/cieslak.pdf> (CDC)
<http://www.nature.com/nature/anthrax> (Nature)
<http://www.pasteur.fr/bioterrorisme.html#charbon> (Institut Pasteur)

Adresses de contact :

Dr. Hein Imberechts, CERVA, Groeselenberg, 99, 1180, Bruxelles. 00 32 2 379.04.00

Dr. Claude Saegermans, DG5, Santé animale et qualité des produits animaux, Inspection générale des services vétérinaires, WTC Tour 3, Bd S. Bolivar, 30, 1000 Bruxelles. 00 32 2 208.36.40