Association des Anciens Élèves de l'Institut Pasteur 9 décembre 2021



Melioidosis? Never heard of it...

Deadly tropical infections that kill within 48 hours don't usually go unnoticed. But one killer has been largely ignored for decades. Now, thanks to worries about bioterror, it is being taken more seriously. Peter Aldhous reports.

NATURE VOL 434 7 APRIL 2005 www.nature.com/nature

Maladie tropicale émergente

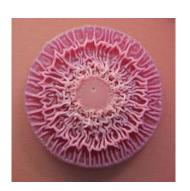
due à une bactérie de l'environnement

"Émergente" depuis plus d'un siècle

▶ 1911, Rangoon (Birmanie): isolement d'une nouvelle bactérie à partir de cadavres d'opiomanes par le Médecin capitaine Alfred Whitmore et son assistant C.S. Krishnaswami



- ▶ bacille proche de l'agent de la morve successivement appelé :
 - bacille de Whitmore
 - Bacillus pseudomallei 1913
 - Malleomyces pseudomallei 1939
 - Loefflerella pseudomallei 1951
 - Pseudomonas pseudomallei 1957
 - Burkholderia pseudomallei 1992



Une maladie nouvelle

1913, Malaisie et Singapour :

deux chercheurs de l'Institut de Recherche Médicale rapportent une épizootie d'infections graves chez les animaux de laboratoire ressemblant à la morve

⇒ melioidosis (glanders-like en grec), en français *mélioïdose*



A.T. StantonDirecteur IRM 1916–1926



W. Fletcher
Directeur IRM 1926–1927

Les expériences militaires

- 1948-1954, guerre d'Indochine
- → près de 100 cas rapportés parmi les 400 000 soldats français engagés



- 1973, guerre du Vietnam
- → 343 cas, dont 36 décès,
 parmi les soldats américains
 + cas de latence > 20 ans
 (Vietnamese time bomb)



L'incursion en France

Médecine et Maladies Infectieuses - 1988 - Spécial Novembre - 643 à 654

« L'AFFAIRE DU JARDIN DES PLANTES » ou comment la mélioïdose fit son apparition en France



par H.H. MOLLARET*

Les routes suivies par les germes sont aussi intéressantes à observer que celles suivies par les hommes.

André Siegfried.



- **1975, France :** épizootie mortelle chez des chevaux de Przejwalski contaminés par un panda + différentes espèces sauvages
- → diffusion dans plusieurs haras, clubs hippiques, champignonnières parisiennes à partir du fumier du Jardin des plantes ...
- **1976 :** plusieurs cas équins en province + 3 cas humains dont 2 fatals

André Dodin 1926-1995



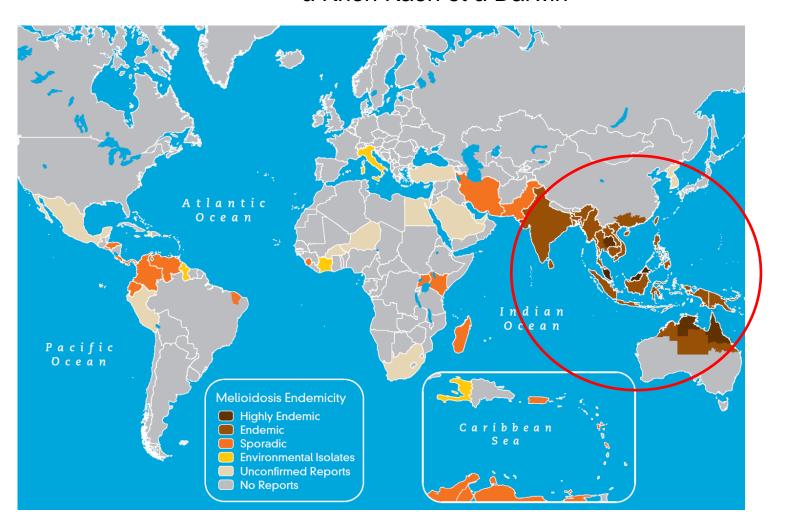
Chef de l'Unité du choléra et des vibrions à l'Institut Pasteur de Paris, individualise un "laboratoire du bacille de Whitmore" non reconnu officiellement.

Une maladie tropicale

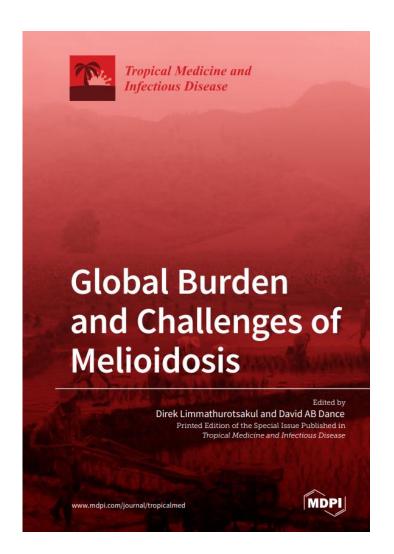
- Entre 20° Nord et 20° Sud, épicentre : NE Thaïlande et Nord Australie
- Maladie émergente ?

 1ère cause de septicémie communautaire

 à Khon Kaen et à Darwin



Une maladie en expansion



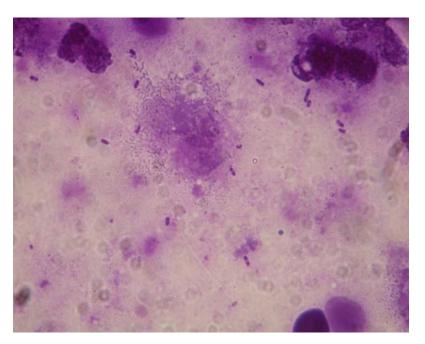
Fardeau mondial de la mélioïdose

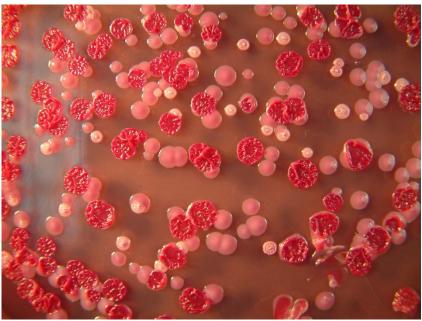
(estimation en 2016)

- > Incidence globale = 165 000 cas par an
- ➤ Mortalité = 89 000 décès (54 %)
 - comparable à la rougeole
 - supérieure à la leptospirose et à la dengue



Burkholderia pseudomallei

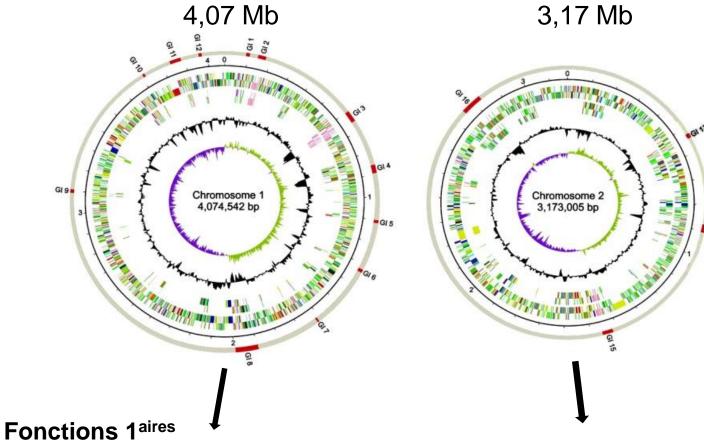




- bacille à Gram négatif, mobile, aérobie
- non sporulé mais pouvant survivre dans l'environnement
- grand génome de 7,25Mb, 2 chromosomes (14% variables)
 - → îlots génomiques provenant de l'ADN d'autres bactéries
- résistance naturelle à plusieurs familles d'antibiotiques :
 pénicillines, C1G, C2G, aminosides, macrolides, rifampicine,
 polymyxines...

Un génome d'une grande complexité

2 chromosomes



- biosynthèses, métabolisme
- chimiotactisme, mobilité
- déterminants de virulence

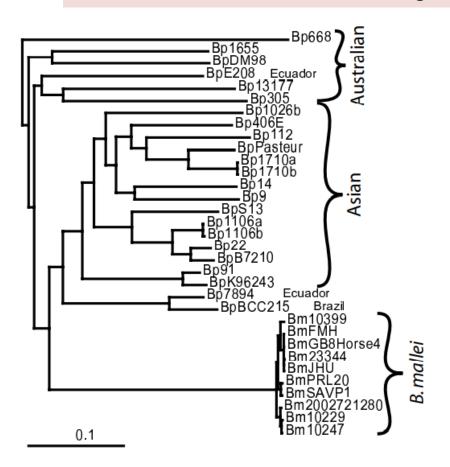
Fonctions d'adaptation

- aux différents environnements
- aux conditions de stress

B. pseudomallei et B. mallei

B. pseudomallei:

bactérie saprophyte de l'environnement pathogène intracellulaire facultatif très grande virulence



- B. mallei : agent de la morve dérive d'une souche ancestrale de B. pseudomallei par délétions
- ⇒ perte des gènes nécessaires pour survivre hors d'un hôte

(99% d'homologie nucléotidique)

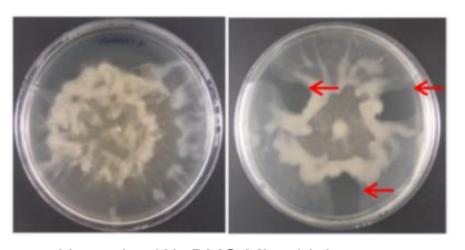
 → pathogène intracellulaire obligatoire (équidés)

B. pseudomallei et B. thailandensis

- 2 espèces très proches, initialement confondues
- plusieurs différences :
 - B. thailandensis peut assimiler le l-arabinose
 - il est peu pathogène pour l'homme
 (doses infectieuses significativement plus élevées dans les modèles animaux)
- ▶ bon modèle pour étudier les facteurs de virulence

Compétition : B. pseudomallei inhibe la croissance de B. thailandensis

Culture en nappe de *B. thailandensis* (témoin)



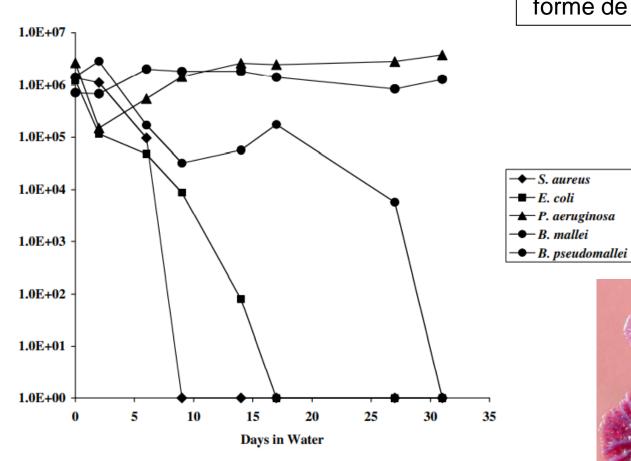
Dépôts de surnageant acellulaire de B. pseudomallei

Ngamdee W. BMC Microbiol,2015

Survie de B. pseudomallei en conditions extrêmes

▶ 16 ans en eau distillée sans nutriments

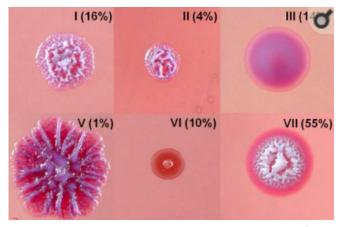
Pumpuang A. Trans R Soc Trop Med Hyg, 2011



Réserves d'énergie accumulées sous forme de polyhydroxybutyrate (PHB)

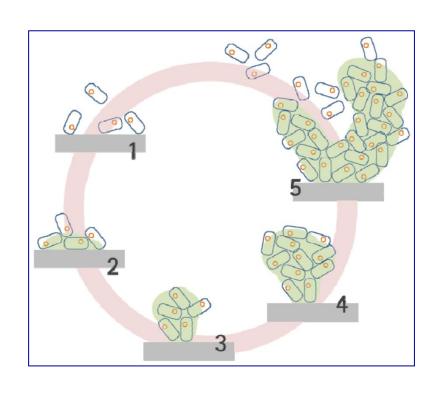
► bactéries survivantes après 16 ans :

- non mobiles
- coccobacillaires
- viables mais non cultivables
- morphologie des colonies modifiée



Moore RA. BMC Research Notes, 2008

Formation de biofilm



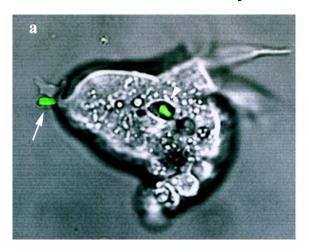
adhésion (interface liquide – solide)

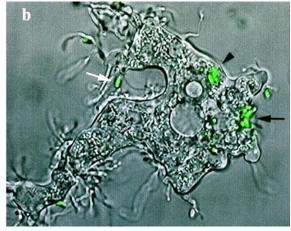
2 – 5. production de polysaccharide extra-cellulaire
+ croissance ralentie
contrôlée par le quorum-sensing
(AHL : acyl homosérine lactones)

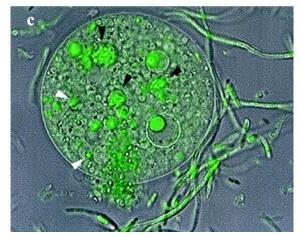
- ⇒ agrégation en micro-colonies
- ⇒ survie dans l'environnement
- ⇒ résistance aux désinfectants et aux antibiotiques

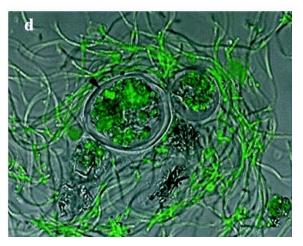
Survie intra-amibienne

- a adhésion de *B. pseudomallei* à l'amibe *Acanthamoeba astronyxis*
- b pseudopode et inclusion dans une vacuole
- c bacilles libres dans le trophozoïte
- d bacilles dans le kyste amibien









Inglis TJJ,
Infect Immun 2000

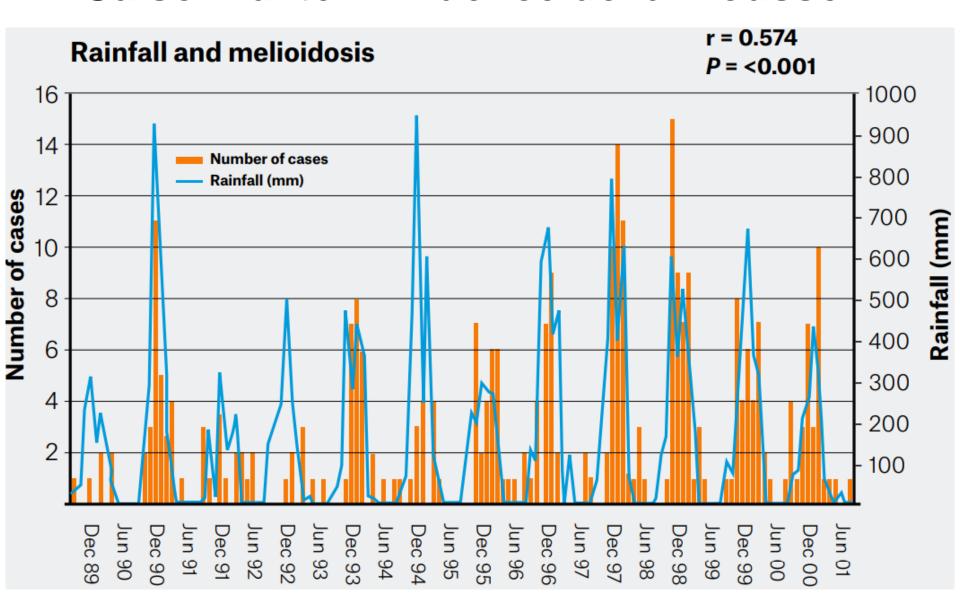
Réservoir environnemental

B. pseudomallei est une bactérie saprophyte hydrotellurique qui a besoin de chaleur et d'humidité

- sols argileux et eaux stagnantes
- distribution hétérogène (pluies, labours, matières organiques)
- sensible aux UV : conc. maxi à 25-120 cm de profondeur
- > température 24 32°C (isotherme mini = 11°C)
- > pH 5,0 à 6,0 ; humidité > 10%



Saisonnalité : influence de la mousson



Voies de transmission

Inoculation transcutanée :

- plaies, abrasions
- contacts sol ou eau

Respiratoire par inhalation:

- poussières contaminées
- aérosols ou eau douce

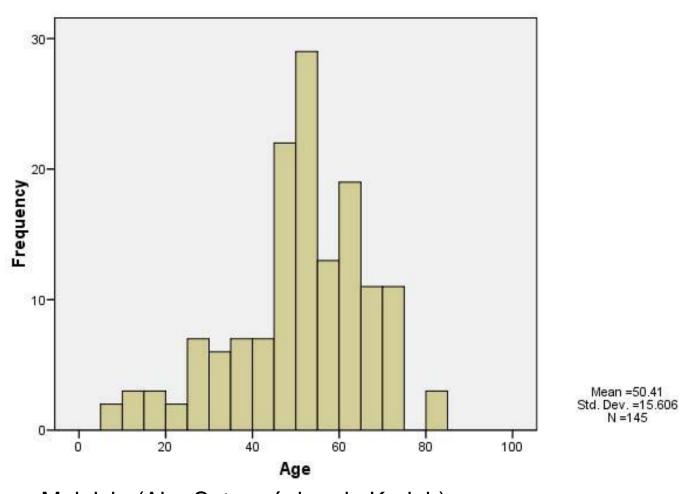


Digestive: rare, sauf chez l'animal

Autres voies (mère-enfant, sexuelles, nosocomiales ou accidentelles au laboratoire) : exceptionnelles

La mélioïdose n'est pas une maladie contagieuse

Prédominance à l'âge adulte



Malaisie (Alor Setar, région de Kedah) : Incidence annuelle de la mélioïdose = 16,35 p 100.000 Sur 145 cas en 4 ans : 8 enfants (5,5%) < 15 ans. Hassan et al. *BMC Infect Dis*, 2010 ;10:302

Facteurs de risque

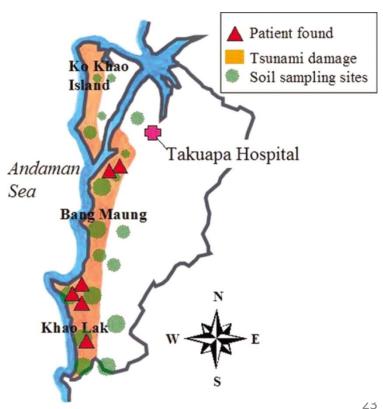
1. Expositions professionnelles

- contacts avec la terre ou l'argile : cultivateurs (riz), terrassiers, éleveurs, potiers ...
- activités en milieu naturel : militaires

2. Expositions accidentelles

- ▶ blessures, noyades
- catastrophes naturelles : typhons, inondations, tsunami (26 déc 2004)

Melioidosis in 6 Tsunami Survivors in Southern Thailand Chierakul W, Clin Infect Dis 2005



Maladie tropicale émergente

due à une bactérie de l'environnement

Infection opportuniste

- sévère, souvent mortelle
- diagnostic difficile
- traitement spécifique et prolongé

Mélioïdose : facteurs prédisposants

Série australienne de 364 cas observés entre 1989 et 2003 (Currie BJ, *Trop Med Int Health* 2004).

Facteurs	Risque relatif ajusté
Diabète	13,1
Pneumopathie chronique*	4,3
Age > 45 ans	4,0
Néphropathie chronique	3,2
Ethnie aborigène	3,0
Sexe masculin	2,4
Alcoolisme	2,1

^{*} enfants: mucoviscidose

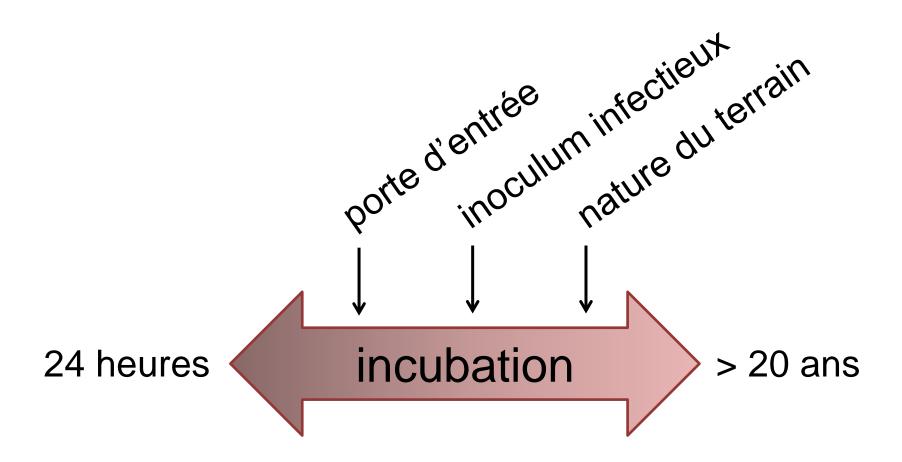
Mélioïdose chez les voyageurs

72 cas colligés entre 1982 et 2015 (*J Travel Med 2015; 22*)

Caractéristiques	%
Sexe masculin	76
Âge > 50 ans	51
Lieu de contamination* : - Asie du Sud-Est - Australie - Amérique centrale - Afrique	73 2,7 19 4,1
Facteurs de risque : - diabète (37,5%) - pneumopathie chronique - hépatopathie / alcoolisme	21 11 7
Présentation clinique : - sepsis - pneumonie - abcès	34 29 25
Issue fatale	17

^{*} durée moyenne de séjour : 36 jours (extrêmes : 7 – 330)

Une physiopathologie complexe



Facteurs de virulence

LPS (lipopolysaccharide)

PSC (polysaccharide capsulaire)

Enzymes
Exotoxines

Flagelle
Cytoplasme

Flagelline

Flagelline

Paroi cellulaire

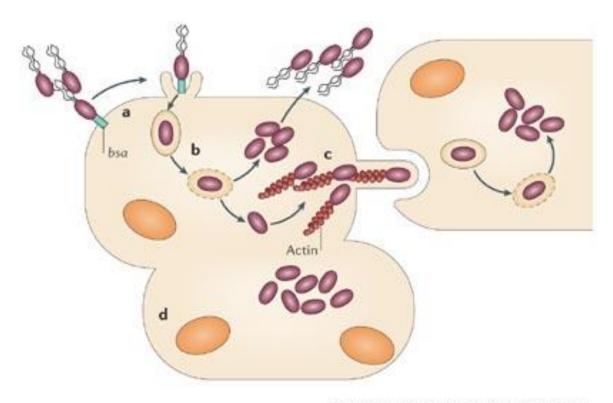
Quorum sensing (mécanisme de communicarion intercellulaire)

Système de sécrétion de type 3d

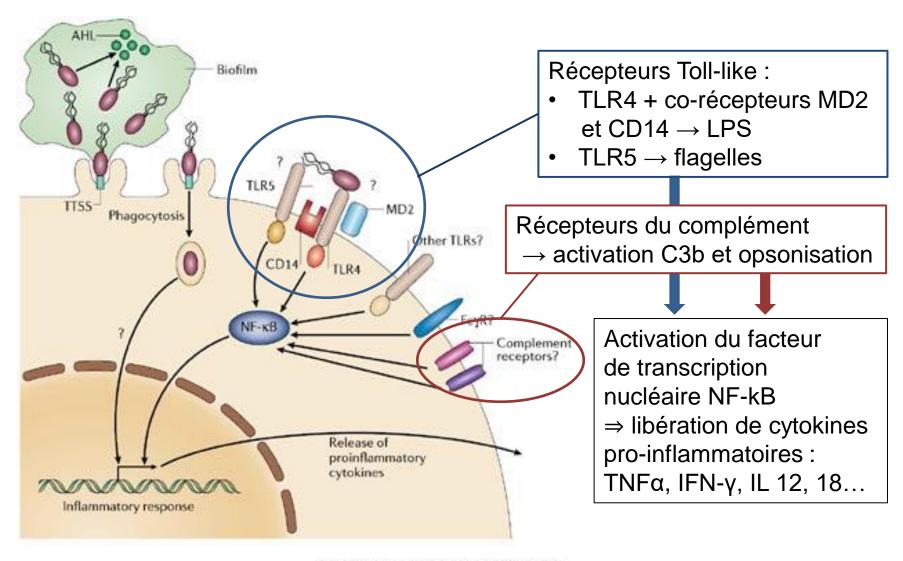
Mécanismes d'infection intracellulaire

médiés par les système de sécrétion spécialisés (SSTT de types 3 et 6)

- a invasion de cellules phagocytaires et non phagocytaires
- b échappement de l'endosome et multiplication intracytoplasmique
- c propagation de cellule à cellule
- d formation de cellules géantes multinucléées par fusion membranaire

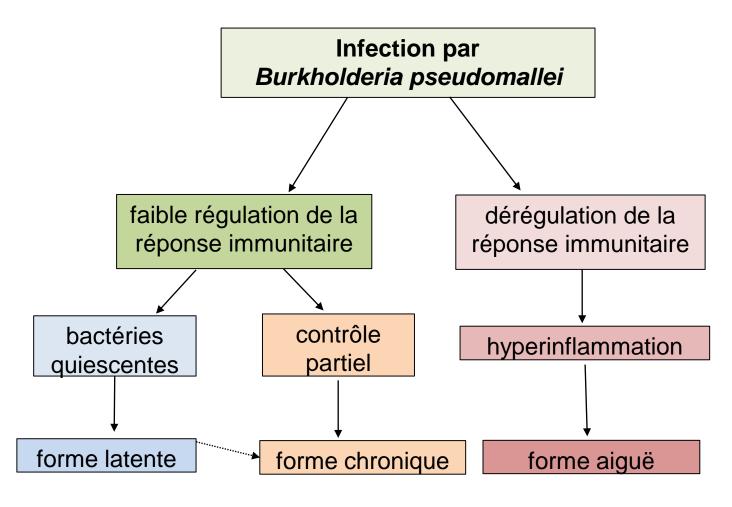


Mécanismes de défense



Expression clinique de la mélioïdose suivant la réponse immunitaire de l'hôte

(Gan YH. J Infect Dis 2005)



Incubation de < 24 h à > 60 ans

Présentation clinique

Aspects cliniques	Australie 1989-99 (331 cas)	Thaïlande 1978-85 (686 cas)
Bactériémie	46 %	58 %
Pneumonie, pleurésie	58 %	45 %
Infection génito-urinaire	19 %	7 %
Infection de la peau ou des tissus mous	17 %	13 %
Infection neuro-méningée ou abcès du cerveau	4 %	3 %
Abcès de la rate	4 %	2 %
Abcès du foie	2 %	7 %
Autres localisations intra- abdominales	3 %	5 %
Abcès de la prostate	18 % des cas adultes masculins	0,3 %
Abcès de la parotide	-	30% des cas pédiatriques
Infection osseuse ou articulaire	4 %	5 %
Péricardite	1 %	3 %
Létalité	19 %	38-61 %

Mélioïdose pulmonaire

Poumon = 1er organe cible (~ 50 % des cas)

- bronchopneumonies aiguës sévères ± SDRA
- abcès uniques ou multiples, empyèmes

Rx : infiltrats bilatéraux non systématisés → images d'excavation évoquant la TB



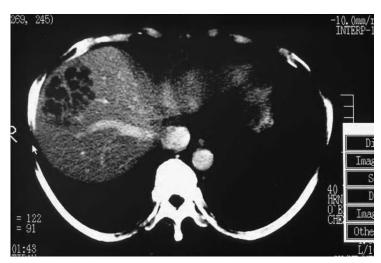
femme de 45 ans pneumonie aiguë mélioïdose septicémique



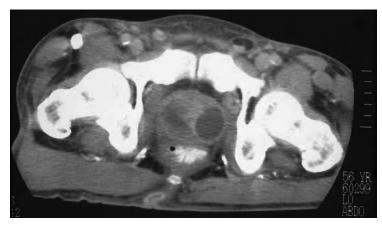
admission J+8 Évolution d'un abcès pulmonaire chez un adulte



Abcès viscéraux et des tissus mous



Abcès hépatiques multiples



Abcès prostatique



Abcès avant-bras avant tt



après 2 semaines de tt



après 20 semaines de tt

Abcès de la parotide









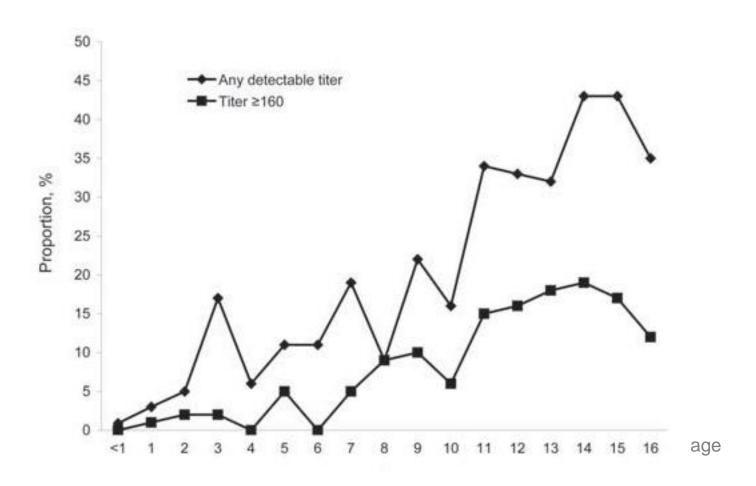
Très rare en Australie

~ 40%
des cas
pédiatriques en
Asie du Sud-Est

Diagnostic difficile

- Clinique: mélioïdose = grande simulatrice
 Cas suspect = tout patient atteint de sepsis, de pneumonie ou d'abcès acquis en milieu communautaire dans une région endémique de mélioïdose
- > Signes biologiques d'orientation : décevants
- Bactériologie : certitude mais délais importants (4 à 5 j)
- > Sérologie : peu fiable en zone endémique
- > Tests rapides d'orientation diagnostique (TRODs) :
 - → IHA, ELISA, IFI, latex, ICT, PCR

Prévalence des anticorps anti-*B. pseudomallei* en zone d'endémie



Hémagglutination indirecte (IHA) sur 968 enfants vivant à Siem Reap, Cambodge → séroprévalence = 16% (Wuthiekanun V. Emerg Infect Dis 2008)

Diagnostic de certitude : bactériologie

- ▶ isolement par culture de Burkholderia pseudomallei à partir de pus, crachats, urines, sang
- ▶ 3 inconvénients : → sécurité LSB3
 - → milieux spéciaux (Ashdown)
 - → identification après 48-72 h



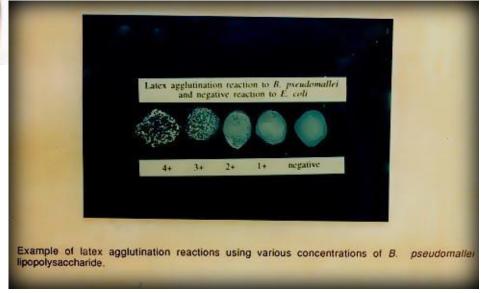
Hémoculture



Détection de *B. pseudomallei* dans le surnageant



agglutination de particules de latex sensibilisées par des AC monoclonaux anti-LPS



Intérêt du prélèvement de gorge chez l'enfant

Hémoculture	Prélèvements de gorge Nb (%)		
	Positifs	Négatifs	Total
Positive	189 (59,4)	129 (40,6)	318
Négative	149 (44,1)	189 (55,9)	338
Total	338 (51,5)	318 (48,5)	656

Quels TRODs pour la mélioïdose ?

Détection d'anticorps :

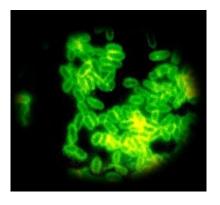
- IHA: test le plus ancien (1964), le moins cher et le plus utilisé en zone endémique, détecte IgG et IgM en < 3 h, faibles spécificité et sensibilité
- ELISA : développé en 1989, détecte IgM et IgG, meilleures sensibilité et spécificité que l'IHA, mais qq réactions croisées
- IF indirecte : détecte ≠ anticorps spécifiques (système Luminex®)
- immunochromatographie (ICT) : détecte IgM et IgG en < 15 minutes, sensibilité et spécificité élevées

▶ Détection d'antigènes :

- IF directe sur crachats, pus ou urine (< 2h)
- agglutination latex sur crachats, pus ou urine (< 2 mn)

▶ Détection du génome :

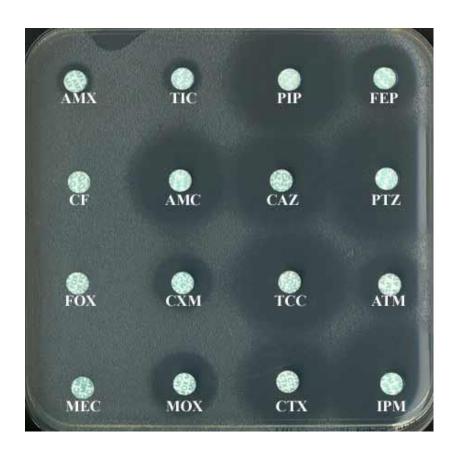
PCR temps réel (≠ cibles et amorces)



Littérature abondante mais très peu de TDR sur le marché

Antibiogramme indispensable

- ▶ pour confirmer l'identification : R → amoxicilline, céfalotine, aminosides, colistine
- ▶ pour détecter des R acquises : amoxi-clav, tétracycline, chloramphénicol...





Traitement spécifique et prolongé

► Pronostic : suivant antibiothérapie précoce adaptée

▶ Objectifs :

- 1. réduire la létalité des formes sévères dans < 48 h
- 2. éradiquer l'agent infectieux pour prévenir les rechutes

▶ Principes :

- 1. traiter toutes les formes symptomatiques
- 2. formes sévères : formes aiguës septicémiques et formes localisées touchant au moins 2 organes non contigus
- 3. utiliser des antibiotiques :
 - administrables par voie IV
 - bactéricides actifs en intra- et extra-cellulaire
- 4. prolonger le traitement → 20 semaines minimum

Pas de consensus international → recommandations nationales en région d'endémie suivant les résistances et l'accès aux antibiotiques de 1ère ligne

Traitement d'attaque

voie intraveineuse - 15 jours minimum

ceftazidime: 100-200 mg/kg/j en 3 doses (2 g toutes les 6 - 8 h)

ou

imipénème / méropénème : 50-75 mg/kg/j en 3 doses (1 g toutes les 6 - 8 h)

± cotrimoxazole: 10/50 mg/kg/j en 2 doses + acide folique 5 mg/j

▲ pénétration tissulaire (cerveau, prostate, art.)

Traitements complémentaires :

- corriger l'acidose métabolique, équilibrer le diabète, oxygéner
- granulocyte colony-stimulation factor (G-CSF) si choc septique
- protéine C activée recombinante humaine (PCArh) si CIVD
- drainage chirurgical d'abcès profonds

Traitement d'éradication

voie orale, à prolonger 12 – 20 semaines

Adultes

cotrimoxazole

10/50 mg/kg/j en 2 doses (2 cps toutes les 12 h)

+ doxycycline

4 mg/kg/j en dose unique (2 cps toutes les 24 h)

ou

amoxicilline - acide clavulanique
 60/15 mg/kg/j en 3 doses
 (2-3 capsules toutes les 8 h)

Enfants

amoxicilline - acide clavulanique 60/15 mg/kg/j en 3 doses

> 8 ans

> cotrimoxazole

10/50 mg/kg/j en 2 doses (2 cps toutes les 12 h)

+ doxycycline

4 mg/kg/j en 2 doses (1 cp toutes les 12 h)

 même protocole pour traiter les formes localisées (une seule localisation + absence de bactériémie)

Suivi des patients traités

> Pendant la phase d'éradication :

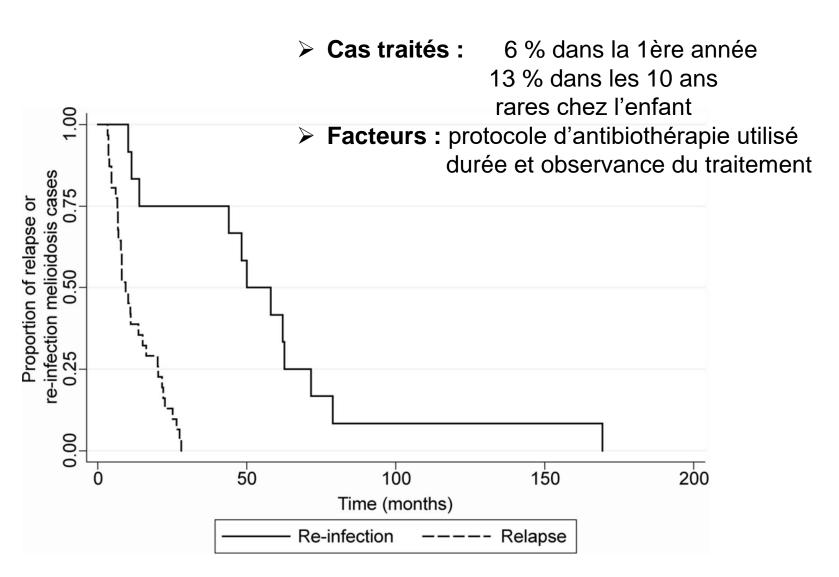
- toutes les 8 semaines pendant 20 semaines
- température, EG, poids, NFS, CRP, Rx et/ou écho ± contrôle du diabète

> Après la phase d'éradication :

tous les 6 mois pendant 5 ans au moins après guérison

- → suivi clinique et Rx
- → informer les patients du risque de rechute : à vie...
- → contrôler régulièrement les diabétiques

Fréquence des rechutes



Maladie tropicale émergente

due à une bactérie de l'environnement

- Infection opportuniste
 - sévère, souvent mortelle
 - diagnostic difficile
 - traitement spécifique et prolongé
- Arme "B" potentielle

Les 10 critères de Rosebury (1949)

- 1. Pouvoir infectant élevé
- 2. Morbidité importante
- 3. Possibilité de production massive et facile
- 4. Résistance : à l'environnement, aux antibiotiques et aux moyens de destruction chimiques
- 5. Pouvoir de pénétration rapide : la voie aérienne est la plus rapide
- 6. Contagiosité élevée, mais risque d'effet "boomerang"
- 7. Immunité difficile (pas de vaccin)
- 8. Traitement difficile
- 9. Détection et identification difficile de l'agent
- 10. Choc en retour réduit (chimioprophylaxie possible)

Risque biologique provoqué

CDC Category A Agents: (9 agents)	CDC Category B Agents: (15 agents)	CDC Category C Agents: (3 agents)	Genetically Engineered Agents: (1 agent)
Bacillus anthracis Clostridium botulinum toxin Ebola virus (a VHF) Francisella tularensis Junin virus (a VHF) Lassa virus (a VHF) Marburg virus (a VHF) Variola major Yersinia pestis	Brucella suis Burkholderia mallei Burkholderia pseudomallei Chlamydia psittaci Clostridium perfringens epsilon toxin Coxiella burnetii Cryptosporidium parvum Eastern equine encephalitis virus Escherichia coli O157:H7 Rickettsia prowazekii Ricin Salmonella typhi Shigella toxin Staphylococcal enterotoxin B Vibrio cholerae	Bovine Spongiform Encephalopathy Nipah virus Rift Valley Fever virus	MDR Bacillus anthracis

→ intérêt pour la prévention

Prophylaxie spécifique

Antibioprophylaxie post-exposition:

- cotrimoxazole
- ou doxycycline
- ou amoxicilline-acide clavulanique

21 jours

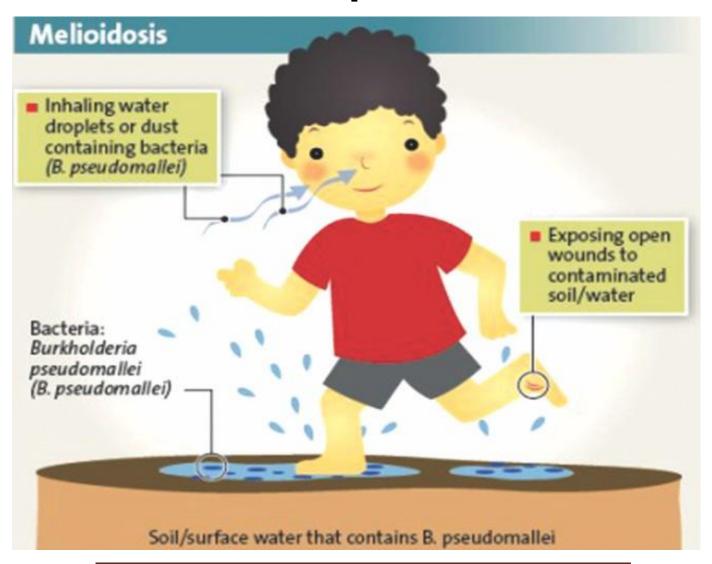
Immunoprophylaxie passive:

- anticorps monoclonaux ?
- anticorps humanisés?

Vaccination:

- plusieurs candidats vaccins : vivants atténués, entiers inactivés, sub-unitaires, ADN plasmidique, cellules dendritiques
- pas encore de vaccin disponible

Éducation pour la santé



if untreated, Melioidosis is fatal

Expositions professionnelles

Dans les rizières :

- protection des plaies
- port de gants et de bottes



Au laboratoire:

- protection des techniciens
- confinement de sécurité de niveau 3

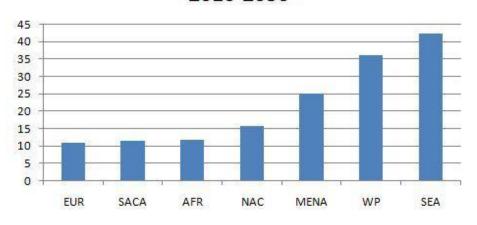


Lutte contre le diabète de type 2

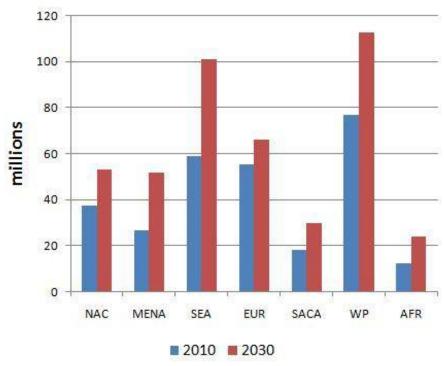
Asie du Sud-Est

- → prévalence dans la population adulte Asie du Sud-Est :
- 8,3% en 2010
- 10,2% en 2030

New Diabetes Mellitus Patients, 2010-2030



Prevalence of Diabetes Mellitus (Age 20-79) by Region, 2010 & 2030



Conclusion

Burkholderia pseudomallei est une énigme bactériologique

- germe de l'environnement
- opportuniste doué d'une grande virulence
- BMR naturelle

La mélioïdose est une maladie tropicale émergente

- dont l'incidence progresse, mais reste sous-évaluée
- liée au terrain (diabète, alcoolisme, néphropathies)
- d'expression clinique très polymorphe
- de diagnostic souvent trop tardif
- difficile et longue à traiter
- dont la létalité reste élevée

Qui prendra la suite d'André Dodin ?



Service de santé des armées DFRI Institut de Recherche Biomédicale des Armées







Offre de post-doctorat

Etude des mécanismes de résistance et de virulence de Burkholderia pseudomallei: développement de contre-mesure médicales

- Contrat post-doctoral d'un an à partir de juin 2022, renouvelable un an
- ➤ Envoi des candidatures avant le 1^{er} avril 2022 (CV + lettre de motivation + 2 lettres de recommandation) à l'attention de la Pharmacienne Générale directrice de l'IRBA fabienne.ripoll@def.gouv.fr et olivier.gorge@def.gouv.fr