SOUS-CHAPITRE 8.3

Maladies infectieuses et bioterrorisme

PATRICE BINDER, ÉRIC HERNANDEZ, HENRI KORN ET JEAN-BAPTISTE MEYNARD

La possibilité d'utilisation à des fins terroristes des agents infectieux ou des toxines pour détruire ou rendre malades des hommes, des animaux ou des plantes, est aujourd'hui une menace qui ne peut être ignorée. Le bioterrorisme cherche à altérer la santé des populations, et l'économie des sociétés qui sont les cibles. Cette menace entretient un climat d'insécurité qui peut dégénérer rapidement en panique : le bioterrorisme est d'abord une « arme de désorganisation massive » avant d'être une « arme de destruction massive ». Au cours de ces dernières années, l'Académie des sciences a consacré plusieurs rapports à cette question : rapport du Comité Science et Défense et conférence organisée en décembre 2001 pour faire le point sur les risques biologiques et les capacités françaises à y faire face (Binder, 2002). Plusieurs études étrangères importantes ont également été effectuées sur ce thème, en Grande-Bretagne par la Royal Society, et surtout aux États-Unis par des institutions académiques et privées. Plus récemment le ministre chargé de la Santé et celui chargé de la Recherche ont commandé une étude sur l'organisation de la lutte contre le bioterrorisme en France au professeur D. Raoult (2003), M. Pierre Lang (2003) a présenté un rapport d'information au Parlement sur le sujet, et, aux États-Unis, M.R. Danzig (2003) a rédigé un mémoire sur cette question. Tous ces travaux sont destinés à alerter l'opinion et les pouvoirs publics, non seulement sur les risques et menaces

actuelles, mais également sur les risques à venir, conséquences négatives de progrès, par ailleurs bénéfiques, en biotechnologie et dans les sciences du vivant. Ces progrès sont aujourd'hui accessibles à tous, grâce notamment, aux vecteurs modernes de l'information. D'où au moins deux risques. Le premier est celui d'une désinformation, le second est de permettre une prolifération non maîtrisée de « recettes » destinées à servir des projets illégitimes et des luttes de pouvoir. Toutes les études précitées insistent sur l'importance de la surveillance des maladies infectieuses, de l'organisation de l'alerte, de la prise en charge de la prévention et des soins, de la formation et de l'information dans la préparation des contre-mesures et des capacités à détenir pour lutter contre le bioterrorisme. Ces préoccupations sont également celles des services et des autorités de tous les États concernés.

Deux aspects du dispositif à mettre en place apparaissent particulièrement critiques ; ce sont : la surveillance épidémiologique, qualifiée de « clé de voûte du dispositif » et les moyens de détection (et de diagnostic) précoces. Ne doivent pas être pour autant oubliées les capacités de prévention-prétraitement et de traitement. À cet égard, des antibiotiques sont aisément disponibles, mais les antiviraux efficaces sont rares et coûteux, les antidotes antitoxines (anticorps et inhibiteurs d'activité) peu efficaces et les vaccins, quand ils existent, sont difficiles à utiliser, d'une part en l'absence de menace caractérisée et, d'autre part, en raison de leurs effets secondaires (variole). Face au bioterrorisme, les vaccins sont donc davantage des auxiliaires de traitement en cas de crise que des moyens de prévention à grande échelle.

Ce chapitre sera volontairement limité au bioterrorisme dont la cible est l'homme. Traiter du bioterrorisme économique visant essentiellement les ressources agroalimentaires nécessiterait des développements dépassant largement le cadre imparti (voir l'article de Thill et Ricci, 2004, consacré au rôle des vétérinaires en biodéfense). Toutefois une étude sur le bioterrorisme impose d'envisager les dispositifs réglementaires et législatifs concernant d'une part la limitation ou la dissuasion des risques et de la prolifération des armes, et, d'autre part, le développement et l'acquisition de capacité pour la conduite des plans d'urgence (tel que le Plan Biotox). Cet aspect sera brièvement évoqué en conclusion.

1 | Perception du bioterrorisme

En 1984, il a fallu plus d'un an pour découvrir l'origine provoquée de l'intoxication alimentaire de 750 habitants de la petite ville de Dalles dans l'Oregon. Des adeptes de la secte Rajneesh avaient contaminé avec des salmonelles les *salad-bars* de la ville, afin de créer un climat d'insécurité propre à peser sur les

résultats des élections locales. Cet épisode, qui entraîna l'hospitalisation d'une quarantaine de personnes, provoqua localement un climat de peur confinant à la panique qui aboutit à des comportements irrationnels dans la population. Il fallu plus de deux ans pour confirmer l'origine de la contamination.

L'attentat meurtrier perpétré à Tokyo, en 1995, à l'aide du gaz sarin¹ par la secte Aum Shinri Kyo fit 12 morts et 5 500 blessés, dont un grand nombre conserveront des séquelles graves. Au cours des mois qui précédèrent, cette secte avait tenté, à deux reprises d'utiliser des agents biologiques pathogènes. La première fois, en 1990, elle avait disséminé de la toxine botulinique A à proximité du Parlement japonais, puis quelques mois plus tard, du *Bacillus anthracis* (Takahashi, 2004). En 1992, des membres de la secte avaient même tenté de se procurer, lors d'une mission au Zaïre, des souches de virus Ebola (Christopher, 1997).

En 1998, dans une conférence prononcée au Sénat américain, David Franz² constatait que le spectre des agents pouvant être utilisés par des terroristes est très étendu. Par exemple, sur les 395 toxines les plus connues, et sur la base de leur toxicité, 17 auraient un intérêt militaire potentiel, 73 pourraient servir à des actes de sabotage en ambiance confinée, et 305 seraient utilisables par des terroristes.

Au début de 2001, des scientifiques australiens décrivaient les conséquences létales inattendues de l'insertion du gène de l'interleukine 4 (IL-4) dans le virus *mousepox* (qui provoque chez les rongeurs une pathologie non mortelle ressemblant à la variole). Selon les auteurs de cette construction, le but poursuivi était de rendre stériles les souris infectées et non de les tuer. Par ailleurs, en juillet 2002, un microbiologiste de l'université de New York décrivait la synthèse *in vitro* de l'ADN d'un poliovirus. Enfin, on sait aujourd'hui que le virus *camel-pox*, non pathogène pour l'homme, ne diffère de celui de la variole que par trois gènes. Ces trois exemples soulignent le caractère inquiétant de certaines dérives potentielles qui pourraient résulter de l'usage non contrôlé du génie génétique et biomoléculaire.

Toutefois, si isoler une bactérie du charbon par pression de sélection ou lui introduire un gène de résistance à un antibiotique est aujourd'hui accessible à un stade « artisanal », faire, en revanche, de la biologie moléculaire sur un virus tel que le virus de la variole nécessite des connaissances plus élaborées et une infrastructure plus coûteuse. On entre ici dans la logique du crime organisé.

¹ Gaz sarin : neurotoxique de guerre de la famille des organophosphorés.

² *Statement for the Joint Committee on Judiciary and Intelligence*. US Senate, 2nd Session 105th Congress, mars 1998.

En conséquence, aujourd'hui, les risques majeurs restent associées aux agents naturels classiquement décrits, mais la vigilance s'impose face à la généralisation de technologies biologiques pour des applications légitimes. Sont particulièrement concernées les applications médicales (usage thérapeutique de toxines, vecteurs de thérapie génique, nanotechnologies et nouveaux concepts galéniques pour améliorer la pharmacocinétique et la biodisponibilité des médicaments) et agroalimentaires (sélection et amélioration des variétés animales et végétales pour alimentation de masse). Il s'agit en effet, à l'évidence, de technologies duales dont la légitimité ne peut être contestée mais dont on perçoit bien la manière dont elles pourraient contourner toutes les règles du droit international.

Le bioterrorisme fait donc aujourd'hui partie des scénarios possibles d'une nouvelle forme de guerre destinée principalement à déstabiliser les démocraties par la création d'un climat permanent d'insécurité. Il faut avoir bien conscience que ce climat est entretenu par le grand nombre des allégations dont il est parfois difficile d'évaluer le caractère fantaisiste ou non. Dans un article consacré aux risques bioterroristes, J. Tucker (1999) écrit : « les enregistrements historiques (d'actes bioterroristes) comportent en réalité un petit nombre de cas où le but recherché par les criminels était d'infliger des « pertes massives ». Il s'agit le plus souvent « d'actes isolés de portée limitée ou d'allégations non fondées (chantage) ». Toutefois, au nom du principe de précaution, les pays les plus concernés ne peuvent pas se désintéresser de « la diffusion des technologies duales et de l'existence de spécialistes en provenance de l'ex-Union soviétique ou l'Afrique du Sud. . . ». Ce sont là des facteurs de prolifération à ne pas négliger.

Recommandations

Il existe actuellement des instances en charge de l'évaluation des risques et des menaces, et de leur prévention. D'autres sont en charge de l'organisation des secours. Ces instances manquent toutefois de visibilité, car les outils pertinents d'analyse et d'aide à la décision, les outils de préparation à la gestion de crise manquent le plus souvent.

Pour répondre à ces besoins, il faudrait :

- disposer d'une institution dédiée aux études sur le terrorisme NRBC, disposant de bases de données scientifiques sans cesse réactualisées en charge d'effectuer régulièrement des synthèses sur le sujet ;
- encourager les recherches en sciences sociale et en gestion sur les processus décisionnels et de conduite nécessaires face à des crises majeures ;

- développer des méthodes de traçabilité des biens à double usage, des matériels biologiques, ainsi que celles permettant de contrôler les transferts de connaissance et de savoir-faire.

2 | Les agents de la menace terroriste

Le Center for Disease Control (CDC) du département de la Santé américain a classifié les agents biologiques potentiellement utilisables pour perpétrer une action terroriste en trois catégories (tableau 8.3-1). La catégorie A comprend les micro-organismes les plus dangereux, car ils peuvent être disséminés facilement ou transmis entre patients par contagion ; ils sont associés à un taux de mortalité élevée et sont susceptibles de provoquer les réactions de panique les plus graves. La catégorie B inclut des micro-organismes et des toxines qui sont, soit à l'origine de maladies de gravité moindre ou moins médiatisées, soit plus complexes à produire ou à disséminer. Enfin, la catégorie C concerne essentiellement les maladies émergentes. Les micro-organismes génétiquement modifiés qui pourraient devenir une menace doivent être considérés comme appartenant à cette dernière catégorie.

L'impact d'une agression terroriste est difficile à évaluer. Selon certaines études, la dissémination d'agents biologiques pourrait entraîner des pertes massives en vies humaines et un nombre de victimes tel que les moyens de secours seraient vite dépassés. Comme le souligne R. Danzig « Le gramme de charbon adressé au sénateur Patrick Leahy contenait 1 milliard de spores de *Bacille* du charbon (*Bacillus anthracis*). L'inhalation de 8 000 à 10 000 spores est supposée entraîner une issue fatale. Un gramme parfaitement dispersé, avec une efficacité totale est donc censé pouvoir causer le décès de plus de 100 000 personnes. En réalité, tout calcul de cette nature est incertain³. Toutefois les approximations suivantes sont vraisemblables : 1 kilogramme de poudre contenant 1 000 millions de spores pourraient infecter 10 000 personnes en tablant sur un rendement de dispersion de 0,1 % ». Le nombre de victimes connues et l'estimation des quantités de spores dispersées sur la ville lors de l'accident de Sverdlovsk en 1979 rendent plausible cette estimation. Des études plus récente sur la dissémination de la variole donnent également des chiffres alarmistes (Meltzer, 2001) mais impossibles à vérifier en pratique.

À côté de ces agents infectieux classiques, il faut accorder une attention particulière aux toxines d'origine microbienne animale ou végétale : ce sont souvent

³L'épisode des enveloppes aux États-Unis d'octobre 2001 ne fit « que » 22 victimes (11 cas de charbon cutané et 11 cas de charbon pulmonaire dont 5 décédèrent). En revanche c'est plus de 4 500 fausses alertes qui ont été déclenchées en France.

Classe A
<i>Variola major</i> (variole)
<i>Bacillus anthracis</i> (charbon)
<i>Yersinia pestis</i> (peste)
Virus des fièvres hémorragiques Marburg-Lassa-Ebola
<i>Francisella tularensis</i> (tularémie)
Classe B
<i>Brucella species</i> (brucellose)
<i>Burkholderia mallei</i> et <i>B. pseudomallei</i> (morve)
<i>Chlamydia psittacii</i>
<i>Clostridium perfringens</i> toxin
<i>Salmonella</i> , <i>shigella</i> , <i>Escherichia coli</i>
<i>Coxiella burnetii</i> (fièvre Q)
Ricine
<i>Rickettsia prowazekii</i> (typhus) et <i>R. rickettsii</i>
Encéphalites virales
Menaces pour la sécurité de l'eau (par exemple l'agent du choléra)
Classe C
Maladies infectieuses émergentes (par exemple, Hantavirus)

Tableau 8.3-1
 Liste du Center for Disease Control (CDC) des principaux agents du bioterrorisme.

de remarquables outils de recherche en biologie et certaines ont des applications en thérapeutique dont les indications ne cessent de s'élargir. La toxine botulinique A (Botox), initialement prescrite pour traiter des blépharospasmes et des cas de torticolis récidivant, a aujourd'hui des indications qui sont moins médicales qu'« esthétiques » : l'élimination des rides. La ricine a été expérimentée depuis de nombreuses années dans des systèmes « immunotoxines » pour détruire des cellules cancéreuses. Il n'est pas utopique d'envisager que certaines neurotoxines, par exemple des agonistes ou des antagonistes de récepteurs associés à des canaux ioniques, des phospholipases A2, des inhibiteurs de cholinestérases, mais également des toxines actives sur les facteurs de la coagulation, aient un jour des applications pharmacologiques. Les possibilités de détournement des toxines protéiques, liées à la facilité de leur production après clonage dans des vecteurs appropriés (levure ou baculovirus par exemple) et à la puissance de

leurs effets, ne doivent pas être méconnues et négligées. Un constat équivalent peut être fait vis-à-vis des vecteurs de thérapie génique. C'est pourquoi, il serait important de promouvoir la mise au point, simultanément avec ces applications légitimes, d'inhibiteurs génériques ou spécifiques de ces vecteurs, par exemple des moyens d'inactiver les virus utilisés en thérapie génique, indépendamment des gènes qu'ils sont amenés à transférer.

Recommandations

Les agents d'une éventuelle menace « bioterroriste » appartiennent à des listes bien connues. Il est légitime que les efforts portent d'abord sur les moyens de prévenir et de traiter les maladies dues aux agents jugés les plus « crédibles ». Ne doivent pas être négligés pour autant, les recherches visant à mieux connaître ces agents et le potentiel d'agents nouveaux, issus d'un détournement toujours possible de techniques mises au point à des fins légitimes, en particulier des toxines.

Il convient donc de poursuivre des études en priorité sur :

- les indicateurs prédictifs liés aux agents et à leurs cibles telle la physiopathologie des maladies infectieuses, en particulier celle de la catégorie A du CDC ;
- la génomique comparative, la protéomique et les transcriptomes de ces agents, notamment pour mieux adapter les démarches thérapeutiques et établir des filiations en cas de nécessité ;
- les facteurs environnementaux favorisant l'émergence des maladies infectieuses.

3 | La surveillance épidémiologique globale, une approche adaptée à la prévention du bioterrorisme

La précocité de la détermination de l'origine d'une action de dissémination d'un agent biologique est un des facteurs clés de réussite d'un plan d'urgence et de maîtrise des risques. L'efficacité du dispositif d'alerte mis en place repose donc sur des réseaux organisés et fonctionnels tels les réseaux d'« alerte épidémiologique » régulièrement activés au niveau international dès qu'il y a suspicion d'émergence d'une maladie infectieuse.

Seuls des indicateurs non spécifiques, mais pertinents, permettent de répondre au besoin de surveillance efficace et rapide pour faire face à un acte bioterroriste. De tels indicateurs de santé ont été appliqués à la reconnaissance précoce d'épidémies ou pour maîtriser les coûts de la santé. Leur exploitation est facilitée par l'introduction de nouvelles technologies pour améliorer l'extraction des données, leur transmission et leur analyse. Le concept de surveillance syndromique est directement issu de cette approche : elle consiste à recueillir et exploiter en temps réel des données sanitaires individuelles et collectives avant que des diagnostics confirmés ne soient disponibles (Mandl, 2004).

Systèmes de surveillance « syndromique »

Des grands rassemblements internationaux, Coupe du monde de football en France en 1998 et Sommet du G8 au Japon en 2000, ont permis de tester ce concept. Toutefois, c'est après le 11 septembre 2001 que la méthode a connu un essor important.

Ainsi, le CDC d'Atlanta a développé des procédures de surveillance épidémiologique destinées à détecter précocement une épidémie (Buehler, 2004). Elles consistent à recueillir quotidiennement en population des informations sur la présence ou de l'absence de descripteurs reliés à des syndromes prédéfinis. La localisation géographique de ces populations doit être connue avec précision. Après traitement, des indicateurs pertinents d'alerte permettent de déclencher la recherche d'informations complémentaires. Il va de soi que la préservation du caractère confidentiel des enquêtes nécessaires est un facteur essentiel pour obtenir l'adhésion du public à ce dispositif. Le Syndrome Reporting Information SystemTM (SYRIS) est une approche développée aux États-Unis qui répond à ce besoin⁴.

Une des limites actuelles de la méthode vient des applications statistiques destinées à l'analyse des données recueillies en temps réel, par exemple les modèles linéaires généralisés mixtes, utilisés pour la surveillance de la maladie du charbon dans le Massachusetts. Ces applications doivent encore être améliorées.

Toutefois la surveillance syndromique n'est pas exempte de critiques. D'abord, les délais d'investigations complémentaires peuvent contrecarrer la précocité décisionnelle recherchée, avantage principal de l'approche. Par ailleurs, le manque de spécificité et de sensibilité de la méthode reste un facteur limitant : le travail sur les systèmes de surveillance des maladies et symptômes potentiellement liés au bioterrorisme, effectué par une équipe de l'université de

⁴Al Zelicoff, Syndrome Reporting Information SystemTM (SYRIS),
<http://syris.arescorporation.com/alpha/>

San Francisco, est assez critique à cet égard. Il est donc encore prématuré de proposer ces systèmes comme outils d'aide à la décision en santé publique, y compris dans un cadre dual. Ils complètent les systèmes de surveillance traditionnels, mais ne doivent en aucun cas les remplacer totalement (Bravata, 2004).

Recommandations

La surveillance des maladies liées au bioterrorisme sera d'autant plus efficace et donc crédible, que les méthodes de recueil et d'analyse seront fiables et discriminantes. Cela nécessite :

- d'améliorer les algorithmes décisionnels, intégrant des informations d'ordre épidémiologique, géographique, sociologique. . . Divers scénarios à définir doivent servir à valider ces programmes ;
- de poursuivre les études de modélisation en épidémiologie des maladies infectieuses, en particulier pour les maladies contagieuses ;
- de faire appel aux outils de l'intelligence artificielle dans une perspective de surveillance en temps réel.

4 | Les outils de la détection et du diagnostic précoce

La « détection » est destinée à donner l'« alerte » et à contrôler le bien-fondé de celle-ci. Il s'agit donc de surveiller l'environnement et de disposer d'outils et d'architectures pour procéder à des recherches à cet effet. Une étude publiée aux États-Unis en février 2003 par G. Joyce pour la société MITRE (Programme Jason) considère que les technologies et les composants pour une architecture de biodétection seront accessibles dans les cinq prochaines années.

Le diagnostic biologique précoce complète et prolonge le dispositif de détection en s'adressant plus particulièrement à des victimes réelles ou potentielles : il permet le dépistage des premiers cas. Certains laboratoires de biologie contribuent également à l'expertise pour l'identification et la caractérisation des agents. Ce sont des laboratoires référents. Au centre du dispositif d'alerte, le laboratoire référent doit donc disposer de techniques validées pour l'identification des agents « à risque ». Il doit également être en mesure d'adapter les méthodes dont il dispose à la recherche d'agents atypiques ou « exotiques ». Il ne peut assurer ce rôle que dans le cadre de réseaux nationaux, européens et internationaux, seuls capables de couvrir l'étendue du spectre des possibles et d'assurer la fiabilité des processus mis en œuvre.

La démarche analytique aboutissant à la caractérisation taxinomique et phylogénique de l'agent présumé est rigoureuse et obéit à des règles de bonne pratique allant du prélèvement à la communication et l'archivage des résultats.

Les prélèvements, qui doivent être conditionnés et identifiés de manière à assurer leur traçabilité, sont orientés soit par le renseignement, soit par les signes cliniques observés. Chez l'homme, après exposition ou allégation d'exposition, ils sont bien codifiés. Des échantillons en provenance de l'environnement, y compris de la faune sont indispensables en cas d'allégation d'acte terroriste. Ils servent à la fois à la surveillance des « zones à risque » et au balisage des « zones de danger ».

Les protocoles analytiques réalisés avec ces prélèvements suivent un schéma classique de bonne pratique allant de l'examen direct à l'état frais et après coloration (des bacilles à Gram positif et à bout carré évoqueront le *B. anthracis*) à des techniques de recherche d'antigènes et de caractérisation de séquences nucléotidiques beaucoup plus spécifiques.

La recherche d'antigènes viraux, bactériens ou de toxines est possible à l'aide de nombreux tests (immunofluorescence, cytométrie de flux, immunotransfusion, Elisa, Elifa. Une nouvelle génération de tests immunochromatographiques sur bandelettes, simples et pratiques, a été développée pour le diagnostic de certains agents bactériens comme la peste ou le charbon et de toxines comme celle du botulisme et la ricine. Ces tests, peu encombrants et de faible coût, n'ont de valeur que s'ils sont positifs.

L'identification de séquences nucléotidiques est à la fois plus sensible et plus spécifique. C'est grâce à l'identification statique et dynamique de ces marqueurs bactériens ou viraux, et également en provenance des cellules de l'hôte infecté, que les innovations les plus spectaculaires sont à prévoir. La réaction de polymérisation en chaîne qualitative (PCR) permet actuellement le diagnostic en 24 heures. Des techniques PCR multiplexes ont été expérimentées sur le terrain. Des protocoles de PCR existent pour les principaux agents du bioterrorisme tels que *B. anthracis* (mise en évidence des plasmides pXO1, pXO2) (Ramisse, 1996), *Y. pestis*, les *Brucella*, *F. tularensis*, les *Burkholderia*, les poxvirus y compris la variole, et les virus de certaines fièvres hémorragiques ou de certaines encéphalites. La recherche d'ARN exige une étape de transcription inverse (RT-PCR). Indispensable pour certains virus, elle s'applique également à la recherche des ARN messagers qui permet de suivre l'expression très précoce des gènes du cycle de réplication. La capture d'hybrides qui consiste à rechercher par immunochimiluminescence des hybrides ADN/ARN est une autre façon d'exploiter la spécificité de reconnaissance de séquences nucléotidiques complémentaires.

Dans un proche avenir, seront disponibles des techniques miniaturisées automatisables et rapides telles que les microsenseurs optiques ou piézo-électriques, les « puces à ADN ». La technologie des « puces à ADN » (ou *microchips*) permet de miniaturiser et d'étendre l'exploitation des techniques d'identification de séquences d'acides nucléiques. Il est en effet possible d'envisager la caractérisation précoce de la réponse cellulaire à une infection. Le temps de réponse de ces puces est bref, quelques dizaines de minutes, au détriment de leur sensibilité qui est pour le moment limitée (par exemple, environ 10^5 - 10^7 organismes/L pour *Y. pestis* ou *B. anthracis*). Les *cDNA microrrays* devraient conduire à des résultats intéressants comme signatures d'états précliniques. Ainsi des résultats ont été obtenus chez l'animal en réponse à différents agents, dont l'entérotoxine staphylococcique B. Dans le cas d'actes bioterroristes, cette approche pourrait s'avérer utile afin de suivre des sujets « impliqués » et de gérer de manière adaptée les traitements avant l'apparition des premiers symptômes (Stenger, 2002).

Le génotypage est indispensable afin de déterminer l'appartenance clonale et l'origine géographique des souches de micro-organismes suspectes. Cette caractérisation peut donc avoir un intérêt stratégique et juridique. Les méthodes disponibles sont nombreuses (Ribotypie, RFLP, séquençage) mais la détermination de séquences « minisatellites » (variables *tandems repeats* ou VNTR) est actuellement la plus précise. Cette technique est opérationnelle pour le bacille du charbon, la peste et la tularémie (Le Fleche, 2001).

Enfin, les laboratoires référents doivent pouvoir accéder à un souchier sécurisé évolutif afin d'être en mesure de procéder à des comparaisons et mettre au point ou évaluer de nouvelles techniques correspondant à la fois à l'état de l'art et à celui de la menace. Cela exige des structures et des procédures conformément à l'arrêté ministériel du 15 janvier 2004⁵.

Recommandations

La détection, le diagnostic précoce, la caractérisation génotypique des micro-organismes sont des champs scientifiques d'investigation prioritaires pour la prise en compte des risques bioterroristes. Il convient donc de développer des plates-formes technologiques pouvant offrir toute la gamme des outils disponibles à cet effet et d'améliorer ces techniques en faisant appel à des filières pluridisciplinaires innovantes.

⁵ Arrêté relatif à la mise en œuvre, l'importation, l'exportation, la détention, la cession à titre gratuit ou onéreux, l'acquisition et le transport de certains agents responsables de maladies infectieuses, micro-organismes pathogènes et toxines.

Il faut donc :

- entretenir des pôles de compétences capable de préparer et de développer des outils susceptibles de détecter et d'identifier les agents majeurs (liste A) à l'aide de méthodes fiables, accessibles et adaptées aux contraintes d'emploi sur le terrain et au diagnostic rapide des pathologies qu'ils entraînent ;
- disposer de laboratoires ayant la maîtrise des techniques de recherche et d'identification d'agents microbiologiques émergents ; ces structures doivent disposer de souchiers accessibles aux laboratoires référents concernés ;
- favoriser les approches multidisciplinaires portant à la fois sur les caractéristiques des agents à identifier, mais également sur les méthodes d'ingénierie et d'analyse du signal ;
- promouvoir les études conduisant au diagnostic des affections en cause, dès les premières réactions de l'organisme à l'agression.

5 | Les approches prophylactiques et thérapeutiques

La prévention et le traitement des maladies déclenchées par les agents de risques biologiques « intentionnels » nécessitent des réserves de produits anti-infectieux et d'antidotes dont les caractéristiques soient compatibles avec la situation de crise : spectre d'activité le plus large possible, conditions de conservation peu exigeantes, longue durée de vie, mode d'administration simple, contre-indications réduites et faible coût. La création de stocks nationaux, voire mutualisés au niveau international a été proposée à plusieurs reprises. Toutefois, cette option économiquement et politiquement séduisante, comporte des contraintes, entre autres de règles de partages des coûts, des savoir-faire et de priorité d'accès, difficiles à négocier. Pour leur part, les États-Unis ont planifiés la création d'un « National Pharmaceutical Stockpile » sous l'égide des CDC (Havlak, 2002). Les besoins prioritaires portent sur les sérums et vaccins, les antibiotiques et les antiviraux. Des antidotes spécifiques permettant de traiter les intoxications sont souhaitables. Mais les solutions restent encore largement du domaine de la recherche amont.

Les antibiotiques sont actifs contre les infections bactériennes. Certains ont été recommandés par les autorités de santé publique (Afssaps) pour constituer des stocks de précaution en vue de faire face à un acte bioterroriste. Il s'agit de la doxycycline, de fluoroquinolones (Ciprofloxacine®, Ofloxacine®,

Levofloxacin[®]) et de la rifampicine. Toutefois, la possibilité de l'existence ou de l'émergence de bactéries résistantes ne doit pas être méconnue. *Burkholderia mallei* et surtout *B. pseudomallei* restent les bactéries les plus difficiles à traiter en raison d'une résistance constante, notamment aux aminopénicillines, à la céphalothine, et aux nitrofuranes. Par ailleurs ils répondent mal au traitement par les fluoroquinolones. À part une résistance naturelle à l'association triméthoprim sulfaméthoxazole, *B. anthracis* est sensible à de nombreux antibiotiques. Il existe une résistance à la pénicilline G et à l'amoxicilline dans environ 8-10 % des cas. Les céphalosporines de troisième génération ont une mauvaise activité et ne doivent pas être utilisées en thérapeutique (Cavallo, 2002). Des résistances de *Y. pestis* à l'imipénem, à la rifampicine et à la streptomycine ont été décrites. Enfin, *F. tularensis* est naturellement résistante à la rifampicine, et la spectinomycine.

La résistance peut être acquise par mutation ou transfert de gènes, elle peut donc être le fait de manipulations volontaires : « pressions de sélection » ou protocoles plus sophistiqués de génie génétique. Les altérations les mieux connues concernent *B. anthracis*, pour lequel ont été décrites des résistances expérimentalement induites à la doxycycline et aux fluoroquinolones (Brook, 2001) ainsi qu'à la rifampicine (Pomerantsev, 1993). L'utilisation des antibiotiques comme parade à une agression bioterroriste impose donc des antibiogrammes de contrôle permettant de vérifier l'absence de résistance naturelle ou induite.

L'éventail des antiviraux disponibles et efficaces est assez réduit. En pratique, si la Ribavirine[®] est le traitement de choix de certaines fièvres hémorragiques (fièvre de Lassa, Crimée-Congo), elle n'a aucune action sur les infections à Marburg et Ebola. Le Cidofovir[®] été recommandé pour le traitement de la variole, mais son efficacité n'est pas complètement établie (Bronze 2003).

La connaissance de la pathogénie des maladies virales permet d'identifier les sites moléculaires critiques à cibler par un médicament en prenant principalement en considération ce qui détermine les processus clés de l'infection. L'exemple le plus représentatif est celui de la grippe. La neuraminidase est un enzyme clé des premières étapes de l'infection. Elle est bloquée par des anticorps après vaccination. Toutefois, la variabilité épitopique de l'enzyme rend cette approche aléatoire. La connaissance des mécanismes de liaison de la neuraminidase à sa cible, l'acide sialique, a permis de concevoir des familles de molécules mimant cet acide (le Zanamivir[®] par exemple). D'autres approches sont en cours d'investigation. Ainsi, l'interférence par RNA est un mécanisme antiviral naturel qui commence à être exploité pour inhiber de manière ciblée l'expression de gènes viraux « *in vivo* » (Downward, 2004).

L'immunoprotection active vis-à-vis des agents du bioterrorisme est une option qui n'est envisageable que pour renforcer une approche thérapeutique ou pour

faire face à un risque d'extension épidémique après un acte délibéré dont l'origine a été identifiée et si le vaccin existe (variole par exemple) (Binder, 2003, Hilleman, 2002). L'association aux vaccins de molécules spécifiques, telles que cytokines ou adjuvants de nouvelle génération, dans le but d'accroître l'immunité locale (Yuki, 2003) et de réduire les délais de réponse, permettra de renforcer et d'orienter la réponse du système immunitaire. Mais les conséquences indirectes de ces pratiques (neuro-endoriniennes par exemple) ne sont pas à négliger.

La prophylaxie passive et la thérapeutique à l'aide d'anticorps humains ou « humanisés » sont des voies prometteuses (Casadeval, 2002). Conceptuellement, cette approche est intéressante du fait de son action immédiate, même si elle est limitée dans le temps. Les anticorps restent ici l'option thérapeutique la plus raisonnable face aux toxines car il n'existe pas d'antidotes spécifiques (que ce soit celles du botulisme, du charbon ou la ricine). La conception d'antidotes des interactions molécules-cibles en utilisant des techniques de chimie combinatoire et de simulation informatique est un domaine qui reste encore très largement au stade de la recherche.

La recherche de principes actifs n'est qu'une des facettes de la satisfaction des besoins en moyens de prévention et de traitement. Pour de raisons de coût et d'innocuité, il est nécessaire de réduire les quantités d'anti-infectieux ou d'antidotes administrés. Par ailleurs, la voie d'administration est un des facteurs clés du succès d'un traitement « de masse ». Aussi, la prise unique de médicament par voie transdermique, aérosol ou orale est à privilégier ; la mise en œuvre de nanoparticules chargées en antibiotiques a démontré son efficacité, par voie orale, dans des cas de salmonellose expérimentale murine.

Recommandations

La mise à disposition de moyens de prévention et de traitement pour faire face aux conséquences d'actes bioterroristes doit être une priorité. La rédaction par l'Agence française de sécurité sanitaire des produits de santé (Afssaps) de fiches thérapeutiques ne résout pas toutes les difficultés. La mise au point de nouveaux médicaments (vaccins antivarioriques de seconde et troisième génération, sérums antitoxines botuliniques ou contre la ricine, vaccins à usage thérapeutique contre la maladie du charbon, antiviraux) est également un défi à relever. Elle dépend d'une part de contraintes scientifiques et techniques et, d'autre part, de dispositions réglementaires et éthiques qui imposent, de manière tout à fait compréhensible, des étapes et des contrôles rigoureux engendrant des délais de plusieurs années avant la mise sur le marché d'un nouveau médicament. Il est donc important :

- de promouvoir sans tarder au niveau national, et si possible européen, des programmes scientifiques de recherche pluriannuels destinés à améliorer les capacités de prévention et de traitement d'affections dues aux agents du bioterrorisme, en particulier ceux de la liste A (priorité 1) ;
- d'améliorer nos capacité de gestion logistique d'une crise, ce qui suppose que soient planifiées et résolues les difficultés de production, de stockage, et de distribution des thérapeutiques nouvelles. En regard des bénéfices attendus à court terme, l'industrie privée est encore hésitante à investir. Des incitations destinées à promouvoir des développements et des investissements ciblés pour permettre d'acquérir les capacités nécessaires soit au niveau national, soit par mutualisation au niveau européen, doivent être sérieusement envisagées (Sundelius, 2004) ;
- de prévoir un dispositif réglementaire adapté, souple et réactif, permettant de lancer et de financer des programmes de développement et d'acquisition de médicaments destinés à être prescrits uniquement en cas d'action terroriste.

Conclusion

La plupart des grands pays industrialisés s'accordent sur la nécessité de disposer de moyens, d'outils et de procédures destinés à réduire leur vulnérabilité face à la menace bioterroriste et à anticiper les risques. Ils s'interrogent sur la meilleure stratégie à adopter afin d'éviter des écueils tels que le caractère réduit des fonds publics disponibles et la difficulté d'intégrer, dans l'ordre des priorités nationales, une menace classée à un niveau très bas dans l'échelle des probabilités.

Les États-Unis ont choisi de consacrer depuis plusieurs années des sommes considérables à leur politique de lutte contre le bioterrorisme à travers notamment l'initiative « Bioshield » (6 milliards de dollars) (Fox, 2003), et ce malgré la dégradation de leur système de santé publique. Des centres de recherche universitaires pour la biodéfense ont été créés (Le Center for Civilian Biodefense Strategies de l'université de Pittsburgh, par exemple⁶) ainsi qu'un « bureau fédéral de supervision » (National Science Advisory Board for Biosecurity) afin de coordonner les recherches et celles des CDC. Enfin, une agence d'État chargée d'harmoniser les actions a été mise en place, le Homeland Security Department.

En Europe, après le 11 septembre, la Commission européenne a pris des initiatives destinées, entre autres, à améliorer les procédures d'alerte et à établir des méthodes de détectations standardisées. Le Health Security Committee (HSC) a

⁶<http://www.upmc-biosecurity.org/>

agréé, dès décembre 2001, un programme de coopération contre une attaque chimique ou biologique. Malgré les balbutiements de la politique européenne de santé publique, des actions concrètes ont été menées. Ainsi une enquête, en 2001, a montré qu'il existait au moins 18 instituts de santé publique appartenant à 16 pays prêts à se coordonner pour la surveillance épidémiologique. Le projet de Constitution européenne a introduit dans son article 42 une véritable clause de solidarité entre les États membres « pour les victimes d'attaques terroristes ou les désastres déclenchés par l'homme... », une « *Task force on bioterrorism* » a été chargée d'élaborer une politique européenne à cet effet et, en décembre 2003, le Conseil de l'Europe a établi un « European Center for Diseases Prevention and Control » (ECDC) installé en Suède en 2005. Ce centre sera chargé de coordonner les relations avec les États-Unis relatives à son domaine de compétence. Par ailleurs, le « European Agency for the Evaluation of Medicinal Products » (EMA) a édité un guide d'utilisation, régulièrement mis à jour, des produits médicaux destinés au traitement et à la prévention d'affections pouvant être déclenchées par un acte bioterroriste. Si beaucoup reste à faire en termes de recherche et développement, un appel à proposition préparatoire pour le « renforcement du potentiel de l'industrie européenne en matière de recherche sur la sécurité » a été publié en février 2004. Il comporte une rubrique « protection contre le terrorisme ».

Enfin, en France, les pouvoirs publics, sous l'égide du Secrétariat général à la Défense nationale (SGDN) ont depuis de nombreuses années intégré la menace terroriste dans des plans d'urgence gouvernementaux tel le plan Biotox qui prévoit des dispositions pour la prise en charge et la prévention des risques bioterroristes. De son côté, le ministère de la Défense conduit depuis de nombreuses années des programmes de recherche et de développement destinés à faire face à des agressions chimiques et biologiques. Son rôle de soutien des ministères de l'Intérieur et de la Santé dans la mise en œuvre des plans ci-dessus est précisé dans ce qu'il est convenu d'appeler la « projection intérieure des forces ». La loi sur la sécurité intérieure du 18 mars 2003 et la loi Perben II du 9 mars 2004 renforcent le dispositif législatif de la loi 72-467 du 9 juin 1972 concernant l'interdiction de fabrication et de détention d'armes biologiques. Cette loi avait été prise après l'adoption de la Convention d'interdiction des armes biologiques (CIAB) que la France n'a signé et ratifiée qu'en 1984 en raison de l'absence de mesures de vérification de ce traité.

Sur le plan technique, différentes dispositions législatives visent à contrôler, dans la mesure du possible, d'une part la circulation de souches de micro-organismes pathogènes, et, d'autre part, leur utilisation dans des recherches impliquant des organismes génétiquement modifiés⁷. Enfin, le titre premier,

⁷ Directive européenne 2001/18 modifiant la directive 90/220 sur laquelle s'appuie la loi 92-654 du 13 juillet 1992 relative au contrôle de l'utilisation et de la dissémination des organismes génétiquement modifiés (OGM)...

chapitre III du Code de la santé publique est consacré à la gestion des menaces sanitaires graves. Pour améliorer la veille sanitaire, il confie un rôle déterminant à l'Institut de veille sanitaire et aux centres nationaux de référence (CNR). L'encadrement de la manipulation et de la circulation des micro-organismes et des toxines figurera au titre III de ce code. En somme, la France dispose d'un arsenal juridique non négligeable et elle met sur pied un programme de recherche et développement interministériel qui comporte un plan d'action dédié aux recherches consacrées aux principales maladies infectieuses et toxines concernées par le bioterrorisme. Ce programme, encore insuffisant, doit maintenant être financé et coordonné par un comité interministériel ayant pour mission de veiller à la cohérence des actions entreprises par rapport à l'objectif capacitaire clairement affiché. Ces recherches sont par essences duales et ne peuvent donc se concevoir en dehors d'une forte implication civilo-militaire à travers un réseau d'équipes associées.

Références bibliographiques

- Binder P., Delolme H. (2002). Dangers, menaces et risques : des leçons du passé vers une posture de défense pour l'avenir. *C R Biol*, **325** : 887-96.
- Binder P. *et al.* (2003). Medical management of biological warfare and bioterrorism : place of the immunoprevention and the immunotherapy. *Comp Immunol Microbiol Infect Dis*, **26** (5-6) : 401-21.
- Bravata DM. *et al.* (2004). Systematic review : surveillance systems for early detection of bioterrorism-related diseases. *Ann Intern Med*, **140** : 910-22.
- Bronze MS., Greenfield RA. (2003). Therapeutic for diseases due to potential viral agents of bioterrorism. *Curr Opin Invest Drugs*, **4** : 172-8.
- Brook I. *et al.* (2001). In vitro resistance of *Bacillus anthracis* Sterne to doxycycline, macrolides and quinolones. *Int J Antimicrob Agents*, **18** : 559-62.
- Buehler JW. *et al.* (2004). Framework for evaluating public health surveillance systems for early detection of outbreaks : recommendations from the CDC Working Group. *MMWR Recomm Rep*, **53** : 1-11.
- Casadeval A. (2002). Passive antibody administration (immediate immunity) as a specific defense against biological weapons. *Emerg Infect Dis*, **8** : 833-41.
- Cavallo JD. *et al.* (2002). Antibiotic susceptibilities of 96 isolates of *Bacillus anthracis* isolated in France between 1994 and 2000. *Antimicrob Agents Chemother*, **46** : 2307-9.
- Christopher WG. *et al.* (1997). Biological warfare. A historical perspective. *JAMA*, **278** : 412-417.

- Danzig R. (2003). *Catastrophic bioterrorism – What is to be done?* Center for Technology and National Security Policy, 31 pp., Washington DC., 33 pp.
- Downward J. (2004). RNA interference. *BM*, **328** : 1245-4.
- Fox JL. (2003). US budget/Bioshield initiative emphasizes bioterrorisme countermeasures. *Nature Biotech*, **21** : 216.
- Hamamieh R. *et al.* (2003). Genetic variations in peripheral blood mononuclear cells in piglets used as an animal model for staphylococcal enterotoxin exposures. *OMICS. Winter*, **7** : 401-9.
- Havlak R. *et al.* (2002). Challenges associated with creating a pharmaceutical stock to respond to a terrorist event. *Clin Microbiol Infect*, **8** : 529-33.
- Hilleman MR. (2002). Overview : cause and prevention in biowarfare and bioterrorisme. *Vaccine*, **20** : 3055-67.
- Lang P. (2003). *Rapport d'information 1097 sur le bioterrorisme*. Commission de la Défense nationale.
- Le Fleche P. *et al.* (2001). A tandem repeats database for bacterial genomes : application to the genotyping of *Yersinia pestis* and *Bacillus anthracis*. *BMC Microbiol*, **1** : 2.
- Mandl KD. *et al.* (2004). Implementing syndromic surveillance : a practical guide informed by the early experience. *J Am Med Inform Assoc*, **11** : 141-50.
- Meltzer MI. *et al.* (2001). Modeling potential responses to smallpox as a bioterrorism weapon. *Emerg Infect Dis*, **7** : 959-69.
- Pomerantsev AP. *et al.* (1993). Characterization of a Rif-R population of *Bacillus anthracis*. *Antibiot Khimioter*. **38** : 34-8.
- Raoult D. (2003). Rapport de mission sur le bioterrorisme, 17 juin 2003 : 374 pp.
- Ramisse V. *et al.* (1996). Identification and characterization of *Bacillus anthracis* by multiplex PCR analysis of sequences on plasmids pXO1 and pXO2 and chromosomal DNA. *FEMS Microbiol Lett*, **145** : 9-16.
- Stenger DA. *et al.* (2002). Potential applications of DNA microarrays in biodefense-related diagnostics. *Curr Opin Biotechnol*, **13** : 208-12.
- Sundelius B., Grönvall J. (2004). Strategic dilemmas of biosecurity in the European Union. *Biosec Bioter : Biodef Strat, Pract, and Sci*, **2** : 17-23.
- Takahashi H. *et al.* (2004). *Bacillus anthracis* incident, Kameido, Tokyo, 1993. *Emerg Infect Dis*, **10** : 117-120.

- Thill M., Ricci F. (2004). Bioterrorisme. Justification de l'implication des vétérinaires dans les plans de prévention et de gestion de crise. *Med Arm*, **32** (1) : 57-66.
- Tucker JB. (1999). Historical trends related to bioterrorism : an empirical analysis. *Emerg Infect Dis*, **5** : 498-504.
- Yuki Y., Kiyono H. (2003). New generation of mucosal adjuvants for the induction of protective immunity. *Rev Med Virol*, **13** : 293-310.