

# Neisseriaceae et Moraxellaceae

## 1. MORPHOLOGIE CLASSIFICATION

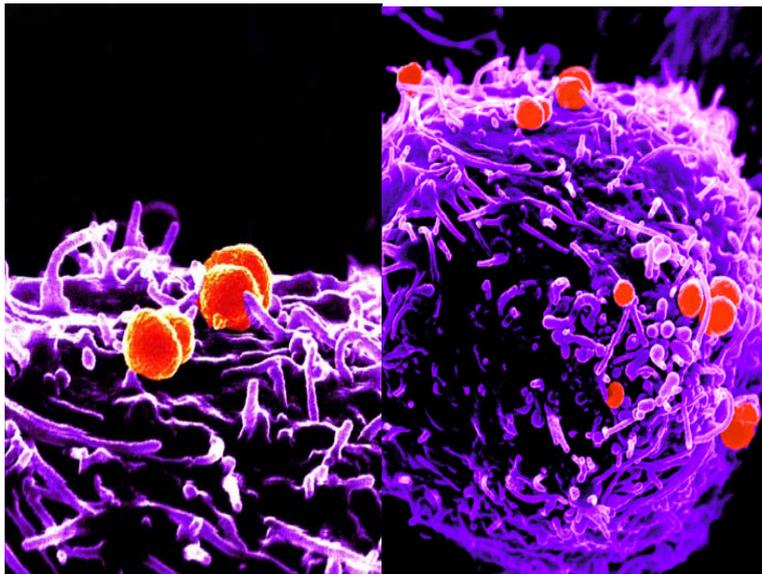
Deux écoles s'opposent sur la définition de la famille des *Neisseriaceae*. Nous avons choisi ici la définition paraissant la plus logique, mais ce choix sera, sans aucun doute, remis en question par des études ultérieures.

La famille des *Neisseriaceae* et la famille des *Moraxellaceae* rassemblent des **coques gram négatif et des coccobacilles gram négatifs**, catalase +, immobiles et oxydase +. *Acinetobacter*, coccobacille Gram - de culture facile et oxydase - en est aujourd'hui parfois exclu... En suivant la [classification de Bergeys](#) :

Famille des <i>Neisseriaceae</i> (GC% de 47 à 52) dans la classe des <i>Bétaproteobacteria</i>	<ul style="list-style-type: none"><li>• genre <i>Neisseria</i> coque.</li><li>• genre <i>Kingella</i> coccobacille proche génétiquement des <i>Neisseria</i>.</li><li>• genre <i>Eikenella</i></li></ul>
Famille des <i>Moraxellaceae</i> (GC% de 40 à 45) dans la classe des <i>Gammaproteobacteria</i> et l'ordre des <i>Pseudomonales</i>	<ul style="list-style-type: none"><li>• genre <i>Moraxella</i> coccobacilles ou coques incluant le genre <i>Branhamella</i> (sous le nom de <i>Moraxella catarrhalis</i>) (certains auteurs maintiennent deux familles, <i>Neisseriaceae</i> et <i>Branhamellaceae</i> incluant le genre <i>Moraxella</i> et même parfois <i>Acinetobacter</i>)</li><li>• genre <i>Acinetobacter</i></li></ul>
Des coques Gram - restent mal classés comme le :	<ul style="list-style-type: none"><li>• genre <i>Oligella</i> coccobacille</li></ul>

*Neisseria* et *Moraxella* sont des **bactéries de culture difficile**. Ce sont des **parasites des muqueuses**. *Neisseria* et *Moraxella* apparaissent souvent en **diplocoques en grain de café**, une face aplatie reliant les deux coques. *Moraxella* est souvent coccobacillaire... mais la différence entre coques et coccobacilles est parfois délicate.

*Acinetobacter* rassemble des coccobacilles ou des coques à Gram - oxydase - qui sont des bactéries de l'environnement extrêmement solides et dont une espèce est fréquente à l'hôpital : *Acinetobacter baumannii*. Ils sont "proches" des *Pseudomonas*.



La différence entre coque et coccobacilles est d'une extrême difficulté, tant pour les Gram + que les Gram -. Quand on connaît le résultat, on s'oriente rapidement vers l'un ou l'autre ! Mais si l'on ne sait pas, attitude normale de l'observateur, mieux vaut une grande prudence.

## 2. ISOLEMENT

Les *Neisseria* et *Moraxella* sont des germes fragiles des muqueuses ou **risquent** de l'être. Il faut donc :

- conserver le produit pathologique au **chaud** et en **atmosphère humide** et le moins longtemps possible.
- l'isolement sera fait sur milieu **préincubé à 36°C** ou plus simplement ne sortant pas du réfrigérateur.
- incubation à **36°C ± 0,5°C, 95 % d'humidité et 10 % de CO<sub>2</sub>**.

La culture est difficile surtout pour les pathogènes : le milieu utilisé sera très riche et ne doit pas inhiber la culture : la gélose au sang frais ne convient pas car elle inhibe le développement des *Neisseria*, probablement par manque de fer libre.

On utilise la gélose au sang cuit ou sa forme moderne, la **gélose Chocolat enrichie (GC + Polyvitex) ou supplémentée**.

Dans les produits polymicrobiens (essentiellement vaginaux), on utilise une gélose sélective, le milieu de **THAYER et MARTIN** qui est une gélose **Chocolat enrichie** additionnée de **VCN** (Vancomycine contre de nombreux gram +, Colimycine contre de nombreux gram -, Nystatine contre les champignons) la nystatine est remplacée par la fungizone dans le mélange **VCF** de Biorad. Biomérieux commercialise un autre mélange **VCAT** (Vancomycine, Colimycine, Amphotéricine (=Fungizone), Triméthoprime). D'autres milieux d'isolement sont possibles pour peu que leur composition convienne : Muller Hinton + Ascite, Columbia.

L'incubation se fera en aérobiose et sous CO<sub>2</sub> :

- **bougie avec dessiccateur** permettant d'obtenir une atmosphère **AÉROBIE** sous CO<sub>2</sub>, solution économique pour de petits laboratoires. La combustion de la bougie laisse une atmosphère aérobie enrichie en dioxyde de carbone lorsqu'elle s'éteint. Une cocotte minute peut remplacer le dessiccateur.
- **jarre avec gaspack CO<sub>2</sub> ou autre dispositif** (comprimé effervescent générateur de dioxyde de carbone grâce à un acide, l'acide citrique, agissant sur l'hydrogénocarbonate). Une cocotte minute peut remplacer la jarre.
- **étuve-incubateur à CO<sub>2</sub>**.

## 3. IDENTIFICATION ET ANTIBIOGRAMME

Après l'examen microscopique, elle repose sur une batterie de tests classiques et particuliers. Notons :

- la **Voie d'Attaque des Glucides** est recherchée en milieu CTA et non Hugh et Leifson.
- l'Oxydase peut être recherchée par vaporisation du réactif à la surface des milieux d'isolement.
- la recherche de la **nitrite réductase en plus de la nitrate réductase** est possible. Utiliser un BGT nitraté ou nitrité et additionné d'ascite.
- la formation de **polyosides** est testée au lugol en milieu hypersaccharosé, soit dans le milieu après culture, soit sur papier filtre.
- la recherche de la **tributyryne** est particulièrement intéressante pour identifier *Moraxella catarrhalis*. Deux techniques possibles : gélose ou disque.
- il en est de même de la **DNase**
- la **gamma glutamyl transférase**.
- il existe des galeries miniaturisées comme la galerie **Pasteur Neisseria (probablement abandonnée)** et la galerie **API NH**.

Le milieu nécessaire à l'antibiogramme pose de graves problèmes car il doit être enrichi et ne permet pas toujours la recherche en raison d'antagonisme avec les composants (sulfamides et thymidine par ex.). On peut utiliser prudemment la gélose chocolat enrichie, les résultats ne sont donc pas toujours fiables.

La recherche de **bétalactamase** est tout à fait réalisable car elle est, si présente, constitutive.

Deux genres dominent la pathologie, *Neisseria gonorrhoeae* et *Neisseria meningitidis*. Ils peuvent être considérés comme des **BPS**, bactéries pathogènes strictes, bien que le méningocoque puisse être **commensal** chez de nombreux porteurs asymptomatiques.

Il existe évidemment des opportunistes comme l'est *Moraxella catarrhalis*.

La morphologie peut être précisée à partir de l'antibiogramme : autour des disques de bétalactamines (sauf Imipénème), les formes coques deviennent des bacilles (sauf pour les "vrais coques").

### Notes sur la galerie API20NH



**galerie API20NH (*Neisseria gonorrhoeae*)**

Elle est prévue pour être lue en DEUX heures. Elle inclut :

- en lecture directe
  - un test chromogénique de recherche de bêta lactamase (bleu -, jaune et variations sur jaune : +).
  - l'étude de diverses utilisations de glucides (GLU, FRU, MAL, SAC) pour lesquelles l'anaérobiose sert au maintien du CO<sub>2</sub> produit dans la cupule pour le virage de l'indicateur de pH
  - ODC
  - Uréase
  - LIPase (incolore -, bleu +)
  - PAL (phosphatase alcaline) (incolore -, jaune +)
  - βGAL (BétaGalactosidase) (incolore -, jaune +)
- après addition de ZYM B dans les trois dernières cupules
  - dans la cupule LIP : ProA Proline aminopeptidase (jaune -, orange +; brun si LIP+)
  - dans la cupule PAL : GGT (Gammaglutamyl transférase) (jaune -, orange +; jaune-orange si PAL+)
  - dans la cupule βGAL : après addition d'un réactif de recherche de l'indole (James par exemple) Indole (incolore -, rose +)

## 4. *Neisseria gonorrhoeae* (GONOCOQUE)

(1879 Neisser, culture par Loeffler en 1892)

Elle est responsable d'une **infection sexuellement transmissible** (IST = MST), la gonococcie, chaude pisse ou blennorrhagie. C'est le gonocoque, bactérie très proche du méningocoque (93 % d'hybridation DNA-DNA, 80 % des séquences DNA identiques).

### 4.1. La maladie :

Chez l'homme la maladie se traduit par une **urétrite** douloureuse à la miction, mais qui ne se complique pratiquement pas. C'est la chaude pisse, nom évoquant clairement les douleurs à la miction.

Chez la femme, le gonocoque se multiplie essentiellement au niveau de l'urètre et de l'endocol. L'infection provoque des pertes vaginales mais peut souvent être **inapparente**. Elle peut s'étendre à l'utérus et aux trompes (salpingite). Cette extension peut même atteindre la peau et les articulations.

Les atteintes rectales et buccales sont possibles.

Chez le nouveau-né, on a observé longtemps une **ophtalmite grave**.

*N. gonorrhoeae* est transmise par les rapports sexuels.

### 4.2. Pouvoir pathogène :

L'examen direct peut révéler la présence de coques gram négatifs libres ou localisés à l'intérieur des granulocytes neutrophiles parasités. Les pilis de la bactérie permettent son adhésion épithéliale qui explique la colonisation initiale, évitant l'élimination de la bactérie par le flux urinaire. Toutefois, la réaction inflammatoire amène des neutrophiles qui sont envahis par les gonocoques, dont une protéine faciliterait ou provoquerait la phagocytose. La sécrétion d'IgA protéases peut expliquer l'absence d'action des anticorps des sécrétions.

Le rôle de la capsule du gonocoque est mystérieux.

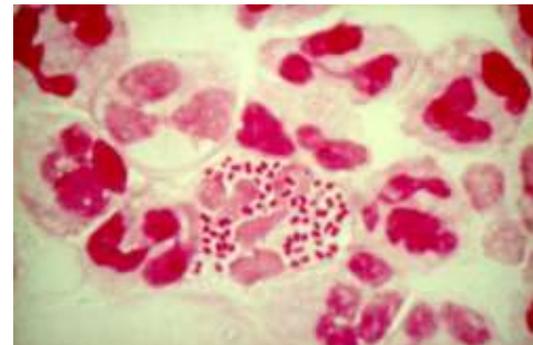
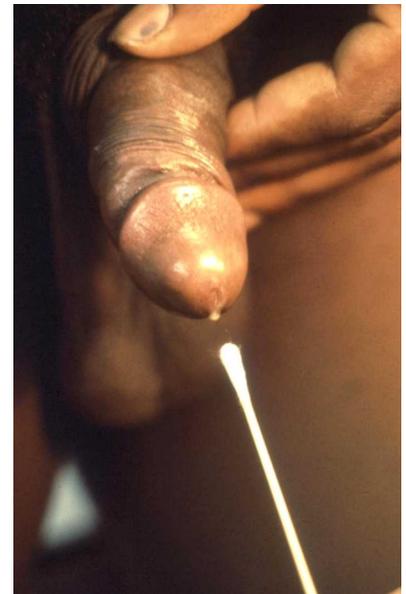
### 4.3. Diagnostic

L'examen direct peut révéler la présence de **coques gram négatifs libres ou localisés à l'intérieur des granulocytes neutrophiles parasités**.

L'isolement sur GC enrichie et GC enrichie + VCN, IMPÉRATIVEMENT sous CO<sub>2</sub> et l'identification seront conduites comme précédemment expliqué.

Il faut insister sur l'extrême importance de l'identification (pour la différenciation d'avec le méningocoque, hôte vaginal possible), en particulier chez le jeune enfant : l'identification d'un gonocoque est alors le signe d'abus sexuels et la condamnation d'un coupable risque de dépendre du résultat du laboratoire...

Il existe un test par coagglutination commercialisé par Murex (?). La détermination d'auxotype peut avoir un intérêt épidémiologique : recherche de l'origine de la souche à relier avec les résistances aux Ab.



Les **techniques de biologie moléculaire** sont très utilisées aujourd'hui car d'une grande efficacité et d'un seuil de détection particulièrement bas. Il existe de nombreux kits commercialisés, qui peuvent combiner plusieurs recherches avec notamment les *Chlamydiae*.

## 4.4. Traitement

Antibiotiques : ampicilline-pénicilline G et probénécide / **spectinomycine** (aminoside utilisé uniquement contre le gonocoque mais retiré de la vente) / thiamphénicol / tétracyclines

Le traitement minute 1997 : **ceftriaxone**. Le traitement minute est particulièrement utile pour des patients qui risquent de ne pas revenir !

Malheureusement, l'apparition de souches **bétalactamase positive** est importante : on doit rechercher la bétalactamase par un test rapide sur disque par exemple.

On estime, sur 86 souches isolées à l'Institut Fournier en 1996, que:

- 31 % très sensibles à Pénicilline G (CMI < 0,0625 µg/mL)
- 36 % sensibilité diminuée (CMI 0,125 - 1)
- 32,6 % résistantes (CMI > 1)

Doivent être traités le malade et de ses partenaires. Il est évidemment fondamental de **traiter les partenaires** qui risquent sinon de recontaminer le patient qui consulte ou de contaminer d'autres partenaires.

Recommandations 2016 pour les IST à *gonocoque* non compliquées :

Ceftriaxone IM: 500 mg dose unique. Cefixime : trop de résistances.

En cas d'allergie aux bétalactamines : azithromycine (2 g PO), gentamycine (240 mg IM), Ciprofloxacine (500 mg PO). Les gonocoques présentent fréquemment des résistances à ces antibiotiques et la diffusion pharyngée de la gentamycine est faible.

Associer un traitement pour les *Chlamydiae*. Contrôler le traitement à J+7.

## 4.5. Prophylaxie

Il n'existe pas de vaccin.

La prophylaxie est celle des IST en particulier l'abstinence sexuelle, l'utilisation de préservatifs... (voir lutte contre le péril sexuel)

Chez le nouveau-né, l'instillation de gouttes de nitrate d'argent dans les yeux prévient l'infection.

## Statistiques BEH 15/2004 :

incidence : 2000 : 82 / 100 000, 2001 : 75 / 100 000, 2002 : 70 / 100 000

Cela représentait environ 1,5 gonocoque par an et par laboratoire...

On constate, comme dans d'autres pays développés, une baisse de l'incidence de la gonococcie.

Antibiotiques période 2001-2002:

- 73% des souches sont Intermédiaire pour la pénicilline, 10 % résistantes et donc 24 % sensibles.
- 16 % sont résistantes à la Ciprofloxacine avec une forte augmentation (6 % en 1998-2000).
- 100 % sont sensibles au Ceftriaxone et à la Spectinomycine.

## 5. *Neisseria meningitidis* (MÉNINGOCOQUE)

Elle est responsable de redoutables **méningites** et de **purpura fulminans**. C'est le méningocoque.

### Trois histoires

---

**La première** s'est passée dans une commune, une des plus riantes, de la banlieue Sud. Atmosphère joyeuse de la période qui succédait à la Libération: F. F. I., tanks de l'armée Leclerc, fanfare, bals publics. Élections : affiches, proclamations, d'un style un peu carabin, car, parmi les candidats en présence, la participation médicale était nombreuse.

Ce soir-là, tous les candidats de l'une des listes étaient réunis dans la salle à manger de l'un des leaders; la femme de ce dernier, craignant que l'éclat des conversations n'importune sa fille reposant à côté dans la chambre, va à 11 heures du soir s'assurer de son sommeil. L'enfant, âgée de cinq ans, présente une respiration stertoreuse.

La mère essaye de l'éveiller; vainement. Affolée, elle appelle au secours les deux médecins qui jouaient à la politique dans la pièce voisine.

Couchée en chien de fusil, les joues congestionnées, un bouquet d'herpès à la lèvre, la petite est dans le coma. Dans l'après-midi, elle s'était plainte de la tête, avait présenté un vomissement.

L'un aidant l'autre, les deux médecins pratiquent une ponction lombaire; le liquide est trouble.

On emballe l'enfant dans une couverture; à minuit, elle est à l'hôpital Pasteur; à minuit et demi, la présence de méningocoques dans le liquide est reconnue, et aussitôt est mis en uvre un traitement sulfamidé.

Le lendemain, l'enfant était sortie du coma; huit jours plus tard, elle rentrait chez elle, elle a été reçue cette année (1956) au certificat d'études.

L'ardeur politique des deux médecins n'avait pas été inutile.

**Deuxième histoire.** Au printemps, l'an dernier, G..., vingt ans, tourneur dans une usine de moteurs d'avions, a emprunté à l'un de ses camarades un scooter pour partir pendant trois jours en Normandie; le scooter a deux places: notre voyageur et sa jeune compagne arrivent le soir à Trouville. Il souffre de céphalée, présente un état nauséeux, se sent fiévreux.

Le lendemain commence le drame: on repart en scooter; à un croisement, mauvaise manuvre, chute; à peine quelques égratignures, mais une poignée de la machine est faussée. Le changement de la pièce, chez un mécanicien, demande la journée. Bien que sérieusement malade, G. refuse de voir le médecin du pays. Nuit à l'hôtel.

Le troisième jour, et non sans peine, c'est par le train qu'on regagne Paris; G. rentre chez ses parents, mais ne veut rien dire et se couche.

C'est donc seulement quatre jours après le début des premiers symptômes qu'il est admis à l'hôpital dans un état effroyable, avec syndrome méningé évident, des contractures généralisées, une intense hyperesthésie cutanée, une fièvre à 40°, un érythème et quelques taches purpuriques.

Avertis indirectement, les médecins peuvent reconstituer l'histoire de la maladie: la ponction lombaire confirme la présence de méningocoques; mais malgré sulfamides et pénicilline, tout traitement s'avère inutile, et la mort survient huit jours plus tard.

L'autopsie révéla un cerveau recouvert de traînées purulentes jaunâtres (avec présence de nombreux méningocoques), des ventricules dilatés, et une moelle enveloppée de fausses membranes adhérentes. Ainsi fut définitivement écarté tout rapport entre la mort et le léger accident de scooter.

Les données de la **troisième** histoire ne sont plus d'ordre évolutif, mais épidémiologique. Dans une école enfantine de la banlieue, mais au Nord de Paris, cette fois, deux cas de méningite cérébro-spinale avaient été observés.

Chez tous les enfants, des prélèvements de gorge avaient été opérés; chez cinq d'entre eux la présence de méningocoques fut reconnue; un seulement présentait un coryza manifeste. L'enquête fut poursuivie de ce côté.

Cet enfant était le troisième d'une famille nombreuse qui en comptait six; le père, la mère et toute la famille étaient entassés dans deux pièces humides en sous-sol, aérées par des soupiraux. Un nourrisson de trois semaines, l'année précédente, était mort de méningite cérébro-spinale. La recherche des méningocoques fut positive chez la mère et tous les enfants. Le foyer épidémique était trouvé; et c'est le porteur de coryza méningococcique qui avait contaminé l'école. La sanction s'imposait; toute la famille fut traitée par des pulvérisations de sulfamides dans la gorge et le nez; mais surtout, elle fut relogée dans des bâtiments neufs, grâce à l'appui de la municipalité.

Le bactériologiste avait apporté la preuve que le taudis est non seulement néfaste pour ceux qui en jouissent, mais aussi pour leur entourage...

## 5.1. La bactérie et son habitat

Chez l'homme *N. meningitidis* est un **hôte habituel du rhino-pharynx** et de bien d'autres muqueuses en particulier vaginale... En France, la prévalence du portage varie de 5 à 50 % de la population selon le degré de promiscuité (BEH n°51/2002) alors que l'incidence de la maladie est de 1/100 000 habitants par an. Elle est strictement humaine. Découverte en 1887 par Weichselbaum.

*N. meningitidis* est capsulée. Ces polysides permettent de distinguer des **sérovars** de *N. meningitidis* dont la classification est confuse. Les plus importants sont A, B, C (90 %) et il existe X, Y, Z, 29E, W135, H, I, K, L. Des commutations de sérovar sont possibles (passage dans une épidémie de B en C par ex.).

Le groupe A est africain et épidémique, le groupe B européen et USA, le C américain. Le Y est en extension en France. Il existe des clones hautement épidémiques.

On notera une **parenté antigénique entre le groupe B et *E coli* K1**.

Le sérogroupage est réalisé par agglutination directe avec les anticorps ou par coagglutination latex, toujours avec des précautions majeures de sécurité. On peut le compléter par l'identification immunologique de protéines de membrane externe (porB et porA)

La pathogénicité des différentes souches est variable, dépendant de plus de l'hôte... Les plus pathogènes rassemblent un ensemble de facteurs de virulence complexe comprenant notamment et pas uniquement les gènes capsulaires.

Les **épidémies** sont fréquentes dans les pays en voie de développement. On remarquera l'existence d'épidémies liées au pèlerinage de la Mecque : la souche responsable est parfois suivie dans sa progression en Afrique. En Europe les cas sont sporadiques et font l'objet de commentaires aux informations tant la méningite reste redoutée dans le grand public.

## 5.2. La maladie

Après la colonisation rhinopharyngée, souvent inapparente, *N. meningitidis* peut passer, **chez des personnes sensibles**, la barrière cutanéomuqueuse du rhinopharynx vers le sang (méningococcémie) et déclencher des troubles qui, dites "**infections invasives à méningocoques**", sont :

- une **méningite cérébrospinale redoutable** qui **tue** ou laisse des séquelles graves en absence de traitement.
- une **forme fulminante dans le purpura fulminans**. Le purpura est une manifestation cutanée hémorragique visible au niveau de la peau par des trainées rouges. Il est lié à une coagulation intravasculaire disséminée, **CIVD**, déclenchée par l'action anormale du LPS sur les leucocytes qui libèrent des quantités excessives de médiateurs, en particulier le **TNFalpha et Interleukine 1** qui causent la coagulation, la destruction des vaisseaux sanguins (purpura) et les troubles plus généraux comme la chute de la pression artérielle : c'est le choc toxique d'un pronostic sombre, la mort survenant très rapidement.  
Une telle réaction anormale semble liée à une grande sensibilité d'individus particuliers sans que l'on puisse dire aujourd'hui s'ils appartiennent à des groupes tissulaires particuliers. (25 % des infections)
- des **arthrites**
- une **pneumonie**

La bactérie semble posséder un ligand au récepteur **CD 147** des vaisseaux sanguins. Cette liaison est indispensable aux troubles. La transmission est strictement interhumaine par les gouttelettes de salive contaminée.

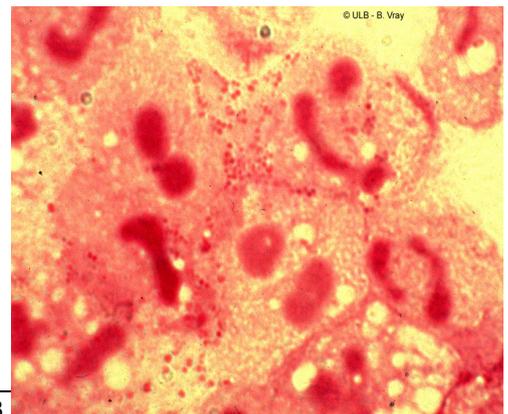
STATISTIQUES :

- **nombre de cas en France entre 2008 et 2012** : environ 600 cas par an (75% chez les moins de 20 ans, beaucoup plus fréquente chez les nouveaux-nés 0-1 an) soit une incidence de 1,2 cas pour 100 000.
- **sérovars** : B : 71% C : 19 % A : exceptionnel, W et Y (10 %) autres : 3 %
- **Taux de létalité des cas confirmés** : 11 %, **de séquelles graves** 5 %. (BEH 51/2002). La létalité est plus grande aux âges extrêmes de la vie

## 5.3. Diagnostic

En cas de méningite, l'examen du LCR permet le diagnostic par :

- l'**examen direct** qui révèle souvent les coques Gram -
- l'**isolement** qui doit obligatoirement être tenté et permet l'identification de la bactérie, son sérogroupage. L'antibiogramme est évidemment réalisé.
- la détection d'antigènes solubles aujourd'hui contestée
- **amplification génique (PCR)**
  - du gène *crgA* mettant en évidence le méningocoque,
  - puis des gènes codant pour la synthèse de la capsule :



- gène siaD codant pour les méningocoques B, C, Y, X135,
- gène mynB pour le méningocoque A

L'amplification génique permet donc de "sérogrouper" la bactérie. L'antibiogramme reste indispensable et ne peut être réalisé que si la bactérie est isolée. Toutefois, l'amplification génique peut permettre de détecter des mutations génétiques responsables de résistance (gène *penA*, *rpoB*, *gyrA*)

Cet examen du LCR est malheureusement faussement négatif dans 38 à 52 %.

La bactérie est aussi découverte alors dans le sang par **hémoculture** qui doit absolument être réalisée car souvent positive quand le LCR est négatif.

Dans les autres prélèvements, la présence de *N. meningitidis* a une moindre valeur.

L'épidémiologie des infections invasives à méningocoque est importante : elle impose une identification beaucoup plus poussée que le simple sérogroupe : identification d'autres Ag, utilisation de l'électrophorèse en champ pulsé. Des clones particuliers peuvent ainsi être caractérisés.

## 5.4. Traitement

La prise en charge des malades est une urgence vitale. Un antibiotique est administré au plus vite (ceftriaxone).

Antibiothérapie : ampicilline-pénicilline G chloramphénicol ou thiamphénicol

Problème : apparition de souches bêta-lactamase positive est importante mais moindre que pour le gonocoque.

## 5.5. Prophylaxie

Il est possible d'utiliser la vaccination contre les polysides A, C, Y, W135 (deux vaccins disponibles : bivalent A-C et tétravalent A-C-Y-W135). Elle est particulièrement utile dans les cas épidémiques (Brésil 74). Elle est depuis très peu de temps possible de vacciner contre le méningocoque B en utilisant des protéines de surface fabriquées par ingénierie réverse (voir compléments). Cette dernière vaccination n'est pas systématique et reste limitée dans son application. À suivre !

La vaccination est obligatoire pour le pèlerinage à La Mecque depuis l'épidémie de 1987.

La chimio-prophylaxie des sujets contact est entreprise si possible. Son entreprise systématique est contestable (rassurer les populations est parfois plus important qu'une réelle prévention) et doit porter en priorité sur les personnes ayant eu des contacts rapprochés avec le malade. Les antibiotiques utilisés sont la **Rifampicine** (avec un risque de diminution de l'efficacité des oestroprogestatifs anticonceptionnels et malheureusement l'apparition de résistances) ou, en cas de contre-indication ou résistance à la rifampicine, ciprofloxacine (orale) ou ceftriazone (injectable), en particulier la grossesse.

La procédure à suivre en France fait l'objet d'une instruction n° DGS/RI1/DUS/2014/301 du 24 octobre 2014 relative à la prophylaxie des infections invasives à méningocoque (faire une recherche pour trouver la référence la plus actuelle...).

CONSULTER :

- <http://www.invs.sante.fr/Dossiers-thematiques/Maladies-infectieuses/Maladies-a-prevention-vaccinale/Infections-invasives-a-meningocoques>
- <http://www.invs.sante.fr/Dossiers-thematiques/Maladies-infectieuses/Maladies-a-prevention-vaccinale/Infections-invasives-a-meningocoques/Donnees-epidemiologiques>

## 6. *Moraxella (Branhamella) catarrhalis*

*Moraxella catarrhalis* est un hôte fréquent du rhinopharynx. Elle est responsable, sur des sujets à risque, d'infections de l'arbre respiratoire, et en particulier d'**otites moyennes**, de sinusites, comme le [pneumocoque](#) ou [Haemophilus influenzae](#). Les infections sont souvent nosocomiales.

Sa bêta-lactamase est particulièrement répandue.

## COMPLÉMENTS

### à lire absolument : BEH n°51/2001 et le BEH 43/2003

(faire une recherche pour trouver le n° du BEH le plus récent)

### Une étude de Jean-Paul BRUNET sur le nouveau vaccin contre le méningocoque B

Ce vaccin est commercialisé depuis 2013 sous le nom **Bexero** et il est produit par les laboratoires Novartis. Il s'agit d'un vaccin tout à fait original et novateur : il utilise la technique de la « *reverse vaccinology* » ou vaccinologie inverse qui est sans doute une des découvertes fondamentales parmi les biotechnologies du 21ème siècle: il s'agit d'un procédé conçu par Rino Rappuoli qui a délaissé à la fin de ses études sa Toscane natale abandonnant le vignoble du Chianti où travaillait sa famille depuis des générations. Travaillant au J. Craig

Venter Institute qui regroupe de nombreuses organisation de recherche en génomique, Rappuoli a consacré l'essentiel de ses travaux depuis 2000 à la recherche de nouveaux vaccins en utilisant les ressources de la bioinformatique : il est ainsi devenu le pionnier de la « reverse vaccinology » créant le premier vaccin issu de cette technique révolutionnaire qui sera le vaccin contre les méningocoques de séro groupe B (responsables de plus de 50 % des méningites à méningocoques) le vaccin « MenB ».

Auparavant aucun vaccin efficace n'existait contre MenB pour plusieurs raisons. Les vaccins sous-unitaires capsulaires polysidiques utilisés contre les autres groupes (Men A, C, Y et W135 : vaccins mono ou tétravalents) n'ont pas pu être envisagés pour Men B car, même si il existe une séquence polysidique similaire au niveau de la capsule de tous les types de méningocoques de séro groupe B, la séquence de ce polyside est identique à celle d'un acide polysialique présent dans de nombreux tissus humains : le vaccin polysidique ( même conjugué à une protéine porteuse) s'est toujours révélé peu immunogène et susceptible de provoquer par réaction croisée des maladies auto-immunes.

Les protéines de surface de *Neisseria meningitidis* ont donc toujours été les seuls candidats pour produire un vaccin contre MenB, mais ces protéines sont mal connues et varient d'un groupe à l'autre... Les vaccins « anciens » norvégien, cubain et néozélandais (constitués des protéines PorA et PorB) ne protègent chacun que contre un séro groupe de MenB (uniquement contre la souche dont proviennent les protéines : Norvège, Cuba et Nlle Zélande). Les travaux de Rappuoli ont contourné le problème en choisissant une démarche inédite pour produire un vaccin capable de protéger contre la plupart des sérotypes de MenB. Avec son équipe il a commencé par séquencer le génome de Men B puis il a identifié les gènes qui pourraient coder des protéines de surface bactériennes (en utilisant une démarche « prédictive » faisant appel à des banques de données génomiques informatiques) : d'où l'appellation du procédé « vaccinologie inverse ».

Les séquences sélectionnées comme candidates (gènes conservés pour toutes les souches de Men B) ont été clonées individuellement dans des systèmes d'expression génétique (*E. coli*) en utilisant un vecteur d'expression (plasmide). Chaque protéine produite par expression du gène recombinant a ensuite été purifiée puis testée chez des souris pour évaluer son immunogénicité : les sérums des souris immunisées ont été étudiés par technique ELISA et FACS pour vérifier l'affinité des Ac pour les protéines recombinantes et leur capacité à activer le complément in vitro (similaire à la lyse des bactéries attendue in vivo chez le sujet vacciné par la protéine: *Neisseria* est un des seuls genres bactérien contre lequel l'action cytolitique du complément est réellement efficace)

Les travaux ont ainsi abouti par utilisation d'outils informatiques à la mise en évidence de 600 ORF « open reading frame » : cadres ouverts de lecture pouvant correspondre à des séquences d'ADN codantes (entre un codon d'initiation et un codon stop) donc à des protéines potentielles.

350 protéines ont ensuite été produites par *E.coli* après transformation par les 600 gènes candidats. Parmi ces 350 protéines, 91 ont été caractérisées comme étant des protéines de surface ou des protéines sécrétées... puis 28 protéines ont été sélectionnées comme les plus immunogènes conduisant chez la souris à l'apparition d'un titre élevé d'Ac activateurs du complément (donc potentiellement bactéricides). Finalement 5 protéines ont été retenues (communes à la plupart des souches de MenB connues) : protéines « GNA » : « *genome-derived neisserial antigens* ». Ce sont ces 5 protéines qui sont les antigènes du nouveau vaccin MenB.

Cette démarche intellectuellement passionnante est bien loin de l'empirisme des vaccins anciens... souvent toujours utilisés pourtant , même si tout n'est pas bien compris (on s'est aperçu d'ailleurs récemment qu'en 100 ans de repiquage, le BCG avait perdu un grand nombre de gènes issus de la souche initiale de *M. bovis* ce qui se traduit par la disparition de plusieurs protéines immunogènes...et sans doute par sa faible efficacité : il est même envisagé de « doper » le BCG actuel en réintroduisant les gènes manquants !).

Le procédé de vaccinologie reverse est à l'étude pour des vaccins contre *S. aureus*, les streptocoques de groupe A et B et *Neisseria meningitidis*. Un vaccin contre l'hépatite C est aussi testé actuellement par ce procédé qui reste le seul envisageable puisqu'on ne sait pas cultiver le VHC...

Jean-Paul **BRUNET**

PS: Liens intéressants pour en savoir plus:

<http://www.pnas.org/content/103/29/10831.full>

<http://www2.ufpel.edu.br/biotecnologia/gbiotec/site/content/paginadoprofessor/uploadsprofessor/975a66aff2d6cc346803e2c5582e9f72.pdf>

[http://en.wikipedia.org/wiki/Reverse\\_vaccinology](http://en.wikipedia.org/wiki/Reverse_vaccinology)

<http://www.bexsero.co.uk/healthcare-professional/>