

**INSTITUT DE MEDECINE TROPICALE DU SERVICE DE SANTE DES ARMEES**



**UNITE DU MENINGOCOQUE  
CENTRE COLLABORATEUR OMS DE REFERENCE ET DE  
RECHERCHE DE MARSEILLE**

**RAPPORT D'ACTIVITES POUR L'ANNEE 2007**

**Médecin chef des services Pierre NICOLAS,  
Dr Christophe FRAISIER, TLABCS Richard STOR, TSEF Bernard TENEBRAY,  
TLABCS Philippe CASTELLI, TLABCS SANSON, Madame Damienne CHAMI**

**IMTSSA/MENINGO N° 603 le 16 juin 2008**

**PARC DU PHARO, BP 46  
13998 MARSEILLE ARMEES, France  
tel 33 (0) 4 91 15 01 15  
Fax 33 (0) 4 91 59 44 77  
Email: [meningo@imtssa.fr](mailto:meningo@imtssa.fr)  
ou  
[nicolasp@imtssa.fr](mailto:nicolasp@imtssa.fr)**

## **PRESENTATION DU SERVICE**

Le laboratoire est le centre collaborateur OMS de référence et de recherche pour les méningocoques depuis 1964, le contrat a été reconduit le 16 novembre 2007 pour 4 années. Le laboratoire est dirigé par le médecin chef des services Pierre NICOLAS, aidé par l'ingénieur Christophe FRAISIER, les techniciens de laboratoire de classe supérieure Richard STOR, Philippe CASTELLI, Yannick SANSON et le technicien supérieur d'études et de fabrication Bernard TENEBRAY. Le chef de l'unité du méningocoque, aidé par Madame CHAMI est aussi responsable du laboratoire d'enseignement de la biologie médicale qui assure les formations pratiques des médecins civils ou militaires, français ou étrangers et des techniciens de laboratoire. L'unité est aussi membre de l'Unité Mixte de Recherche-MD1 ou UMR (université de la Méditerranée, service de Santé des Armées) : Enveloppe bactérienne, perméabilité et antibiotiques.

### ***1/ Le laboratoire de référence***

1. Offre aux laboratoires militaires et civils un ensemble de prestations: identification, groupage, typage et sous-typage, antibiogramme et CMI des méningocoques. Les résultats de ces examens sont effectués et envoyés gratuitement dès leur réalisation aux laboratoires qui ont envoyé les souches (5 jours de délai pour identification et antibiogramme, quinze jours pour le typage). L'identification et le groupage des méningocoques qui n'ont pas cultivé peuvent aussi être réalisés par PCR à partir des LCR ou bien des milieux de transport quels qu'ils soient. L'identification des méningocoques par technique PCR est couplée à celle de *Streptococcus pneumoniae* et de *Haemophilus influenzae*.
2. Envoie gratuitement à tous les services demandeurs, des souches de référence (souches pour le contrôle des antibiogrammes, pour le contrôle des types et sous-types..) ainsi que des milieux de transport (type Vandekerkove = VDK) fabriqués et contrôlés par l'unité.
3. Participe au renforcement de la surveillance des méningites dans les pays de la ceinture africaine de la méningite, initiée par l'OMS.
4. Partenaire du laboratoire de bactériologie du CHU de Fann, Dakar, Sénégal dans le cadre du programme OMS de jumelage de laboratoires en collaboration avec le bureau OMS de Lyon. L'objectif est que le laboratoire de référence du CHU de Fann contribue au niveau de Dakar et du Sénégal à l'étude épidémiologique des méningites bactériennes grâce à une surveillance microbiologique continue des principales bactéries responsables (en particulier les méningocoques, Hib et les pneumocoques) par les techniques classiques ou de biologie moléculaire. La caractérisation des germes par groupage pour les méningocoques, le typage des Hi et des pneumocoques devraient permettre de connaître l'accessibilité de ces germes aux vaccins actuellement disponibles sur le marché. La surveillance de la sensibilité aux antibiotiques utilisables dans le pays permettra aussi de faire des recommandations thérapeutiques au niveau national.
5. Partenaire du programme d'assurance qualité avec le CDC d'Atlanta, le National Institute for Communicable Diseases / National Health Laboratory Service de Johannesburg Afrique du Sud et le pôle OMS/CSR de Lyon.
6. Partenaire du Ministère de la Santé du Burkina Faso, du centre Muraz Bobo Dioulasso, d'Epicentre, de l'Agence de Médecine Préventive, CERMES, CCOMS Oslo : étude des tests de diagnostic rapide (RDTs) pour le diagnostic des méningites bactériennes ;

évaluation pendant une épidémie de méningite à méningocoques du groupe A dans des conditions de terrain Ouagadougou, Burkina Faso 2007.

7. Partenaire du Ministère de la Santé du Burkina Faso, de l'Agence de Médecine Préventive (AMP) dans le cadre d'études de portage pharyngé des méningocoques au Burkina Faso. Ces différentes études permettront de mieux comprendre le rôle du vaccin A conjugué sur le portage des méningocoques lorsqu'il sera mis en place au Burkina Faso. En effet s'il agit sur les méningocoques pharyngés du groupe A, ce vaccin pourrait entraîner aussi une diminution du portage et donc une immunité de groupe même chez les non vaccinés.

**2/ le laboratoire de recherche** est orienté vers :

1. **Epidémiologie moléculaire des méningocoques** : La caractérisation des méningocoques est essentielle pour déterminer le clone ou le complexe clonal responsable d'une épidémie ou d'une vague hyperendémique. Elle est aussi essentielle pour suivre les méningocoques dans le monde entier et essayer de prévoir ce qui pourrait se passer. Les méningocoques sont caractérisés par 2 techniques :

- Les séquences de loci multiples (MultiLocus Sequence Typing=MLST) définissent le **Séquence Type (ST)** de chaque souche. En tenant compte des données épidémiologiques, les souches proches peuvent être regroupées autour d'un ST central en **complexes de ST (ST complex)**. Cette technique peut être réalisée sur des souches isolées mais aussi sur des LCR, ceci permet de compléter la caractérisation des méningocoques pour lesquels une culture n'a pas pu être obtenue.
- L'électrophorèse en champ pulsé permet d'affiner les données épidémiologiques et du MLST en séparant le cas échéant des souches qui auraient le même ST définissant ainsi des sous-clones.
- Ces techniques de biologie moléculaire peuvent être utilisées sur d'autres bactéries, elles ont été appliquées à *Staphylococcus aureus*, *Enterobacter aerogenes*, *Burkholderia* et *Vibrio cholerae*.
- Un projet de recherche sur la comparaison de souches de méningocoque en utilisant les VNTR (Variable number tandem repeat) mené par le TSEF B. Tenebray a commencé en 2007.

2. **Etude des polysaccharides de *Neisseria meningitidis*** : **Ingénieur de recherche C. Fraisier**

Le but est de caractériser le polysaccharide des différentes souches du groupe A isolées depuis 1988 dans les pays de la ceinture africaine de la méningite et aussi des méningocoques du groupe X isolés au Niger.

**3/ L'activité enseignement se fait dans 3 domaines:**

1. Epidémiologie et prise en charge d'une épidémie de méningite à méningocoques au profit des médecins civils et militaires.
2. Formation pour les laboratoires désireux de devenir des centres de référence méningocoques.
3. Cours sur les vaccins méningococciques pour le cours international francophone de vaccinologie.

## I. LES ACTIVITES EN 2007

### *1/ Le laboratoire de référence des méningocoques*

- **A reçu 496 échantillons à analyser, dont 473 en provenance d'Afrique (Bénin, Burkina Faso, Mauritanie, Niger, Tchad, Togo).**
  - 263 à partir de cas suspects ou confirmés de méningite à méningocoques
  - 210 souches de portage pharyngé dans le cadre de l'étude de portage au Burkina Faso (voir introduction).
  - parmi les 210 échantillons isolés de LCR,
    - nous avons reçu 140 souches sur milieu de transport (VDK), dont 131 (93%) ont donné une subculture
    - 49 souches ont été expédiées sur Portagerm ®, 42 ont donné une subculture (85,7%)
    - 74 LCR pour le diagnostic ou typage par PCR, parmi eux, 53 n'ont pas donné de réponse (71%)
  - Parmi les 210 souches de portage envoyées sur Milieu de Transport (VDK), 195 (93%) ont donné une subculture.

Réalisation pour l'ensemble de l'identification (coloration de Gram, tests biochimiques, agglutination par les différents sérums.

#### **Remarques sur ces différents moyens de transport :**

**Le Milieu de Transport à l'œuf, dit milieu de « Vandekerkove » ou VDK**, s'il a été bien ensemencé dans de bonnes conditions est un excellent moyen de transport. Il permet de conserver la souche viable pendant plus d'une semaine. En 2007 que ce soit à partir de souches isolées de LCR ou de portage, envoyées sur ce milieu, nous avons eu 93% de succès ou repiquages positifs. En outre, lorsqu'on n'obtient pas de subculture, on peut encore réaliser une PCR pour identifier et grouper le méningocoque, ce qui a été positif dans 62 % des cas.

**Les souches qui ont été envoyées sur Portagerm ®** ont voyagé 5 jours et ont été récupérées « de justesse », ce milieu ne doit pas être recommandé pour le transport des méningocoques.

**Pour le diagnostic et le typage par PCR à partir du LCR**, nous n'avons pas obtenu de bons résultats. Mais pour la plupart des échantillons, ce sont des LCR qui ont été conservés puis ont voyagé à plusieurs reprises avec des ruptures multiples dans la chaîne du froid.

- **A analysé 6 échantillons dans le cadre du contrôle de qualité organisé par l'OMS en provenance d'Afrique du Sud**
- **a fabriqué 590 milieux de transport à l'œuf type Vandekerkove (VDK)**
- **a typé et sous-typé 200 souches de méningocoque par ELISA ;**
- **a étudié la sensibilité aux antibiotiques** par la méthode des disques et la CMI par Etest de l'ensemble des souches impliquées dans les infections invasives à méningocoques en provenance d'Afrique, et des souches en provenance de France.

## **2/ Le laboratoire de recherche**

- **Technique d'électrophorèse en champs pulsés (ECP)**
  - 133 souches de *Neisseria meningitidis* ont été typées grâce à l'ECP
- **Techniques des séquences de loci multiples MLST**
  - 156 souches de *Neisseria meningitidis* ont été caractérisées par MLST
- **Technique VNTR,**
  - 1080 échantillons ont été testés
- **Projet de recherche sur le polysaccharide des méningocoques du groupe A et X,**  
à partir de 3 souches du groupe A et une souche du groupe X
  - extraction du polysaccharide : 35
  - gel filtration : 12
  - chromatographie par échange d'ions : 11
  - dosages sucres totaux : 74
  - dosage N-acétylglucosamine : 41
  - Analyse HPAEC PAD : 4
  - Analyse spectrométrie de masse : 2

En 2007, ces activités de centre de référence ou de recherche ont été réalisées au profit des Ministères de la santé des pays suivants et des laboratoires ou organismes suivants:

- Ministère de la Santé du Bénin
- Ministère de la Santé du Burkina Faso,
- Ministère de la Santé du Niger
- Ministère de la Santé du Tchad
- Ministère de la Santé du Togo
- CERMES (Niamey, Niger)
- Laboratoire du centre hospitalier pédiatrique Charles de Gaule Ouagadougou, service de bactériologie Virologie CHU Yalgado Ouedraogo Ouagadougou, centre Muraz Bobo-Dioulasso, CHR Kaya (Burkina Faso)
- Agence de Médecine Préventive (AMP)
- Laboratoire National de la Santé Publique, Cotonou, Bénin
- Laboratoire Epervier au Tchad
- Hôpital régional d'Abéché, Tchad
- MSF France, MSF Hollande
- INRSP Nouakchott Mauritanie
- HIA Sainte Anne Toulon
- HIA Laveran Marseille
- Centre Hospitalier du pays d'Aix (Aix en Provence),
- HIA Robert Picqué, Bordeaux
- Laboratoire de l'hôpital Saint Quentin
- Laboratoire du CH de Chalons en Champagne

## Les résultats

### *1. Epidémiologie moléculaire des méningocoques isolés dans les pays de la ceinture africaine de la méningite.*

**La technique des séquences de loci multiples :** les séquences de 7 loci de 450 pb environ déterminent l'allèle de chaque locus. L'ensemble des 7 loci donne le génotype de la souche, qu'on appelle séquence type (ST). L'identification du séquence type se fait grâce à une base de données éditée sur internet (<http://pubmlst.org/neisseria/>). En tenant compte des données épidémiologiques et de leur parenté avec un génotype central, les séquences types proches peuvent être groupés en complexes de séquence type (ST complex ou complexe clonal = cc). Ces dernières années ce sont des souches A, appartenant au complexe ST-5 (cc5) et W135 appartenant au complexe ST-11 (cc11), qui ont été les plus fréquemment en cause dans les cas sporadiques de méningite à méningocoques et les épidémies au niveau des pays appartenant à la ceinture de la méningite.

### Méningocoques du groupe A

Des méningocoques du groupe A appartenant au complexe ST-5 (cc5) ont été responsables de la plupart des cas de méningite à méningocoques des pays de la ceinture de la méningite. Dans ce complexe, 3 STs majeurs ont été impliqués dans la plupart des épidémies : les ST-5, ST-7 et ST-2859. (**voir tableaux**) :

- **Etat des lieux depuis 1988**
  - Nous avons montré que le ST-5 a été responsable de la majorité des épidémies africaines depuis 1988. Son expansion dans tous les pays de la ceinture de la méningite s'est terminée par les épidémies du Sénégal et de Guinée-Bissau en 1998-99.
  - Au Cameroun et au cours de l'épidémie du Tchad et du Soudan en 1998 et 1999, nous avons mis en évidence des souches appartenant au ST-7. Ce séquence-type a émergé dans les pays de la ceinture en 1997. Ce nouveau ST a été aussi responsable d'épidémies récentes en Chine, en Mongolie et à Moscou. Ce ST-7 est responsable de la troisième pandémie due à des méningocoques A et nous avons montré qu'il avait aussi atteint l'Afrique, remplaçant progressivement le ST-5, il a été mis en évidence au Bénin, au Burkina Faso, au Cameroun, au Niger et au Tchad.
  - En 2005 au Burkina Faso, au Niger et au Togo et ce sont des souches A appartenant au ST-7 qui ont été principalement isolées.
  - En 2006 au Niger, ce sont aussi des souches ST-7 qui ont été isolées. Le nouveau ST-2859, proche de ST-7, (un seul locus de différence avec ST-7 et 2 loci de différence avec les anciennes souches ST-5) a été aussi isolé pour la première fois au Burkina Faso en 2003. Il a été retrouvé chez la majorité des souches en 2004 et a été responsable de l'épidémie de 2006 au Burkina Faso.
- **Données 2007**
  - Au Burkina Faso, l'épidémie de 2007 comme celle de 2006, a été causée essentiellement par des méningocoques du groupe A appartenant au ST-2859

- Au Niger la saison de la méningite a été relativement calme, sur les souches analysées, nous avons mis en évidence des méningocoques du groupe A de ST-7 plutôt à l'est du pays (Zinder, Maradi, Dosso et Tahoua), et des souches A ST-2859 le long de la zone bordant le Burkina Faso (Tillabery). A Niamey sur les 2 souches analysées, une était de ST-7 et une de ST-2859.
- Au Togo de la même façon la plupart des souches que nous avons reçues étaient du groupe A et du ST-2859.

Après les importantes épidémies causées par ce méningocoque A de ST-2859 au Burkina Faso en 2006 et 2007, son émergence dans la partie ouest du Niger, faisait craindre des bouffées épidémiques dues à cette souche en 2008-2009. Son émergence en 2007 au Togo, faisait aussi craindre une expansion de ce ST vers l'ensemble des pays de la ceinture de la méningite. L'expérience acquise avec le ST-5, nous a montré qu'il a fallu une dizaine d'années entre son émergence, son expansion puis sa disparition. Le ST-7 ayant émergé depuis 10 ans, il est probable que nous soyons à la période intermédiaire de son remplacement progressif. L'expérience acquise avec ST-5 puis ST-7 nous a montré que l'apparition d'un nouveau ST est à l'origine de nouvelles vagues épidémiques. On doit donc s'attendre à des épidémies importantes dues à ce méningocoque A ST-2859 et se préparer à y faire face.

### Méningocoques du groupe W135

- **Etat des lieux depuis 2000 : (voir tableaux):**

**-Des méningocoques W135:2a:P1.5,2 de ST-11** ont été isolés en 2000 et 2001 à partir de cas sporadiques en Algérie, au Cameroun, au Sénégal, au Tchad et en République centrafricaine (RCA). Des cas plus nombreux ont été retrouvés en fin d'épidémie de façon concomitante avec des méningocoques du groupe A au Burkina Faso. Ce complexe clonal a été responsable de l'épidémie mondiale en 2000 et de celle du Burkina Faso en 2002. En 2003, au Niger, dans les zones épidémiques, les souches W135 étaient rares ou absentes. Cependant, à Niamey, des souches W135 de ST-11 ont été mises en évidence à partir de cas sporadiques. En 2004, des souches de ST-11 ont été isolées au Bénin, au Burkina Faso et à Djibouti. En 2005, des souches ST-11 ont aussi été isolées au Niger, et au Tchad. Au Tchad, la caractérisation de ces souches dans les camps de réfugiés a permis de justifier la vaccination de masse par le vaccin trivalent ACW135 (GSK) fourni par l'International Coordinating Group (ICG) et l'OMS.

**-Des souches W135 ST-2881** ont émergé en 2002 et ont été responsables de cas sporadiques au Niger, au Nigéria, au Bénin et au Tchad en 2003 et 2004. En 2005 au Niger ce sont essentiellement des souches ST-2881 qui ont été responsables des méningites W135.

- **Données 2006 et 2007**

En 2007, les données des laboratoires du bulletin hebdomadaire de rétro-information sur la MCS (MDSC Ouagadougou, Burkina Faso), montrent que le nombre de méningites W135 représentait une faible part des cas de méningite à méningocoques (61/609 soit 9%). Parmi les souches adressées au CCOMS de Marseille, nous avons caractérisé une

souche ST-11 au Tchad (le ST responsable de l'épidémie de 2002 au Burkina Faso), les autres en provenance du Tchad, du Bénin, du Niger et du Togo étaient toutes de ST-2881. Le ST-2881 est un ST complètement différent de celui qui a été responsable de l'épidémie au Burkina Faso en 2002 (W135 ST-11). Cette souche moins invasive, semble avoir un potentiel épidémiogène beaucoup plus faible, n'étant responsable jusqu'à présent que de cas sporadiques ou de cas groupés en nombre toujours limité. Comme de telles souches ont été trouvées de façon importante dans des études de portage au Niger et au Burkina Faso, on a pu avancer l'hypothèse qu'elles aient pu jouer un rôle protecteur contre une épidémie W135 ST-11. En effet, ce complexe partage avec les souches W135 du ST-11 outre la capsule polysaccharidique (le groupe), le même sous-type P1.5. Cette protéine de la membrane externe (PorA) est très immunogène et donne lieu à la formation d'anticorps bactéricides protecteur.

### Méningocoques du groupe X

- **Etat des lieux**

Les méningocoques du groupe X sont connus depuis une quarantaine d'années en Afrique et ont été isolés soit lors d'études de portage (Mali, Niger, Ghana) ou bien de cas de méningite (Sénégal, Niger, Tchad, Niger, Burkina Faso, Ghana).

**-Des souches du groupe X de ST-181** ont été isolées au Niger en 2004 et en 2005. Elles sont identiques aux souches qui ont été responsables d'une petite bouffée épidémique à Niamey au Niger en 1997 (83 cas). Elles semblent n'être responsables que d'un nombre restreint de cas voire de petites épidémies.

- **En 2006 épidémie de méningite à méningocoques du groupe X au Niger**

En 2006 on a estimé à 800 le nombre de malades ayant contracté une méningite à méningocoques du groupe X au Niger, c'est la plus importante épidémie de méningite du groupe X jamais décrite dans le monde. Ces souches en majorité non typables et de sous type P1.5 étaient majoritairement de ST-181 (avec quelques souches appartenant à des STs apparentés (ST-5789). Elle a touché l'ouest du pays et Niamey, la capitale.

- **En 2007 on peut constater que l'épidémie n'a pas eu de suite au Niger**, cependant, le méningocoque X circule à bas bruit, seules 2 souches ont été caractérisées ; il s'agissait pour une du génotype ST-181 épidémique, et pour l'autre du génotype ST-5789 proche du ST-181 (un seul locus de différence).

## *2. Etude de la sensibilité aux antibiotiques des souches de méningocoque isolées en 2007*

En 2007, nous avons reçu un grand nombre de souches cultivables.

- **Bêta-lactamines**

En 2007 les CMI vis à vis de la pénicilline sont comprises entre 0,023 et 0,125 µg/ml. La CMI 50 est de 0,047 µg/ml. Deux souches ont une CMI de 0,094 (2 méningocoques W135 isolés au Tchad et au Bénin) et une de 0,125 µg/ml (1 méningocoque W135 isolé au Togo) et sont donc considérées comme de sensibilité intermédiaire à la pénicilline (CMI ≥ 0,094 µg/ml avec le système Etest ou CMI ≥ 0,125 µg/ml par dilution). Les 3 souches de sensibilité intermédiaire sont W135 et de ST-2881.

Pour l'amoxicilline, les CMI sont comprises entre 0,032 et 0,190 µg/ml. La CMI 50 est de 0,094 µg/ml. Toutes les souches sont donc sensibles à cet antibiotique.

Les bêta-lactamines, amoxicilline, ampicilline et céphalosporines de 3<sup>e</sup> génération employées dans le traitement des méningites sont actives sur l'ensemble des souches analysées. La pénicilline à forte dose employée dans les méningites sera efficace même contre les souches de sensibilité intermédiaire.

- **Chloramphénicol**

En 2007, les CMI du chloramphénicol sont comprises entre 0,5 et 1 µg par ml, la CMI 50 est de 0,75 µg/ml.

Comme les années précédentes, les méningocoques en provenance d'Afrique reçus à Marseille, restent bien sensibles au chloramphénicol, ce qui autorise l'utilisation du chloramphénicol huileux pour le traitement des malades dans le cadre des épidémies de méningite à méningocoques.

- **Rifampicine**

En 2007 les CMI sont comprises entre 0,006 et 0,250 µg/ml. La CMI 50 est de 0,125µg/ml. En 2006, aucune souche résistante à la rifampicine n'a été isolée.

### ***3. L'activité enseignement en 2007:***

- Formation pratique aux différentes techniques de biologie, réalisée au niveau du laboratoire d'enseignement de la biologie médicale. Tout au long de l'année, le chef de l'unité du méningocoque et l'ensemble des techniciens de l'unité sont responsables de l'enseignement pratique en collaboration avec les biologistes de l'Hôpital Laveran, ils participent aux travaux pratiques pour la formation des médecins civils et militaires du DU de médecine tropicale, des médecins militaires français et étrangers dans le cadre de différents enseignements.
- Cours international francophone de vaccinologie Ecole du Val de Grâce.
- Formation continue des techniciens de laboratoire appelés à servir en zone tropicale.
- AU paludisme TP: 2 demi-journées
- Recyclage paludisme pour les médecins militaires : 3 travaux-pratiques par an
- DU de médecine tropicale module laboratoire : 12 demi-journées
- TP formation des médecins des armées : 10 demi-journées
- Cours sur les méningites à méningocoques: épidémiologie et prise en charge d'une épidémie
  - Au profit des médecins inscrits au DU de médecine tropicale le 19 janvier 2005: 4 heures 14 étudiants
  - Au profit des médecins militaires affectés en Afrique : 2 heures

## **II. PUBLICATIONS en 2007**

### **Publications**

1. Finlow H, Vogel U, Mueller JE, Curry A, Njanpop-Lafourcade BM, Claus H, Gray SJ, Yaro S, Traore Y, Sangare L, Nicolas P, Gessner BD, Borrow R. Three cases of invasive disease caused by a capsule null locus strain circulating among healthy carrier in Burkina Faso. J infect. Dis. 2007. 195 (7) : 1071-7

2. Boisier P, Nicolas P, Djibo S, Taha MK, Jeanne I, Mainassara HB, Tenebray B, Kairo KK, Giorgini D, Chanteau S. Meningococcal meningitis, unprecedented incidence of serogroup X-related cases in 2006 Niger. *Clin. Infect Dis* 2007. 44(5) : 657-663
3. Mueller JE, Sangaré L, Njanpop-Lafourcade BM, Tarnagda Z, Traoré Y, Yaro S, Borrow R, Gessner BD, Nicolas P. Molecular characteristics and epidemiology of meningococcal carriage, Burkina Faso, 2003. *Emerg. Infect. Dis.* 2007. 13 (6) : 847-54.
4. Nicolas P, Manchanda V, Bhalla P. Emergence of non-ceftriaxone-susceptible *Neisseria meningitidis* in India. *J Clin Microbiol.* 2007. 45(4) : 1378.
5. Nicolas P, Djibo S, Tenebray B, Castelli P, Stor R, Hamidou AA, Boisier P, Chanteau S. Population of pharyngeal meningococci in Niger. *Vaccine.* 2007. 25 S May 7: A53-A57.
6. Caugant DA, Nicolas P. Molecular surveillance of meningococcal meningitis in Africa. *Vaccine* 2007 25S May7: A8-A11
7. Yaro S, Traoré Y, Tarnagda Z, Sangaré L, Njanpop Lafourcade B M, Drabo A, Borrow R, Nicolas P, Gessner B D, Mueller JE. Meningococcal carriage and immunity in western Burkina Faso, 2003. *Vaccine* 2007 25S : A42-A46.

### **Communications orales**

8. Nicolas P, Boisier P, Djibo S, Taha MK, Jeanne I, Mainassara HB, Tenebray B, Kairo KK, Giorgini S. An outbreak of serogroup X meningococcal meningitis in Niger, Africa 2006. 9th EMGM meeting, the European Monitoring Group on Meningococci, Rome (Italy) May 30<sup>th</sup>-June 1<sup>st</sup>, 2007 (p 24)
9. Njanpop-Lafourcade BM, Mueller JE, Traore Y, Adjogble KLS, Lourd M, Sanou O, Nacro B, Drabo A, Niamba D, Borrow R, Taha MK, Nicolas P, Gessner BD. Molecular epidemiology of meningococci in western Burkina Faso and Togo. 9th EMGM meeting, the European Monitoring Group on Meningococci, Rome (Italy) May 30<sup>th</sup>-June 1<sup>st</sup>, 2007 (p 25)
10. Thullin S, Olcen P, Frelund H, Nicolas P, Caugant DA, Unemo M. Penicillin susceptibility of *Neisseria meningitidis* in Africa. Phenotypic and genotypic perspective. 9th EMGM meeting, the European Monitoring Group on Meningococci, Rome (Italy) May 30<sup>th</sup>-June 1<sup>st</sup>, 2007 (p 28)
11. Nicolas P. Molecular epidemiology of meningococci isolated in some countries of the meningitis belt between 2005 and 2007. 6eme atelier inter pays sur la surveillance renforcée et la riposte aux épidémies de méningite en Afrique. 9-10 octobre 2007, Ouagadougou, Burkina Faso.

### **Communications affichées**

12. Mueller JE, Njanpop-Lafourcade BM, Drabo A, Yaro S, Sanou O, Tarnagda Z, Sangaré L, Traore Y, Diagbouga S, Koeck JL, Borrow R, Nicolas P, Gessner BD. Epidemiology and molecular characteristics of carried meningococci in epidemic versus non-epidemic situations in western Burkina Faso. 9th EMGM meeting, the European Monitoring Group on Meningococci, Rome (Italy) May 30<sup>th</sup>-June 1<sup>st</sup>, 2007 (poster 25, p 70)

### **Rapport**

NICOLAS P. meningococcal diseases update 2007 (04) Promed-mail 29 janvier 2007

### **Activités de reviewer en 2007**

Lancet infectious diseases, Pathologie Biologie, BEH .

## **III. FORMATIONS et TRANSFERT de TECHNOLOGIES**

Formation référent qualité, formation du MCS P Nicolas comme chef projet qualité pour l'IMTSSA

## **IV. EXPERTISE**

- Membre de l'European Monitoring Group on Meningococci.
- Surveillance des méningites bactériennes en Afrique : rôle de laboratoire référent.
- Participation au programme d'évaluation externe de la qualité en collaboration avec le CDC d'Atlanta, le NICD / NHLS de Johannesburg, et le bureau OMS de Lyon.
- Projet jumelage avec le laboratoire de l'hôpital Fann Sénégal en collaboration avec le Bureau OMS de Lyon.

## **V. MISSIONS**

EMGM 9<sup>o</sup> réunion, 29 mai-2 juin, Rome, Italie.

6<sup>o</sup>atelier interpays sur la surveillance renforcée et la riposte aux épidémies de méningite en Afrique 9-10 octobre 2007, Ouagadougou, Burkina Faso.

Evaluation projet de jumelage rapport et proposition novembre 2007 bureau OMS Lyon, Dr Nicolas, Dr Cognat, Pr Sow CHU Fann Dakar 21-26 novembre 2007.

## **CONCLUSIONS**

Les techniques des séquences de loci multiples (MLST) et d'électrophorèse en champ pulsé (ECP), permettent de caractériser de façon précise les méningocoques. Cette caractérisation est indispensable pour la compréhension et la gestion des infections invasives à méningocoques. Elle permet de relier un aspect épidémiologique à un clone caractérisé par son groupe, son type, son séquence type, son complexe ST et son profil en ECP. A partir des

données d'un pays, on devrait ainsi pouvoir adapter la surveillance et la prophylaxie pour le pays ainsi que celle des pays voisins. Ce génotypage permet aussi de surveiller l'éventualité d'un « switch capsulaire » (émergence de souches qui auraient des génotypes identiques et des groupes différents), ou d'un remplacement par d'autres méningocoques, ce qui pourrait soustraire ces souches à une prophylaxie vaccinale. Des « switch », des remplacements ont déjà été observés et pourraient éventuellement se reproduire en raison d'une pression vaccinale par exemple. Ils doivent être recherchés de façon systématique lors de campagne de vaccination de masse, lors de la mise en place à grande échelle de vaccins conjugués.

- Ces dernières années, la technique MLST a montré la responsabilité des souches de méningocoque A:4:P1.9 appartenant au complexe ST-5 (ST-5, ST-7 et ST-2859) dans les cas sporadiques et les épidémies africaines. Le ST-5 a été isolé à partir de 1988, il a été remplacé par le ST-7. L'émergence du ST-2859 en 2003 et 2004 pouvait être le signe du remplacement du ST-7. Il a été responsable des épidémies de 2006 et 2007 au Burkina Faso. En 2007, il a émergé sur la frontière ouest au Niger et au Togo pouvant faire craindre son extension progressive dans les pays de la ceinture. L'émergence d'un nouveau génotype, ST-5 puis ST-7 ayant été à l'origine d'importantes vagues épidémiques,

#### **Recommandation n° 1**

L'émergence de méningocoques A ST-2859 pourrait être à l'origine d'une nouvelle vague épidémique, les pays de la ceinture doivent être prêts à y répondre. La mise en place du nouveau vaccin A conjugué doit être une priorité pour ces pays.

- Après l'émergence à partir de 2000 de souches W135 de ST-11 et les épidémies au Burkina Faso en 2001 et 2002, on a noté les années suivantes, l'émergence d'un nouveau clone W135 de ST-2881 dans des cas sporadiques de méningite au Niger, au Bénin, au Tchad et au Nigéria. Entre 2005 et 2007, le nombre de cas de méningite W135 déclarés a diminué. En 2006 et 2007 la plupart des souches W135 sauf une, adressées au CCOMS correspondaient au ST-2881. Ce génotype trouvé aussi de façon importante lors d'études de portage, pourrait avoir favorisé l'apparition d'une immunité de groupe pouvant protéger contre les méningites W135 ST-11 d'autant que les deux clones partagent les mêmes antigènes de sous-type (P1.5). Cela pourrait être une des explications de l'absence d'épidémie de méningite W135 au Niger telle que celle qui a sévi au Burkina Faso en 2002.
- Après l'importante épidémie de méningite à méningocoques du groupe X en 2006 au Niger, en 2006 et 2007 seuls quelques cas sporadiques sont notifiés. Si l'épidémiologie des méningites X suit les cycles antérieurs, il est probable qu'une nouvelle épidémie de méningite X pourrait se produire d'ici 6-8 ans. Comme ce groupe X circule aussi dans d'autres pays, il est indispensable que les laboratoires de référence nationale s'approvisionnent régulièrement en sérums anti-X pour qu'ils soient en mesure de réaliser le diagnostic. La PCR pour le diagnostic des méningocoques du groupe X est aussi au point, la technique peut donc être transférée dans les différents laboratoires en mesure de la réaliser.

**Recommandation n° 2 pour les laboratoires de référence méningocoque** de la ceinture africaine de la méningite pour 2008-2009 : avoir à leur disposition des antisérums monovalents vis à vis des méningocoques A, W135, Y et X au minimum. Je ne conseille pas l'utilisation de sérums mixtes polyvalents, trivalents ou tétravalents car ils ne permettent pas d'orienter de façon pertinente une campagne de vaccination.

**Recommandation n° 3 pour le traitement des malades souffrant de méningite à méningocoques** Le suivi de la sensibilité des souches de méningocoque montre que pour les 5 pays étudiés en 2007, les schémas thérapeutiques proposés par l'OMS dans le cadre des épidémies qui utilisent soit le chloramphénicol huileux, soit la ceftriaxone sont tout à fait pertinents.

Nous venons de recevoir 2 souches de méningocoque résistantes au chloramphénicol en provenance du Viet Nam, ce qui montre l'importance de la surveillance de la sensibilité des souches aux antibiotiques utilisés dans le traitement des méningites. En raison de l'éventualité d'une résistance, il est très important de tester régulièrement vis à vis de cet antibiotique des souches épidémiques afin de vérifier la pertinence du traitement des malades par le chloramphénicol tout au long des épidémies.

Je renouvelle donc les recommandations suivantes

**Recommandation n° 4 pour les laboratoires de référence méningocoque,**

1. je conseille d'avoir à disposition des bandelettes Etest pénicilline pour déterminer la CMI à la pénicilline sur les milieux de MH + 5% de sang de mouton à 37°C et 5% de CO<sub>2</sub> (référence Vazquez JA et al. Interlaboratory comparison of agar dilution and Etest methods for determining the MICs of antibiotics used in management of Neisseria meningitidis infections. Antimicrobial Agents and Chemotherapy, 2003 : 47: 3430-3434.). Ces bandelettes Etest sont les mêmes que celles utilisées pour déterminer la sensibilité des souches de pneumocoque à la pénicilline. Si les laboratoires n'en ont pas, une approximation de la susceptibilité peut être obtenue grâce à **des disques d'oxacilline** ; si le diamètre est supérieur  $\geq 11$ mm avec un disque d'oxacilline 1 µg ou supérieur à  $\geq 18$  mm avec le disque d'oxacilline 5µg, la souche sera considérée **comme sensible aux bêta-lactamines**. Les disques de pénicilline de charge 10UI ou 6µg ne doivent pas être utilisés car ils ne donnent pas des résultats pertinents pour tester la sensibilité des méningocoques aux bêta lactamines.
2. Pour l'étude de la sensibilité au chloramphénicol, la lecture autour du disque de 30µg est suffisante : si le diamètre est  $\geq 30$  mm la souche est sensible.

Voir les recommandations du comité de l'antibiogramme de la société française de microbiologie (<http://www.sfm.asso.fr/>) 2007 page 44.

La surveillance sur le plan épidémiologique ou celui de la sensibilité des souches aux différents antibiotiques doit continuer afin de proposer des réponses adaptées. Pour cela, il est important que tous les laboratoires continuent d'envoyer plus de souches aux centres collaborateurs OMS pour qu'on puisse comprendre la circulation des méningocoques en Afrique et dans le monde. La caractérisation des souches a un intérêt sur le plan de la santé publique mondiale, car elle devrait permettre de prévoir ce qui pourrait se passer dans le futur au niveau du pays et dans les pays voisins. Le centre collaborateur OMS de Marseille remercie tous les partenaires pour le travail effectué. Les données de ce rapport sont le résultat d'un réseau de collaborateurs où chacun joue un rôle essentiel.

Le 16 juin 2008  
Docteur Pierre NICOLAS

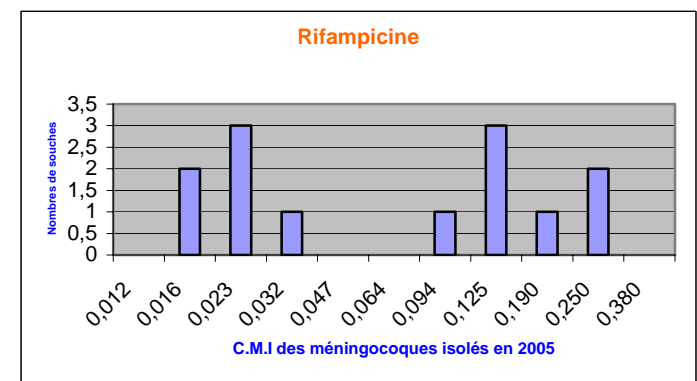
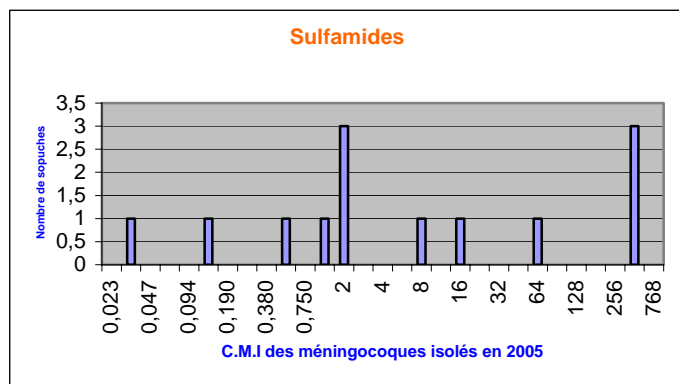
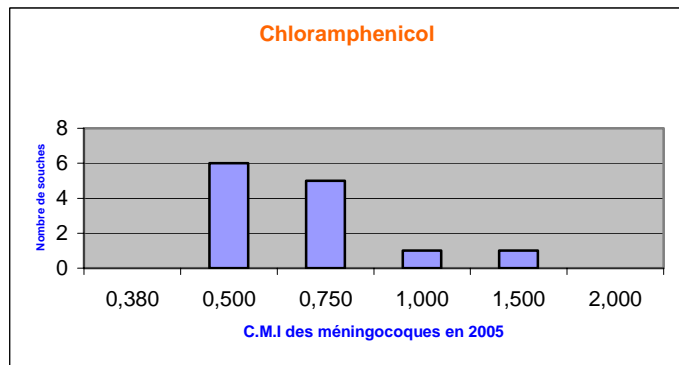
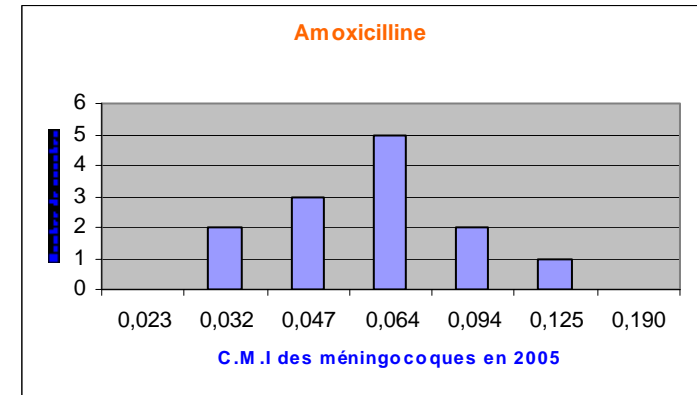
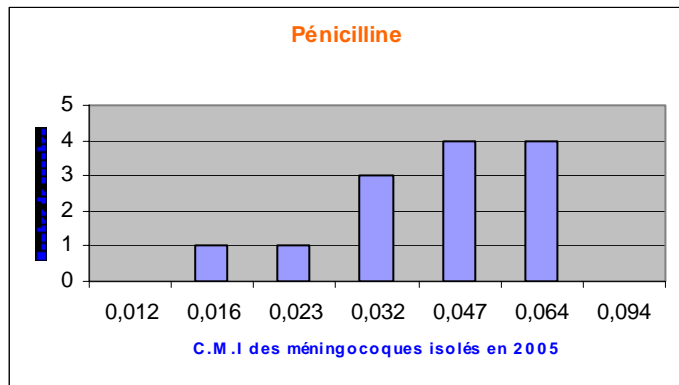
Remerciements à nos collaborateurs, aux médecins, médecins biologistes, vétérinaires biologistes et tous les techniciens des laboratoires qui nous ont envoyé des souches de méningocoque.

- Au Bénin : Docteurs BANKOLE, monsieur HOUNSOU, Cotonou, Bénin.
- Au Burkina Faso : Pr OUEDRAOGO, Pr SANGARE, Ouagadougou, Dr TRAORE, Dr NIAMBA, Dr DRABO, Dr YARO Bobo Dioulasso, Dr NIAMBA, (Centre hospitalier Universitaire Sanou Souro), Pr. NACRO, Pr MILLOGO, Dr KOMBASSERE et Dr KOUSSOUBE.
- Au Niger : Docteurs CHANTEAU, BOISIER et DJIBO (CERMES Niamey NIGER).
- Au Sénégal : Pr SOW.
- Au Tchad : Dr CHERIF BAHARADINE (N'Djamena, Tchad). M KOYANGE, Abéché, Tchad, Adjudant-chef DESBORDES et GRAVIER, les techniciens du laboratoire Epervier, N'Djamena, Tchad. Médecins de MSF France à Adré Tchad.
- Au Togo : Dr AGBENOKO, Dr BADZIKLOU, Dr TAMEKLOE, Me SITTI HLOMASHI AYOKO.
- Agence de Médecine Préventive (AMP): Dr NJANPOP LAFOURCADE, Dr MUELLER, Dr GESSNER, Dr DA SILVA.
- Epicentre : Dr GUERIN, Dr GERSTL.
- HIA Legouest Metz: Dr PUYHARDY, HIA Laveran Marseille: Pr MORILLON, Pr GARNOTEL, HIA Ste Anne, Toulon : Dr BRISOU, HIA Robert Picqué, Bordeaux : Pr KOECK.
- OMS Genève : Dr BERTHERAT et Dr PEREA.
- Bureau OMS Lyon : Dr COGNAT.
- Centre hospitalier du Pays d'Aix : Dr CHARDON.
- CNR, Paris, France : Dr ALONSO et Dr TAHA .

## Caractérisation des méningocoques reçus en 2005 au Centre collaborateur OMS de référence et de recherche pour les méningocoques, IMTSSA, Marseille

Pays	Nombre de prélèvements analysés	Nombre de LCR	Groupe sérum	Groupe PCR	Type	Sous-type	Séquence Type	ST à partir du LCR	Commentaires
<b>Burkina Faso</b>		13		A				ST-7	caractérisation directement sur LCR
<b>Niger</b>	5		X		NT	P1.5	ST-181		caractérisation à partir culture
	1		X		NT	P1.5,10	ST-181		caractérisation à partir culture
	1		X		NT	P1.5,13	ST-181		caractérisation à partir culture
	4		W135		NT	P1.5,2	ST-2881		caractérisation à partir culture
		16		A				ST-7	caractérisation directement sur LCR
		6		W135				ST-2881	caractérisation directement sur LCR
		1		W135				ST-11	caractérisation directement sur LCR
<b>Tchad</b>	1		W135		2a	P1.5,2	ST-11		caractérisation à partir culture
	1		W135		2a	P1.2	ST-11		caractérisation à partir culture
	4			W135					caractérisation à partir culture
	2			W135			ST-11		caractérisation à partir culture
<b>Togo</b>		1		W135					caractérisation directement sur LCR
		25		A				ST-7	caractérisation directement sur LCR
<b>Philippines</b>	17		A		4	P1.9			caractérisation à partir culture
	6		A		4	P1.9	ST-7		caractérisation à partir culture

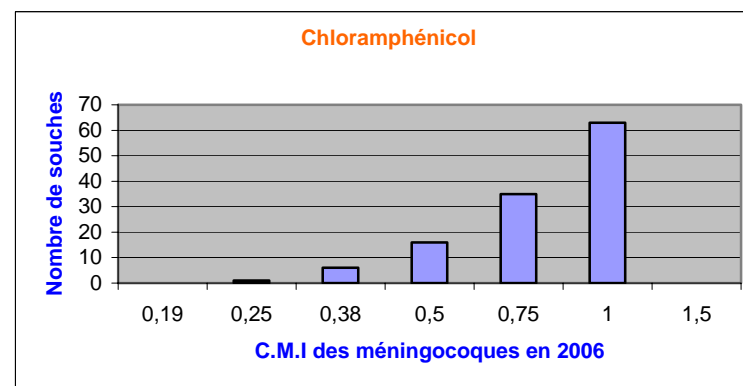
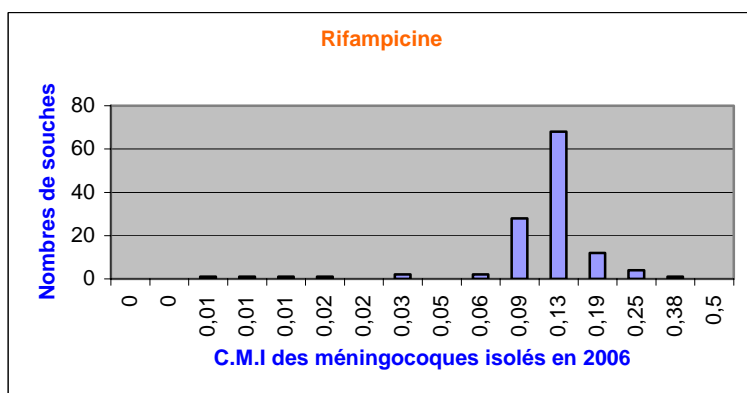
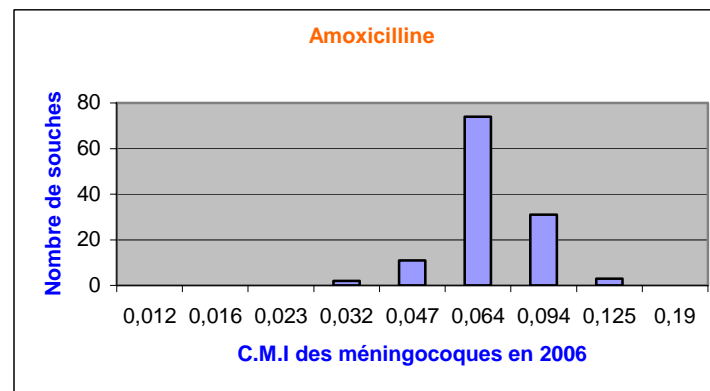
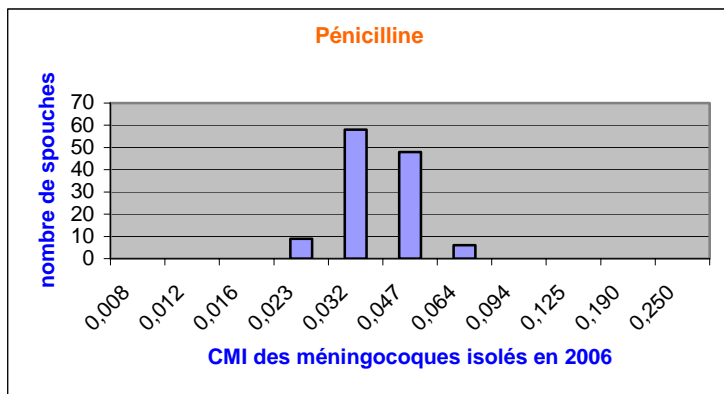
## Concentrations Minimales Inhibitrices par E-Test des Méningocoques Isolés en 2005 en Afrique



**Caractérisation des méningocoques isolés dans le LCR, reçus en 2006 au Centre collaborateur OMS de référence et de recherche pour les méningocoques, IMTSSA, Marseille**

Pays	Nombre de prélèvements analysés	Nombre de LCR	Groupe sérum	Groupe PCR	type	Sous-type	Séquence Type	Complexe ST	Commentaires
<b>Bénin</b>	1		Y		14	P1.5	ST-2952	complexe ST-167	
	3		W135		NT	P1.5	ST-2881		
<b>Burkina Faso</b>	1		Y		14	P1.5,2	ST-4375	complexe ST-23	
	81		A		4	P1.9	ST-2859	complexe ST-5	
<b>Niger</b>	13		A		4	P1.9	ST-7	complexe ST-5	
	1		A		4	P1.9	ST-5788	complexe ST-5	
	2		W135		NT	P1.5	ST-2881		
	14		X		NT	P1.5	ST-181		
	2		X		NT	NST	ST-181		
	2		X		NT	P1.5	ST-5789		
	1		Y		14	P1.5,2	ST-4375	complexe ST-23	

**Concentrations Minimales Inhibitrices déterminées par E-Test sur gélose Mueller–Hinton + 5% de sang de mouton des méningocoques isolés en 2006 au Bénin, Burkina Faso et au Niger.**



**Caractérisation des souches de méningocoque reçus au CCOMS, IMTSSA Marseille isolés en 2007 de cas de méningite**

Pays	Nombre de LCR	Groupe Sérum/ PCR	type	Sous-type	Séquence Type (Nombre séquencés)	complexe	Commentaires
<b>Burkina Faso</b>	84	A	4	P1.9	ST-2859 (38)	cc5	caractérisation à partir culture
	1	PA	4	P1.9	ST-2859	cc5	caractérisation à partir culture
	1	Y	14	P1.5	2880	cc167	caractérisation à partir culture
<b>Bénin</b>	1	W135	NT	P1.5,2	ST-2881		caractérisation à partir culture
<b>Niger</b>	21 12 novembre	A			ST-7 (21)	cc5	caractérisation directement sur LCR
	6	A			ST-2859 (6)	cc5	caractérisation directement sur LCR
	2	W135			ST-2881 (2)		caractérisation directement sur LCR
	1	X			ST-181		caractérisation directement sur LCR
	1	X			ST-5789		caractérisation directement sur LCR
							caractérisation directement sur LCR
<b>Tchad</b>	1	W135			ST-11	cc11	caractérisation directement sur LCR
	1	W135	NT	P1.5,2	2881		caractérisation à partir culture
<b>Togo</b>	6	W135	NT	P1.5	ST-2881 (6)		caractérisation à partir culture
	19	A	4	P1.9	ST-2859 (19)	cc5	caractérisation à partir culture

CMI des souches de méningocoque isolées en 2007 de cas de méningite au Bénin, au Burkina Faso, au Niger, au Tchad et au Togo

