

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE.

MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR

ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

UNIVERSITE SAAD DAHLAB - BLIDA 1 -

FACULTE DE MEDECINE.

DEPARTEMENT DE PHARMACIE.

Réf : :/DP/FM/UB/16

Meningite à Neisseria meningitidis et modalités de la prévention

Thèse d'exercice

Présentée en vue de l'obtention du diplôme de docteur en pharmacie

Session : juillet 2017

❖ Présentée par : CHERIFI Hadjer
SAYEH Rebiha

❖ Devant le jury :

- Présidente: S.AZROU, Maître assistante en Microbiologie, unité Frantz Fanon, CHU BLIDA.
- Examineur : M. MAHFOUD, Maître assistant en Microbiologie, unité Frantz Fanon, CHU BLIDA.
- Examinatrice: S.OUKID, Maître assistante en Microbiologie, unité Hassiba Benbouali, CHU BLIDA.
- Promoteur : R.BELOUNI, Professeur en Microbiologie, unité Frantz Fanon, CHU BLIDA.

AJO

REMERCIEMENTS

Remerciements

A ALLAH

Le tout puissant, le miséricordieux
Qui nous a donné la force, la volonté et le
courage pour surmonter les épreuves que nous
avons rencontrées tout le long de la réalisation de
cette thèse.

Au Professeur Belouni Rachid notre directeur de thèse :

nous vous remercions à la fois d'avoir accepté la présidence de cette thèse ainsi que pour
votre disponibilité, vos encouragements, votre aide précieuse et pour le temps que vous avez
accordé à la réalisation de ce travail. Veuillez trouver ici l'expression de notre profonde
reconnaissance.

A notre présidente de jury Dr. S.Azrou

Grande est notre joie de vous voir parmi le jury dont vous nous avez fait
l'honneur d'accepter la présidence.

Nous vous remercions de tout l'intérêt que vous nous avez témoigné.
Veuillez trouver ici le témoignage de notre remerciement et soyez assurée de
notre profond respect.

A notre juge Dr. M.Mahfoud

Nous vous remercions d'avoir eu la gentillesse d'accepter de juger cette thèse.

Nous nous souviendrons de la qualité des efforts
que vous nous avez prodigués pendant nos années d'études. Excellent
pédagogue, vous avez su nous transmettre l'amour de votre travail.

Veuillez trouver ici toute l'expression de notre reconnaissance

A notre juge Dr. S.Oukid

Vous nous avez fait l'honneur de faire partie du jury de cette thèse.
Nous vous remercions pour votre soutien, de votre gentillesse, de vos
précieux conseils durant notre stage pratique.

Veuillez trouver ici le témoignage de notre reconnaissance et
profond respect.

Nous tenons à remercier également le **Dr.ZEDDAM** du SEMEP du CHU de Blida
pour ses précieux conseils .

le surveillant médical, ainsi que le corps paramédical et administratif du service
laboratoire central du CHU de Blida.

Enfin, nous les internes, adressons nos remerciements a tous ceux qui, d'une manière
ou d'une autre ont contribué à l'aboutissement de ce travail. Sans oublier le reste du
corps médical que nous félicitons pour son sérieux .

DEDICACES

Dédicace

Je dédie ce travail :

A mon cher père

ton courage, ta passion pour les études, ta rigueur dans l'éducation de tes enfants, ont fait de moi ce que je suis aujourd'hui. Ton amour du travail, ton sens de la dignité et le respect des valeurs morales font de toi un père exemplaire. Cher père tu as toute ma reconnaissance à travers ce modeste travail.

A ma chère mère

toi qui m'as toujours donné des bénédictions et conseils, par ce travail je te remercie infiniment. Sois assurée de mon profond respect.

A mon cher frère abderrahim

A mes chères sœurs : Asma , Meriem , Hibat errahmen

A tous mes enseignants depuis le tout début et spécialement mon enseignant de primaire

N.Boudina

A toutes les familles **Chérifi** et **Boulhouedjeb**

A mes oncles et tantes, mes cousins et cousines qui m'ont entouré durant toutes mes études. J'ai une pensée plus particulière envers mes grand- mères que j'aurais aimé voir présentes à mes côtés aujourd'hui.

A mon binome Rebiha pour cette année passée dans la bonne humeur

A tous mes amis, Pour tous les excellents moments passés ensemble durant toutes ces années.

Pour tous ceux qui, d'une manière ou d'une autre ont contribué à l'aboutissement de ce travail.

Hadjer.CHERIFI

Dédicace

Je dédie ce travail...

A mes très chers parents :

Pour m`avoir toujours soutenue et encouragée, pour leur présence de tous les instants, et pour m`avoir toujours entourée de leur amour, qu`ils trouvent à travers ce travail les fruits et la récompense de leurs efforts.

Qu`Allah vous protège.

A mes très chers frères Tahar et Ahmed et à mes très chères

soeurs : Khadidja, Aicha, Aida, Fatma et Rachida

Pour l`amour et la complicité qui nous unissent.

A mes oncles et tantes.

A mes très chères cousines et cousins .

A toute la famille Sayeh

A mes enseignants

A mon binôme Hadjer pour cette année passée dans la bonne humeur.

A tous mes amis, Zahra, Souad, Rebiha, Zineb, Zokhroufa, Zahra, OmElkheir et toute la promotion de pharmacie 2011 /2012 pour tout les bons moments passés ensemble durant toute ces années d`études Je vous dédie ce travail avec tous mes vœux de bonheur, de santé et de réussite.

A toutes celles et tous ceux qui m`ont aidé dans mes études.

A tous ceux que je connais et que je n`ai pu citer.

Rebiha .SAYEH

TABLE DES MATIERES

TABLE DES MATIERES.....	I
LISTE DES TABLEAUX.....	V
LISTE DES FIGURES.....	VI
LISTE DES ABREVIATIONS.....	IX
I. INTRODUCTION	1
OBJECTIFS	1
II. HISTORIQUE- TAXONOMIE	2
II.1 Historique.....	2
II.2 Taxonomie.....	4
III. POUVOIR PATHOGENE	4
III.1 Physiopathologie.....	4
III.2 Signes cliniques de la méningite.....	8
IV. STRUCTURE ANTIGENIQUE.....	11
IV.1 Morphologie.....	11
IV.2 Structure.....	11
IV.3 Facteurs de virulence.....	13
V. CARACTERES BACTERIOLOGIQUES.....	14
V.1 Caractères cultureux.....	14
V.2 Caractères biochimiques et enzymatiques.....	14
V.3 Caractères antigéniques.....	14
V.4 Facteurs de virulence.....	15
V.5 Diagnostic bactériologique de la méningite à méningocoque	15
V.5.1 Les prélèvements	15
V.5.1.1 LCR.....	15
V.5.1.2 L'hémoculture	17
V.5.1.3 Prélèvements de lésion purpurique cutanée.....	19
V.5.1.4 Enregistrement	20
V.5.2 Etude des prélèvements de LCR et d'hémoculture.....	21
V.5.2.1 Etude du LCR.....	21
V.5.2.1.a Transport du prélèvement	21

V.5.2.1. b Examen macroscopique.....	22
V.5.2.1.c Examen Microscopique.....	23
V.5.2.1. d Culture bactérienne.....	24
V.5.2.1. e Test d'agglutination au latex sensibilisé.....	26
V.5.2.1.f Analyse biochimique	27
V.5.2.2 Etude des hémocultures.....	27
V.5.2.3 Examen macroscopique des colonies	28
V.5.2.4 Identification de <i>Neisseria meningitidis</i>	29
V.6 Principales méthodes d'étude de biologie moléculaire appliquées à <i>N.meningitidis</i>	34
V.6.1 Détection par PCR	34
V.6.2 Multi Locus Sequence Typing (MLST) ou ST.....	38
V.6.3 Tests rapides	38
V.6.3.1 l'électro-immunodiffusion.....	38
V.6.3.3 Test rapide pour les IIM X	40
V.7 Etude de la sensibilité aux antibiotiques	40
V.7.1 Antibiogramme.....	40
V.7.2 CMI	41
V.7.3 Sensibilité et résistance aux antibiotiques.....	42
V.7.3.1 Sensibilités naturelle	42
V.7.3.2 En Algérie.....	46
V.7.4 La prise en charge de la méningite à méningocoque	47
V.8 Conservation des souches identifiées	50
VI. ETUDE PRATIQUE D'UN EXAMEN CYTOBACTERIOLOGIQUE DE LCR DEMANDE EN URGENCE AU SEIN DES UNITES DE MICROBIOLOGIE DES LABORATOIRES HASSIBA BENBOUALI ET FRANTZ FANON.....	52
VI.1. 1^{er} jour : analyse du LCR avec remise du résultat dans l'heure qui suit la Ponction Lombaire.....	52

VI.2. 2ème jour: Identifier les bactéries obtenues par culture et tester leur sensibilité aux antibiotiques.....	55
VII. EPIDEMIOLOGIE DES MENINGITES A MENINGOCOQUE.....	57
VII.1 Habitat et transmission.....	57
VII.2 La situation mondiale.....	58
VII.2.1 En Europe.....	60
VII.2.2 En Amérique.....	60
VII.2.3 En Asie.....	61
VII.2.4 Etude du cas particulier du pèlerinage de la Mecque en 2000 et 2001.....	61
VII.2.5 En Afrique.....	62
VII.3 La situation en ALGERIE.....	64
VII.4 Au niveau de CHU de Blida.....	68
VII.5 Le système de déclaration d'une méningite à méningocoque.....	69
VII.5.1 Critères de déclaration d'un cas de méningite.....	69
VII.5.2 Critères de déclaration d'une épidémie de méningite.....	70
VII.5.3 Le système de déclaration en Algérie.....	71
VIII. MODALITES DE PREVENTION	73
VIII.1 L'antibioprophylaxie.....	73
VIII.1.1 Objectifs	73
VIII.1.2 Définition des sujets contacts.....	73
VIII.1.3 Conduite à tenir pour la mise en œuvre d'une antibioprophylaxie autour d'un cas.....	74
VIII.1.4 Délai de prise en charge des sujets contacts.....	74
VIII.1.5 Antibioprophylaxie chez des sujets contacts	75
VIII.1.6 Mesures inefficaces et inutiles à proscrire.....	77
VIII.2 Vaccination anti-méningococcique	77
VIII.2.1 Types de vaccins.....	77
VIII.2.1.1 Les vaccins méningococciques polysidiques non conjugués.....	78
VIII.2.1.2 Les vaccins méningococciques polysidiques conjugués	78
VIII.2.1.3 Les vaccins méningococciques à vésicules de membrane (OMV).....	82

VIII.2.1.4 Nouveau vaccin méningococcique B.....	82
VIII.2.2 Politique vaccinale , recommandations	84
VIII.2.3 la vaccination en Algérie.....	87
IX. CONCLUSION.....	88
BIBLIOGRAPHIE.....	X
ANNEXE.....	XI
RESUME	XXVI

LISTE DES TABLEAUX

LISTE DES TABLEAUX

Tableau I : Caractéristiques des protéines majeures de membrane externe de <i>Neisseria meningitidis</i>	12
Tableau II : techniques de détermination de la CMI pour certaines bactéries selon les recommandations du CLSI	44
Tableau III Valeurs critiques des diamètres des zones d'inhibition et des CMI,pour <i>Neisseria meningitidis</i>	45
Tableau IV: Sensibilité et résistance de <i>Neisseria meningitidis</i> aux antibiotiques en Algérie 2006-2014.....	46
Tableau V : Traitement de 1ère intention des méningites bactériennes, cas d'un examen direct positif	47
Tableau VI : traitement présomptif de la méningite bactérienne en situation d'épidémie.....	47
Tableau VII : traitement présomptif de la méningite bactérienne en situation non épidémique.....	49
Tableau VIII : Les Cas de maladie méningococcique notifiés dans quelques régions d'Algérie	65
Tableau IX : Fréquence des sérogroupes de <i>Neisseria meningitidis</i> isolés sur le territoire national.....	66
Tableau X : les antibiotiques applicables à la chimioprophylaxie des méningococcies.....	76
Tableau XI : Récapitulatif de la vaccination antiméningococcique autour d'un cas d'IIM ..	87

LISTE DES FIGURES

LISTE DES FIGURES

Figure 1 : adhésion des méningocoques à l'endothélium oropharyngé.....	5
Figure 2 : comparaison entre une méninge saine et une méninge atteinte.....	6
Figure 3 : physiopathologie de la méningite.....	8
Figure 4 : les symptômes de la méningite.....	9
Figure 5 : purpura fulminans méningococcique.....	10
Figure 6 : méningocoques vus par un microscope électronique à balayage	11
Figure 7 : Les structures de surface de <i>Neisseria meningitidis</i>	13
Figure 8 : colonies de bactérie <i>N.meningitidis</i> cultivées sur gélose au sang cuit.....	14
Figure 9 : Recueil du LCR par ponction lombaire.....	15
Figure 10 : matériel nécessaire au recueil du LCR	17
Figure 11 : Prélèvement de sang au bras pour l'hémoculture.....	19
Figure 12 : Réalisation d'une biopsie cutanée à l'aide du punch.....	20
Figure 13 : Milieu Trans-isolat (T-I).....	21
Figure 14 : Différents aspects macroscopiques du LCR:clair ;hémorragique,xanthochromique,purulent.....	22
Figure 15 : Examen bactériologique direct du LCR après coloration de Gram du <i>N.m.</i>	24
Figure 16 : <i>N. meningitidis</i> : ensemencement en stries et aspect des colonies sur gélose au sang.....	25
Figure 17 : Photos du repiquage des <i>N.m</i> sur GC+PVX.....	25
Figure 18 : test d'agglutination au latex sensibilisé pour identifier les antigènes solubles du <i>N.meningitidis</i>	27
Figure 19 : Colonies de <i>N. meningitidis</i> rondes, humides, luisantes et bombées sur gélose au sang après une nuit d'incubation.....	28
Figure 20 : Identification de <i>N. meningitidis</i>	29
Figure 21 : Photo du test d'oxydase de <i>N.meningitidis</i>	30
Figure 22 : Photo du test de catalase de <i>N. meningitidis</i>	30
Figure 23 : test de l'ONPG.....	31
Figure 24 : Les réactions d'acidification à partir des glucides en gélose cystine-trypticase..	32
Figure 25 : Photo de la Galerie API NH d'identification de <i>N.meningitidis</i>	33
Figure 26 : Photo du résultat du test de sérogroupage	34
Figure 27 : Etapes de la PCR.....	36
Figure 28 : Bandes de migration d'une électrophorèse.....	37

Figure 29 : les étapes de l'extraction d'ADN.....	38
Figure 30 : antibiogramme standard.....	41
Figure 31 : exemple de E-test.....	42
Figure 32 : Comptage avec une cellule de Malassez.....	53
Figure 33 : photo du <i>N. meningitidis</i> après coloration de Gram.....	54
Figure 34 : la transmission du méningocoque.....	58
Figure 35 : Zones d'endémie méningococcique.....	59
Figure 36 : Distribution mondiale des principales sérogroupes de méningocoques.....	59
Figure 36 : La ceinture africaine de la méningite.....	62
Figure 37 : Les points chauds de la méningite cérébrospinale en Algérie.....	65
Figure 38 : Nombres de Cas de la maladie méningococcique notifiés dans quelques régions d'Algérie (2003-2014).....	66
Figure 39 : Fréquence des sérogroupes de <i>Nm</i> isolés sur le territoire national	67
Figure 40 : nombres de cas déclarés au niveau du CHU Blida (2001-2015)	68
Figure 41 : nombres de cas déclarés au niveau du CHU de Blida entre (2001-2015) avec les fréquences des wilayas.....	68
Figure 42 : Exemples de vaccins antiméningocoque C.....	79
Figure 43 : vaccin antiméningococcique polyosidique conjugué tetravalent.....	82
Figure 44 : vaccin méningococcique B.....	84

LISTE DES ABREVIATIONS

LISTE DES ABREVIATIONS

ADN : Acide désoxyribonucléique

Afssaps : Agence française de sécurité sanitaire des produits de santé des Affaires sanitaires et sociales.

AMM : Autorisation de Mise sur le Marché

ARS : Autorité sanitaire

ASB : Anticorps Seriques Bactéricides

ATB : Antibiotique

ATCC : American Type Culture Collection

CLSI : Clinical and Laboratory Standards Institute

CMI : Concentration Minimale Inhibitrice

CNRM : centre national de référence de méningocoque

CTA : Gelose cystine-trypticase

CTV : Comité Technique des Vaccinations

C3G : Céphalosporine de 3eme Génération

DAPM : Direction des Activités Pédagogiques et Médicales

DDASS : Direction Départementale des Affaires Sanitaires et Sociales

FDA : Food Drug Administration

FRET : Fluorescence resonance energy transfer

GC+ PVX : Gelose chocolat + polyvitex

HCSP : Haut conseil de santé publique

Hib : *Haemophilus influenzae* type b

Ig A : immunoglobine A

IIM : infection invasive à méningocoque

IIM X : Infection Invasive à Méningocoque de sérogroupe X

IL 1 : d'interleukine 1

IL 6 : d'interleukine 6

IM : Intramusculaire

IP : Institut de Pasteur

IPA : Institut de Pasteur d'Alger

LCR : Liquide Céphalo Rachidien

MCS : méningite cérébrospinale

MCSm : méningite cérébrospinale à méningocoque

MH : milieu Muller Hinton

MISP : Médecin Inspecteur de Santé Publique

N.m : *Neisseria meningitidis*

OMS : Organisation Mondiale de la Santé

ONG : Organisation Non Gouvernementale

PBS : Soluté salin tamponné aux phosphates

PCR : *Polymerase Chain Reaction*

PDL : Pays de Loire

PEV : Programme Elargi de Vaccination

PL : Ponction Lombaire

PME : protéine membranaire externe

SC : Sous cutané

SEMEP : Service d'Epidémiologie et de Médecine Préventive

SND : sérogroupage non déterminé par certains laboratoires ne possédant pas de sérums agglutinants.

S.pneumoniae : *Streptococcus pneumoniae*

TDR : Test de diagnostic rapide

T-I : milieu Trans Isolat

TNF α : Tumor Necrosis Factor α

VCF : Vancomycine, Colistine et Fungizone

VHC : Virus de Hépatite C

VIH : Virus de l'Immunodeficiency Humaine

INTRODUCTION

I. INTRODUCTION

Neisseria meningitidis ou méningocoque, est une bactérie étroitement adaptée à l'homme qui en est le seul réservoir connu et le seul hôte sensible. C'est une espèce bactérienne commensale du rhino-oropharynx. *N.meningitidis*, agent épidémiogène de la méningite cérébro-spinale est présent à tout âge sous la forme endémo-épidémique ; 5 séro-groupes de méningocoques sont isolés en Algérie: A, B, C, Y et W ; la méningite à *Neisseria meningitidis* relève de l'urgence médicale et son diagnostic au laboratoire doit être rapide pour pouvoir instaurer un traitement antibiotique et éviter des complications néfastes pour le patient [1].

Le diagnostic par la technique de biologie moléculaire(PCR) apporte un bénéfice dans la rapidité de l'identification du germe ; cette méthode est bien maîtrisée par le laboratoire national de référence de l'Institut Pasteur d'Algérie (Pr H.Taali Maamar) et sera dans l'avenir généralisée dans les services de microbiologie hospitaliers. Toutes les souches isolées restent sensibles aux antibiotiques ; néanmoins pour quelques souches, on observe une CMI légèrement élevée à la pénicilline [1].

La vaccination anti- méningococcique est à la base de la prévention contre l'infection méningococcique particulièrement contre *N.meningitidis* de sérogroupes A, C Yet W.

OBJECTIFS :

Compte tenu de la gravité de la méningite à *Neisseria meningitidis* qui reste une urgence médicale, nous nous proposons de faire une mise au point principalement sur :

- Le diagnostic bactériologique et génétique .
- L'épidémiologie de la méningite bactérienne à *Neisseria meningitidis* au CHU Blida.
- Les modalités de la prévention (y compris la vaccination).

HISTORIQUE- TAXONOMIE

II. HISTORIQUE- TAXONOMIE

II.1 Historique [2 , 3 ,4 ,5] :

La méningite cérébro-spinale (MCS) est une maladie très ancienne, Ce n'est qu'au **XVIIe** siècle que Thomas Willis observe et décrit, en **1661**, une fièvre épidémique qui peut correspondre à une méningite cérébro-spinale[2].

L'épidémie de la méningite débute pour la première fois avec certitude à Genève en **1805** au **XIXe** siècle lorsque Gaspard Vieusseux (1746-1814) en fait la description dans son « Mémoire sur la maladie qui a régné à Genève au printemps de **1805** ». la nature de la méningite qu'il décrit est confirmée par Matthey(1778-1842) ,qui a observé à l'autopsie la congestion des méninges et la présence d'une « humeur » gélatineuse répartie à la surface des méninges.

La méningite cérébro-spinale épidémique fut décrite pour la première fois avec précision en **1836**, à l'occasion de l'épidémie qui avait frappé une garnison des Bases Pyrénées en France et avait gagné lors des déplacements de cette garnison toutes les villes traversées [2].

En Afrique, la première éclosion a été décrite en **1840**. Les épidémies africaines sont devenues beaucoup plus fréquentes au **XXe** siècle : Nigeria et Ghana . Dans les premiers rapports grand nombre de gens sont morts de la maladie.

En **1875**, le bactériologiste Clebs met en évidence un diplocoque à l'autopsie d'un malade mort de pneumonie et de méningite [2].

c'est en **1887**, à Vienne , qu'Anton Wiechselbaum (1845-1920) découvre que le méningocoque est l'agent causal de la méningite cérébro-spinale. Dans des prélèvements provenant de six autopsies il trouve, dans les exsudats présents dans les méninges et dans les liquides ventriculaires, une bactérie d'un aspect différent de celui du pneumocoque ou des autres organismes détectés dans des méningites .Il s'agit de coques placés en paires, sous forme de demi-sphères qui s'opposent, libres ou intra- leucocytaires, Gram-négatif et qui ressemblent aux gonocoques .Il le dénomme « *Diplococcus intracellularis meningitidis* » .

Heinrich Quincke (1842-1922) a utilisé sa nouvelle technique de ponction lombaire en **1891** pour fournir une première analyse du liquide céphalorachidien (LCR).

À la fin du **XIXe** siècle, plusieurs symptômes de la maladie ont été décrits (en **1884**) par le médecin russe Vladimir Kernig (1840-1917) en **1899** et médecin polonais Jozef Brudzinski (1874-1917) [2].

En **1902** à Alger, H. Cocher et Leman isolent le méningocoque du sang, et en **1905** K.Kutscher l'isole du nasopharynx ,cette dernière observation soulève la question de l'existence de porteurs de germe[3] .

C'est en **1906** que les chercheurs ont constaté que les chevaux pourraient servir à créer des anticorps contre le méningocoque. Cela a été mis au point par le scientifique américain Simon Flexer qui fabrique le sérum anti-méningococcique et Doppler l'administre par voie

intrathécale en 1908. Cette sérothérapie fit baisser le taux de mortalité. Mais quelques années après, les échecs de cette sérothérapie furent de plus en plus fréquents .

En 1907, ce sont les premiers essais d'utilisation de vaccins à germes tués [3] .

En 1929, Flemming découvrit la Pénicilline premier anti-bactérien .

En 1932, Domack découvrit le Sulfamide, qui a transformé le pronostic vital en réduisant le pourcentage des séquelles liées aux méningites .

L'antibiothérapie a commencé au **XXe** siècle avec l'utilisation des sulfamides par François Schwentker (1904-1954) et de la pénicilline par Chester Keefer (1897-1972).

Armstrong et Lilly en 1934 ont isolé la bactérie dans le liquide céphalo-rachidien des patients.

En 1940, Florey et collaborateurs utilisèrent la Pénicilline à Oxford dans le traitement des méningococcies, ce qui améliora le pronostic des formes sévères .

En 1944, la pénicilline est signalée pour être efficace dans la méningite.

En 1949, le Chloramphénicol s'est révélé comme un des antibiotiques les plus efficaces, remarquables par son excellent pouvoir de diffusion dans les espaces sous arachnoïdiens .

Dans la seconde moitié du **XXe** siècle les adénovirus se sont révélés être liés à la méningite.

En 1963, c'est l'année d'apparition des phénomènes de Sulfamido-resistance .

En 1968, AA Smorodintsev prouve qu'il existe plus de 200 virus différents et leurs sérotypes qui peuvent provoquer des infections méningées.

En 1968, c'est l'avènement des vaccins anti-méningococciques polysaccharidiques A et C [2].

En 1979 , une épidémie a été localisée à la ville de Blida ; Elle a duré de février à juillet 1979, Le méningocoque responsable de cette épidémie était de sérogroupe A [4].

En 1989 ;une épidémie importante de méningite cérébrospinale était déclarée en Algérie[5].

En 2002, la preuve est avérée que le traitement par stéroïdes pourrait améliorer le pronostic de la méningite bactérienne. Cela aussi a révolutionné le traitement de la méningite et amélioré le résultat à long terme de la condition.

Entre 2005 et 2010, la FDA (Food Drug Administration) valide les vaccins méningococciques supplémentaires pour se protéger contre 4 des 5 principaux pathogènes sérogroupes, A, C, Y et W[2].

POUVOIR PATHOGENE

II.2 Taxonomie [6]

<u>DOMAINE</u> :	Prokaria
<u>RÈGNE</u> :	Bacteria
<u>EMBRANCHEMENT</u> :	Proteobacteria
<u>CLASSE</u> :	Beta Proteobacteria
<u>ORDRE</u> :	Neisseriales
<u>FAMILLE</u> :	Neisseriaceae
<u>GENRE</u> :	Neisseria
<u>ESPECE</u> :	meningitidis
<u>NOM</u> :	<i>Neisseria meningitidis</i>

III. POUVOIR PATHOGENE [7,8,9,10,11,12] :

III.1 Physiopathologie

La méningite à *N.meningitidis* est redoutable non seulement à cause de sa létalité, mais aussi du fait des complications et des séquelles neuro-sensorielles qu'elle engendre. Les deux formes cliniques principales de méningococcie sont la méningite cérébrospinale, qui survient habituellement dans la première enfance et chez l'adulte jeune, et les méningococémies aiguës.

-Physiopathologie de la méningite à *Neisseria meningitidis* :

Neisseria meningitidis est une bactérie à multiplication intracellulaire. L'habitat naturel de *Neisseria meningitidis* est l'oropharynx de l'homme. La porte d'entrée est le rhinopharynx. La colonisation résulte des capacités d'adhérence de pathogène au niveau de l'épithélium rhino-pharyngé.

Dans certaines circonstances encore méconnues, la bactérie peut devenir invasive et être responsable de bactériémies au cours desquelles un ensemencement méningé peut se produire. Le passage de la bactérie pathogène du sang vers le LCR peut se faire soit au niveau des plexus choroïdes soit par un franchissement direct de l'endothélium des capillaires méningés.

• Adhésion à l'endothélium oro-pharyngé :

Neisseria meningitidis adhère aux épithéliums respiratoires puis traverse cette première couche tissulaire pour atteindre le flux sanguin. Ce mécanisme d'adhésion et d'invasion dépend de l'expression de gènes codant pour les pili, comme le gène pilCI qui joue un rôle

majeur dans l'adhésion aux cellules. Une séquence génomique promotrice du gène pilCI est d'ailleurs inductible par le contact de la bactérie avec la cellule cible. De plus, cette interaction méningocoque-cellule active, dans les monocytes et les cellules endothéliales, l'expression du Tumor Necrosis Factor α (TNF α), cytokine pro inflammatoire dont le rôle est majeur dans la translocation trans-endothéliale [7].

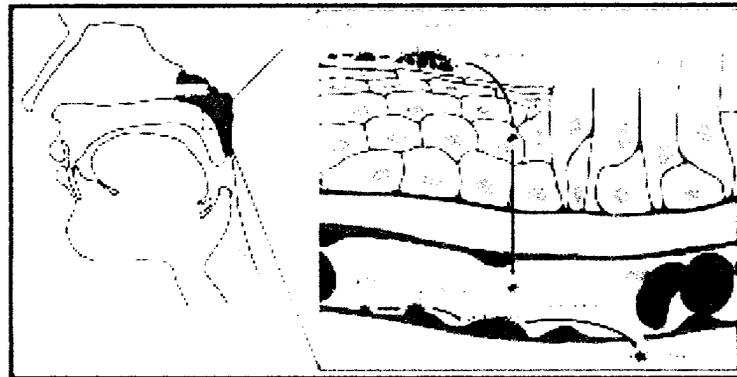


Figure 1: adhésion des méningocoques à l'endothélium orropharyngé[7]

• **Pénétration de l'agent pathogène dans le liquide céphalo -rachidien (LCR)**

Après la phase bactériémique, pour qu'il y ait méningite, il faut que la bactérie pénètre dans le LCR. Différents arguments sont en faveur d'un ensemencement du LCR par voie hématogène, avec franchissement secondaire de la barrière hémato-méningée.

En effet, la mise en évidence de la bactérie dans les hémocultures avant son apparition dans le LCR appuie cette hypothèse. De plus, l'injection de *Neisseria meningitidis* par voie intrapéritonéale chez le rat nouveau-né ou intraveineuse chez le macaque est suivie d'une colonisation du LCR [7].

La barrière hémato-méningée est constituée de l'endothélium des capillaires méningés et des plexus choroïdes.

L'agent pathogène doit être capable d'adhérer aux cellules et de les traverser par rupture des jonctions intercellulaires constituant la barrière hémato-méningée. Les facteurs d'adhésion des bactéries aux cellules endothéliales et le lipopolysaccharide qui augmente la perméabilité des monocouches de cellules endothéliales sont des éléments importants impliqués dans le franchissement de la barrière hémato-méningée [7].

L'examen du LCR montre la présence de cocci Gram négatif à l'examen direct et la culture identifie *N. meningitidis* en 24 à 48 heures.

• **Multiplication de la bactérie et production de cytokines dans le LCR**

Une fois que la bactérie a pénétré dans le LCR, peu d'éléments sont capables d'empêcher son développement. En effet, les éléments responsables de la bactéricidie sérique y font défaut: le complément est absent et la concentration en immunoglobulines est très basse. L'élément essentiel qui fait suite à la pénétration des bactéries dans le LCR et qui conditionne l'ensemble de la cascade physiopathologique est la production de cytokines.

Des dosages effectués dans le LCR d'animaux ont montré, une à trois heures après l'injection par voie intracisternale de lipopolysaccharide, une production de TNF α , d'interleukine 1 (IL 1) et d'interleukine 6 (IL 6). Cette production de cytokines précède l'apparition de l'exsudat inflammatoire. L'injection d'anticorps anti-TNF α et/ou d'anticorps anti-IL 1 prévient, au moins partiellement l'apparition de cette réaction. De plus, l'injection intracisternale de TNF α et d'IL 1 est suivie d'une augmentation de la protéinorachie, d'un afflux de polynucléaires et d'une augmentation du poids du cerveau, témoin d'un oedème tissulaire.

L'ensemble de ces constatations expérimentales confirme bien que la production de cytokines est nécessaire au déclenchement de la méningite. Cette production a lieu in situ, indépendamment de toute production systémique puisque ces médiateurs ne peuvent pas franchir la barrière hémato-méningée et que les deux compartiments, sang et LCR, sont complètement indépendants au regard de la production de cytokines. Cette production ne peut venir que de cellules ayant une activité macrophagique au sein des méninges elles-mêmes [7].

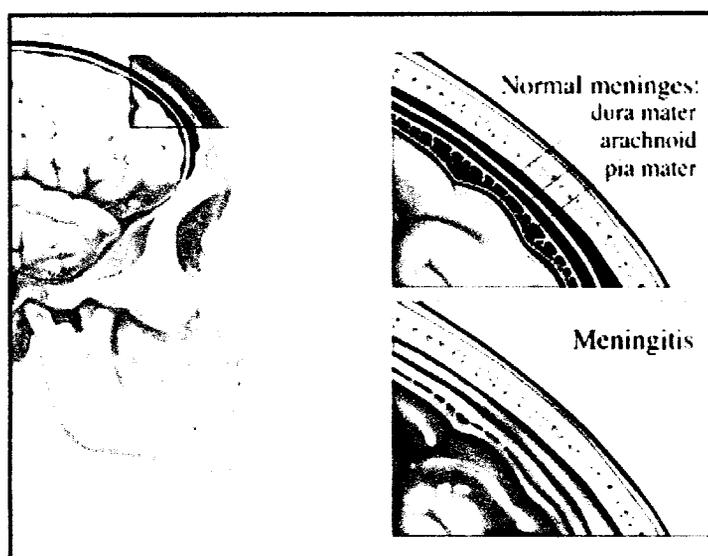


Figure 2 : comparaison entre une méninge saine et une méninge atteinte [8].

• Pénétration des polynucléaires dans le LCR

La première conséquence de la libération de cytokines est l'afflux de polynucléaires dans le LCR. Cette étape nécessite une adhésion étroite entre les neutrophiles et les cellules endothéliales. Les polynucléaires sont capables d'adhérer aux cellules endothéliales et de traverser leur surface s'il y a stimulation par le TNF α , l'IL 1 ou le lipopolysaccharide. Cette extravasation des polynucléaires dans les tissus infectés peut être décomposée en trois étapes:

- La première étape dépend des sélectines (L-sélectine ou LAM 1, P-sélectine ou GMP 140, E-sélectine ou ELAM 1). La L-sélectine est localisée à la surface de tous les

leucocytes circulants (sauf sur une sous-population de lymphocytes T mémoire). La P-sélectine et la E-sélectine sont présentes à la surface des cellules endothéliales. Toutes ces sélectines interagissent avec leurs ligands respectifs. Leur rôle est de permettre une adhésion lâche entre les polynucléaires et les cellules endothéliales de l'épithélium activé. Ce processus d'adhésion s'accompagne d'un roulement des polynucléaires sur l'endothélium.

- La deuxième étape a pour but de stimuler les polynucléaires, grâce à l'augmentation du nombre de molécules d'intégrines de type B2 à leur surface. Cette activation des polynucléaires entraîne également le décrochage des L-sélectines de la surface des leucocytes. L'ensemble de ces événements est sous la dépendance de facteurs chimiotactiques (essentiellement l'IL8 produite par l'endothélium activé) [7].

- La troisième étape résulte de l'interaction intégrines-ICAM1 (ligand présent sur les cellules endothéliales) qui aboutit à l'arrêt du roulement des polynucléaires et à leur étroite interaction avec l'endothélium. Ceci va ainsi permettre la diapédèse leucocytaire. Ce modèle a été validé par de nombreuses données expérimentales. Dans le modèle de méningite expérimentale chez le lapin, l'administration de peptides inhibant l'interaction polynucléaires-sélectines et donc inhibant le roulement sur l'endothélium est responsable d'une très nette diminution de la pléiocytose méningée. Des résultats similaires ont été rapportés avec la fucoïdine, un inhibiteur du roulement [7].

- **Altération de la barrière hémato-encéphalique :**

La deuxième grande conséquence de la production de cytokines est une augmentation de la perméabilité de la barrière hémato-encéphalique. Ceci a été démontré chez le rat : lorsqu'on inocule les bactéries au rat, il y a augmentation de la perméabilité de la barrière dans les heures qui suivent. Cette modification résulte de l'action synergique des cytokines : le TNF α seul n'a que peu d'action mais agit en revanche de façon synergique avec l'IL1. L'altération de la barrière est due à un relâchement des jonctions serrées des capillaires cérébraux. Ceci a été démontré par une étude ultrastructurale de capillaires isolés du cerveau de rats chez les quels une méningite a été induite. L'étude compare l'altération de la barrière hémato-encéphalique, selon que le rat est neutropénique ou non.

Les résultats ont montré que chez le rat neutropénique, l'altération de la barrière est moins importante que chez le rat normal, malgré la production de cytokines. Ceci suggère donc que c'est le passage des leucocytes à travers la barrière qui est responsable de l'altération de cette dernière.

- **Inflammation méningée et œdème :**

L'afflux de polynucléaires et l'altération de la barrière hémato-encéphalique seraient responsables de la symptomatologie: oedème cérébral (par augmentation de la perméabilité de la barrière hémato-encéphalique et diminution de résorption du LCR), hypertension intracrânienne, thromboses des vaisseaux méningés aboutissant à l'anoxie cérébrale [7].

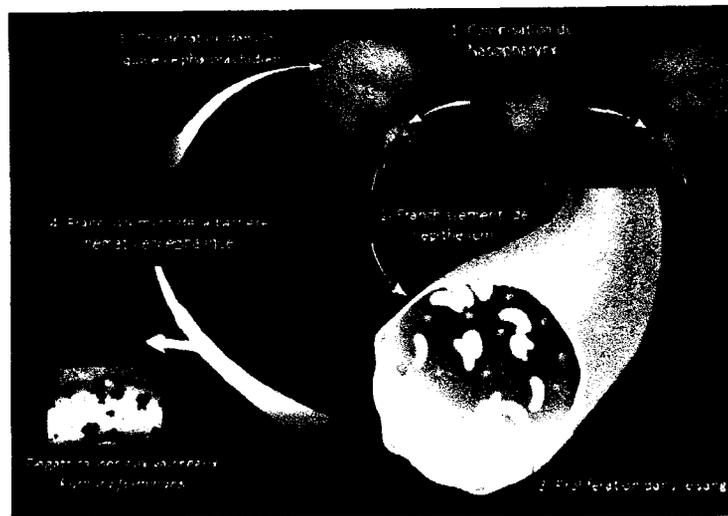


Figure 3: physiopathologie de la méningite [9].

III.2 Signes cliniques de la méningite

III.2.1 Chez l'enfant et chez l'adulte :

La période d'incubation varie de deux à dix jours avec une moyenne de trois à quatre jours. Le début est particulièrement brutal. Un développement rapide des symptômes d'abord diffus (malaise, léger mal de tête, vomissements) est constaté, cette période dure quelques heures, puis surviennent ensuite les signes caractéristiques [7].

Le tableau clinique classique de la méningite à méningocoque réunit un syndrome infectieux et un syndrome méningé :

- Le syndrome infectieux: fièvre élevée (pouvant aller jusqu'à 40°), frissons, éruptions cutanées dans certains cas.
- Le syndrome méningé: céphalées violentes et généralisées, nausées, vomissements, photophobie, raideur de la nuque. Il peut s'y ajouter des signes neurologiques tels que la prostration, le délire, le coma et/ou les convulsions.

Chez les personnes âgées, les symptômes peuvent être masqués par une autre maladie existante tels que des troubles cardiovasculaires ou la démence sénile, rendant le diagnostic encore plus difficile. [9].

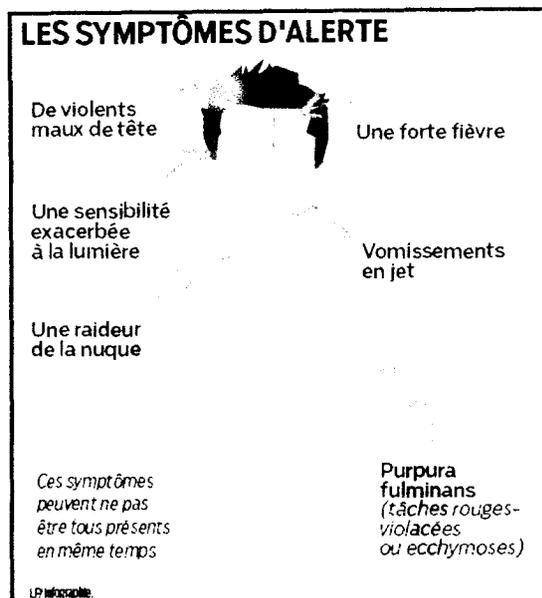


Figure 4 : les symptômes de la méningite [10].

III.3.2.2 Chez le nourrisson :

Les signes cliniques peuvent être difficiles à reconnaître. Le début brutal et la raideur de la nuque peuvent parfois manquer.

Les nourrissons présentent de la fièvre mais les mains et les pieds peuvent parfois rester froids. Ils présentent une perte d'appétit, peuvent être sujets à des diarrhées ou de la constipation. Leurs pleurs sont stridents et intenses, ils deviennent apathiques, ne réagissent pas aux sollicitations et sont dans un état de somnolence permanent. Un bombement de la fontanelle peut être observé.

III.3.2.3 Septicémie à méningocoque :

L'apparition de taches cutanées diffuses chez le nourrisson, l'enfant ou l'adulte peuvent être le signe d'une septicémie à méningocoques. De petites taches violacées ou brunes peuvent alors apparaître. Elles peuvent s'étendre sur l'ensemble du corps et peuvent parfois être accompagnées de petites vésicules à la surface de la peau. Elles ne s'effacent pas à la pression: lorsqu'on réalise le test de vitropression, elles persistent. On parle alors de purpura fulminans: ce sont des septicémies d'évolution rapide aboutissant rapidement à une défaillance hémodynamique et polyviscérale.

La présence de purpura fulminans est un critère de gravité de l'infection et une menace de choc septique imposant le traitement antibiotique et l'hospitalisation d'urgence[12].

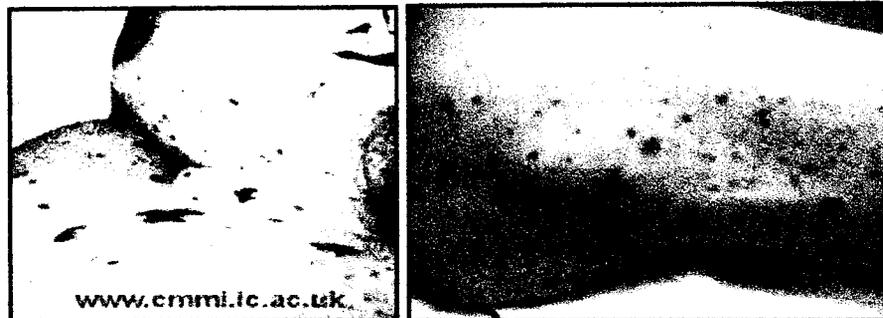


Figure 5: purpura fulminans méningococcique [11,12].

III.3.2.4 Méningites récidivantes :

Elles nécessitent comme pour toute méningite bactérienne récidivante, la recherche d'une brèche ostéoméningée, responsable plutôt de méningite à pneumocoque récidivante. La cause principale des méningites récidivantes à méningocoque est le déficit congénital en facteur tardif en complément C6 surtout et parfois C7, C8, C9. Ce déficit peut parfois être envisagé dès la première méningite lorsqu'il s'agit d'un sérotype inhabituel n'appartenant pas aux groupes A, B ou C et dont la virulence naturelle et spontanée est plus faible [2].

III.3.2.5 Séquelles :

Malgré les possibilités actuelles de diagnostic rapide et la disposition d'agents antibactériens

efficaces, le pronostic d'une méningite reste toujours réservé. Même lorsqu'on diagnostique la maladie très tôt et qu'un traitement approprié est institué, on note encore des décès, habituellement dans les 24 à 48 heures suivant l'apparition des symptômes. La courbe thermique, l'état de conscience, l'examen neurologique sont les principaux éléments de surveillance. De plus, la méningite à méningocoque peut entraîner des séquelles: les plus fréquentes sont la surdité ainsi que des séquelles neurologiques (épilepsie, déficit moteur, troubles de l'apprentissage). La surdité peut être associée à une ataxie. Ceci provient principalement de la réponse inflammatoire au niveau de l'espace sous-arachnoïdien (oedème cérébral avec compression, perfusion cérébrale diminuée ...) [10].

On peut aussi voir apparaître des nécroses cutanées: dans le cas de septicémie à méningocoque, les tissus se nécrosent sous l'effet des toxines. Dans les cas extrêmes on assiste à une importante perte irréversible des tissus. Il faut alors parfois recourir à l'amputation. A distance, des séquelles rénales peuvent aussi survenir: une insuffisance rénale aigüe peut apparaître [7].

STRUCTURE ANITGENIQUE

IV. STRUCTURE ANTIGENIQUE

IV.1 Morphologie [13] :

Neisseria meningitidis a la forme d'une coque asymétrique en grain de café .Il se présente groupé par deux, en diplocoques adjacents par leur face aplatie. Il est Gram négatif, mesurant 0,8 à 1 micron de diamètre [13].



Figure 6 : photographie de méningocoques par un microscope électronique à balayage [13].

IV.2 Structure [4,7,14] :

- Le polyside capsulaire

Le méningocoque est une bactérie entourée d'une capsule qui possède une structure biochimique de nature polyosidique définissant douze sérogroupes: les plus fréquents sont A, B, C, 29E, Y, , H,I,K, L W,X , Z.

La spécificité antigénique est liée à la structure du polysaccharide:

* séro groupe A : N-acétylo-acétylmannose amine phosphate.

* séro groupe B : acide N-acétylneuraminique.

* séro groupe C : acide N-acétyl-O-acétylneuraminique.

-Le lipolysaccharide (LPS)

Le LPS a un rôle dans le système immunitaire (inactivation) et permet aux cellules d'adhérer aux cellules [4].

Sérotypage et sous-typage :

Les sérotypes des méningocoques sont définis par des différences d'immunospécificités des protéines de membranes externes : cinq protéines de membrane externes sont décrites , les protéines de 2 et 3 sont le support des sérotypes, la protéine 1 de sous types.

Les sérotypes de méningocoques sont désignés par des nombres quelquefois associés à des lettres minuscules : 1,2a,2b ,4 ,14 ,15,16,.....

La technique de mise en évidence est réalisable avec des anticorps monoclonaux, soit par technique d'immunoblot ou bien par technique immunoenzymatique.

Sérogroupe, type et sous type donnent la formule antigénique d'un méningocoque.

Exemple : A :4 :P1.9, signifie, souche de méningocoque de groupe A de type 4 et de sous type P1.9. [14].

Puis en allant de l'extérieur vers l'intérieur, on trouve:

- **La membrane externe:** constituée de protéines, elle permet de subdiviser les sérogroupe en sérotypes. On distingue cinq classes de protéines majeures basées sur la base de leurs poids moléculaire. Les fonctions de chacune d'entre elles sont répertoriées dans le tableau ci-dessous :

Tableau I : Caractéristiques des protéines majeures de membrane externe de *Neisseria meningitidis* [7].

Classe	Propriétés
1	Fonction de porine ; classement en sous type
2 et 3	elles sont mutuellement exclusives. fonction de porine à la base d'une sérotypie.
4	Rôle inconnu
5	Rôle dans l'adhésion et l'invasion aux cellules de l'hôte.

- La paroi: grâce à ses peptidoglycane permet de définir des immunotypes.

- La membrane cytoplasmique: de part la présence d'isoenzymes, on obtient des électrotypes.

- Le cytoplasme: renfermant les acides nucléiques permet d'obtenir les ribotypes

La bactérie présente également des pili qui sont constitués de la répétition d'une sous-unité protéique appelée piline. Ces pili ont un rôle dans la phase d'adhésion.

On va ainsi utiliser comme marqueurs épidémiologiques des sérogroupe, des sérotypes, des immunotypes, des électrotypes, des ribotypes et des protéines de pili. Les marqueurs les plus utilisés sont les sérogroupe, les sérotypes et les sous-types qui depuis 1985 sont associés dans une formule antigénique [7].

IV .3 Facteurs de virulence [4] :

Les principaux facteurs de virulence actuellement identifiés sont :

* la capsule polysaccharidique qui a un rôle antiphagocytaire : elle permet de résister à la phagocytose des polynucléaires neutrophiles. Elle est plus ou moins développée selon les souches. Elle est immunogène, c'est-à-dire que les anticorps dirigés contre cette capsule sont protecteurs.

* le lipooligosaccharide : il constitue l'endotoxine bactérienne. Il comporte un lipide et un corps oligosaccharidique qui peut être sialylé. Après sialylation, il permet de résister à l'action bactéricide du sérum et à la phagocytose. C'est cette endotoxine bactérienne qui est responsable du choc méningococcique .

* les systèmes de captation du fer (récepteurs sur la membrane externe pour la transferrine et les dérivés de l'hémoglobine) qui permettent à la bactérie de se procurer le fer nécessaire à sa croissance.

* les pili jouent un rôle dans l'adhérence: ils permettent à la bactérie d'adhérer aux cellules endothéliales.

* les Ig A protéases sont des protéines de la membrane externe. Elles clivent les Ig A en fragments Fab et Fc . Elles favorisent ainsi la survie du méningocoque dans les cellules épithéliales et la colonisation.

* les protéines de membrane externe de classe 5 telles les protéines d'opacité Opa et Opc qui jouent un rôle dans l'adhésion et dans l'invasion de la cellule hôte [4].

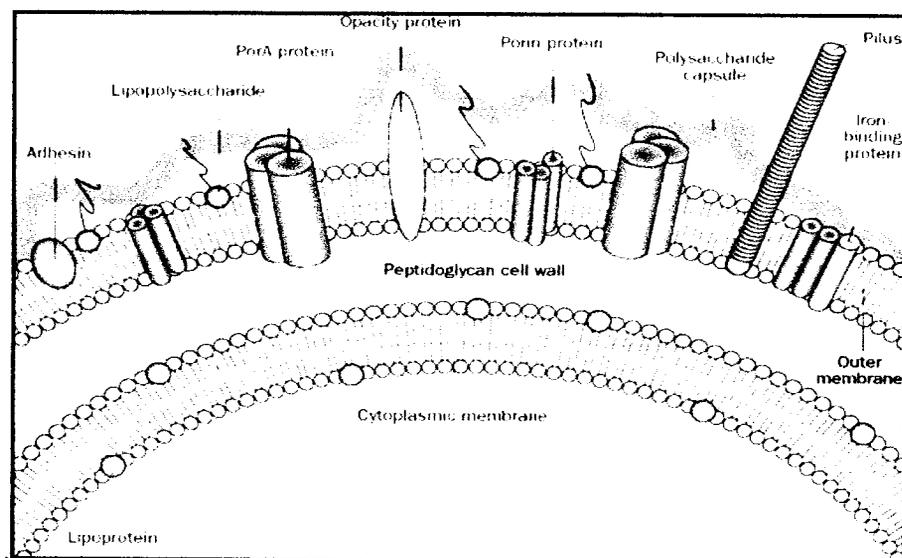


Figure 7 : Les structures de surface de *Neisseria meningitidis* [15].

CARACTERES BACTERIOLOGIQUES

V. CARACTERES BACTERIOLOGIQUES

V.1 Caractères cultureux [7] :

Neisseria meningitidis se présente à l'examen microscopique sous la forme d'un diplocoque à gram négatif. Il est toujours immobile.

Le méningocoque est un germe très fragile, sensible aux variations de température, au froid et à la dessiccation. La culture doit être réalisée sur des milieux enrichis comme la gélose chocolat (gélose au sang cuit). Le germe croît en 18 à 24 heures sous une atmosphère aérobie supplémentée de 8 à 10% de CO₂, à une température de 37°C. Les colonies sont grisâtres, lisses, à bords réguliers et d'un diamètre de 1 à 2 mm.

Pour les produits polymicrobiens, on utilise des milieux sélectifs par adjonction de certains antibiotiques. On utilise souvent le mélange VCF (Vancomycine, Colistine et Fungizone), pour rendre le milieu sélectif au méningocoque.

Le milieu le plus adapté au transport des souches est le milieu VDK (décrit par Vandekerkove): il permet une conservation à court terme (18 à 72 heures). La conservation à long terme est faite par congélation à -70°C ou par lyophilisation [7].

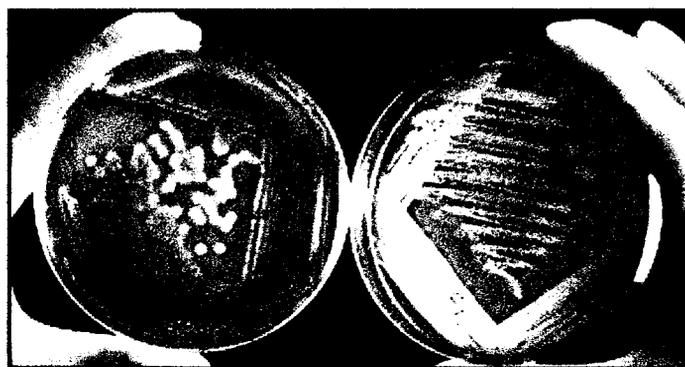


Figure 8: colonies de bactérie *N.meningitidis* sont cultivées sur gélose au sang cuit [13].

V.2 Caractères biochimiques et enzymatiques [16] :

Le méningocoque possède les caractères généraux des *Neisseria* (oxydase + et catalase +). Il utilise le glucose en acidifiant le milieu ainsi que le maltose (contrairement au gonocoque) mais pas le saccharose ni le lactose (ce dernier caractère le différencie de *Neisseria lactamica*, commensal souvent confondu avec *Neisseria meningitidis*)

V.3 Caractères antigéniques [16]

Les polysides capsulaires déterminent 12 sérogroupes : A, B, C, X, Y, Z, 29E, W, H, I, K et L. Quatre vingt dix pour cent des infections sont dues aux trois premiers groupes A, B

et C. En Europe et en France, en particulier, le groupe B est le plus fréquemment rencontré. A l'intérieur des groupes, il existe des sérotypes et des sous-types déterminés par des protéines de membrane externe (PME).

V.4 Facteurs de virulence

Le méningocoque ne produit pas d'exotoxines mais possède une endotoxine à structure lipopolysaccharidique. Les souches pathogènes possèdent des pili facilitant leur adhésion et produisent des IgA protéases [16].

V.5 Diagnostic bactériologique de la méningite à méningocoque

En cas de méningite présumée, le LCR est le prélèvement biologique de choix pour l'isolement et l'identification des agents étiologiques.

Le critère de déclaration de l'infection à méningocoque est la confirmation de l'infection par l'isolement de *Neisseria meningitidis* dans le liquide céphalo-rachidien et/ou le sang, ou la présence d'antigènes solubles de cette même bactérie dans le LCR, le sang ou les urines.

V.5.1 Les prélèvements :

V.5.1.1 LCR

❖ Ponction lombaire

Comme le diagnostic de méningite est essentiellement basé sur l'examen du liquide céphalorachidien (LCR), Le prélèvement de ce dernier se fait par ponction lombaire. Cette opération est nécessaire pour confirmer le diagnostic de méningite purulente et pour mettre en évidence le méningocoque.

La ponction lombaire consiste à recueillir le Liquide Céphalo-Rachidien (LCR), ou liquide cérébro-spinal par un prélèvement dans le dos, entre deux vertèbres (entre le 4ème et le 5ème vertèbres lombaires) par l'introduction d'un trocart dans le canal rachidien [17].

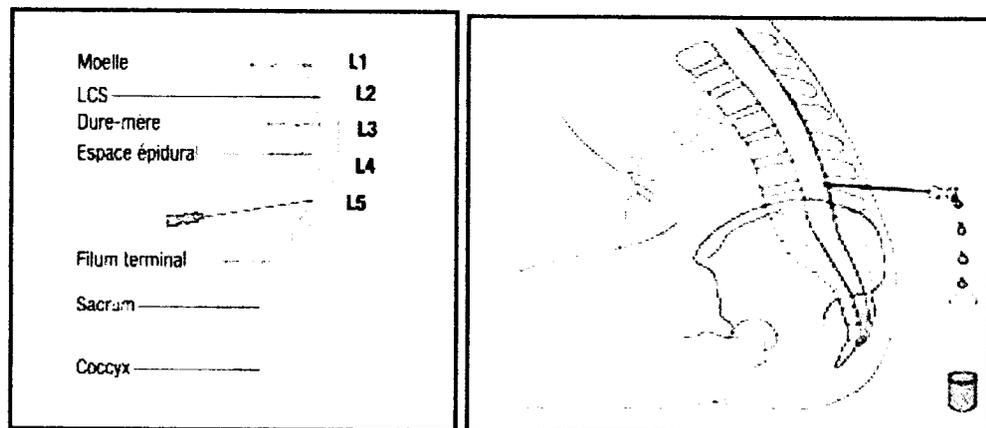


Figure 9 : Recueil du LCR par ponction lombaire [18 ,19].

❖ Mode de pratique du ponction lombaire :

Le médecin s'assure donc de l'absence de contre-indications et peut, pour cela, demander la réalisation d'un scanner cérébral, d'une IRM cérébrale, d'un examen ophtalmologique ainsi un fond d'oeil car il peut permettre de faire le diagnostic d'une hypertension intracrânienne: dans ce cas il montre alors un œdème de la pupille.

Avant d'effectuer le geste en lui-même, le patient doit être informé de la nécessité du geste et de l'intérêt médical des informations qui seront obtenues par la ponction lombaire. Il faudra le prévenir et lui expliquer le principe du soin et son utilité.

On fait en général, 3 prélèvements de LCR ,utilisés pour la chimie ,la microbiologie et la cytologie.

Elle peut être réalisée sous anesthésie locale, effectuée le plus souvent à l'aide d'un patch posé sur la peau.

Le patient ,de préférence à jeun , doit présenter un dos le plus rond possible afin que l'on n'ait aucun peine a passer l'aiguille entre deux épineuses .

Il est installé :

-soit assis ,courbé en avant (en s'enroulant par exemple autour d'un oreiller , les jambes pendantes .

-soit couché sur le coté ,cuisses bien fléchies sur l'abdomen et tete fléchie .cette dernière position est préférée chez un malade en mauvais état général,ou si l'on n'a pas les moyens de s'assurer le fond d'œil est normal.

Quelle que soit la position choisie , l'aide maintient fermement le patient dans celle-ci afin d'éviter toutes blessure intempestive due à un mouvement de recul.

Le lieu de ponction est alors repéré : il doit se situer entre la 4ème et la 5ème, ou entre la 3ème et la 4ème vertèbre lombaire (qui correspondent à deux espaces intervertébraux où on ne risque pas de toucher la moelle épinière dont la partie terminale appelée « le cône » est situé beaucoup plus haut).

Habituellement, le médecin ou l'infirmière réalise une désinfection soigneuse de la zone repérée le long d'une ligne joignant les deux crêtes iliaques. Puis un nettoyage à l'alcool à 70% ,puis badigeonnage à la teinture d'iode ou à la polyvidone iodée et laisser sécher .

Le médecin introduit une trocart sur la ligne médiane, presque à la perpendiculaire de la peau, jusqu'à traverser la dure-mère (sensation de résistance à la pénétration de l'aiguille) et être ainsi au contact du LCR. Lorsque l'aiguille est bien positionnée, après le retrait du mandrin, le liquide peut alors s'écouler de l'aiguille et est recueilli dans des tubes spécifiques (autant de tubes que d'exams demandés). Le médecin peut être amené à rechercher à plusieurs reprises la bonne zone anatomique qui permettra de retirer le LCR. Parfois, le praticien n'arrive pas à atteindre le LCR : il s'agit d'une « ponction blanche ». La ponction peut être aidée grâce au contrôle du positionnement de l'aiguille par échographie ou scanner, ce qui est parfois effectué lorsque le dos est très arthrosique et qui

rend difficile le geste. Dans ce cas de figure, la ponction lombaire sera réalisée dans le service de radiologie.

Rarement le médecin désire calculer la pression du liquide céphalo-rachidien. Il l'évalue en adaptant un manomètre à l'aiguille de ponction et la pression liquidienne est mesurée. Il est toujours réalisé plusieurs prélèvements car le premier peut être faussé par la présence de sang dans l'aiguille.

Le liquide est recueilli dans 3 tubes stériles .on prend environ 5cc pour un adulte ,3cc chez un enfant .on retire alors le mandrin ,le LCR coule en gouttes rapprochées. En cas de méningite ,il est souvent hypertendus et coule en jet .si rien ne vient ,on peut retirer très doucement l'aiguille on la tournant un peu . on peut aussi si l'on pense ne pas être assez loins , enfoncer plus ,après avoir remis le mandrin .

On peut augmenter la pression du LCR (et donc le débit) on appuyant sur le ventre du patient ou en lui comprimant les jugulaires .

il ne faut en aucune facon aspirer à la seringue . le prélèvement fait , on remis le mandrin et on retir l'aiguille rapidement puis on frotte vigoureusement le point de ponction avec un coton alcoolisé pour éviter que le LCR continue de s'écouler. Puis on met un petit pansement stérile [20,21].

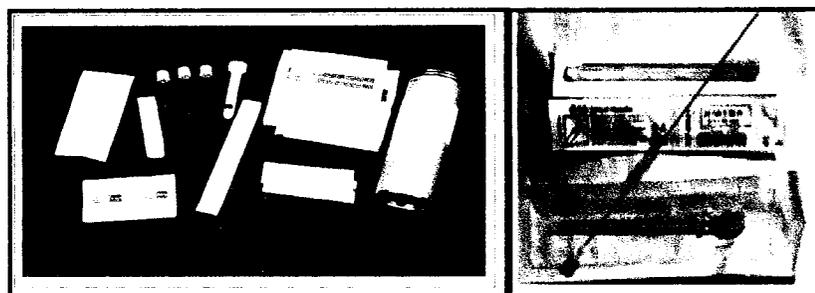


Figure 10 :A gauche: matériel nécessaire au recueil du LCR . A droit ; un trocart [20,22].

V.5.1.2 L'hémoculture :

Le sang est normalement stérile,un état sépticémique ou plus généralement un état infectieux grave se caractérise par un passage répété de microbes dans le sang .

Toute fièvre indéterminée doit donner lieu d' hémoculture qui permet d'isoler le (les) micro-organisme(s) responsable(s) d'une bactériémie, de l'(les)identifier, de déterminer sa (leur) sensibilité aux anti-infectieux et d'adapter le traitement.Ce prélèvement devient obligatoire dans le cas où la ponction lombaire ne peut être réalisée ou est contre indiquée. Dans certains cas, elle peut permettre de contrôler l'efficacité du traitement en cours.

Une hémoculture est souvent conseillée pour l'identification du germe dans des contextes cliniques particuliers (purpura, septicémies...) et souvent pour les germes peu fréquents :

- ✓ Germes aérobies : germes ayant besoin d'oxygène pour se développer. Le flacon aérobie doit contenir un peu d'air pour permettre la culture des germes aérobies, si le prélèvement ne permet pas l'introduction d'air dans le flacon, il faut injecter un peu d'air dans celui-ci à la fin du recueil.

- ✓ Germes anaérobies : germes n'ayant pas besoin d'oxygène pour se développer. Le flacon anaérobie ne doit pas contenir d'air pendant et après le prélèvement.

❖ Mode de prélèvement :

Le prélèvement des hémocultures doit répondre aux exigences d'asepsie rigoureuse.

- La pratique des prélèvements pour hémoculture expose le préleveur à des risques liés au sang du malade.

La pratique des hémocultures est une des circonstances le plus souvent rencontrées lors de contaminations accidentelles par le VIH ou le VHC. Il est donc impératif de respecter les précautions "standard".

- Sauf indication contraire lors de la prescription médicale, les hémocultures doivent être prélevées par ponction veineuse ; le recueil de sang par cathéter augmente de façon significative la fréquence des contaminants.
 - En cas de prélèvement à partir d'un cathéter ou de tout autre matériel implantable, il est impératif de le signaler sur la feuille de demande d'examen.
 - Préparer le matériel et identifier les flacons avec les étiquettes du malade collées à l'emplacement indiqué.
 - Faire une antiseptie du bouchon des flacons. Une hémoculture correspond habituellement à une paire de flacons (1 flacon aérobie + 1 flacon anaérobie). Néanmoins, il existe des cas particuliers: Chez l'enfant et dans certaines pathologies où l'implication de germes anaérobies est exceptionnelle, on se limite habituellement à un flacon aérobie.
 - Se désinfecter les mains.
 - Préparer la zone du point de ponction : antiseptie de la peau.
 - Attention : ne plus toucher la zone de ponction et éviter de parler pendant le prélèvement.
 - Se désinfecter à nouveau les mains.
 - Mettre des gants à usage unique non stériles en latex (ou en nitrile).
 - Ponctionner avec le dispositif de prélèvement suivant les instructions du fabricant.
 - Remplir chaque flacon de 5 à 10 ml de sang : il existe des repères sur les flacons, ne pas dépasser le repère supérieur. la quantité de sang recueillie est essentielle pour la détection des bactéries. En effet, on doit prélever 20 à 40 ml de sang pour une sensibilité optimale. On doit donc toujours prélever 2 bouteilles d'hémoculture avec 10 mL chacune sauf en de rares cas exceptionnels. Pour les enfants, étant donné la difficulté à prélever le sang et le nombre plus élevé de bactéries, on peut prélever une seule bouteille (pédiatrique) avec 3 à 4 mL.
- Les deux prélèvements sont obtenus simultanément de 2 sites différents avant le début de l'antibiothérapie. Il est préférable que les 2 prélèvements soient effectués sur des bras différents (1 sur chaque bras). Il est possible également de réaliser les 2 prélèvements sur le même bras, mais ceux-ci doivent être espacés de 20 minutes.
- Éliminer le système de prélèvement dans le collecteur pour objets piquants et tranchants.
 - Mettre un pansement sec sur le point de ponction.
 - Placer les flacons dans un sac en plastique.

- Remplir la feuille de demande d'examen.
- Acheminer les flacons au laboratoire dans une étuve à 37°C et à l'abri de la lumière (selon les instructions du laboratoire), accompagnés de la feuille d'examen.
- Noter et signer la réalisation du prélèvement dans le dossier de soins.
- Surveiller du point de ponction [20,23,24,25,26].



1- Préparation du matériel

2- Désinfection et antisepsie



3- Ponction

4- Prélèvement

Figure 11 :Prélèvement de sang au bras pour l'hémoculture [25].

V.5.3 Prélèvements de lésion purpurique cutanée [33] :

2 prélèvements sont nécessaires (1 pour la culture, 1 pour la PCR)

Devant tout tableau clinique de purpura fébrile évocateur d'infection bactérienne, le clinicien doit réaliser le plus précocement possible **une biopsie des lésions cutanées purpuriques**. Ce prélèvement riche en bactéries permet l'identification du méningocoque précocement, y compris plusieurs jours après instauration de C3G (5-6 jours). La biopsie est réalisée à l'aide d'un punch à biopsie de 3 mm, d'une pince Adson avec griffe et d'une lame droite de bistouri. La carotte est prélevée par une rotation appuyée du punch, de manière perpendiculaire à la peau. Le fragment ainsi isolé est saisi par la pince et coupé à sa base par la lame de bistouri. Le prélèvement biopsié est alors déposé dans un flacon stérile sans ajout d'eau stérile ou de sérum physiologique. Le caractère nécrotique des lésions au cours du *purpura fulminans* rend inutile la réalisation d'une anesthésie locale et d'un point de suture : la réalisation d'un pansement légèrement compressif suffit.

La technique d'aspiration d'une lésion cutanée purpurique pour les lésions de taille inférieure à 1cm, n'a pas été retenue par les cliniciens participants au GT de PDL.



Figure 12 :A gauche ; Punch à biopsie . Adroite ; Réalisation d'une biopsie cutanée à l'aide du punch [33].

V.5.1.4 Enregistrement :[20]

- Tous les prélèvements biologiques doivent être enregistrés sur un formulaire comportant les informations suivantes :

- Nom du patient ,Numéro de la chambre ou adresse du malade .
- Nom et adresse du medecin, lieu ou a défaut le medecin peut etre joint
- Site anatomique du prélèvement
- Date et heure du prélèvement, Diagnostic clinique et antécédents
- Traitement antimicrobien le cas échéant.

- Chaque prélèvement doit etre muni d'une étiquette solidement fixee et portant les informations suivantes :

- Nom du patient.
- Hopital .
- Chambre .
- Medecin.
- Type de prélèvement.
- Date et heure du prélèvement

V.5.2 Etude des prélèvements :

V.5.2.1 Etude de LCR :

V.5.2.1.a Transport du prélèvement : [20,27]

Dès que le LCR a été prélevé ,il sera transporté au laboratoire de microbiologie pour être examiné le plus tot possible (dans l'heure qui suit le prélèvement) .Ne pas exposer le LCR aux rayons du soleil ni à des températures extrêmes, chaudes ou froides .

En cas de méningites à *N.meningitidis* présumée, et si l'examen du LCR doit être retardé de plusieurs heures,l'incubation du LCR (bouchon à vis desséré) à 35°C sous une atmosphère de 5% de CO2 peut améliorer la survie de la bactérie .

Si le transport au laboratoire n'est pas possible le jours même ,le LCR sera inoculé aseptiquement ,à la seringue ,dans un milieu Trans-Isolate et maintenu jusqu'au lendemin à près de 35°C.

Le milieu de Trans-Isolate est un milieu biphasique qui permet la culture primaire du méningocoque et des autres agents étiologiques des méningites bactériennes à partir des prélèvements de LCR ou de sang ,il peut être utilisé comme milieu de culture,de conservation et de transport .

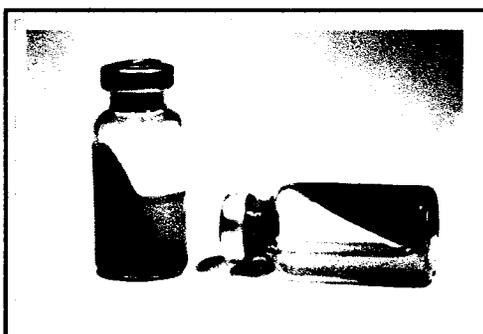


Figure 13: Milieu Trans-isolat (T-I) [20].

Généralement, en cas d'infection, les quelques millilitres de liquide céphalo-rachidien sont envoyés en urgence au laboratoire pour être analysés au microscope.

A l'arrivée au laboratoire, le LCR est centrifugé 20 minutes à 2000 tours par minute. Récupérer le surnageant avec une pipette Pasteur ; il sera utilisé pour la recherche d'antigènes solubles par agglutination de particules de latex sensibilisées. Une à deux gouttes de culot bien mélangé ou passé au Vortex seront utilisées pour préparer une coloration de Gram et une goutte pour ensemercer la primoculture .

Remarque : S'il y a moins de 1 ml de LCR, ne pas centrifuger ; utiliser directement le LCR pour coloration de Gram et l'ensemencement.

V.5.2.1. b Examen macroscopique :[28,29]

Le LCR obtenu à partir de la PL sera apprécié à l'oeil nu. Celui-ci s'écoule goutte à goutte et peut se présenter sous trois aspects principaux : liquide clair, liquide trouble, liquide sanglant.

- **Les liquides clairs :**

Ils sont habituellement décrits comme étant « eau de roche ». Un liquide clair peut être normal, il peut aussi être pathologique .

- **Les liquides troubles :**

Selon l'intensité de l'opacité, ils sont qualifiés « d'opalescents », « troubles » , « très troubles », « eau de riz ».

Un liquide trouble est toujours pathologique et signe dans la plupart des cas, une méningite d'étiologie microbienne est d'évolution aiguë. L'aspect trouble de LCR est directement liée à une hyperleucocytose présente dans le LCR ,ce trouble apparaisse dès la présence de 200 globules blancs par m^3 . Son observation par le médecin (qui pratique la ponction) est donc très importante car elle implique l'instauration immédiate d'un traitement d'antibiotique sans attendre les résultats de l'analyse. Ce traitement pourra être, par la suite, modifié ou adapté en fonction des résultats du laboratoire.

- **Les liquides sanglants**

Deux causes sont possibles : une hémorragie méningée ou la rupture d'un vaisseau au cours du prélèvement.

Après une centrifugation, le surnageant sera jaunâtre s'il y a une hémorragie méningée (du fait de l'ancienneté des globules présents, dont certains sont lysés) ; il restera incolore, par contre, si la présence de sang est due à un incident de prélèvement. L'épreuve des trois tubes fournit les mêmes renseignements : si on recueille le liquide successivement dans trois tubes, seul le premier (parfois le second) sera sanglant, si le sang a été ajouté accidentellement.

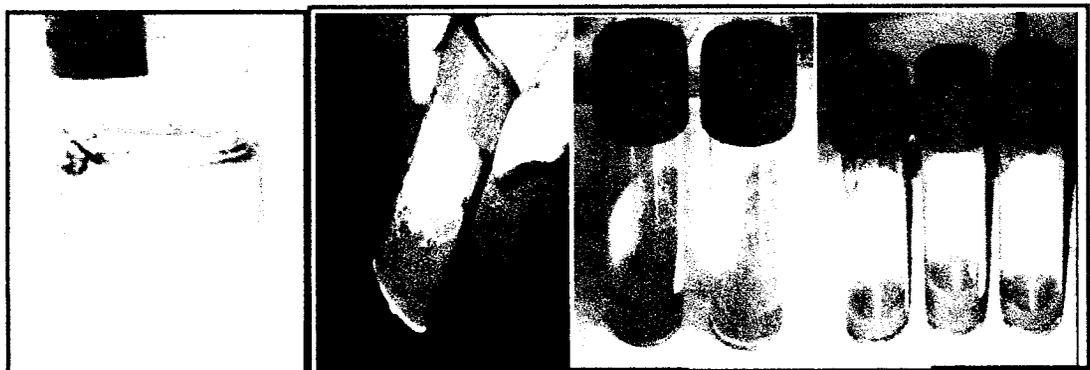


Figure 14 : Différents aspects macroscopiques du LCR:clair,hémorragique, xanthochromique , purulent [29,113].

V.5.2.1.c Examen Microscopique:[14,20, 28,29,30]

- **Examen cytologique :**

Le liquide céphalo-rachidien est examiné entre lame et lamelle pour apprécier la richesse cellulaire. La numération des éléments est réalisée sur cellule de Malassez, Il s'agit de la numération des éléments figurés (leucocytes et hématies) présents dans le LCR et le résultat est exprimé en éléments par mm³, ils peuvent être comptés à la cellule de Nageotte (il faut compter le nombre des éléments de 8 bandes verticales et diviser par 10). A l'état normal, le LCR a moins de 5 éléments / mm³(Le LCR du nouveau-né peut contenir de 10 à 30 éléments / mm³ dont 50% de polynucléaires). Un liquide trouble correspond toujours à un excès important d'éléments.si la cytologie est positive (supérieur à la valeur normale) ,Une formule leucocytaire doit être effectuée (non réalisable si moins de 10 éléments/mm³) sera effectué après centrifugation dans des tubes coniques stériles,et après coloration de May-Grünwald-Giemsa ou éosine-bleu de méthylène. Une large prédominance de polynucléaires est généralement observée dans les méningites bactériennes alors qu'elle est lymphocytaire dans les méningites virales,tuberculose. Dans les deux cas Une coloration de Gram sur le culot de centrifugation du LCR doit être effectuée. Celle-ci augmente les performances de l'examen. Ces performances dépendent de la densité bactérienne, elle-même variable selon l'espèce en cause et la durée d'évolution de la méningite.

- **Coloration de Gram :**

La coloration de Gram permet la mise en évidence des bactéries dans le LCR : elle met en évidence des diplocoques à gram négatif et doit être réalisé sur un LCR fraîchement recueilli (le temps entre le recueil du LCR et l'examen direct doit être < à 2 heures) et bien conservé. Il permet ainsi après coloration de Gram d'observer la bactérie en cause et ses caractères morphologiques.

Cette examen peut être négative dans les méningites décapitées ou encore lorsque la bactérie n'est pas viable (LCR mal conservé ou prélèvement sous antibiothérapie).Cet examen direct constitue une étape capitale, obligatoire de l'analyse du LCR. En effet, il présente une sensibilité et un pouvoir de présomption très grand, il est positif dans 60-90 % des cas en l'absence de toute antibiothérapie préalable.

Il s'agit d'un examen microscopique de frottis du LCR réalisé sans (si LCR franchement purulent) ou avec centrifugation (LCR louche à clair), coloré au gram ou au bleu de méthylène :

- ❖ **Le mode d'examen :**

- (a) Centrifuger le LCR pendant 20 minutes à 2000 tours par minute.
- (b) Préparer un frottis avec 1 ou 2 gouttes de culot déposées sur une lame, préalablement rincée à l'alcool et séchée. Laisser la goutte s'étaler seule sans faire de frottis et ne pas utiliser un sédiment trop concentré.
- (c) Sécher la lame à l'air, dans une enceinte de sécurité biologique, si possible.

- (d) Passer rapidement la lame à la flamme à trois reprises pour fixer le frottis. Mais ne pas l'exposer à la flamme avant qu'elle soit sèche. On peut aussi fixer par le méthanol (95%-100%).
- (e) Recouvrir le frottis avec la solution violet cristal-oxalate d'ammonium pendant 1 minute.
- (f) Rincer délicatement à l'eau du robinet. Faire égoutter pour enlever l'excès d'eau.
- (g) Recouvrir le frottis avec la solution de Lugol pendant 1 minute.
- (h) Rincer délicatement à l'eau du robinet et égoutter.
- (i) Différencier à l'alcool éthylique à 95% (5 à 10 secondes suffisent parfois).
- (j) Colorer le fond à la safranine pendant 20-30 secondes ou à la fuchsine phéniquée pendant 10-15 secondes.
- (k) Rincer la lame sous le robinet, et sécher au buvard.
- (l) Examiner le frottis au microscope à l'objectif à immersion, en utilisant un condenseur donnant une bonne luminosité. *N. meningitidis* est présent dans les polynucléaires et a l'aspect de diplocoque à Gram négatif en grains de café, intra ou extra-cellulaires.

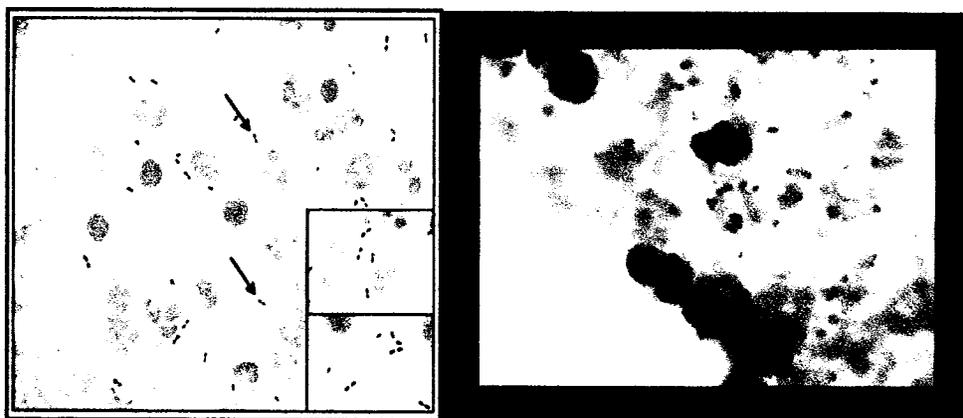


Figure 15: Examen bactériologique direct du LCR après coloration de Gram du *N meningitidis*, *Neisseria meningitidis* dans un LCR Bleu de méthylène x1000 [20,37].

V.5.2.1. d Culture bactérienne [19,20] :

Sur milieux appropriés, la culture permet la pousse du germe responsable. Le choix du milieu est fonction du germe soupçonné et identifié par ses caractères morphologiques à l'examen direct. On peut alors faire un isolement puis une identification complète à partir des caractères cultureux, biochimiques et/ou antigéniques. Elle peut être négative lorsque la méningite est "décapitée" ou encore lorsque le germe n'est pas viable (LCR mal conservé ou prélèvement sous antibiothérapie). La culture permet non seulement l'identification mais aussi la confection d'antibiogrammes à partir de souches pures isolées.

Le LCR est rapidement ensemencé sur un milieu de culture adapté. La culture se fait en général sur gélose chocolat.

N. meningitidis pousse sur gélose du sang et gélose chocolat, comme *S. pneumoniae*. Si un seul milieu de culture doit être employé, préférer la gélose chocolat enrichie parce que les

trois bactéries y cultivent. Une anse bactériologique est utilisée pour ensemer en stries et obtenir des colonies isolées.

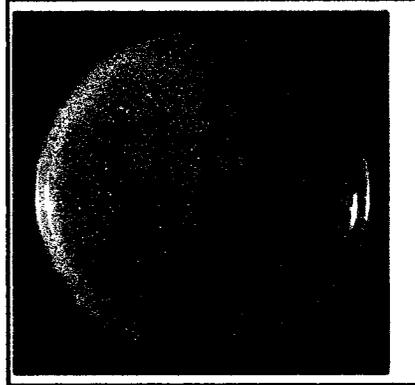


Figure 16 : *N. meningitidis* : ensemencement en stries et aspect des colonies sur gélose au sang [20].

Les boîtes de gélose sont incubées dans un incubateur sous atmosphère contenant 5% de CO₂ ou une cloche à bougie. Un bouillon cœur-cerveille BHIB sera aussi inoculé avec une partie du culot puis incubé et conservé en réserve.

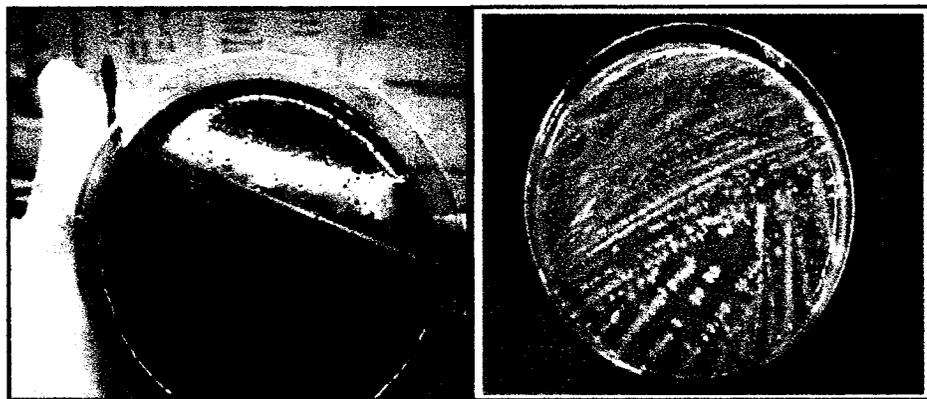


Figure 17: Photos du repiquage des *N.m* sur GC+PVX [31].

Si l'on a employé un milieu T-I pour le transport, après 24 heures d'incubation, transférer 100 µl de la phase liquide avec une aiguille et une seringue stériles sur gélose au sang et gélose chocolat, et ensemer en stries pour obtenir des colonies isolées

L'identification des germes se fait grâce à des caractères morphologiques: les colonies se présentent sous forme de colonies grisâtres, lisses, à bords réguliers et d'un diamètre de 1 à 2 mm.

La mise en culture sera effectuée et de la façon suivante :

- Les milieux de culture utilisés sont : Gélose chocolat + PVX ;
- Sécher les milieux dans l'étuve pendant 30 mn ;
- Inscrire le numéro de l'échantillon sur la boîte du milieu à ensemer ;
- Déposer une à deux gouttes de LCR non centrifugé provenant du tube stérile ou du Trans Isolate à la surface de chacun des milieux à ensemer ;
- Ensemencer en cadrant à l'aide d'une anse stérile ;
- Placer les boîtes ensemencées dans une jarre à CO₂ ;
- Incuber le tout à 37°C pendant 18 à 24 heures ;

La culture est positive sur la gélose chocolat et sur la gélose au sang après 24 heures d'incubation.

Milieu T-I: Après 24 heures d'incubation

- (a) porter 100 µl de liquide du milieu T-I sur gélose au sang et gélose chocolat au moyen d'une seringue et d'une aiguille stériles, ensemer en stries et incuber jusqu'à 48 heures à 35 °C sous atmosphère de CO₂.
- (b) Vérifier la pureté de la culture avec une coloration de Gram.
- (c) En l'absence de développement, repiquer à partir du milieu T-I aux jours 3 et 7.

V.5.2.1. e Test d'agglutination au latex sensibilisé [20,28] :

On trouve dans le commerce plusieurs coffrets de matériel prêts à l'emploi. Suivre exactement les recommandations du fabricant. Nous donnons ici des recommandations et des instructions générales pour la recherche des antigènes bactériens solubles. Si l'on veut de bons résultats, il faut examiner dès que possible le surnageant du LCR centrifugé. Si la recherche doit être différée, l'échantillon peut être réfrigéré (entre 2 °C et 8 °C) pour quelques heures, ou congelé à -20 °C pour plus longtemps. Les réactifs seront conservés au réfrigérateur entre 2 °C et 8 °C lorsqu'ils ne sont pas utilisés. Les produits se détériorent rapidement à la chaleur, et tout particulièrement sous les climats tropicaux ; les résultats des tests ne sont alors plus fiables avant même la date d'expiration du matériel. Les suspensions de particules de latex ne doivent jamais être congelées.

Réalisation du test :

- (a) Chauffer le surnageant du LCR à l'eau bouillante pendant 5 minutes.
- (b) Bien homogénéiser la suspension de particules de latex.
- (c) Déposer une goutte de chacune des suspensions à l'intérieur des cercles prévus à cet effet sur une lame de verre ou une carte jetable.
- (d) Ajouter 30-50 µl de LCR à chacune des suspensions.
- (e) Imprimer à la carte un léger mouvement de rotation pendant 2-10 minutes, à la main de préférence ou avec un agitateur mécanique (100 rotations par minute).

Lecture des résultats :

Lire avec un bon éclairage sans grossissement.

- ✓ Réaction négative : la suspension reste homogène et légèrement opalescente.
- ✓ Réaction positive : apparition d'une agglutination (ou d'une agrégation) des particules de latex en moins de 2 minutes.

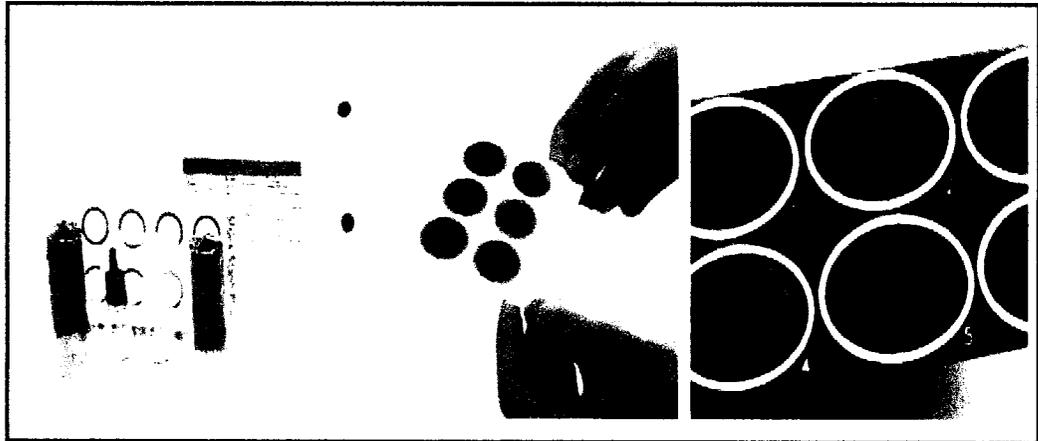


Figure 18 : test d'agglutination au latex sensibilisé pour identifier les antigènes solubles du *N. meningitidis* [28].

V.5.2.1.f Analyse biochimique :[28,30]

Trois paramètres sont systématiquement dosés dans le LCR: le glucose, les protéines et les chlorures. Dans le cas d'une méningite à méningocoque on note:

- une hypoglycorachie : glucose < 0,40 g/l (au lieu de 0,45 à 0,80 g/l)
- une hyperprotéinorachie : protéines > 0,80 g/l (au lieu de < 0,60 g/l) . Normalement l'albumine ne dépasse pas 0,25 g/l (elle est augmentée en cas de méningite).
- le dosage des chlorures est normal .

- La glycorachie est le premier paramètre à se normaliser dans la ponction lombaire de contrôle,
- la persistance d'une hypoglycorachie étant de mauvais pronostic, et pouvant témoigner d'une ventriculite. Au cours du traitement, la protéinorachie est plus longue à se normaliser que la glycorachie.

➤ attention ; le dosage est faussé dans le cas d'un prélèvement hémorragique

V.5.2.2 Etude des hémocultures [20] :

Les flacons doivent être transportés dans les 4 heures suivant le prélèvement jusqu'au service de Microbiologie à température ambiante. Examiner ces flacons à hémoculture après 14 à 17 heures d'incubation, puis tous les jours pendant 7 jours. Un trouble ou une hémolyse peuvent être les témoins d'un développement et le repiquage doit être immédiat. En raison de la fragilité de ces trois micro-organismes, et quel que soit l'aspect des hémocultures, des repiquages seront réalisés systématiquement après 14 à 17 heures d'incubation, puis au bout de 48 heures et enfin au jour 7. En effet, l'absence de trouble n'est pas toujours corrélée à l'absence de développement bactérien.

Avant de repiquer, agiter le flacon en tournant pour mélanger le contenu.

Désinfecter la surface du bouchon à l'alcool et à la polyvidone iodée, aspirer un petit volume (0,5 ml) avec une seringue et une aiguille et ensemercer la gélose. On repique habituellement sur gélose au sang et gélose chocolat. Si on utilise qu'un seul milieu on prendra la gélose chocolat car, contrairement à la gélose sang, ce milieu contient les facteurs nécessaires à la pousse de *H. influenzae*. Les géloses seront ensemençées en stries et incubées jusqu'à 48 heures sous CO₂. Une fois la pousse de l'hémoculture confirmée par repiquage, il n'est plus nécessaire de poursuivre son incubation. Le flacon sera éliminé conformément aux normes de sécurité.

V.5.2.3 Examen macroscopique des colonies [20] :

N. meningitidis cultive sur gélose au sang, contrairement à *H. influenzae*. L'aspect des cultures de *H. influenzae* et de *N. meningitidis* sur gélose chocolat est comparable ; la distinction est toutefois possible car *H. influenzae* produit de l'indole qui a une odeur âcre particulière, ce que ne fait pas *N. meningitidis*. Les colonies de *H. influenzae* sont grandes, plates, opaques, incolores à grises, sans hémolyse ni changement de coloration du milieu. Sur gélose au sang, les jeunes colonies de *N. meningitidis* sont rondes, lisses, humides, luisantes et bombées à bord net. Quelques colonies sont coalescentes. Non pigmentées ou de couleur grisâtre, en vieillissant les colonies deviennent gris opaques et font parfois virer au brun la gélose alentour. Les colonies bien séparées peuvent passer d'un diamètre de 1 mm en 18 heures jusqu'à 4 mm à bord festonné après plusieurs jours .

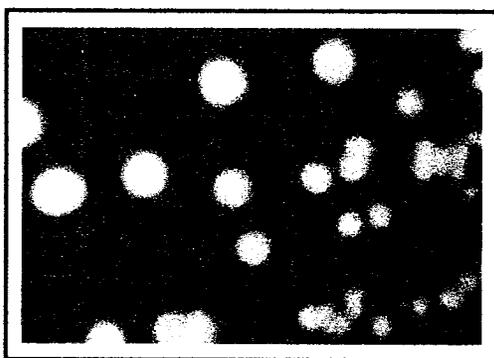


Figure 19 : Colonies de *N. meningitidis* rondes, humides, luisantes et bombées sur gélose au sang après une nuit d'incubation [20].

V.5.2.4 Identification de *Neisseria meningitidis* : [20,31]

Pour identifier les colonies qui morphologiquement ressemblent à *N. meningitidis* on suit la démarche indiquée à la **Figure 25**. On obtient de bons résultats avec des cultures de 18-24 heures. Toujours vérifier la pureté de la culture par une coloration de Gram. Au Gram les

méningocoques se présentent comme des diplocoques négatifs ressemblant à des grains de café. Faire si nécessaire des repiquages pour obtenir une culture pure.

La recherche de l'oxydase se fait à partir des colonies obtenues sur gélose au sang par le test de Kovac ; on procède ensuite au sérogroupage. Pour finir confirmer les résultats par l'utilisation des glucides.

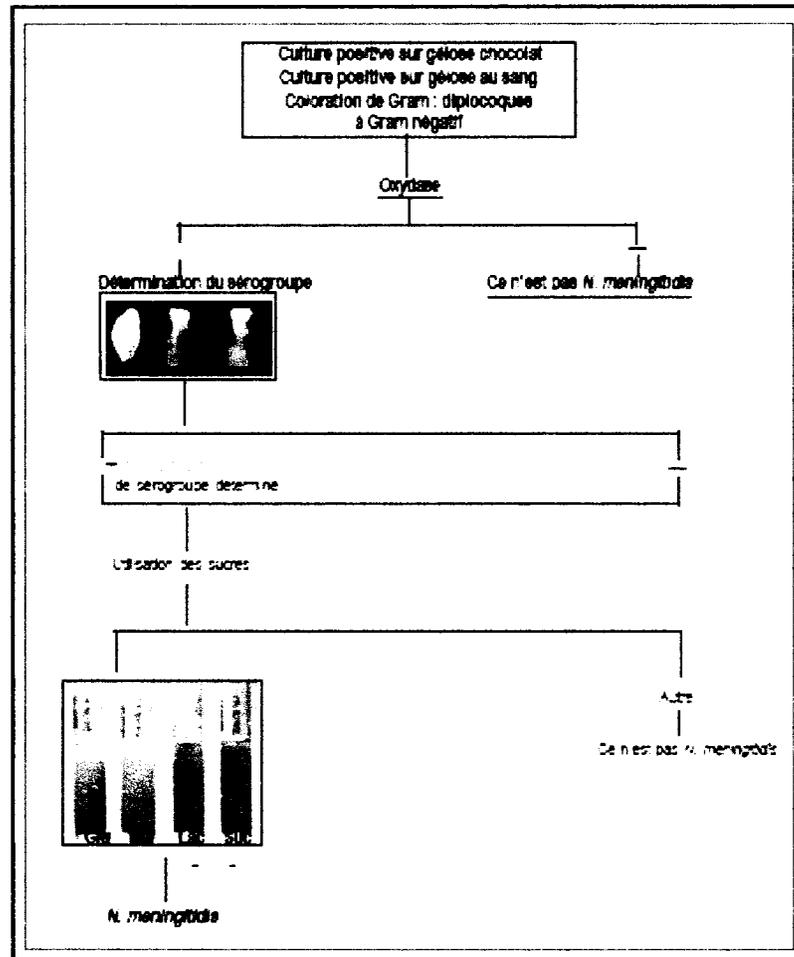


Figure 20: Identification de *N. meningitidis* [20].

❖ Test de l'oxydase de Kovac :

Le test de l'oxydase permet de mettre en évidence une cytochrome oxydase. Le chlorhydrate de tétraméthyl-p-phénylène diamine est oxydé en un composé violet par les bactéries qui possèdent le système cytochrome C dans leur chaîne respiratoire.

-La recherche de l'oxydase sur papier filtre imprégné du réactif de Kovac était positive. La réaction positive était marquée par une coloration violette du papier oxydase .

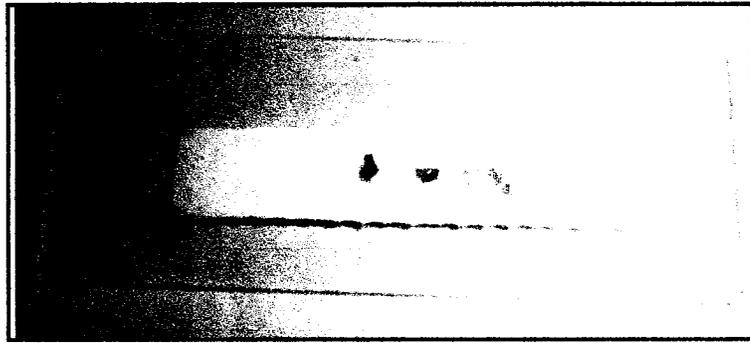


Figure 21 : Photo du test d'oxydase de *N.meningitidis* [31].

- **Remarque :**

Le réactif de l'oxydase ne doit être utilisé que pour des tests in vitro. Eviter le contact avec les yeux ou la peau, susceptible de provoquer des irritations. En cas de contact, rincer immédiatement et abondamment les yeux ou la peau à l'eau pendant au moins 15 minutes.

- **Réalisation du test :**

A l'aide d'une anse de platine, d'une anse jetable en plastique ou un bâtonnet de bois, prélever un fragment de la colonie et l'étaler sur une bandelette de papier filtre imprégné. Ne pas utiliser d'anse de Nickrome qui peut donner un faux positif.

- **Lecture des résultats** : Une coloration violette qui apparaît dans les 10 secondes indique une réaction positive. Des réactions plus tardives peu probable avec *N. meningitidis*. Ce test, utile pour identifier *N. meningitidis*, peut aussi être positif avec d'autres espèces du genre *Neisseria*, ainsi qu'avec d'autres espèces bactériennes non apparentées.

- ❖ **Test de catalase**

La recherche de la catalase était positive pour *N. meningitidis* et s'était traduite par la production de bulles d'air lorsqu'une goutte d'eau oxygénée (H₂O₂) se mélange aux colonies de ce germe.

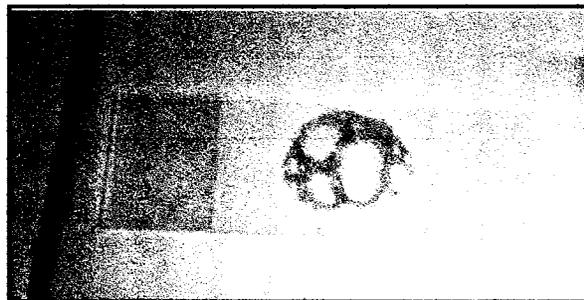


Figure 22 : Photo du test de catalase de *N. meningitidis* [31].

❖ **L'ONPG :**

La recherche de l'hydrolyse de l'ONPG impérative pour distinguer *N.meningitidis* de *N.lactamica* ; on fera une suspension dense en eau distillée à laquelle on ajoutera un disque d'ONPG . le résultat est positif (apparition d'une coloration jaune en quelques minutes pour *N. lactamica*) [14].

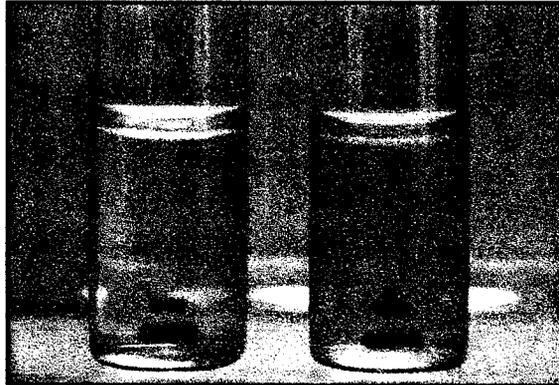


Figure 23 : test de l'ONPG [32].

❖ **La gamma glutamyl transférase (GGT) :**

Le réactif pour le dosage de GGT, incolore, est distribué à raison de 0,5ml par tube .une suspension bactérienne dense est réalisée directement dans le réactif : l'ensemble est placé au bain-marie ou à l'étuve à 35° , une coloration jaune intense apparaît en quelques heures . C'est une réaction facile et utile, elle est toujours positive avec le méningocoque . Cette enzyme peut également être recherchée en utilisant des disques imprégnés d'un substrat spécifique . les disques sont plongés dans une suspension dense, en eau physiologique , de la souche à étudier ; une coloration jaune indique la présence d'une GGT [14].

❖ **Nitrates et nitrites :**

La recherche d'une activité des Neisseria sur les nitrates et les nitrites permet de distinguer *N.meningitidis* de *N.mucosa* [14].

❖ **Utilisation des glucides par *N. meningitidis*. Méthode sur gélose CTA : [20]**

L'étude de l'utilisation des glucides sert à valider l'identification d'une souche de *N. meningitidis*. Différents sucres sont ajoutés à une base gélosée CTA (cystine-trypticase agar) pour obtenir une concentration finale de 1%. Pour confirmer l'identification de *N. meningitidis* on utilise une série de 4 tubes dont chacun contient un sucre (glucose, maltose, lactose et saccharose). Les bactéries du genre *Neisseria* produisent un acide par oxydation des sucres, et non par fermentation. *N. meningitidis* oxyde le glucose et le maltose, mais pas le lactose ni le saccharose. Un indicateur coloré, le rouge de phénol est inclus dans le

milieu ; c'est un indicateur sensible qui donne une couleur jaune à pH acide, inférieur ou égal à 6,8.

- **Réalisation du test :**

(a) A l'aide d'un fil droit, prélever une petite parcelle d'une colonie dans une culture de 18-24 heures sur gélose au sang ou gélose chocolat.

(b) Inoculer par piqûre à plusieurs reprises les 10 mm supérieurs du milieu. Utiliser un fil différent ou flamber le fil avant de changer de milieu.

(c) Bien fermer les tubes et les placer dans un incubateur à 35 °C (sans CO₂). Incuber au moins 72 heures avant de conclure à la négativité.

- **Lecture des résultats :**

L'apparition d'un trouble et d'une coloration jaune visibles dans la partie supérieure du milieu sont le signe d'un développement et de la production d'acide, interprétés comme un résultat positif. Bien que des réactions puissent survenir en 24 heures, d'autres sont plus tardives, et un résultat négatif ne doit pas être rendu avant 72 heures d'incubation .

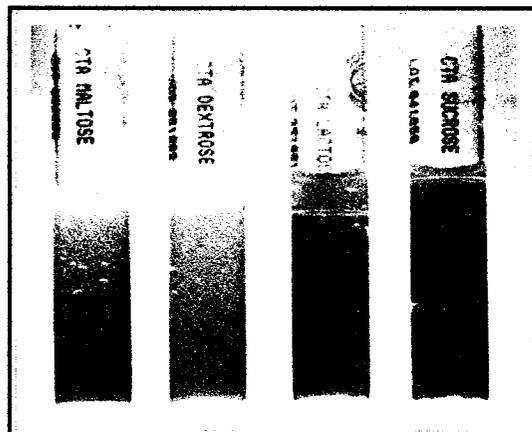


Figure 24 : Les réactions d'acidification à partir des glucides en gélose cystine-trypticase (CTA) permettent de différencier *N. meningitidis* des autres *Neisseria* spp.

La production d'acide (couleur jaune) montre l'utilisation oxydative du glucose et du maltose et l'absence d'hydrolyse du lactose et du saccharose [20].

❖ **La galerie API NH :**

Une galerie API NH (Bio-MERIEUX, France) a été réalisée avec une suspension des colonies dans de l'eau physiologique stérile et d'opacité 4 MacFarland. Après 18-24 heures d'incubation, les souches identifiées *N. meningitidis* étaient glucose +, maltose+, lactose –, saccharose –, ONPG – et gamma-GT+

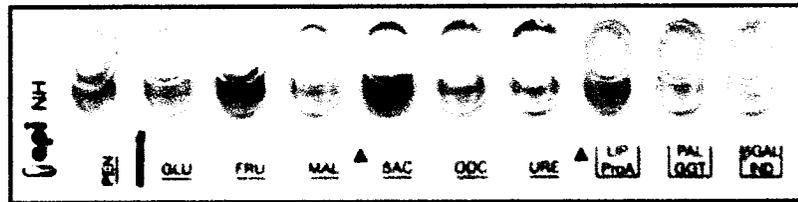


Figure 25 : Photo de la Galerie API NH d'identification de *N.meningitidis* [31].

❖ **Identification du sérotype de *N. meningitidis* :**

On connaît actuellement douze sérotypes, définis par leurs polysaccharides capsulaires : A, B, C, H, I, K, L, W135, X, Y, Z, et Z' (29E).

• **Remarque :**

Le sérotype D a été abandonné. A, B, C, W135 et Y sont les sérotypes les plus fréquemment isolés au cours des méningites à méningocoque. Le sérotype A est la cause la plus fréquente des épidémies en Afrique et en Asie suivi du sérotype C. Les immunsérums pour la détermination des groupes de *N. meningitidis* sont disponibles dans le commerce.

• **Réalisation du test :**

(a) Nettoyer une lame à l'alcool. Diviser la lame en trois zones de 10 x 4 mm à l'aide d'un crayon gras ou autre marqueur.

(b) Porter 10 µl de formol à 0,5% salé au bas de chacune des trois zones.

Prélever un fragment de colonie à la surface d'une gélose au sang à l'aide d'une anse stérile, d'une aiguille, ou d'un bâtonnet stérile. Emulsionner pour obtenir une suspension légèrement opalescente.

• **Remarque :**

Pour des raisons de sécurité, on recommande l'utilisation de suspensions de méningocoques tués par le formol plutôt que des suspensions de germes vivants en solution saline. Le formol étant cancérigène, il doit être conservé et manipulé avec précautions. Travailler sous une hotte.

(c) En haut de chacune des trois zones de la lame, ajouter 10 µl de chacun des immunsérums choisis dans 2 des zones et 10 µl de solution saline ou de PBS (non formolé) dans la troisième pour servir de témoin.

• **Remarque :**

En Afrique, l'utilisation des immunsérums anti-A et anti-C et d'un témoin constitué par le solution saline pour détecter une autoagglutination non spécifique doit permettre de grouper la plupart des isolats. Les souches ne réagissant pas avec les immunsérums anti-A et anti-C seront testées avec les autres anti sérums disponibles, en particulier anti-Y, anti-W et anti B.

(d) Mélanger chacun des antisérums et le solution saline avec la suspension à tester, imprimer à la lame un mouvement de balancier pendant 1 à 2 minutes (le temps peut varier

en fonction du fournisseur de l'antisérum). Lire sous un bon éclairage et au-dessus d'un fond noir.

- **Lecture des résultats :**

L'agglutination doit se produire avec un seul des immunosérums et pas avec le soluté salin . L'agglutination en soluté salin caractérise les souches autoagglutinables. L'agglutination avec plusieurs immunosérums en l'absence d'agglutination avec le soluté salin caractérise les cultures "rugueuses" ou polyagglutinables. L'absence d'agglutination avec l'un ou l'autre des immunosérums et avec le soluté salin caractérise une souche non groupable. Ces résultats sont rares avec isollements fraîchement obtenus du LCR ou du sang, mais peuvent se voir occasionnellement. Conserver les immunosérums et le soluté salin PBS au réfrigérateur à 4°C quand il ne sont pas utilisés.

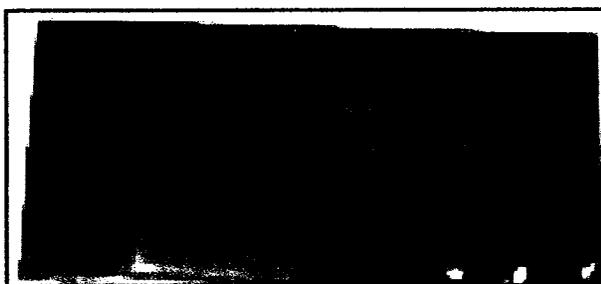


Figure 26 : Photo du résultat du test de sérogroupage[31].

Sérotypage et sous-typage :

Les sérotypes des méningocoques sont définis par des différences d'immunospecificités des protéines de membranes externes : cinq protéines de membrane externes sont décrites , les protéines de 2 et 3 sont le support des sérotypes, la protéine 1 de sous types.

Les sérotypes de méningocoques sont désignés par des nombres quelquefois associés à des lettres minuscules : 1,2a,2b ,4 ,14 ,15,16,.....

La technique de mise en évidence est réalisable avec des anticorps monoclonaux , soit par technique d'immunoblot ou bien par technique immunoenzymatique.

Sérotype , type et sous type donnent la formule antigénique d'un méningocoque.

Exemple : A :4 :P1.9, signifie, souche de méningocoque de groupe A de type 4 et de sous type P1.9. [14].

V.6 Principales méthodes d'étude de biologie moléculaire appliquées à *N.meningidis*

V.6.1 Detecion par PCR : 31

Définition

La PCR est une technique rapide de biologie moléculaire permettant d'obtenir d'un échantillon complexe et peu abondant, de l'ADN en quantité suffisante. Cette méthode utilise le principe de l'amplification in vitro de séquences d'ADN définies. En quelques heures, on peut obtenir jusqu'à un million de copies d'une séquence d'ADN spécifique.

Une enzyme thermostable appelée « Taq polymérase » a le rôle d'obtenir un brin complémentaire d'ADN grâce à sa capacité de ne pas se dénaturer lorsque les températures sont élevées.

-Cette technique met en évidence l'ADN de *Neisseria meningitidis* et permet un diagnostic fiable, rapide et spécifique des IIM, notamment dans les formes cliniques atypiques ou décapitées par antibiotiques. Elle est réalisable à l'institut Pasteur d'Alger en cas de culture négative, ou lorsque le sérotype était difficilement identifiable afin de confirmer la positivité des tests préalables.

-Pour garantir la qualité de réalisation et d'interprétation des résultats, la PCR doit être réalisée précocement. :

✓ dans le sang (Sang total (EDTA) 1 mL) et dans le LCR : (200 µl si possible) jusqu'à 24 heures après l'instauration de la C3G ;

✓ dans la biopsie cutanée (tube sec stérile ou liquide de broyat) dans les 5-6 jours après l'instauration de la C3G.

➤ Il est rappelé qu'un résultat négatif de PCR n'exclut pas le méningocoque.

On distingue deux types de réaction en chaîne par la polymérase, principalement : la PCR conventionnelle et la PCR en temps réel.

❖ La PCR conventionnelle :

est une technique qui est utilisée pour amplifier un acide désoxyribonucléique. Elle utilise de l'ADN polymérase d'une bactérie aquatique thermophile pour sa réaction (synthèse des amplicons). Après l'amplification, la détection des amplicons se fait par l'électrophorèse (technique qui sépare l'ADN selon son poids moléculaire. Sur gel d'agarose, les acides nucléiques migrent dans un champ électrique. Les amplicons sont révélés par un agent intercalant fluorescent appelé « bromure d'éthidium »).

❖ La PCR en temps réel (rtPCR) :

combine l'amplification et la détection simultanée des produits amplifiés. Le principe de cette technique est fondé sur la détection et la mesure d'un signal fluorescent émise lors de l'hydrolyse de la sonde Taqman (sonde spécifique portant des fluorophores) par l'enzyme Taq polymérase qui catalyse la prolongation des amorces. Quand l'enzyme atteint la région où la sonde est liée, l'activité de l'exo nucléase 5' de la polymérase d'ADN fend la sonde et libère le donneur de l'accepteur ainsi il se produit une émission de fluorescence. L'intensité d'émission est proportionnelle au nombre de copies synthétisées pendant la PCR.

❖ Les Etapes de la PCR :

Les tubes contenant le MasterMix (L'ADN polymérase ; Les amorces ; Les désoxyribonucléotides ; MgCl₂, un tampon) ainsi que l'ADN à amplifier, sont mis dans un thermocycler, Ces tubes subissent alors des variations de températures définissant les trois étapes principales de cette méthode :

- **La dénaturation** : à une température élevée de 95°C, les liaisons hydrogènes maintenant les brins d'ADN ensemble sont rompues. A la fin de la dénaturation, on obtient alors deux simples brins d'ADN.
- **L'hybridation** : la température s'abaisse entre 45° et 65°C. Les amorces s'hybrident aux brins d'ADN cibles par complémentarité des bases. Après s'être fixées, elles servent de point de départ à la polymérisation du brin complémentaire à l'ADN matrice.
- **L'élongation** : à une température de 72°C, l'ADN polymérase commence à polymériser en ajoutant des désoxyribonucléotides libres. Chaque base est complémentaire à la base correspondante sur le brin matrice. La polymérisation se fait dans le sens 5' 3'.

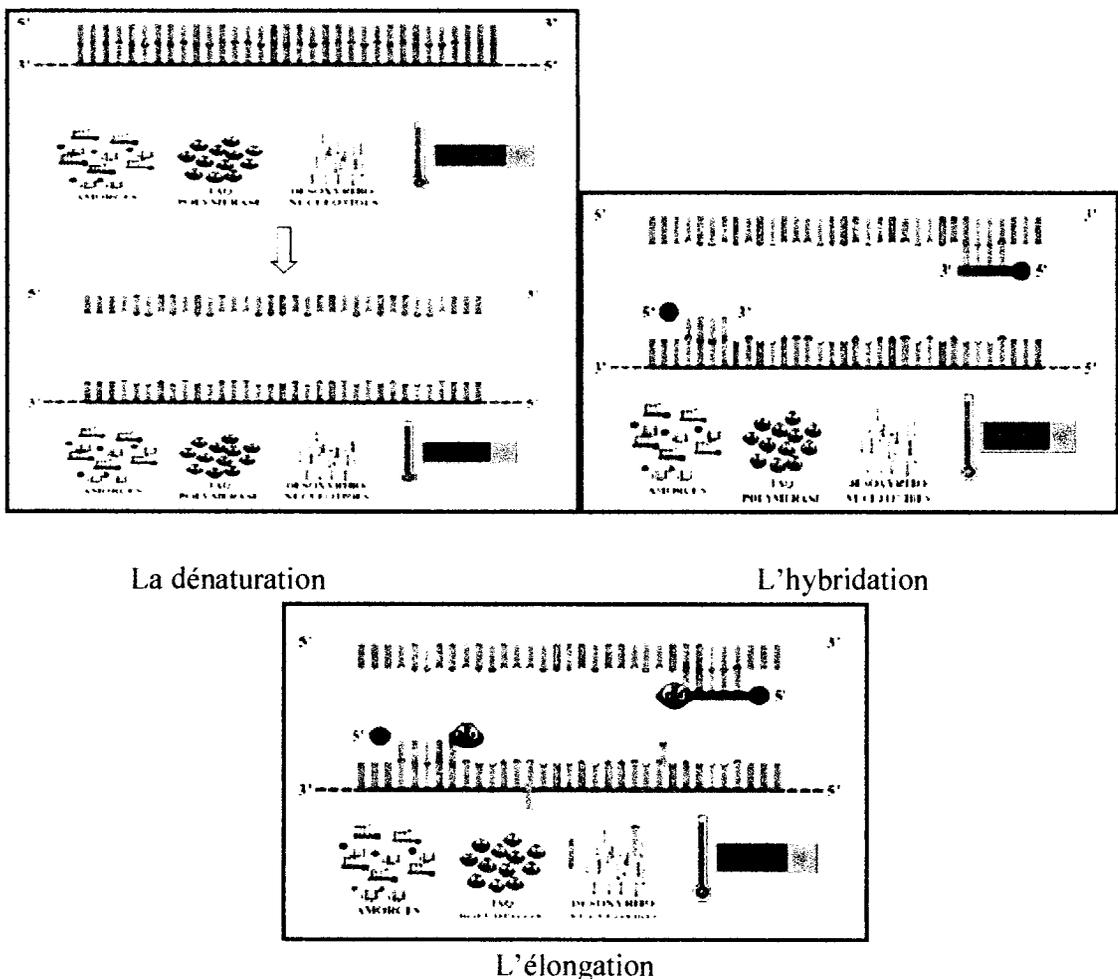


Figure 27 : Etapes de la PCR [19]

Les nouveaux brins synthétisés lors de chaque cycle servent à leur tour de matrice pour le cycle suivant. Ces trois étapes se répètent alors en boucle dans le but d'obtenir environ un million de copies d'ADN. En théorie, la quantité de séquences double à chaque cycle, donc le taux d'amplification est de 2^n . L'amplification est donc exponentielle.

Le fait que la séquence cible soit supérieure au reste du génome, la rend facilement manipulable et analysable. L'appareil va effectuer entre 30 et 50 cycles. Chaque cycle dure quelques minutes.

Systèmes de détection des séquences amplifiées

Il existe plusieurs méthodes pour détecter les séquences amplifiées.

- **Electrophorèse**

Cette technique sépare l'ADN selon son poids moléculaire. Sur gel d'agarose, les acides nucléiques migrent dans un champ électrique. Les amplicons sont révélés par un agent intercalant fluorescent appelé « bromure d'éthidium ». C'est un marqueur des acides nucléiques. Utilisant un appareil aux rayonnements ultraviolets, les bandes de migration sont alors visualisées et analysées.

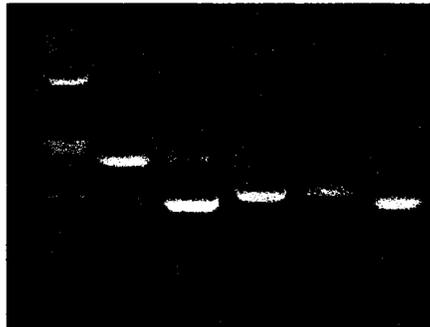


Figure 28 : Bandes de migration d'une électrophorèse[19]

- **La PCR en temps réel**

La PCR en temps réel est la méthode recommandée . La formation de produits PCR est suivie en temps réel. En effet, il n'y a plus besoin de l'analyser par électrophorèse. Les amplicons sont détectés soit par une substance émettant de la fluorescence (SYBR Green), soit par des sondes spécifiques portant des fluorophores (TaqMan, FRET).

- **Matériel :**

→ Sondes d'hydrolyse Taqman™ *Neisseria meningitidis* (NmProb : 75 nM)

FAM-CATTGCCACGTGTCAGCTGCACAT-TAMRA (Microsynth)

→ Amorces/Primers (concentration : 300 nM chacune) :

- Nm1 : GCTGCGGTAGGTGGTTCAA

- Nm2 : TTGTCGCGGATTTGCAACTA

- **❖ Extraction de l'ADN**

L'extraction se déroule en deux étapes :

- 1. La lyse**

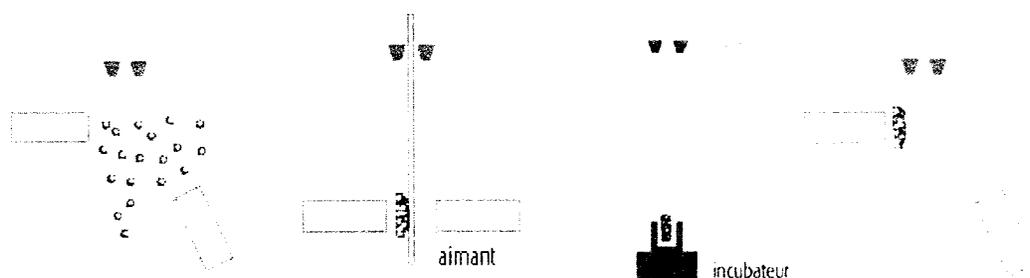
Tout d'abord, l'échantillon est mélangé avec un tampon contenant un agent chaotrope. Cet agent détruit la structure spatiale dans les macromolécules telles que les protéines, l'ADN et l'ARN. Ensuite, tous les organismes présents dans l'échantillon clinique sont lysés ce qui libère les acides nucléiques. Cette étape dure environ une dizaine de minutes.

- 2. L'extraction**

Cette étape dure environ 40 minutes.

- Avant d'initier le programme d'extraction de l'appareil, on ajoute un mélange de particules magnétiques de silice. Les acides nucléiques sont capturés par ces particules magnétiques (A).

- Un système d'aimantation attire les billes magnétiques au fond de la cupule durant les nombreux lavages du complexe par les deux tampons (B).
- Lors de l'élution, les acides nucléiques sont séparés des particules de silice et sont concentrés en un volume final que l'utilisateur spécifie. Ce processus peut être accéléré si l'on expose les billes à une température élevée (C).
- Pour finir, les billes magnétiques sont séparées de la solution d'élution finale à l'aide du système aimanté (D) [19,31,33]



(A) incubation (B) purification (C) Elution (D) Elimination de silice

Figure 29 : les étapes de l'extraction d'ADN [19]

❖ Procédures d'envoi à l' institut pasteur des méningocoques :

Les prélèvements positifs par PCR pour le méningocoque ainsi que les souches isolées par culture sont systématiquement envoyées au IP.

V.6.2 Multi Locus Sequence Typing (MLST) ou ST

En effet, l'étude des sérogroupes, sérotypes et sous types se sont avérés insuffisants (peu discriminants) pour caractériser génétiquement le suivi de la circulation des souches de *N.meningitidis*

La technique de Multi Locus Sequence Typing (MLST) ou ST (sequence type) est une technique qui permet de comparer les résultats provenant de différentes origines (plusieurs laboratoires différents).

Le principe : après étude des gènes ciblés de *N.meningitidis* par la PCR , un séquençage des produits de la PCR amplifiés est effectué ; l'analyse des séquences obtenues permet d'obtenir des complexes clonaux (ST) les plus fréquents. Le travail de recherche du Pr **H.Taali Maamar**, IPA, a permis de déterminer le complexe clonal dominant ST5complex/groupe III, responsable de l'épidémie à *N.meningitidis* de Médéa en 1998. (communication Pr H. Taali Maamar en 2017 rapportée par le Pr.R. Belouni)

V.6.3 Tests rapides :

V.6.3.1 l'électro-immunodiffusion[14] :

Certains antigènes bactériens, généralement des polysaccharides, peuvent être libérés dans les produits pathologiques. Seuls, bien entendu, les plus superficiels d'entre eux (capsule, couche la plus externe de la paroi) pourront se détacher de la bactérie qui les porte.

On leur donne le nom d'exo-antigènes. Leur mise en évidence dans le surnageant d'un produit pathologique (ou dans le sérum) équivaut à l'isolement du germe. Les trois espèces bactériennes les plus fréquentes dans les méningites de l'enfant possèdent des exopolysaccharides et ces polysaccharides sont de plus très électronégatifs . Leur mise en évidence est donc possible par une réaction d'électro-immunodiffusion (encore appelé électrosynérèse).

- **Technique et lecture :**

Une plaque d'agarose est perforée à l'aide d'un emporte-pièce, de façon à obtenir des paires de trous distants de 2.5mm .Le surnageant du liquide céphalorachidien est placé dans les trous côté anode. Pour chaque produit, on essaie l'antisérum *S. pneumoniae* total (éventuellement les pools de A à I), les antisérums *H. influenzae* total , *H. influenzae*sérotypes a, b, et *N. meningitidis* A, B, C.

On fait migrer pendant 40 mn sous une d.d.p de 10 volts/cm : les anticorps peu électronégatifs sont entraînés par le courant d'endosmose vers la cathode tandis que les exoantigènes migrent vers l'anode. Leur rencontre se matérialise par un arc de précipitation lorsque antigène et sérum de même spécificité sont en contact [14].

V.6.3.2 TDR de la méningite cérébrospinale à méningocoques (MCSm) [34 ,35]

Les tests d'agglutination des particules de latex permettent de rendre les résultats plus rapidement qu'avec la culture, ainsi que de détecter l'agent pathogène chez des patients méningitiques dont certains ont pu être prétraités avec des antibiotiques (méningite décapitée). Mais, ces tests ont pour inconvénient d'être coûteux, de devoir être conservés à + 4°C, d'être d'une durée de conservation limitée et de nécessiter des étapes de préparation du LCR non réalisables dans des structures dénuées d'équipement [34].

Le développement de nouveaux outils pour un diagnostic simple et rapide des méningites à méningocoques, réalisable si possible au lit du malade, est un enjeu majeur de santé publique.

des TDR mis au point par les équipes de Farida Nato à l'Institut Pasteur à Paris et de Suzanne Chanteau au CERMES à Niamey, sont deux bandelettes duplex (A et Y/W) et (C et Y). Ils ont été validés au Niger sur des cultures de méningocoques et sur des liquides céphalo-rachidiens (LCR) de malades. Les résultats sont obtenus en 10 minutes à partir de quelques gouttes de LCR. Leurs spécificité et sensibilité sont excellentes en conditions de laboratoire. Leur validation par les infirmiers, en conditions de terrain dans les dispensaires de brousse est en cours. Ils sont utilisables à 25°C comme à 45°C, température souvent rencontrée pendant la saison de la méningite dans les pays de la ceinture africaine. Autre avantage conséquent par rapport aux tests classiques de diagnostic, leur conservation au réfrigérateur n'est pas obligatoire. Leur impact au bénéfice de la santé publique en Afrique est important, en particulier pour la surveillance microbiologique des épidémies afin de guider le choix du vaccin à utiliser [35].

V.6.3.3 Test rapide pour les IIM X [36] :

Au cours de l'année 2014, le CNRM a 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 ,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.

V.7 Etude de la sensibilité aux antibiotiques :

Elle est déterminée par les techniques de l'antibiogramme et de la CMI qui reste la technique obligatoire et recommandée pour toute souche de *N.m* isolée.

V.7.1 Antibiogramme : [36,37]

- ✓ Milieux de culture : Mueller-Hinton au sang de mouton 5%
- ✓ Inoculum : A partir d'une culture pure de 24 heures sur gélose au sang cuit, préparer une suspension en eau physiologique stérile à 0,9% d'une turbidité équivalente à 0,5 McFarland en tampon, Phosphate Ph 7,2.
- ✓ Méthode d'ensemencement : par ecouvillonnage sur des boîtes de M.H préalablement séchées.
- ✓ Condition d'incubation : 35°C CO₂ (5%) 18-20h. Atmosphère humidifiée
- ✓ Souche de référence
- ✓ Antibiotiques(ATB) à tester : pénicilline G, ampicilline, céfotaxime ou ceftriaxone, spiramycine, chloramphénicol.
confirmer par la détermination des CMI de ces mêmes ATB. *Neisseria meningitidis* est l'une des espèces bactériennes qui a posé le moins de problèmes en ce qui concerne la résistance aux antibiotiques.
- ✓ Il ne faut pas mettre plus de 4 disques par boites, car les diamètres des zones d'inhibition notamment avec les β-lactamines sont très importants, ce qui peut gêner la lecture correcte des autres diamètres.
- ✓ Lecture et interprétation : La mesure du diamètre d'inhibition se fait à l'aide d'un pied à coulisse ; les valeurs retrouvées sont comparées à celles décrites dans le document M100.S24. Vo.34 n°1 CLSI 2014 (Tableau III).

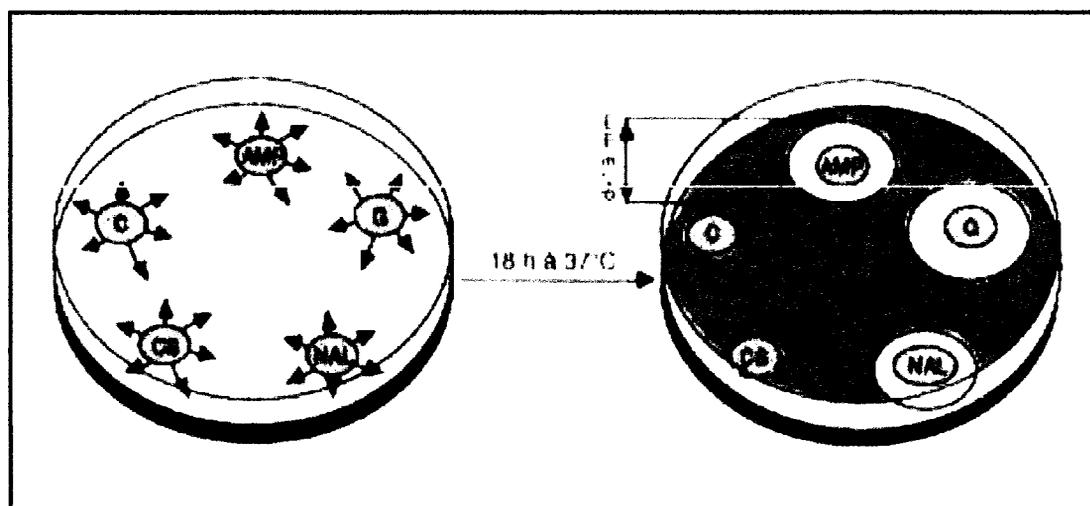


Figure 30: antibiogramme standard [14].

V.7.2 CMI :

La détermination de la CMI des Pénicilline G et Amoxicilline recommandée par le CLSI Se fait par les techniques suivantes: [38] :

- ✓ Dilution en gélose
- ✓ Dilution en milieu liquide

Souche de référence : *S.pneumonie* ATCC 49619 (tableau II)

Détermination de la CMI par E-test® : technique validée par le CLSI et Comité français de l'antibiogramme .

Principe :

Le principe de l'E-test® est basé sur la combinaison des deux concepts : dilution et diffusion. Le système E-test® consiste en une bande en plastique non poreuse calibrée par un gradient pré établi de concentration d'antibiotiques couvrant 15 dilutions pour déterminer la CMI en µg/ml d'une souche testée en milieu gélosé. Le gradient couvre une gamme de concentrations allant de 0,016 à 256 µg/ml ou 0,002 à 32 µg/ml selon l'antibiotique.

Méthodes de réalisation :

Préparation de l'inoculum :

L'inoculum a été préparé en réalisant une suspension de colonies obtenues d'une culture pure de 20 à 24heures dans de l'eau physiologique. La suspension a été calibrée à l'échelle 0.5 Mac Farland.

Ensemencement :

Tecnique avec le Le E-test® Elle est pratiquée sur igélose Mueller Hinton additionnée de 5% de sang frais de mouton et coulée dans des boîtes Pétri avec une épaisseur de 4.mm. Une fois la gélose solidifiée, la boîte a été mise à l'étuve pour avoir une surface bien sèche.

L'ensemencement s'effectué par écouvillonnage, c'est la méthode préconisée par le CLSI: imbiber un écouvillon stérile de la suspension bactérienne et essorer sur le

rebord du tube. Passer l'écouvillon sur toute la surface de la gélose par simple rotation de 120°. S'assurer que toute la boîte est bien ensemencée.

Application des bandes E-test® :

- Sortir le paquet de bandes à utiliser du freezer (-20°C) et le laisser revenir à la température ambiante jusqu'à ce que toute l'humidité s'évapore avant de l'ouvrir.
- Retirer la bande concernée avec une pince par la partie supérieure où il est marqué E.
- Eviter de toucher la zone chargée à la main. - Placer les bandes dans la cassette d'insertion des bandes, chaque puits peut contenir 20 bandes.
- Incuber immédiatement les boîtes à «35°-37°C sous une atmosphère enrichie à 5% de CO2 pendant 20 à 24 heures et en air ambiant.

Ne pas déplacer une bande E-test® une fois déposée sur la gélose car la libération de l'antibiotique est instantanée.

Lecture de la valeur de la CMI L'inhibition de la croissance se traduit par une ellipse. La valeur de la CMI correspond au point d'intersection entre la limite de la zone d'inhibition et la bande d'E-test®. [39]

Cette technique ne donne pas la valeur de la concentration minimale bactéricide qui doit être réalisée selon une autre technique. [40]

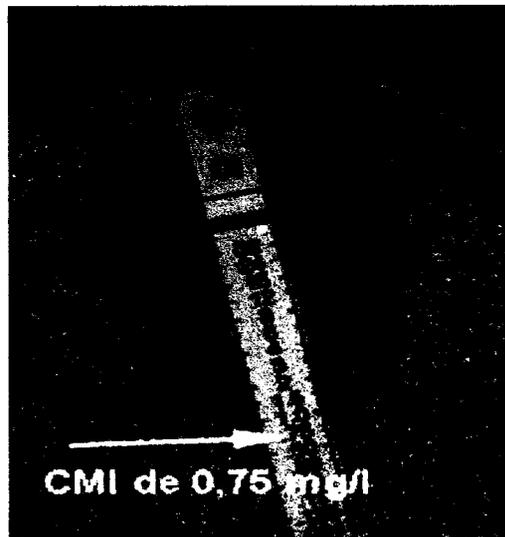


Figure 31 : exemple de E-test [108].

V.7.3 Sensibilité et résistance aux antibiotiques : [7,36,37,41,42]

V.7.3.1 Sensibilités naturelle : Généralement sensible à la plupart des ATB

➤ Résistance naturelle

- Colistine.
- Lincosamines.

- Glycopéptides.
 - Résistance acquises
- Sensibilité diminuée à la PeniG (via mutation des PLP)
- Résistance à l'amoxicilline (peu de souches mutantes et production de β -lactamases TEM)
- Résistance au chloramphénicol
- Résistance aux sulfamides
- Résistance à la Rifampicine (rare) et spiramycine .

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.

Les valeurs critiques des diamètres des zones d'inhibition et des CMI, pour *Neisseria meningitidis* (**Tableau III**)

Tableau II : techniques de détermination de la CMI pour certaines bactéries selon les recommandations du CLSI [38] .

Microorganismes	Antibiotique	Technique recommandée	Milieu	Inoculum	Conditions d'incubation	Souches de référence
<i>Neisseria meningitidis</i>	Pénicilline G Amoxicilline	Dilution en gélose	MHLAC+5% sang de mouton frais défibriné	1 MF Eau physiologique ou PBS spots de 1 µl	20 -24 H 35°C ± 2°C sous 5% CO2 +humidité	S.pneumonie
		Dilution en milieu liquide	MHLAC+2-5% sang de cheval hémolysé	1MF Eau physiologique ou PBS		ATCC 49619

Tableau III : Valeurs critiques des diamètres des zones d'inhibition et des CMI, pour *Neisseria meningitidis* [38]

Antibiotique	Charge du disque	Concentration critiques (mg /l)			Diamètres critiques (mm)			Commentaires
		S	I	R	S	I	R	
Pénicilline G	---	≤ 0.06	0.125-0.25	> 0.5	---	---	---	Ne pas tester de disque de pénicilline ou d'ampicilline pour <i>N.meningitidis</i> Il faut déterminer les CMI de ces 2 molécules.
Ampicilline	---	≤ 0.12	0.25-1	≥ 2	---	---	---	Une B- lactamase (très rare) est recherché par technique chromogénique Interprétation pour l'ampicilline est valable pour l'amoxicilline
Céfotaxime	30ug	≤ 0.12	---	---	≥ 34	---	---	
Céftriaxone	30ug	≤ 0.12	---	---	≥ 34	---	---	
Azithromycine	15ug	≤ 2	---	---	≥ 20	---	---	Peut être appropriée seulement pour la prophylaxie des cas contacts d'infection méningococcique. Ces valeurs critiques ne sont pas applicables pour le traitement des patients avec la maladie méningococcique invasive.
Rifampicine	5ug	≤ 0.5	1	≥ 2	≥ 25	20 - 24	≤ 19	
Chloramphénicol	30ug	≤ 2	4	≥ 8	≥ 26	20 - 25	≤ 19	
Ciprofloxacine	5ug	≤ 0.03	0.06	≥ 0.12	≥ 35	33 - 34	≤ 32	

V.7.3.2 En Algérie

- Durant ces années, Cette bactérie est constamment sensible aux antibiotiques testés notamment les bêta-lactamines et le chloramphénicol. Le laboratoire de référence de l'IPA ne reçoit pas toutes les souches isolées pour confirmation. En effet, seulement 43% des souches sont confirmées.

Tableau IV: Sensibilité et résistance de *Neisseria meningitidis* aux antibiotiques en Algérie 2006-2014 [42] :

Les années	Souches confirmées	Sensibles	Intermédiaires	Résistantes
2006	43%		01 spiramycine	
2007	40,6%		01 pénicilline 01 chloramphénicol	01 chloramphénicol
2008	39		06 pénicilline 02 amoxicilline	01 spiramcine, chloramphénicol, rifampicine
2009	25(02 envoyées et confirmées par IPA)		01 pénicilline	
2010	22(03 envoyées et confirmées par IPA)			01 pénicilline
2011	12 par le laboratoire 10 par IPA		08 sensibilité diminuée à la pénicilline	
2012-2013	12 par le laboratoire 08 par IPA		02 sensibilité diminuée à l'amoxicilline	
2014	04 par le laboratoire 02 par IPA		01 sensibilité diminuée à la pénicilline	

Ces résistances inhabituelles doivent être confirmées par le laboratoire de référence de l'IPA.

Il est à noter cependant que ces souches de sensibilité diminuée aux B-lactamines restent accessibles aux antibiotiques et il n'a été rapporté, jusqu'à présent, aucun échec thérapeutique.

V.7.4 La prise en charge de la méningite à méningocoque [7, 28, 41, 43,44] :

Les méningites purulentes sont des urgences absolues dont le pronostic dépend essentiellement de la mise en route rapide d'une antibiothérapie adéquate.

Tableau V : Traitement de première intention des méningites bactériennes, cas d'un examen direct positif [44] :

Examen direct Positif	Antibiotique	Dosage	Alternatives
Suspicion de méningocoque (cocci Gram -)	Ceftriaxone Ou Céfotaxime	75 mg/kg/j i.v, en 1 ou 2 perfusions	Amoxicilline Thiamphénicol

Tableau VI : traitement présomptif de la méningite bactérienne en situation d'épidémie [44] :

Groupe d'âge	Causes principales	Traitement	Surveillance
<2 mois	<i>S. agalactiae</i> <i>S. pyogenes</i> Entérobactéries	Ceftriaxone 100 mg/kg/jour une fois par jour pendant 7 jours IV/IM possible	Refaire un bilan clinique au bout de 24, 36 et 48 h Evacuer le malade : 1) en cas de coma ou de convulsions répétées 2) s'il n'y a pas d'amélioration au bout de 48 h
2-5 ans	<i>S. pneumoniae</i> <i>H. influenzae</i> <i>N. meningitidis</i>	Ceftriaxone 100 mg/kg dose unique IM Chloramphénicol 100 mg/kg dose unique IM	Surveillance clinique au bout de 24 et 48 h S'il n'y a pas d'amélioration : – au bout de 24 h, administrer une deuxième dose de ceftriaxone de 100 mg/kg /administrer une deuxième dose de 100 mg/kg de CH ou évacuer. – au bout de 48 h, traiter par la

			ceftriaxone pendant 5 jours ou évacuer.
>5-14 ans	<i>N. meningitidis</i> (<i>S. pneumoniae</i>)	Ceftriaxone 100 mg/kg dose unique IM1 Chloramphénicol 100 mg/kg dose unique IM	Surveillance clinique au bout de 24 et 48 h S'il n'y a pas d'amélioration : – au bout de 24 h, administrer une deuxième dose de ceftriaxone de 100 mg/kg /administrer une deuxième dose de 100 mg/kg de CH ou évacuer. – au bout de 48 h, traiter par la ceftriaxone pendant 5 jours ou évacuer
>14 ans	<i>N. meningitidis</i> (<i>S. pneumoniae</i>)	Ceftriaxone 100 mg/kg (maximum 4 g) dose unique IM1. chloramphénicol en suspension huileuse (CH)100 mg/kg (maximum 3 g) dose unique IM.	Surveillance clinique au bout de 24 et 48 h S'il n'y a pas d'amélioration : – au bout de 24 h, administrer une deuxième dose de ceftriaxone de 100 mg/kg ou de 2 g pour un adulte /administrer une deuxième dose de 100 mg/kg (maximum 3 g), ou évacuer – au bout de 48 h, traiter par la ceftriaxone pendant 5 jours ou évacuer.

Tableau VII : traitement présomptif de la méningite bactérienne en Situation non épidémique [44].

Groupe d'age	Cause principales	Traitement	Surveillance
<2 mois	S. agalactiae S. pyogenes Entérobactéries	Ceftriaxone 100 mg/kg/jour une fois par jour pendant 7 jours IV/IM possible ¹	Refaire un bilan clinique au bout de 24, 36 et 48 h Evacuer le malade ² 1) en cas de coma ou de convulsions répétées ³ 2) s'il n'y a pas d'amélioration sous 48 h
2-5 ans	S. pneumoniae H. influenzae <i>N. meningitidis</i>	Ceftriaxone 100 mg/kg/jour une fois par jour pendant 5 jours IM ou IV ¹	Refaire un bilan clinique au bout de 24, 36 et 48 h Evacuer le malade ² 1) en cas de coma ou de convulsions répétées ³ 2) s'il n'y a pas d'amélioration sous 48 h
>5-14 ans	S. pneumoniae <i>N. meningitidis</i>	Ceftriaxone 100 mg/kg/jour (maximum 2 g) une fois par jour pendant 5 jours IM ou IV ¹	Refaire un bilan clinique au bout de 24, 36 et 48 h Evacuer le malade ² 1) en cas de coma ou de convulsions répétées ³ 2) s'il n'y a pas d'amélioration sous 48 h ⁴
>14 ans	S. pneumoniae <i>N. meningitidis</i>	Ceftriaxone 2 g/jour une fois par jour pendant 5 jours IM ou IV ¹	Refaire un bilan clinique au bout de 24, 36 et 48 h Evacuer le malade : 1) en cas de coma ou de convulsions répétées. 2) s'il n'y a pas d'amélioration sous 48 h ⁴

V.8 Conservation des souches identifiées [20] :

V.8.1 conservation de courte durée :

Pour conserver *Neisseria meningitidis* à une courte durée (une semaine ou moins), les bouchons à vis doivent desserrés. on utilisera si possible des bouchons vissés à membrane perméable qui permettent un échange gazeux et sont disponibles dans le commerce. le recouvrement de la culture par un bouillon TSB peut porter la viabilité jusqu'à 14 jours. *Neisseria meningitidis* cultivé ne doit pas être réfrigéré sur gélose en pente.

V.8.2 conservation de longue durée :

Il existe deux techniques de conservation à longue durée généralement utilisées :

❖ La technique de lyophilisation :

A. cultiver *N. meningitidis* sur gélose au sang ou gélose chocolat. incubé 18_20 heures à 35°C dans un incubateur à CO₂ ou dans une cloche à bougie. vérifier la pureté de la culture.

B. Recueillir la culture avec 1-2 ml de lait écrémé stérile. placer 0.5 ml de cette suspension dans une ampoule stérile ou un flacon à lyophilisation. on pourra préparer plusieurs tubes à partir d'une seule culture. maintenir la stérilité pendant tout le temps de la préparation des tubes.

C. la suspension bactérienne sera congelée sur les parois du tube de lyophilisation. on utilisera au choix l'une des deux méthodes suivantes. placer le tube à -70°C jusqu'à ce que la suspension y soit introduite. introduire la suspension et faire rouler rapidement le tube pour congeler la suspension sur la paroi. replacer le tube à -70°C jusqu'à ce qu'il soit fixé au lyophilisateur. si l'on ne dispose pas d'un congélateur à -70°C ; préparer un mélange d'alcool (éthanol à 95%) et de glace carbonique. la suspension est congelée en plaçant le tube de lyophilisation dans le mélange glace carbonique-alcool avec un angle de 45° à 60° et en le faisant tourner.

D. fixer les tubes au lyophilisateur. suivre les recommandations du fabricant car le montage est différent avec chaque appareil. le temps de lyophilisation dépend du nombre de tubes à lyophiliser et des caractéristiques de l'appareil. Avec un appareil de performances moyennes, il faut 4_5 heures pour lyophiliser complètement 10 à 20 petits tubes.

E. à la fin de la manipulation, les tubes sont scellés à la flamme alors qu'ils sont toujours fixés au lyophilisateur et sous vide. les tubes peuvent ensuite être stockés à 4°C ou au congélateur.

❖ Conservation par congélation :

A. cultiver *N. meningitidis* sur gélose au sang ou gélose chocolat. incubé 18_20 heures à 35°C dans un incubateur à CO₂ ou dans une cloche à bougie. vérifier la pureté de la culture.

B. recueillir la totalité de la culture avec un écouvillon stérile.

C. Déposer la culture dans un cryotube de 2 ml à bouchon à vis (filetage extérieur au tube), contenant 1 ml de sang défibriné stérile, et faire tourner l'écouvillon pour relarguer les bactéries.

On pourra utiliser du sang défibriné de mouton, de cheval ou lapin, mais pas du sang humain. On peut aussi employer du TSB contenant 15%_20% de glycérol (qualité pour analyses) ou une solution de Greaves. Il est nécessaire d'utiliser des cryotubes (résistants à un froid extrême).

D. Essorer l'excès de sang contenu dans l'écouvillon en le pressant en tournant contre la paroi du tube avant de retirer avec précaution.

E. Jeter l'écouvillon dans un désinfectant.

F. Si cela est possible, congeler rapidement la suspension dans un mélange d'alcool à 95% et de pastilles de glace carbonique.

G. Placer les tubes dans l'azote liquide (-120°C) ou dans un congélateur à -70°C. On peut utiliser un congélateur à -20°C mais il faut s'attendre à une certaine perte de viabilité. Ne jamais utiliser de congélateur à dégivrage automatique.

ETUDE PRATIQUE

VI. ETUDE PRATIQUE D'UN EXAMEN CYTOBACTERIOLOGIQUE DE LCR DEMANDE EN URGENCE AU SEIN DES UNITES DE MICROBIOLOGIE DES LABORATOIRES HASSIBA BENBOUALI ET FRANTZ FANON

VI.1. 1^{er} jour : analyse du LCR avec remise du résultat dans l'heure qui suit la PL :

VI.1. 1. Noter l'aspect macroscopique du LCR:

- clair (eau de roche), trouble, hémorragique, xanthochromique.

VI.1.2. Doser la glycorachie et la protéinorachie selon les procédures appliqués au laboratoire

2.1. Glycorachie :

En cas de méningite bactérienne: **hypo glycorachie** (valeur normale: 2/3 glycémie).

2.2. Protéinorachie :

Les valeurs normales sont comprises entre 0, 1 et 0, 45 g/L

En cas de méningite bactérienne: **hyperprotéinorachie** valeur > 1 g/L, si LCR hémorragique, la protéinorachie est ininterprétable

En période néonatale, les valeurs sont plus élevées pouvant atteindre 1, 50 g/L à 1,80g/L[80].

VI.1.3.Examen cytologique du LCR

Compter les éléments cellulaires (leucocytes, hématies) dans un hématimètre et dès que le nombre d'éléments est supérieur à 10/ mm³ établir la formule leucocytaire.

Le résultat est exprimé en nombre de leucocytes et d'hématies/ mm³.

Le LCR normal : 0 à 10 éléments / mm³

En période néonatale, le nombre d'éléments peut atteindre 20 à 50 / mm³.

Méthode d'utilisation de l'hématimètre: Cellule de Nageotte ou Cellule de Malassez

Déposer une lamelle couvre-objet sur les deux plateaux latéraux de l'hématimètre. Le LCR à analyser doit être fluide, dans le cas où le LCR serait « épais » (aspect d'un pus), le liquide doit être dilué dans de l'eau physiologique afin de pouvoir énumérer les éléments cellulaires :

la numération finale sera donnée en tenant compte de la dilution initiale, 1/10, 1/20. Après avoir agité le LCR à analyser pour remettre en suspension les éléments cellulaires, prélever le LCR à la pipette Pasteur munie d'une poire, et placer la pointe de la pipette sur la partie centrale de la cellule au contact du bord de la lamelle. La cellule se remplit par capillarité, le remplissage est complet quand le liquide déborde dans les rigoles latérales. Il faut laisser au repos 10 minutes pour que les éléments cellulaires sédimentent, puis la préparation est placée sur la platine du microscope, lentille frontale du condensateur abaissée, on examine avec l'objectif 40.

Cellule de Nageotte:

C'est un hématimètre d'une capacité de 50 mm³ subdivisé en 40 bandes correspondant à 1,25mm³ chacune. Le dénombrement est effectué par le comptage des éléments contenus dans quatre bandes correspondant à un volume de 5 mm³; le nombre total d'éléments obtenu est divisé par 5 pour ramener le dénombrement au mm³. Le résultat final est donc exprimé en éléments/mm³

$$N \text{ éléments / mm}^3 = \frac{\text{Nombre d'éléments comptés dans 4 bandes}}{5}$$

Cellule de Malassez:

C'est un hématimètre d'une capacité de 1 mm³ dont le quadrillage total est composé de 10 bandes : 5 longitudinales et 5 bandes transversales délimitant de grands rectangles et de petits carrés. Chaque bande correspond à un volume de 0,1 mm³ ; le dénombrement est effectué par le comptage des éléments contenus dans toute la cellule (volume 1 mm³).

Le résultat final est exprimé en : N éléments / mm³

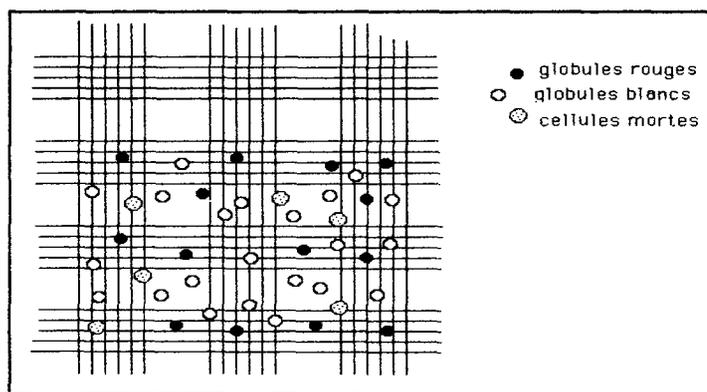


Figure 32 : Comptage avec une cellule de Malassez [80].

A partir du culot de centrifugation, trois frottis sont préparés sur lames

Coloration de Gram-

Fixation par la chaleur, violet de gentiane phéniqué: 30 à 60 secondes, puis lugol 0,5% : 15 secondes, verser goutte à goutte l'alcool à 95° jusqu'à ce qu'il n'entraîne plus de colorant; laver rapidement à l'eau, ajouter la fushine diluée au 1/10ème : 20 secondes ; laver à l'eau distillée et sécher : le séchage se fait en épongeant délicatement la lame colorée entre deux feuilles de papier filtre fin ou papier Joseph ; il peut être achevé à la chaleur ; examen à l'immersion (X100).

La coloration de Gram différencie les bactéries à Gram positif et négatif.

- *Neisseria meningitidis* : cocci à Gram négatif, se présentant sous forme de coques asymétriques groupés par deux (grains de café)

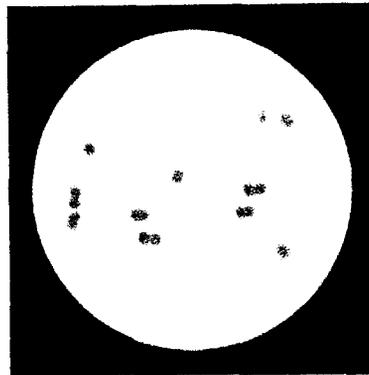


Figure 33: photo du *N. meningitidis* après coloration de Gram [80].

-Coloration au bleu de méthylène à 3%

Le frottis est fixé par la chaleur, on fait couler la solution de bleu de méthylène phéniqué jusqu'à ce que toute la lame soit couverte; on laisse en contact environ une minute (si le colorant est bien préparé) à cinq minutes (si le colorant est trop dilué) ; laver à l'eau, sécher.

- Coloration au May Grunwald Giemsa

Elle permet à la fois l'étude morphologique des principales cellules rencontrées dans le LCR (cellules provenant du sang périphérique, des méninges et du tissu nerveux) et l'établissement de la formule leucocytaire pour 100 éléments:

Sur le frottis fixé à l'air déposer la solution du May-Grunwald pendant 5 mn

Laver à l'eau durant 1 minute. Déposer la solution de Giemsa: laisser en contact pendant 15 mn, Laver à l'eau, et laisser sécher à l'air, sans éponger ni utiliser de source de chaleur. Examiner à l'immersion. La coloration de May-Grunwald-Giemsa permet une observation fine des cellules: les noyaux apparaissent violet foncé, tranchant sur les cytoplasmes colorés en rose. Les bactéries sont colorées en bleu.

Dénombrer la proportion des polynucléaires par rapport aux lymphocytes sur une centaine de leucocytes. **Une large prédominance de polynucléaires** est généralement observée dans les méningites bactériennes alors qu'elle est lymphocytaire dans les méningites virales, tuberculose.

VI.1.4. Test d'agglutination: recherche d'antigènes solubles

Les antigènes bactériens sont libérés dans le LCR, et du fait de leur caractère soluble et diffusible, ils peuvent être retrouvés dans d'autres compartiments (sérum, urines).

Ce test permet de rechercher dans le LCR les antigènes solubles de *Neisseria meningitidis*, *Streptococcus pneumoniae*, *Haemophilus influenzae*, *Streptococcus* du groupe B et *E. Coli* K1. Cette recherche doit être pratiquée dans le LCR lorsque l'examen cytologique est en faveur d'une méningite bactérienne (polynucléose franche) et en cas de présence de polynucléaires ou de germes au Gram.

VI.1.5. Mise en culture du LCR non centrifugé

Ensemencer le prélèvement richement (3 gouttes au moins de LCR) sur les milieux suivants:

- Gélose au sang additionnée de 5% au sang de mouton incubée à 35°C/48H en aérobiose.
- Gélose au sang cuit (gélose chocolat) additionnée soit de supplément poly vitaminique soit de polyvitex ® soit d'extrait globulaire (selon disponibilité de ces additifs).
- . -Bouillon d'enrichissement HIB additionné de l'un des additifs mentionnés précédemment et incubé à 35°C pendant 48 heures. Ce bouillon HIB permettra l'enrichissement des LCR pauci bacillaires..

Les boites de gélose au sang cuit ensemencées seront incubées pendant 24 à 48 heures à 35°C dans une jarre ou une cloche enrichie de 5 à 10% CO₂ (ou une bougie) et humidifiée grâce à un coton imbibé d'eau. Au mieux, il faut disposer d'une étuve à CO₂.

Lire les cultures après 24 et 48 heures avant de les déclarer négatives.

VI.1.6. Traitement du prélèvement d'hémoculture

A partir de la 6^{ème} heure d'incubation, les flacons non agités sont inspectés pour rechercher des signes témoignant une croissance visible : turbidité, hémolyse, coagulum et des colonies au fond du flacon ou sur la gélose (flacon biphasique).

Mise en culture : des repiquages sont effectués à la moindre suspicion de culture visible ; on prélève à la seringue stérile un échantillon du bouillon d'hémoculture ; l'ensemencement est fait selon la même méthode préconisée pour l'ensemencement du LCR .

VI.2. 2ème jour: Identifier les bactéries obtenues par culture et tester leur sensibilité aux antibiotiques

Neisseria meningitidis

VI.2.1.Premiers critères d'identification si culture est positive :-

N.meningitidis cultive sur Mueller Hinton, gélose au sang frais, gélose au sang cuit et ou sur milieu sélectif VCN.(vancomycine, colistine, nystatine).

Les colonies de *Neisseria meningitidis* sont blanches , grisâtres à bord régulier sur la gélose chocolat et sur la gélose Mueller Hinton .

Diplocoques à Gram négatif, disposés en grains de café, cytochrome oxydase positive.

VI.2.2 Identification confirmative par les tests biochimiques et antigéniques [80]:

- Etude de l'acidification des sucres
- Recherche de l'hydrolyse de l'ONPG
- Dosage de la gamma glutamyl transférase (GGT)
- Nitrates et nitrites.

Par ailleurs, il existe un système de galeries miniaturisées (type API), qui permettent un diagnostic de confirmation en quelques heures.

VI.2.3. Identification antigénique: sérogroupage de *N.meningitidis* par agglutination d'antisérum spécifique de groupe A, B, C et W.

VI.2.4. Antibiogramme :

L'antibiogramme de *N. meningitidis* est pratiqué selon les normes CLSI

Milieu : gélose de Mueller-Hinton additionnée de 5 % de sang de mouton

Inoculum : A partir d'une culture pure de 24 heures sur gélose au sang cuit, préparer une suspension en eau physiologique stérile à 0,9% d'une turbidité équivalente à 0,5 Mc-Farland.

Ensemencement : par écouvillonnage sur des boîtes de M.H préalablement séchées.

Disques à tester : pénicilline G, ampicilline, céfotaxime ou ceftriaxone, spiramycine, chloramphénicol.

Il ne faut pas mettre plus de 4 disques par boîtes, car les diamètres des zones d'inhibition notamment avec les β -lactamines sont très importants, ce qui peut gêner la lecture correcte des autres diamètres.

Incubation : 24 h à 35°C en atmosphère enrichie de 5% de CO₂.

Lecture et interprétation :

La mesure du diamètre d'inhibition se fait à l'aide d'un pied à coulisse ; les valeurs retrouvées sont comparées à celles décrites dans le document M100.S24. Vo.34 n°1 CLSI 2014.

VI.2.5. CMI : détection de souches de sensibilité diminuée à la pénicilline G.

Des souches de *N.meningitidis* de sensibilité diminuée à la pénicilline G sont régulièrement isolées dans le monde et en Algérie [1] ; ces souches ont des CMI \geq à 0.125 mg/l ; leur détection par les techniques de l'E. test ou de dilution permettra au médecin traitant de prescrire l'antibiotique approprié en temps utile. Elle est obligatoire pour la pénicilline G , l'ampicilline et le céfotaxime.

- E- test

Milieu : gélose de Mueller-Hinton additionnée de 5 % de sang de mouton.

Inoculum : à partir d'une culture pure de 24 heures sur gélose au sang cuit, préparer une suspension en eau physiologique stérile à 0,9% d'une turbidité équivalente à 0,5 Mc-Farland.

Ensemencement : par écouvillonnage sur les boîtes de M.H +5% de sang de mouton préalablement séchées.

Une bandelette E. test pénicilline G est déposée sur la surface de la gélose.

Incubation : 24 h à 35°C en atmosphère enrichie de 5% de CO₂.

Lecture : lire la CMI de l'antibiotique au point d'intersection de l'ellipse d'inhibition et de la bandelette.

**EPIDEMIOLOGIE DES MENINGITES
A MENINGOCOQUE**

VII. EPIDEMIOLOGIE DES MENINGITES A MENINGOCOQUE

Dans tous les pays, qu'ils soient industrialisés ou en développement, l'apparition des foyers infectieux avec le risque d'épidémie reste un problème d'actualité. Ce risque, majeur dans les pays en développement compte tenu de la précarité des structures sanitaires, n'est pas à négliger dans les pays industrialisés[2].

❖ Place de la méningite à méningocoque:

Parmi les méningites bactériennes, en dehors des épidémies, on estime à 1,2 million au moins le nombre de cas de méningite bactérienne survenant chaque année dans le monde, et à 135.000 le nombre de décès. Environ 500.000 cas et 50.000 décès sont dus au méningocoque, soit 10 à 40% des cas de méningite purulente[5].

En Afrique, la méningite cérébrospinale à méningocoque sévit sous le mode épidémique, alors qu'en Europe, il s'agit d'une modalité endémo sporadique, à recrudescence hiverno-printanière.

Trois groupes majeurs, A, B et C, sont à l'origine de plus de 90 % des cas de méningites cérébrospinales à méningocoques à travers le monde. Classiquement, leur pouvoir épidémiogène ainsi que leur répartition géographique sont différents: le séro groupe A, prépondérant en Afrique, en particulier dans la "ceinture de la méningite », est plus épidémiogène que le séro groupe C, responsable de la majorité des méningites cérébrospinales à méningocoques en Amérique, et que le séro groupe B, prédominant en Europe[28].

VII.1 Habitat et transmission [2,7]

VII.1.1 Habitat

Neisseria meningitidis est une bactérie spécifique de l'homme et dont l'habitat est le rhinopharynx. Elle ne survit pas dans l'environnement car elle est fragile.

Dans la majorité des cas, lorsqu'une personne est contaminée, il y a une simple colonisation du nasopharynx, sans autre conséquence. Cette personne est alors porteur asymptomatique. La durée du portage est variable, allant de quelques jours à quelques semaines voire plusieurs mois.

Le taux de portage oropharyngé peut varier de 5 à 50% lorsqu'il existe une grande promiscuité. Il est relativement élevé comparé à la faible incidence de la maladie. Ceci souligne bien que la dissémination systémique des bactéries à partir du portage reste un accident ponctuel, dépendant de la virulence des souches mises en cause [2].

VII.1.2 Transmission

La transmission est aérienne, directe, inter humain de rhinopharynx à rhinopharynx par la projection d'un aérosol de gouttelettes de pflügge, la salive, le baise, la toux, les étternuements. Elle est associée à une exposition proche et répétée [2].

La contamination exige donc un contact direct avec les malades atteints de méningite à méningocoque ou avec les porteurs sains [7].

La bactérie peut atteindre les méninges par de nombreuses voies :

- une bactériémie systémique,

- une pénétration directe par les voies supérieures ou par la peau à travers un défaut anatomique, (fracture du crâne, séquestre érodant, méningocèle), un passage intracrânien par les veinules du nasopharynx ; ou une dissémination d'un foyer infectieux contigu (infection des sinus, fuite d'un abcès cérébral) [13].

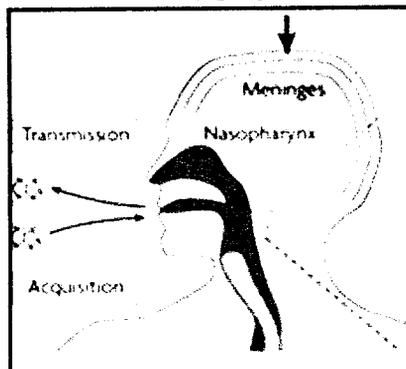


Figure 34 : la transmission du méningocoque [13].

VII.2 La situation mondiale :

La méningite à méningocoque est présente partout dans le monde avec à la fois des bouffées épidémiques et des cas sporadiques [7].

Dans les années 1960, la méningite à méningocoque représentait un problème permanent de santé publique dans certains pays tropicaux, particulièrement ceux situés dans la ceinture africaine de la méningite, elle n'était plus considérée comme un sérieux problème dans la plupart des pays européens et nord-américains[2].

Mais depuis 1970 des épidémies ont éclaté un peu partout dans le monde. La fréquence de la méningite à méningocoque a augmenté dans de nombreux pays d'Amérique, d'Asie et d'Europe, sous la forme d'épidémies récurrentes sur un fond endémo-sporadique persistant

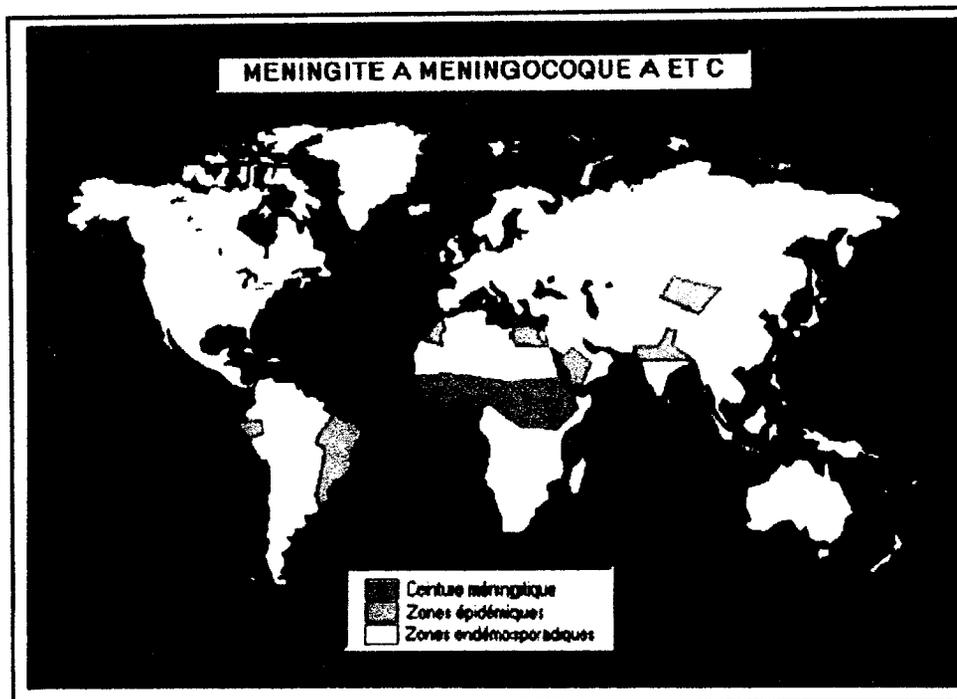


Figure 35 : Zones d'endémie méningococcique [7]

C'est le sérotype A qui est essentiellement responsable des grandes épidémies en Afrique et en Asie. Le sérotype B provoque des cas sporadiques en Europe et en Amérique. Le sérotype C provoque des petites bouffées épidémiques en Amérique, en Afrique et en Asie ainsi que des cas sporadiques en Europe.

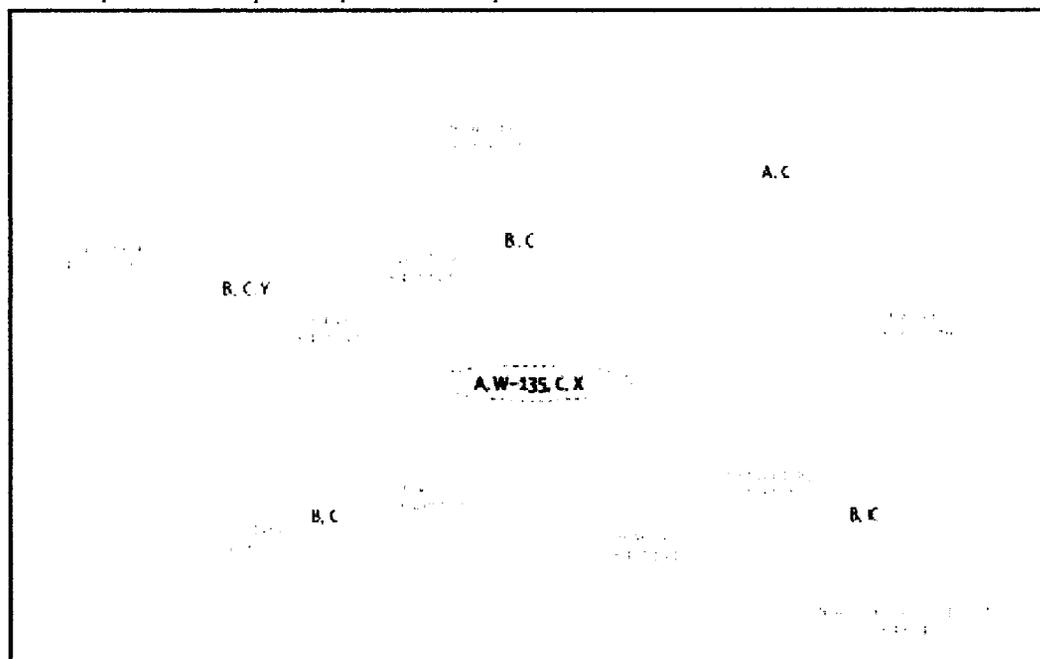


Figure 36 : Distribution mondiale des principales sérogroupes de méningocoques [13].

VII.2.1 En Europe :

En Europe, les épidémies ont disparu et on observe des cas sporadiques provoqués essentiellement par les sérogroupes B et C. Ainsi un accroissement significatif de l'incidence a été observé en Espagne, en Italie, au Portugal et en Yougoslavie en 1970-1971, en Belgique (1971-1972), en France (1973 et 1978) [2].

A l'image de la situation en France, on a assisté à une augmentation de l'incidence annuelle depuis le début des années 1990 : en 1993, le taux d'incidence annuelle était de 0,9 cas pour 100.000 habitants. Puis ce taux est passé à 1,3 cas pour 100.000 habitants en 1994, 1,7 en 1995, 1,4 en 1996, 1,45 en 1998 et enfin 1,8 cas pour 100.000 habitants en 2000. Entre 2000 et 2005, ce taux reste stable.

En 1996_2006, on note que l'incidence varie selon les pays: certains pays comme la France, la Finlande, l'Allemagne, la Hongrie, l'Italie et la Suède présentent un taux d'incidence relativement faible: environ 1 cas pour 100.000 habitants. L'Autriche, la Belgique, le Danemark, la Grèce, la Norvège et la Suisse sont des pays d'incidence moyenne à savoir 1 à 3 cas pour 100.000 habitants. La Grande-Bretagne, les Pays-Bas, l'Islande et l'Espagne présentent un taux d'incidence élevé: plus de 3 cas pour 100.000 habitants [2].

Tout comme en France, les sérogroupes prédominants sont B et C. Les tendances récentes montrent une croissance du séro groupe C. Les tranches d'âge les plus touchées sont les enfants en bas âge et les adolescents. On note un pic saisonnier en hiver.

Parmi les pays à taux d'incidence élevé, des flambées locales ont été observées. On peut notamment citer une flambée due au séro groupe C en Espagne en 1996 - 1997 où le taux d'incidence est monté à 3,7 cas pour 100.000 habitants[28].

On note également que l'Angleterre fait partie des pays à fort taux d'incidence. Un pic a notamment été observé entre Juillet 1998 et Juin 1999 où 962 cas dus au séro groupe C ont été diagnostiqués en Angleterre et au Pays de Galle, avec un taux de létalité de 10%.

Suite à cette flambée, le programme de vaccination par vaccin conjugué a été mis en place en Novembre 1999. On a alors observé une diminution du nombre de cas dus au séro groupe C dès l'année 2000 [5].

En 2000 et 2001, l'Angleterre a été frappée par de nombreux cas dus au séro groupe W suite au pèlerinage de la Mecque. Ainsi, sur ces années, la Grande Bretagne fait partie d'un des pays d'Europe à taux d'incidence élevé.

En 2011 en France, le nombre de cas notifiés a été 574 cas survenants d'où le taux d'incidence des cas était de 0.89 pour 100.000 habitants [7] .

VII.2.2 En Amérique :

En Amérique du Nord, comme en Europe, les épidémies ont disparu et on observe des cas sporadiques provoqués essentiellement par les sérogroupes B et C. en Argentine (1974) L'incidence annuelle varie entre 1 et 3 cas pour 100.000 habitants. Des flambées locales dues au séro groupe C ont été rapportées au Canada et aux Etats-Unis en 1992_1993. Puis le

Canada a été de nouveau touché par une flambée entre Décembre 1999 et Avril 2001 où 61 cas dus au sérotype C ont été diagnostiqués.

En Avril 2000, à New York, trois cas groupés dus au sérotype W ont été observés. Une nouvelle fois, ces cas étaient liés au pèlerinage de la Mecque.

L'Amérique du Sud a historiquement connu de grandes épidémies (Brésil en 1974, Cuba en 1982-1984, Chili en 1986...). Cependant, au cours de ces années, on ne note plus d'épidémie [7,45].

VII.2.3 En Asie :

Tout comme l'Afrique mais à moindre mesure, l'Asie connaît également des épidémies.

Dans les années 80, une vague épidémique a déferlé sur les territoires d'Asie: environ 1500 cas ont été rapportés au Népal entre 1982 et 1984. En 1985, New Delhi a connu une épidémie avec plus de 6000 cas rapportés. Ces grandes épidémies sont associées au sérotype A qui est ainsi habituellement responsable des grandes épidémies en Asie.

Cependant, récemment, l'Asie a présenté une importante émergence du sérotype W : en effet, l'Arabie Saoudite a rapporté les flambées de méningite associées au sérotype W les plus importantes jamais enregistrées [7].

VII.2.4 Etude du cas particulier du pèlerinage de la Mecque en 2000 et 2001 :

En 2000, une flambée de méningococcie a démarré en Arabie Saoudite au cours du pèlerinage de la Mecque, et s'est ensuite propagée dans plusieurs pays. Au total, entre Janvier et Juin 2000, plus de 300 cas ont été notifiés en Arabie Saoudite, dont plus de 50% ont été confirmés comme appartenant au sérotype W, un plus petit nombre appartenant au sérotype A.

Plusieurs centaines de pèlerins ayant été infectés par le méningocoque W ont alors importé la maladie dans leur pays de résidence à leur retour. Ainsi entre Mars et Juillet 2000, 90 cas de méningococcie associés au pèlerinage du Hadj ont été notifiés par 11 pays du monde.

L'Europe a été particulièrement touchée par des flambées importantes et ce sont notamment la France et la Grande Bretagne qui furent les pays les plus touchés[7].

La plupart des cas étaient dus au sérotype W135 et pour la plupart d'entre eux, on a pu mettre en évidence un lien avec un voyage en Arabie Saoudite ou un contact avec un voyageur s'étant rendu dans ce pays [2].

Une fois encore lors du pèlerinage de 2001, environ 270 cas ont été notifiés en Arabie Saoudite dont la majorité appartenait au sérotype W135 et un plus petit nombre au sérotype A. Puis de même qu'en 2000, l'épidémie s'est alors étendue dans plusieurs autres pays. Dans le monde entier, on a alors notifié un total d'environ 50 cas liés au pèlerinage de la Mecque. Il est à noter que la Grande Bretagne a de nouveau été fortement touchée. La plupart des isolats appartenaient encore une fois au sérotype W.

Enfin, en 2005, l'Inde a également connu une flambée due au sérotype A : entre le 29 Mars et le 8 Juin 2005, 405 cas ont été rapportés, avec un taux de létalité de 11,9% [7].

VII.2.5 En Afrique :

Les pays inclus dans la ceinture africaine de la méningite sont les suivants : Bénin, Burkina Faso, Nord-Cameroun, Éthiopie, Gambie, Ghana, Mali, Niger, Nord-Nigéria, Sénégal, Soudan et Tchad. Dans cette zone des cas sporadiques sont observés selon un cycle annuel saisonnier, alors que de grandes épidémies éclatent certaines années, de façon irrégulière. Dans ces pays, l'incidence de la méningite a été estimée, pour la période d'une vingtaine d'années comprise entre 1970 et 1992, à 800.000 cas environ[4].

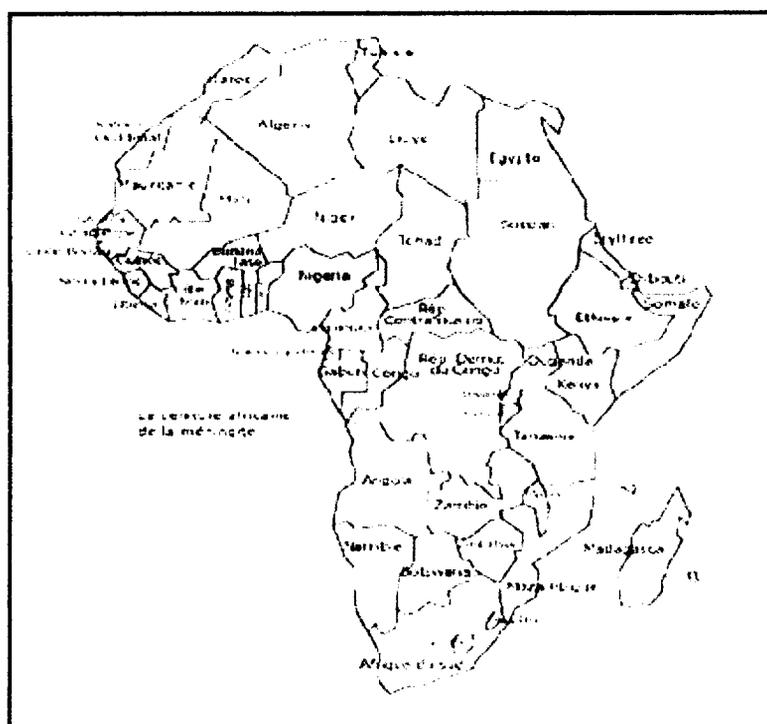


Figure 36: La ceinture africaine de la méningite [7].

Le trait commun du climat de ces régions est l'existence d'une longue saison totalement sèche qui commence en octobre et se termine en mai en premières pluies. C'est pendant cette période sèche que se déclarent les méningites.

➤ Trois grandes situations épidémiques peuvent être décrites :

- la situation endémo sporadique : l'aspect cosmopolite avec des taux d'incidence annuelle faible de 1 à 5 cas / 100.000 habitants.

- les poussées épidémiques ; sur fond cosmopolite de situation endémo sporadique :
Exemple : Maroc (Fès) en 1967 avec 600 cas / 100.000 habitants.

- la situation particulière de la « ceinture africaine de la méningite » en Afrique soudano sahélienne avec des flambées épidémiques survenant sur un fond de forte endémie[5].

Des épidémies ont touché des pays de la ceinture méningitique tels que Bénin, Burkina Faso, Gambie, Ghana, Mali, Niger, Nigeria, Sénégal, Tchad, Togo, Éthiopie et Soudan. Ce

sont ces deux derniers pays qui, de 1987 à 1989, ont été les plus sévèrement affectés, avec plus de 30.000 cas rapportés au Soudan en 1988 et 40.000 cas rapportés en Éthiopie en 1989.

Les épidémies frappent les agglomérations rurales, mais aussi les agglomérations urbaines : les épidémies de Bamako au Mali et d'Ouagadougou au Burkina Faso en 1981, de N'Djamena au Tchad en 1988[2].

C'est dans cette même période, vers la fin des années 1980 et au début des années 1990, que des épidémies ont atteint d'autres pays d'Afrique, en des territoires traditionnellement affectés : Burundi, Kenya, République Centrafricaine, République Unie de Tanzanie, Rwanda et Zambie.

Onze pays ont vu éclater des bouffées épidémiques depuis 1992, les plus importantes ayant eu lieu au Niger avec plus de 49000 cas, et au Cameroun avec plus de 27 000 cas en 1992. En 1995-1996, le Niger, le Tchad, le Nigeria, le Mali et le Burkina ont également été touchés par une épidémie à *Neisseria meningitidis* de sérotype A. Au Nigeria, 17668 cas ont été recensés au cours de cette épidémie, avec 2500 décès. Au Mali, le nombre de cas a atteint 2347 et 319 décès. Les tranches d'âge les plus atteintes sont les personnes de moins de 30 ans [4].

Entre 1997 et 2002, 223 000 nouveaux cas de méningites ont été notifiés par l'OMS et les pays les plus touchés ont été le Burkina Faso, le Niger, le Tchad et l'Éthiopie.

La nouvelle menace que fait peser le méningocoque W a explosé au Burkina Faso en 2002, frappant plus de 13.000 personnes et en tuant au moins 1.500. Les pays les plus touchés ont été le Burkina Faso, le Tchad, l'Éthiopie et le Niger. En 2003-2004, cinq pays (Mali, Ghana, Côte d'Ivoire, Burkina Faso, Niger) ont notifié 11805 cas dont 1530 décès (léthalité : 12,9%). Il semble que plusieurs centaines de personnes effectuant le pèlerinage du Hadj en Arabie saoudite aient été infectées, diffusant cette souche à travers le Sahel à leur retour [7].

Enfin, il y a eu en 2009 l'épidémie la plus importante depuis 1996 avec 90 000 cas recensés.

Depuis 1995, le sérotype X est observé en Afrique de l'Ouest et principalement au Niger. Même s'il est associé plus rarement à des épidémies, la proportion de personnes infectées a été élevée en 2006 à Niamey au Niger. Entre 2006 et 2010, on a constaté l'augmentation de la proportion de ce sérotype et l'augmentation du nombre d'épidémies recensé au Togo et au Burkina Faso.

Toute porte à croire que le sérotype W135 est associé à des flambées d'une ampleur aussi considérable que le sérotype A car au Burkina Faso en 2006, la proportion de A et de W135 a été équivalente pendant l'épidémie. L'existence d'une spatialisation des sérotypes (c'est-à-dire uniquement présent dans une partie du monde) suggère que les méningocoques sont capables de s'adapter à l'environnement[13].

Avant 2010 et les campagnes de vaccination préventive de masse, le méningocoque du sérotype A était responsable d'environ 80 à 85% des cas dans la ceinture de la méningite, où des épidémies surviennent tous les 7 à 14 ans. Depuis, ce pourcentage a beaucoup baissé[28].

Un nouveau vaccin, le MenAfriVac, a été introduit en 2010 et a pour l'heure été administré à plus de 200 millions de personnes dans la ceinture de la méningite, il est très efficace contre les formes de la maladie dues au méningocoque de séro groupe A. une étude menée au Tchad en 2012 a par exemple montré une baisse de 94% des cas de méningite A dans 3 régions où le vaccin avait été introduit . De plus, ce vaccin conjugué a réduit le portage nasopharyngé de méningocoque, soit la capacité de transmission de personne à personne, de 98%. son introduction a permis d'arrêter le cycle d'épidémies meurtrières à méningocoque A dans la région , mais des flambées de moindre ampleur dues aux autres souches , en particulier le W 135 et la C , continuent d'être enregistrées , comme au Nigeria et Niger en 2014 et 2015[5].

En 2015 au Niger, une épidémie a fait 75 morts sur un total de 697 cas (létalité de 10.30%), et entre janvier et juin 2015, 573 morts sur plus de 8500 cas. et au Nigeria voisin quelque 5221 cas de méningite avec 557 décès ont été également notifiés dans la même période .

•En janvier 2015, plus de 217 millions de personnes avaient reçu le vaccin antiméningococcique A conjugué dans 15 pays de la ceinture africaine .

En 2016, plus de 500 million de personnes vivant dans les pays de la ceinture africaine sont des sujets à risques, donc, ces pays doivent renforcer leur préparation pour des épidémies futures, et de faire le point de la disponibilité de vaccin[7].

VII.3 La situation en ALGERIE :

L'épidémiologie de la méningite cérébrospinale en Algérie est comparable à celle des pays méditerranéens qui ont le même niveau de développement [5].

Le nombre de cas annuels déclarés en Algérie varie de 280 cas en 1963 à 1700 cas en 1970 avec le nombre annuel moyen de 1320 cas. L'incidence annuelle était jusqu'en 1966 autour de 2 pour 100 000 habitants. Cette incidence va monter brusquement entre 9 et 12,5 pour 100 000 habitants de 1968 à 1973 avec des pics en 1968, 1970 et 1973. En 1974, cette incidence tombe aux alentours de 5 pour 100 000 habitants, mais la tendance épidémique persiste et manifeste de nouveau à partir de 1978[4].

Cette incidence variable dans le temps est également variable dans l'espace. Si l'on reporte sur la carte de l'Algérie les points de forte incidence de la méningite cérébrospinale, on remarque que l'affection circule au fil des années d'une région à l'autre du pays: Alger (séro groupe A 1968), Batna (1970), Saida (1974), Oran(1975), Ouargla(1976), Annaba(1977), Tlemcen(1978), Tizi Ouzou(1978), Blida(1979),Oran (60 cas en juillet 2002) [4].

La dernière épidémie importante de méningite cérébrospinale dans notre pays remonte à l'année 1989.l'évolution cyclique tous les 10ans de cette maladie faisant craindre pour ces années de nouvelles flambées, il est nécessaire d'actualiser et renforcer le système de surveillance et de lutte contre cette affection afin de mieux réagir aux différentes situation épidémiologiques [annexe (3)].

Depuis 2003, on observe que des cas sporadiques provoqués essentiellement par les sérogroupes A, B et C, en nord d'Algérie [2].

-La surveillance des sérogroupes de *N. meningitidis* du 2001 à 2012 montre que le nombre de souches appartenant au sérogroupe A ne cesse de diminuer alors que le nombre de souches appartenant au sérogroupe B tend à augmenter. En 2014 toutes les souches appartenaient au sérogroupe B [42].

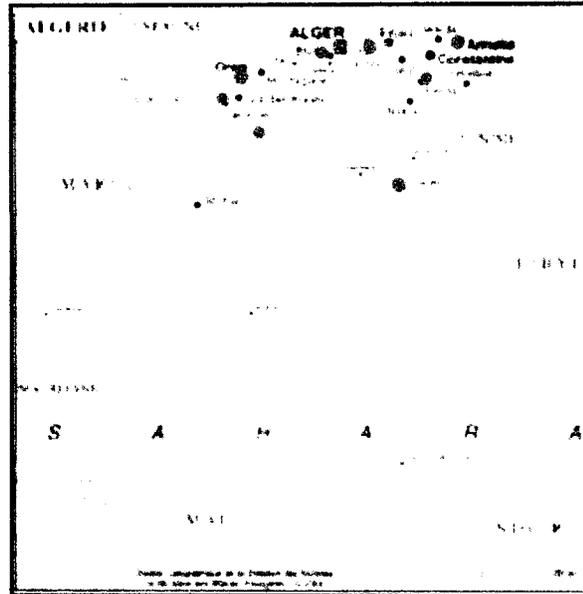


Figure 37: Les points chauds de la méningite cérébrospinale en Algérie [4].

Tableau VIII : Les Cas de maladie méningococcique notifiés dans quelques régions d'Algérie[42]

Année \ Wilaya	2003	2004	2005	2006	2007	2008	2009	2010	2011	2012-2013	2014
EHS Elhadi Flici Alger	11	12		20	7	14	12	13	8	8	3
Blida				5	4	7	5	7			
SSBoufarik			11	5	10						
Constantine	3	6	3								
Oran						7			5		
Tizi Ouzo	5		3								
Sétif	4	7									

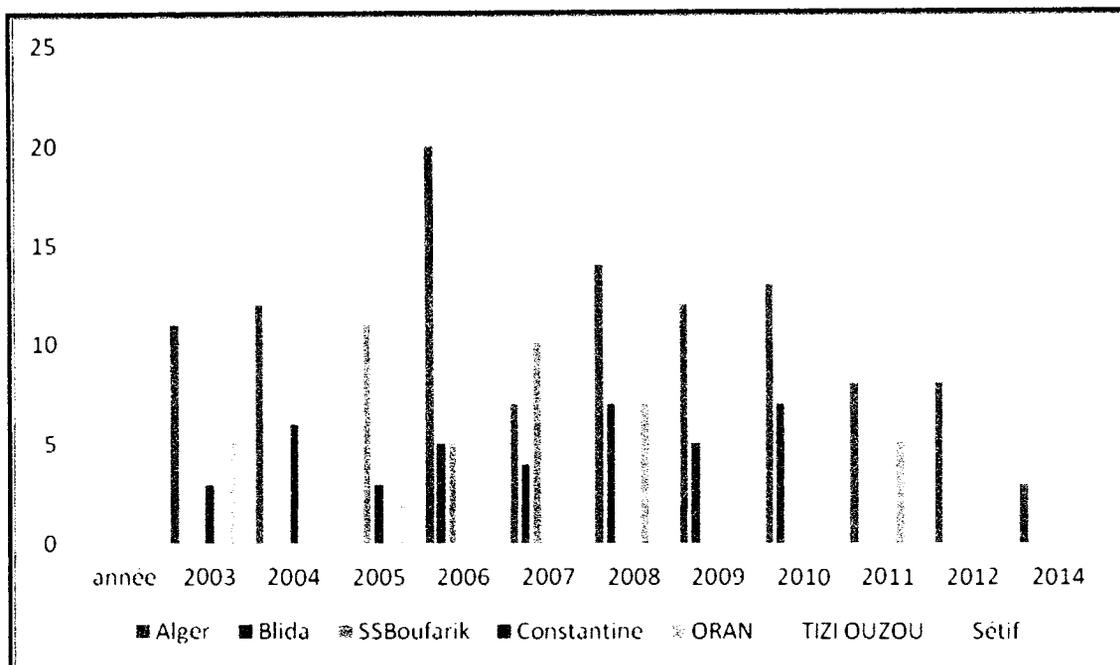


Figure 38 : Nombres de Cas de la maladie méningococcique notifiés dans quelques régions d'Algérie (2003-2014) [42].

Tableau IX : Fréquence des sérogroupes de *Neisseria méningitidis* isolés sur le territoire national [42].

sérogroupe	A	B	C	W135	Y	Y/W135	SND*	LCR	Total
Année									
1999	61	9	6	5	/	/	10	87	91
2000	62	8	3	3	/	/	61	131	137
2001	21	5	8	6	1	/	16	44	57
2002	30	7	1	4	1	4	21	65	68
2003	4	3	/	1	1	4	18	31	31
2004	10	4	4	2	/	1	9	30	30
2005	6	2	3	0	/	1	6	18	18
2006	8	7	15	0	/	3	1	32	34
2007	7	3	4	3	/	/	9	26	26
2008	3	9	8	7	/	2	7	36	36
2009	3	8	7	2	1	/	4	23	25
2010	2	12	4	/	1	3	/	18	22
2011	2	9	1	2	/	/	2	16	16
2012-2013	/	10	/	/	1	1	/	11	12
2014	/	4	/	/	/	/	/	4	4
Total des sérogroupes	219	100	64	35	6	19	164	572	607

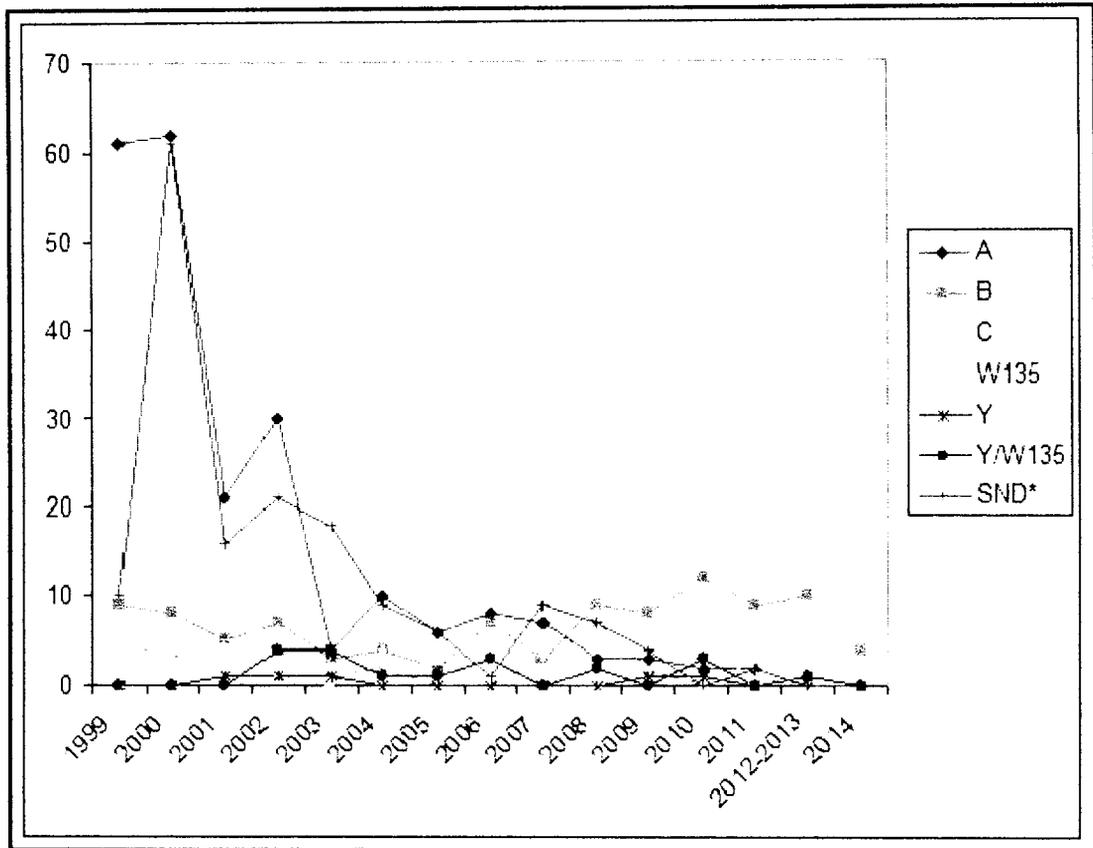


Figure 39: Fréquence des sérogroupes de *Neisseria meningitidis* isolés sur le territoire national [42]

VII.4 Au niveau de CHU de Blida [5]

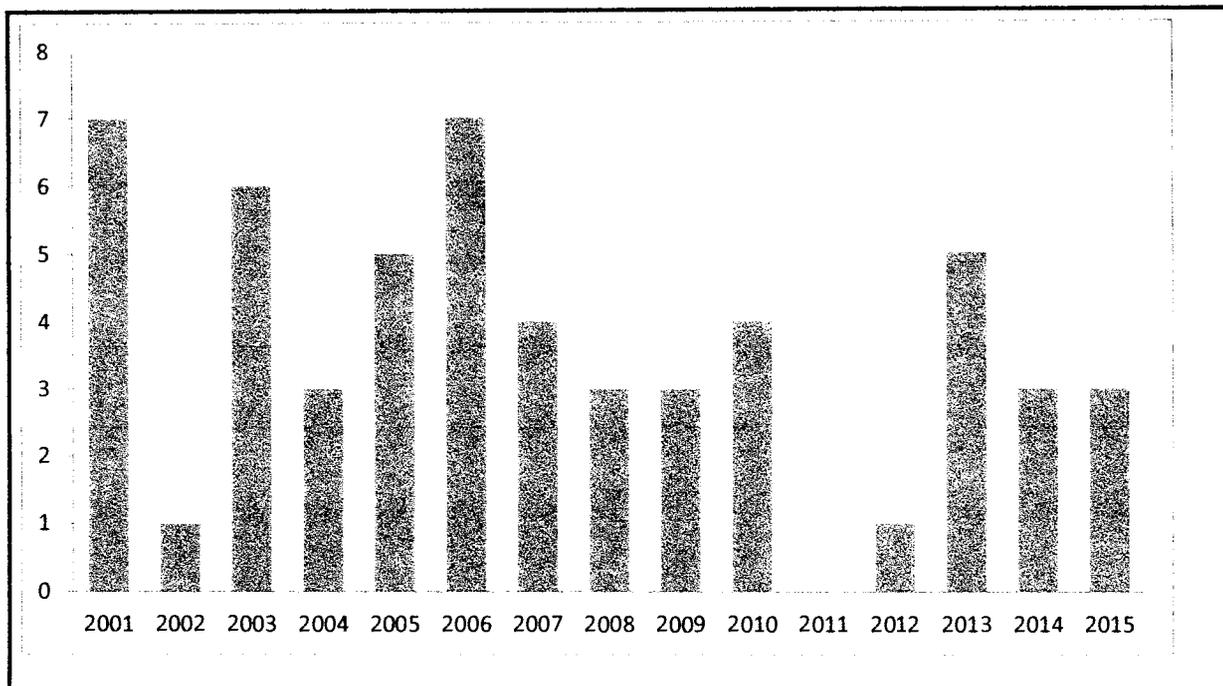


Figure 40: nombres de cas déclarés au niveau du CHU Blida (2001-2015) [5].

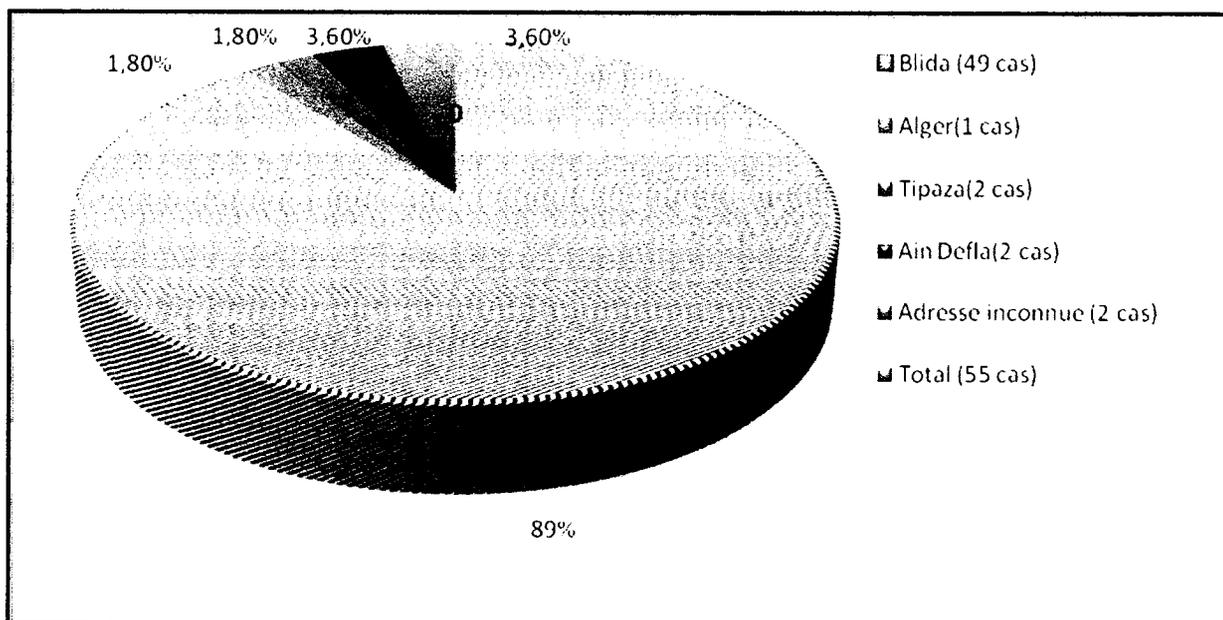


Figure 41: nombres de cas déclarés au niveau du CHU de Blida entre (2001_2015) avec les fréquences des wilayas[5]

*Service de déclaration : pédiatrie (unité Benboulaïd) :52 cas /Laboratoire : 3 cas .

*L'âge : entre 0-10ans, avec l'âge moyen 2ans.

*Sexe : Féminin 22 cas (40%), Masculin 33cas (60%)

➤ **L'EPIDEMIE DE BLIDA [4] :**

-Durée :

Cette épidémie a duré de février à juillet 1979, période pendant laquelle plus de 600 cas ont été enregistrés à Blida.

-Localisation :

Elle a été strictement localisée à la ville de Blida qui correspond à un secteur sanitaire. Les sept autres secteurs sanitaires de la Wilaya n'ont pas été concernés par cette épidémie.

-Age des malades :

Elle a touché plus particulièrement les jeunes : plus de 76 % avaient moins de 15 ans

- Sérotype en cause :

Le méningocoque responsable de cette épidémie était de sérotype A. En effet sur 99 souches testées par l'Institut Pasteur d'Algérie dans le courant du premier semestre de 1979, 93étaient de type A, 3 de type C, 2 de type B ; le sérotype d'une des souches n'a pu être déterminé [4].

VII.5 Le système de déclaration d'une méningite à méningocoque [28,41,46,48,55]

la déclaration des cas de méningite purulente en général , et des cas de méningite à méningocoque en particulier est obligatoire.elle doit être journalière , en période épidémique et hebdomadaire , en période inter épidémique ,conformément aux textes réglementaires et législatifs en vigueur (textes de loi et circulaires ministérielles). Elle intéresse toutes les formes de méningite (cas suspects, probables ou confirmés) et a pour principe la collecte et la transmission rapide des données à tous les niveaux en vue d'une action thérapeutique et prophylactique optimale [28,46].

VII.5.1 Critères de déclaration d'un cas de méningite :

Est considéré comme cas d'infection invasive à méningocoque tout cas remplissant au moins l'un des critères suivants :

- Isolement bactériologique de méningocoque ou PCR positive à partir d'un site normalement stérile : sang, LCR, liquide articulaire, liquide péricardique, liquide péritonéal, pleural ou à partir d'une lésion purpurique cutanée.
- Présence de diplocoques gram négatif à l'examen microscopique direct du LCR.
- LCR évocateur de méningite bactérienne purulente (à l'exclusion de l'isolement d'une autre bactérie).
- soit présence d'antigène soluble méningococcique dans le LCR, le sang ou les urines.

- Présence d'un purpura fulminans : purpura dont les éléments s'étendent rapidement en taille et en nombre, avec ou moins un élément nécrotique ou ecchymotique, de plus de trois millimètres de diamètre associé à un syndrome infectieux sévère, non attribué à une autre étiologie [47].

VII.2 Critères de déclaration d'une épidémie de méningite :

Pour reconnaître rapidement une épidémie, il faut mettre en place un **SYSTÈME D'ALERTE PRÉCOCE** :

- capable de détecter une épidémie suffisamment tôt pour que les efforts de prévention aient un impact sur celle-ci ;
- capable de détecter aussi bien les épidémies localisées que les épidémies largement étendues.
- adapté aux conditions locales [41].

Dès qu'une épidémie est suspectée, il est important de savoir rapidement s'il s'agit véritablement d'une épidémie. Cela nécessite l'envoi immédiat sur le terrain d'une équipe d'évaluation rapide. Cette équipe doit être composée en principe d'un épidémiologiste et/ou d'un clinicien, d'un microbiologiste et/ou d'un technicien de laboratoire, autant que possible expérimentés dans le domaine de la méningite, dont elle est chargée de :

- conduire l'investigation des cas de méningococcie déjà déclarés.
- établir une répartition des cas selon la date, le domicile, l'âge et autres données personnelles.
- établir ou confirmer le diagnostic des nouveaux cas.
- mettre en oeuvre une définition de cas opérationnelle.
- évaluer les protocoles thérapeutiques appliqués sur place.
- évaluer les ressources locales, en personnel et en fournitures pour le traitement et la prévention [41].

❖ Collecte de l'information :

La quantité d'informations à collecter doit mettre en balance le besoin de simplicité avec celui de récolter suffisamment de données pour que celles-ci soient utilisables.

Dans toutes les formations sanitaires, à tous les niveaux, un registre de consultation doit être tenu pour suivre les maladies sous surveillance. Dans ce registre doit être reporté tout cas suspect de méningite bactérienne ou méningococcique, en précisant l'âge, le sexe, l'adresse, la date de début, la date de la consultation, le traitement administré et le mode de diagnostic selon la définition de cas, Ce registre sert de base au décompte hebdomadaire des cas de méningite aigue [41].

❖ Mode de déclaration et Transmission de l'information :

La déclaration régulière, des unités de soins périphériques vers les centres régionaux, et des centres régionaux vers le niveau central du système de santé, est essentielle, elle doit être rapide et fiable, effectuée sur une base hebdomadaire ou quotidienne . Les cas doivent être

notifiés par radio, téléphone, télégramme, télécopie, ou courrier ; différentes voies peuvent être utilisées, selon les moyens attribués aux centres de santé dans un système sanitaire donné. Il convient de définir à l'avance les moyens de communication que l'on va utiliser. Toute autre source d'information (voyageurs, commerçants, chefs religieux, etc.) doit être prise en compte [41].

L'absence de cas doit aussi être rapportée (déclaration zéro cas) pour permettre aux personnels de santé de distinguer les localités sûrement exemptes de méningite de celles où le système de communication a été défaillant [28].

VII.3 Le système de déclaration en Algérie :

- **Au niveau du CHU :**

le directeur de l'unité de CHU collecte chaque jour les relevés au niveau de son établissement .il en adresse au fur et à mesure un exemplaire à la direction générale du CHU (DAPM) et un autre au directeur du secteur sanitaire territorialement compétent [5].

- **Au niveau des structures privés :**

Le responsable de laboratoire privé adresse par voie et en franchise au fur et à mesure un état des maladies confirmées au directeur du secteur sanitaire territorialement compétent [46].

- **Au niveau du secteur sanitaire :**

- conformément à la législation (arrêté n° 179 /MS/CAB du 17 novembre 1990 et circulaire n°1126 MS/DP/SDPG/ du 17 novembre 1990), la déclaration de la maladie est obligatoire ,elle doit se faire,par le médecin traitant et par le chef de laboratoire auprès du service d'Epidémiologie et de Médecine préventive (SEMPEP) territorialement compétent qui devra ,à son tour,procéder à la déclaration simultanément à la direction de la Santé et de la population de sa wilaya,la Direction Générale de la prévention et de la promotion de la santé du MSPRH et à l'institut National de Santé Publique [46].

En cas d'absence de confirmation pendant une semaine ,un état hebdomadaire avec mention néant est établi par le responsable du laboratoire et remis au directeur du secteur sanitaire .

-Dans le cadre de la lutte contre la méningite cérébro-spinale et conformément à la circulaire N°575 du 16 /12/2000 relative au dispositif de lutte contre la méningite cérébro-spinale ,la direction de la prévention a l'honneur de rappeler le DSP ,Directeur Général de l'IPA,Directeur Général de l'INSPque :Compte tenu du contexte épidémiologique particulier de cette maladie ,il est demandé aux services de santé de Wilaya,d'informer par telex,fax ou téléphone chaque fois qu'un cas de méningite purulente est notifié dans l'un des secteurs de chaque Wilaya [5].

-Les cas doivent être déclarés à la Direction de la prévention du Ministère de la Santé, de la population et de la Réforme Hospitalière et à l'Institut National de Santé Publique ; la Direction de Prévention insiste sur le respect des canevas pour toute déclaration de cas.

-Toutes les souches de méningocoque doivent être envoyées au laboratoire de référence de l'Institut Pasteur d'Algérie et l'information de la confirmation bactériologique de chaque cas doit être adressée aux institutions sus citées[**annexe (1)**].

-une enquête épidémiologique doit être faite autour de chaque cas de méningite purulente, dans les plus brefs délais et les mesures préventives appliquées sur le terrain[**(annexe(5))**].

❖ **Au niveau du CHU BLIDA [5] :**

il est demandé aux services de CHU BLIDA d'informer par telex ou téléphone , la Direction de la Prévention chaque fois que :

*Existence d'un cas de méningite cérébro-spinale si zéro cas était enregistré auparavant [**5**].

*Existence d'un doublement de l'apparition des cas sur trois semaines consécutives .En précisant pour chaque cas les indications suivantes :

Dates de diagnostic, nom, prénom , âge, sexe, adresse(en indiquant la commune et Daira) et l'évolution.

-la Direction de la Santé et de la population de la Wilaya de Blida a transmis le 03 FEV2004, un rappel aux destinataires : Monsieur le directeur général du CHU de Blida , Madame la Directrice du secteur du Secteur Sanitaire de Blida, Messieurs les Directeurs des Secteurs Sanitaires de : Boufarik, Larbaa, El Affroun : « 01 canevas de relevé journalier et hebdomadaire [**(annexe (4))**].

-la Direction de la Santé et de la population de la Wilaya de Blida a transmis le 06 JUIN 2001, aux : Monsieur le directeur général du CHU de Blida, Monsieur le Directeur du Centre Anti-concéréux de Blida , Messieurs les Directeurs des Secteurs Sanitaires de BLIDA, BOUFARIK, ELAFFROUN, LARBAA , Monsieur le Directeur de l'Ecole de Formation de Blida :

*Circulaire Ministérielle N°575/MSP/DP/SDPS concernant le dispositif de lutte contre la méningite cérébro-spinale.

*Instruction ministérielle N°01/MSP/DP en date du 09.04.2001 portant le plan national de surveillance des manifestations post-vaccinales indésirables [**(annexe (3))**].

MODALITES DE PREVENTION

VIII. MODALITES DE PREVENTION

Les méningococcies sont potentiellement évitables par la vaccination et/ou, dans certaines circonstances, l'antibioprophylaxie [41].

VIII.1 L'antibioprophylaxie:[28,41,48,49,50]

VIII.1.1 Objectifs :

La prévention des cas secondaires d'infection à méningocoque repose sur l'antibioprophylaxie des sujets contacts. L'objectif de l'antibioprophylaxie administrée en urgence est d'éliminer un éventuel portage nouvellement acquis chez les sujets susceptibles d'avoir été exposés aux sécrétions oro-pharyngées du patient et de prévenir la diffusion par des porteurs sains d'une souche pathogène dans la population [48].

Entre 1990 et 1999, le nombre de personnes recevant une antibioprophylaxie dans l'entourage d'un cas a augmenté progressivement sans qu'aucune nouvelle donnée scientifique ni recommandation nouvelle ne justifient cette tendance. Dans l'entourage familial d'un cas, la médiane du nombre de personnes traitées a augmenté de 4 à 5 et la moyenne de 5 à 8 personnes ; dans la collectivité, la médiane a augmenté de 19 à 36 et la moyenne de 42 à 70 (données de la déclaration obligatoire 1990-1999). Malgré cette extension de l'antibioprophylaxie, la proportion de cas secondaires demeure stable depuis 1990, soit 1 à 2% de l'ensemble des cas déclarés [41].

Le nombre de plus en plus important de personnes recevant un traitement antibiotique court à visée préventive risque d'entraîner l'apparition de résistances des *Neisseria meningitidis*, mais aussi d'autres espèces bactériennes, comme le pneumocoque ou les bacilles de la tuberculose. Il est donc nécessaire de bien définir les sujets contacts pour lesquels une prophylaxie devra être mise en place .

VIII.1.2 Définition des sujets contacts :

L'élément indispensable pour la transmission du méningocoque est l'existence d'un contact direct avec les sécrétions oro-pharyngées d'un sujet infecté. Certains facteurs sont nécessaires à la transmission des méningocoques ou peuvent la favoriser :

La proximité : on admet que la transmission orale des sécrétions oro-pharyngées nécessite une distance de moins de 1 mètre entre une personne infectée et une personne réceptrice (du fait de la faible survie du méningocoque dans l'air).

La durée du contact : lors d'un contact bouche à bouche, le temps de contact importe peu. Lorsqu'il s'agit de contacts rapprochés (moins d'un mètre) sans contact buccal, la probabilité de transmission des sécrétions oro-pharyngées augmente avec la fréquence et la durée du contact.

L'irritation de la muqueuse oro-pharyngée du sujet infecté peut provoquer la toux et favoriser la projection des particules salivaires contaminantes [28].

le risque d'exposition du personnel de laboratoire au méningocoque, reste limité au cas de souillure des muqueuses oculaires, nasales ou buccales.

VIII.1.3 Conduite à tenir pour la mise en œuvre d'une antibioprofylaxie autour d'un cas:

Le médecin de ville ou le médecin hospitalier, est chargé d'identifier les contacts familiaux du malade et de proposer une antibioprofylaxie à l'ensemble des personnes de l'entourage familial du cas. Le MISp de la DDASS est chargé, en liaison avec les services concernés :

- d'identifier les contacts extra familiaux .
- de coordonner la mise en place de l'antibioprofylaxie dans la collectivité fréquentée par le cas si nécessaire[41] .
- de s'assurer que tout a été mis en œuvre pour retrouver et informer les sujets contacts familiaux et extra-familiaux et que ces personnes ont accès aux soins .
- de s'assurer que la souche isolée chez le malade a été envoyée au CNR .
- de s'assurer, lors de la délivrance de l'antibioprofylaxie, de l'information des personnes répondant à la définition des sujets contacts afin qu'elles consultent un médecin en cas de troubles évocateurs d'une infection [55] .
- de prévenir la direction générale de la santé quand :le malade est un ressortissant d'un pays étranger, des sujets contacts sont partis dans un pays étranger,des sujets contacts sont dispersés dans plusieurs départements.

❖ Situations pour lesquelles les circonstances précises d'exposition doivent être évaluées :

- Réunion familiale : Si les contacts du malade avec les enfants ont été proches et prolongés, ceux-ci doivent recevoir la chimioprofylaxie [55].
- Certains sports de combat comme le judo ou la lutte impliquent un contact physique prolongé avec risque de transmission des particules oro-pharyngées. Les partenaires du malade devront recevoir la chimioprofylaxie. De même, à l'occasion de certains sports collectifs comme le rugby, des contacts physiques prolongés avec risque de transmission des particules oro-pharyngées peuvent survenir par exemple lors des mêlées. Les partenaires de la mêlée devront recevoir la chimioprofylaxie[48].
- Dans les établissements scolaires, écoles élémentaires, collèges et lycées : (2) cas d'infection à méningocoque dans une même classe : la prophylaxie est recommandée pour toute la classe.(2) cas d'infection à méningocoque dans 2 classes différentes : il faut considérer chaque malade comme un cas isolé et appliquer les recommandations de la prophylaxie autour d'un cas, soit la prophylaxie pour les voisins de classe[41].
- Dans les autres situations, sauf circonstances exceptionnelles, les autres personnes ne sont pas considérées comme étant des sujets susceptibles d'avoir été exposés aux sécrétions oro-pharyngées d'un malade et ne doivent pas faire l'objet de mesures de prophylaxie. Ce sont, plus généralement, les personnes qui, tout en ayant fréquenté le même lieu que le malade dans les 10 jours précédant le début de la maladie, n'ont pas eu de contact face à face suffisamment proche et prolongé pour que le risque de transmission du méningocoque puisse être considéré comme supérieur à celui qui existe dans la population générale.

VIII.1.4 Délai de prise en charge des sujets contacts [48] :

Le délai d'incubation des infections à méningocoque varie entre 2 et 10 jours ; la maladie se développe en moyenne dans les 7 jours suivant l'acquisition du portage. Le délai de

développement d'un taux protecteur d'anticorps varie de 5 à 12 jours après l'acquisition du méningocoque. En fonction de ces éléments, l'antibioprophylaxie doit être réalisée dans les plus brefs délais, autant que possible dans les 24 à 48 heures suivant le diagnostic de cas d'infection invasive à méningocoque, et n'a plus d'intérêt au-delà d'un délai de 10 jours après le dernier contact avec le cas, compte tenu du délai d'incubation. Ceci impose que le cas soit signalé immédiatement au médecin de la DDASS. Cette antibioprophylaxie concerne l'ensemble des sujets contacts identifiés, quel que soit leur statut vaccinal [48].

VIII.1.5 Antibioprophylaxie chez des sujets contacts :

L'antibiotique administré autour d'un malade d'infection invasive à méningocoque doit être efficace sur *Neisseria meningitidis* et ne doit pas sélectionner de souches résistantes. Il doit atteindre des concentrations salivaires supérieures à la concentration minimale inhibitrice (CMI) pour *Neisseria meningitidis*. Son action doit être rapide et prolongée dans le temps. Il ne doit pas décapiter une éventuelle infection invasive. Il doit être bien toléré et avec peu de contre-indications. Il doit être d'un emploi pratique avec un traitement de courte durée. Le médicament qui répond le mieux à ces critères est la **rifampicine** qui réduit le portage avec un succès de 75 à 98 % une semaine après le traitement, le taux de réacquisition étant faible, d'environ 10 % au bout d'un mois. Depuis plus de 10 ans on peut constater que cette antibioprophylaxie est efficace puisque les cas secondaires ont été inférieurs à 2%. Il est important de ne pas faire une utilisation abusive de la rifampicine en prophylaxie compte tenu de son rôle primordial dans le traitement de la tuberculose. En cas de contre indication à la rifampicine, la spiramycine est recommandée. Elle a des taux salivaires élevés : elle nécessite un traitement de 5 jours pour obtenir une efficacité de 85%. D'autres antibiotiques sont à l'étude, mais en l'état actuel des données, la rifampicine reste le traitement recommandé [48].

❖ Schéma de l'antibioprophylaxie :

- **Rifampicine** par voie orale, pendant 2 jours à la dose suivante : - Adulte : 600 mg, 2 fois par jour, Nourrisson et enfant (1 mois à 15 ans) : 10 mg/kg, 2 fois par jour, Nouveau-né (moins de 1 mois) : 5 mg/kg, 2 fois par jour.
 - Ce médicament ne doit jamais être utilisé dans les cas suivants : hypersensibilité à l'un de ses composants et aux rifamycines, porphyries, associations avec des médicaments (delavirdine) et association avec les antiprotéases. Ce médicament ne doit généralement pas être utilisé en association avec les contraceptifs oestroprogestatifs et progestatifs, et la nevirapine. Il est important de prévenir toute jeune fille ou femme en âge de procréer de la diminution de l'efficacité des contraceptifs oraux en cas de prise de ce médicament et de la nécessité d'utiliser une contraception de type mécanique. La rifampicine modifie la pharmacocinétique de nombreux médicaments [41].
 - Effets secondaires :
 - la rifampicine peut entraîner une coloration rouge des sécrétions et colorer de façon permanente des lentilles de contacts souples.

-l'utilisation de la rifampicine ne doit être envisagée au cours de la grossesse qu'en l'absence d'alternative thérapeutique[28].

- **Spiramycine** par voie orale, pendant 5 jours à la dose suivante : Adulte : 1 mg ,2 fois par jour ,Nourrisson et enfant :25mg/kg, 2 fois par jour. Contre-indications : allergie à la spiramycine

- **Ciprofloxacine** : par voie orale ; pour les adultes et enfants à partir de 5 ans; en dose unique. L'Inspection Sanitaire a en réserve deux antibiotiques : Rifampicine flacons de 120ml à 2% Ciprofloxacine comprimés à 500mg

_Remarque : l'**Azithromycine** (Zithromax) ne fait plus partie des antibiotiques recommandés pour cette prophylaxie car n'atteignant pas la CMI salivaire nécessaire.

_Femmes enceintes : La Ciprofloxacine peut être utilisée en dose unique chez la femme enceinte. En cas d'allergie ou autre contre-indication, une dose unique de Ceftriaxone de 250mg peut être injectée en intramusculaire.

Ces molécules ont une efficacité comparable ou supérieure à la rifampicine, mais présentent pour l'une (ciprofloxacine) la particularité d'appartenir à une famille d'antibiotiques qui est d'usage restreint chez l'enfant,et pour l'autre (ceftriaxone) celle de n'être administrable que par voie injectable.Un changement d'antibiotique est recommandé dans les situations d'IIM répétées dans une même communauté si des sujets contacts ont déjà reçu de la rifampicine depuis plus de 10 jours et moins de 5 mois. La mesure concerne l'ensemble des contacts qu'ils aient ou non reçu antérieurement de la rifampicine et s'applique y compris dans les cas où le sérotype est différent de celui du cas précédent. Les suspicions de résistance à la rifampicine sont à explorer en lien avec le CNR, que le biologiste doit contacter sans délai[48].

Tableau X :les antibiotiques applicables à la chimioprophylaxie des méningococcies[41] :

Nom générique	Dose adultes	Dose enfants	Voie d'administration	Durée	Coût
Rifampicine	600mg/12h	10mg/kg/12h	Orale	2 jours	Modéré
Spiramycine	1mg/12h	25mg/kg/12h	Orale	5 jours	Modéré
Ciprofloxacine	500mg	-	Orale	Dose unique	Elevé
Céftriaxone	250mg	-	IM	Dose unique	Elevé

_NB : Dans la mesure où le résumé des caractéristiques du produit est susceptible d'évoluer, il appartient au médecin prescripteur de s'assurer du respect des caractéristiques du produit en vigueur au moment de la prescription [49,50].

Dans la prévention et le contrôle des épidémies, la chimioprophylaxie de masse n'est pas recommandée [41].

VIII.1.6 Certaines mesures, inefficaces et inutiles, sont à proscrire :

- Désinfection rhino-pharyngée et/ou réalisation d'un prélèvement rhino-pharyngé chez les sujets contacts.
- Eviction de la collectivité, en particulier scolaire, des sujets contacts et/ou de la fratrie. [Faible transmission et fragilité du méningocoque, faible nombre de cas groupés et nombre de cas secondaires inférieurs à 2%]
- Désinfection ou fermeture d'un établissement (structure scolaire par exemple).
- Les personnes ayant été en contact avec les sujets contacts du cas index ne sont pas considérées comme à risque [48].

VIII.2 Vaccination anti-méningococcique [37 ,47,50 ,51]

La survenue d'un cas d'infection invasive méningococcique dans une collectivité indique qu'une souche pathogène circule. Des études existantes montrent que, malgré la chimioprophylaxie, un risque de réintroduction de cette souche pathogène existe parmi les sujets contacts qui se retrouvent de façon régulière et répétée dans l'entourage du malade (famille ou collectivité de vie du malade), dans les 3 semaines qui suivent l'apparition du cas. La protection individuelle étant apportée par le vaccin, les collectivités de vie du malade doivent être vaccinées. La chimioprophylaxie est suffisante si les personnes sont dispersées après le dernier contact avec le malade. Il n'y a pas lieu de vacciner les sujets contacts qui ne se retrouvent pas de façon régulière et répétée dans l'entourage du malade ou la même collectivité de vie, pendant les semaines qui suivent le dernier contact avec le malade, même s'ils ont reçu une chimioprophylaxie. L'immunité apparaît en moyenne 10 jours après la vaccination et dure environ 3- 4 ans.

Dès lors que le sérotype d'un méningocoque du groupe A, C, Y ou W isolé chez un malade est connu, une vaccination est recommandée le plus rapidement possible après la connaissance du sérotype et dans un délai maximum de 10 jours après le début de l'hospitalisation du malade, parallèlement à la chimioprophylaxie. Elle est proposée aux sujets contacts suivants :

- Les sujets contacts appartenant à l'entourage proche du malade.
 - Les sujets contacts qui se retrouvent régulièrement et de façon répétée dans la collectivité fréquentée par le malade, pendant les semaines qui suivent le dernier contact.
- Précautions d'emploi d'après le résumé des caractéristiques du produit :

Il est préférable de ne pas vacciner avant l'âge de 18 mois. En cas de contact avec un malade atteint d'infection à méningocoque A, cette limite peut être ramenée à 6 mois. Il n'y a pas de contre-indication connue à la vaccination, y compris la grossesse [50].

Le but de la vaccination contre les méningites bactériennes purulentes est de réduire à la fois le nombre de méningites et donc de décès potentiels [37].

VIII.2.1 Types de vaccin :

On dispose de plusieurs types de vaccin :

- *les vaccins méningococciques non conjugués (bivalent A + C et tétravalent A,C,Y,W)
- *les vaccins méningococciques conjugués (C et tétravalent A, C, Y, W).

VIII.2.1.1 Les vaccins méningococciques polysidiques non conjugués :

A. Caractéristiques des vaccins :

Ces vaccins sont composés de polysides purifiés de la capsule de *Neisseria meningitidis* :

-A et C commercialisé sous le nom de Vaccin méningococcique A + C polysidique®. Il contient 50 µg de chacun des deux polysides.

-A, C, Y, W commercialisé sous le nom de Mencevax®. Il contient 50 µg de chacun des quatre polysides pour une dose de 0,5 ml.

B. Mode d'administration, schéma de vaccination, conservation :

Les vaccins méningococciques non conjugués se présentent sous forme de poudre et de solvant et se reconstituent extemporanément. Ils s'injectent par voie intramusculaire ou sous-cutanée. Ces vaccins sont peu efficaces chez le nourrisson, comme tout vaccin polysidique non conjugué. Il est conseillé de les utiliser seulement à partir de l'âge de 24 mois, sauf contagé ou situation particulière. Une personne vaccinée est considérée comme protégée dix jours après la vaccination et pour trois ans. Cette durée est plus courte pour les enfants vaccinés avant 24 mois.

Ces vaccins doivent être conservés entre + 2 °C et + 8 °C et ne doivent pas être congelés.

C. Efficacité :

Le vaccin A+C est efficace en cas d'épidémie ; il permet de réduire le taux d'attaque, mais n'a pas d'impact avéré sur le portage. La chimioprophylaxie confère une protection immédiate et à court terme, et permet de prévenir la diffusion, par des porteurs sains, d'une souche pathogène dans la population. L'efficacité clinique de la vaccination méningococcique A + C est bien documentée en milieu militaire, un seul échec ayant été constaté en cinq ans pour 1,4 million de personnes vaccinées.

D. Effets indésirables :

Ces vaccins sont bien tolérés, avec, comme réactions mineures, une douleur et/ou rougeur au point d'injection selon une incidence pouvant atteindre plus de 50 % des cas et un épisode fébrile passager chez environ 5 % des vaccinés. Les réactions graves signalées sont très rares. Il peut s'agir de réactions allergiques généralisées (< 0,1 cas/100 000 doses), d'anaphylaxie (< 1 cas/million) ou d'atteintes neurologiques (paresthésies, réactions méningées ou convulsions). Les effets indésirables doivent être déclarés au centre régional de pharmacovigilance correspondant au lieu d'exercice du médecin traitant/spécialiste du patient

VIII.2.1.2 Les vaccins méningococciques polysidiques conjugués :

VIII.2.1.2.a Les vaccins méningococciques C conjugués :

A. Caractéristiques des vaccins :

Les vaccins conjugués disponibles sont :

-Meningitec®, vaccin méningococcique du groupe C oligosidique conjugué à la protéine CRM197 de la toxine de *Corynebacterium diphtheriae* ;

-Menjugatekit®, vaccin méningococcique du groupe C oligosidique conjugué à la protéine CRM197 de la toxine de *Corynebacterium diphtheriae* ;

-Neisvac®, vaccin méningococcique polysaccharidique du groupe C conjugué à l'anatoxine tétanique. Ces vaccins sont adsorbés sur sels d'aluminium.

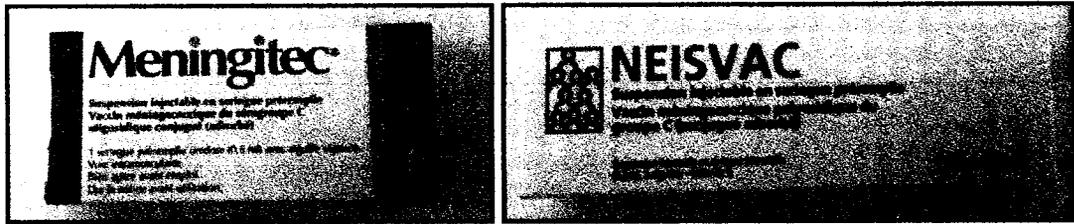


Figure 42 : Exemples de vaccins antiméningocoque C[53].

B. Mode d'administration, schéma de vaccination, conservation :

Les vaccins méningococciques C conjugués se présentent sous forme d'une suspension injectable (Meningitec®, Neisvac®) ou d'une poudre et d'un solvant (Menjugatekit®). Ils s'injectent par voie intramusculaire.

L'avantage de ces vaccins est lié à la conjugaison, qui permet d'être efficace dès le plus jeune âge et induit une immunité T dépendante, avec possibilité de réponse anamnestic. De plus, les vaccins conjugués réduisent le portage, donc la contagiosité, et contribuent à une moindre circulation du germe et à un effet « troupeau ». Le schéma vaccinal est variable selon l'âge.

-Nourrissons de moins de 1 an : deux doses de 0,5 ml, injectées à au moins deux mois d'intervalle à partir de l'âge de 2 mois. Il est recommandé qu'une dose de rappel soit administrée après la primovaccination, au cours de la deuxième année de vie et en respectant un délai d'au moins six mois entre la deuxième dose et le rappel.

-Enfants à partir de 1 an, adolescents et adultes : une injection unique de 0,5 ml. La nécessité d'une dose de rappel n'a pas été établie chez les sujets vaccinés par dose unique. Ces vaccins doivent être conservés entre + 2 °C et + 8 °C et ne doivent pas être congelés.

Efficacité :

l'efficacité protectrice de cette vaccination a pu être mesurée après l'introduction du vaccin C conjugué dans le programme de vaccination des nourrissons (à 2, 3 et 4 mois) et au décours d'une campagne de vaccination de rattrapage des moins de 18 ans. Elle a été estimée, dans l'année qui a suivi la vaccination, à 93 % chez les nourrissons vaccinés en routine, 87 % chez les enfants vaccinés entre 5 et 11 mois, 88 % chez les enfants de 1 à 2 ans, 98 % chez les 3-4 ans et 96 % chez les adolescents de 11 à 16 ans. Au-delà d'un an après la vaccination, l'efficacité reste élevée chez les enfants vaccinés entre 5 mois et 18 ans, mais diminue fortement chez les nourrissons vaccinés en routine. Cette différence souligne l'importance d'une dose tardive. Les vaccins conjugués, rappelons-le, diminuent le portage pharyngé du sérogroupe vaccinal.

C. Associations vaccinales :

Les vaccins méningococciques conjugués C peuvent être administrés en même temps que les vaccins suivants, mais en des sites d'injection séparés : vaccins diphtérique

et tétanique, vaccin conjugué *Haemophilus influenzae* (Hib), vaccin poliomyélitique inactivé, vaccin coquelucheux acellulaire ou à germes entiers, vaccin contre la rougeole, les oreillons et la rubéole, vaccin hépatite B seul ou sous forme de vaccin hexavalent, vaccin pneumococcique conjugué 7-valent. Dans diverses études menées avec différents vaccins, l'administration concomitante de vaccins conjugués méningococciques du séro-groupe C avec des combinaisons contenant des composants coquelucheux acellulaires (avec ou sans virus poliomyélitiques inactivés, antigène de surface de l'hépatite B ou Hib conjugué) a montré des moyennes géométriques des titres d'anticorps sériques bactéricides (ASB) plus faibles comparativement aux administrations séparées ou aux coadministrations avec des vaccins coquelucheux à germes entiers. Les proportions de sujets qui atteignent des titres d'ASB d'au moins 1/8 ou 1/128 ne sont pas touchées. Actuellement, les conséquences potentielles de ces observations sur la durée de protection ne sont pas connues.

D.Effets indésirables :

Lorsque ces vaccins sont administrés simultanément avec d'autres vaccins, les réactions mineures suivantes sont fréquentes : rougeur, sensibilité ou œdème au point d'injection (jusqu'à 50 % des vaccinés), irritabilité (environ 80 % des nourrissons vaccinés) et fièvre supérieure à 38 °C (9 %). Néanmoins, la fréquence de ces effets indésirables est inférieure à celle observée pour d'autres vaccins pédiatriques ou pour d'autres vaccins polysidiques purifiés. D'autres réactions systémiques, telles que céphalées et malaise sont souvent observées après la vaccination de l'enfant, de l'adolescent et de l'adulte (jusqu'à 10 %). Parmi les réactions graves signalées très rarement (< 0,01 %), on trouve des réactions allergiques généralisées ; des troubles neurologiques de type vertiges, convulsions, paresthésies ; des nausées et/ou vomissements ; des éruptions cutanées ; des arthralgies et des purpuras. Les effets indésirables doivent être déclarés au centre régional de pharmacovigilance correspondant au lieu d'exercice du médecin traitant/spécialiste du patient.

E.Contre-indications :

Hypersensibilité à l'un des composants du vaccin, à une précédente administration ou à un vaccin contenant de l'anatoxine diphtérique ou tétanique. Comme pour les autres vaccins, l'administration des vaccins doit être différée chez les sujets présentant une maladie fébrile aiguë sévère.

VIII.2.1.2.b Le vaccin méningococcique polysidique ACYW conjugué MENVEO® :

A.Caractéristiques du vaccin :

Le vaccin méningococcique Menveo® contient 10µg d'oligoside de *Neisseria meningitidis* (N.m) du groupe A, 5µg de N.m du groupe C, 5µg du groupe W et 5 µg du groupe Y, conjugués à la protéine CRM197 de la toxine de *Corynebacterium diphtheriae*.

B.Mode d'administration, schéma de vaccination, conservation :

Le vaccin doit être administré sous forme d'une injection unique d'une dose de 0,5 ml par voie intramusculaire. Ce vaccin doit être conservé entre + 2 °C et + 8 °C et ne doit pas être congelé. Ce vaccin est indiqué chez les adolescents (âgés de 11 ans et plus) et les adultes.

C.Efficacité :

L'immunogénicité du vaccin méningococcique conjugué tétravalent A, C, Y, W Menveo® a été évaluée chez l'enfant âgé de 11 ans et plus et chez l'adulte jusqu'à 65 ans et comparée à celle obtenue avec deux vaccins tétravalents, non conjugué et conjugué. L'efficacité protectrice a été estimée par l'activité bactéricide du sérum en présence de complément humain (titre hSBA > 1:8).

-Immunogénicité chez les adolescents : Dans le groupe de sujets âgés de 11 à 18 ans de l'étude pivot, le pourcentage de sujets qui présentaient un titre > 1:8 après une dose de vaccin était : séro groupe A (N = 1 075) 75 % (IC 95 % : 73-78) ; séro groupe C (N = 1 043) 84 % (IC 95 % : 82-86) ; séro groupe W135 (N = 1 024) 96 % (IC 95 % : 95-97) ; séro groupe Y (N = 1 036) 88 % (IC 95 % : 85-90). Dans une étude comparant l'immunogénicité de Menveo® à celle d'un vaccin non conjugué, la réponse immunitaire était similaire (pour les sérogroupe W et Y) et supérieure (pour les sérogroupe A et C) à celle obtenue avec le comparateur non conjugué. Chez les adolescents, un an après la vaccination, la réponse immune bactéricide reste supérieure à celle obtenue avec le comparateur non conjugué pour les sérogroupe C, Y et W135 et similaire pour le séro groupe A.

-Immunogénicité chez les adultes : Dans le groupe de sujets âgés de 19 à 55 ans de l'étude pivot, le pourcentage de sujets qui présentaient un titre > 1:8 après une dose de vaccin était : séro groupe A (N = 963) 69 % (IC 95 % : 66-72) ; séro groupe C (N = 961) 80 % (IC 95 % : 77-83), séro groupe W135 (N = 484) 94 % (IC 95 % : 91-96) ; séro groupe Y (N = 503) 79 % (IC 95 % : 76-83).

-Immunogénicité chez les personnes âgées :

Dans une étude comparant l'immunogénicité de Menveo® à celle d'un vaccin non conjugué chez des sujets âgés de 56 à 65 ans, la réponse immunitaire était similaire pour les quatre sérogroupe et supérieure pour les sérogroupe A et Y.

La durée de protection conférée par le vaccin Menveo® est inconnue. Chez les adolescents, un an après la vaccination, la réponse immune bactéricide reste supérieure à celle obtenue avec le comparateur non conjugué pour les sérogroupe C, Y et W et comparable pour le séro groupe A.

D.Associations vaccinales :

Menveo® peut être administré en même temps que le vaccin diphtérique, tétanique,coquelucheux acellulaire (Tdap) seul ou avec le vaccin Tdap et le vaccin quadrivalent papillomavirus humain. L'administration de Menveo® un mois après le Tdap a montré des réponses immunitaires vis-à-vis du séro groupe W significativement plus basses statistiquement. Comme il n'y avait pas d'impact sur le pourcentage de sujets séroprotégés, les conséquences cliniques ne sont actuellement pas connues. Une légère diminution de la réponse immunitaire vis-à-vis de deux des trois antigènes de B. pertussis a été observée. La pertinence clinique de cette observation n'est pas connue.

E.Effets indésirables :

La sécurité de Menveo® a été évaluée dans cinq essais cliniques randomisés contrôlés incluant 6 185 sujets (âgés de 11 à 65 ans) qui ont reçu Menveo®.

L'incidence et la gravité de toute réaction locale, systémique ou autres réactions étaient généralement semblables dans le groupe Menveo® dans toutes les études et dans les groupes d'adolescents ou d'adultes. Le profil de réactogénicité et les taux d'événements indésirables parmi les sujets âgés de 56 à 65 ans qui ont reçu Menveo® (N = 216) étaient semblables à ceux observés dans le groupe de sujets âgés de 11 à 55 ans. Les réactions indésirables locales et systémiques les plus fréquemment observées dans les sept jours suivant la vaccination étaient une douleur au site d'injection (< 40 %) et des céphalées (30 %).

F. Contre-indications :

L'hypersensibilité à l'un des composants du vaccin y compris l'anatoxine diphtérique (CRM-197), ou une réaction ayant menacé le pronostic vital après une injection d'un vaccin contenant des composants semblables, constitue une contre-indication. Comme pour les autres vaccins, l'administration des vaccins doit être différée chez les sujets présentant une maladie fébrile aiguë sévère.

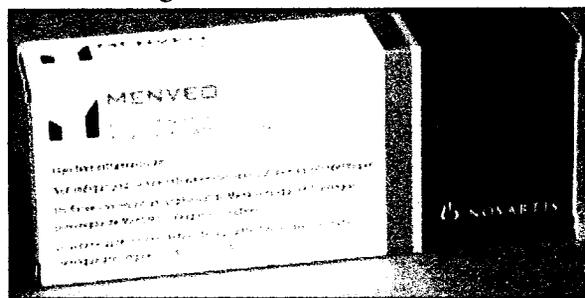


Figure 43 : vaccin antiméningococcique polyosidique conjugué tetravalent [54].

VIII.2.1.3 Les vaccins méningococciques à vésicules de membrane (OMV) : le vaccin contre les infections à méningocoque B :

Les vaccins polyosidiques ne sont pas actifs pour la prévention des infections à méningocoque B. En effet, une communauté antigénique entre le polysaccharide capsulaire B et certains composants du cerveau rend ce polysaccharide d'une part, non immunogène, d'autre part, potentiellement dangereux car pouvant provoquer des réactions auto-immunes. Des vaccins méningococciques B ont cependant été développés contre certaines souches spécifiques à partir des vésicules membranaires (OMV) et utilisés dans le cadre de stratégies de contrôle. Ce sont des vaccins protéiques qui s'apparentent plus aux vaccins conjugués qu'aux vaccins polysaccharidiques (ils sont efficaces chez les nourrissons). Trois vaccins OMV ont été développés jusqu'au 2012 pour répondre à des situations épidémiques (Cuba, Norvège et Nouvelle-Zélande) et aucun de ces vaccins ne dispose d'AMM en Europe. le vaccin MenBVac a été utilisé pour lutter contre l'épidémie de Haute-Normandie [47].

VIII.2.1.4 Nouveau vaccin méningococcique B [51,52] :

La prévention des IIM B est donc un problème de santé publique partagé par de nombreux pays. Bexsero®, premier vaccin recombinant contre les méningocoques du sérotype B a obtenu une autorisation de mise sur le marché (AMM) européenne le 14 janvier 2013 avec une indication large « indiqué pour l'immunisation active des sujets à partir de l'âge de 2

mois contre l'infection invasive méningococcique causée par *Nisseria meningitidis* de groupe B. . . » . En décembre 2013 le Haut conseil de santé publique (HCSP) a recommandé cette vaccination chez les personnels des laboratoires de recherche travaillant spécifiquement sur le méningocoque ; les personnes porteuses d'un déficit en fraction terminale du complément ou qui reçoivent un traitement anti-C5A, notamment celles recevant un traitement par eculizumab (Soliris®) ; les personnes porteuses d'un déficit en properdine ou ayant une asplénie anatomique ou fonctionnelle et celles ayant eu une greffe de cellules souches hématopoïétiques. Cette vaccination est également recommandée pour des populations ciblées dans le cadre de situations spécifiques comme les grappes de cas ou des situations épidémiques. Deux autres situations font l'objet d'un avis d'un groupe multidisciplinaire d'experts quant à la pertinence et aux modalités éventuelles d'une action locale de vaccination par ce vaccin, grappes de cas définies par la survenue d'au moins 2 cas d'IIM B dans une même collectivité ou un même groupe social, dans un intervalle de temps > 4 semaines et 3 mois, survenus et rattachables à des souches identiques couvertes par le vaccin Bexsero® ou ne pouvant être différenciées. Enfin, les situations d'hyperendémie, correspondant à l'installation progressive et potentiellement durable d'un clone dans une zone géographique. S'il existait peu de doute sur l'efficacité potentielle de ce vaccin d'après les données du dossier d'AMM, les recommandations du HCSP sont venues renforcer les espoirs qu'il soulevait. En effet, ce vaccin induit une réponse bactéricide chez les enfants vaccinés pour environ 85 % des souches de méningocoque B circulant en France . Cependant, après l'obtention de l'AMM, plusieurs questions demeuraient sans réponse: l'ampleur de l'efficacité ; la tolérance à large échelle, les études pré-AMM n'ayant inclus que quelques milliers de patients, la possibilité d'effets indésirables rares mais graves, n'était pas exclue ; l'effet réel sur le portage des souches de méningocoques, permettant d'espérer un effet de groupe ; la durée de protection escomptée ; et enfin, le rapport coût-efficacité.

Le schéma vaccinal pour la primovaccination des nourrissons de 2 à 5 mois comporte 3 doses de vaccins à administrer la 1ère année et un rappel entre 12 et 23 mois. Entre 6 et 11 mois, le schéma comporte 2 doses et un rappel dans la 2ème année. A partir de 12 mois, le schéma comporte 2 doses .Ce vaccin peut s'administrer en même temps que les autres vaccins pédiatriques ou séparément . Administré seul, la fréquence de survenue d'une fièvre comprise entre 38°C et 38,9 °C est de 35 %, comparable à celle des vaccinations de routine des nourrissons dans les essais cliniques. Administré avec d'autres vaccins, une fréquence supérieure de survenue de fièvre (60 %) et de réactions systémiques a été observée mais peu de sujets (2 %) ont présenté une fièvre 40 °C. A ce jour plus de 500 000 doses ont été administrées et ce vaccin est disponible dans de nombreux pays. En Grande Bretagne, il est recommandé depuis mars 2014 pour les nourrissons dès l'âge de 2 mois, la campagne de vaccination devait débuter en juin 2015 . En France, dans l'avis du 25 octobre 2013, le Comité technique des vaccinations (CTV) a reconnu que ce vaccin paraissait innovant avec une forte présomption d'efficacité mais un ratio coût-efficacité incertain [51,52].

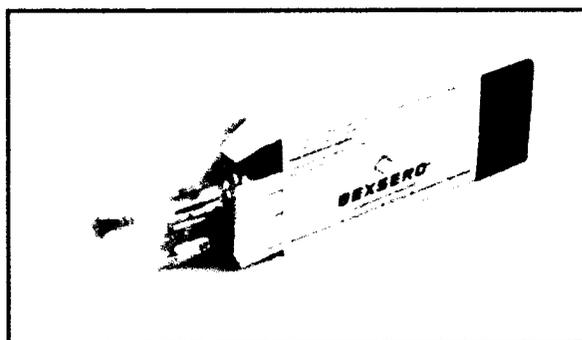


Figure 44 : vaccin méningococcique B[51].

VIII.2.2 Politique vaccinale , recommandations :

-La vaccination systématique avec une seule dose de vaccin méningococcique C conjugué est recommandée chez tous les nourrissons âgés de 12 à 24 mois. Durant la période initiale de mise en place de cette stratégie et en attendant son impact optimal par la création d'une immunité de groupe, l'extension de cette vaccination systématique jusqu'à l'âge de 24 ans révolus est aussi recommandée selon le même schéma vaccinal à une dose.

-La vaccination est par ailleurs recommandée pour les groupes à risque suivants :

*les sujets contacts d'un cas d'infection à méningocoque de sérogroupe A, C (non antérieurement vaccinés), Y ou W. La vaccination doit être alors réalisée au plus tard dans les dix jours qui suivent le dernier contact avec le cas index .

*les enfants souffrant de déficit en fraction terminale du complément, en properdine ou ayant une asplénie anatomique ou fonctionnelle. L'utilisation du vaccin conjugué tétravalent ACYW est recommandée pour les enfants de 11 ans et plus souffrant de déficit en fraction terminale du complément, en properdine ou ayant une asplénie anatomique ou fonctionnelle. L'Afssaps², dans sa mise au point du 11 novembre 2010, permet son utilisation (hors AMM) pour les enfants âgés de 2 à 10 ans atteints de ces pathologies.

-Pour les voyageurs, la vaccination est recommandée aux personnes :

*se rendant dans une zone d'endémie (en particulier « la ceinture méningitique » en Afrique ou dans toute autre zone où sévit une épidémie, en cas de résidence ou de séjour en contact étroit avec la population locale .

*se rendant dans ces zones pour y exercer une activité dans le secteur de la santé ou auprès de réfugiés.

-Les vaccins recommandés dans ces circonstances sont :

*pour les personnes âgées de 6 mois et plus, en cas d'épidémie due au méningocoque de sérogroupe A, avec le vaccin méningococcique A + C .

*à partir de l'âge de 2 mois, en cas d'épidémie due au méningocoque de sérogroupe C, avec le vaccin méningococcique C conjugué .

*en cas d'épidémie due au méningocoque de sérogroupe W ou Y :

- pour les personnes âgées de 11 ans et plus avec le vaccin tétravalent ACYW conjugué,

- pour les enfants âgés de 2 à 10 ans avec le vaccin tétravalent ACYW non conjugué. Depuis 1988, l'Arabie saoudite exige que les pèlerins se rendant en pèlerinage à La Mecque aient été préalablement vaccinés. Le vaccin tétravalent A, C, Y, W est obligatoire pour ces pèlerins en raison d'un important contagement par des souches du séro-groupe W [47].

-en cas d'épidémie, Une campagne de vaccination de masse bien conduite est capable d'enrayer en quelques semaines une épidémie de méningite à méningocoque due aux sérogroupes A ou C. Il est essentiel de planifier et de mettre en oeuvre rapidement une telle campagne. Or il faut du temps pour s'approvisionner en vaccin et pour le distribuer. C'est pourquoi il est conseillé d'établir un programme d'approvisionnement en vaccin avant la survenue d'une épidémie. Le comité de crise doit rapidement décider de l'importance de la population à vacciner, et estimer le nombre de doses de vaccin qu'il est nécessaire de commander. Les facteurs à prendre en considération sont la distribution géographique des cas, le taux d'attaque selon l'âge, et les ressources disponibles. La vaccination doit être concentrée en priorité sur les localités les plus touchées par l'épidémie. Si l'approvisionnement en vaccin, et si le support administratif sont suffisants, la vaccination de masse de la totalité de la population doit être envisagée. Mais si les ressources sont limitées, il peut être nécessaire de restreindre la vaccination aux groupes d'âge les plus exposés, en particulier à ceux dont le taux d'attaque est le plus élevé, ou à ceux où l'on compte le plus grand nombre de cas. Il est raisonnable de proposer d'emblée la vaccination au personnel impliqué dans la lutte contre l'épidémie, y compris le personnel soignant de la zone affectée, quel que soit son âge.

Dans les épidémies dues au séro-groupe A, sachant que la vaccination correspondante est sans danger, et qu'elle peut apporter quelque bénéfice aux nourrissons, même âgés de trois mois seulement, il paraît raisonnable, lors d'une telle épidémie, d'inclure les nourrissons dans le programme de vaccination de masse. Une fois prise la décision de vacciner, l'approvisionnement en vaccins doit être étudié, et quand cela est nécessaire, les ONG et autres agences doivent être contactées pour définir comment se procurer les vaccins et le matériel d'injection. Certaines agences engagées dans l'aide d'urgence fournissent des kits qui contiennent tous les matériels et équipements nécessaires à la réalisation d'une campagne de vaccination de masse. Il est nécessaire habituellement d'organiser la campagne de vaccination de masse en dehors de l'application en routine du PEV. Le vaccin peut être distribué soit par des équipes mobiles, soit par des centres fixes de vaccination, institués dans les centres de santé existants ou dans d'autres établissements communautaires. C'est l'usage de seringues et d'aiguilles autodestructibles qui est aujourd'hui la méthode d'injection de choix dans les campagnes de masse. Les pistolets injecteurs sans aiguille à buse multidose peuvent être utilisés dans certaines situations, quand un grand nombre de personnes doit être vacciné avec le même vaccin, quand l'utilisation de seringues et d'aiguilles autodestructibles est problématique, et quand les autorités sanitaires jugent que le bénéfice de l'usage des pistolets injecteurs l'emporte sur le risque potentiel de transmission d'agents infectieux par le sang. L'utilisation correcte de pistolets injecteurs est en effet plus sûre que l'usage de seringues et d'aiguilles jetables, quand la règle n'est pas

bien appliquée et qu'on ne peut garantir l'absence de réutilisation du matériel. Il faut s'assurer d'un approvisionnement suffisant en matériel d'injection. Une équipe de vaccination comprend en principe : 1 superviseur, 2 infirmiers (ères), 2-3 secrétaires, 2-3 représentants de la communauté, 1 technicien responsable de la chaîne du froid, et 1 chauffeur. Cette équipe doit être en mesure de distribuer au moins 1.000 doses par jour, en utilisant seringues et aiguilles. L'usage de pistolets injecteurs sans aiguille permet d'augmenter le nombre de doses administrées. Les sites de vaccination à établir pour atteindre la population cible dépendront de la densité de l'habitat et des distances entre les agglomérations. Pour assurer chaque jour un maximum de vaccinations, il faut organiser rigoureusement le programme des équipes. Les personnes vaccinées doivent recevoir un document attestant la vaccination. Quand l'usage d'une carte de vaccination n'est pas déjà établi dans la population, celle-ci doit être fournie lors de la vaccination. Cette démarche est destinée à éviter des confusions et à faciliter la surveillance de la couverture vaccinale, de l'efficacité de la vaccination, et à l'évaluation des besoins éventuels de vaccination complémentaire. Le nombre total de personnes vaccinées dans chaque circonscription doit être enregistré quotidiennement, ce qui permet de réestimer le temps nécessaire pour atteindre la totalité de la population visée, ainsi que l'approvisionnement nécessaire. La conservation et le transport du vaccin peuvent être assurés avec la contribution de l'équipement et du personnel du PEV. Lyophilisé, le vaccin méningococcique doit être conservé entre 2 et 8 °C, mais non congelé. Dans ces conditions le vaccin lyophilisé se conserve pendant 2 ans au moins. Une fois reconstitué, le vaccin, à condition d'être réfrigéré, reste stable jusqu'à 5 jours. Cependant, sur le terrain, il est préférable, pour des raisons d'asepsie, de jeter le reste du vaccin reconstitué à la fin de chaque journée de travail. Il importe d'évaluer à l'avance l'espace nécessaire à la conservation du vaccin. Les flacons de 50 doses, solvant et emballage inclus, nécessitent approximativement un espace de 144 cm³, à 2-8 °C [41].

Tableau XI : Récapitulatif de la vaccination antiméningococcique autour d'un cas d'IIM [55].

Sérogroupe du cas index d'IIM	Contact sans antécédent de vaccination	Contact avec antécédent de vaccination contre le sérogroupe correspondant au cas index
IIM C	<p>Vaccin conjugué C</p> <p>A partir de 2 mois :</p> <ul style="list-style-type: none"> - Nourrisson de moins de 12 mois : deux injections suivies d'un rappel au cours de la deuxième année - A partir de 12 mois : une seule injection 	<ul style="list-style-type: none"> ➤ Si vacciné depuis plus de cinq ans avec un vaccin conjugué : <ul style="list-style-type: none"> - Rappel si l'âge était de moins de 5 ans à la première vaccination. - Pas d'injection si l'âge était de plus de 5 ans à la première vaccination. ➤ Si vacciné depuis moins de cinq ans avec un vaccin conjugué : <ul style="list-style-type: none"> - Pas de rappel
		<p>Si vacciné depuis plus de trois ans avec un vaccin <u>non conjugué</u> (bivalent A+C ou tétravalent A/C/Y/W135) :</p> <p>⇒ Revaccination (une dose de conjugué C)</p>
IIM A	<p>De 6 mois à 10 ans ⇒ une dose de vaccin non conjugué bivalent A+C</p>	<p>De 6 mois à 10 ans ⇒ Revaccination si vacciné depuis plus de trois ans (une dose de non conjugué bivalent A+C)</p>
	<p>A partir de 11 ans ⇒ une dose de vaccin conjugué tétravalent A/C/Y/W135</p>	<p>A partir de 11 ans ⇒ Rappel si vacciné depuis plus de trois ans (une dose de conjugué tétravalent A/C/Y/W135)</p>
IIM Y ou W135	<p>De 2 ans à 10 ans ⇒ une dose de vaccin non conjugué tétravalent A/C/Y/W135</p>	<p>De 2 ans à 10 ans ⇒ Revaccination si vacciné depuis plus de trois ans (une dose de non conjugué tétravalent A/C/Y/W135)</p>
	<p>A partir de 11 ans ⇒ une dose de vaccin conjugué tétravalent A/C/Y/W135</p>	<p>A partir de 11 ans ⇒ Rappel si vacciné depuis plus de trois ans (une dose de conjugué tétravalent A/C/Y/W135)</p>

VIII.2.3 la vaccination en Algérie [1,37]

Elle est indiquée en cas d'épidémie ainsi que pour les pèlerins se rendant à la Mecque

En cas de situation épidémique

La vaccination utilisé est de type polysidique non conjugué et concerne uniquement les méningocoques de sérogroupe A, C, Y et W[1,37].

CONCLUSION

VIII. CONCLUSION

Le diagnostic bactériologique d'une méningite à *Neisseria meningitidis* intervient toujours dans un contexte d'urgence médicale ; Bien que l'on observe une diminution de cas depuis la dernière épidémie de Médéa en 1998, la méningite à *N.meningitidis* demeure un problème de santé publique en Algérie, car elle sévit encore à l'état endémique pour cela, le diagnostic bactériologique doit être rapide et fiable . Les méthodes conventionnelles proposées pour le diagnostic , sont complétées par d'autres tests qui constituent la base du traitement antibiotique : détermination de la CMI, de la sensibilité diminuée à la pénicilline pour *N.meningitidis*,

Désormais, les techniques de diagnostic moléculaire par la PCR doivent également prendre une place croissante car, en plus de leur rapidité d'exécution, elles permettront de réduire le taux actuel (62%) de méningites purulentes non confirmées(5).

Toutes les souches de *N.m* isolées doivent être adressées au laboratoire national de référence de l'IPA(**Pr H.Taali Maamar**) pour caractérisation des génotypes (complexes clonaux et séquences type) afin d'établir les profils électrophorétiques en vue de prédire à temps un risque d'éclosion d'une épidémie due à un clone émergent.

La prévention des infections méningococciques est basée sur la vaccination (le vaccin anti-meningococcique polysaccharidique est recommandée) et la chimioprophylaxie .

BIBLIOGRAPHIE

Bibliographie

1. Tali –Maamar.H, Rahal K
Etude de souches de Neisseria meningitidis isolées en Algérie entre 1992 et 2001 Med. Mal .Inf, 2003, 33, 640 – 643.
2. Abdias Ogobara
Etude de l'épidémie de la méningite cérébrospinale de 2005 au Mali, Thèse Présentée et soutenue publiquement Pour l'obtention du DOCTORAT en Médecine (DIPLÔME D'ETAT).
3. <http://www.doctissimo.fr/html/dossiers/meningite.htm>
- 4.A. Ait Khaled, A. Soukehal, A. Ouchefoun ;A. Amrane, L. Zidane et R. Bouakaz
Méningite cérébrospinale en Algérie , considérations épidémiologiques , réflexion sur la prophylaxie à propos de l'épidémie de Blida. Medecine et maladies infectieuse 1981 .
5. Données épidémiologique et statistiques concernant la situation de la maladie au niveau de la wilaya de blida ,Centre de prévention .CHU BLIDA.
6. S. Djelouat
NEISSERIA MÉNINGITIDIS LE MÉNINGOCOQUE
<https://sites.google.com/site/biologieetmedecine/le-meningocoque>
- 7.Sandrine Marchal
La méningite à méningocoque Thèse Présentée et soutenue publiquement,Le 28 septembre 2006 pour obtenir le Diplôme d' Etat de Docteur en Pharmacie.
8. <http://www.docteurlic.com/faq/meningite-reponses-question.aspx>
9. https://www.sciencesetavenir.fr/%2Fsante/%2Fla-meningite-definition-symptomes-traitement_16169.
10. F Smati ,
Vaccins ;Service de Microbiologie ;Benbadis Constantine ;Relu le 13.03.2013.
11. J.P. Carriere,
méningites infectieuses et méningoencéphalites chez l'enfant (et chez l'adulte) version 2008.
- 12.H. Alain.
* méningites purulentes de l'enfant dans le service des maladies infectieuses du centre hospitalier national Yalgado Ouedrogo(CHNYO)*,Aspects épidémiologiques , bactériologiques et thérapeutiques , Thèse présentée et soutenue publiquement le 03 mai 2001 ; Pour l'obtention du grade de DOCTEUR EN PHARMACIE (DIPLOME D'ETAT) .
13. Adrien Deroubaix
Impact des aérosols désertiques et du climat sur les épidémies de méningites au Sahel
,Thèse; pour obtenir le grade de Docteur de l'université Pierre et Marie Curie ; Spécialité Sciences de l'environnement d'Ile-de-France. Mention Physique de l'atmosphère.
14. R . Belouni , K .Rahal ,H .Tali Maamar
Etude cyto-bactériologique et biochimique du liquide céphalorachidien.
- 15.http://www.nature.com/nrneurol/journal/v7/n10/fig_tab/nrneurol.2011.141_F1.html
16. <http://anne.decoستر.free.fr/neiss/neiss.htm>.
- 17.<http://nasmco.com/index.php/les-ponctions>.

18. [http://www.e-semio.org/Trajet-de-l-aiguille-lors-d-une ponction lombaire](http://www.e-semio.org/Trajet-de-l-aiguille-lors-d-une-ponction-lombaire)
19. L . Tissières
Evaluation de la PCR en temps réel pour la détection simultanée de Streptococcus pneumoniae, Neisseria meningitidis et Haemophilus influenzae dans le LCR natif , Vanessa Bisco ,ICHV, Laboratoire de Bactériologie, Sion,Travail de diplôme,2010-2011.
- 20.Techniques de Laboratoire pour le Diagnostic Des Méningites à Neisseria méningitidis Streptococcus Pneumoniae ,Haemophilus influenzae ;OMS ;2000.
21. M Debouverie.
La ponction lombaire et Son rôle aujourd'hui, service de neurologie. CHU de Nancy, 2014.
- 22.https://commons.m.wikimedia.org/wiki/File:Spinal_needles.jpg#mw-jump-to-license .
- 23.Grando j .Born, prélèvements pour hémocultures, fiches conseils pour la prévention du risque infectieux prélèvements microbiologiques, Mai 2004 CCLIN Sud-Est .
24. les prélèvement du sang , cours présentés aux étudiants de médecine .UMUF ,Université Médicale virtuelle Francophone.
- 25.La pratique des hémocultures au CHU de BordeauxVers une simplification , cours pour les étudiants de biologie ; 2000.
- 26.[http://www.soins.infirmiers.com / l'hémoculture.php](http://www.soins.infirmiers.com/l/hemoculture.php).
27. S. Coulibaly
*Evaluation d'un milieu de transport du LCR pour la Confirmation des méningites bactériennes ;Thèse présentée et soutenue publiquement le 15/07/2006 devant laFaculté de Médecine, de Pharmacie et d'odontostomatologie.Pour obtenir le grade de : Docteur en Pharmacie(Diplôme d'Etat) ;Année Universitaire 2005 – 2006.
28. Guide de la lutte contre les méningites bactériennes communautaires, Juin 2010 ; Elaboré avec le soutien de l'OMS ;Ministère de santé du Maroc.
29. K .El Mahtal
Apport de l'examen cyto bactériologique de liquide céphalo-rachidien au diagnostic de la méningites bactériennes , Projet de fin d'études ; Licence en Sciences et Techniques ; Biologie et Santé, 2013-2014.
30. Liquide céphalo-rachidien,cours organisés pour les étudiants en sciences biologiques ;Licence d'Informatique Année 2001-2002.
31. S. Emmanuel
*Impact de la PCR en temps réel dans le diagnostic précoce des méningites bactériennes aiguës au Burkina Faso*Pour l'obtention du DEA.Diplôme d'Etudes Approfondies en Biochimie / Biologie Moléculaire .Appliquées de l'Université de Ouagadougou. Mémoire Présenté Soutenu et présenté publiquement le 31/07/2013.
32. <http://www.medical-labs.net/onpg-test-o-nitrophenyl-%ce%b2-d-galactoside-1424/>
- 33.Recommandations pour le diagnostic des Infections Invasives à Méningocoque en Pays de la Loire ;Harmonisation des procédures clinico-biologiques,Groupe de travail régional,Décembre 2013.

34. Tests de diagnostic rapide par immunochromatographie en zones tropicale, Actualités 2016.
35. <https://www.pasteur.fr/fr/tests-diagnostic-rapide-meningite-meningocoques> ;DES TESTS DE DIAGNOSTIC RAPIDE POUR LA MÉNINGITE À MÉNINGOCOQUES COMMUNIQUÉ DE PRESSE 04.09.2006.
36. Centre National de Référence des Méningocoques ; Rapport d'Activité 2014. Institut Pasteur de Paris ;Unité des Infections Bactériennes Invasives.
37. R.Belouni,H.Tali-Maamar, K.Rahal-CD.ANDS.2011.55pages, Diagnostic batériologique des méningites purulentes.
38. Standardisation de l'antibiogramme en médecine humaine à l'échelle nationale Algérie. OMS 2014.
39. Détermination in Vitro de la CMI (E-test).
40. M . Joly-Guillou
Intérêt du E-test dans le suivi de l'antibiothérapie E-test method for guiding antibiotic therapy. Service de microbiologie, laboratoire de bactériologie, CHU d'Angers, 4, rue Larrey, 49933 Angers cedex 09, France Réanimation 15 (2006) 237–240.
41. Lutte contre les épidémies de meningite à meningocoque : guide pratique ,OMS (Division des maladies émergentes et autres maladies transmissibles surveillance et lutte) ;WHO/EMC/BAC/98.3.
- 42.Surveillance de la résistance des bactéries aux antibiotiques.Rapports d'évaluation. Algérie. OMS (1999 . 2000.2001.2002.2003.2004.2005.2006.2007.2008.2009. 2010.2011.2012.2013.2014).
- 43.Méningites bactériennes ; stratégies de traitement et de prévention ; Inserm,1996.
44. Traitement normalisé de la méningite en Afrique en situation épidémique ou non épidémique ; WHO/CDS/EPR/2007.3.
45. M .Fonkoua, MK Taha, P Nicolas, P Cunin, Alonso JM, Bercion R et al. Recent increase in meningitidis caused by Neisseria meningitidis serogroup A and W135, Yaoundé, Cameroon. Emerg Infect Dis 2002; 8: 327-9.
- 46.Med Ould-Kada
Collection Textes Réglementaires sur la Santé en Algérie ; Prévention Tome 2 ;Juin 2014.
47. Guide des vaccinations. Vaccination contre les infections invasives à méningocoque ; Direction générale de la santé ;Comité technique des vaccinations ; Edition 2012.
48. INSTRUCTION N° DGS/RI1/DUS/2014/301 du 24 octobre 2014 relative à la prophylaxie des infections invasives à méningocoque par Ministère des affaires sociales, de la santé et des droits des femmes. La France.
- 49.Prophylaxie post-expositionnelle en présence d'un ou plusieurs cas d'infection invasive à méningocoque ; Conseil Supérieur Des Maladies Infectieuses ; Luxembourg, le 17.03.2015.
50. M. Drancourt
MÉNINGITE INFECTIEUSE CHEZ L'ENFANT ET CHEZ L'ADULTE, Module 7 - Item n° 96, 2013-2014.

51. Introduction d'une vaccination contre le méningocoque B (Bexsero^W) en France.2014
52. Vaccination contre les infections invasives à méningocoque B Place du vaccin Bexsero[®].2014
- 53.http://untori2.crihan.fr/unspf/Concours/2013_Angers_Oger_Goncalves_Boquel_Vaccination/co/Meningocoque.html.
54. <http://clinicalen.blogspot.com/2014/07/vacina-contr-meningite-c-w-y-postado.html>.
55. Prophylaxie des Infections Invasives à Méningocoque (IIM) - autour d'un cas ;Instruction. (DGS/RI 1/2011/33) du 27 Janvier 2011 ; Journée Régionale de Veille Sanitaire – CHRU Lille ;22 Novembre 2012.
56. Neisseria méningitidis ,urgence thérapeutique,Médecine et maladies infectieuses 39.(2009)629-646 ; cours présentés aux étudiants en pharmacie .
57. T Hervé
Méningites ,cours présentés aux étudiants des sciences biologiques ;Service de Maladies Infectieuses,Hôpital de la Conception ;Assistance Publique –Hopitaux de marseille,2006 .
58. Prévalence des méningites infectieuses diagnostiquées à l'Hôpital Militaire d'Instruction Mohammed V (H.M.I.M.V) de Rabat .2008.
59. S. Badiaga
Les méningites purulentes, Séminaire SFMU 2006 ; Prise en charge précoce du sepsis grave en urgence ; service des urgences, hopital nord F 13915 Marseille cedex 20.
60. Prophylaxie des infections invasives à méningocoque. DGS 2001 jeudi 8 novembre 2001, par Ministère de l'emploi, du travail et de la cohésion sociale, Ministère de la santé,urgence online.
61. A .Bourrillon, E .Bingen
Méningites bactériennes de l'enfant : épidémiologies des germes et de la résistance aux antibiotiques. Presse Med. Inf. n° 18 1994; 228 : 531-539.
62. Jouan M.
Méningite infectieuse aiguë de l'adulte. EMC (Elsevier SAS, Paris), Traité de Médecine Akos 2006 4-0850.
63. A. Perrocheau, AC. Debenoist, SIX C, Goulet V, Decludt B, Levy-bruhl D
Épidémiologie des méningites bactériennes en France en 1999.Masson, Paris Ann. Med. Interne 2002 ; 153, n°5. pp.311-317.
64. JL SCHMIT ; Mise au point sur la vaccination antiméningococcique ; Lille 2015.
65. P. NICOL AS
LE MENOMUNE[®] : UN VACCIN TETRAVALENT POUR LA PROPHYLAXIE DES INFECTIONS A MENINGOCOQUE DES GROUPES A, C, W135, Y.
66. P. Saliou , H. Debois
Quelles stratégies vaccinales contre les épidémies africaines de méningite à méningocoque. Journée en hommage au MG LAPEYSSONNIE, Le Pharo, Marseille, 20 mars 2002.(DGS/RI 1/2011/33) du 27 Janvier 2011 ; Journée Régionale de Veille Sanitaire – CHRU Lille ;22 Novembre 2012.

67. Olivier Epaulard
Traitement des méningites bactériennes purulentes ; Maladies Infectieuses ; CHU de Grenoble ; 04 février 2015.
68. P. MASSIP
VACCINATIONS : BASES IMMUNOLOGIQUES, INDICATIONS, EFFICACITE, COMPLICATIONS ; Septembre 2002.
69. MUNGUR Akshay Kumar
Amélioration du dépistage des méningites bactériennes chez les personnes âgées en médecine générale ; THÈSE POUR LE DIPLÔME D'ÉTAT DE DOCTEUR EN MÉDECINE ; Présentée et soutenue publiquement en 2013 ; UNIVERSITÉ PARIS DIDEROT - PARIS 7.
70. E. Bergogne, P. Deliamonica
Antibiothérapie en pratique clinique ; Ed Masson, Paris, Milan, Barcelone, 1995.
71. Benali Abdelkrim
*Méningite bactérienne nosocomiale : Etude épidémiologique, diagnostic et thérapeutique
Thèse Pour l'obtention du Diplôme de Doctorat En sciences Médicales Maladies Infectieuses CHU de Tizi-Ouzou ; 2014-2015.
72. perception et expérience des médecins quelques mois après l'autorisation de mise sur le marché ; Mémoire original ; Reçu le 18 février 2015 ; Accepté le 17 septembre 2015.
73. A. Benzerroug
ETUDE EPIDEMIOLOGIQUE DE LA MENINGITE CEREBROSPINALE DANS LA REGION D'ALGER , Thèse pour l'obtention du Grade de DOCTEUR EN SCIENCES MEDICALES.
74. Ala-Eddine Deghmane ; Muhamed-Kheir Taha
Physiopathologie des infections invasives à méningocoque ; Institut Pasteur, unité postulante des infections bactériennes invasives, 2006.
75. Isabelle Parent
Épidémiologie des infections invasives à méningocoque en France ; Unité Maladies à prévention vaccinale, Département des maladies infectieuses, Institut de veille sanitaire, 12 rue du Val d'Osne, 94415 Saint-Maurice cedex. 2012.
76. Marc Debouverie
La ponction lombaire : Son rôle aujourd'hui ; CHU de Nancy - service de neurologie - Membre du CIRMA ; Fondation pour l'aide à la recherche sur la sclérose en plaques, 2010.
77. S. André, J. Richard
Conduite à tenir en cas d'épidémie exemple du milieu tropical. édition 2008.
78. Méningite, grippe, tuberculose... comment l'Algérie fait face aux maladies, Le Journal d'Elwatan ; le Vendredi 11 Janvier 2013.
79. M. BOULAMA, R. MICHEL, L. OLLIVIER, J.B. MEYNARD, P. NICOLAS, J.P. BOUTIN
CORRÉLATION ENTRE LA PLUVIOMÉTRIE ET LA MÉNINGITE À MÉNINGOCOQUE AU NIGER. 2005.

80. Dominique GENDREL
VACCIN ANTI-MENINGOCOQUE C CONJUGUE.
81. Prise en charge des méningites bactériennes aiguës communautaires. 17ème Conférence de Consensus en Thérapeutique Anti- infectieuse. Med. Mal. Inf. 19 novembre 2008.
82. Ponction lombaire, soins et surveillance. Consulté en ligne sur <https://www.aqesss.ca>, le 20 février, 2014.. <http://www.aqesss.ca>.
83. S. Ansart
Antibiothérapie d'une méningite présumée bactérienne adulte (rationnel, modalités, durée, suivi) . Disponible sur Internet sur www.sciencedirect.com.
84. Jean Marc
SURVEILLANCE MICROBIOLOGIQUE DES MENINGITES BACTERIENNES AIGUËS AU NIGER ; Centre de Recherche Médicale et Sanitaire; SAISON 2012 (Novembre 2011 – Juin 2012).
85. F. Boumeddane , M Si Amar
THESE *LA MENINGITE BACTERIENNE*. UNIVERSITÉ ABOUBAKR BELKAID – TLEMCEM. Année universitaire: 2009-2010.
86. R. François
Méningites communautaires ; prise en charge thérapeutique des bactériémies aiguës communautaires ; (conférence de consensus de novembre 2008).
87. Contrôle des épidémies de méningite en Afrique, Guide de référence rapide à l'intention des autorités sanitaires et des soignants ; Révisé en 2015, OMS.
88. <http://www.who.int> .
89. Réseau algérien de surveillance de la résistance bactérienne aux antibiotiques. (AARN): [http:// www. sante.dz/aarn /index.htm](http://www.sante.dz/aarn/index.htm).
90. www.sciencedirect.com.
91. <http://www.vulgaris-medical.com/encyclopedie-medicale/meningite>.
92. <http://www.mpedia.fr/491-meningite-purulente.html>.
93. <http://www.pasteur.fr/ip/easysite/pasteur/fr/sante>.
94. www.gov.mb.ca/health/publichealth/index.fr.html.
95. www.phac-aspc.gc.ca/im/index-fra.php.
96. <http://www.inpes.sante.fr/10000/themes/vaccination/guide-vaccination>.
97. <http://www.2m2.fr/ouvrage/remic.htm>.
98. DzairInfos.com © 2017.
99. www.sante.gouv.fr/meningite-accueil.html
100. http://www.memoireonline.com/02/13/6892/m_Conduite--tenir-devant-un-LCR-Liquide-Cephalo-Rachidien--purulent1.html
101. <http://fr.allafrica.com/stories/200602070108.html>.

102. <http://www.jeuneafrique.com/284034/societe/sante-risques-de-nouvelles-epidemies-de-meningite-afrique-2016-selon-loms/>.

103. <http://www.algerie360.com/femme-sante/la-meningite>.

104. <http://www.radioalgerie.dz/news/fr/tags/%C3%A9pid%C3%A9mie-de-m%C3%A9ningite>.

105. <http://www.leparisien.fr/societe/alerte-a-la-meningite-w-sur-le-campus-29-12-2016-6503760.php>

106. E. Carbonnelle

Apport des examens biologiques dans le diagnostic positif, la détermination de l'étiologie et le suivi d'une méningite suspectée bactérienne. *Med. et Mal. Infect.* 2009, 39, 581-605.

107. Ka. Roughyatou

REALISATION DE L'ANTIBIOGRAMME ,cours présentées aux étudiants de sciences biologiques ,paris ,2009.

108. Chakour M et Coll.

Diagnostic biologique rapide en contexte épidémique : état des lieux, perspectives. *Med. et Mal. Infect.* 2003, 33, 396 – 412.

109. <http://www.microbes-edu.org/professionnel/Neisseriades/neisseria.html>

110. Chanteau S et coll

Des tests de diagnostic rapide pour la méningite à méningocoques. *Médecine. Institut Pasteur, plateforme technologique PTS, Paris* 2006.

111. Normes recommandées par l'OMS pour la Surveillance ; Département des Maladies transmissibles- Surveillance et Action. Deuxième édition - juin 2000.

112. J.M Alonso

Diagnostic et typage moléculaire de *N.meningitidis*. Centre National de Référence des Méningocoques 2004. Institut Pasteur. Paris.

113. <http://www.microbes-edu.org/professionnel/observations/obs4/j0/index.html>

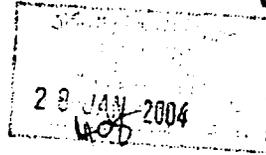
ANNEXE

Annexe (1)

FHX. NO. : 025417208
Feb. 04 2004 09:11AM F2
28/01/04
الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
REPUBLIC ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

MINISTÈRE DE LA SANTE
DE LA POPULATION ET
DE LA REFORME HOSPITALIERE
Direction de la Prévention
N° 154 /MSPRH/DP/SDPS.

وزارة الصحة و السكان
و إصلاح المستشفيات



مديرية الوقاية

Alger, le

28/01/04

FAX

DESTINATAIRES : DSP (tous)

Directeur Général de l'IPA (pour informations)

Directeur Général de l'INSP (pour informations)

OBJET : Rappel

Dans le cadre de la lutte contre la méningite cérébro-spinale et conformément à la circulaire N° 575 du 16/12/2000 relative au dispositif de lutte contre la méningite cérébro-spinale, j'ai l'honneur de vous appeler que.

Compte tenu du contexte épidémiologique particulier de cette maladie, il est demandé aux services de santé de wilaya, d'informer par telex, fax ou téléphone chaque fois qu'un cas de méningite purulente est notifié dans l'un des secteurs de votre wilaya.

La déclaration des cas de méningite purulente est obligatoire, et se fait de manière quotidienne, en période épidémique, et hebdomadaire, en période inter épidémique, avec et toujours nécessité de déclaration du « zéro cas ».

Les cas doivent être déclarés à la Direction de la Prévention du Ministère de la Santé, de la Population et de la Réforme Hospitalière et à l'Institut National de Santé Publique.

Une enquête épidémiologique doit être faite autour de chaque cas de méningite purulente, dans les plus brefs délais et les mesures préventives appliquées sur le terrain

Une vaccination antiméningococcique doit être entreprise dès qu'un cas confirmé ou suspect de méningite cérébrospinale survient dans une collectivité fermée (école, internat, pénitencier, ...), avec chimioprophylaxie de l'entourage immédiat du malade (classe, dortoir, baraquement, cellule...).

Toutes les souches de méningocoque doivent être envoyées au laboratoire de référence de l'Institut Pasteur d'Algérie et l'information de la confirmation bactériologique de chaque cas doit être adressée aux institutions sus citées.

Nous insistons sur le respect des canevas pour toute déclaration de cas. (ci-joint)

Cordiales salutations.



La Directrice de la Prévention

E. Belaïch

Annexe(2)

ROM : DSP/BLIDA

FAX NO. : 025417200

X

République Algérienne Démocratique et Populaire

Ministère de la Santé de la Population
et de la Reforme Hospitalière
Direction de la Santé et de la Population
de la Wilaya de Blida

IV 2141 DAKIF
مديرية الصحة والبيانات
مديرية الصحة والبيانات
04.FEV.2004
19C

N° 295...PREV/DSPB/03

Blida le 2004 - 3

SOIT TRANSMIS

Λ

Monsieur le directeur général du CHU de Blida .
Madame la Directrice du Secteur Sanitaire de Blida .
Messieurs les Directeurs des Secteurs Sanitaires de :
- Boufank .
- Larbaa .
- El Affroun .

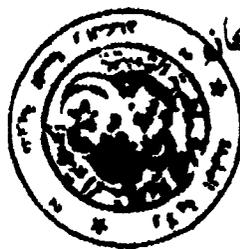
Nombre de Pièces : 03

Objet : Correspondance N°154 /MSPRH/DP/SDPS en date du 26/01/2004
émanant du ministère de la santé, de la population et de la réforme hospitalière
concernant le rappel du dispositif de lutte contre la méningite cérébro-spinale,
conformément à la circulaire N° 675 du 16/12/2000

- 01 un canevas de relevé journalier et hebdomadaire

« en vous demandant de déclarer quotidiennement
par fax avant 14 h »

Pour exécution et suivi



مدير الصحة والبيانات
د. ل. الواسمي

المركز الاستراتيجي الاجتماعي بالبلدة
مديرية الإدارة العامة
04.FEV.2004
FAX 117

Annexe (3)

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTRE DE LA SANTE ET DE LA POPULATION
DIRECTION DE LA SANTE ET DE LA POPULATION DE
LA WILAYA DE BLIDA

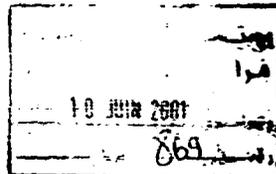
M: 172/87 msp h08

Bate text officiel
(scale)

N° / 321 / DSP / 99

06 JUIN 2001
Blida, le.....

SOIT TRANSMIS



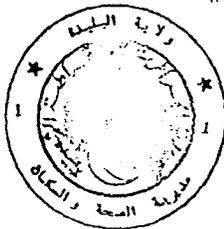
A

- X - Monsieur le Directeur Général du Centre Hospitalier Universitaire de Blida (siège : Hôpital FRANZ FANON de Blida)
- Monsieur le Directeur du Centre Anti-Cancéreux de Blida
- Messieurs les Directeurs des Secteurs Sanitaires de :
 - BLIDA. (siège : Hôpital Civil)
 - BOUFARIK.
 - EL-AFFROUN.
 - HARBAA. (siège : Hôpital de Mestah)
- Monsieur le Directeur de l'École de Formation Paramédicale de Blida (Hôpital Civil)

Nombre de pièces :

Objet : -

- Circulaire Ministérielle n° 575/MSP/DP/SDPS concernant le dispositif de lutte contre la méningite cérébro-spinale.
 - Instruction ministérielle n° 01/MSP/DP en date du 09.04.2001 portant le plan national de surveillance des manifestations post-vaccinales indésirables (M.P.V.I.).
 - Instruction ministérielle n° 02/MSP/DP en date du 09.04.2001 portant plan national d'élimination de la rougeole.
- " ENRE INFORMATIONS ET LARGE DIFFUSION "



Signature and stamp of the official.

Ces correctifs ou compléments portent sur le diagnostic clinique et bactériologique, le traitement curatif et prophylactique, ainsi qu'à la surveillance épidémiologique.

A cet effet, trois instructions techniques, relatives au diagnostic, au traitement et à prophylaxies des méningites purulentes en général et de la méningite cérébro-spinale en particulier ont été élaborées.

La première instruction technique à trait au diagnostic clinique, bactériologique, aux indications techniques de la ponction lombaire et aux méthodes d'ensemencement du liquide céphalo-rachidien.

La seconde instruction technique concerne le traitement des méningites purulentes :

- Méningites à méningocoques,
- Méningites à pneumocoque,
- Méningites à hemophilus influenzae,
- Certaines situations particulières.

La troisième instruction technique concerne la surveillance épidémiologique des méningites purulentes en général et de la méningite cérébro-spinale en particulier, la chimioprophylaxie ainsi que la vaccination.



FICHE TECHNIQUE A

La méningite à méningocoque ou méningite cérébro-spinale est une maladie infectieuse et contagieuse, seule méningite bactérienne à expression épidémique, posant un problème de santé publique.

C'est une urgence médicale, car si elle n'est pas rapidement et correctement prise en charge, l'affection peut laisser des séquelles neuro-sensorielles graves.

Les méningites purulentes se vivent à l'état endémo-épidémique dans toutes les régions du pays. Elles sont la cause de nombreux décès particulièrement chez les nourrissons et les jeunes enfants.

Le diagnostic repose sur un geste simple, facile à réaliser : la ponction lombaire.

1. INDICATIONS : Doit être pratiquée :

- Chez le nourrisson et le petit enfant devant tout syndrome infectieux inexpliqué.
- Chez le sujet âgé devant tout trouble psychique dans un contexte fébrile aigu.

COMPTE TENU DE L'URGENCE ET DE LA GRAVITE DES MENINGITES BACTERIENNES PURULENTES, LA PRATIQUE DU FOND DE CIL NE DOIT PAS ETRE UN PREALABLE ABSOLU.

2. PRELEVEMENTS :

- Doit être pratiqué dans des conditions rigoureuses d'asepsie.
- Le liquide céphalo-rachidien estensemencé (5 gouttes au lit du malade directement dans un tube de gélose au sang cuit).
- Un volume de 2 cc de liquide céphalo-rachidien est recueilli dans deux tubes :
 - Le premier tube permettra de procéder à la numération cellulaire, à l'examen direct des antigènes solubles et à la culture bactérienne.
 - Le deuxième tube servira à l'étude biochimique : glychorachie et protéinorachie.
- Une inoculture devra être faite :
 - 1 cc de sang en microculture chez l'enfant.
 - 10 cc de sang par flacon chez l'adulte.
- Le tube de GSC et le flacon d'hémoculture seront incubés 24 à 48 heures à 37°C.

RECOMMANDATIONS POUR LE RECUEIL ET LE TRANSPORT DU LCR

1. Remplir avec précision la fiche de renseignements selon le modèle ci-après :

N° d'enregistrement.....	date d'enregistrement.....
Nature du prélèvement.....	
Nom du malade.....	Prénom.....
Age :.....	Sexe.....
Service d'hospitalisation :.....	Médecin traitant.....
Adresse.....	
Renseignements cliniques ou diagnostic.....	
Traitement antibiotique reçu : Non / / Oui / /	
Si oui lequel :.....	
Date de la dernière prise.....	

2. Tubes stériles fournis de préférence par le laboratoire. Etiqueter soigneusement les tubes avant le prélèvement.
3. Gélose au sang cuit inclinée si nécessaire (absence de service de garde ou éloignement) remise à température ambiante ou encore un milieu de transport préconisé par l'OMS fournis par le laboratoire.
4. Aseptic rigoureuse du prélèvement.
5. Prélèvement fait avant toute antibiothérapie.
6. Volume de LCR à prélever : 2ml dans un tube stérile pour la bactériologie et une quantité suffisante dans un deuxième tube pour la biochimie.
7. Aspect macroscopique noté par le médecin traitant sur la fiche.
8. Eviter de réaliser une PL hémorragique, qui fausse la numération cellulaire.
9. Faire une hémoculture sur Castaneda à raison de 1 à 5cc de sang, en microcult pour l'enfant et de 5 à 10cc pour l'adulte.
10. Transport immédiat du prélèvement au laboratoire et en cas d'examen différé, conserver les prélèvements à température ambiante.
11. Ur. résultat cyto bactériologique d'orientation sera remis dans l'heure qui suit.
12. Mise en culture systématique de toute PL, quelque soit le résultat de la numération cellulaire.

FICHE TECHNIQUE B

I. Indications de l'antibiothérapie des méningites purulentes :

Plusieurs cas sont à individualiser :

- Examen direct et/ou antigène soluble positif :

- Cocci gram négatif = N. méningitidis

Antibiotique :

de 1° intention : Ampicilline
de 2° intention : Amoxicilline
de 3° intention : Pénicilline G
de 4° intention : Chloramphénicol (en cas d'allergie)

- Cocci gram positif = Streptococcus pneumoniae

Méningite sans signes de gravité.

1° intention : Amoxicilline d'emblée
2° intention : Ampicilline

Méningite avec signes de gravité. Outre les mesures de réanimation;

1° intention : Cefotaxim ou Ceftriaxone
2° intention : Chloramphénicol (en cas d'allergie)
3° intention : Ampicilline
4° intention : Rifampicine/ Vancomycine
(selon antibiogramme)

- Bacille gram négatif = Hemophilus influenzae

1° intention : Cefotaxime ou Ceftriaxone
2° intention : chloramphénicol
3° intention : Amoxicilline

- Examen direct négatif- antigènes solubles négatifs- pas de signes d'orientation

- Chez l'enfant de plus de 3mois et de moins de 5ans = H. Influenzae probable :

1° intention : Cefotaxime ou Ceftriaxone
2° intention : Chloramphénicol
3° intention : Amoxicilline

- Chez l'enfant de plus de 5 ans = S. Pneumoniae

1° intention : Amoxicilline
2° intention : Cefotaxime ou Ceftriaxone

II. Durée du traitement :

Méningite à *N.meningitidis* : 8 à 10 jours avec PL à J1 et à J3

Méningite à *S.Pneumoniae* : 15 à 21 jours avec PL à J1, J3 et à J15

Méningite à *H.Influenzae* : 21 jours avec PL à J1, J3 et à J20

Méningite à germes indéterminés : traitement de 10 à 15 jours avec PL à J1, J3 et J8

- Si à J8 la PL est normale : arrêt du traitement.

- Si à J8 la PL est perturbée : maintien du traitement.

III. Critères de guérison :

- Retour de la température à la normale.
- Absence de syndrome méningé.
- Examen neuro-sensoriel normal.

IV. Situations particulières:

1. Méningococcémie:

Le traitement est fonction de l'état clinique.

* Si tension artérielle normale: antibiothérapie par voie intraveineuse + surveillance de la température, le pouls, de la tension artérielle et de la diurèse.

* Si tension artérielle basse: antibiothérapie + hémisuccinate d'hydrocortisone + plasmagel et surveillance des constantes biologiques et cliniques.

- Si état de choc: mise en condition + antibiothérapie + hémisuccinate d'hydrocortisone + plasmagel + réanimation médicale et héparinothérapie le cas échéant.

2. Méningite avec coma:

Après la ponction lombaire, sédation, antibiothérapie par voie intraveineuse, HHC, surveillance de la tension artérielle, pouls, température, diurèse et réanimation médicale.

3. Autres complications:

Hydrocéphalie, ventriculite, hématome sous-dural: La pratique du fond d'œil, de l'échographie transfontanelle chez le nourrisson et de la tomographie axiale devrait les dépister précocément. Un traitement adapté rapidement institué devrait réduire considérablement la fréquence de ces complications et de leurs séquelles.

4. Traitement de la porte d'entrée:

La mise en évidence d'une brèche ostéo-méningée nécessitera la mise sous traitement antibioprophylactique en attente d'une intervention neurochirurgicale destinée à obstruer la porte d'entrée.

Une infection ORL associée à une méningite purulente sera confiée au spécialiste pour une cure radicale de la porte d'entrée.

FICHE TECHNIQUE C

I. La surveillance épidémiologique :

Maladie à déclaration, la méningite à méningocoque peut être à l'origine d'importantes épidémies qui doivent non seulement être déclarées mais également être contrôlées. L'identification du début d'une épidémie nécessite un système de surveillance performant.

La surveillance épidémiologique repose surtout sur :

- La déclaration obligatoire de tout cas de méningite conformément à la circulaire n°009 du 06 mai 1986, relative au système de surveillance des maladies transmissibles.

Outre les modalités de notification contenues dans cette circulaire et transmises aux DSP en Août 1998 par fax et compte tenu du contexte épidémiologique particulier de cette maladie, il est demandé aux services de santé de wilaya d'informer par telex ou téléphone la Direction de la Prévention chaque fois que :

- Existence d'un cas de méningite cérébro-spinale si zéro cas était enregistré auparavant.
- Existence d'un doublement de l'apparition des cas sur trois semaines consécutives.

En précisant pour chaque cas les indications suivantes :

Date de diagnostic, nom, prénom, âge, sexe, adresse (en indiquant la commune et Daira) et l'évolution.

Les déclarations doivent être journalières avec et toujours nécessité de déclaration du « Zéro cas » hebdomadaire en période interépidémique et quotidien en période épidémique.

- L'enquête épidémiologique se fera autour de chaque cas de méningite purulente déclaré selon modèle ci-joint.

II. CHIMIOPROPHYLAXIE :

Il est recommandé d'appliquer une antibioprofylaxie à toute les personnes contact du malade, c'est à dire dans la majorité des cas :

- Tout sujet vivant au domicile du malade ou ayant dormi dans la même pièce, institution ou baraquement dans les dix jours qui ont précédé l'hospitalisation de celui ci.
- Tout sujet ne vivant pas au domicile du malade, mais ayant des contacts proches et répétés avec le cas dans les dix jours précédant l'hospitalisation de celui ci.

Annexe (4)

Canevas de déclaration quotidienne et hebdomadaire

DECLARATION DES CAS DE MENINGITE
(REF. CORRESPONDANCE N° 653 MSP/ DP/ SDPG DU 05/09/98)

- 1- **RELEVÉ JOURNALIER :**
2- **RECAPITULATIF HEBDOMADAIRE :**

Secteur sanitaire	Commune	Nom- Prénom	Age	Méningite purulente (MP)	Méningite à Méningoco- que confirmée par le laboratoire	Méningite à liquide clair	Observations 1-Chimioprophyl- xie 2-Vaccination

Modèle de fiche de renseignements

Service de microbiologie
CHU de Blida

Nom du patient : N° :
Prénom : Date d'enregistrement :
Age : Sexe :
Adresse :
Service d'hospitalisation : Médecin
traitant :

Nature du prélèvement :

LCR

Hémoculture

Autres

Renseignements cliniques :

.....
.....
.....
.....

Traitement antibiotique reçu : Non Oui

Si oui , nom de l'antibiotique :

Dose :

Date de la dernière

prise :

Le :

Signature
du médecin/pharmacien biologiste

Modèle de fiche des 1^{er}s résultats

de

l'étude cyto bactériologique et biochimique du LCR

Service de Microbiologie

CHU de Blida

Nom du patient : N° :

Prénom : Age : Sexe :

Service d'hospitalisation : Date :

Etude cytologique :

Numération cellulaire éléments cellulaires /mm³

Coloration Gram/bleu de méthylène :

Coloration May Grunwald Giemsa :

Lymphocytes %

Polynucléaires neutro..... %

Hématies.....

Autres :

Etude biochimique :

Glucochrome g/l

RESUME :

N.meningitidis est à l'origine d'une méningite purulente qui relève de l'urgence médicale , le diagnostic bactériologique doit être rapide et son identification est bien codifiée à partir d'un LCR. Le méningocoque est une bactérie entourée d'une capsule qui possède une structure biochimique de nature polysidique définissant douze sérogroupes: les plus fréquents sont A, B, C et W. le diagnostic bactériologique est essentiellement basé sur l'examen cyto bactériologique et biochimique du liquide céphalorachidien (LCR) et de l'hémoculture. Le diagnostic par la technique de biologie moléculaire(PCR) apporte un bénéfice dans la rapidité de l'identification du germe ; cette méthode est bien maîtrisée par le laboratoire national de référence de l'Institut Pasteur d'Algérie (Pr H.Taali Maamar) et sera dans l'avenir généralisée dans les services de microbiologie hospitaliers.

L'étude de la sensibilité aux ATB montre que *N.meningitidis* est toujours sensible aux ATB (B-lactamines). Néanmoins la surveillance de la résistance doit être de règle, d'autant plus que des souches à sensibilité diminuée à la Pénicilline ont été isolées en Europe et en Algérie.

En Algérie et en particulier au CHU de Blida très peu de cas de méningites à N.m ont été isolées à raison des modalités de prévention appliquées par les autorités sanitaires et en particulier par l'efficacité des vaccins.

Mots clés : *N.meningitidis* , méningite purulente, diagnostic bactériologique, LCR, Hémoculture, PCR, sensibilité aux ATB .Déclaration(MDO).

ABSTRACT :

N.meningitidis is the cause of a purulent meningitis which is a medical emergency, the bacteriological diagnosis must be rapid and its identification is well codified from a CSF. Molecular diagnosis by PCR is practiced in Laboratory of Algeria Pasteur Institut(Pr H.Taali Maamar). The study of susceptibility to ATB shows that N.m is always sensitive to ATB (β -lactams). Nevertheless, monitoring of resistance should be the rule, especially since strains with reduced sensitivity to Penicillin have been isolated in Europe and Algeria.

In Algeria and in particular at Blida University Hospital, very few cases of meningitis at N.m were isolated because of the efficacy of the vaccines.

Key words: *N.meningitidis*, purulent meningitis, bacteriological diagnosis,CSF,Blood, susceptibility to ATB.Declaration.