

## PORTAGE RHINO-PHARYNGÉ DE MÉNINGOCOQUE X DANS UNE ÉCOLE PRIMAIRE DE NIAMEY (NIGER)

S. DJIBO, P. NICOLAS, G. CAMPAGNE, J.-P. CHIPPAUX

*Med Trop* 2004; 64 : 363-366

**RÉSUMÉ** • Une enquête a été menée chez les 90 élèves de l'école en février 1998, au milieu de la saison sèche, afin de confirmer la faisabilité ultérieure d'une étude d'impact d'un vaccin conjugué sur le portage des *Neisseria*. Tous les enfants avaient été vaccinés par le vaccin polysaccharidique A/C en 1996. Un écouvillonnage du rhino-pharynx a été pratiqué et immédiatement ensemencé sur milieu sélectif. Après 24 heures d'incubation à 37°C, les colonies suspectes ont été inoculées sur milieu de Müller-Hinton. L'identification des *N. meningitidis* a été fondée sur des critères biochimiques classiques, le sérogroupage par agglutination en présence de sérums spécifiques et l'empreinte ADN en électrophorèse en champs pulsés. Sept élèves étaient porteurs de *N. meningitidis* X:NT:P1.5. En outre, l'un d'entre eux était également porteur d'une souche de *N. meningitidis* A:4:P1.9. La forte prévalence des souches du séro groupe X était concomitante avec une épidémie de méningite X, de même sous-type et séquence-type, qui sévissait à Niamey.

**MOTS-CLÉS** • Méningite - *Neisseria* - Portage - Ceinture de la méningite - Afrique - Epidémies

### PHARYNGEAL CARRIAGE OF *NEISSERIA MENINGITIDIS* IN A SCHOOL OF NIAMEY, NIGER

**ABSTRACT** • This study of pharyngeal carriage of *Neisseria meningitidis* in a school in Niamey, Nigeria was carried out to confirm the feasibility of evaluating the impact of conjugate vaccine on the meningococcal carriage. All 90 pupils attending the school were examined during the dry season in February 1998. All children had been vaccinated using polysaccharide A/C in 1996. Samples were collected from the soft palate and immediately seeded on selective medium. After incubation at 37°C for 24 hours, suspicious colonies were re-seeded on Müller-Hinton medium. Identification of *N. meningitidis* was based on standard biochemical criteria, agglutination grouping and DNA fingerprinting. Seven carriers of *N. meningitidis* X:NT:P1.5 were found. One of these carriers also presented a strain of *N. meningitidis* A:4:P1.9. The high prevalence of serogroup X strains coincided with an outbreak of meningitis involving the same sub-type and sequence-type in Niamey.

**KEY WORDS** • Meningitis - *Neisseria* - Carriage - Meningitis belt - Africa - Niger - Outbreak.

La méningite à méningocoques constitue un problème sérieux de santé publique, notamment en Afrique subsaharienne dans la zone appelée ceinture de la méningite de Lapeyssonnie. Dans les pays sahéliens comme le Niger, chaque année en saison sèche on observe une recrudescence des cas de méningite donnant un fond endémique élevé. En outre, tous les 6 à 12 ans surviennent d'importantes épidémies. Ces méningites sont dues le plus souvent à des méningocoques du séro groupe A.

Le méningocoque est un germe spécifiquement humain. L'habitat de *N. meningitidis* est le rhinopharynx qui représente le seul réservoir connu. Une bonne connaissance du portage rhinopharyngé des méningocoques permettrait de mieux comprendre l'épidémiologie, de mieux cibler les sujets à inclure dans la chimioprophylaxie et de tester l'effet de la vaccination antiméningococcique. Comparés aux vaccins méningococciques polysaccharidiques, les vaccins conjugués pourraient optimiser les stratégies de lutte contre les épidémies de méningite grâce à un pouvoir protecteur acquis plus tôt dans la petite enfance et à un impact sur le portage pharyngé du méningocoque (3).

Dans le but d'étudier le rôle que pourrait avoir un vaccin AC conjugué sur le portage de *N. meningitidis*, nous avons effectué une enquête préliminaire sur le portage pharyngé de méningocoques dans une école de Niamey, ville de 700 000 habitants environ, située au centre de la ceinture africaine de la méningite. Des prélèvements rhino-pharyngés ont été effectués chez les 90 enfants d'une école de Niamey dans le but : (i) de confirmer la faisabilité de l'étude du portage ;

• Travail du Centre de recherche médicale et sanitaire, Niamey, Niger (S.D., docteur en médecine, bactériologiste, G.C., docteur en médecine, épidémiologiste et J.-P.C., docteur en médecine, directeur de recherche à l'Institut de Recherche pour le Développement) et de l'Institut de Médecine Tropicale du Service de Santé des Armées, Centre Collaborateur OMS de Référence et de Recherche pour les méningocoques, Marseille, France (P.N., spécialiste du SSA).

• Correspondance: A. J.-P. CHIPPAUX, IRD, BP 1386, Dakar, Sénégal •

• Courriel : Jean-Philippe.Chippoux@ird.sn

• Article reçu le 19/06/2003, définitivement accepté le 23/08/2004.

(ii) d'étudier la monoclonalité ou non du portage de méningocoque grâce à l'emploi de méthodes de biologie moléculaire et (iii) de caractériser, à l'aide des séquences de loci multiples, les clones de méningocoque circulant dans cette école.

## MATÉRIEL ET MÉTHODES

Les enquêtes ont été exécutées à l'école Atlik, une école privée touareg située à proximité du laboratoire, comprenant 90 élèves en moyenne, dont environ 60 % de garçons. L'âge des enfants était compris entre 4 et 17 ans. Tous les enfants ont été vaccinés par le vaccin méningococcique A/C polysaccharidique (Pasteur Mérieux Sérums et vaccins) au cours de l'épidémie de 1996. Les prélèvements pharyngés ont été effectués en février 1998, pendant la saison dite de la méningite à méningocoque. Nous avons obtenu au préalable l'autorisation des autorités académiques, de la direction de l'école, de l'association des parents d'élèves, ainsi que celle des parents et élèves concernés.

Les méthodes bactériologiques que nous avons employées ont été décrites par Riou et Guibourd en che (12). Le prélèvement est effectué avec un écouvillon stérile au niveau du voile du palais, du pharynx postérieur et ensemencé sur milieu chocolat polyvitex additionnés d'antibiotiques (3 µg de vancomycine, 7,5 µg de colymicine et 2 µg de fungi zone par ml de milieu ; bioMérieux, Lyon, France). Les boîtes sont incubées pendant 24 heures à 37° C dans une jarre à CO<sup>2</sup>.

Le lendemain, les colonies ressemblant à celles de *Neisseria* sont recensées. Dans le but de ne pas passer à côté d'un méningocoque et de vérifier la monoclonalité du portage, il était prévu de repiquer toutes les colonies, jusqu'à concurrence de 8, sur milieu de Müller Hinton (bioMérieux, Lyon) à raison d'une colonie par boîte de Pétri. Au delà de huit colonies observées dans la boîte d'origine, huit d'entre elles sont choisies au hasard et ensemencées puis identifiées grâce aux tests suivants : coloration de Gram, oxydase (bioMérieux), catalase (ID color catalase, bioMérieux), étude de l'oxydation du glucose et du maltose et présence d'une gamma glutamyl transférase  $\square$ -Gt. Les colonies Gram négatif, oxydase +, catalase +, glucose +, maltose +, et  $\square$ -GT + sont considérées comme des *N. meningitidis* et sont conservées en double échantillon à -80° C dans des tubes « Nunc » au Centre de Recherche Médicale et Sanitaire (CERMES). Les souches ont été expédiées à l'Institut de Médecine Tropicale du Service de Santé des Armées (IMTSSA) à Marseille dans un milieu de transport délivré par l'IMTSSA pour une identification biochimique grâce à des microgaleries (*Neisseria* 4H, Bio-Rad, Marnes-La-Coquette) et un groupage avec du sérum agglutinant, commercialisé par Bio-Rad (Marnes-La-Coquette) ou fabriqué par l'IMTSSA.

La détermination du sérotype et du séro sous-type a été réalisée grâce à une technique ELISA utilisant le « mono-clonal kit » du *National Institute of Public Health and the Environment* (Bilthoven, Hollande)

La caractérisation par biologie moléculaire a été réalisée à l'IMTSSA de Marseille grâce à 2 méthodes.

• *La technique des séquences de loci multiples (Multilocus sequence typing, MLST)* : pour tous les méningocoques isolés au cours de cette étude, les fragments de 450 paires de base environ appartenant à 7 gènes de ménage (abcZ, adk, aroE, fumC, gdh, pdhC et pgm) ont été séquencés. Les profils alléliques ont été comparés avec les allèles existants sur le site internet MLST (<http://pubmlst.org/>) afin de déterminer leurs séquence types (ST) (6)

• *L'Electrophorèse en champs pulsés (Pulsed field gel electrophoresis, PFGE)* : les fragments de macrorestriction du chromosome entier générés par l'enzyme de restriction Bgl II sont séparés par PFGE comme cela a été décrit précédemment (10). La comparaison des profils obtenus a été réalisée en utilisant les critères de Tenover (14). Il était prévu d'utiliser cette technique pour caractériser les souches non groupables ainsi que les différentes souches de méningocoque isolées chez un même élève afin de vérifier la monoclonalité ou non du portage.

## RÉSULTATS

Lors des prélèvements réalisés en février 1998, 7 élèves sur 90 (7,7%) ont été trouvés porteurs de méningocoques. Tous les 7 portaient des méningocoques du groupe X non séro typables et de séro sous-type P1.5 (X:NT:P1.5). L'étude de ces souches par les séquences de loci multiples a montré que 6 d'entre-elles appartenaient au ST-181 et une au ST-751. Un élève portait lors du même prélèvement une souche A:4:P1.9 de ST-5 et une souche X: NT:P1.5 de ST-751 qui présentaient en PFGE des profils de restriction totalement différents.

## DISCUSSION

Cette étude préliminaire devait permettre ultérieurement l'évaluation du rôle de la vaccination sur le portage de méningocoque. Une diminution du portage grâce à la vaccination par un vaccin conjugué pourrait contribuer à limiter les épidémies de méningite dans la ceinture de la méningite. De façon plus précise, les objectifs étaient de documenter le portage rhino-pharyngé de méningocoques dans une population à risque de la ceinture africaine de la méningite.

Nous avons montré qu'une telle étude était réalisable dans de bonnes conditions. Les souches de méningocoque pouvaient être isolées, identifiées et conservées au CERMES de Niamey. Elles pouvaient, dans un deuxième temps, être expédiées à l'IMTSSA de Marseille.

La monoclonalité du portage est une propriété importante autorisant ensuite à ne prélever et identifier qu'une seule colonie de méningocoque représentative. Un élève portait à la fois des méningocoques des groupes X et A. Le portage de souches de méningocoque appartenant à 2 phénotypes différents avait déjà été mis en évidence par Andersen (1). Bien que dans cette étude il n'en ait pas été isolé, il est habituel de récolter des souches non groupables au cours des

Tableau I - Sérogroupes de *Neisseria meningitidis* isolés des liquides céphalorachidiens reçus au CERMES entre 1995 et 1999.

Années	A	C	X	B	W135	Indéterminés
1995	1883	1	2	0	0	21
1996	218	2	12	0	0	0
1997	168	1	83	2	0	0
1998	58	1	27	0	0	0
1999	42	1	6	0	0	0
2000	700	3	4	0	0	4
Total	3069	9	134	2	0	25

études de portage pharyngé de méningocoque. Pour caractériser le portage pharyngé de méningocoque, il est donc nécessaire d'étudier plusieurs souches et de les caractériser non seulement par le groupage mais aussi par d'autres méthodes : au minimum par des techniques de typage et sous-typage et mieux par des techniques de biologie moléculaire comme le PFGE.

La prévalence de *N. meningitidis* A, le méningocoque de loin le plus fréquent dans la région (2, 11) dont une seule souche a été recueillie, était très faible. Cette souche de ST-5 correspondait au génotype qui a été responsable des épidémies en 1995 et 1996 (9). Après les épidémies 1995 et 1996, le laboratoire de surveillance du CERMES a aussi constaté la diminution des isollements de méningocoques de séro groupe A dans le liquide céphalorachidien en 1997 et 1998 alors que celui des *N. meningitidis* X s'est significativement accru (Tableau I). Puis, de 1998 à 2000, la situation s'est inversée : *N. meningitidis* A a de nouveau augmenté progressivement jusqu'à l'épidémie de mars 2000 tandis que les *N. meningitidis* X disparaissaient. Cette inversion paradoxale de sérogroupes peut être expliquée de deux façons : par l'immunisation normale de la population après plusieurs années d'épidémies de méningite à méningocoque A ou par la vaccination de masse par le polysaccharide A/C, employé dans la prise en charge des épidémies. Cette vaccination aurait réduit le portage du méningocoque A ou C, comme l'avait observé en Egypte WAHDAN *et Coll* (15) et laissé la place à l'émergence d'un autre séro groupe.

Nous avons été surpris de l'homogénéité du portage en février 1998 au niveau de l'école d'Atlik où 7,7% des élèves portaient des méningocoques de groupe X:NT:P1.5 appartenant en majorité au génotype ST-181 et un au ST-751. C'est seulement la deuxième fois qu'un portage de souches de méningocoque X est rapporté dans la littérature. Récemment, Gagneux *et Coll* (5) ont rapporté une prévalence élevée de portage de méningocoque de séro groupe X appartenant au ST-751 chez des enfants au nord du Ghana en 1999 et 2000. Il faut signaler que ce portage suivait une bouffée épidémique de méningite X en 1997 et était observé de façon concomitante avec une augmentation du nombre des cas de méningite X en 1998 à Niamey (4). Deux souches analysées chez des malades à la même période à Niamey appartenaient aussi au ST-181. Nous avons également observé un cas de méningite dû à *N. meningitidis* X:NT:P1.5 dans cette école en 1997. Il semble bien, malgré le faible nombre de souches analysées, que la bouffée épidémique soit due à l'émergence

d'un seul (peut-être deux ?) clone de méningocoque X, comme cela est habituel dans tous les phénomènes épidémiques dus aux méningocoques (8). Cette circulation de souches X n'est pas sans nous inquiéter et nous rappeler l'épidémie mondiale de méningite à méningocoques W135 qui a démarré en Arabie Saoudite en 2000 (13), puis s'est étendue au Burkina Faso en 2001 et 2002 (16), rompant avec une circulation à bas bruit ou des cas sporadiques dans différents pays constatés les années précédentes (7). Bien qu'à notre connaissance la circulation et la bouffée épidémique de méningocoque X soit restée limitée et se soit résolue spontanément, elle constitue une alerte pour une surveillance du potentiel épidémique de ce nouveau séro groupe qui pourrait remplacer ou venir s'ajouter au séro groupe A. Ceci souligne la nécessité de renforcer la surveillance et le diagnostic de laboratoire en Afrique afin de détecter l'ensemble des méningococcies des sérogroupes ABCWXY.

**Remerciements** • Le travail de l'unité du méningocoque à Marseille a été réalisé grâce à un financement du Ministère de la Défense, France (DGA/PEA 980814, n° 00 CO 015).

## RÉFÉRENCES

- ANDERSEN J, BERTHELSEN L, BECH JENSEN B, LIND I - Dynamics of the meningococcal carrier state and characteristics of the carrier strains: a longitudinal study within three cohorts of military recruits. *Epidemiol Infect* 1998; **121** : 85-94.
- CAMPAGNE G, SCHUCHAT A, DJIBO S *et Coll*. - Epidemiology of bacterial meningitis in Niamey, Niger, 1981-1996. *Bull World Health Organ* 1999; **77** : 499-508.
- CAMPAGNE G, GARBA A, FABRE P *et Coll* - Safety and immunogenicity of three doses of a *Neisseria meningitidis* A+C diphtheria conjugate vaccine in infants from Niger. *Pediatr Infect Dis J* 2000; **19** : 144-150.
- DJIBO S, NICOLAS P, ALONSO JM *et Coll* - Outbreaks of serogroup X meningococcal meningitis in Niger, 1995-2000. *Trop Med Int Health* 2003; **8** : 1118-1123.
- GAGNEUX SP, HODGSON A, SMITH TA *et Coll* - Prospective study of a serogroup X *Neisseria meningitidis* outbreak in northern Ghana. *J Infect Dis* 2002; **185** : 618-626.
- MAIDEN MC, BYGRAVES JA, FEIL E *et Coll* - Multilocus sequence typing: a portable approach to the identification of clones within populations of pathogenic microorganisms. *Proc Natl Acad Sci USA* 1998; **95** : 3140-3145.
- MAYER LW, REEVES MW, AL-HAMDAN N *et Coll* - Outbreak of W135 meningococcal disease in 2000: not emergence of a new W135 strain but clonal expansion within the Electrophoretic Type-37 complex. *J Infect Dis* 2002; **185** : 1596-1605.

- 8 - NICOLAS P., DEBONNE J.-M. - Infections à méningocoques. *Pédiatrie/Maladies Infectieuses-Encycl Med Chir* 8-013-A-10 2002, 23 p.
- 9 - NICOLAS P, DECOUSSET L, RIGLET V *et Coll* - Clonal expansion of sequence type (ST)-5 and emergence of ST-7 in serogroup A meningococci, Africa. *Emerg Infect Dis* 2001; 7 : 849-854.
- 10 - NICOLAS P, PARZY D, MARTET G - Pulsed-Field Gel Electrophoresis analysis of clonal relationships among *Neisseria meningitidis* A strains from different outbreaks. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 1997; 16 : 541-544.
- 11 - RIOU JY, DJIBO S, SANGARE L *et Coll* - A predictable comeback: the second pandemic of infections caused by *Neisseria meningitidis* serogroup A subgroup III in Africa, 1995. *Bull World Health Organ* 1996; 74 : 181-187.
- 12 - RIOU J.-Y., GUIBOURDENCHE M. - Laboratory methods *Neisseria* and *Branhamella*. Institut Pasteur Edition, Paris, 1992, 303 p.
- 13 - TAHA MK, ANTIGNAC A, RENAULT P *et Coll* - Expansion clonale de *Neisseria meningitidis* W135. *Presse Med* 2001; 30 : 1535-1538
- 14 - TENOVER FC, ARBEIT RD, GOERING RV *et Coll* - Interpreting chromosomal DNA restriction patterns produced by Pulsed-Field Gel Electrophoresis: criteria for bacterial strain typing. *J Clin Microbiol* 1995; 33 : 2233-2239.
- 15 - WAHDAN MH, SALLAM SA, HASSAN MN *et Coll* - A second controlled field trial of a serogroup A meningococcal polysaccharide vaccine in Alexandria. *Bull WHO* 1977; 55 : 645-651.
- 16 - WORLD HEALTH ORGANIZATION. Meningococcal Disease, serogroup W135, Burkina Faso: Preliminary report, 2002. *Week Epidemiol Rec* 2002; 77 : 152-155.

**À LA CLINIQUE**

**DE LA BIOLOGIE**

**VIROLOGIE HUMAINE**

Leslie Collier  
John Oxford

**Vient**

Cet ouvrage a le mérite de fournir aux étudiants et aux praticiens, l'essentiel de ce qu'il faut savoir en virologie médicale.

Il est divisé en quatre parties :

- 1/ Les principes généraux sur les virus.
- 2/ Toutes les infections virales.
- 3/ Les syndromes spécifiques.
- 4/ Les aspects techniques.

Médecine-Sciences  
Flammarion