

## CNR des Méningocoques

# **CENTRE NATIONAL DE REFERENCE DES MENINGOCOQUES RAPPORT D'ACTIVITE 2014**

Unité des Infections Bactériennes Invasives

28 rue du Dr Roux  
75724 Paris cedex 15

Tel 01 45 68 84 38  
Secrétariat 01 40 61 31 08  
Télécopie 01 40 61 30 34  
Courriel : [meningo@pasteur.fr](mailto:meningo@pasteur.fr)

Site : <http://www.pasteur.fr/ip/easysite/pasteur/fr/sante>

Responsable Scientifique : Muhamed-Kheir TAHA  
Courriel [muhamed-kheir.taha@pasteur.fr](mailto:muhamed-kheir.taha@pasteur.fr)  
Tel : 01 45 68 84 38  
Télécopie 01 45 68 83 38

Responsable Scientifique Adjoint : Ala-Eddine DEGHMANE  
Courriel : [ala-eddine.deghmane@pasteur.fr](mailto:ala-eddine.deghmane@pasteur.fr)  
Tel : 01 44 38 95 90

Responsable Administratif : Christophe MAURIET, Directeur Général Adjoint  
Administration  
[christophe.mauriet@pasteur.fr](mailto:christophe.mauriet@pasteur.fr)  
Tel 01 45 68 80 10

# Plan

<b>RESUME ANALYTIQUE .....</b>	<b>3</b>
<b>INTRODUCTION .....</b>	<b>4</b>
<b>1. MISSIONS ET ORGANISATION DU CNR.....</b>	<b>5</b>
<b>2. ACTIVITES D'EXPERTISE.....</b>	<b>5</b>
2.1. ÉVOLUTIONS DES TECHNIQUES AU COURS DE L'ANNEE 2014.....	5
2.1.1. <i>Techniques développées ou en développement</i> .....	5
2.2. ACTIVITES D'EXPERTISE DE L'ANNEE 2014.....	6
2.2.1. <i>Les procédures appliquées au CNRM</i> .....	7
<b>3. ACTIVITES DE SURVEILLANCE.....</b>	<b>9</b>
3.1. SURVEILLANCE DE L'EVOLUTION ET DES CARACTERISTIQUES DES INFECTIONS .....	9
3.2. CARACTERISTIQUES DES CAS D'IIM .....	10
3.3. CARACTERISTIQUES DES CAS D'IIM DE GROUPE B (IIMB) .....	11
3.4. CARACTERISTIQUES DES CAS D'IIM GROUPE C (IIMC).....	12
3.5. CARACTERISTIQUES DES CAS D'IIM GROUPE W (IIMW) .....	12
3.6. CARACTERISTIQUES DES CAS D'IIM GROUPE Y (IIMY) .....	13
3.7. SURVEILLANCE DE LA RESISTANCE DU MENINGOCOQUE AUX ANTI-INFECTIEUX : SENSIBILITE AUX ANTIBIOTIQUES .....	14
3.8. PARTICIPATION AUX RESEAUX DE SURVEILLANCE .....	16
3.9. ENQUETES OU ETUDES PONCTUELLES CONCOURANT A LA SURVEILLANCE.....	17
<b>4. ALERTE .....</b>	<b>17</b>
<b>5. ACTIVITES D'INFORMATION, DE FORMATION ET DE CONSEIL .....</b>	<b>18</b>
<b>6. TRAVAUX DE RECHERCHE ET PUBLICATIONS EN LIEN DIRECT AVEC L'ACTIVITE DU CNR.....</b>	<b>20</b>
6.1. DEVELOPPEMENT DES OUTILS DE DIAGNOSTIC RAPIDE, DE SURVEILLANCE ET DE PREVENTION POUR LES IIM DU SEROGROUPE X .....	20
6.2. LA PREDICTION DE LA COUVERTURE VACCINALE PAR LE BEXSERO® .....	21
6.3. LES PUBLICATIONS ET COMMUNICATIONS REALISEES EN 2014 EN LIEN AVEC LES ACTIVITES DU CNR.....	21
<b>FIGURES.....</b>	<b>23</b>

## Résumé analytique

Les infections invasives à méningocoque sont à déclaration obligatoire. Leur surveillance est un enjeu de santé publique à cause de la potentielle expansion épidémique. L'incidence des infections invasives à méningocoques (IIM) en France reste faible et elle est relativement stable depuis 10 ans entre 0,90 et 1,60 cas pour 100 000, avec un taux de mortalité entre 8-10%. Deux sérogroupes, B et C, sont responsables d'environ 83% des cas. Cependant, le séro groupe Y n'est plus rare et représente maintenant une proportion de 10% des cas. Certaines souches (hyper-invasives) peuvent être responsables d'infections invasives à méningocoque et peuvent être à l'origine de cas groupés et/ou de poussées épidémiques. Cela souligne l'importance de la caractérisation des souches du méningocoque. Les axes majeurs de la mission du Centre National de Référence des Méningocoques (CNRM) impliquent une expertise microbiologique, la contribution à la surveillance épidémiologique, en lien avec l'Institut de Veille Sanitaire, les alertes et les expertises auprès des autorités de santé.

En 2014, le CNRM a commencé d'utiliser l'approche du séquençage du génome entier en surveillance épidémiologique. En particulier, cette approche a permis de mieux comprendre l'évolution des souches des cas dans la communauté des hommes ayant eu des relations sexuelles avec d'autres hommes (HSH). L'évolution de certains marqueurs a pu être suivie dans des cas en dehors de la région parisienne. Une nouvelle recommandation (du 7 novembre 2014) de vaccination au-delà de l'âge de 24 ans pour cette communauté a été formulée par le Haut Conseil de Santé Publique (HCSP). Cette nouvelle recommandation concerne les personnes résidant en France, et pour une période d'un an car des cas liés au « variant HSH » ont été observés également hors Ile-de-France.

Pour répondre aux besoins de vaccination contre le méningocoque B selon les recommandations du HCSP (pour les cas groupés), le CNR a utilisé la nouvelle méthode d'analyse des niveaux d'expression des antigènes vaccinaux (MATS) pour évaluer la couverture des souches du méningocoque B par le nouveau vaccin recombinant contre le méningocoque B (Bexsero®). De plus, cette approche a été renforcée par le test de d'activité bactéricide contre les souches du méningocoque impliquées dans les cas groupés. Cela est réalisé en utilisant un pool de sérums des sujets vaccinés.

En 2014, la PCR en temps réel a remplacé complètement la PCR « en point final » développée et utilisée par le CNR depuis plus de 10 ans. Des contacts fréquents avec les centres hospitaliers sont établis/poursuivis pour l'implémentation de la PCR dans ces centres hospitaliers en liaison avec le CNR.

Le CNRM continue à piloter les études européennes pour la standardisation et l'harmonisation de l'antibiogramme du méningocoque.

## Introduction

Le méningocoque, *Neisseria meningitidis*, est une espèce bactérienne étroitement adaptée à l'homme, qui en est le seul réservoir connu et le seul hôte sensible. Elle se présente le plus souvent comme une espèce bactérienne commensale du rhino-oropharynx (portage asymptomatique chez 10% de la population générale). La transmission du méningocoque est aérogène, par les sécrétions rhino-pharyngées (gouttelettes de Flügge), classiquement après une exposition de plus d'une heure et à courte distance (<1 mètre). C'est la distance que peuvent parcourir des gouttelettes de 10 microns avant de s'évaporer ou de tomber. La taille de 10 microns de ces gouttelettes permet une rétention au niveau du rhinopharynx (porte d'entrée du méningocoque). L'acquisition d'un méningocoque conduit le plus souvent à un portage asymptomatique (souches de portage). Rarement, l'acquisition est suivie d'une infection invasive. C'est le cas notamment lors de l'acquisition d'une souche hyper-invasive. La susceptibilité de l'hôte joue également un rôle majeur dans le taux d'attaque d'IIM après acquisition (exemple : les sujets ayant des déficits dans les composants tardifs du complément).

Sur le plan clinique, les IIM 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 sont connues et doivent être recherchées, telles que des arthrites et des péricardites, des endophtalmies ou des pneumonies invasives, confirmées par la découverte d'une bactériémie. Le traitement antibiotique adéquat est efficace lors de la phase précoce de dissémination des bactéries. Une IIM est confirmée biologiquement (par culture et/ou par PCR) par la présence de méningocoques dans des prélèvements qui doivent corroborer les critères de définition des cas d'IIM (isolement ou détection du méningocoque à partir d'un site normalement stérile).

La détermination du sérotype d'un méningocoque isolé chez un patient atteint d'IIM est le complément indispensable de l'identification pour pouvoir instaurer la prophylaxie vaccinale des sujets contacts. Le sérotypage est effectué par agglutination des corps bactériens avec des immun-sérums spécifiques qui sont les anticorps anti-capsulaires des méningocoques. Le Centre national de référence des méningocoques (CNRM) a mis au point une technique de diagnostic *direct sur produit pathologique* permettant d'établir l'étiologie lorsque la culture a échoué. Cette technique est utilisable par tout laboratoire disposant des compétences et installations pour le diagnostic par PCR. Cette technique permet de détecter la présence de l'ADN du méningocoque et de déterminer les groupes les plus fréquents dans les IIM (A, B, C, Y, W et X). *La PCR ne remplace pas la mise en culture qui est indispensable à l'antibiogramme.* Toute souche ou tout matériel positif pour le méningocoque (échantillon clinique ou extrait d'ADN) doit être envoyé dans les meilleurs délais au CNRM pour typage complet. Le suivi des différents phénotypes et génotypes des souches invasives est essentiel pour détecter des liens entre différents cas, pour

une alerte la plus précoce possible pour le contrôle du risque d'expansion épidémique d'un clone connu ou émergent.

## 1. Missions et organisation du CNR

Les missions et l'organisation du CNR sont mentionnées dans [l'Annexe 1](#) du rapport. Cependant, en 2014 des changements ont eu lieu pour le personnel du CNRM dont l'état actuel est montré dans le tableau 1

Tableau 1 : Les ressources humaines

Prénoms et Noms	Qualifications	mois	ETP
Muhamed-Kheir TAHA	Scientifique	12	0,75
Ala-Eddine DEGHMANE	Scientifique	12	0,75
Dario GIORGINI	Technicien supérieur de laboratoire	12	0,75
Eva HONG	Technicien supérieur de laboratoire Promotion Ingénieur en 2015	12	1,00
Aude TERRADE	Technicien supérieur de laboratoire	12	1,00
Mélanie DENIZON	Stagiaire en vue de formation technicienne	12	1,00
Anne FRANCES-PARIS	Secrétariat de direction	12	0,50
Labo PREPA	Aide de laboratoire Changement d'organisation en fin 2014	12	0,5

## 2. Activités d'expertise

Une grande panoplie de techniques est déjà disponible et utilisée pour le diagnostic/typage du méningocoque. Certaines de ces techniques ont été à l'origine développées au sein de notre laboratoire. Ces techniques sont mentionnées dans [l'Annexe 2](#).

### **2.1. Évolutions des techniques au cours de l'année 2014**

#### 2.1.1. Techniques développées ou en développement

La technique de typage des antigènes vaccinaux (MATS Meningococcal Antigen Typing System) est maintenant utilisable au CNRM pour analyser la couverture des souches du méningocoque par le Bexsero®. Elle permet de confirmer ou infirmer la couverture des souches impliquées dans les cas groupés selon les recommandations du HCSP. Il s'agit d'explorer les

grappes de cas définies par la survenue d'au moins 2 cas d'IIM B dans une même collectivité ou un même groupe social survenus dans un délai  $\leq$  à 4 semaines ou de situations épidémiques afin de définir si les cas sont rattachables à des souches identiques couvertes par le vaccin Bexsero®.

Dans certains cas, le MATS peut aider les travaux d'un groupe multidisciplinaire d'experts au niveau national et/ou régional quant à la pertinence et aux modalités éventuelles d'une action locale de vaccination par le vaccin Bexsero®. (C'est notamment les situations de survenue d'au moins 2 cas d'IIM B dans une même collectivité ou un même groupe social survenus dans un délai  $>$  à 4 semaines et  $\leq$  3 mois ou situations d'hyperendémie). Le CNR a également développé des anticorps contre le fHbp et a développé une méthode ELISA qui permet d'établir le niveau d'expression de cette protéine quel que soit le variant de cette protéine (variant 1, 2 ou 3).

L'étude du pouvoir bactéricide du sérum (test SBA) reste le "gold standard" pour l'évaluation de l'efficacité des vaccins anti-méningococciques. Le CNRM dispose également des sérums des sujets vaccinés par le Bexsero®. En effet Le principe est donc de constituer une sérothèque de sujets ayant reçu un schéma complet de Bexsero® afin d'évaluer la couverture des souches. Le CNRM dispose maintenant des outils de typage phénotypique pour répondre à la question de la couverture vaccinale. Ces approches phénotypiques sont combinées aux méthodes de typage moléculaire des gènes codant pour les antigènes vaccinaux accessibles via le site web d'Oxford du typage par MLST (<http://pubmlst.org/neisseria/>).

Le CNRM utilise de plus en plus fréquemment le séquençage complet du génome de *N. meningitidis* (Whole genome sequencing, WGS).

## 2.2. Activités d'expertise de l'année 2014

En 2014, le CNRM a reçu 704 souches bactériennes (invasives et non invasives) et prélèvements (LCS, sang et autres liquides biologiques) pour identification et typage. Parmi ces souches, l'identification « *Neisseria meningitidis* » a été confirmée pour 299 cas d'IIM.

L'évolution de la distribution des sérogroupe de souches invasives en 2014 est montrée dans la **Figure 1**.

Le CNR a également reçu 314 échantillons primaires pour des cas de suspicion d'IIM. Ces échantillons ont été testés par PCR pour la détection de l'ADN de *N. meningitidis* et génogroupage. Le nombre de prélèvements reçus au CNR a diminué mais la proportion des prélèvements positifs pour *N. meningitidis* reste stable (environ 45% sur les 5 dernières années) (Tableau 2).

Tableau 2. Infections invasives à méningocoques identifiées par PCR (NG= non génogroupable)

Année	N° négatifs	Génogroupe						Total	n° positifs	% des positifs
		négatif	A	B	C	W	Y			
2006	211	0	59	18	2	1	13	304	93	31%
2007	278	1	114	41	0	4	12	450	172	38%
2008	217	0	100	27	3	3	10	360	143	40%
2009	235	0	127	29	3	2	8	404	169	42%
2010	229	0	165	18	3	5	4	424	195	46%
2011	245	0	165	23	8	8	4	454	209	46%
2012	248	0	151	23	27	7	3	459	211	46%
2013	231	0	114	46	21	3	3	418	187	45%
2014	178	0	90	35	4	6	1	314	136	43%

Les proportions des génogroupes pour le cas diagnostiqué par PCR sont montrées dans la **Figure 2**.

Le CNRM a déjà montré que le pourcentage de PCR positives dans les biopsies cutanées était significativement plus élevé que l'ensemble des prélèvements. Le pourcentage des biopsies cutanées testées en 2014 est en augmentation. De plus, 17% des cas confirmés par PCR le sont sur des biopsies cutanées (contre 11% en 2013). Cela souligne l'intérêt de pratiquer une biopsie sur les lésions cutanées pour le diagnostic des IIM. Ces meilleures performances sont en partie liées à la meilleure communication instaurée avec nos correspondants hospitaliers pour les conditions de prélèvement et d'envoi. Le CNRM continue également à encourager et accompagner ses correspondants pour implanter la technique de détection par PCR dans les centres hospitaliers.

### 2.2.1. Les procédures appliquées au CNRM

Le CNR collabore avec un réseau de correspondants nationaux incluant plus de 700 laboratoires, majoritairement hospitaliers, qui adressent leurs souches pour confirmation, détermination du groupe antigénique capsulaire (sérogroupe). L'antibiogramme de référence est réalisé selon les recommandations de l'EMGM (*European Monitoring Group on Meningococci*) pour les antibiotiques utilisés dans le traitement et la chimioprophylaxie. Des études moléculaires complémentaires sont également menées sur les souches résistantes pour identifier les mécanismes moléculaires de cette résistance. En accord avec les recommandations de l'EMGM et l'ECDC, le CNRM ne réalise plus systématiquement le phénotypage [sérotypage (protéine de membrane externe, PorB) et sous-typage (protéine de membrane externe, PorA) et immunotypage (immunospecificité du lipooligosaccharide, LOS)]. Ces typages sont maintenant remplacés par le séquençage des gènes *porA* et *porB*.

Le CNRM réalise en urgence (2h) une détermination du groupe par une approche moléculaire pour les souches invasives qui ne sont pas sérogroupées ou lorsqu'un problème est signalé par le laboratoire correspondant.

Toute suspicion de cas groupés fait l'objet d'un typage moléculaire des souches exprimant des phénotypes semblables. Les données de surveillance nationale sont régulièrement évaluées avec l'InVS et la DGS, auxquels la liste des souches invasives est communiquée chaque mois, ou plus fréquemment en cas d'alerte. Les correspondants qui n'appliquent pas les techniques de diagnostic moléculaire 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 sérotype par amplification des gènes de la capsule (génogroupage). Plusieurs méthodes de typage moléculaire sont employées pour les études des cas groupés (MLST, PFGE, *fetA*, *penA*, *porA* et *porB*). Le CNR continue à développer de nouvelles approches moléculaires pour augmenter la résolution des études de comparaison entre les souches et nous avons ajouté le séquençage du gène *fHbp*.

La caractérisation moléculaire de la résistance aux antibiotiques est réalisée par le séquençage des gènes *penA* et *rpoB* et *gyrA*. Les données de cette étude seront accessibles via le site (<http://pubmlst.org/neisseria/>).

Une surveillance internationale des souches responsables d'IIM est instaurée en partenariat avec l'EMGM (associant tous les centres de référence européens), l'Organisation Ouest Africaine de la Santé et l'Organisation Mondiale de la Santé.

Les modalités de recueil des souches et des prélèvements adressés au CNR pour diagnostic et typage moléculaires sont organisées selon des procédures adressées à tous nos correspondants. Les milieux de transport spécifiques pour les souches de *Neisseria* (milieu de Vandekerkove), garantissant la viabilité des cultures bactériennes, sont fournis gratuitement aux correspondants nationaux du CNR. Des fiches de renseignements sont également fournies ainsi que le dispositif d'étiquetage à l'adresse du CNRM. 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 sérotype (ce document est téléchargeable à partir du site internet ([www.pasteur.fr/sante/cnr/](http://www.pasteur.fr/sante/cnr/))). Compte tenu de l'urgence à instaurer une prophylaxie appropriée à l'entourage de chaque cas d'infection invasive, les expertises concernant le sérotype et la sensibilité aux antibiotiques d'intérêt thérapeutique et prophylactique sont communiquées extemporanément au correspondant par téléphone, télécopie ou par courriel.

L'accès aux souches, aux prélèvements biologiques et données associées collectés dans le cadre de l'activité des CNR est conditionné par la mise en place de documents contractuels spécifiques. Ainsi, est exigée pour le transfert du matériel biologique et des données associées, la mise en place *a minima* d'un accord de transfert de matériel biologique (Material Transfer Agreement - MTA) ou d'un accord de collaboration selon la nature des interactions entre les deux parties.

Suivant la nature industrielle ou académique du partenaire, ces accords donneront lieu ou pas à une contrepartie financière.

Ces accords ont notamment pour objet d'assurer le transfert de la détention physique du matériel au partenaire. L'unité de recherche reconnue CNR, de par la valorisation de son savoir-faire et de son expertise sur le matériel biologique concerné, reste détenteur des prélèvements biologiques et données associées ou propriétaire des droits existants sur les souches et données associées y afférant.

Différents points essentiels sont appréhendés dans ces accords :

- le partenaire s'engage à n'utiliser les souches, les prélèvements biologiques et données associées que dans le cadre d'un programme de recherche défini spécifiquement.
- les résultats issus du programme de recherche devront systématiquement être communiqués par le partenaire au CNR ; le CNR sera également associé ou remercié dans les publications et/ou les communications.
- le partenaire s'engage à ne pas transférer les souches, les prélèvements biologiques et les données associées à des tiers et à retourner ou détruire le matériel biologique à la fin du programme de recherche.

En termes de valorisation, l'Institut Pasteur s'assure, dans certaines circonstances, de la copropriété des résultats issus des travaux effectués sur le matériel biologique et veille à ce que la valorisation du savoir-faire et de l'expertise du CNR ayant conservé, traité, trié et analysé le matériel biologique soit garantie au titre de l'accord.

Lorsque le matériel biologique et les données associées sont mis à disposition dans le cadre d'une collaboration scientifique par laquelle les partenaires s'associent de manière plus conséquente à la réalisation du programme de recherche, la valorisation des travaux menés conjointement devra tenir compte des apports respectifs de chacun des partenaires.

Les accords excluent toute garantie relative (i) à la nature appropriée des souches, des prélèvements biologiques et données associées pour une utilisation spécifique et (ii) à la qualité non-infectieuse du matériel biologique.

L'interdiction de l'utilisation du matériel biologique sur l'homme et sur les animaux, le cas échéant, est également stipulée dans l'accord. Enfin, le CNRM n'assume aucune responsabilité quant à l'utilisation du matériel biologique par le partenaire.

### 3. Activités de surveillance

#### **3.1. Surveillance de l'évolution et des caractéristiques des infections**

Le CNRM dispose d'un réseau de correspondants nationaux incluant plus de 700

laboratoires, majoritairement hospitaliers, et couvrant l'ensemble du territoire. Nous fournissons ces laboratoires en milieu de transport spécifique pour le méningocoque, ce qui leur permet de nous envoyer les souches bactériennes viables dans les meilleurs délais. La procédure de demande du milieu de transport et l'envoi des souches/échantillons est disponible sur le site internet de l'Institut Pasteur (<http://www.pasteur.fr/ip/easysite/pasteur/fr/sante>). En tant que CNR, les arrivages sont immédiatement pris en charge au laboratoire de 9h à 18h les jours ouvrés et de 9h à 13h le samedi. De plus, la réception des souches/échantillons est assurée à l'Institut Pasteur 24h/7j. En 2014, l'ensemble des souches et prélèvements primaires correspondent à 389 cas d'IIM dont 269 cas confirmés seulement par culture (69% contre 74% en 2013), 90 (23% contre 24% en 2013) par PCR seulement et 30 par culture et PCR (8% contre 2% en 2013) (**Figure 3**). Les souches et prélèvements reçus au CNRM représentent plus de 90% des cas notifiés en France. C'est le département 75 (Paris) qui arrive en tête pour le nombre de souches/prélèvements invasifs (n=27) suivi par le département du Nord (n=22) (**Figure 4**).

### 3.2. Caractéristiques des cas d'IIM

Le ratio homme/femme était de 1,2. Parmi les 389 cas confirmés par culture et /ou PCR, la distribution en groupe était : groupe B (n=214 ; 55%), groupe C (n=111 ; 29%), groupe Y (n=40, 10%), groupe W (n=19, 5%) et les autres groupes et non groupables (n=5, 1%). Le nombre des cas a significativement diminué en comparaison à l'année 2013. Cette baisse touche l'ensemble des sérogroupes mais le séro groupe B subit la baisse la plus remarquable (**Figure 1 et Figure 5**). Cette baisse des cas d'IIMB est plus importante chez les adolescents et les adultes (tranches d'âge 16-24 et >24 ans) (**Figure 6**). Cette baisse, en l'absence de toute vaccination contre le méningocoque B, pourrait être due à l'interdiction du fumer dans les lieux publics où la transmission du méningocoque est connue pour être très importante (bars, boîtes de nuit). De plus cette baisse est également observée pour les IIMC chez les 16-24 ans malgré la faible couverture de vaccination contre le méningocoque C dans cette tranche d'âge.

La distribution en fonction de l'âge est montrée en **Figure 6**). La proportion du groupe B est prédominante dans toutes les classes d'âge sauf chez les 25 ans et plus. La proportion groupe C représente globalement 29 % des cas mais varie en fonction de l'âge : elle est de 12,5% chez les 1-5 ans contre respectivement 37% et 28,5% chez les 16-24 ans et chez les plus de 25 ans respectivement (**Figure 7**).

Le nombre de cas d'IIMY a également baissé en 2014 en comparaison à l'année 2013 en particulier chez les adultes de plus de 24 ans. Cependant, Les IIMY restent plus importantes essentiellement chez les adultes et en particulier chez les 60 ans et plus atteignant 23% des cas IIM (30% en 2013).

Le génotypage par MLST a été réalisé chez l'ensemble de 389 cas pour définir les complexes clonaux. Ces données sont obtenues pour 354 cas (91% de l'ensemble des cas reçus

au CNRM). Ce pourcentage était plus important pour les cas confirmés par culture (98%) que les cas confirmés seulement par PCR (70%).

La distribution en complexes clonaux (cc) est présentée dans les **Figures 8 et 9**.

Les cc hyperinvasifs représentaient 62% (contre 68% en 2013 des cas et les cc plus fréquents étaient, comme pour les années précédentes et par ordre de fréquence décroissante : cc11 (29%), cc41/44 (14%), cc32 (13%) et cc269 (6%). En 2012, 2013 et 2014, la proportion des souches du cc11 était en augmentation respectivement de 19%, 27% et 29%. L'augmentation du cc11 reflète l'augmentation des cas d'IIMC car la grande majorité des cas d'IIMC sont dus à des souches du cc11.

### **3.3. Caractéristiques des cas d'IIM de groupe B (IIMB)**

Ces cas (souches et prélèvements) représentaient 55% de l'ensemble des cas d'IIM (137 cas par culture, 59 cas par PCR et 18 cas par culture et PCR). Comme le montre la **Figure 9**, les cas d'IIMB pour lesquelles les données de typage MLST sont disponibles (92%), se répartissent selon plusieurs complexes clonaux. En effet, 11 complexes clonaux regroupent 182 cas. De plus, 15 cas d'IIMB étaient provoqués par des souches qui n'appartenaient pas à des complexes clonaux définis. Les complexes clonaux cc41/44, cc32 et cc269 sont les plus fréquents (65% des cas)(**Figure 7**).

Les cas dus au complexe clonal 41/44 sont très divers avec 24 combinaisons de PorA (VR1,VR2):FetA mais la combinaison la plus répandue est B:P1.7-2,4:3-3:cc41/44 qui représentait 35% des cas d'IIMB (cc41/44) et 8% de l'ensemble des cas d'IIMB (**Figure 10**)

Les cas dus au complexe clonal 32 sont également très divers avec 16 combinaisons de porA (VR1,VR2):FetA mais la combinaison la plus répandue est B:P1.7,16:F3-3:cc32 qui représentait 33% des cas d'IIMB (cc32) et 7% de l'ensemble des cas d'IIMB. Ensuite la combinaison B:P1.7-2,16:F3-3:cc32 était responsable de 23% des cas d'IIMB (cc32) et de 5% des cas d'IIMB, et correspondait aux cas groupés dans le département de l'Ain. Ces combinaisons étaient responsables des cas groupés dans plusieurs autres départements les années antérieures, comme la Seine Maritime. Il est intéressant de noter que ces combinaisons n'ont pas été détectées en Seine Maritime en 2014, ce qui est en faveur de l'impact positif de la vaccination contre les souches B:14:P1.7,16 dans ce département depuis 2006. Cette vaccination est maintenant arrêtée. La surveillance est donc importante pour détecter une réémergence de ces cas en Seine Maritime.

Les cas dus au complexe clonal 269 sont également très divers avec 20 combinaisons de porA (VR1,VR2):FetA mais la combinaison la plus répandue est B:19-1,15-11,:F-:cc269 qui représentait 45% des cas d'IIMB (cc269) et 5% de l'ensemble des cas d'IIMB. Malgré la baisse des cas d'IIMB (cc269), cette combinaison reste majoritaire et elle correspond aux souches qui étaient responsables des cas groupés en Alsace en 2012. Il convient donc de garder une surveillance

renforcée de ces souches.

Le nombre des cas d'IIMB du complexe clonal ST-11 reste stable (5 cas en 2014). La surveillance de ces souches est importante car elle peut indiquer une commutation (Switch) de la capsule. Les cinq cas correspondent à plusieurs combinaisons (PorA :FetA) ce qui suggère l'absence d'expansion clonale. Ces combinaisons sont habituellement observées chez les souches du méningocoque C (P1.5-1,10-8 :F3-6 :cc11, P1.5,2 :F3-3 :cc11 et P1.7-1,1 :F3-6).

### 3.4. Caractéristiques des cas d'IIM groupe C (IIMC)

Le pourcentage des cas dus aux sérogroupes C (culture +PCR) est de 29% en 2014 (24% en 2013) mais le nombre total des cas d'IIMC confirmés par culture et/ou PCR est en légère diminution (N=111 en 2014 contre 121 en 2013). Par contre, le nombre des cas continue à augmenter chez les nourrissons de <1 an et les adultes >24 ans (**Figure 6**). Les souches/prélèvements du groupe C sont un peu moins hétérogènes que les souches/prélèvements du groupe B et 95% (93% et 84% en 2013 et 2012 respectivement) de ces cas sont dus à des souches qui appartiennent au complexe clonal ST-11 (**Figure 11** et **Figure 9B**). Ce sont les marqueurs additionnels que le CNRM a utilisés tels que FetA et fHbp et le séquençage complet du génome qui ont permis de détecter l'émergence des phénomènes anormaux (exemple : les cas d'IIMC dans la communauté des HSH). Cependant, des cas liés à la communauté HSH ont été détectés avec ces souches ayant perdu le gène *porA*. C'est le séquençage du génome entier qui a permis d'attacher ces cas au « variant HSH » du méningocoque. Cela souligne la nécessité d'améliorer constamment les approches de typage du méningocoque.

L'analyse phénotypique des souches cultivées a montré que les souches des phénotypes C :2a :P1.5,2 et C :2a :P1.5 sont responsables de l'augmentation du nombre de cas d'IIMC (**Figure 11**).

Les souches des phénotypes C:2a :P1.7,1 ou C:NT :P1.7,1 (en augmentation jusqu'à 2010) étaient encore très rares en 2014. Ces variations au sein des souches du complexe clonal ST-11 reflètent la capacité de ce complexe hyperinvasif à persister grâce à l'expansion de nouveaux variants au niveau des antigènes majeurs comme PorA, PorB ou le fHbp comme le suggèrent les travaux de typage des souches liées aux cas HSH et les travaux publiés par le CNRM (*Hong, E., Giorgini, D., Deghmane, A.E. & Taha, M.K. Functional impacts of the diversity of the meningococcal factor H binding protein. Vaccine 31, 183– 189 (2012)*). Ces observations indiquent que les marqueurs additionnels utilisés pour le typage des cas groupés peuvent varier selon les situations.

### 3.5. Caractéristiques des cas d'IIM groupe W (IIMW)

Après une réémergence en 2012 des souches du séro groupe W/cc11, le nombre de ces cas confirmés par culture et/ou par PCR a baissé graduellement depuis, et il était de 19 en 2014. En effet les souches W:P1.5,2 :cc11 représentaient 86% des cas d'IIMW en 2014 pour lesquels un génotypage était réalisé. Cependant, ces souches correspondaient à trois combinaisons avec FetA :

W :P1.5,2 :F1-1 :cc11, W:P1.5,2 :F2-19:cc11 et W:P1.5,2 :F1-1461:cc11 (**Figure 12**). Il faut donc maintenir la surveillance de ces cas pour détecter toute nouvelle réémergence locale ou par importation. En effet, les souches du séro groupe W semblent en augmentation depuis 2010 dans certains pays de l'Afrique subsaharienne (la combinaison W :P1.5,2 :F1-1 ).

### 3.6. Caractéristiques des cas d'IIM groupe Y (IIMY)

L'augmentation des cas d'IIMY a repris en 2013 après une stagnation en 2012 mais les cas ont baissé en 2014 même si en 2014, les IIMY représentaient 10% des cas d'IIM confirmés par culture et/ou PCR et reçus au CNRM. Depuis 2010, les IIMY augmentent dans plusieurs pays en Europe, dont la France. Mais, comme en 2012 et 2013, ces souches restent hétérogènes génotypiquement (**Figure 13** et **Figure 14**).

Les souches/prélèvements du groupe Y appartiennent à 5 complexes clonaux. Le complexe clonal ST-23 reste majoritaire et représentait 68% (60% et 32% en 2013 et 2012 respectivement) (**Figure 14**). La baisse en 2104 est essentiellement due aux cc autres que le cc23 qui reste stable.

Les deux combinaisons génotypiques restent les plus représentées parmi les cas d'IIMY du cc23 sont Y:P1.5-2,10-1:F5-12 :cc23 et Y :P1.5-2,10-1:F4-1 :cc23 qui représentaient 48% des d'IIMY (cc23) et 32% des cas d'IIMY pour lesquels le typage a été réalisé.

Les souches du séro groupe Y sont souvent isolées chez des sujets de plus de 65 ans. Lorsqu'il s'agit d'un sujet jeune, l'isolement d'une souche du séro groupe Y peut évoquer un déficit immunitaire et en particulier les déficits dans les composants tardifs du complément. Dans ce contexte, nous recommandons systématiquement l'exploration du complément.

Contrairement aux années 2006 à 2008, une baisse de l'âge médian des cas avait été observée entre 2009 et 2011. Cette tendance s'est inversée les deux années suivantes, avec une augmentation de l'âge médian (57,6 en 2012, et 61,1 en 2013). Pour 2014, on observe à nouveau un changement de tendance, avec une diminution, puisque l'âge médian s'établit pour cette année à 41,8 ans - Tableau 5). Il est intéressant de noter que l'âge médian en 2014 (comme en 2013) des cas dus aux souches Y du cc23 est de 27,1 ans contre 48,1 pour les autres cc d'IIMY.

**Tableau 3 Distribution des souches invasives Y en fonction de l'âge**

Année	2005	2006	2007	2008	2009	2010	2011	2012	2013	2014
Nombre de souches	19	17	25	30	19	25	38	28	47	40
Age minimum	1,4	4,4	0,3	0,0	0,3	0,7	0,3	0,8	0,1	0,06
Age médian	76,1	80,1	74,8	43,6	34,1	20,8	21	57,6	61,1	41,8
Age maximum	97,0	94,3	102,4	87,8	95,5	95,4	89,6	94,9	93,92	97,33
Moyenne d'âge	59,7	60,1	58,4	43,7	44,2	31,6	34,7	56,8	52,3	46,4

### 3.7. Surveillance de la résistance du méningocoque aux anti-infectieux : Sensibilité aux antibiotiques

Les profils de sensibilité des souches de *N. meningitidis*, isolées d'infections invasives, à la pénicilline G, aux céphalosporines de troisième génération, à la rifampicine et la ciprofloxacine qui sont actuellement les antibiotiques d'intérêt thérapeutique ou prophylactique, ainsi qu'au chloramphénicol (parfois le seul antibiotique disponible en Afrique), sont systématiquement déterminés (**Tableau 4**). Toutes les souches sont systématiquement éprouvées par E-test contre les antibiotiques d'intérêt thérapeutique (bêta-lactamines, chloramphénicol) et prophylactique (rifampicine et ciprofloxacine). Des analyses complémentaires par séquençage des gènes impliqués dans la résistance aux antibiotiques sont également réalisées (*penA*, *rpoB* et *gyrA*)

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 de valider un consensus sur la standardisation de ces paramètres qu'une étude multicentrique a été réalisée au sein de l'EMGM. Elle a conduit à retenir la méthode de détermination des concentrations minimales inhibitrices (CMI) par E-test, en ensemençant un inoculum standardisé à 0,5 sur l'échelle de Mc Farland sur milieu de Mueller Hinton au sang de mouton (Vazquez *et al.* Antimicrob. Agents Chemother. 2003 ; 47 :3430-4).

Les déterminations des CMI de la pénicilline G montrent que la CMI de 0,125 mg/L, retenue comme valeur-seuil de sensibilité diminuée sur la base des altérations de séquence du gène *penA* codant la protéine de liaison PBP2, est atteinte ou dépassée par 24% des souches en 2014 (33% pour les souches du méningocoque B et 17% pour les souches du méningocoque C). Cette proportion est stable depuis plusieurs années. Mais la proportion des souches de *N. meningitidis* de sensibilité diminuée à la pénicilline G était plus élevée avant 2006 (environ 32%). La baisse constatée depuis 2006 est liée à la diminution des souches du sérotype C du complexe clonal

ST-8 (absentes en 2011) mais également au coût biologique chez le méningocoque de la diminution de la sensibilité à la pénicilline. Aucune souche de *N. meningitidis*  $\beta$ -lactamase (céfinase)- positive n'a été détectée. Les souches de sensibilité réduite à la pénicilline G étaient également de sensibilité réduite à l'amoxicilline.

La distribution des concentrations minimales inhibitrices (CMI) de la pénicilline G est présentée dans la **Figure 15** pour l'année 2014. L'étendue des valeurs des CMI est 0,012-0,5 mg/L. De plus, les valeurs de CMI<sub>50</sub> et CMI<sub>90</sub> pour l'ensemble des souches étaient de 0,064 et 0,190 respectivement en 2014 ce qui reflète davantage la baisse des souches de sensibilité réduite à la pénicilline. La diminution de la sensibilité à la pénicilline G reste donc modeste selon les CMI et ne semble pas s'étendre. Des observations similaires sont également faites pour l'amoxicilline. Cela justifie l'indication de l'utilisation de la pénicilline G et de l'amoxicilline dans le traitement des infections invasives à méningocoque, bien que les céphalosporines de 3<sup>e</sup> génération (céfotaxime et ceftriaxone) soient le plus souvent utilisées en première intention, selon les recommandations de la Société Française de Pathologie Infectieuse.

Toutes les souches étaient sensibles aux céphalosporines de troisième génération (céfotaxime et ceftriaxone), au chloramphénicol et au ciprofloxacine. Une seule souche (NmC) était résistante à la rifampicine et a été confirmée par le séquençage du gène *rpoB*.

Tableau 4. Profils d'antibio-sensibilité des souches d'infections invasives étudiées en 2014.

Antibiotique	Catégorie*	B	C	Y	W	autres	Total
PénicillineG**	S	104	74	34	12	2	226
	I	51	15	2	3	2	73
	R	0	0	0	0	0	0
% des souches penI		33%	17%	9%	20%	50%	24%
Céfotaxime	S	155	89	36	15	4	299
	R	0	0	0	0	0	0
Rifampicine	S	155	88	36	15	4	299
	R	0	1	0	0	0	1
			1%				0,33%
Ciprofloxacine	S	155	89	36	15	4	299
	R	0	0	0	0	0	0
Chloramphénicol	S	155	89	36	15	4	299
	I	0	0	0	0	0	0
	R	0	0	0	0	0	0

\*S= sensible, I= intermédiaire, R= résistant

\*\*Pen<sup>S</sup>, susceptible à la pénicilline G (CMI E-test<sup>®</sup> < 0,125 mg/L) ; Pen<sup>I</sup>, CMI de pénicilline G  $\geq$  0,125 mg/L et Pen<sup>R</sup>; CMI > 1mg/L.

### **3.8. Participation aux réseaux de surveillance**

Les infections invasives à méningocoque (IIM) sont des maladies à Déclaration Obligatoire (DO) avec un potentiel d'expansion épidémique. La surveillance des IIM repose sur la déclaration obligatoire (DO) aux Agences Régionales de la Santé (ARS). Les DO sont regroupées et analysées par l'Institut de Veille Sanitaire et la caractérisation des cas confirmés biologiquement par culture et/ou par PCR au CNRM. Les mesures de prophylaxie pour les contacts proches sont organisées par les ARS.

Pour la surveillance nationale, nous intervenons en tant que partenaires microbiologistes de l'InVS, avec qui les interactions sont constantes, lorsque nous sont signalés par celui-ci des cas groupés, géographiquement et temporellement, repérés grâce aux déclarations obligatoires. Notre rôle consiste à établir d'éventuelles filiations génotypiques entre les différents isolats cliniques de ces patients. Dans d'autres circonstances, nous repérons un nouveau clone ou variant phénotypique, ou bien une fréquence anormalement élevée d'un génotype connu dans une région donnée. Toujours en partenariat avec l'InVS et les intervenants régionaux (les CIRE et ARS), nous procédons alors à un suivi extrêmement serré du clone incriminé. En dehors des situations d'alertes (où le génotypage est fait en urgence, voir Annexe 2), le CNRM envoie mensuellement et en routine (M+1) le typage complet des souches : phénotypage (séro groupe, sérotype, sous-type et antibiogramme) et génotypage (complexe clonal, régions variables de PorA VR1 et VR2 ainsi que le marqueur FetA). D'autres marqueurs sont également proposés en fonction des cas explorés.

Sur le plan international, notre laboratoire est également un centre Collaborateur OMS pour le méningocoque (ccOMS) depuis Novembre 2011. Le CNRM est membre du groupe européen EMGM. Les données sur les méningococcies survenant en France sont régulièrement confrontées aux données européennes (EMGM) et le ECDC, Nord américaines (CDC) et africaines. Sur le plan européen, cette comparaison est réalisée via la base des données EMERT (European Meningococcal Epidemiology in Real Time de l'EMGM). De plus, les données microbiologiques du CNRM font parties des données communiquées par l'InVS au ECDC, via le système TESSY.

Le CNRM est membre du groupe IBDlabNet qui interagit avec l'ECDC pour la surveillance des infections bactériennes invasives en Europe. Dans ce cadre, beaucoup d'échanges d'information et de souches sont effectués. En 2014, Plusieurs souches ont été échangées avec le CNR des méningocoques en Allemagne dans le cadre des investigations des cas groupés chez les HSH.

Le CNRM collabore également avec l'observatoire des méningites chez l'enfant et l'observatoire des méningites chez l'adulte.

### 3.9. Enquêtes ou études ponctuelles concourant à la surveillance

Les cas groupés d'IIMB (pour les quels une souche a été isolée) ont été étudiés pour la couverture par le Bexsero selon trois méthodes :

- Typage par MLST et séquençage de *porA* (la détection d'un *PorA* ayant un VR2=4) est corrélé avec la couverture

- Séquençage du gène *fhbp* pour en déterminer le variant puis le dosage par ELISA du niveau de la protéine fHbp. Un niveau égal ou supérieur à 10% d'une souche référence est corrélé avec la couverture (voir Hong et al. 2012. Vaccine 31, 183– 189).

- Les tests bactéricide SBA avec du complément humain (hSBA) avec un pool de sérums des sujets vaccinés (comparaison des titres avant et après vaccination contre les souches étudiées). Un titre d'au moins 4 pour le pool après vaccination (ou une augmentation du titre de 4 fois du titre) est corrélé avec la protection.

Deux cas d'échec vaccinal contre le méningocoque C par un vaccin monovalent.

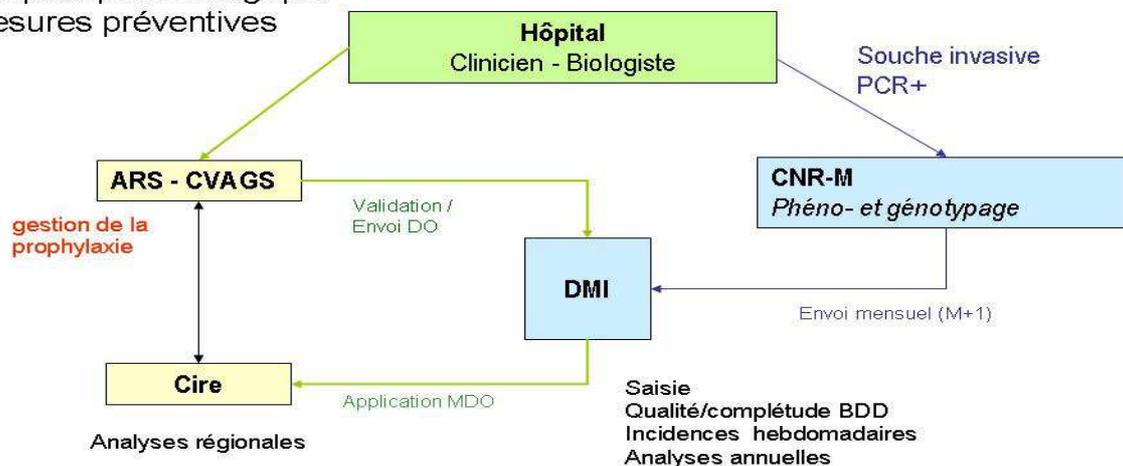
- Le premier cas en Janvier 2014 concerne une fille de 4 ans qui a été vaccinée à l'âge de 15 mois par le Meningitec®. Le diagnostic a été fait par PCR et le typage a indiqué le complexe clonal cc11. L'enfant est décédée. Le dosage par ELISA n'a pas décelé de réponse anti capsule C (le prélèvement a été fait sous antibiothérapie empêchant la réalisation de test bactéricide). Ce résultat indique un échec primaire de la vaccination ou un déclin rapide des titres depuis la vaccination.

- Le deuxième cas en octobre 2014 concerne un garçon de 5 ans qui été vacciné à l'âge de 15 mois par le Meningitec®. Le diagnostic a été fait par PCR mais le typage MLST n'a pas réussi. L'enfant a survécu. Les dosages du complément sont normaux (C3, C4, CH50 et la properdine). Les tests bactéricides (hSBA) à l'admission, 15 jours et 45 jours après l'admission ont montré des titres <4, <4 et 8 respectivement. Une dose de NeisVac® à été alors administrée à 45j après l'admission et le titre hSBA était >128 un mois après cette vaccination. Ces résultats sont plutôt en faveur d'un échec primaire de la vaccination à cause de l'absence de titre bactéricide à l'admission et l'infection n'a pas été suivie d'une réponse hSBA élevée (réponse secondaire à la vaccination à l'âge de 15 mois).

## 4. Alerte

La surveillance des IIM en France est organisée selon le schéma suivant, qui précise le rôle de chaque partenaire ainsi que les interactions entre les différents acteurs.

- Maladie à déclaration obligatoire
- Risque épidémiologique
- Mesures préventives



Les signaux d'alerte peuvent être faits par les ARS et/ou le CNRM. La situation est alors analysée/validée pour l'émission de l'alerte par le Département des maladies infectieuses (DMI) de l'InVS et le CNRM contribue par son expertise bactériologique à cette analyse. Il existe deux étapes pour ce système d'alerte :

1. Reconnaissance du signal par la plate-forme de veille et de gestion sanitaire de l'ARS
2. Actions à mettre en place par l'ARS devant ces situations

L'investigation de l'épisode est mise en œuvre par la CVAGS, en partenariat avec la Cire, et bénéficie d'un appui du niveau national (InVS et CNRM). Il est donc crucial que les échantillons soient acheminés au CNRM le plus rapidement possible (cf. annexe 2).

En 2014, le CNRM continue à surveiller les IIMC du complexe clonal cc11 chez les hommes. A l'occasion des 2 cas groupés survenus à Nancy dans le milieu des HSH, le CNRM a alerté sur la modification dans le gène *porA* dans les souches responsables de ces deux cas. Cette modification a été confirmée par le séquençage du génome entier. Cette observation souligne la nécessité de maintenir la surveillance en améliorant les méthodes de typage pour les rendre plus spécifiques et pour répondre à la variation du méningocoque.

## 5. Activités d'information, de formation et de conseil

Le CNRM participe régulièrement aux formations organisées par l'InVS pour les acteurs de

terrain sur l'épidémiologie moléculaire appliquée à la surveillance et au contrôle des maladies infectieuses. Le CNR répond favorablement à toute sollicitation de formation par les ARS pour répondre aux interrogations pratiques des professionnels de terrain pour la gestion des cas d'infection invasive à méningocoque.

Le CNRM reçoit régulièrement des stagiaires pour formation (BTS, DUT, MA, M2, thésards et post-doctorants) et participe activement à leur formation. En 2014, 2 thésards et 1 étudiant M2 ont travaillé dans le laboratoire.

#### **-auprès du Ministère de la Santé.**

Les responsables du CNR participent activement aux travaux du "Groupe méningites" du Haut Conseil de Santé Publique (élaboration des recommandations sur la surveillance et le contrôle des infections à méningocoques). Ils participent également aux cellules d'expertise organisées par la Direction Générale de la Santé (DGS) et la mise à jour de l'instruction de la DGS pour la prise en charge et la prophylaxie infections invasives à méningocoque.

M-K Taha est membre du Comité Technique de Vaccination (CTV) et du groupe méningocoque du CTV et participe aux travaux d'évaluation et recommandations de stratégies vaccinales contre les infections invasives à méningocoque en France.

#### **-auprès des professionnels de la santé.**

Le compte rendu d'expertise d'une souche bactérienne ou le diagnostic moléculaire est adressé sans délai aux correspondants.

Dans le cas des souches, le compte rendu est émis en deux étapes. La première comporte l'identification et le sérotype (antigènes polysaccharidiques de la capsule) ainsi que l'antibiogramme. La seconde complète le typage génotypique selon les recommandations de l'EMGM et l'ECDC :  
Groupe : PorA-VR1-PorA-VR2-FetA:complexe clonal

Notre activité de conseil à nos correspondants biologistes et cliniciens (pédiatres, réanimateurs et urgentistes) est quotidienne, par téléphone essentiellement, pour pratiquement un tiers des cas d'infections invasives : formes cliniques graves, telles que *purpura fulminans*, formes inhabituelles ou rares (formes récidivantes chez les immunodéprimés, souches de sérotypes rares, diagnostics différentiels de méningites, etc...). Les travaux de recherche et les synthèses de travaux et d'expertises sont régulièrement publiés dans la presse scientifique et médicale et communiqués dans des congrès à l'échelle nationale et internationale.

Nous répondons à toute demande d'intervention sur le terrain, soit pour l'investigation de cas groupés ou supposés tels, soit pour toute demande de formation.

Des recommandations techniques sont également disponibles sur le site du CNR <http://www.pasteur.fr/fr/sante/centres-nationaux-referance/les-cnr/meningocoques>.

## 6. Travaux de recherche et publications en lien direct avec l'activité du CNR

### **6.1. Développement des outils de diagnostic rapide, de surveillance et de prévention pour les IIM du séro groupe X**

Au cours de l'année 2014, nous avons développé et validé un test TDR de type bandelette pour la détection des méningocoques du séro groupe X (NmX). Même si ce séro groupe reste très rare en France (1-2 cas d'IIM par an), il est en émergence dans plusieurs pays de l'Afrique subsaharienne.

La détection et la surveillance de ces cas d'IIMX est donc également important pour les voyageurs entre les France et l'Afrique subsaharienne. Cependant, cette surveillance n'est pas aisée du fait de l'absence d'outils applicables dans les zones à faibles ressources. De plus, il n'existe pas de vaccin contre certains des séro groupes comme le séro groupe X. Ce travail de thèse de M. Alain Agenmemel dans notre laboratoire a comporté des études génomiques (séquençage du génome entier) pour comprendre l'émergence de ces souches et le développement du test TDR.

Ces travaux ont été complétés par notre travail pour montrer que les souches Africaines NmX sont couvertes par le vaccin contre le méningocoque B (Bexsero®) sur la base de l'expression et le polymorphisme des antigènes vaccinaux (par la technique MATS) et par les études de l'activité bactéricide dans les sérums des sujets vaccinés contre ces souches.

Nos résultats montrent que les isolats du séro groupe X de plusieurs pays de l'Afrique subsaharienne correspondent à l'expansion d'un génotype particulier dans le complexe clonal ST-181 ayant des traits commune pour l'acquisition du fer des structures de surface comme le lipooligosaccharide

La performance du test TDR a été évaluée sur une grande collection de 426 liquides cérébro-spinaux (LCS) obtenus dans plusieurs sites (Cameroun, Côte d' Ivoire, France et Niger). Un test PCR a été utilisé comme référence. Le TDR était spécifique pour les souches NmX avec une limite de détection à  $10^5$  CFU/ml et de 0,5 ng / ml pour le cpsX purifié. La sensibilité et la spécificité étaient de 100 % et 97,9 % pour les 426 LCS testés. Les valeurs prédictive positive et négative étaient 48 et 0 respectivement avec un accord élevé entre le test de référence (PCR) et le TDR (coefficient Kappa de 0,95).

## Les Performances des bandelettes NmX

PCR	RDT		
	Total	NmX <sup>+</sup>	NmX <sup>-</sup>
NmA	27	0	27
NmB	8	0	8
NmC	7	0	7
NmY	2	0	2
NmW	38	0	38
NmX	92	86	6
Nm NG	17	0	17
<i>S. pneumoniae</i>	23	0	23
<i>H. influenzae</i>	4	0	4
<i>S. agalactiae</i>	1	0	1
Negative	150	0	150
Total	369	86	283

		RDT	
PCR		Pos.	Neg.
	Pos.	86	6
	Neg.	0	277

**Sensibilité (Se) 0,94**  
 (95% CI 0,86 to 0,98 )

**Spécificité (Sp) 1**  
 (95% CI 0,99-1)

valeur prédictive positive (PPV) 1  
 valeur prédictive négative (NPV) 0.98

 Institut Pasteur

### 6.2. La prédiction de la couverture vaccinale par le Bexsero®

Après avoir contribué au développement de la technique MATS, le CNRM est régulièrement sollicité pour l'étude de la couverture par le MATS des souches NmB dans plusieurs pays.

En 2014, nous avons étudié cette couverture pour les souches NmB en Grèce.

La couverture globale prédite par MATS était de 89,2 % (IC95% 63,5% -98,6%) avec 44,6 %, 38,5 % et 6,1 % des souches sont couvertes par un, deux ou trois antigènes. C'est l'antigène NHBA qui était responsable de la plus haute couverture (78,4 %), suivie par fHbp (52,7 %), PorA (8,1 %) et NadA ( 0,7 %). La couverture des principaux génotypes ne différait pas significativement. Le génotype le plus répandu était le complexe clonal ST-162 qui représente 44,6 % des souches. Le Bexsero® a le potentiel pour protéger contre une proportion importante de souches NmB en Grèce. Ces résultats sont également importants pour enrichir notre base des données pour la prédiction de la couverture des souches en France.

### 6.3. Les publications et communications réalisées en 2014 en lien avec les activités du CNR

(i) Publications nationales

- 1- Madhi, F., C. Levy, A.E. Deghmane, S. Bechet, R. Cohen, and M.K. Taha. 2014. [Impact of corticosteroids in the immediate management of invasive meningococcal disease associated with hyperinvasive strains of the ST-11 clonal complex in children]. *Arch Pediatr*. 21:258-264.
- 2- Levy, C., E. Varon, M.K. Taha, S. Bechet, S. Bonacorsi, R. Cohen, and E. Bingen. 2014. [Change in French bacterial meningitis in children resulting from vaccination]. *Arch Pediatr*. 21:736-744.

(ii) Publications internationales

- 1- Brehony, C., C.L. Trotter, M.E. Ramsay, M. Chandra, K.A. Jolley, A. van der Ende, F. Carion, L. Berthelsen, S. Hoffmann, H. Harethardottir, J.A. Vazquez, K. Murphy, M. Toropainen, M. Canica, E. Ferreira, M. Diggle, G.F. Edwards, M.K. Taha, P. Stefanelli, P. Kriz, S.J. Gray, A.J. Fox, S. Jacobsson, H. Claus, U. Vogel, G. Tzanakaki, S. Heuberger, D.A. Caugant, M. Frosch, and M.C. Maiden. 2014. Implications of differential age distribution of disease-associated meningococcal lineages for vaccine development. *Clin Vaccine Immunol.* 21:847-853.
- 2- Broker, M., S. Bukovski, D. Culic, S. Jacobsson, M. Koliou, M. Kuusi, M.J. Simoes, A. Skoczynska, M. Toropainen, M.K. Taha, and G. Tzanakaki. 2014. Meningococcal serogroup Y emergence in Europe: high importance in some European regions in 2012. *Hum Vaccin Immunother.* 10:1725-1728.
- 3- Guiddir, T., A.E. Deghmane, D. Giorgini, and M.K. Taha. 2014. Lipocalin 2 in cerebrospinal fluid as a marker of acute bacterial meningitis. *BMC Infect Dis.* 14:276.
- 4- Lemee, L., E. Hong, M. Etienne, A.E. Deghmane, V. Delbos, A. Terrade, G. Berthelot, F. Caron, and M.K. Taha. 2014. Genetic diversity and levels of expression of factor H binding protein among carriage isolates of *Neisseria meningitidis*. *PLoS One.* 9:e107240.
- 5- Taha, M.K., and A.E. Deghmane. 2014. Meningococcal carriage: the dilemma of 4CMenB vaccine. *Lancet.* 384:2088-2090.
- 6- Tzanakaki, G., E. Hong, K. Kesanopoulos, A. Xirogianni, S. Bambini, L. Orlandi, M. Comanducci, A. Muzzi, and M.K. Taha. 2014. Diversity of greek meningococcal serogroup B isolates and estimated coverage of the 4CMenB meningococcal vaccine. *BMC Microbiol.* 14:111.

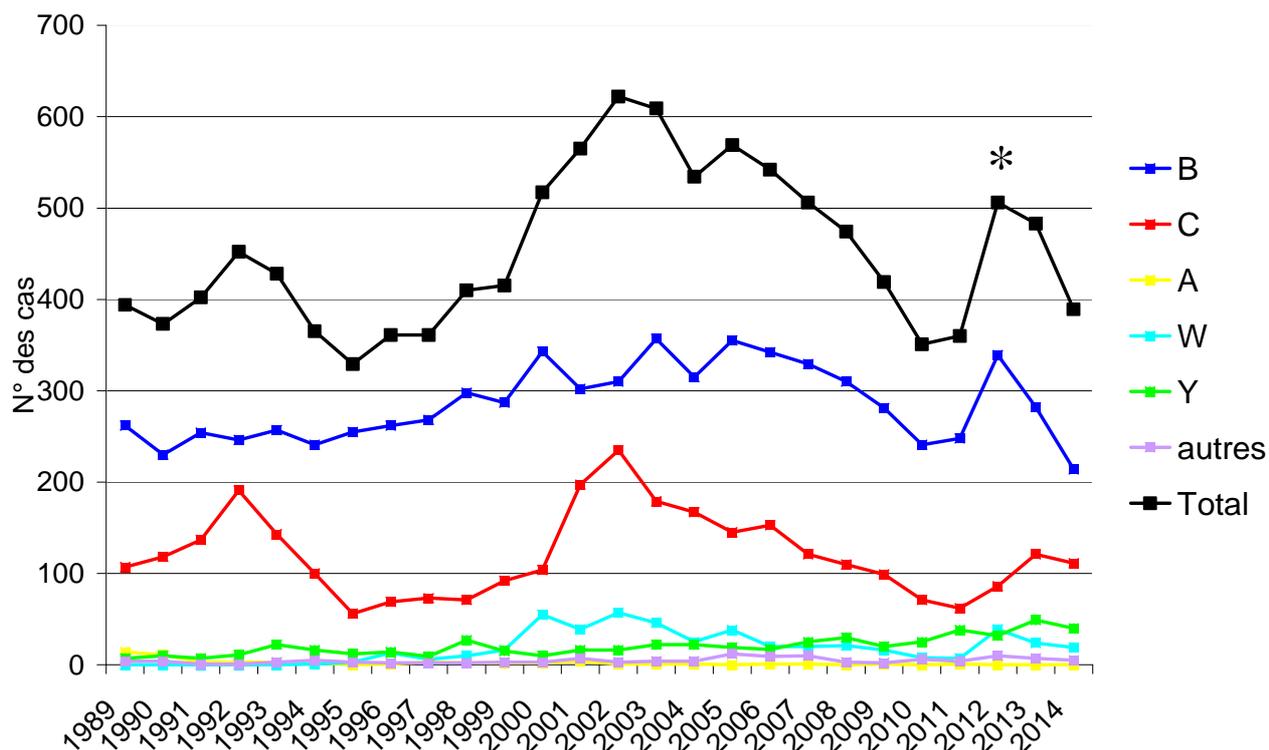
Communications

- 1- Caron, F., V. Delbos, A.E. Deghmane, L. Lemee, E. Jeannot, E. Houivet, and M.K. Taha. 2014. Immunogénicité à long terme du vaccin MenBvac en Seine-Maritime. Les 15es Journées Nationales d'Infectiologie - Palais des Congrès, Bordeaux Lac - 11, 12 et 13 juin 2014.
- 2- Charron, M., I. Parent du Chatelet, M.K. Taha, M. Vivier-Darrigol, and P. Grand. 2014. [In Process Citation]. *Med Mal Infect.* 44:88. Les 15es Journées Nationales d'Infectiologie - Palais des Congrès, Bordeaux Lac - 11, 12 et 13 juin 2014
- 3- Parent du Chatelet, I., D. Levy-Bruhl, and M.K. Taha. 2014. Critères d'alerte et d'intervention vaccinale avec le vaccin Bexsero® en situation de cas groupés d'infection invasive à méningocoque B. Les 15es Journées Nationales d'Infectiologie - Palais des Congrès, Bordeaux Lac - 11, 12 et 13 juin 2014
- 4- Ronat, J.B., M. Gueguen, A.L. Page, S. Houze, F. Gobbi, A. Angheben, Z. Bisoffi, F. Simon, E. Begaud, Y. Germani, C. Prat, O. Flusin, I. Leparç-Goffart, R. Piarroux, S. Rebaudet, J.M. Collard, S. Chanteau, P. Boisier, F. Nato, M.K. Taha, S. Djibo, A.A. Hamidou, A.E. Mahamane, J.P. Mouliat-Pelat, Y. Buisson, H. Feno, F. Quet, and L. Paris. 2014. [In Process Citation]. *Bull Soc Pathol Exot.* 107:204-209. Journée de la Société de pathologie exotique du 28 mai 2014, Institut Pasteur, Paris

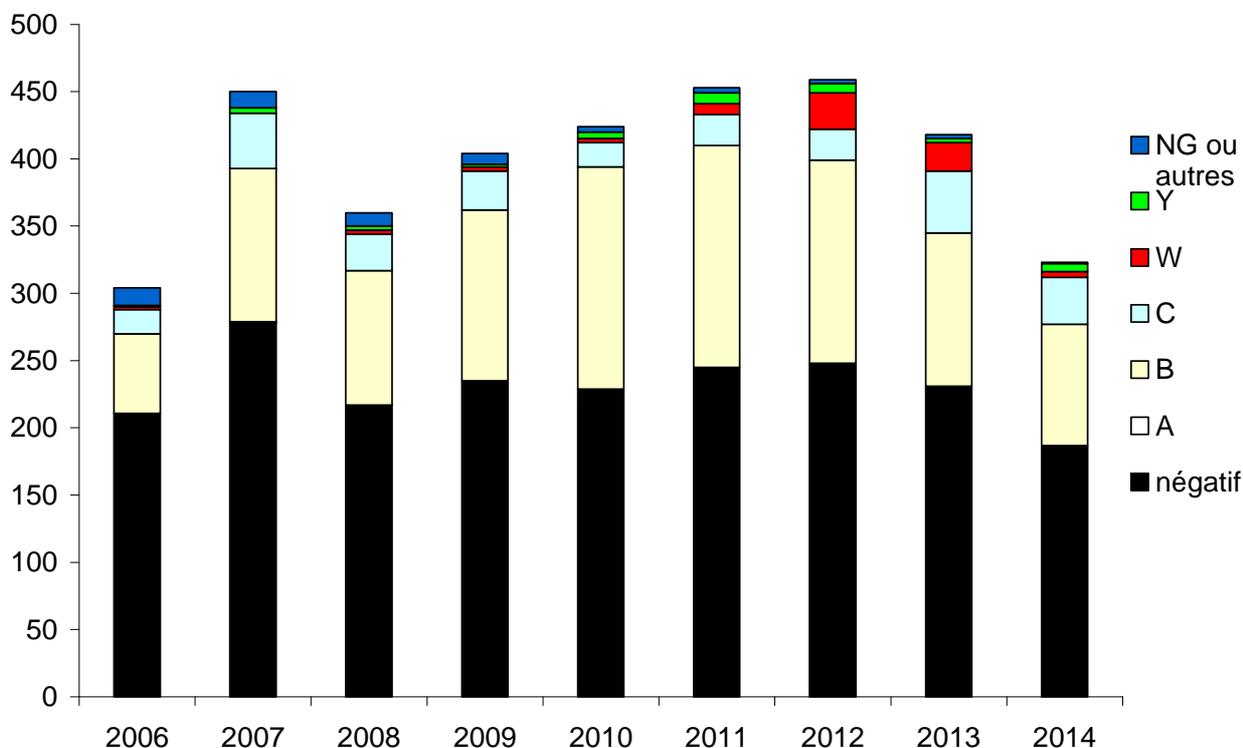
(v) Conférences sur invitations.

M-K Taha : Omics reveal the evolution of an outbreak of meningococcal disease among men who have sex with men Décembre 2014 , Frankfort

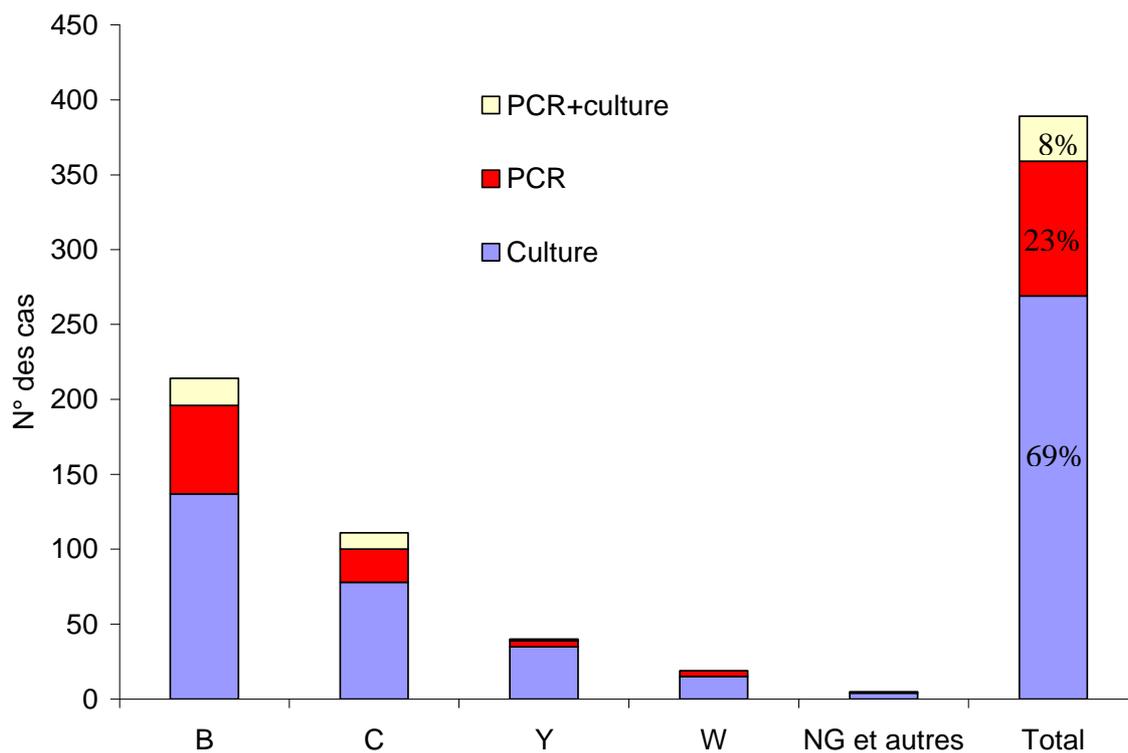
## Figures



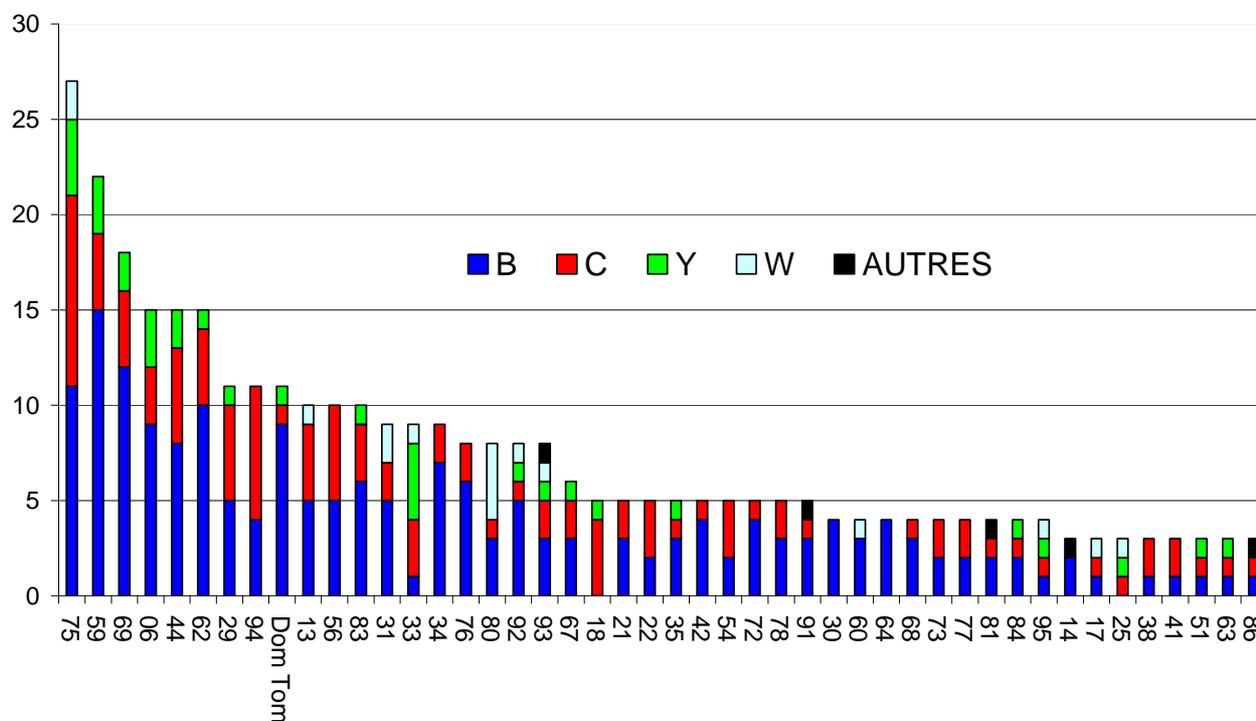
**Figure 1 :** Évolution de la distribution des sérogroupes des souches de méningocoques responsables d'infections invasives en France (nombre d'isolats cliniques confirmés par culture chaque année et reçus au CNR). (\* A partir de 2012, les données correspondent aux cas confirmés par culture et/ou PCR)



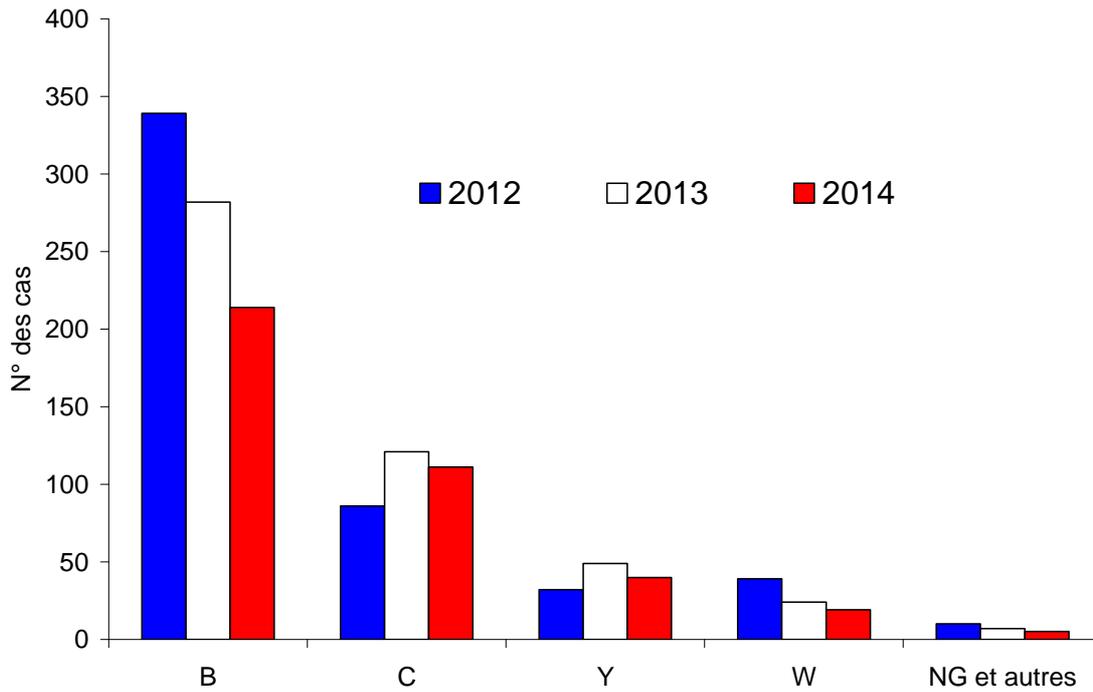
**Figure 2 :** Évolution de la distribution des génogroupes des cas confirmés par PCR



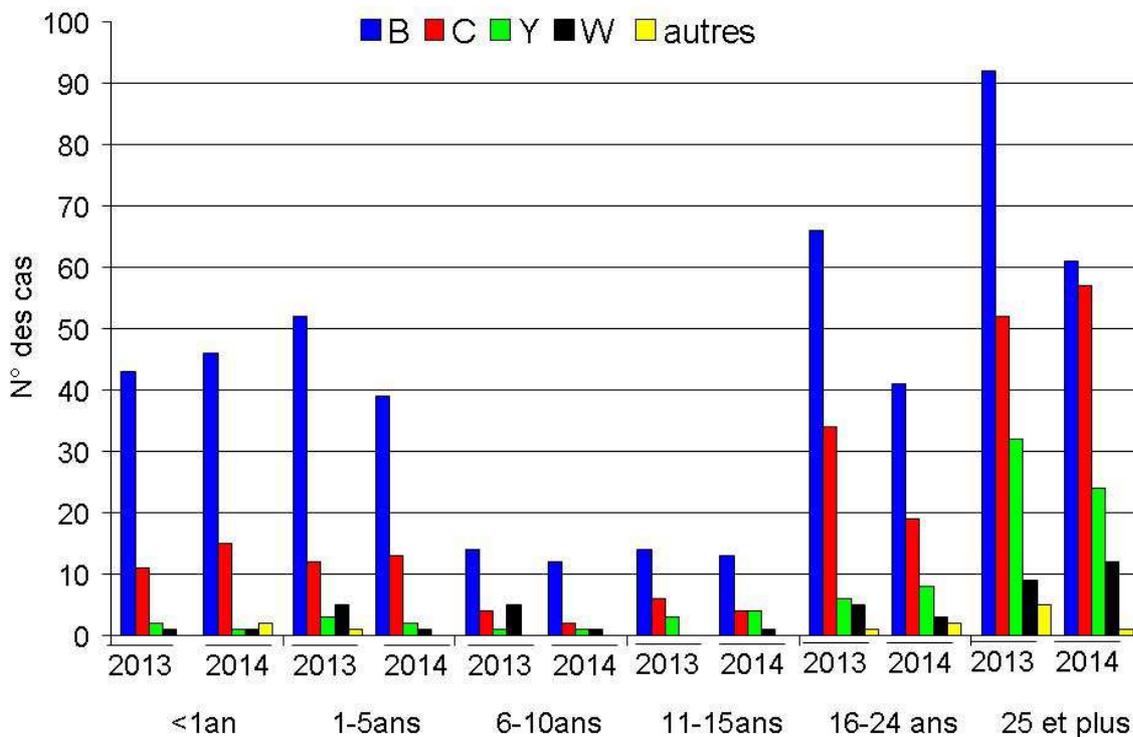
**Figure 3** Distribution des cas d'IIM en fonction des groupes et de méthode de confirmation.



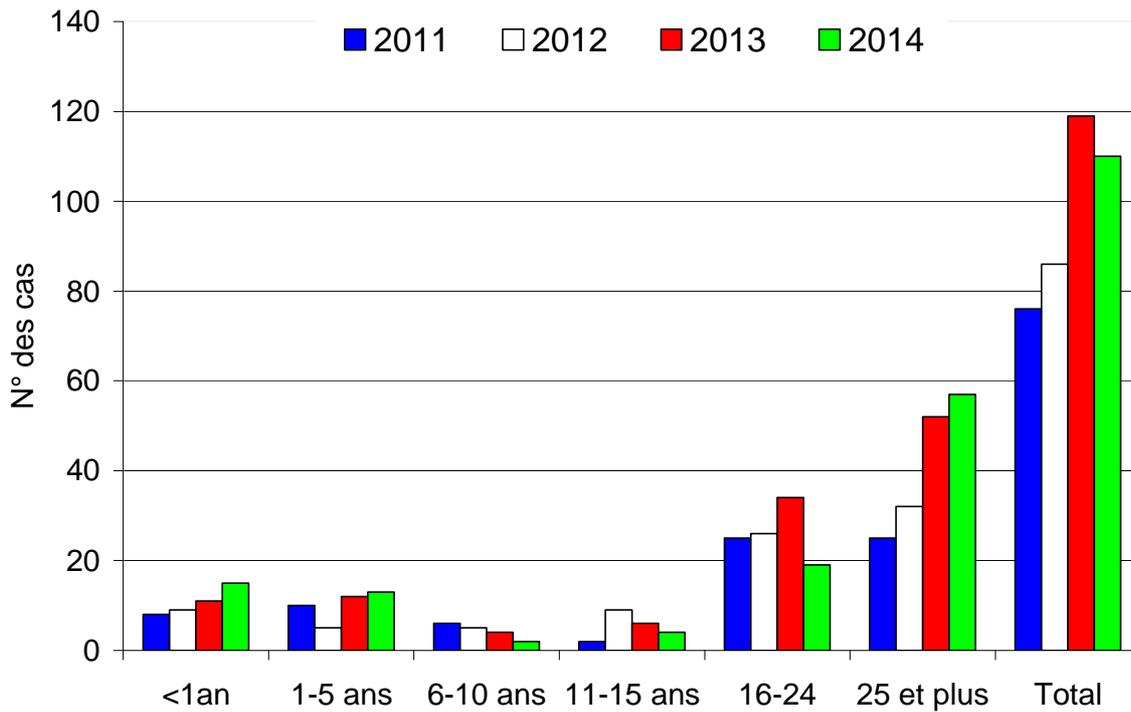
**Figure 4** : Nombre des souches et prélèvements positifs par PCR (par département ayant plus de trois cas)



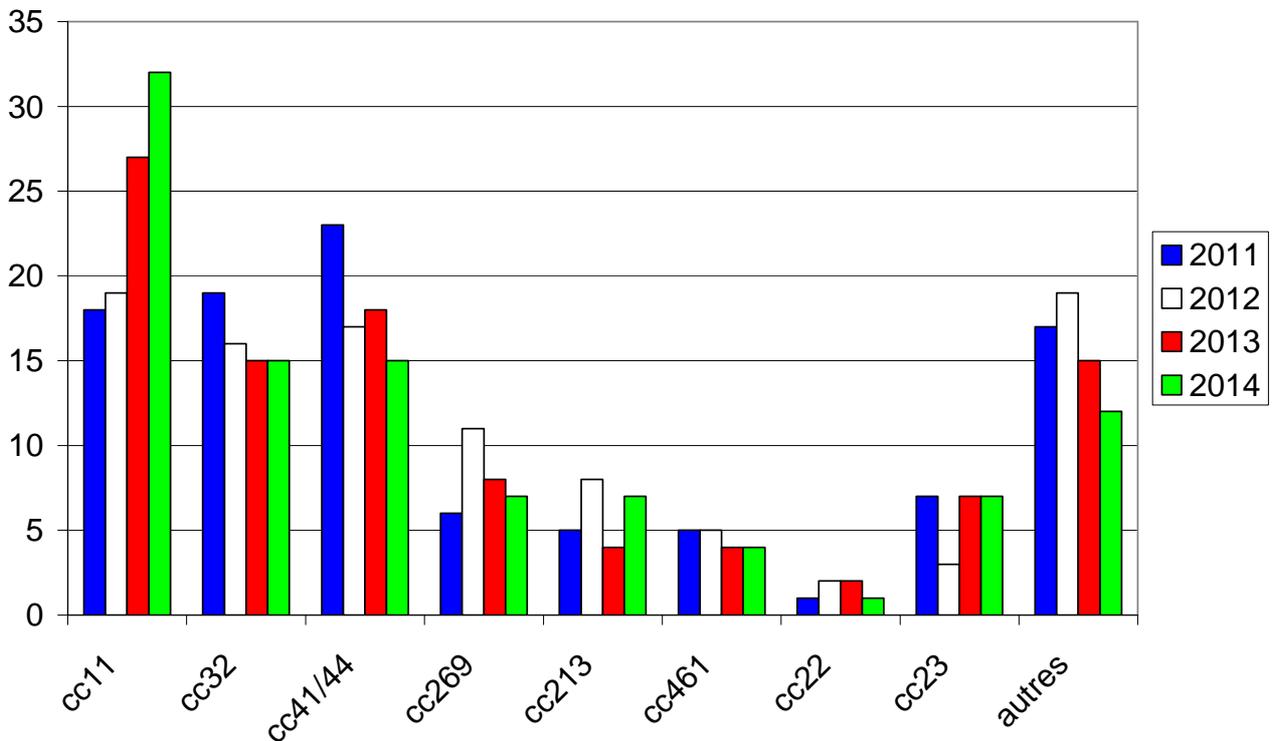
**Figure 5.** Évolution de la distribution des sérogroupe des souches de méningocoques responsables d'infections invasives en France (nombre des cas confirmés par culture et/ou par PCR reçus au CNR).



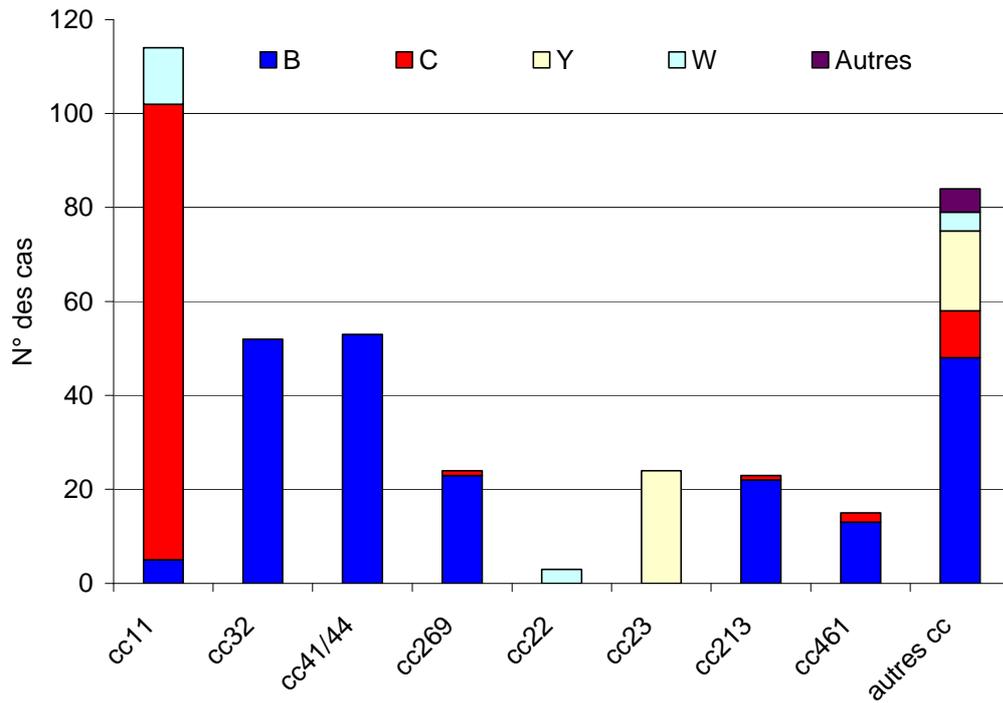
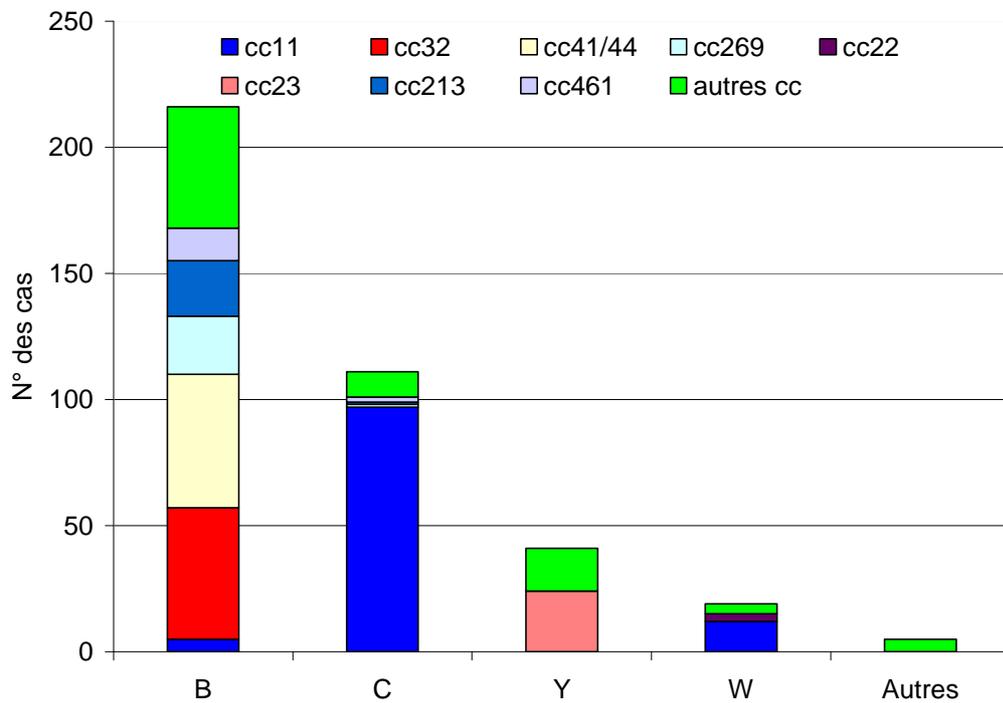
**Figure 6 :** Nombre des cas d'IIM (confirmés par culture et/ou PCR) en fonction de l'âge et du sérogroupe pour 2013 et 2014.



**Figure 7.** Nombres des cas d'IIMC confirmés par culture ou par PCR entre 2011 et en 2014 en fonction de l'âge.



**Figure 8:** Evolution de la distribution (en pourcentage) des complexes clonaux majeurs en France entre 2011 et 2014.

**A****B**

**Figure 9. A :** Distribution des sérogroupe en fonction des complexes clonaux des cas d'IIM confirmés par culture ou par PCR invasives en 2014. **B :** Distribution des complexes clonaux en fonction des sérogroupe des cas d'IIM (souches ou PCR) en 2014.

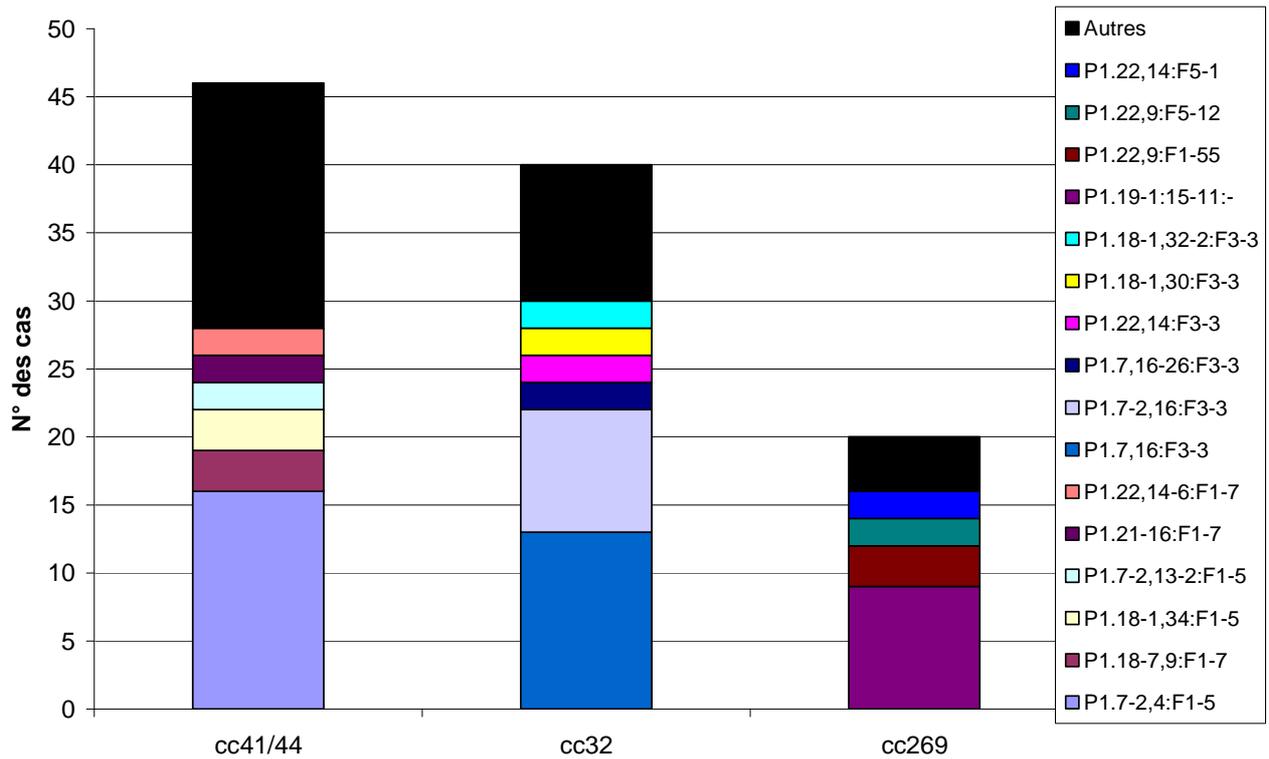


Figure 10 : Les combinaisons génotypiques les plus répandues parmi les cas d'IIMB 2014.

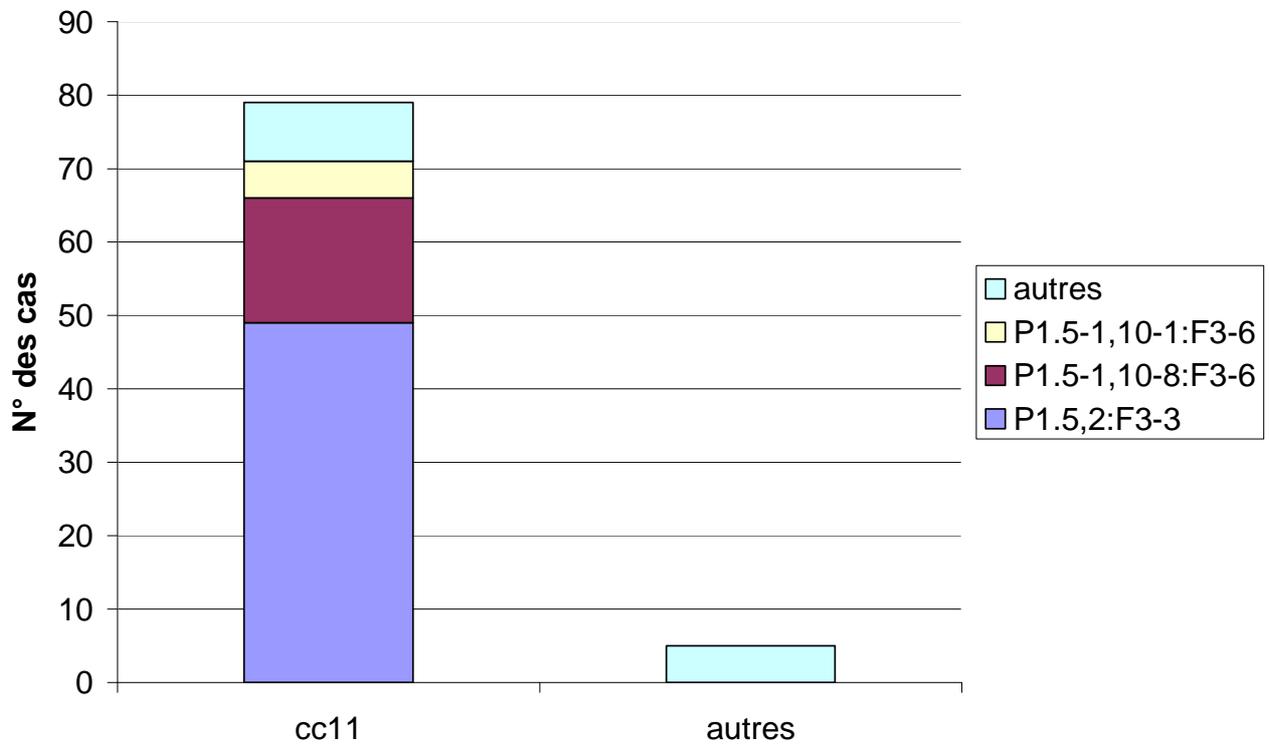


Figure 11 : Les combinaisons génotypiques les plus répandues parmi les cas d'IIMC 2014.

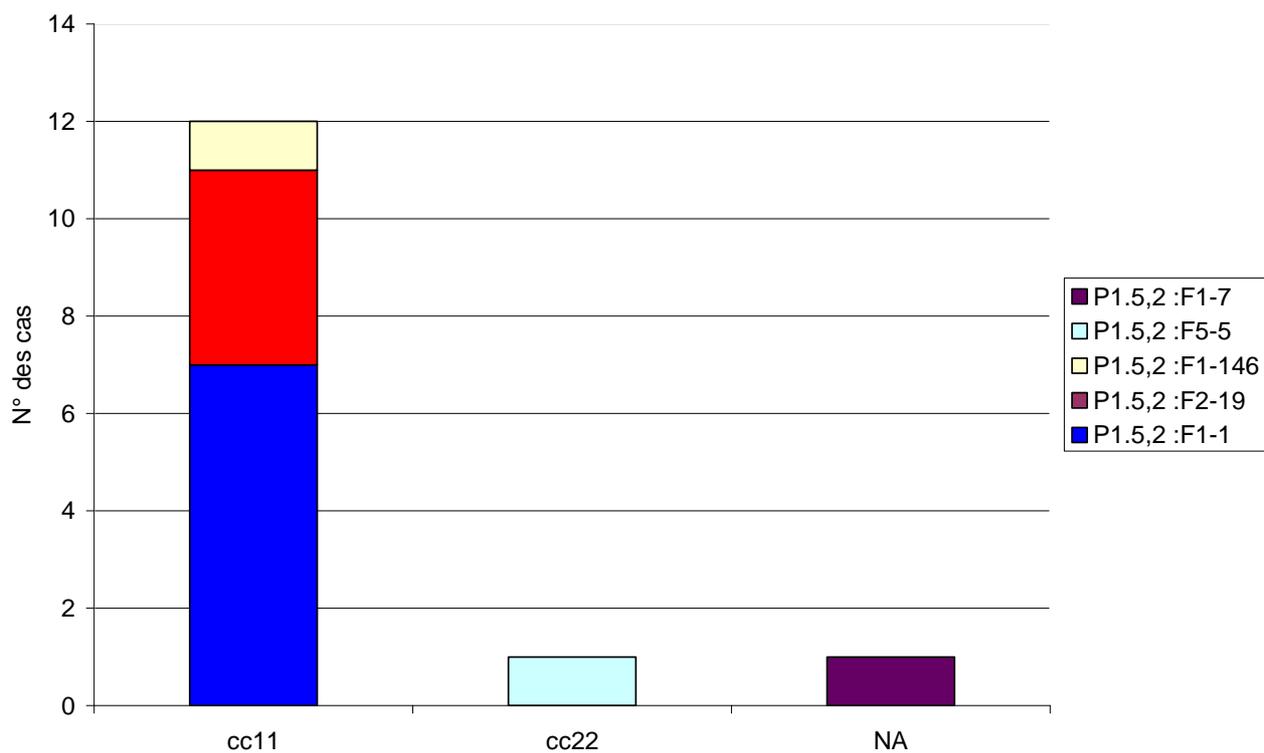


Figure 12 : Les combinaisons génétiques les plus répandues parmi les cas d'IIMW 2014.

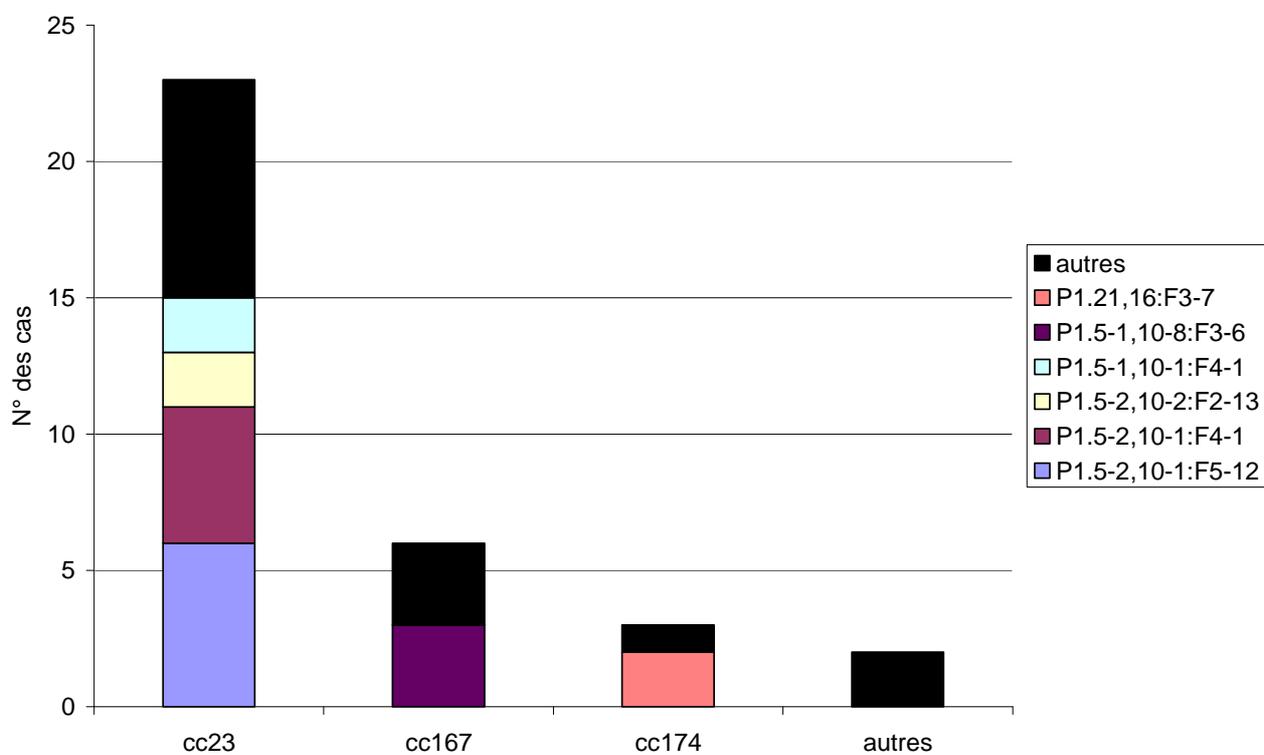


Figure 13 : Les combinaisons génétiques les plus répandues parmi les cas d'IIMY 2014.

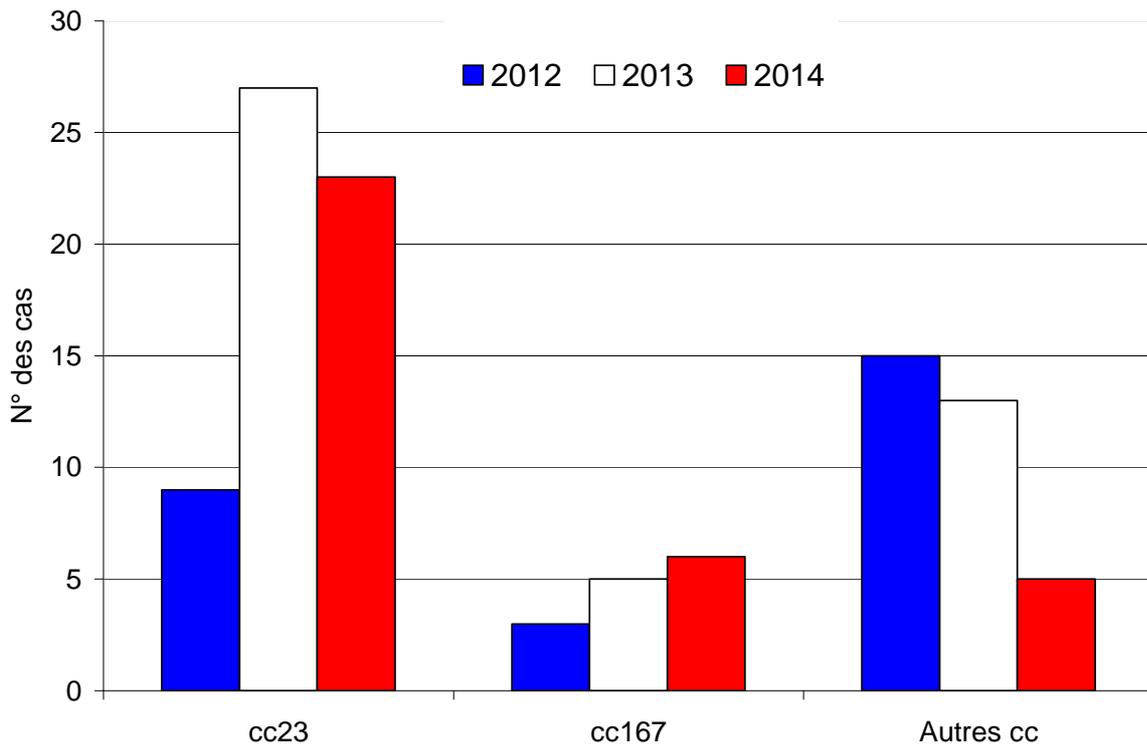


Figure 14 Complexes clonaux des cas d'IIMY en 2012 et 2013

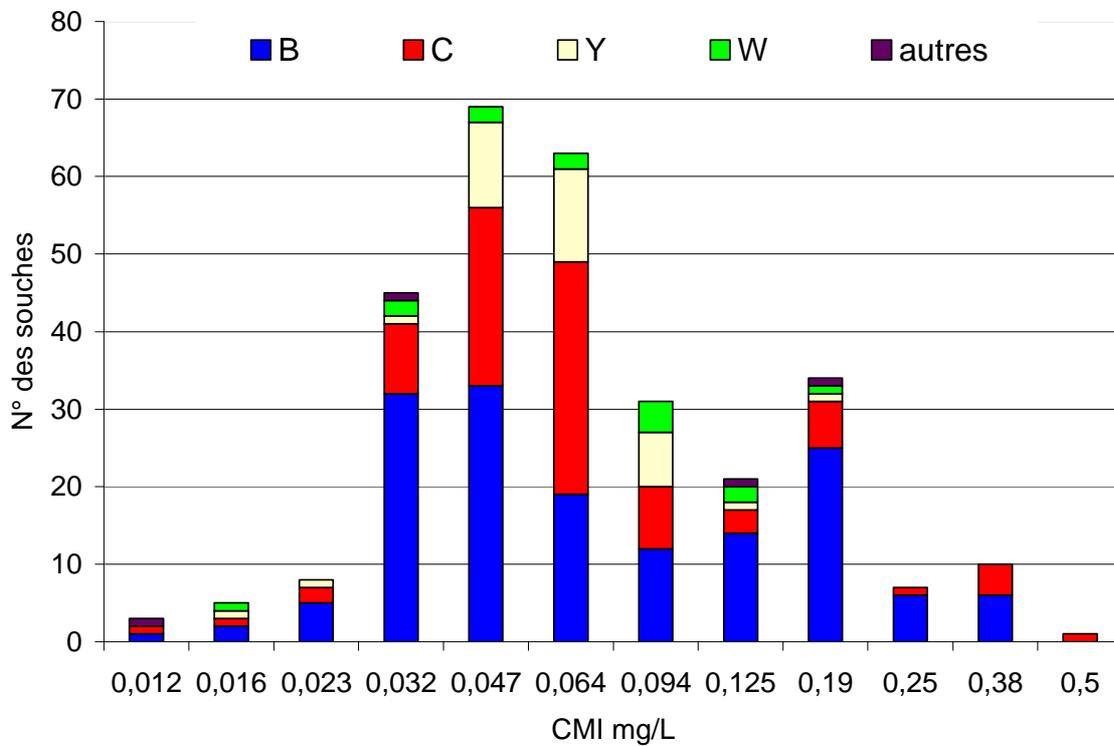


Figure 15 : Distribution des CMI de la pénicilline G parmi les souches invasives de *N. meningitidis* en 2014.