

# DIAGNOSTIC DANS CONTEXTE DE BIOTERRORISME

**Dr Tiphaine Roussel-Gaillard**

Bactériologie- Hôpital Croix-Rousse

# QU'EST-CE QUE LE BIOTERRORISME ?

- Utilisation (ou menace d'utilisation) d'agents biologiques comme armes
- Objectif : induire maladie ou mort chez hommes, animaux et/ou plantes
- « Agent biologique » :
  - Agents infectieux (bactéries, virus, parasites, champignons) et les toxines qu'ils produisent
  - Naturels ou génétiquement modifiés



1347 : Siège de Caffa ([curieuseshistoires.net](http://curieuseshistoires.net))

- Pratique connue depuis le XIVème siècle
- Considéré comme évènement avec faible probabilité de survenue
  - Risque d'accidents de laboratoires
- Cependant, 37 attaques qualifiées de bioterroristes entre 1981 et 2018



# CLASSIFICATION DES PRINCIPAUX AGENTS BIOLOGIQUES UTILISABLES

- CDC : classification en 3 catégories (A,B,C), en fonction du niveau de risque
  - Niveau A : létalité, transmissibilité et dissémination élevées
  - Propriétés différentes mais qualités communes
    - Aérosolisation (1 à 5  $\mu\text{m}$   $\rightarrow$  suspension plusieurs heures dans l'air  $\rightarrow$  inhalation  $\rightarrow$  alvéoles pulmonaires)
    - Plusieurs voies de contamination possibles : digestive et percutanées

TABLE 1

**Centers for Disease Control and Prevention Potential Biological Agents**

Categories	Bacteria	Viruses	Toxins
A: most concerning to national security and public health because of ease of dispersal, transmission between people, high mortality rates, and the potential to cause panic; significant planning needed for public health preparedness	Anthrax: <i>Bacillus anthracis</i> Plague: <i>Yersinia pestis</i> Tularemia: <i>Francisella tularensis</i>	Smallpox: variola major Viral hemorrhagic fevers: Ebola, Lassa, Machupo, Marburg	Botulism: <i>Clostridium botulinum</i>

TABLE 1

## Centers for Disease Control and Prevention Potential Biological Agents

Categories	Bacteria	Viruses	Toxins
A: most concerning to national security and public health because of ease of dispersal, transmission between people, high mortality rates, and the potential to cause panic; significant planning needed for public health preparedness	Anthrax: <i>Bacillus anthracis</i> Plague: <i>Yersinia pestis</i> Tularemia: <i>Francisella tularensis</i>	Smallpox: variola major Viral hemorrhagic fevers: Ebola, Lassa, Machupo, Marburg	Botulism: <i>Clostridium botulinum</i>
B: lower mortality rates compared with category A agents; relative ease of dissemination and moderate morbidity; requires special resources for surveillance and diagnostics	Brucellosis: <i>Brucella</i> species <i>Salmonella</i> * <i>Escherichia coli</i> O157:H7* <i>Shigella</i> * Glanders: <i>Burkholderia mallei</i> Melioidosis: <i>Burkholderia pseudomallei</i> Psittacosis: <i>Chlamydia psittaci</i> Q fever: <i>Coxiella burnetii</i> Typhus fever: <i>Rickettsia prowazekii</i> <i>Vibrio cholerae</i> † <i>Cryptosporidium parvum</i> †	Viral encephalitis: Eastern equine encephalitis Venezuelan equine encephalitis Western equine encephalitis	Epsilon: <i>Clostridium perfringens</i> Ricin toxin (castor beans) Staphylococcal enterotoxin B
C: includes any emerging pathogen that could be exploited	Any emerging pathogen	Any emerging pathogen	Any emerging pathogen

\*—Food safety concerns.

†—Water safety concerns.

Information from reference 3.

Coexistence d'agents létaux (*B. anthracis*, *Y. pestis*) et d'agents incapacitants (*Coxiella burnetii*, *Brucella sp*)

# CLASSIFICATION DES PRINCIPAUX AGENTS BIOLOGIQUES UTILISABLES

5

- En France: Arrêté fixant la liste des agents biologiques pathogènes
  - 5 tableaux (A : bactéries, B: virus, C: prions, D: parasites, E: champignons)
  - 4 groupes (1 à 4) (bactéries/champignons : 2 ou 3, virus : jusqu'à 4)
  - REB : groupes 3 et 4

## Décrets, arrêtés, circulaires

### TEXTES GÉNÉRAUX

#### MINISTÈRE DU TRAVAIL, DE L'EMPLOI ET DE L'INSERTION

Arrêté du 16 novembre 2021  
fixant la liste des agents biologiques pathogènes

NOR : MTRT2133668A

#### ANNEXE

LISTE DES AGENTS BIOLOGIQUES PATHOGÈNES DES GROUPES 2, 3 ET 4

# GROUPES DE RISQUE SELON LE CODE DU TRAVAIL

	Groupe 1	Groupe 2	Groupe 3	Groupe 4
Possibilité de provoquer une maladie chez l'H	Non	Oui	Oui grave	Oui grave
Danger pour les travailleurs	/	Oui	Oui	Oui
Propagation dans la collectivité	/	Peu probable	Possible	Elevée
Existence d'une prophylaxie ou d'un TTT efficace	/	Oui	Oui	Non

Article R4421-4 : « Sont considérés comme agents biologiques pathogènes, au sens du présent titre, les agents biologiques des groupes 2, 3 et 4 »

Les agents infectieux de classe 3 et 4 sont :

→ À craindre en matière de risque épidémique et biologique

→ les plus adaptés au bioterrorisme

# BIOTERRORISME : QUELS AGENTS À CIBLER ?

7

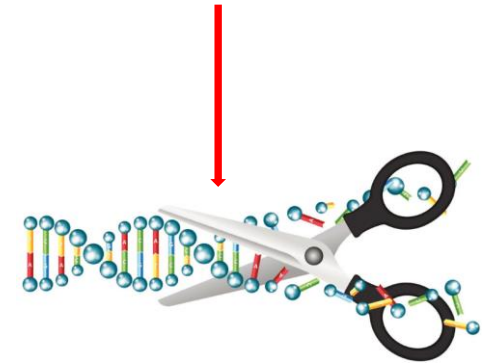
- **6 agents** considérés par le CDC comme « d'utilisation probable dans un contexte de bioterrorisme »
- Agents des **charbon, peste, tularémie, toxine botulique, variole et fièvres hémorragiques virales**  
+ tout éventuel **agent infectieux émergent** !
- **Propriétés** recherchées (et reconnues) :
  - Pathogénicité chez l'homme (+/- transmission interhumaine)
  - Taux de mortalité élevé
  - Impact sur Santé publique (PEC clinique, diagnostic, traitement)
  - Désorganisation (panique, perturbations sociales)
- **Autres** candidats potentiels : *Burkholderia mallei/pseudomallei*, *Brucella melitensis*, rickettsies (*R. prowazekii*), *Coxiella burnetii*



Dreamstime.com

# QUELS OUTILS DIAGNOSTIQUES ?

- Nombreuses évolutions technologiques ces 10/15 dernières années
- Méthode de référence
  - Bactériologie : examen direct, culture +++ → Méthode de référence
  - **Biologie moléculaire** +++



Les enjeux actuels résident plus dans les **capacités** de mise en œuvre et diagnostiques à **grande échelle** que dans les technologies

# QUEL OUTIL DIAGNOSTIQUE IDÉAL ?

9

- Technique rapide avec rendu <1 h
- Prise en main/habilitation aisée (réalisable en biologie délocalisée, hors LNSB3)
- Capacité évolutive quel que soit le nombre d'individus exposés
- Performante (fiable) → sensibilité + spécificité
- Multi-cibles (universelle)
- Evolutive en fonction de l'épidémiologie/du pathogène suspecté

Cet outil **n'existe pas**, mais des équipes parviennent à détourner des techniques de POC pour répondre à des questions de bioterrorisme



**Rapid Detection of *Bacillus anthracis* Bloodstream Infections by Use of a Novel Assay in the GeneXpert System**

*Banada PP, JCM 2017*

*Banada PP, JCM 2019*

**Multiplex Detection of Three Select Agents Directly from Blood by Use of the GeneXpert System**



# L'EXISTANT : QUELS OUTILS DIAGNOSTIQUES DANS QUELLE SITUATION

- Dans un contexte de suspicion d'agent B, en urgence → test PCR syndromique

## BioFire® Biothreat Panel



**En LSNB3**

Temps de préparation technique 5 minutes (LNSB3)  
 Délai de rendu ≅ 1 heure  
 A partir de nombreuses matrices biologiques (et non bio)

### Bacteria

- *Bacillus anthracis*
- *Brucella melitensis*
- *Burkholderia mallei / pseudomallei*
- *Coxiella burnetii*
- *Francisella tularensis*
- *Rickettsia prowazekii*
- *Yersinia pestis*

### Viruses

- Ebola virus (Zaire)
- EEE virus
- Marburg virus
- Orthopox virus
- Variola virus
- VEE virus
- WEE virus

### Toxin-Encoding Genes

- *Clostridium botulinum*
- *Ricinus communis*



## BioFire® Global Fever Special Pathogens Panel



### Bacterial

- *Bacillus anthracis*
- *Francisella tularensis*
- *Leptospira* spp.
- *Yersinia pestis*

### Protozoan

- *Leishmania* spp. including *L. donovani* and *L. infantum*
- *Plasmodium* spp.
  - *Plasmodium falciparum*
  - *Plasmodium vivax/ovale*

### Viral

- Chikungunya virus
- Crimean-Congo hemorrhagic fever virus
- Dengue virus (serotypes 1, 2, 3 and 4)
- *Ebolavirus* spp. (Bundibugyo, Reston, Sudan, Tai Forest, Zaire)
- Lassa virus
- Marburgvirus
- West Nile virus
- Yellow fever virus

# TECHNIQUE SYNDROMIQUE...LA SOLUTION À TOUTES LES SUSPICIONS ?

11

- Avantages
  - Nombreux ! : rapidité, praticabilité (pas en biologie délocalisée)
- Inconvénients liés à la technique
  - France **non souveraine**
  - **Dépendance** d'un industriel
  - Kits **non évalués** par CNRs
  - **Amorces** utilisées **non publiées**
  - **Faible capacité diagnostique** (liée au nombre de modules disponibles) +++
- **Non adaptée à un dépistage de masse**
  - Cas d'un contexte BioT avec aérosolisation ou épandage à l'origine de nombreuses victimes



# QUELLES POSSIBILITÉS POUR RÉPONDRE AVEC UNE MEILLEURE CAPACITÉ ?

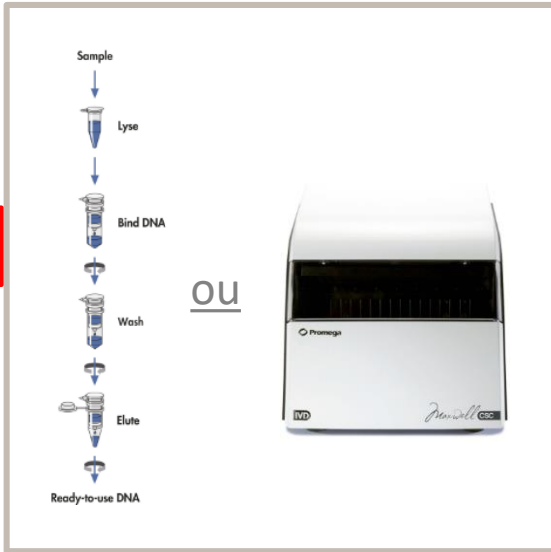
12

- Techniques de biologie moléculaire « classique »
  - La plupart sont des techniques « maison » à partir d'amorces/sondes publiées
  - Ciblent le plus souvent des facteurs de virulence (bactério)
  - Témoins positifs → transmis par des laboratoires de référence

Agent bactérien	Cibles
<i>Bacillus anthracis</i>	<i>capA</i> <i>Pag</i> (souche vaccinale)
<i>Yersini pestis</i>	<i>caf1</i> <i>pla</i>
<i>Francisella tularensis</i>	ISFtu
<i>Brucella spp</i>	IS711 (Bounaadja L, 2009)

# FLUX ANALYTIQUE POUR UNE CAPACITÉ SUPÉRIEURE

1

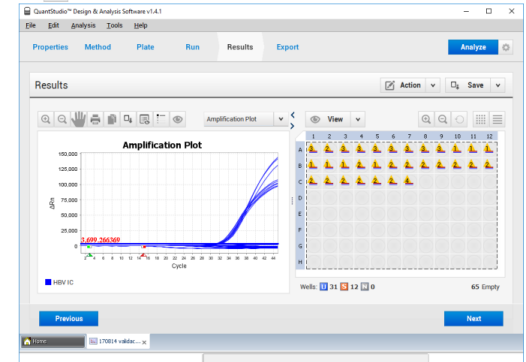


En LSNB3

En LSNB2



≈ 90 échantillons/run



2



≈ 300 échantillons/run

- **Délai de déploiement de cette offre diagnostique : 1 à plusieurs jours**
- Personnel compétent et habilité (L3 et BM)
- Réactifs **stockés** et régulièrement **testés +++**
- Pour pathogène connu dont les cibles sont détenues au laboratoire (pb d'un pathogène émergent)

# QUELS OUTILS DIAGNOSTIQUES SI PATHOGÈNE ÉMERGENT ?

- Plateformes de séquençage
  - En plein essor depuis la crise SARS-CoV-2
  - Requierent équipements + RH (bioinformaticiens +++)



Library automation



NovaSeq 6000 (Illumina)



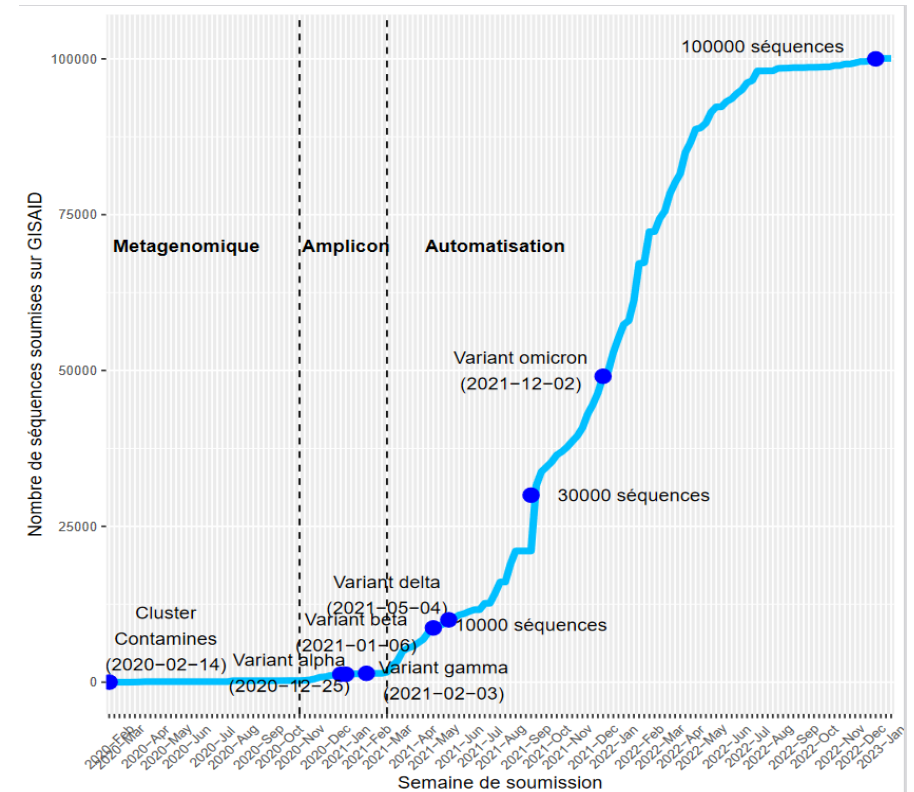
NextSeq 550 (Illumina)



GRIDION (ONT)



minION (ONT)



- Réservé à laboratoires spécialisés
- **Délai de déploiement : plusieurs jours voire semaines**

# EXERCICE 1 : AÉROSOLISATION DE *Y. PESTIS* DANS UN CENTRE COMMERCIAL

15

- J0 (jeudi de décembre), 14h : Diagnostic fortuit de peste pulmonaire (culture) chez patient de 40 ans, pas de séjour à l'étranger
- J1, 11h → 3 nouveaux cas
- J1, 14h → revendication d'un groupuscule anarchiste auprès d'Interpol
- Mise en place cellules de crise ( ARS, Préfecture, HCL...)
- Entretemps
  - Nombreuses admissions pour PNP fébriles (en décembre...)
  - Urgences débordées (tableaux PNP et autres)
  - Des malades parmi les personnels (dont infirmiers, brancardiers et techniciens de laboratoire)
- Laboratoire sollicité à J1 (vendredi) à 17h45 pour un diagnostic de masse



- **Activation astreinte REB avec proposition de panels syndromiques Biothreat au cas par cas**
  - **Elargissement de l'offre diagnostique dès J4 (lundi) → 200-400 PCR/J**

# EXERCICE 2 : *SHIGELLA DYSENTERIAE* (TYPE 1) DANS EAU POTABLE

16

- J0 : dispersion de bactéries dans réservoirs d'eau potable de la ville de Lyon
- Plusieurs malades à partir de J1
- Signalements à partir de J3 (laboratoires privés, publics, écoles, urgences, MT)
- Cellules de crise activées à J4
- Pas de revendication (elle arrivera à J7)



## Au laboratoire...

- Premiers diagnostics « fortuits » sur automates de routine (BD Max™ Enteric Bacterial Panel)
  - Maximum 40 tests toutes les 3 heures (2 automates aux HCL)
- Gestion des ruptures du stock de réactifs !

- Cas de la possible « dérivation » d'un automate de routine à une situation de crise
  - Possible pour certains pathogènes émergents ?

# DIAGNOSTIC DANS CONTEXTE DE BIOTERRORISME

- Bioterrorisme : multiples pathogènes avec faisabilité diagnostique très variable
- Panels syndromiques incontournables actuellement...et rassurants
  - Rester prudent quant aux limites du panel testé +++
  - Filières d'approvisionnement +++
- Nécessité de maintenir des équipes entraînées
  - Diagnostics « de masse » en situation critique
  - Gestion des réactifs
  - Expertise requise +++

**Entraînement + adaptation**

MERCI



[www.chu-lyon.fr](http://www.chu-lyon.fr)



**HCL**  
HOSPICES CIVILS  
DE LYON