

Infections invasives à méningocoques 2001-2003

Données du Centre national de référence

Source : Centre national de référence des méningocoques, Unité des *Neisseria*, Département de médecine moléculaire, Institut Pasteur, 25-28 rue du Dr Roux, 75724 Paris cedex 15.

Synthèse réalisée par : Jean-Michel Alonso, Muhamed-Kheir Taha, Pascale Vienne, Magaly Ducos-Galand, Annie Guiyoule, René Pires, Dario Giogini

Points essentiels

- Baisse du nombre de souches de méningocoques reçues au CNR de 6,5 % en 2003.
- Les sérogroupes B (58,6 %) et C (31,1 %) restent prédominants avec une diminution de la progression du séro groupe C en 2003.
- Le séro groupe W 135 est aussi en diminution : 9,3 % en 2002 et 5,9 % en 2003.
- La sensibilité aux antibiotiques des souches de méningocoques isolées en France est évaluée systématiquement : la résistance à la rifampicine est très rare (1 souche résistante en 2003) et en dehors de la spiramycine, la résistance aux antibiotiques des souches de méningocoques isolées en France ne progresse pas en France en 2003.

1. Introduction

Les infections à *Neisseria meningitidis*, le méningocoque, sont dominées par les méningites et les méningococcémies (septicémies) qui peuvent se compliquer de *purpura fulminans* et de choc septique mortel. D'autres formes cliniques plus rares doivent être connues et recherchées, telles que des arthrites et des péricardites ou des pneumonies invasives, confirmées par la découverte d'une bactériémie. La présence de *N. meningitidis* dans le sang (révélée par hémoculture ou par amplification génique) caractérise une infection méningococcique invasive, qu'elle qu'en soit l'expression clinique. Le traitement antibiotique est efficace à la phase précoce de dissémination des bactéries, mais la cascade inflammatoire du choc septique ne peut être contrée par aucun traitement spécifique à ce jour. Cette dualité de la maladie : processus infectieux inaugural aisément curable/complication septique incurable, impose un algorithme diagnostique urgent pour l'instauration du traitement spécifique et la mise en œuvre de mesures prophylactiques de l'entourage du malade.

2. Méthodes

Le Centre national de référence des méningocoques (CNRM) collabore avec un réseau de correspondants nationaux incluant plus de 700 laboratoires qui adressent leurs souches pour confirmation, détermination du groupe antigénique capsulaire (séro groupe), du sérotype (protéine de membrane externe PorB) et sous-type (protéine de membrane externe PorA) et antibiogramme de référence. Toute suspicion de cas groupé fait l'objet d'un typage moléculaire des souches exprimant

des phénotypes analogues. Les données de surveillance nationales sont régulièrement évaluées avec l'Institut de veille sanitaire (InVS) et la Direction générale de la santé (DGS) auxquels la liste des souches invasives est communiquée chaque quinzaine. Les correspondants qui n'appliquent pas (encore) les techniques de diagnostic et de génogroupage nous adressent des échantillons pathologiques (sang, LCR et autres fluides biologiques, ainsi que des biopsies de lésions purpuriques) dans lesquels l'ADN de *N. meningitidis* peut être détecté par PCR avec indication du séro groupe par amplification des gènes de la capsule (génogroupage).

Une surveillance internationale est instaurée en partenariat avec l'European Monitoring Group on Meningococci et l'Organisation mondiale de la santé.

Les modalités de recueil des souches et des prélèvements adressés pour diagnostic et typage moléculaires sont organisées selon des procédures indiquées à tous nos correspondants. Les milieux de transport spécifiques pour les souches de *Neisseria* (milieu de Vandekerkove) sont fournis et envoyés gratuitement aux correspondants nationaux du CNR. Des fiches de renseignements sont également fournies ainsi que le dispositif d'étiquetage à l'adresse du CNR. Les fiches de renseignement, pré-identifiées à l'adresse du CNR des méningocoques, comportent les questionnaires concernant les données cliniques, épidémiologiques et bactériologiques, incluant la détermination du séro groupe. Compte tenu de l'urgence à instaurer une prophylaxie appropriée à l'entourage de chaque cas d'infection invasive, les expertises concernant le type antigénique et la sensibilité aux antibiotiques sont communiquées extemporanément au correspondant par téléphone.

3. Résultats

3.1. Bilan des infections invasives à *Neisseria meningitidis*

L'examen des données sur les infections invasives à *N.meningitidis*, établies d'après le nombre de souches adressées au CNRM depuis 1989 (figure 1), indiquait une incidence croissante de 1995 à 2002. En 2003, nous avons observé une diminution globale du nombre de souches de 6,5 %.

Le séro groupe B reste prédominant avec 58,6% des cas. La fréquence des souches du séro groupe C qui était en progression depuis 2000, n'atteint plus que 31,1 % en 2003 au lieu de 38,2 % en 2002. Le séro groupe W135 détecté dans des méningococcies en France depuis 1994 atteignait une fréquence de 9,3 % en 2002, qui montrait la progression continue de ce séro groupe; elle n'a atteint que 5,9 % en 2003. La fréquence du séro groupe Y est de 3,8 % (la fréquence moyenne des 15 dernières années est de 3,27 %) et est très majoritairement associée à des cas survenant chez des patients immunodéficients (déficits en complément, sujets âgés souffrant de pneumopathie invasive, etc.).

La distribution des séro groupes incriminés dans les cas d'infections invasives (méningites, septicémies, arthrites, péricardites) survenus en France en 2003 figure au tableau 1.

Ces données n'intègrent pas les cas pour lesquels la culture a échoué diagnostiqués par amplification génique (PCR) figurant au tableau 2.

Les cas sont le plus souvent sporadiques. Les souches présentent une diversité génotypique ou des génotypes analogues, mais sont incriminées dans des infections sans lien direct entre les cas. L'absence d'expansion épidémique est sans doute due à la rapidité et l'efficacité des mesures de

prévention de la dissémination de l'infection à partir d'un cas primaire qui sont systématiquement appliquées, dès que le sérotype de la souche est identifié (dernières recommandations de la DGS sur la prophylaxie des infections à méningocoques, publiées au BEH n°39/2002).

3.1.1. Infections méningococciques mortelles

Le taux de létalité atteint 9,9 % en 2003, comme en 2002. Dans 25/57 cas, la souche était du sérotype B (43,8 %), dans 27/57 cas, elle était du sérotype C (47,4 %), du sérotype Y dans 3 cas et dans 2 cas du sérotype W135. Le taux de mortalité a atteint 35 % chez les enfants de moins de 5 ans.

3.1.2. Les populations atteintes d'infections invasives à *N. meningitidis*

La figure 2 montre l'évolution des isolats de *N. meningitidis* d'infections invasives par classes d'âges. La classe d'âge qualifiée de plus de 25 ans comprend en fait essentiellement des patients de plus de 65 ans (avec une majorité de méningococcémies) et des adultes plus jeunes mais atteints de déficits immunitaires acquis (cancers et traitements cytotoxiques, infections à VIH, éthylogisme chronique, etc.). Des déficits immunitaires primaires tels que des déficits en complément (de C5 à C9) en properdine ou en IgG sont révélés chez des adolescents ou jeunes adultes infectés le plus souvent par des sérotypes Y, X, ou W135.

3.2. Surveillance de la sensibilité de *N. meningitidis* aux antibiotiques

Les profils de sensibilité des souches de *N. meningitidis*, isolées de divers sites de prélèvement, à la pénicilline G, à la rifampicine et la spiramycine qui sont actuellement les antibiotiques d'intérêt thérapeutique ou prophylactique, sont systématiquement déterminés (tableau 3). La comparaison des souches invasives isolées entre 1999 et 2002 (1) et en 2003 montre que toutes les souches invasives étaient sensibles au céfotaxime et à la ceftriaxone, au chloramphénicol et à la ciprofloxacine.

La résistance à la rifampicine reste très rare. Une souche résistante à la rifampicine a été isolée pendant la période entre 1999-2002 et une autre a été isolée en 2003. Ces deux souches sont du sérotype C mais appartiennent à deux lignées génétiques différentes. Les souches de sensibilité réduite à la spiramycine ont augmenté, de 23,1 % pour la période 1999-2002 à 46,9 % en 2003.

Les souches étaient résistantes à la streptomycine (>99 %), et 69 % (1999-2002) et 63,3 % (2003) étaient résistantes aux sulfamides.

La distribution des phénotypes des souches isolées en France en 2003 en fonction de leur sérotype est exposée au tableau 4. La détermination de la Concentration Minimale Inhibitrice (CMI) est réalisée à l'aide des bandelettes E-test (AB Biodisk, Solna, Suède) sur le milieu Gono-méningo (BIORAD) en boîtes carrées 12 x 12. Les boîtes sont ensemencées par inondation avec 3ml d'une suspension bactérienne à 0,5 McFarland. Les boîtes sont incubées en position inversée pendant 24 h à 37°C.

La standardisation des conditions techniques de réalisation de ces déterminations est primordiale car des discordances apparaissent parfois entre laboratoires selon le milieu de culture, la densité de l'inoculum bactérien et les conditions d'incubation. C'est dans le but d'établir et valider un consensus

sur la standardisation de ces paramètres qu'une étude multicentrique a été réalisée au sein du "European Monitoring Group on Meningococci" (2).

Les déterminations des concentrations minimales inhibitrices (CMI) de la pénicilline G ont montré que la CMI de 0,125 mg/L, retenue comme valeur-seuil de sensibilité diminuée, était atteinte ou dépassée par 31,2 % des souches d'infections invasives pour la période 1999-2003 et 28,6 % en 2003. L'apparition de variants de *N. meningitidis* de sensibilité diminuée à la pénicilline G a été décrite en 1994. Après une augmentation entre 1994 et 1998, la fréquence de ce phénotype semble se stabiliser depuis 1999. Une seule souche de sérogroupe C isolée en 2003 (tableau 8) atteignait le seuil critique thérapeutique de 1mg/L, équivalent à la concentration dans le LCR lors de traitements aux doses habituellement utilisées (3). Aucune souche de *N. meningitidis* β -lactamase (céfinase) positive n'a été détectée.

Les notions de souches résistantes ou de sensibilité diminuée à la pénicilline G sont importantes à préciser. Les seules souches de *N. meningitidis* véritablement résistantes à la pénicilline (CMI pouvant atteindre 250 mg/L) sont celles qui expriment une β -lactamase TEM 1 d'origine plasmidique. La diminution de sensibilité de *N. meningitidis* à la pénicilline par altération du gène *penA*, modifiant l'affinité de la protéine de liaison à la pénicilline PBP2 ainsi que la structure du peptidoglycane (4,5) est connue depuis 1985 et présente une incidence croissante en Europe et en Amérique du Nord et du Sud. Les altérations de *penA* chez les souches de *N. meningitidis* proviennent de recombinaisons interspécifiques à partir de séquences homologues de *Neisseria* commensales. En effet, les *Neisseria* sont spontanément compétentes à la transformation, ce qui permet des échanges horizontaux de séquences d'ADN et aboutit à la création de structures en mosaïque du gène *penA*. La sensibilité diminuée des méningocoques à la pénicilline G est directement corrélée à des altérations de séquences du gène *penA* codant la protéine de liaison à la pénicilline (PBP2). La diminution de sensibilité à la pénicilline G est transférable par transformation d'une souche sensible à partir de l'ADN d'une souche de sensibilité diminuée. L'apparition de variants de *N. meningitidis* de sensibilité diminuée à la pénicilline G depuis 1994 en France impose leur dépistage systématique par les méthodes phénotypiques standardisées de l'antibiogramme complétant l'identification et le typage antigénique pour un contrôle épidémiologique rigoureux.

3.3. Diagnostics et typage moléculaires

3.3.1. Diagnostic étiologique de *N. meningitidis*

Identifications et prédiction de sérogroupe par amplification génique

Le CNR des méningocoques a mis au point une technique de diagnostic direct sur produit pathologique permettant d'établir l'étiologie lorsque la culture a échoué. La caractérisation de *N. meningitidis* directement à partir des prélèvements biologiques (sang, liquide céphalo-rachidien, etc.) permet son identification par l'amplification du gène de régulation *crgA*, puis la prédiction du sérogroupe de la souche incriminée, par l'amplification des gènes de la capsule (sérogroupe A, B, C, Y et W135).

Cette technique est utilisable par tout laboratoire disposant des compétences et installations pour le diagnostic par PCR. Les procédures recommandées figurent au tableau 5. Elle a permis d'identifier 141 cas d'infections méningococciques à partir de 346 échantillons de cas cliniques suspects en France en 2003.

3.3.2. Epidémiologie moléculaire

Toute suspicion de cas groupé d'infection à *N. meningitidis* fait l'objet d'un typage moléculaire des souches exprimant des phénotypes analogues. Ces techniques, incluant la " multilocus enzyme electrophoresis " (MLEE), le " multilocus DNA fingerprinting " (MLDF), le " multilocus sequence typing " (MLST), l'électrophorèse en champs pulsé (PFGE), permettent d'établir des filiations génétiques au sein de même complexes clonaux et d'effectuer des comparaisons avec des isolats de différents cas groupés ou non, au niveau national et international (6).

Références

- 1 Antignac A, Ducos-Galand M, Guiyoule A, Pires R, Alonso JM, Taha MK. *Neisseria meningitidis* strains isolated from invasive infections in France (1999-2002): phenotypes and antibiotic susceptibility patterns, Clin Infect Dis 2003; 37:912-20
- 2 Vazquez JA., Arreaza L, Block C, Ehrhard I, Gray SJ, Heuberger S, Hoffmann S, Kriz P, Nicolas P, Olcen P, Skoczynska A, Spanjaard L, Stefanelli P, Taha MK, Tzanakaki G, Interlaboratory comparison of agar dilution and Etest methods for determining the MICs of antibiotics used in management of *Neisseria meningitidis* infections, Antimicrob Agents Chemother 2003; 47:3430-34.
- 3 Quagliarello V.J.Scheld W.M., Treatment of bacterial meningitis, N Engl J Med 336 (1997) 708-16
- 4 Antignac A, Kriz P, Tzanakaki G, Alonso JM, Taha MK. Polymorphism of *Neisseria meningitidis* penA gene associated with reduced susceptibility to penicillin, J Antimicrob Chemother 2001; 47:285-96.
- 5 Antignac A, Boneca IG, Rousselle JC, Namane A, Carlier JP, Vazquez JA, Fox A, Alonso JM, Taha MK. Correlation between alterations of the penicillin-binding protein 2 and modifications of the peptidoglycan structure in *Neisseria meningitidis* with reduced susceptibility to penicillin G. J Biol Chem 2003; 278:31529-35
- 6 Taha MK. Molecular detection and caractérisation of *Neisseria meningitidis*. Expert Rev Mol Diagn. 2002; 2:89-96.

Tableau 1 - Souches de *N. meningitidis*, de différents sérogroupes, isolées d'infections invasives en France en 2001-2003

Prélèvements	Sérogroupe									TOTAL
	A	B	C	W135	Y	X	29E	AA*	PA**	
LCR	3	647	374	44	24	1	1	2	3	1 099
Sang	1	266	226	77	31	2	2	2	3	610
Liq. articulaire	1	8	3	4						16
Biopsie cutanée	1	10	6							17
Liq. Péricardique			1							1
TOTAL	6	931	610	125	55	3	3	4	6	1 743

*Auto-agglutinable

**Polyagglutinable

Tableau 2 - Bilan des diagnostics de *N. meningitidis* par PCR.2001-2003

Année	Total	n° positifs	Génogroupe						ND
			A	B	C	W135	Y		
2001	263	83	3	27	26	11	1		15
2002	302	112	0	33	51	13	1		14
2003	346	141	0	71	29	10	0		31

ND= non déterminé

Tableau 3 - Evolution de la proportion des phénotypes de sensibilité aux antibiotiques des souches invasives de *N. meningitidis* entre la période 1999-2002 et l'année 2003

	Période	Nombre (%) de souches		
Antibiotique		Sensible	Intermédiaire	Résistant
Pénicilline G	1999-2002	1 491 (68 ,8)	676 (31,2)	0
	2003	433 (71,2)	174 (28,6)	1 (0,2)
Amoxicilline	1999-2002	1 900 (87,7)	267 (12,3)	0
	2003	498 (81,9)	110 (18,1)	0
Céfotaxime	1999-2002	2157 (100)	0	0
	2003	608 (100)	0	0
Céftriaxone	1999-2002	2 157 (100)	0	0
	2003	608 (100)	0	0
Sulfamides	1999-2002	640 (29,9)	23 (1,1)	1476 (69)
	2003	213 (35 ,1)	10 (1,6)	385 (63,3)
Rifampicine	1999-2002	2 153 (99,9)	1 (0,05)	1 (0,05)
	2003	604 (99,3)	3 (0,5)	1 (0,2)
Ciprofloxacine	1999-2002	2 155 (100)	0	0
	2003	608 (100)	0	0
Chloramphénicol	1999-2002	2 141 (99,4)	14 (0,6)	0
	2003	604 (99,3)	4 (0,7)	0
Spiramycine	1999-2002	1 651 (76,7)	498 (23,1)	4 (0,2)
	2003	319 (52,4)	285 (46,9)	4 (0,7)

Tableau 4 - Distribution des phénotypes de sensibilité aux antibiotiques des souches invasives de *N. meningitidis* en fonction de leur séro groupe, France 2003

Antibiotique	Phénotype*	A	B	C	Y	W135	autres
Pénicilline G	Sensible	0	264	124	19	24	2
Pénicilline G	Intermédiaire	1	93	54	3	22	1
Pénicilline G	Résistant	0	0	1	0	0	0
Amoxicilline	Sensible	0	304	137	19	36	2
Amoxicilline	Intermédiaire	1	53	42	3	10	1
Amoxicilline	Résistant	0	0	0	0	0	0
Rifampicine	Sensible	1	356	177	22	45	3
Rifampicine	Intermédiaire	0	1	1	0	1	0
Rifampicine	Résistant	0	0	1	0	0	0
Spiramycine	Sensible	0	191	95	11	20	2
Spiramycine	Intermédiaire	1	162	84	11	26	1
Spiramycine	Résistant	0	4	0	0	0	0

Tableau 5 - Détection et caractérisation de *Neisseria meningitidis* par PCR

Il est recommandé avant d'ensemencer les milieux de culture pour recherche de *Neisseria meningitidis* de conserver un aliquot ($\geq 200\mu\text{l}$) du produit pathologique prélevé, à $+4^{\circ}\text{C}$, jusqu'au résultat de la culture. En cas d'échec de celle-ci, il sera alors possible de rattraper le diagnostic étiologique par PCR.

- Le LCR ainsi que d'autres fluides biologiques, tels que liquide de ponction articulaire ou péricardique ($\geq 200\mu\text{l}$) doivent être acheminés dans un tube stérile en plastique de 5 ml, à capuchon étanche, et ne doivent pas avoir été manipulés (contaminés).
- Les prélèvements sanguins (2ml) doivent être recueillis dans un tube sec stérile sans anticoagulant et ne doivent pas avoir été manipulés (contaminés).
- Les prélèvements peuvent être envoyés à température ambiante.
- Il faut impérativement nous téléphoner avant l'envoi d'un prélèvement et joindre toutes les informations cliniques et biologiques disponibles.

Référence: Taha, M-K. A simultaneous approach for non-culture identification and serogroup prediction of *Neisseria meningitidis* using PCR. J. Clin. Microbiol. 2000 ; 38: 855-857.

Figure 1 – Répartition des sérogroupes invasifs responsables d'infections invasives à méningocoques, par année, France 1989-2003

Fig. 1

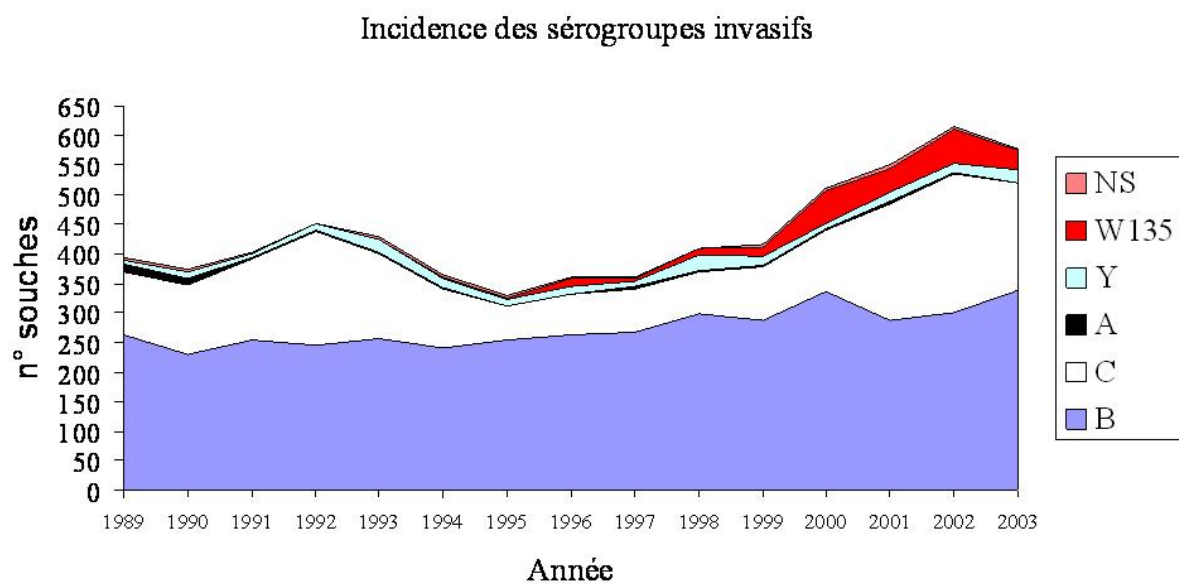


Figure 2 – Evolution du nombre de souches à méningocoques responsables de méningococcies invasives par classe d'âge, 2001-2003

Fig. 2

