

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

ABREVIATIONS

ARS : Agence Régionale de Santé

CH : Centre Hospitalier

CIRE : Cellule de l'Institut de Veille Sanitaire en Région

CNR: Centre National de Référence

CVAGS : Cellule de Veille, Alerte et Gestion Sanitaire

DEO : Direction effcience de l'offre

C3G : Céphalosporines de 3^{ème} génération

DGS : Direction Générale de la Santé

DO : Déclaration Obligatoire

GT : Groupe de Travail

IIM : Infection Invasive à Méningocoque

InVS : Institut de Veille Sanitaire

LCR : Liquide céphalorachidien

PCR: Amplification génique par la réaction de polymérisation en chaîne

PCT : Procalcitonine

PDL: Pays de la Loire

PL : Ponction Lominaire

SRAE : Structures régionales d'Appui et d'Expertise

INTRODUCTION

Les infections invasives à méningocoques (IIM) constituent la 1^{ère} cause de méningites bactériennes en France. Dans la région Pays de la Loire, une quarantaine de cas sont signalés chaque année par les cliniciens et bactériologistes à la Cellule de Veille Alerte et Gestion Sanitaire (CVAGS) de l'ARS qui met en œuvre la prophylaxie antiméningococcique en référence à l'instruction DGS du 27/01/2011. Ces mesures permettent d'éviter la diffusion de souches virulentes et prévenir la survenue de cas secondaires chez les sujets-contacts. Elles nécessitent cependant d'avoir pu isoler le méningocoque et identifier le sérotype en cause.

La confirmation bactériologique des IIM reste complexe, compte tenu des formes cliniques nécessitant la prescription d'antibiothérapie précoce, et de l'émergence de certains sérotypes (Y, W135) plus difficiles à identifier.

Un groupe de travail composé de biologistes et cliniciens a élaboré en lien avec l'ARS des recommandations visant à harmoniser les procédures clinico-biologiques autour du diagnostic bactériologique des IIM, et favoriser l'accès à une PCR diagnostique régionale.

Un élargissement de ces objectifs au diagnostic des méningites communautaires de l'enfant et de l'adulte a été réalisé par le sous groupe cliniciens. Ce travail répondait à une demande des cliniciens notamment urgentistes d'actualiser la conduite à tenir dans ces situations. Ce rapport figure en annexe 9.

CONTEXTE

1- L'épidémiologie des IIM

Le méningocoque (*Neisseria meningitidis*) est une bactérie exclusivement humaine. Les IIM se manifestent sous forme de méningites ou de méningococcémies, plus rarement d'arthrites ou de péricardites septiques. La forme la plus sévère reflétant le syndrome septique est le purpura fulminans.

En France, l'incidence annuelle des IIM se situe entre 1 et 2 cas pour 100 000 habitants depuis 20 ans. Dans les Pays de la Loire, l'incidence est légèrement supérieure à l'incidence française depuis quelques années. Sur la période 2008-2012, les taux annuels d'incidence sont compris entre 0,8 et 1,5 cas pour 100 000 habitants. Le méningocoque B concerne 64% des cas déclarés. La proportion de cas ayant présenté un purpura fulminans est de 31%, le taux de décès est de 8%.

2-Signalement et prophylaxie des IIM (annexe 3)

La CVAGS réceptionne les signaux et alertes sanitaires provenant des 5 départements (44, 49, 72, 85, 53) et met en œuvre les mesures de prévention pour la population.

Tout cas d'IIM répondant aux critères de notification est signalé par le clinicien et/ou le biologiste dès suspicion, par téléphone, à la CVAGS qui valide le cas et organise les mesures de prophylaxie chez les sujets-contacts. Ces mesures (rifampicine associée à la vaccination en cas de sérotype A, C, Y, W135), sont d'autant plus efficaces qu'elles seront prescrites précocement et nécessitent donc une mobilisation de tous les acteurs : médecins hospitaliers, biologistes, référents santé en collectivité (santé scolaire, PMI...), en lien avec la CVAGS.

PROBLEMATIQUE

1-Echecs de confirmation bactériologique des IIM

-L'administration d'une antibiothérapie précoce est la principale cause d'échec de confirmation bactériologique des IIM. L'antibiothérapie préalable à tout prélèvement bactériologique est recommandée dans les cas de *purpura fulminans* (Avis du Conseil Supérieur d'Hygiène Publique de France du 22 décembre 2006). Une antibiothérapie peut aussi avoir été prescrite à l'occasion du syndrome infectieux inaugural (plus souvent ORL).

-L'insuffisance de matériel biologique est la deuxième cause d'échec de documentation bactériologique des IIM : quantité de LCR insuffisante, prélèvement d'élément purpurique non réalisé, absence de prélèvement sanguin pour la réalisation d'une PCR méningocoque.

-L'échec diagnostique peut enfin résulter d'un délai et de conditions d'acheminement du prélèvement incompatibles avec la survie de bactéries particulièrement fragiles.

Ainsi, les mesures de prophylaxie ne peuvent être mises en œuvre que lorsqu'au moins un des critères de notification des cas d'IIM est rempli. Cela souligne l'importance d'isoler le méningocoque et d'en déterminer le sérotype.

2-Place de la Polymerase Chain Reaction (PCR)

La PCR 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 par les laboratoires qui disposent d'une expertise, de compétences, d'un équipement spécifique pour le diagnostic par PCR. Jusqu'à la création de ce groupe de travail, les biologistes de la région (hormis les 2 CHU) avaient l'habitude d'envoyer les prélèvements pour PCR diagnostique au CNR des méningocoques à l'Institut Pasteur, en cas de culture négative, ou lorsque le sérotype était difficilement identifiable.

3- Problématique en PDL

La CVAGS a réuni le 25/09/12 un groupe de biologistes, en présence de la CIRE et du CNR des méningocoques. Les besoins ont été identifiés :

- souhait des biologistes des 5 départements de bénéficier d'une PCR diagnostique « de proximité » ; opportunité d'identifier 2 Laboratoires de Référence (LR) pour les demandes de PCR diagnostiques (CHU de Nantes et Angers).

- questionnements quant aux procédures de réalisation et interprétation des PCR, en cas de méningocoque Y ou W 135 non identifiables par les 2 CHU de la région dont les techniques ne ciblent pas les gènes *csY* et *csW*.

Les participants ont demandé la création d'un groupe de travail sur ces procédures de diagnostic bactériologique, composé de biologistes et cliniciens représentatifs des 5 départements de PDL.

La méthodologie est présentée en *annexe 2*.

OBJECTIFS

Permettre l'accès au traitement préventif anti-méningococcique pour les sujets-contacts autour d'un cas d'IIM dans les délais recommandés, quel que soit le lieu d'hospitalisation du cas index en PDL :

- Harmoniser les procédures de diagnostic bactériologique des IIM entre cliniciens et bactériologistes,
- Rendre accessible la réalisation de la PCR diagnostique.

RESULTATS

I. Procédures pour les cliniciens : Prélèvements à réaliser en cas de signes cliniques évocateurs d'IIM

Les critères cliniques diagnostiques des IIM sont développées en *annexe 9 (Recommandations de bonnes pratiques pour le diagnostic et l'identification du méningocoque : rapport du sous groupe cliniciens)*.

1- Réalisation des prélèvements et information des biologistes

- Les prélèvements bactériologiques doivent être réalisés le plus **précocement** possible.
- Une **quantité suffisante** de prélèvement conditionnera la qualité des résultats.
- Les prélèvements doivent être **acheminés immédiatement** vers le laboratoire de bactériologie, à température ambiante, accompagnés des éléments cliniques (heure d'administration de la C3G, notion de *purpura fulminans...*).
- Le technicien de laboratoire et/ou le biologiste sont **directement informés** de l'envoi de ces prélèvements, compte tenu de la situation d'urgence, et de la fragilité des prélèvements. Le clinicien confirme au biologiste que le signalement d'IIM a été fait à l'ARS.

2- Types de prélèvements

Prélèvements sanguins

- Hémocultures : elles sont réalisées systématiquement : 2 couples d'hémocultures aérobies comportant 10 ml de sang par flacon chez l'adulte ; (*PCR non réalisable sur les hémocultures*)
- 1 tube sec (sérum pour le LR de Nantes), ou sang total (EDTA pour le LR d'Angers) de 5 ml chez l'adulte ou 1 cône pédiatrique chez le nouveau-né pour PCR bactériennes plasmatiques (pneumocoque et méningocoque).

Ponction lombaire : 5 tubes sont prélevés :

- 1 tube de 10 gouttes pour analyse cytologique. Eviter la présence de sang dans ce tube (éviter d'utiliser le 1er tube prélevé) ;
- 1 tube de 10 gouttes pour analyse chimique (protéïnorachie, glycorachie rapportée à la glycémie faite à la même heure, dosage du lactate) ;

- 2 tubes de 20 gouttes pour analyse bactériologique : 1 tube pour l'examen direct et la culture sur place, 1 tube pour la PCR.
- 1 tube de 10 gouttes à garder au réfrigérateur (+ 4°C) et à envoyer secondairement en fonction des premiers résultats de la PL (PCR HSV, VZV, entérovirus) ;

Les résultats à récupérer dans l'heure sont : cytologie, biochimie, coloration de Gram.

- ✚ **Prélèvements de lésion purpurique cutanée** : 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, telle que décrite dans l'instruction DGS du 27/01/11(*annexe 8*) n'a pas été retenue par les cliniciens participants au GT de PDL.

II. Procédures pour les biologistes : Modalités du diagnostic bactériologique des IIM en PDL

1- Place des biologistes et des 2 Laboratoires de Référence régionaux dans le diagnostic bactériologique des IIM

- ✚ **Rôle des 2 Laboratoires de Référence (LR) pour le méningocoque (*annexe 7*)**

Les 2 laboratoires de bactériologie des CHU de Nantes et Angers ont été identifiés comme Laboratoires de Référence pour la **réalisation de la PCR méningocoque**, non systématique, qui sera réalisée dans certaines indications. Un découpage de la région en 2 zones géographiques a été validé par le sous groupe biologistes.

Les 2 LR harmonisent leurs procédures d'identification du méningocoque (généogroupage A,B,C,Y,W135) et sont les interlocuteurs de la CVAGS, notamment en cas d'alerte épidémiologique (cas groupés d'IIM, identification difficile du méningocoque).

- ✚ **Rôle des biologistes :**

Tout laboratoire de bactériologie réalise **l'examen direct, la culture et le sérogroupage** du méningocoque s'il en a les possibilités sur place.

Les biologistes transmettent systématiquement au LR, après contact téléphonique, **tous les prélèvements qui leur sont adressés pour suspicion d'IIM** (sang, LCR, biopsie cutanée, autres prélèvements,..) qui seront destinés à la PCR : les prélèvements sont acheminés **sans délai, à température ambiante, en triple emballage**.

2- Techniques de confirmation bactériologique du méningocoque

✚ Examen direct

Il est réalisé par le laboratoire qui réceptionne le prélèvement le plus rapidement possible (numération cellulaire et coloration de Gram). Le résultat doit être transmis **dans l'heure au clinicien**.

✚ Mise en culture :

Elle reste la technique de référence qui permet, seule, d'obtenir la souche bactérienne. Elle est réalisée par le laboratoire qui réceptionne le prélèvement. Le résultat doit être transmis **dans les 24 heures au clinicien**.

L'ensemencement des prélèvements (LCR, liquide articulaire... sauf hémoculture) pour la recherche de méningocoque est réalisé sur les milieux suivants :

- une gélose au sang cuit supplémentée en facteurs de croissance, incubée à 37°C sous une atmosphère de 5 à 10 % de CO₂
- une gélose au sang, incubée à 37°C sous une atmosphère de 5 à 10 % de CO₂
- un milieu liquide d'enrichissement (cœur-cerveille ou équivalent) incubé à 37°C en atmosphère ambiante

Les hémocultures positives à Cocci gram négatif, sont ensemencées sur :

- une gélose au sang cuit supplémentée en facteurs de croissance, incubée à 37°C sous une atmosphère de 5 à 10 % de CO₂
- une gélose au sang, incubée à 37°C sous une atmosphère de 5 à 10 % de CO₂

L'antibiogramme est réalisé selon les recommandations du Comité d'Antibiothérapie de la Société Française de Microbiologie

Site web : www.sfm.asso.fr

✚ Groupage :

La plupart des laboratoires disposent de kits d'agglutination et réalisent le sérogroupage sur les souches par agglutinations sur lame.

En cas de difficultés ou d'impossibilité de réaliser le sérogroupage, les souches doivent être envoyées rapidement au LR qui réalisera le génogroupage.

✚ PCR : Diagnostic et groupage moléculaire par amplification génique

Les 2 LR réalisent l'identification des méningocoques par génogroupage ABCYW135.

La PCR pneumocoque est réalisée conjointement systématiquement, dans le sang, le LCR, la biopsie cutanée.

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

- dans le sang et dans le LCR jusqu'à 24 heures après l'instauration de la C3G ;
- dans la biopsie cutanée 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.

✚ La recherche d'Antigènes solubles méningococciques dans le LCR, le sang ou les urines

L'analyse des pratiques des biologistes en PDL confirme que cette technique est remplacée par le génogroupage.

3- Indications et procédures de demandes de PCR méningocoque en PDL

✚ Indications de la PCR

L'indication de la PCR méningocoque/pneumocoque est posée en concertation entre les biologistes et cliniciens du Centre Hospitalier où est hospitalisé le malade, et le biologiste du LR avec transmission des éléments épidémiologiques par la CVAGS. Elle sera discutée en fonction :

- des critères cliniques,
- des critères biologiques,
- du délai d'instauration de la C3G,
- des impératifs épidémiologiques (fréquentation d'une collectivité sensible scolaire ou PMI par le malade, veille de week-end ou vacances scolaires, cas groupés..).

✚ Demandes de PCR

Les procédures sont décrites dans les *annexes 5 et 6*.

→ 1^{er} temps : H 1

Une concertation téléphonique systématique entre les 2 biologistes (laboratoire adresseur / LR) précède l'envoi des prélèvements et décide de l'urgence ou non à réaliser la PCR (traitement antibiotique précoce, purpura...etc). Une fiche de demande de PCR accompagne l'échantillon, et doit être faxée préalablement au LR. Les prélèvements doivent être transmis rapidement, à température ambiante. Les changements de température sont à éviter, compte tenu de la fragilité des bactéries. Les prélèvements annoncés par téléphone et réceptionnés avant 11h du matin par le LR seront techniqués le jour même sauf en cas de culture positive.

→ 2^{ème} temps : H 24

Sauf urgence, une nouvelle concertation téléphonique entre les deux laboratoires déclenche la réalisation de la PCR en cas de culture négative après 24H d'incubation.

→ 3^{ème} temps : Résultats

Les résultats sont communiqués par le LR :

- au laboratoire adresseur par téléphone et par fax
- à la CVAGS par tel (0800 277 303) et confirmés fax (02-49-10-43-89).

Le laboratoire adresseur est chargé de transmettre les résultats par téléphone à la CVAGS et d'informer le clinicien.

✚ Procédures d'envoi au CNR des méningocoques

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

www.pasteur.fr

DISCUSSION ET PERSPECTIVES

1- Amélioration des pratiques

Une sensibilisation des médecins au signalement des IIM est constatée dans cette région : le signalement est de plus en plus précoce, dès suspicion, et permet à la CVAGS d'anticiper les mesures de prophylaxie, notamment lorsque le cas survient dans une collectivité sensible (établissement scolaire, crèche, garderie..).

Côté biologistes, les procédures de demande de PCR auprès des 2 LR des CHU de Nantes et Angers ont été testées depuis 2013, au cas par cas, entre les biologistes participant au GT, les LR et la CVAGS. L'intérêt d'une PCR diagnostique au niveau régional est confirmé car elle permet :

- de réduire les délais du diagnostic bactériologique (résultats rendus le jour même) dans les situations épidémiologiques sensibles comme le signalement d'IIM la veille d'astreinte, de vacances scolaires, au sein de collectivités sensibles de jeunes enfants.
- d'aider les biologistes ne disposant pas de ressources techniques pour gérer les situations complexes comme les IIM ayant nécessité une antibiothérapie précoce, ou l'identification des sérogroupes Y et W135.

Côté cliniciens, la sensibilisation à l'intérêt de la biopsie cutanée progresse mais de façon encore insuffisante dans la région.

2- Actions prioritaires par le GT

L'appropriation de ces recommandations de bonnes pratiques sur le diagnostic des IIM sera facilitée par :

- La diffusion des fiches outils destinés aux biologistes (*annexes 5, 6, 7*),
- La constitution d'un kit de prélèvement regroupant l'ensemble des tubes et matériels de prélèvements comprenant notamment les punch à biopsie (*annexe 4*). Ces kits seront mis à disposition des services d'urgences, réanimation adulte et pédiatrique, pédiatrie, maladie infectieuses, et autres services pouvant potentiellement prendre en charge des patients atteints d'IIM et méningites infectieuses.
- l'actualisation du livret des urgences des CH de la région sur la conduite à tenir pratique en cas de signes cliniques évoquant une IIM ou une méningite infectieuse (*annexe 9*).

Les 2 Structures régionales d'Appui et d'Expertise de la région (réseaux Qualisanté et Aquarel) assureront la mise à disposition et l'appropriation des recommandations et outils pratiques en interne au sein des CH de la région ; une évaluation des pratiques professionnelles avec adaptation des outils sera proposée au 1er trimestre 2015.

La question du remboursement de la PCR a été transmise à la DGS. Les PCR méningocoque et pneumocoque sont actuellement réalisables dans le cadre des actes de Biologie Hors Nomenclature (BHN). L'inscription au remboursement de la PCR méningocoque est à l'étude dans le contexte de la révision de la liste des actes de Biologie Hors Nomenclature. L'évolution du système de financement devrait amener à clarifier les conditions de prestations inter-établissements.

Conclusion

Ces travaux ont réaffirmé l'importance de la concertation entre cliniciens et biologistes autour d'un signalement en veille sanitaire pour permettre à la CVAGS de mettre en œuvre efficacement les mesures de protection pour la population.

Ce groupe a permis aux biologistes d'échanger sur leurs pratiques sur les IIM et dans d'autres domaines de veille sanitaire. Au-delà de ces échanges régionaux, ils souhaitent développer leurs compétences et échanger avec les CNR des méningocoques et d'autres biologistes sur les techniques PCR méningocoque, la résistance aux antibiotiques, et la question des sérogroupes comme le méningocoque X identifié récemment par le LR du CHU d'Angers.

L'instruction DGS du 27/01/11 doit être révisée au regard de l'actualité vaccinale (nouveaux vaccins) et de précisions sur les recommandations d'antibioprophylaxie (cures répétées dans une même communauté). Les recommandations du GT IIM seront transmises à la DGS en vue de contribuer à l'évaluation et l'actualisation des recommandations relatives à la prophylaxie des IIM.

ANNEXES

- **Annexe 1** : Composition du Groupe de Travail
- **Annexe 2** : Méthodologie
- **Annexe 3** : Signalement et prophylaxie des IIM
- **Annexe 4** : Check list des prélèvements à réaliser en cas de signes cliniques d'IIM ou autre méningite infectieuse
- **Annexe 5** : Conduite à tenir pour le laboratoire : suspicion d'Infection Invasive à Méningocoque, demande de PCR
- **Annexe 6** : Suspicion d'Infection Invasive à Méningocoque – Bon de demande en PCR en urgence.
- **Annexe 7** : Identification des Laboratoires de référence pour la PCR méningocoque en PDL : Répartition des laboratoires en 2 zones géographiques.
- **Annexe 8** : Réalisation d'une biopsie cutanée ou aspiration d'une lésion cutanée purpurique (annexe 1 de l'instruction DGS du 27/01/11)
- **Annexe 9** : Recommandations de bonnes pratiques pour le diagnostic des infections invasives à *Neisseria meningitidis* (rapport sous groupe cliniciens)

Composition du groupe de travail

Sous groupe biologistes

- Pilotes : Dr Sophie-Anne GIBAUD, Biologie, CHU de Nantes,
Dr Marie KEMPF, Biologie, CHU d'Angers,
- Pr Alain REYNAUD, Biologie, CHU de Nantes,
- Dr Didier JAN, Biologie, CH de Laval,
- Dr Françoise JOUBLE, Biologie, CH de Mayenne,
- Dr Sandra BOURDON, Biologie, CH de La Roche sur Yon,
- Dr Aurélie BEAUDRON, Biologie, CH Le Mans,
- Dr Solange FOSSE, Biologie, CH intercommunal Pole Sarthe et Loire,
- Dr Pauline MORVAN, Biologie, CH de Saumur,
- Dr Vladimir CHELLE, Biologie, CH de Challans,
- Dr Céline LEBRUN, Biologie, CH de Tours (Service de Biologie de Cholet avant mars 2013)
- Dr Pauline TOURAULT-JUPIN Pauline, Biologie, CH de Cholet,
- Dr Olivier LEMENAND, Biologie, CH St-Nazaire,
- Dr Laurence DUPONT, Biologie, CH de Fontenay le Comte.

Sous groupe cliniciens :

- Pilote : Dr Maeva LEFEBVRE, maladies infectieuses, CHU de Nantes,
- Pr Daniel VILLERS, réanimation médicale, CHU de Nantes,
- Dr Pierre ABGUEGUEN, maladies infectieuses, CHU d'Angers,
- Dr Charlotte BIRON, maladies infectieuses, CHU de Nantes,
- Dr Nicolas JORAM, réanimation pédiatrique, CHU de Nantes.

ARS

- Pilote : Dr Béatrice LE TOURNEAU, CVAGS,
- Bénédicte DESAUBLIAUX, CVAGS,
- Dr Bruno HUBERT, InVS-CIRE des Pays de la Loire,
- Pascaline LOURY, InVS-CIRE des Pays de la Loire,
- Benjamin MEYER, DEO,
- Dr Emmanuelle NININ, DEO.

Relecteurs

-
- Dr Eliane VANHECKE, Sous direction de la prévention du risque infectieux, DGS
 - Dr Muhamed-Kheir TAHA, CNR Méningocoques
 - Dr Bruno HUBERT, InVS-CIRE des Pays de la Loire
 - Philippe MINVIELLE, DPPS, ARS

Méthodologie

1-Le groupe de travail régional

Le GT est composé de 14 biologistes et 5 cliniciens, de l'ARS (CIRE-InVS, CVAGS, DEO), avec une représentativité des 5 départements :

- biologistes ayant signalé des cas d'IIM entre avril 2010 (création de l'ARS) et septembre 2012 (création du GT)
- cliniciens des services de réanimation adulte, réanimation pédiatrique, maladies infectieuses, CHU de Nantes et Angers.

Le pilotage est assuré par la CVAGS, avec le soutien de la CIRE.

Au cours d'une 1^{ère} réunion plénière de l'ensemble du GT le 3/12/12, les objectifs du GT ont été validés, puis les membres se sont répartis en 2 sous groupes de travail animés par 3 pilotes (sous groupe cliniciens/sous groupe biologistes) :

Déroulement des travaux : janvier 2012/ septembre 2013

- Réunions du sous groupe biologistes : 4 réunions en présence de la CVAGS ; un compte rendu a été validé systématiquement par l'ensemble des participants.
- Concertation /échanges du sous groupe cliniciens : le pilote a élargi la concertation à 22 cliniciens exerçant dans les services d'urgences, pédiatrie, maladie infectieuses, réanimation adulte et pédiatrique de la région afin d'adapter les procédures aux spécificités des différents services cliniques. Les cliniciens ont demandé une actualisation de la conduite à tenir pour le diagnostic clinique des IIM élargie aux méningites bactériennes, les données sont en *annexe 9*.
- Validation finale des procédures communes clinico-biologistes : 4 réunions des pilotes des 2 sous groupes en présence de la CVAGS.

Relecture et validation du document par un comité de relecteurs : novembre 2013.

Diffusion des recommandations aux établissements de santé et laboratoires de biologie de PDL : décembre 2013

2- Références

- Instruction DGS du 27 janvier 2011 relative à la prophylaxie des infections invasives à méningocoques
- 17^{ème} Conférence de Consensus Société de Pathologie Infectieuse de Langue Française, 17/11/2008

Signalement et prophylaxie des IIM

❖ Pourquoi signaler les IIM ?

L'instruction DGS du 27 janvier 2011 relative à la prophylaxie des IIM définit les mesures de prophylaxie à mettre en œuvre autour d'un cas. Ces mesures urgentes visent à prévenir l'apparition de cas secondaires : rompre la chaîne de transmission d'une souche virulente et empêcher l'acquisition de la bactérie chez les sujets-contacts.

❖ Quels sont les critères de notification des IIM ?

est considéré comme cas d'IIM tout cas remplissant l'un au moins des critères ci-dessous :

- 1 - 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.
- 2 - Présence de diplocoques gram négatif à l'examen microscopique direct du LCR
- 3 - LCR évocateur de méningite bactérienne purulente (à l'exclusion de l'isolement d'une autre bactérie) et
 - Soit présence d'éléments purpuriques cutanés quel que soit leur type
 - Soit présence d'antigènes solubles méningococciques dans LCR, sang ou urines
- 4 - 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

❖ Comment signaler un cas d'IIM en PDL ?

Tout cas d'IIM répondant aux critères de notification est signalé par le clinicien et/ou le biologiste **dès suspicion, par téléphone**, à la CVAGS chargée de rechercher les sujets-contacts et organiser les mesures de prophylaxie :

Tel : **0800 277 303 (astreinte médicale 24h/24 7 jours/7)**

Mel : ars44-alerte@ars.sante.fr

Fax : 02.49.10.43.89 (jour ouvrables 8h30 à 18h)

L'imprimé de notification de la DO est transmis ensuite à la CVAGS

Qui est sujet-contact ?

Toute personne ayant été exposée directement, de façon répétée et prolongée aux sécrétions rhinopharyngées du malade dans les 10 jours précédant son hospitalisation :

→ personnes vivant ou gardées sous le même toit, amis intimes,

→ pour les autres contacts dans l'entourage, en collectivité, la CVAGS évalue pour chaque situation le risque d'exposition en fonction de la proximité, la durée et le type de contact.

→ professionnels de santé : l'antibioprophylaxie est recommandée uniquement aux personnes ayant réalisé le bouche à bouche, une intubation ou une aspiration endotrachéale sans masque de protection avant le début du traitement antibiotique du malade et jusqu'à la première prise d'un antibiotique efficace sur le portage

Shéma prophylactique :

Pour être efficaces, les mesures doivent être mises en œuvre le plus rapidement possible

→ **Antibiotique préventif (rifampicine)** : recommandé aux sujets contacts, **dans les 24 à 48h après le diagnostic du cas index** ; il réduit de 75 à 98% le portage du méningocoque une semaine après le traitement.

→ **Vaccination** : recommandée aux sujets contacts appartenant à la communauté de vie du cas index dès connaissance d'un sérotype A, C, Y ou W 135, dans les 10 jours suivant le dernier contact avec le cas index.

Annexe 4

CHECK LIST des prélèvements à réaliser en cas de signes cliniques d'IIM ou autre méningite infectieuse

Les prélèvements sont envoyés immédiatement, à température ambiante, au laboratoire de bactériologie du Centre Hospitalier où est hospitalisé le malade

Prélèvements systématiques :

-Hémoculture

-Sérum (tube sec 1 ml) pour zone géographique du LR de Nantes /ou **Sang total (EDTA)** pour zone géographique du LR d'Angers

Selon l'indication clinique :

-Ponction Lomulaire : 5 tubes

3 tubes de 10 gouttes : cytologie, chimie, virologie

2 tubes de 20 gouttes : 1 tube pour culture sur place ; 1 tube pour PCR destiné au LR

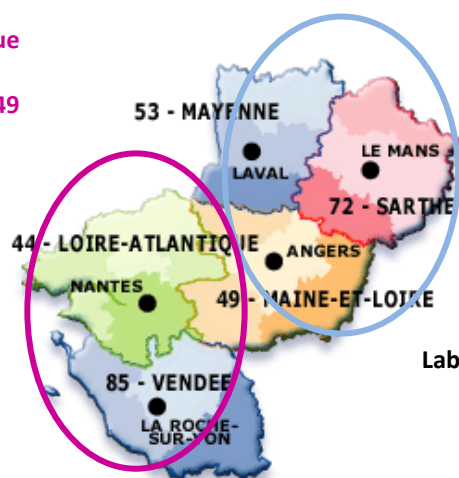
-**Biopsie cutanée d'élément purpurique** : 2 biopsies à envoyer dans 2 pots stériles en bactériologie : 1 prélèvement pour culture sur place ; 1 prélèvement pour PCR destiné au LR

-**Ponction articulaire** : pot stérile (pour culture et PCR) et flacon d'hémoculture (pour culture : 1ml)

Identification des Laboratoires de référence pour la PCR méningocoque en PDL : Répartition des laboratoires en 2 zones géographiques

Laboratoire de Référence CHU de Nantes

- ✚ 44 : Loire-Atlantique
- ✚ 85 : Vendée
- ✚ CH Cholet pour le 49



Laboratoire de Référence CHU d'Angers

- ✚ 49 : Maine et Loire (sauf CH Cholet)
- ✚ 72 : Sarthe
- ✚ 53 : Mayenne

CONDUITE A TENIR POUR LE LABORATOIRE : DEMANDE DE PCR SUSPICION D'INFECTION INVASIVE A MENINGOCOQUE (IIM)

Concertation biologiste/clinicien

- Transmettre résultats examen direct (dans l'heure) puis culture (en 24h si positive / 48 h si négative)
- Vérifier si le signalement a été fait à l'ARS
- Compléter éléments cliniques sur bon de demande PR

DEMANDE DE PCR Méningocoque

- **Contactez rapidement le Laboratoire Référent** (LR) de votre zone géographique pour discuter de l'indication d'une PCR
- **Transmettre systématiquement les prélèvements** au LR quelles que soit la décision de PCR (voir modalités d'envois)
 - PCR pneumocoque faite systématiquement

PRELEVEMENTS POUR PCR

- LCR : 200 µL si possible
- Sang total (EDTA) : 1 mL (pour LR Angers)
- Tube sec (sérum) : 1 mL (pour LR Nantes)
- Biopsie cutanée : tube ou pot sec stérile (ou liquide de broyat)
- Liq. Articulaire : 1 mL



MODALITES D'ENVOI après concertation tel avec le LR

- **Faxer le bon de demande** de PCR au LR
- **Envoyer les prélèvements** accompagnés du bon de demande de PCR
- **Transport immédiat, avec triple emballage, à température ambiante**



- **Les prélèvements annoncés arrivant avant 11h seront pris en charge le jour même. Ceux arrivant après 11h seront traités le lendemain**

COTATION

PCR méningocoque + pneumocoque : BHN 405 (109,35E)
Génogroupage : BHN 550 (137,70 E)
(acte hors nomenclature)

Recommandations régionales validées par le groupe de travail IIM en Pays de la Loire – Décembre 2013

LABORATOIRES REFERENTS (LR)

Zone géographique Angers (Dr Kempf)

- Laboratoires du 53, 49, 72 sauf CH Cholet
- Laboratoire de Bactériologie-Hygiène
CHU d'Angers- Institut de Biologie en Santé
4 rue Larrey – 49933 Angers Cedex
Tél : 02 41 35 52 09 (ou 02 41 35 50 13)
Fax : 02-51-35-41-64

Zone géographique Nantes (Dr Gibaud)

- Laboratoires du 44, 85, et CH Cholet
- Laboratoire de Bactériologie et Hygiène Hospitalière
CHU de Nantes – Hôtel Dieu
9 quai Moncoussu – 44093 Nantes Cedex 1
Tél : 02 40 08 39 79 Fax : 02-40-08-38-29

TRANSMISSION DES RESULTATS DE PCR

Les résultats de PCR sont communiqués par le LR :

- Au laboratoire adresseur par tel et par fax
- **A la Cellule de Veille Alerte et Gestion Sanitaire de l'ARS par tel (0800 277 303)** puis confirmation par fax (02-49-10-43-89) pour mesures urgentes prophylaxie sujets-contacts.

Le laboratoire adresseur doit transmettre les résultats de PCR au clinicien

TRANSMISSION AU CNR méningocoques:

- Les souches de méningocoque sont envoyées au CNR par les différents laboratoires.
- Les échantillons positifs et /ou extraits d'ADN positifs sont envoyés au CNR par les LR si culture négative

- **Dans les meilleurs délais pour typage complet**



Bon de demande de PCR en urgence accompagnant les prélèvements :
A faxer préalablement au service Bactériologie de Référence
(CHU de Nantes et CHU d'Angers)



A remplir par le Laboratoire Adresseur :

Patient

Nom : Prénom :

Date de naissance :

Clinicien prescripteur/Service :

Nom :

Nom du transporteur :

Tél. du transporteur :

Date d'envoi : Heure de départ :

Renseignements clinico-biologiques

- | | |
|---------------------------------------------|------------------------------------|
| <input type="checkbox"/> Syndrome méningé | <input type="checkbox"/> Céphalées |
| <input type="checkbox"/> Purpura nécrotique | <input type="checkbox"/> Purpura |
| <input type="checkbox"/> Fièvre | <input type="checkbox"/> Autres : |

Traitement précoce C3G avant prélèvement

oui non

Heure d'injection :

Autres antibiotiques :

Date début du traitement :

LCR

Nb GB : Glycerachie :

% PNN : Proteïnorachie :

Ex Direct : CGN oui non autre :

CGP oui non

Etablissement :

Biologiste

Nom : Téléphone :

Fax :

Prélèvement

Date du prélèvement : Heure :

Nature du prélèvement :

- | | |
|---------------------------------------------|----------------------------------------------|
| <input type="checkbox"/> LCR | <input type="checkbox"/> Biopsie cutanée |
| <input type="checkbox"/> Sérum ou sang EDTA | <input type="checkbox"/> Liquide articulaire |
| <input type="checkbox"/> Souche | <input type="checkbox"/> autres |

LABORATOIRES DE REFERENCE MENINGOCOQUE

ANGERS

Laboratoire de Bactériologie-Hygiène

CHU d'Angers- Institut de Biologie en Santé

4 rue Larrey – 49933 Angers Cedex

Référent : Marie Kempf Tél : 02 41 35 52 09 - (02 41-35-50-13)

Fax : 02 41 35 41 64

makempf@chu-angers.fr

NANTES

Laboratoire de Bactériologie et Hygiène hospitalière

CHU de Nantes – Hôtel Dieu

9 quai Moncousu – 44093 Nantes Cedex 1

Référent : Sophie Gibaud Tél : 02 40 08 39 79

Fax : 02 40 08 38 29

sophieanne.gibaud@chu-nantes.fr

A remplir par le Laboratoire Référent

Heure d'arrivée :

Date de PCR :

Coller les étiquettes

Quantité prélèvement :

PCR méningocoque

PCR pneumocoque

Etiquette patient

Négative

Négative

Ininterprétable

Ininterprétable

N° d'enregistrement

Positive

Positive

Ct=

Ct=

N° de run PCR

généogroupe :

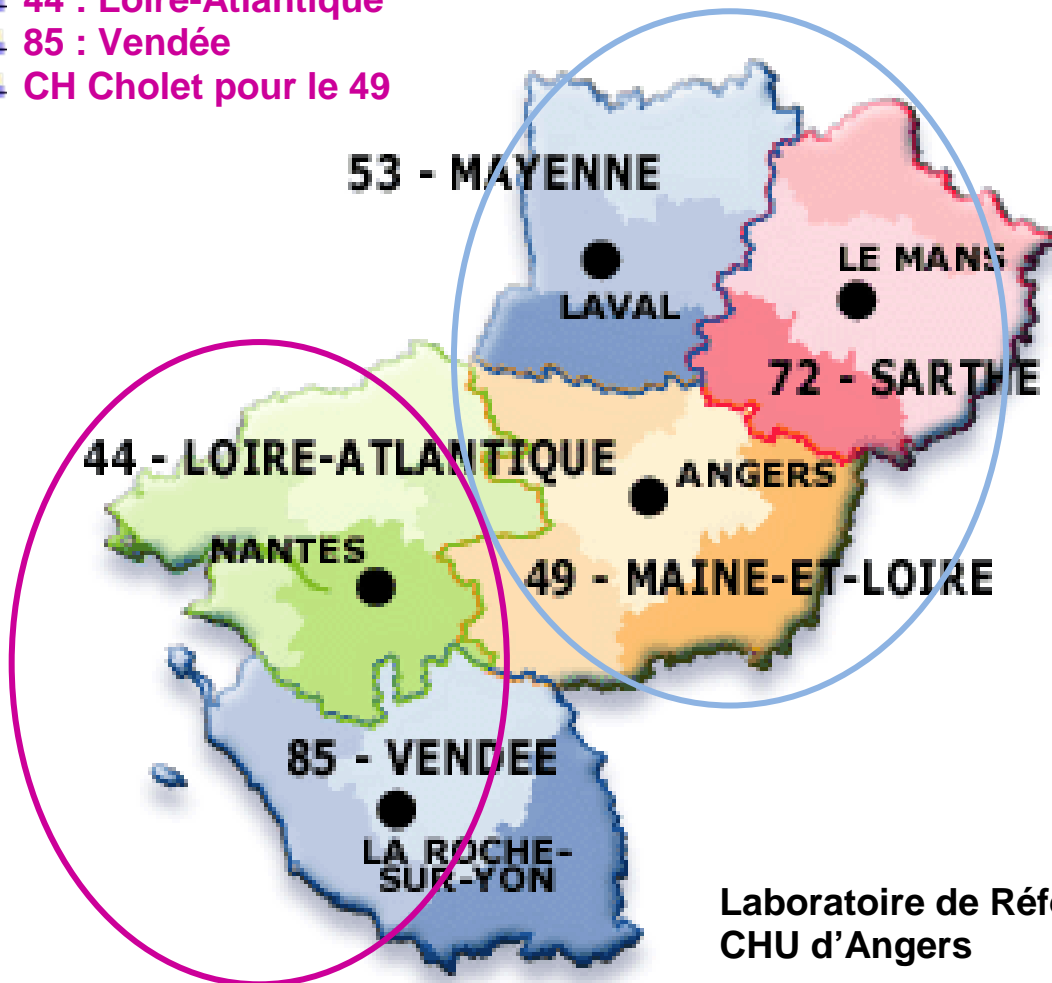
ANNEXE 7

Identification des Laboratoires de référence pour la PCR méningocoque en PDL :

- Répartition des laboratoires en 2 zones géographiques

Laboratoire de Référence CHU de Nantes

- ✚ 44 : Loire-Atlantique
- ✚ 85 : Vendée
- ✚ CH Cholet pour le 49



Laboratoire de Référence CHU d'Angers

- ✚ 49 : Maine et Loire (sauf CH Cholet)
- ✚ 72 : Sarthe
- ✚ 53 : Mayenne

Annexe 8

Extrait de l'Instruction DGS du 27 janvier 2011 relative à la prophylaxie des Infections Invasives à Méningocoques (annexe 1)

Réalisation d'une biopsie cutanée ou aspiration d'une lésion cutanée purpurique

1-Réalisation d'une biopsie cutanée

Cette technique très simple, réalisée à l'aide d'un punch à biopsie (figure 1), permet de biopser une lésion nécrotique, de taille supérieure à 1 cm si possible (Cf. annexe 2 pour le conditionnement et le transport de l'échantillon).

Intérêts de la biopsie

- Résultats de l'examen direct disponibles en moins d'une heure
- Possibilité de mettre en évidence le méningocoque plusieurs heures après administration d'une antibiothérapie.
- Possibilité de réaliser une PCR *Neisseria meningitidis* en cas de négativité de la culture.

Figure 1 : Punch à biopsie



Figure 2 : Réalisation d'une biopsie cutanée à l'aide du punch



1. Aspiration d'une lésion cutanée purpurique

Si la biopsie cutanée n'est pas réalisable, il est possible d'aspirer la lésion cutanée à l'aide d'une aiguille G23, en procédant de la manière suivante :

- Maintenir l'aiguille presque parallèle à la peau (biseau vers le haut).
- Insérer l'aiguille au centre de la lésion purpurique et pratiquer l'aspiration.
- Récupérer l'aspiration dans un tube Eppendorf de 1,5 ml (si le volume aspiré est faible, aspirer d'abord 200 microlitres d'H₂O distillée et stérile et pratiquer plusieurs mouvements de va-et-vient).

Référence à consulter

Staquet P, Lemee L., Verdier E., et al. « *Detection of Neisseria meningitidis DNA from skin lesion biopsy using real-time PCR: usefulness in the aetiological diagnosis of purpura fulminans* » - Intensive Care Med(2007), 33 : 1168-1172.

**Annexe 9 : Recommandations de bonnes pratiques
pour le diagnostic et l'identification du
méningocoque**

Rapport du sous groupe cliniciens

Pilote : Dr Lefebvre, Validation Pr Raffi

Service maladies infectieuses, CHU de Nantes

Décembre 2013

1. Critères diagnostiques d'IIM

a. Présomption clinique d'un cas d'IIM

Le diagnostic d'IIM doit être évoqué dans les situations cliniques suivantes :

- **Purpura fulminans** : présence d'au moins 1 élément purpurique nécrotique ou ecchymotique > 3 mm, associé à un syndrome infectieux sévère non attribué à une autre étiologie.
- **Méningite communautaire**
 - ✚ Chez l'adulte et l'enfant de plus de 2 ans, une méningite est hautement probable chez un patient présentant de la fièvre et un purpura, ou de la fièvre, une raideur de nuque et soit des céphalées, soit des troubles de la conscience. Le diagnostic doit être évoqué chez un patient présentant des céphalées et de la fièvre. Chez l'enfant, les valeurs de la procalcitonine (PCT) peuvent alors aider à poser l'indication de la ponction lombaire (PL).
 - ✚ Chez le nourrisson de 3 mois à 2 ans, les indications de la PL doivent rester larges. La PL est impérative devant des signes classiques : vomissements, bombement de la fontanelle, raideur ou hypotonie de la nuque, photophobie, troubles de la conscience. Une convulsion en contexte fébrile impose la PL chez l'enfant de moins de 9 mois, et doit la faire discuter entre 9 et 12 mois.
 - ✚ Chez le nourrisson de moins de 3 mois, la démarche diagnostique repose d'abord sur la recherche des signes cliniques témoignant d'une infection bactérienne grave : signes septiques, troubles du comportement, en contexte fébrile puis la discrimination des signes qui imposent la pratique d'une PL : troubles du comportement, troubles hémodynamiques, anomalies neurologiques, purpura.
- **Sepsis, sans autre point d'appel infectieux**
 - ✚ Les IIM de l'enfant peuvent prendre la forme de bactériémies occultes, sans autres signes cliniques initiaux que la fièvre. Le purpura peut être initialement absent. L'évolution vers une méningite ou un choc septique peut être rapide.
 - ✚ Chez l'adulte, les IIM peuvent revêtir la forme d'une bactériémie aiguë, avec évolution possible vers un purpura fulminans, et de manière exceptionnelle, celle de méningococcémie chronique. La méningococcémie chronique est une bactériémie à méningocoque avec une fièvre évoluant depuis plus d'une semaine, en l'absence de syndrome méningé et de sepsis sévère. Elle doit être recherchée devant la triade fièvre prolongée, arthralgies et éruption cutanée. L'éruption cutanée est alors constituée de lésions moins évocatrices d'IIM : elles peuvent être maculopapuleuses, pétéchiales, ou papulopustuleuses, et toucher le tronc, les membres, les paumes et les plantes. Le caractère isolé de la fièvre en début d'évolution, la faible spécificité des signes associés et le faible rendement des hémocultures rendent le diagnostic difficile. Le retard diagnostique peut être source de complications pour le patient et de contagion prolongée.

- **Le diagnostic d'IIM est d'autant plus probable dans ces situations qu'un ou plusieurs éléments sont présents, parmi :**

- ✚ Age < 25 ans ;
- ✚ Contact avec un cas d'IIM ou épidémie d'IIM dans la communauté de vie du patient ;
- ✚ Antécédent d'IIM, de splénectomie ou d'asplénie fonctionnelle (drépanocytose homozygote, maladie de surcharge avec atteinte splénique, greffe de cellules souches hématopoïétiques) ;
- ✚ Déficit en complément, en properdine ou en Mannan Binding Lectin (MBL) ;
- ✚ Traitement par éculizumab (inhibiteur de C5) ;
- ✚ Purpura.

b. Diagnostic bactériologique des IIM

- Culture ou PCR méningocoque positive à partir d'un site normalement stérile (sang, LCR, liquide articulaire, liquide pleural, liquide péritonéal, liquide péricardique) ou d'une lésion cutanée purpurique ;
- Diplocoques Gram négatif à l'examen direct d'un site normalement stérile ou d'une lésion cutanée purpurique ;
- LCR évocateur de méningite bactérienne purulente (à l'exclusion de l'isolement d'une autre bactérie) et présence d'antigènes solubles méningococciques dans le LCR, le sang ou les urines.
- Les prélèvements rhinopharyngés ne permettent pas de confirmer le diagnostic d'IIM.

2. Diagnostic bactériologique d'IIM en contexte de purpura fulminans

a. Place des prélèvements bactériologiques dans la prise en charge d'un purpura fulminans

La prise en charge d'un cas de purpura fulminans en préhospitalier et à l'hôpital est dictée par l'instruction DGS du 27 janvier 2011 relative à la prophylaxie autour des cas d'IIM :

- Prise en charge immédiate avec appel systématique au SAMU-Centre 15 ;
- Reconnaissance et traitement de l'état de choc avec mise en place d'une voie veineuse et remplissage vasculaire ;
- Mise en route en urgence d'une antibiothérapie appropriée aux IIM qui ne doit pas être retardée par la réalisation de prélèvements ;
- Transfert du patient en urgence à l'hôpital, en privilégiant les établissements dotés d'un service de réanimation adapté à l'âge du malade. L'intervention sur place d'une équipe

médicalisée expérimentée SAMU est justifiée sous réserve que son délai d'intervention soit inférieur à 20 minutes. Dans les autres cas, le transport sera effectué par le moyen le plus rapide, le médecin ayant au préalable alerté les urgences de l'hôpital de l'arrivée d'un cas suspect de purpura fulminans afin que son accueil puisse être préparé.

- Ce n'est qu'après la gestion des 4 points précédents que les prélèvements bactériologiques seront effectués :
 - ✚ Prélèvement sanguin pour hémocultures et PCR méningocoque et pneumocoque ;
 - ✚ Prélèvement de lésion purpurique cutanée pour examen direct, culture bactérienne et PCR méningocoque et pneumocoque ;
 - ✚ Très rarement, ponction lombaire, en l'absence de contre-indication, et seulement après réception du bilan de coagulation intravasculaire disséminé (CIVD) ;
 - ✚ En cas de décès, les prélèvements doivent être effectués le plus rapidement possible en post mortem, après accord de la famille.

b. Modalités des prélèvements bactériologiques

- Prélèvement sanguin
 - 2 couples d'hémocultures aérobies comportant 10 ml de sang par flacon chez l'adulte ;
 - Ou 1 ou plusieurs hémocultures dont le volume de sang dépend du poids du patient chez l'enfant (Tableau 1) ;
 - 1 tube sec ou EDTA de 5 ml chez l'adulte ou 1 cône pédiatrique chez le nouveau-né pour PCR bactériennes plasmatiques (pneumocoque et méningocoque).
 - NFS, ionogramme, urée, créatinine, glycémie, TP TCA, marqueurs de CIVD, bilan hépatique, lactates.

Tableau 1. Volume de sang à mettre en culture en fonction du poids de l'enfant

Poids de l'enfant (en kg)	Volume de sang (en ml)			Volume total soustrait (en %)
	Culture 1	Culture 2	Culture 3	
	Aérobie	Aérobie	Aérobie	
≤ 1	1 flacon de 0,5-2 ml	-	-	4
1-2	1 flacon de 1,5-4 ml	-	-	4,5
2-13	1 flacon de 3-6 ml	-	-	3
13-36	2 flacons de 6 ml	2 flacons de 6 ml	-	2,9
> 36	2 flacons de 10 ml	2 flacons de 10 ml	2 flacons de 10 ml	2,8

- Prélèvement de lésion purpurique cutanée
 - En pratique, ce prélèvement peut être réalisé dans le service de réanimation plutôt qu'aux urgences.
 - Biopsie à l'aide d'un punch à biopsie
 - Matériel spécifique nécessaire : 1 punch de 3 mm, 1 pince Adson avec ou sans griffe, 1 lame droite de bistouri.
 - Modalités : 2 carottes sont réalisées par une rotation appuyée du punch, de manière perpendiculaire à la peau. Chaque fragment ainsi isolé est saisi par la pince et coupé à sa base par la lame de bistouri. Chaque prélèvement biopsié est alors déposé dans un flacon stérile, sans ajout d'eau stérile ou de sérum physiologique. Le 1^{er} sera destiné aux recherches bactériennes par méthodes standard (examen direct et culture) et le 2^{ème} aux techniques de biologie moléculaire (PCR pneumocoque et méningocoque). 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.
- PL : se reporter au paragraphe 3 « diagnostic bactériologique d'IIM en contexte de méningite communautaire », sous-paragraphe c « modalités des prélèvements bactériologiques ».
- Dans tous les cas de figure, le prélèvement doit être acheminé vers le laboratoire rapidement et sans exposition au froid. Les bons de bactériologie doivent indiquer la notion de purpura fulminans. Dans l'idéal, le technicien de laboratoire et/ou le biologiste seront directement informés de l'envoi de ces prélèvements afin qu'ils soient analysés dans les plus brefs délais.

c. Indication de la réalisation des PCR bactériennes sur les échantillons prélevés

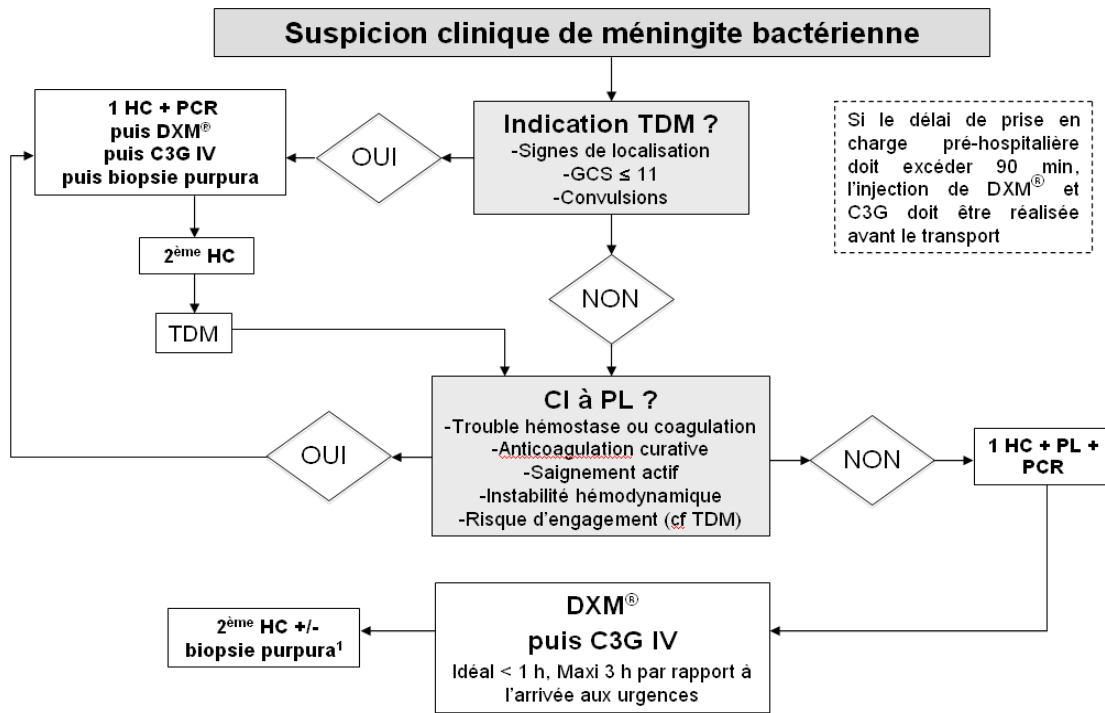
- Les prélèvements destinés à la réalisation des techniques de biologie moléculaire (prélèvements sanguin, cutané, plus ou moins de LCR si une PL est réalisée) seront acheminés de manière systématique au laboratoire référent régional du méningocoque (LR de Nantes ou Angers), via le laboratoire du centre hospitalier où est pris en charge le malade.
- Les PCR bactériennes (méningocoque et pneumocoque) seront réalisées de manière systématique, quels que soient le résultat des examens directs (cutané et LCR) et l'antécédent d'antibiothérapie.

3. Diagnostic bactériologique d'IIM en contexte de méningite communautaire de l'adulte

a. Place des examens bactériologiques dans la séquence de prise en charge d'une méningite communautaire au stade de suspicion clinique (Figure 1)

- La ponction lombaire doit idéalement être réalisée avant l'administration des antibiotiques.
- Dans les situations suivantes, la PL est contre-indiquée :
 - ✚ En présence de signes neurologiques faisant craindre un engagement cérébral : signes de localisation, GCS \leq 11, crises d'épilepsie focales ou généralisées récentes ou en cours. La PL sera définitivement contre-indiquée si l'imagerie confirme le risque d'engagement mais pourra secondairement être réalisée si l'imagerie le permet.
 - ✚ En présence d'un purpura nécrotico-hémorragique, ou d'un saignement actif ;
 - ✚ En présence d'un état de choc ;
 - ✚ Si le patient reçoit une anticoagulation à dose efficace (HNF, HBPM, AVK, fondaparinux, danaparotide, nouveaux anticoagulants oraux) ou s'il est traité par un antiagrégant plaquettaire autre que l'aspirine à dose antiagrégante.
 - ✚ Si le patient a un trouble de l'hémostase ou de la coagulation connu, acquis ou congénital (hémophilie, autre déficit en facteurs de la coagulation, maladie de Willebrand, thrombopénie $<$ 50 G/l) ;
- Dans tous les cas, le bilan sanguin, comprenant entre autres, 1 couple d'hémocultures bactériennes et un tube sec ou EDTA pour la réalisation des PCR bactériennes, doit être réalisé avant le début de l'antibiothérapie.

Figure 1. Place des examens bactériologiques dans la séquence de prise en charge d'une méningite communautaire, au stade de présomption clinique

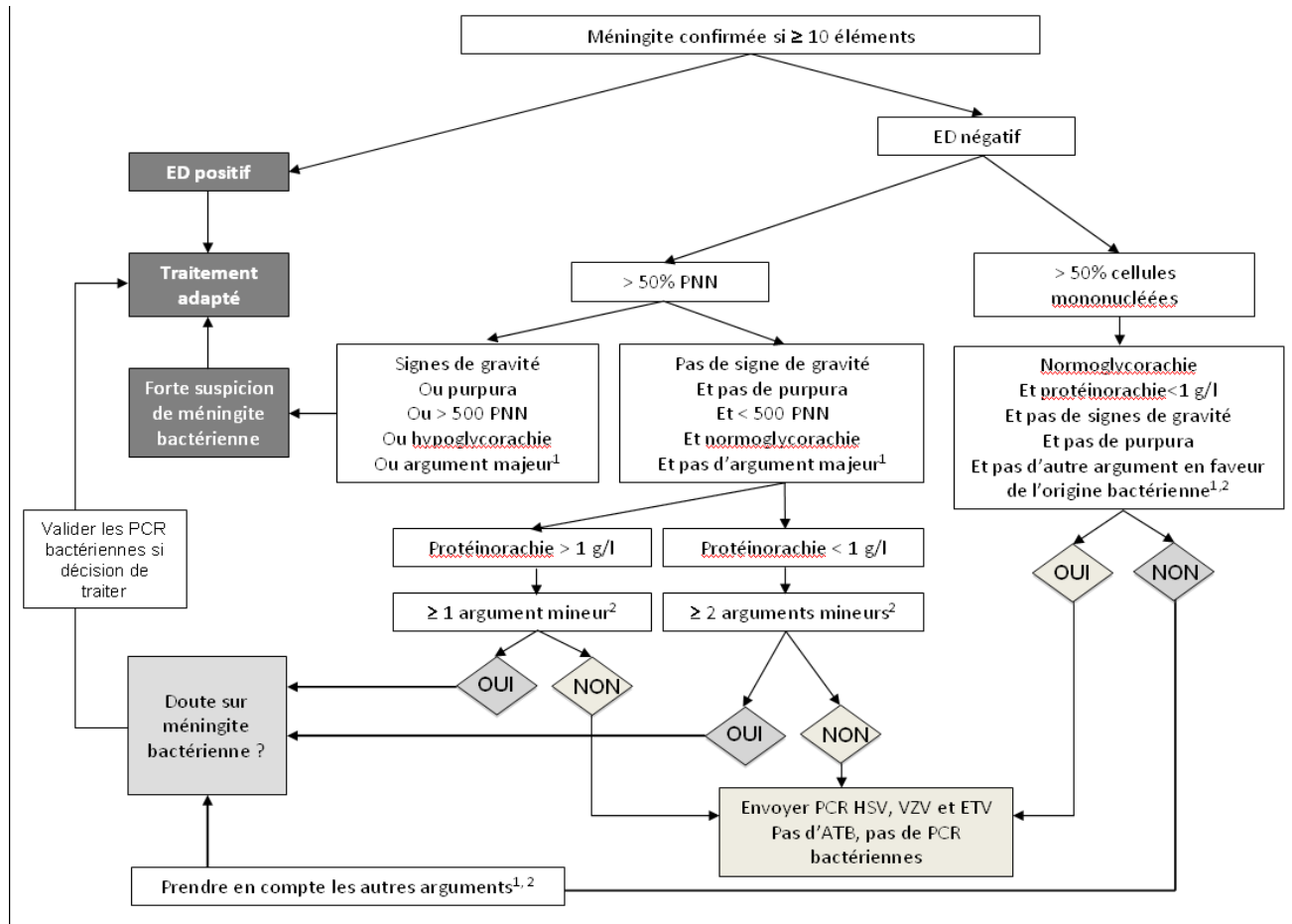


¹ La biopsie de purpura sera réalisée selon les résultats de la PL (cf paragraphe suivant), selon l'antécédent d'antibiothérapie préalable à la PL et le degré de présomption clinique de méningite bactérienne ; C3G IV, céphalosporine de 3^{ème} génération intra-veineuse (ceftriaxone ou céfotaxime) ; DXM, dexaméthasone ; HC : hémoculture (couple) ; PCR, polymérase chain reaction ; PL, ponction lombaire.

b. Place des examens bactériologiques une fois le diagnostic biologique de méningite posé (Figure 2)

- Définition biologique de méningite : ≥ 10 éléments/mm³

Figure 2. place des examens bactériologiques en fonction des résultats de la PL



ED, examen direct ; ETV, entérovirus ; HSV, *Herpes Simplex Virus* ; PNN, polynucléaires neutrophiles ; VZV, *Varicelle Zona Virus*

¹ Arguments majeurs en faveur du diagnostic de méningite bactérienne :

- Examen physique : sinusite, pneumopathie, otite ;
- Antécédent de traumatisme crânien, chirurgie de la base du crâne ou brèche neuroméningée, port d'implant cochléaire, myélome ;
- Antécédent d'IIM, splénectomie, asplénie fonctionnelle (drépanocytose homozygote, greffe de cellules souches hématopoïétiques, maladie de surcharge touchant la rate), déficit en complément, en properdine ou en MBL, traitement par éculizumab ;
- Traitement immunosuppresseur, chimiothérapie ou radiothérapie pour maladie dysimmunitaire, néoplasie, hémopathie, transplantation d'organe solide.

² Arguments mineurs en faveur du diagnostic de méningite bactérienne ou facteurs compromettant la positivité des examens bactériologiques :

- Antécédent d'antibiothérapie récente < 2 jours ;

- Grossesse, alcoolisme chronique ou hépatopathie chronique, antécédent de déficit immunitaire congénital ou secondaire à l'infection par le VIH, insuffisance rénale chronique, syndrome néphrotique ;
- Taux de lactates dans le LCR > 3,8 mM ;
- PCT > 0,5 µg/l.

c. Modalités des prélèvements bactériologiques

- Prélèvement sanguin
 - NFS, ionogramme, urée, créatinine, TP TCA ; PCT (à l'appréciation du prescripteur) ;
 - Si signes de gravité : marqueurs de CIVD, bilan hépatique et lactates ;
 - Glycémie : doit être faite au moment de la PL. Si plus d'1 heure s'est écoulée entre la glycémie veineuse et la PL, il est recommandé de prélever une glycémie capillaire au moment de la PL, a fortiori si le patient a reçu du glucose par voie orale ou veineuse dans l'intervalle ;
 - 2 couples d'hémocultures avec un volume de sang de 10 ml chez l'adulte et adapté au poids chez l'enfant (Tableau 1) : le 1^{er} au moins avant antibiothérapie et le 2^{ème} ensuite ;
 - 1 tube sec ou EDTA pour la réalisation des PCR méningocoque et pneumocoque. Ce prélèvement peut être réalisé jusqu'à 24 heures suivant l'instauration d'antibiotiques.
- Ponction lombaire
 - 1 tube de 10 gouttes pour analyse cytologique (compte des éléments nucléés et % de PNN). Eviter la présence de sang dans ce tube (éviter d'utiliser le 1er tube prélevé) ;
 - 1 tube de 10 gouttes pour analyse chimique (protéïnorachie, glycorachie rapportée à la glycémie faite à la même heure, dosage du lactate) ;
 - 2 tubes de 20 gouttes pour analyse bactériologique (examen direct puis culture pour le 1^{er}, PCR bactériennes pour le 2^{ème}). Ces 2 tubes sont à envoyer directement au laboratoire ;
 - 1 tube de 10 gouttes à garder au réfrigérateur (+ 4°C) et à envoyer secondairement en fonction des premiers résultats (PCR HSV, VZV si méningite lymphocytaire, PCR entérovirus si méningite lymphocytaire ou à prédominance de PNN avec faible suspicion de méningite bactérienne) ;
 - Communication des informations cliniques au microbiologiste ;
 - Respect de la rapidité d'acheminement et de la non exposition au froid des prélèvements
 - Résultats à récupérer dans l'heure : cytologie, biochimie, coloration de Gram.

- Biopsie cutanée
 - Indications
 - Élément purpurique nécrotique : si PL non réalisable ou examen direct du LCR négatif ou antibiothérapie précédant la PL ;
 - Élément purpurique non nécrotique : si PL non réalisable ou examen direct et culture du LCR négatif à 24 heures ;
 - Peut être faite jusqu'à 7 jours suivant le début des ATB
 - Procédure
 - Anesthésie locale : 1 flacon de xylocaïne 10 mg/ml, 1 aiguille SC et 1 seringue de 10 ml,
 - Réalisation de 2 carottes (la 1^{ère} pour examen bactériologique standard, la 2^{ème} pour éventuelles PCR bactériennes) : 1 punch de 3 mm, 1 pince Adson avec ou sans griffe et une lame droite de bistouri,
 - Suture : 1 plateau de suture (non indispensable si biopsie d'élément nécrotique > 1 cm et/ou signes de gravité).

d. Indications de la réalisation des PCR bactériennes sur les échantillons prélevés

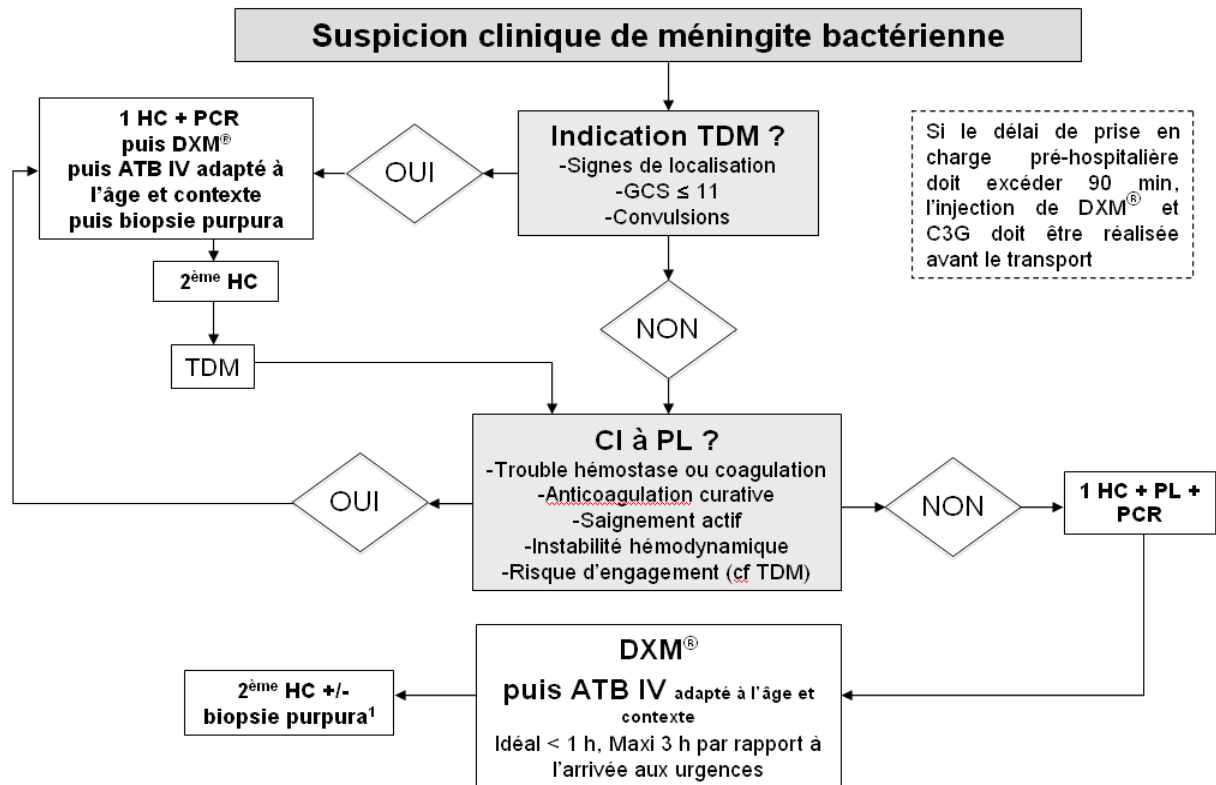
- Les prélèvements destinés à la réalisation des PCR bactériennes (sanguin, LCR, cutané) seront réalisés selon l'algorithme des figures 1 et 2 et acheminés de manière systématique au LRM de Nantes ou d'Angers via le laboratoire du centre hospitalier accueillant le malade.
- Les PCR seront réalisées après concertation entre cliniciens et biologistes, à savoir :
 - ✚ Si forte suspicion de méningite bactérienne et [PL non réalisable ou examen direct et culture du LCR négatifs] et [absence de biopsie cutanée ou examen direct et culture de biopsie cutanée négatifs] ;
 - ✚ Ou si doute sur méningite bactérienne et [PL non réalisable ou examen direct et culture du LCR négatifs] et décision de poursuite des antibiotiques ;
 - ✚ Elles peuvent être réalisées dans le sang et le LCR jusqu'à 24 heures après l'instauration des antibiotiques, et jusqu'à 7 jours dans une lésion purpurique.

4. Diagnostic bactériologique d'IIM en contexte de méningite communautaire chez l'enfant

a. Place des examens bactériologiques dans la séquence de prise en charge d'une méningite communautaire au stade de suspicion clinique (fig. 3)

- La ponction lombaire doit idéalement être réalisée avant l'administration des antibiotiques.
- Dans les situations suivantes, la PL est contre-indiquée :
 - ✚ En présence de signes neurologiques faisant craindre un engagement cérébral : signes de localisation, $GCS \leq 11$, crises d'épilepsie focales ou généralisées chez l'enfant > 5 ans ou hémicorpoelles chez l'enfant < 5 ans, récentes ou en cours. La PL sera définitivement contre-indiquée si l'imagerie confirme le risque d'engagement mais pourra secondairement être réalisée si l'imagerie le permet.
 - ✚ En présence d'un purpura nécrotico-hémorragique, ou d'un saignement actif ;
 - ✚ En présence d'un état de choc ;
 - ✚ Si le patient reçoit une anticoagulation à dose efficace (HNF, HBPM, AVK, fondaparinux, danaparotide, nouveaux anticoagulants oraux) ou s'il est traité par un antiagrégant plaquettaire autre que l'aspirine à dose antiagrégante.
 - ✚ Si le patient a un trouble de l'hémostase ou de la coagulation connu, acquis ou congénital (hémophilie, autre déficit en facteurs de la coagulation, maladie de Willebrand, thrombopénie < 50 G/l) ;
- Dans tous les cas, le bilan sanguin, comprenant entre autres, une hémoculture bactérienne et un tube sec ou EDTA pour la réalisation des PCR bactériennes, doit être réalisé avant le début de l'antibiothérapie.

Figure 3. Place des examens bactériologiques dans la séquence de prise en charge d'une méningite communautaire, au stade de présomption clinique

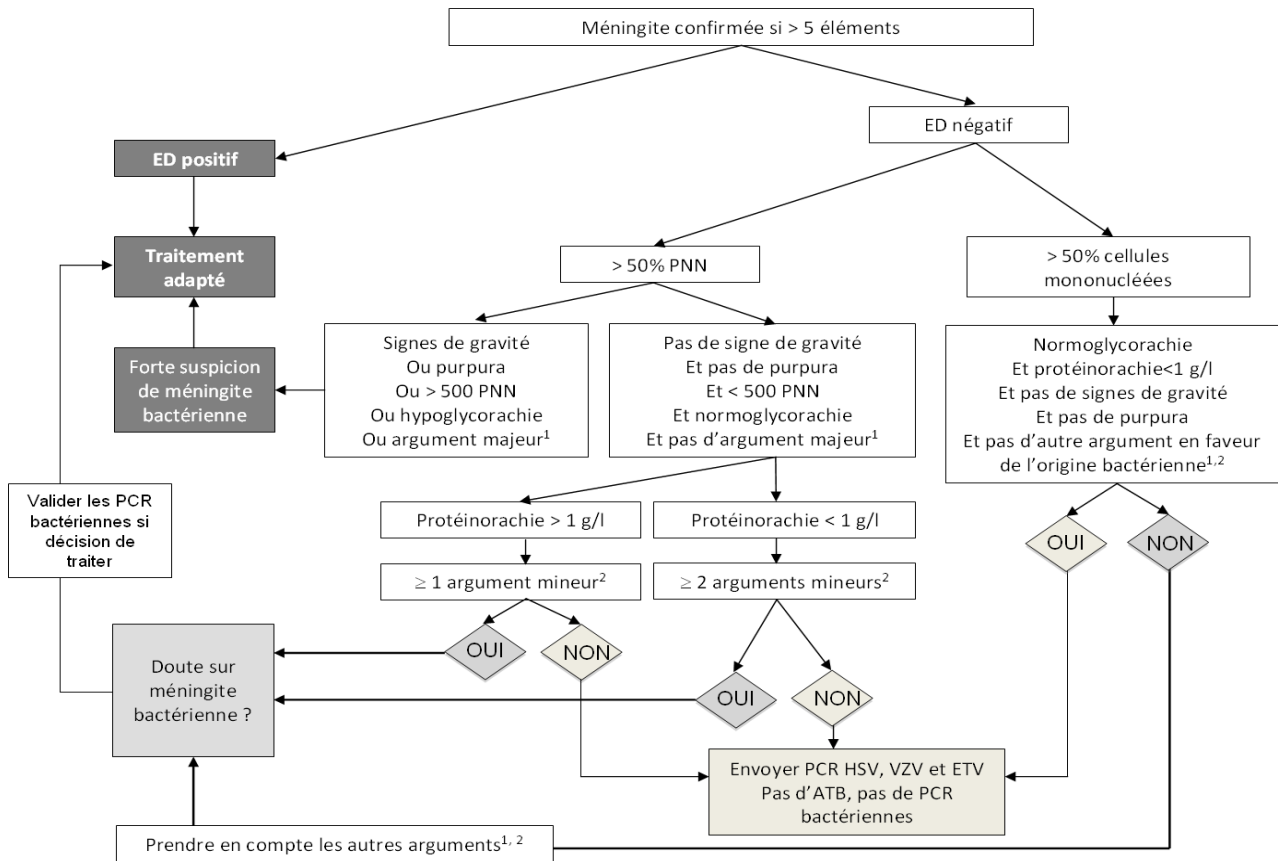


¹ La biopsie de purpura sera réalisée selon les résultats de la PL (cf paragraphe suivant), selon l'antécédent d'antibiothérapie préalable à la PL et le degré de présomption clinique de méningite bactérienne ; ATB IV, antibiothérapie parentérale ; DXM, dexaméthasone ; HC : hémoculture (couple) ; PCR, polymérase chain reaction ; PL, ponction lombaire.

b. Place des examens bactériologiques une fois le diagnostic biologique de méningite posé (fig. 4)

- Définition biologique de méningite : ≥ 5 éléments/mm³

Figure 4. Place des examens bactériologiques en fonction des résultats de la PL



ED, examen direct ; ETV, entérovirus ; HSV, *Herpes Simplex Virus* ; PNN, polynucléaires neutrophiles ; VZV, *Varicelle Zona Virus*

¹ Arguments majeurs en faveur du diagnostic de méningite bactérienne :

- Examen physique : sinusite, pneumopathie, otite ;
- Antécédent de traumatisme crânien, chirurgie de la base du crâne ou brèche neuroméningée, implant cochléaire ;
- Antécédent d'IIM, splénectomie, asplénie fonctionnelle (drépanocytose homozygote, greffe de cellules souches hématopoïétiques), déficit en fraction terminale du complément, en properdine ou en MBL, traitement par éculizumab.

² Arguments mineurs en faveur du diagnostic de méningite bactérienne ou facteurs compromettant la positivité des examens bactériologiques :

- Antécédent d'antibiothérapie récente < 2 jours ;
- Hépatopathie, antécédent de déficit immunitaire congénital ou secondaire à l'infection par le VIH, une insuffisance rénale chronique, un syndrome néphrotique, un traitement immunosuppresseur ou une radiothérapie pour néoplasie, hémopathie, transplantation d'organe solide ;
- PCT > 0,5 µg/l.

c. Modalités des prélèvements bactériologiques

- **Prélèvement sanguin**

- NFS, ionogramme, urée, créatinine, TP TCA, PCT ;
- Si signes de gravité : marqueurs de CIVD, bilan hépatique et lactates ;
- Glycémie : doit être faite au moment de la PL. Si plus d'1 heure s'est écoulée entre la glycémie veineuse et la PL, il est recommandé de prélever une glycémie capillaire, a fortiori si l'enfant a reçu du glucose par voie orale ou parentérale ;
- 2 hémocultures (HC) : la 1^{ère} au moins avant antibiothérapie et la 2^{ème} ensuite ; ou 1 ou plusieurs hémocultures dont le volume de sang dépend du poids du patient chez l'enfant (Tableau 1) ;
- 1 tube sec ou EDTA, ou 1 cône pédiatrique pour la réalisation des PCR méningocoque et pneumocoque. Ce prélèvement peut être réalisés jusqu'à 18 heures suivant l'instauration d'antibiotiques.

- **Ponction lombaire**

- 1 tube de 10 gouttes pour analyse cytologique (compte des éléments nucléés et % de PNN). Eviter la présence de sang dans ce tube (éviter d'utiliser le 1er tube prélevé) ;
- 1 tube de 10 gouttes pour analyse chimique (protéïnorachie, glycorachie rapportée à la glycémie faite à la même heure, dosage du lactate) ;
- 2 tubes de 20 gouttes pour les enfants ≥ 2 ans ou 2 tubes de 10 gouttes pour les enfants < 2 ans, pour analyse bactériologique (examen direct puis culture pour le 1^{er}, PCR bactériennes pour le 2^{ème}) ;
- 1 tube de 10 gouttes à garder au réfrigérateur (+ 4°C) et à envoyer secondairement en fonction des premiers résultats (PCR HSV, VZV si méningite lymphocytaire, PCR entérovirus si méningite lymphocytaire ou à prédominance de PNN avec faible suspicion de méningite bactérienne) ;
- Communication des informations cliniques au microbiologiste ;
- Respect de la rapidité d'acheminement et de la non exposition au froid des prélèvements
- Résultats à récupérer dans l'heure : cytologie, biochimie, coloration de Gram.

- **Biopsie cutanée**

- Indications
 - Élément purpurique nécrotique : si PL non réalisable ou examen direct du LCR négatif ;
 - Élément purpurique non nécrotique : si PL non réalisable ou examen direct et culture du LCR négatif à 24 heures ;

- Peut être faite jusqu'à 7 jours suivant le début des ATB
- Procédure
 - Anesthésie locale : 1 flacon de xylocaïne 1%, 1 aiguille SC et 1 seringue de 10 ml pour l'anesthésie,
 - Réalisation de la carotte : 1 punch de 3 mm, 1 pince Adson et une lame droite de bistouri,
 - Suture non indispensable si biopsie d'élément nécrotique > 1 cm et/ou signes de gravité : 1 plateau de suture.

d. Indication de la réalisation des PCR bactériennes prélevées

- Les prélèvements destinés à la réalisation des PCR bactériennes seront réalisés selon l'algorithme des figures 3 et 4 et acheminés de manière systématique au LR de Nantes ou d'Angers via le laboratoire du centre hospitalier accueillant le malade.
- Les PCR seront réalisées après concertation entre cliniciens et biologistes, à savoir :
 - Si forte suspicion de méningite bactérienne et [PL non réalisable ou examen direct et culture du LCR négatifs] et [absence de biopsie cutanée ou examen direct et culture de biopsie cutanée négatifs] ;
 - Ou si doute sur méningite bactérienne et [PL irréalisable ou examen direct et culture du LCR négatifs] et [absence de biopsie cutanée ou examen direct et culture de biopsie cutanée négatifs] et décision de poursuite des antibiotiques ;
 - Elles peuvent être réalisées dans le sang et le LCR jusqu'à 24 heures après l'instauration des antibiotiques, et jusqu'à 7 jours dans une lésion purpurique.

5. Diagnostic bactériologique d'IIM en contexte de fièvre sans méningite chez l'adulte

a. Place et modalités des prélèvements bactériologiques en contexte de suspicion de méningococcémie aiguë

La prise en charge d'une suspicion de méningococcémie aiguë se rapproche de celle du purpura fulminans. En plus des prélèvements bactériologiques sanguins et cutanés décrits dans le paragraphe « diagnostic bactériologique d'IIM en contexte de purpura fulminans », il est recommandé de réaliser une ponction articulaire en présence d'arthrite. Le liquide synovial doit être acheminé dans des flacons stériles au laboratoire du centre hospitalier où est hospitalisé le patient pour la réalisation des examens biochimique, cytologique, anatomopathologique et bactériologique (ED et culture sur un 1^{er} flacon, PCR méningocoque et pneumocoque sur un 2^{ème} flacon, jusqu'à 5 jours après l'instauration des antibiotiques). Un échantillon de liquide synovial doit aussi être ensemencé dans un flacon d'hémoculture aérobie pour augmenter la sensibilité de la culture bactérienne. Le flacon destiné à la réalisation des PCR bactériennes sera acheminé de manière systématique au LR de Nantes ou Angers

via le laboratoire du centre hospitalier où est pris en charge le patient. Les PCR seront réalisées si les examens bactériologiques classiques sont négatifs à 24 heures et en l'absence de diagnostic différentiel.

b. Place et modalités des prélèvements bactériologiques en contexte de suspicion de méningococcémie chronique

Le diagnostic bactériologique est souvent difficile, même en l'absence d'antibiothérapie préalable, si bien que les prélèvements doivent être répétés avant la mise en route d'une antibiothérapie probabiliste.

Il est recommandé de réaliser :

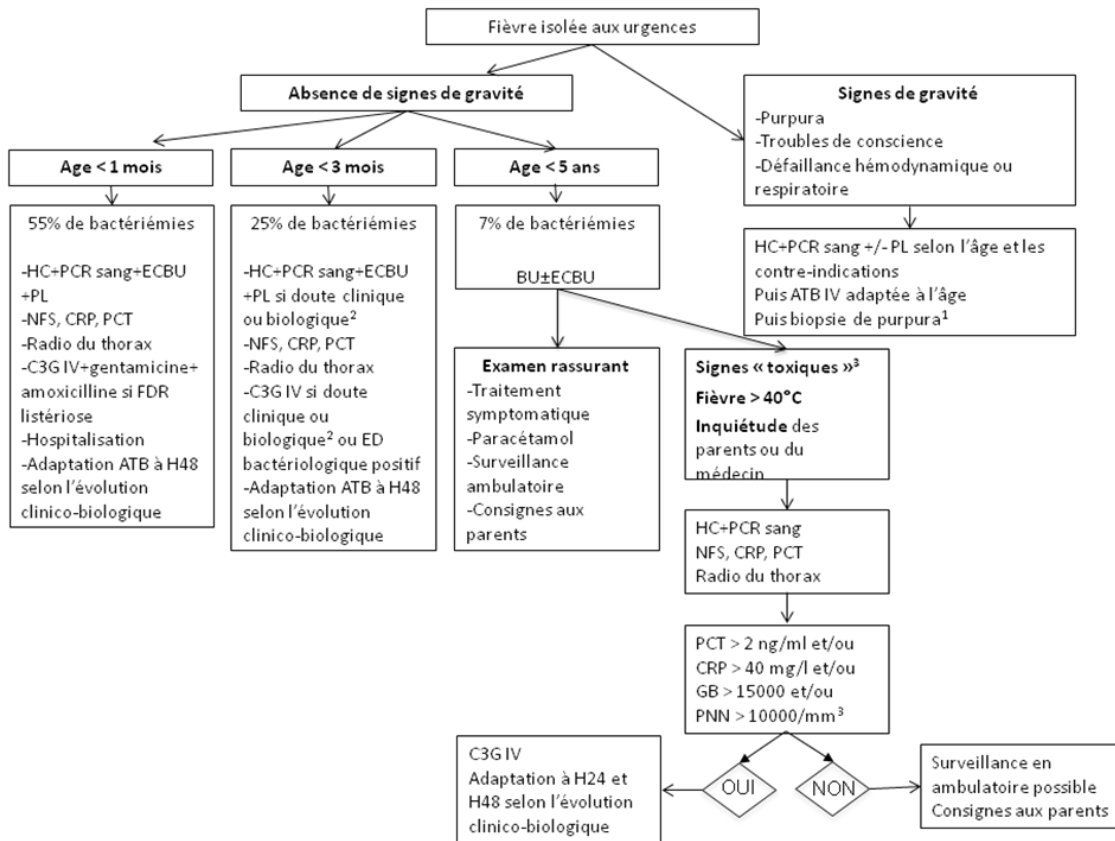
- Au moins 3 couples d'hémocultures aérobie par jours pendant au moins 2 jours ;
- Un prélèvement sanguin sur tube sec (pour les centres affiliés au LR de Nantes) ou EDTA (pour les centres affiliés au LR d'Angers) pour la réalisation d'une PCR méningocoque ;
- Une ou plusieurs biopsies cutanées pour la réalisation des examens bactériologiques classiques (ED et culture), d'une PCR méningocoque et d'un examen anatomopathologique avec immunofluorescence directe ;
- Une ponction articulaire si des signes d'arthrite sont présents. Le liquide synovial doit être acheminé dans des flacons stériles au laboratoire du centre hospitalier où est hospitalisé le patient pour la réalisation des examens biochimique, cytologique, anatomopathologique et bactériologique (ED et culture sur un 1^{er} flacon, PCR méningocoque sur un 2^{ème} flacon, jusqu'à 5 jours après l'instauration des antibiotiques). Un échantillon de liquide synovial doit aussi être ensemencé dans un flacon d'hémoculture aérobie pour augmenter la sensibilité de la culture bactérienne. Le flacon destiné à la réalisation des PCR bactériennes sera acheminé de manière systématique au LR de Nantes ou Angers via le laboratoire du centre hospitalier où est pris en charge le patient. Les PCR seront réalisées si les examens bactériologiques classiques sont négatifs à 24 heures et en l'absence de diagnostic différentiel.

6. Diagnostic bactériologique d'IIM en contexte de fièvre isolée chez l'enfant

a. Place des examens bactériologiques dans la prise en charge d'une suspicion de méningococcémie chez l'enfant

Les IIM de l'enfant peuvent prendre la forme de bactériémies occultes sans autres symptômes initiaux que la fièvre. La prise en charge diagnostique et thérapeutique d'une fièvre isolée de l'enfant dépend de l'âge de l'enfant et de la présence ou non de signes évocateurs d'infection bactérienne. La place des prélèvements bactériologiques devant une fièvre isolée de l'enfant est décrite dans la figure 5

Figure 5. Conduite à tenir devant une fièvre isolée aux urgences



¹ si pas de PL ou ED du LCR négatif ou antibiothérapie préalable

² GB < 5000 ou > 15000/ml avec PNN > 50% et/ou CRP > 30 mg/l et/ou PCT > 0,5 µg/l

³ altération de l'état général, modification du contact, bombement de la fontanelle, refus de la marche, déshydratation, pâleur, cris inhabituels, anorexie, vomissements verts, frissons, changement du teint, douleurs dans les jambes

b. Modalités des examens bactériologiques

Les modalités de réalisation des examens bactériologiques ont été décrites dans les paragraphes précédents.

c. Indication de la réalisation des PCR bactériennes prélevées

- Les prélèvements destinés à la réalisation des PCR bactériennes (sanguin, cutané et/ou LCR) seront réalisés selon l'algorithme de la figure 5 et acheminés de manière systématique au LR de Nantes ou d'Angers via le laboratoire du centre hospitalier accueillant le malade.

- Les PCR seront réalisées après concertation entre cliniciens et biologistes, à savoir :
 - Signes de gravité ou signes toxiques : si [PL et biopsie de purpura non réalisées] ou [ED du LCR et de purpura négatifs] ou antibiothérapie préalable ;
 - En l'absence de signes de gravité et de signes toxiques : si examens bactériologiques classiques négatifs (ED et culture) et décision de poursuite des antibiotiques à H48.