

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
Université SAAD DAHLAB de Blida
Faculté des sciences Agro-vétérinaires et Biologiques
Département de Biologie



**Mémoire de projet de fin d'études en vue de l'obtention du
diplôme de Master**

Option : Microbiologie/ Bactériologie

Thème

**Etude des microorganismes impliqués dans la
méningite.**

Préparé par :

YOUSFI Linda

Date de soutenance :

03 / 10 /2013

Devant le jury :

Mme AMARA N.	MAA, université de Blida.	Présidente
Mr HAMAIDI M.S.	MCA, université de Blida.	Promoteur
Mme SAHRAOUI N.	MCA, université de Blida.	Examinatrice
Mme BOUDJEMA N.	MAA, université de Blida.	Examinatrice
Mme LASSAS K.	Médecin spécialiste en microbiologie EPH de Boufarik.	Co-promotrice

Année universitaire 2012/2013

Remerciements

Je remercie Dieu le tout puissant de m'avoir donné la santé et la volonté d'entamer et de terminer ce mémoire.

Tout d'abord je tiens à remercier mon promoteur Mr M.S HAMAIDI pour la qualité de son encadrement exceptionnel, pour sa patience, sa rigueur et sa disponibilité durant ma préparation de ce mémoire.

Mes remerciements s'adressent à Mme K. LASSAS pour son aide précieuse, son soutien et sa disponibilité durant ma préparation de ce mémoire.

Je suis très honoré d'avoir Mme AMARA N. comme présidente du jury de mon mémoire, et je remercie Mme SAHRAOUI N. et Mme BOUDJEMAA N. d'avoir accepté d'examiner ce travail.

Mes remerciements vont également à tout le personnel du laboratoire de l'EPH de Boufarik surtout à Naima qui m'a beaucoup aidé durant mon stage pratique.

Linda

Dédicaces

Je dédie ce modeste travail :

A la lumière de mes jours, la source de mes efforts, la flamme de mon cœur, ma vie et mon bonheur, mon soutien moral et mon exemple éternel ; maman que j'adore.

A l'homme de ma vie, celui qui s'est sacrifié pour me voir réussir, que dieu te procure bonne santé et longue vie, à toi mon cher père.

A mes grands parents maternels Farida et Braham que j'aime beaucoup et qui m'ont toujours aidé et encouragé et aussi à mon chère frère Mohamed Amine, mes deux oncles maternels Abderrahmane et Lyes, à mes tantes Amel, Hassina, Amina, Leila et ma sœur de cœur Ferial.

Aux personnes qui étaient toujours à mes côtés et qui m'ont accompagné durant mon chemin d'étude supérieur, mes aimables amies et sœurs de cœur Hayet, Afaf, Yesmine, Hadjer, Meriem et Kenza sans oublier mes amies de la promotion microbiologie 2011.

Linda

Sommaire

Introduction	1
--------------------	---

CHAPITRE I : PARTIE BIBLIOGRAPHIQUE

I. Les méninges

I.1. La dure mère	2
I.2. l'arachnoïde.....	2
I.3. La pie mère.....	2

II. Le liquide céphalorachidien

II.1. Définition.....	4
II.2. Circulation du LCR.....	4
II.3. Composition du LCR.....	4
II.4. Rôle du LCR.....	4
II.5. Mode de contamination du LCR.....	4
II.6. Altération du LCR.....	5
II.7. la ponction lombaire.....	6

III. La méningite

III.1 Définition	7
III.2. Types de méningites.....	7
III.3. Les symptômes.....	10
III.4. Caractéristiques de certains germes impliqués dans la méningite.....	11
III.5. Prévention de la méningite.....	20

CHAPITRE II : MATERIEL ET METHODES

I .Matériels.....	21
II. Méthodes.....	21
II.1. Etude macroscopique.....	22
II.2. Etude microscopique.....	22
II.3. Etude biochimique	24
II.4. Etude bactériologique.....	25

II.5. Identification confirmative	30
II.6. Antibiogramme	32
II.7. Recherche des champignons	33

CHAPITRE III : RESULTATS ET DISCUSSION

Résultats	35
Discussion.....	46
Conclusion	49

Références bibliographique

Annexe

Liste des figures :

Figure 1 : Structure des méninges.	3
Figure 2 : Circulation de LCR.....	6
Figure 3 : Protocole analytique du LCR.....	21
Figure 4 : Test de catalase	26
Figure 5 : Test de coagulase	27
Figure 6 : Courbe de distribution mensuelle des LCR positifs.....	36
Figure 7 : Distribution des prélèvements de LCR positif selon l'aspect macroscopique....	36
Figure 8 : Distribution des méningites selon l'aspect macroscopique	37
Figure 9 : Répartition des méningites selon le sexe	37
Figure 10 : Répartition des méningites selon l'âge	38
Figure 11 : Répartition des prélèvements positifs selon la formule leucocytaire.....	38
Figure 12 : Répartition des méningites selon la positivité de la culture.....	39
Figure 13 : Distribution des méningites polynucléaires selon la positivité de la culture.....	39
Figure 14 : Distribution des méningites lymphocytaire selon la positivité de la culture.....	40
Figure 15 : Répartition des cultures positifs selon les germes isolés.....	41
Figure 16 : Répartition des méningites selon l'origine des germes.....	42
Figure 17 : Répartition de la résistance des entérobactéries aux antibiotiques	42
Figure 18 : Répartition de la résistance des pneumocoques aux antibiotiques	44
Figure 19 : Répartition de la résistance des <i>Streptococcus sp</i> aux antibiotiques.....	45
Figure 20 : Répartition de la résistance des staphylocoques aux antibiotiques.....	45
Figure 21 : Coloration de Gram d' <i>H.influenzae</i>	Annexe I
Figure 22 : Diplocoques à Gram négatif (<i>N.meningitidis</i>), coloration de gram dans un sédiment de LCR.....	Annexe I
Figure 23 : Aspect en coloration de Gram d'un pneumocoque dans le LCR	Annexe I
Figure 24 : Coloration de Ziehl Neelsen d' <i>Mycobacterium tuberculosis</i>	Annexe I
Figure 25 : Morphologie de l'Herpes virus sous microscope électronique	Annexe I
Figure 26 : Examen direct du liquide céphalorachidien après coloration à l'encre de Chine. Mise en évidence de cryptococoques.....	Annexe I
Figure 27 : les colorants de Gram.....	Annexe II
Figure 28 : milieux de culture.....	Annexe II
Figure 29 : Galerie classique.....	Annexe II
Figure 30 : Galerie API 20 ^E	Annexe II
Figure 31 : Test d'optochine	Annexe II
Figure 32 : Identification d' <i>H.influenzae</i> par le test de satellitisme	Annexe II
Figure 33 : Antibiogramme de Pneumocoque sur gélose au sang cuit.....	Annexe II
Figure 34 : Antibiogramme d' <i>E.coli</i> sur gélose Muller Hinton	Annexe II
Figure 35 : culture sur gélose au sang cuit de <i>Neisseria meningitidis</i>	Annexe II
Figure 36 : culture de <i>Mycobacterium tuberculosis</i>	Annexe II
Figure 37 : Galerie auxacolor de <i>Cryptococcus sp</i>	Annexe II

Liste des tableaux

Tableau I :Principales bactéries responsable de la méningite.....	9
Tableau II : mesure de la glycorachie	33
Tableau II : Mesure de la proteinorachie	34
Tableau IV :Répartition des prélèvements de LCR selon les résultats de l'examen direct	35
Tableau V : Répartition des prélèvements de LCR selon leur provenance des services	35
Tableau VI :Répartition des germes selon leurs origines nosocomiales ou communautaires.....	35
Tableau VII : Résistance de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> aux antibiotiques	43
Tableaux VIII : Antibiogramme du méningocoque.....	44
Tableau IX : Antibiogramme des bacilles de koch aux antibiotiques	44
Tableau X : tableau de lecture de la galerie API 20 ^E	Annexe II
Tableau XI : Guide d'interprétation des réactions colorées de l'Auxacolor	Annexe II
Tableau XII : Valeurs critiques des diamètres des zones d'inhibition et des CMI, pour <i>Neisseria meningitidis</i>	Annexe II
Tableau XIII :Répartition des résultats positifs selon les mois	Annexe III
Tableau XIV :Répartition des prélèvements positifs selon l'aspect macroscopique..	Annexe III
Tableau XV : Répartition des prélèvements positifs selon le type de méningite	Annexe III
Tableau XVI : Répartition des méningites selon le sexe	Annexe III
Tableau XVII : Répartition des prélèvements positifs selon l'âge	Annexe III
Tableau XVIII : Répartition des méningites selon la formule leucocytaire	Annexe III
Tableau XIX : Distribution des méningites selon la positivité de la culture	Annexe III
Tableau XX : Distribution des méningites polynucléaires selon la positivité du prélèvement	Annexe III
Tableau XXI : Distribution des méningites lymphocytaires selon la positivité de la culture.....	Annexe III
Tableau XXII : Répartition des cultures positives selon le germe isolé	Annexe III
Tableau XXIII : Résistance des entérobactéries aux antibiotiques	Annexe III
Tableau XXIV : Antibiogramme de <i>Streptococcus pneumomiae</i>	Annexe III
Tableau XXV : Antibiogramme de <i>Streptococcus</i> sp.....	Annexe III
Tableau XXVI : Antibiogramme des staphylocoques	Anexxe III

Glossaire

Aqueduc de Sylvius : L'aqueduc de Sylvius, qui doit son nom à celui de son découvreur, est un petit canal situé près du mésencéphale qui permet le passage du [liquide céphalo-rachidien](#) entre le troisième et le [quatrième ventricule](#).

Canal de l'épendyme : Canal situé au milieu de la moelle épinière et qui transporte le liquide céphalo-rachidien à partir des ventricules cérébraux.

Drépanocytose : anémie falciforme, est une [maladie héréditaire](#) qui se caractérise par l'altération de l'[hémoglobine](#), la [protéine](#) assurant le transport de l'[oxygène](#) dans le [sang](#).

Effet cytopathique : Effet de l'infection virale dans les cultures cellulaires, visibles au microscope ou par examen visuel direct. Causes des changements dans la morphologie cellulaire.

Encéphalite : affection inflammatoire de l'encéphale.

Infiltration carcinomateuse : Injection faite de façon à répartir la substance médicamenteuse anti carcinome.

Sérogroupe : groupe de bactéries ayant un ou plusieurs antigènes en commun utilisé dans la classification de certains genres de bactéries.

Sillon : Dépression linéaire de la surface du neurocortex.

Spina bifida : Malformation chirurgicale de la colonne vertébrale, caractérisée par l'absence de soudure des arcs postérieurs et de l'apophyse épineuse d'une ou plusieurs vertèbres, le plus souvent au niveau lombosacré.

Splénectomie : ablation chirurgicale de la rate.

Ventricule cérébraux : Cavités situées dans l'encéphale (système nerveux compris dans le crâne) et contenant du liquide céphalo-rachidien.

Abréviations

CMI : Concentration Minimale Inhibitrice.

ELISA : dosage immuno-enzymatique (enzyme-linked immunosorbent assay).

HSV : Herpes Simplex Virus.

IF : Immunofluorescence.

IgG: Immunoglobulin G

IgM: Immunoglobulin M.

LCR : Liquide Céphalo-rachidien.

ORL : Oto Rhino Laryngologie.

NAD : Nicotinamide adénine dinucléotide.

PL : Ponction Lominaire.

PCR : **Polymérase Chain Réaction.**

RT-PCR : *Reverse Transcriptase* Polymérase Chain Réaction.

VP1 /2 : Voges Proskauer (réactif).

Résumé

La méningite est une inflammation des méninges causées principalement par des virus, des bactéries et des champignons.

C'est dans cette optique que nous nous sommes orientés à la recherche des microorganismes responsables de la méningite par une étude macroscopique et microscopique, biochimique et bactériologique.

Notre étude relative à la méningite à fait ressortir deux types de méningites (une méningite à liquide clair et une méningite à liquide purulent) au niveau de l'établissement public hospitalier de Boufarik.

Les résultats de l'étude de 1219 prélèvements de liquide céphalo-rachidien donnent un taux de 27,07% de cas de méningite diagnostiqué.

Les méningites à liquide clair sont les plus fréquentes avec un taux de 53,33%, tandis que les méningites à liquide purulent représentent 46,47%.

Les méningites nosocomiales occupent la première place avec un taux de 54,55%, elles sont causées par les *Streptococcus sp*; les entérobactéries; les staphylocoques; *Pseudomonas aeruginosa*, suivi par les méningites communautaire avec un taux de 27,27% dues aux *Streptococcus pneumoniae* et *Neisseria meningitidis*.

Les résultats des antibiogrammes ont montré que ces bactéries sont sensibles à la majorité des antibiotiques testés.

Mots clés :

Méningite, Liquide céphalorachidien, Bactéries, Antibiogramme.

Our study about the meningitis identified two types of meningitis (about clear and purulent fluid) at the public hospital setting in Boufarik.

The results of 1219 samples of spinal fluid give a rate of 27.07% cases of meningitis diagnosed.

The clear fluid meningitis are the most common with a rate of 53.33%, while purulent meningitis represent 46.47%.

Nosocomial meningitis are first with a rate of 54.55% caused by *Streptococcus sp*, *Enterobacteriaceae*, staphylococci, *Pseudomonas aeruginosa*, followed by commune meningitis with a rate of 27.27% caused by *Streptococcus pneumoniae* and *Neisseria meningitidis*.

Susceptibility results have shown that these bacteria are the most sensitive to all antibiotics tested.

Keywords:

Meningitis, cerebrospinal fluid, bacteria, sensitivity.

الملخص

مرض السحايا هو ينجم أساسا عن الفيروسات والبكتيريا والفطريات, مع هذا المنطلق لجأنا إلى البحث عن الكائنات الدقيقة التي تسبب التهاب السحايا عن طريق الفحص , العيانية والمجهريّة، والبكتريولوجية. دراستنا عن التهاب السحايا سلطت الضوء على نوعين من التهاب السحايا(ذات السائل الشفاف وذات السائل القححي المعكر) وذلك على مستوى المؤسسة الاستشفائية بوفاريك.

النتائج المنحصلة عليها من 1219 عينة من سائل النخاع الشوكي اعطت نسبة 27,07% من حالات الالتهاب. التهاب السحايا ذات السائل الشفاف هي الأكثر شيوعا و ذلك بنسبة 53,33% في حين يمثل التهاب السحايا المعكر نسبة 46,47% .

التهاب السحايا ذات البيئّة الاستشفائية تحتل المرتبة الاولى بنسبة 54,55% والتي تسببها المكورات العقدية (Streptococcus sp), المعوية (Enterobactéries), العنقوديات (Staphyloquques), الزائفة الزنجارية (*Pseudomonas aeruginosa*), تليها التهاب السحايا ذات المصدر الاجتماعي و ذلك بنسبة 27,27% و التي تسببها العقدية الرئوية (*Strptococcus pneumoniae*) و النيسرية السحائية (*Neisseria meningitidis*).

اظهرت نتائج اختبار الحساسية ان هذه البكتيريا حساسة لمعظم المضادات الحيوية التي تم اختبارها.

الكلمات المفتاحية :

التهاب السحايا, السائل النخاعي, اختبار الحساسية.

Introduction

La méningite est un processus inflammatoire grave et parfois mortelle, d'origine infectieuse, s'accompagne de modifications des constantes biologiques du liquide céphalo-rachidien (LCR). Elle est causée par de nombreux microbes tel que les virus, les bactéries et les champignons.

Les méningites infectieuses se répartissent en trois groupes :

- Les méningites virales, généralement bénignes et d'évolution spontanée favorable.
- Les méningites fongiques, rares et le plus souvent liées à une immunodépression.
- Et enfin les méningites bactériennes (**DENIS et al., 2007**).

Les microbes pénètrent par les voies respiratoire passent dans le sang, puis dans le liquide céphalo-rachidien et dans les méninges (**MEVEL, 2013**).

Selon **STAHL (2009)**, les méningites bactériennes constituent un problème important, de par la mortalité (20%) chez les adultes et chez les enfants (10%), ainsi que par les séquelles (30%) malgré les traitements d'antibiotiques adaptés.

Selon **BOST-BRU et PLANTAZ (2004)**, trois espèces bactériennes se partagent la quasi-exclusivité des cas : *Streptococcus pneumoniae* , *Neisseria meningitidis* et *Haemophilus influenzae*.

L'objectif de notre travail porte sur :

- Recherche des microorganismes responsables de la méningite.
- Identification des germes responsable de la méningite bactérienne.
- Etude des résistances des germes isolés.

Partie bibliographique

I-1. LES MENINGES

L'encéphale est entouré par des membranes protectrices appelées **méninges**. Elles sont au nombre de trois, repartis de la périphérie vers l'intérieur par : la dure-mère, l'arachnoïde, la pie mère. Les méninges se prolongent dans le même ordre autour de la moelle épinière (NGUYEN *et al*, 2008).

I-1-1. La dure mère

La dure-mère est une membrane fibreuse tapissant la paroi du crâne. Par endroit elle se dédouble pour loger les grosses veines du crâne (NGUYEN *et al*, 2008).

I-1-2. L'arachnoïde

L'arachnoïde forme une fine membrane délicate et avasculaire composée de tissus fibreux et élastique. L'arachnoïde inclut l'espace sous arachnoïdien rempli de liquide céphalorachidien, dans lequel baigne la moelle épinière. L'arachnoïde n'est pas fixée sur la dure-mère, mais elle est maintenue au contact de sa face profonde par la pression du liquide céphalorachidien (MOORE et DALLEY, 2001).

I-1-3. La pie mère

Elle tapisse la surface de l'encéphale, elle s'enfonce à l'intérieur des sillons. Elle tapisse également la surface supérieure de 3^{ème} ventricule. La caractéristique de cette membrane est de porter à certains endroits les plexus choroïdes.

Les plexus choroïdes sont des pelotons vasculaires qui font relief à l'intérieur des ventricules ; ils sont le lieu de formation du liquide céphalorachidien.

Il existe des plexus choroïdes dans le 3^{ème} et le 4^{ème} ventricule et dans les ventricules latéraux.

Les compartiments occupés par le liquide céphalorachidien sont les espaces arachnoïdiens et toutes les cavités ventriculaires (NGUYEN *et al*, 2008).

La figure 1 représente la structure des méninges.

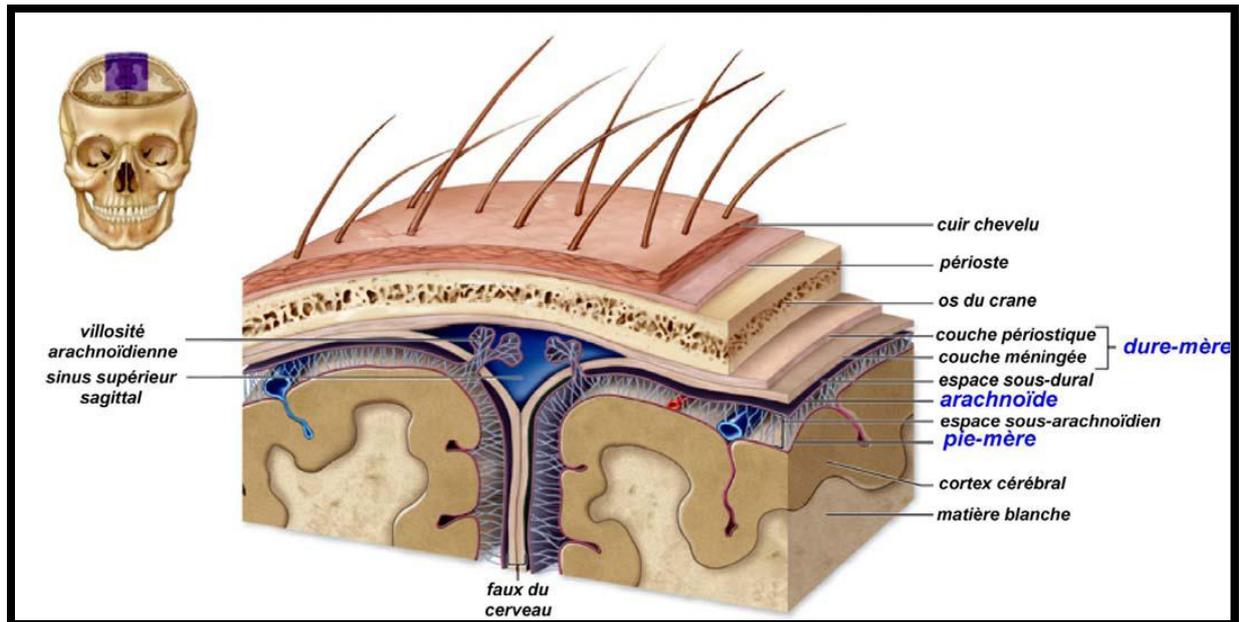


Figure 1 : Structure des méninges (LEHOUELLEUR 2010).

II. Le liquide céphalo-rachidien

I.1. Définition

C'est le liquide dans lequel baignent le cerveau et la moelle épinière. Il est contenu dans les méninges, plus précisément dans l'arachnoïde, entre la pie mère qui recouvre le système nerveux central et la dure-mère. (TURPIN, 2010). C'est un liquide clair, cristallin et légèrement alcalin (LE GAL, 2010).

I.2. Circulation du LCR

Le liquide céphalorachidien (LCR) est un liquide de composition particulière qui circule dans et autour du système nerveux. Il est produit à l'intérieur des ventricules cérébraux par les plexus choroïdes. Il circule dans les ventricules et gagne la périphérie du cerveau où il est réabsorbé au niveau des villosités arachnoïdiennes. La circulation du LCR se fait dans deux compartiments : le premier correspond aux ventricules cérébraux, à l'aqueduc de Sylvius et au canal de l'épendyme, le second à l'espace situé entre l'arachnoïde et la pie-mère (espace sous-arachnoïdien, constitué principalement par les « citernes »).

Le LCR passe du compartiment ventriculaire vers le compartiment sous-arachnoïdien par des orifices situés dans le toit du 4^{ème} ventricule (trous de MAGENDIE et de Luschka) (GUENARD, 2001), Voir figure 2.

I.3. Composition du LCR

Le LCR est secrété de façon continue à raison de 300 à 500 ml par jour par les villosités ou granulations arachnoïdiennes, seulement 125 à 130 ml circulent dans le système, le reste étant réabsorbé.

Il est constitué : de l'eau, du glucose (de 2,5 à 4 mmol/l) ; des protéines ; globulines et albumines (100 à 400 mg/l) ; des chlorures (de 120 à 170 mmol/ l) , des leucocytes en nombre réduit et des produits du métabolisme cellulaire telle que l'urée (**LE GAL, 2010**).

I.4. Rôle du LCR

Le LCR possède plusieurs fonctions telles que :

- Soutien et protection du cerveau et la moelle épinière.
- Maintient une pression adéquate à l'intérieur de la boîte crânienne.
- Amorti les chocs entre l'encéphale et la boîte crânienne.
- Maintient une humidité constante et participe aux échanges de substances et nutriments entre le sang et le LCR (**LE GAL, 2010**).

I.5. Mode de contamination du LCR

La contamination méningée peut se faire :

- **Par voie générale :**
 - Suite à un passage sanguin du germe à partir du rhino-pharynx ou d'un foyer infectieux pulmonaire (méningocoque, *Haemophilus*, Pneumocoque) ;
 - Suite à une transmission matérno-fœtale ou à une contamination d'origine digestive (*Listeria*) ;
 - Suite à une septicémie d'origine diverses, avec ou sans endocardite (Staphylocoque, bacilles à Gram négatif).
- **Par contiguïté à partir d'un foyer ORL aigu ou chronique :** otite, mastoïdite ou sinusite (pneumocoque, *Haemophilus*, bacilles à Gram négatif, germes anaérobies).
- **Par introduction directe du LCR lors d'un geste opératoire neurochirurgical ou ORL** (bacilles à Gram négatif, Staphylocoque doré) ou lors d'une infiltration lombaire (Streptocoque, Staphylocoque) (**ANGLARET et MORTIER, 2002**).

I.6. Altérations du LCR

L'aspect normal du LCR, clair « eau de roche » peut être modifié dans diverses pathologies (**LATERRE, 2008**).

- **LCR hémorragique** en cas de ponction traumatique d'hémorragie méningée (**BERREBI, 2009**), dans ce cas il peut être : rouge rosé, Xanthochromique (jaunâtre) en cas de saignement datant de quelques jours (**AMERI, 1997**).
- **LCR purulent**, avec hypoglycorachie (diminution du taux de glucose) et la présence de cellules polynucléaires et de germes retrouvés à l'examen direct ou en culture (**LORAUX et al, 2005**).
- **LCR clair** avec une glycorachie normale et des cellules lymphocytaires évoquant une cause virale (**LORAUX et al, 2005**).

Pour le prélèvement du Liquide céphalorachidien il faut réaliser une ponction lombaire.

I.7. La réalisation de la ponction lombaire

La ponction lombaire (PL) consiste à introduire une aiguille dans l'espace sous-arachnoïdien au niveau lombaire pour prélever le liquide céphalorachidien (LCR).

Habituellement, on introduit l'aiguille dans l'espace sous-arachnoïdien situé entre la troisième et la quatrième ou entre la quatrième et la cinquième vertèbre lombaire (**SHOLTIS BRUNNER et al., 2006**).

La PL est réalisée dans des conditions d'asepsie rigoureuses, chez un patient en décubitus latéral ou assis, en piquant dans l'espace inter-épineux se situant sur la ligne joignant les deux crêtes iliaques postérieures (**CARLI et al., 2004**).

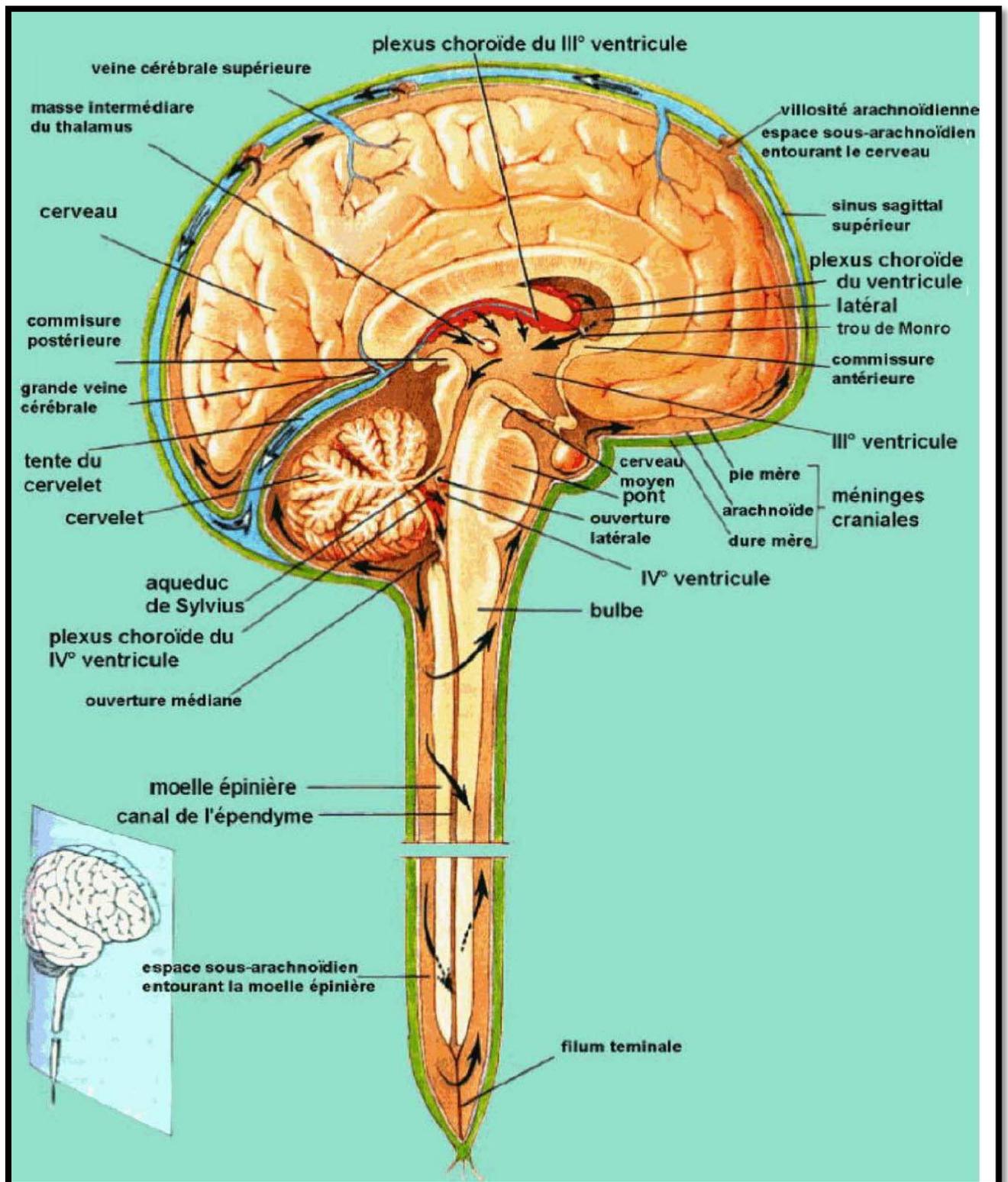


Figure2 : Circulation du LCR (LEHOUELLEUR 2010).

III. La méningite

III.1 Définition

La méningite est une inflammation des méninges, membranes protectrices qui enveloppent l'encéphale et la moelle épinière (**SHOLTIS BRUNNER et al., 2006**).

Elle est due à un agent infectieux (viral, bactérien, mycosique), à un agent chimique ou à une infiltration carcinomateuse (**BERNARD et al., 2007**).

III.2 Type de méningites

Les méningites sont classées en fonction de l'aspect purulent ou clair du liquide céphalorachidien (LCR) obtenu par ponction lombaire au niveau de la colonne vertébrale (**LORIOU et HERVE, 2008**).

On distingue deux grands groupes de méningite :

- les méningites à liquide clair.
- les méningites à liquide purulent (**PEBRET, 2003**).

III.2.1 Méningite à liquide clair

Le tableau typique est la méningite lymphocytaire bénigne dont l'évolution est la guérison spontanée.

Les caractéristiques du LCR sont :

- Liquide hypertendu.
- Liquide clair.
- 10 à 10000 cellules (lymphocytes +++) par mm³.
- Glycorachie normale le plus souvent.
- Protéïnorachie normale ou élevée (entre 0,5 et 1 g/l) (**PEBRET, 2003**).

Les étiologies sont nombreuses : virales, tuberculeuses, bactériennes à développement intracellulaire (*Listeria*, *Brucella*, *Salmonella*), bactériennes décapitées, mycosiques, parasitaires.

A. Virales

Ce sont les plus fréquentes des méningites à liquide clair. Tous les virus peuvent être responsables, et les plus fréquemment rencontrés sont les Entérovirus (*ECHO-virus*, *Coxsackie*), le virus des oreillons (*Paramyxoviridae*), le *Herpes simplex virus* (VAUBOURDOLLE, 2007).

B. Bactérienne

- *Mycobacterium tuberculosis*

Les méningites tuberculeuses sont rares (1% des méningites bactériennes). Elles surviennent au moment d'une primo-infection (nourrisson) ou longtemps après lors d'un déficit de l'immunité (sujet âgés, immunodépression) (VAUBOURDOLLE, 2007).

En cas de suspicion de méningite tuberculeuse, un traitement antituberculeux doit être instauré dès que les prélèvements sont réalisés.

- **Autre bactéries impliquées**

Leptospira, *Borrelia*, *Treponema pallidum*, *Brucella*, *Rickettsia* (ANGLARET et MORTIE, 2002).

C. Bactériennes décapitées

En cas de traitement antibiotique préalable et franchissant la barrière hémato-méningée, les bactéries présentes ne peuvent être cultivées et la formule leucocytaire pourra être panachée.

Il est primordial de pouvoir la différencier d'une méningite virale car un traitement adapté est absolument nécessaire. La recherche des antigènes solubles est dans ce cas d'un grand intérêt (VAUBOURDOLLE, 2007).

D. Fongique

Elle se rencontre surtout chez les patients immunodéprimés (sida, thérapeutique dépressive).

Elle est causée principalement par *Cryptococcus neoformans*, levure capsulée à tropisme méningé qui doit être recherchée chez les malades atteints du sida. De porte d'entrée pulmonaire, les signes clinique méningés sont parfois frustrés. D'autres levures du genre *Candida* peuvent être responsables de méningites (VAUBOURDOLLE, 2007).

E. Parasitaire

La toxoplasmose peut se compliquer de méningo-encéphalite chez les patients atteints de sida (VAUVORDOLLE, 2007).

III.2.2 Les méningites à liquide purulent

Dans une méningite purulente, le liquide est trouble, « eau de riz ». Cette simple constatation impose l'administration immédiate d'une première dose d'antibiotique actif sur les principales étiologies bactériennes de méningite purulente (CARLI *et al.*, 2004).

Leur LCR se caractérise par :

- Liquide purulent.
- Plus de 100 globules blancs par mm³ (polynucléaires+++).
- Hyperproteinorachie.
- Hypoglycorachie.
- Présence de bactéries à l'examen direct et aux cultures (PEBRET, 2003).

Les bactéries responsables sont différentes selon l'âge et elles sont réparties dans le tableau suivant :

Tableau 1 : principales bactéries responsables de la méningite

Contexte clinique	Espèces le plus souvent en cause
Méningite communautaire : <ul style="list-style-type: none">- Nouveau né- Nourrisson et enfant (≥ 3 mois et ≤ 5 ans).- Enfant ≥ 5 ans et adulte.	<i>Streptococcus agalactiae</i> , <i>Escherichia coli</i> k1, <i>Listeria monocytogenes</i> . Pneumocoque et méningocoque. Pneumocoque et méningocoque.
Méningite nosocomiale.	<i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Staphylococcus</i> à coagulase négative, entérobactéries et les <i>pseudomonas</i> .
Méningite des immunodéprimés	<i>Listeria monocytogenes</i> , entérobactéries, autres bactéries, champignon (<i>Cryptococcus</i>)

(REMIC, 2010)

A. Méningite purulente communautaire

Les méningites communautaires sont des pathologies rares, mais potentiellement graves (PINET *et al.*, 2009).

En situation communautaire, les germes les plus fréquents restent *Neisseria meningitidis*, *Streptococcus pneumoniae*, *Haemophilus influenzae*, suivi de *Listeria monocytogenes*, *Escherichia coli* k1 et streptocoque B (BRUNEEL et WOLFF, 2000).

B. Méningite purulente nosocomiale

Une méningite est dite nosocomiale si elle survient à l'hôpital (plus de 48 heures après le début de l'hospitalisation) ou si elle fait suite à un geste potentiellement contaminant (ponction lombaire, injection péri-durale ou intervention neurochirurgicale) (CHARVET *et al.*, 2009).

III.3. Symptômes

Adulte et grand enfant :

- Un syndrome avec au premier plan la fièvre.
- Un syndrome méningé proprement dit :
 - Céphalées.
 - Vomissement, typiquement en « jet » sans effort.
 - Photophobie.
 - Raideur méningée, qui se traduit à l'examen par :
 - Une position spontanée du patient « en chien de fusil », allongé sur le côté des membres inférieurs en triple retrait.
 - Une raideur de la nuque : lorsqu'on tente de fléchir doucement la nuque du patient allongé au assis, le mouvement est interrompu par une contracture douloureuse. Les mouvements de rotation latérale de la nuque restent possibles.
 - Signe de Kernig : chez le patient en décubitus dorsal une tentative de flexion à angle droit sur le bassin des membres inférieurs tendus entraîne une vive douleur rachidienne et le mouvement ne peut être poursuivi sans une flexion des genoux.

Nous pouvons voir également plus inconstamment un signe de Brudzinski (chez le patient allongé la flexion de la nuque entraîne la flexion des membres inférieurs), une hyperesthésie cutanée. Enfin, il existe classiquement une constipation (**ANGLARET et MORTIER, 2002**).

Nouveau-né et nourrisson :

Les signes de méningite sont d'autant plus variés et trompeurs que l'enfant est plus jeune. La raideur rachidienne peut manquer et les signes digestifs peuvent être au premier plan.

- Chez le nouveau-né : jusqu'à trois mois, toute fièvre même isolée, non expliquée, doit évoquer une méningite.
- Chez le nourrisson : le tableau associe à des degrés divers :
 - Fièvre, avec parfois convulsions.
 - Troubles digestifs (refus des biberons, vomissements mais aussi diarrhée).
 - Hyperesthésie cutanée (se traduisant par une agitation et des geignements, spontanés et exagérés par les contacts lors de l'examen et de la prise dans les bras).
 - Bombement permanent de la fontanelle (qui persiste en dehors des crises) ; classiquement inconstant (**ANGLARET et MORTIER, 2002**).

III.4. Caractéristiques de certains germes impliqués dans la méningite

III.4-1. Bactéries

A. *Haemophilus influenzae*

Ancien nom : bacille de Pfeiffer car Pfeiffer en faisait l'agent de la grippe or c'est un agent de surinfection (**GROSJEAN et al., 2009**).

Phylum: *Actinobacteria* (**PRESCOTT et al., 2003**).

Famille: *Pasteurellaceae* (**DELMAS, 2006**).

Genre : *Haemophilus*.

Habitat

- Bactérie strictement humaine
- Bactérie commensale des voies aériennes, plus rarement au niveau du tractus génitale et de la conjonctive (**GROSJEAN et al., 2009**).

Caractères de morphologiques, cultureux et biochimique d' *H.influenzae* :

Caractères morphologique	
Forme	Bacilles très fins, petits.
Capsule ou spore	Capsulés pour les souches invasives, non sporulés.
Mobilité	Immobile
Gram	Gram négative
Caractères cultureux	
Type respiratoire	Aeroanaérobie (culture favorisé par le CO ₂)
Gélose permettant la poussée	Gélose au sang cuit
Aspect des colonies	Colonies fines parfois muqueuses, non hémolytique
Caractères biochimiques	
Oxydase	+
Catalase	+
Glucose	+
Saccharose	-
Lactose	-

(GROSJEAN *et al.*, 2009)

Caractères antigéniques

Les souches de *H.influenzae* possèdent habituellement une capsule. Les polysaccharides capsulaires permettent de distinguer six sérotype (a à f). Le Polyribosyl- Ribitol Phosphate (PRP) est le principal constituant de la capsule de *H.influenzae* de serotype b, le plus virulent (FAUCHERE et AVRIL, 2002).

Epidémiologie

Jusqu'à l'utilisation récente de la vaccination, c'était la bactérie la plus fréquente dans les méningites purulentes du jeune enfant. Plus de 90% des cas survenaient entre 3 mois et 5ans, et la quasi-totalité des méningites étaient dues à des souches encapsulées du sérotype b. sa mortalité est faible (<5%) mais les séquelles sont fréquentes (15% des cas) (ANGLARET et MORTIER, 2002).

Sensibilité aux antibiotiques

Jusqu'en 1974, l'ampicilline était le traitement de choix des méningites à *H. influenzae*. Depuis cette date on connaît des souches hébergeant un plasmide codant pour une beta-lactamase qui hydrolyse la pénicilline G et l'ampicilline, mais qui est inactive sur les céphalosporines. Cette beta-lactamase est inhibée par l'acide clavulanique.

Selon **FAUCHERE et AVRIL(2002)**, 10% des souches sont résistantes à la tetracycline, 3% au chloramphénicol, 25% à la kanamycine et 10% à la cotrimoxazole. Toutes les souches sont sensibles aux fluoroquinolones.

B. *Neisseria meningitidis*

Phylum : *Proteobacteria*.

Famille : *Neisseriaceae*.

Genre : *Neisseria* (**TORTORA et al, 2003**).

Habitat

- Bactérie strictement humaine : localisée dans le rhinopharynx et 5 à 10 % sont des porteurs sains.
- Transmission par voie aérienne lors de contacts directs (**GROSJEAN et al., 2009**).

Caractères morphologiques, culturels et biochimiques de *Neisseria meningitidis*

Caractères morphologiques	
Forme	Cocci en diplocoques, Faces aplaties
Capsule ou spore	Capsule polysaccharidique
Mobilité	Immobile
Gram	Gram négative
Caractères culturels	
Types respiratoires	Aérobies stricts
Gélose permettant la poussée	Gélose au sang cuit
Aspect des colonies	Grisâtre à bord irréguliers de 0,5 à 1 mm de diamètre.
Caractères biochimiques	
Oxydase	+
Catalase	+
Glucose	+
Maltose	+

(**GROSJEAN et al., 2009**)

Caractères antigéniques

Un antigène polysidique situé au niveau de la capsule est le support de la spécificité de groupe. On reconnaît aujourd'hui douze sérogroupes capsulaires (A, B, C, X, Y, Z, W135, 29 E, H, I, K et L) qui sont mis en évidence par agglutination par le sérum correspondant (**FAUCHERE et AVRIL, 2002**).

Facteurs de pathogénités

- Adhésines

Elles permettent l'adhésion de la bactérie aux muqueuses et sont donc impliquées dans le processus de colonisation.

- La capsule

Si la bactérie franchit la muqueuse, la capsule lui permet de résister à la phagocytose.

- Lipopolysaccharide

Il est appelé lipooligosaccharide en raison de la brièveté de la chaîne saccharidique.

- Le méningocoque possède une IgA protéase (**NAUCIEL et VILDE, 2005**).

Epidémiologie

Le pourcentage de porteurs asymptomatiques peut être élevé dans certaines collectivités fermées (casernes, internats) sans que des cas de méningite apparaissent. Certaines circonstances favorisent la survenue de la maladie : facteurs saisonniers, surmenage, mauvaises conditions d'hygiène.

Le méningocoque ne sévit pas dans l'environnement en raison de la grande sensibilité aux variations de température, de pH et à la dessiccation.

La méningite à méningocoque apparaît sporadiquement dans le monde entier, mais la fréquence de la maladie est plus élevée en Afrique et en Amérique du Sud.

En Afrique, dans la zone du Sahel ou « ceinture de la méningite », la méningite sévit à l'état endémique avec des épidémies au moment de la saison sèche. Elle atteint surtout les enfants (**FAUCHERE et AVRIL, 2002**).

En Afrique ce sont les méningocoques A, C et W135 qui sont associés aux grandes épidémies (**MEVEL, 2013**).

En Europe et en Amérique du Sud, les méningites à méningocoques B et C représentent la grande majorité des cas. En Asie, la méningite est habituellement due au méningocoque A (MEVEL, 2013).

Sensibilité aux antibiotiques

En cas de suspicion clinique de méningite à méningocoque. Le malade doit recevoir immédiatement une première dose d'un traitement antibiotique approprié.

Des souches de *N.meningitidis* de sensibilité diminuée à la pénicilline G ($0,125 < \text{CMI} < 1$ mg/l) et à l'amoxicilline sont isolées en France depuis 1994. Elles représentaient 31% des souches en 1998. Elles sont considérées comme résistantes lorsque la CMI est au dessus de 1mg/l. Des échecs thérapeutiques ont été signalés avec l'amoxicilline. Aucune résistance n'est connue pour les céphalosporines de troisième génération (céfotaxime et ceftriaxone).

Le chloramphenicol et le cotrimoxazole sont des antibiotiques actifs utilisés dans les pays sous médicalisés (FAUCHERE et AVRIL, 2002).

C. *Streptococcus pneumoniae*

Phylum : *Firmicutes* (TORTORA et al, 2003).

Famille : *Streptococcaceae* (SAIDANI, 2010).

Genre : *Streptococcus*.

Habitat

Elle est strictement humaine et se retrouve dans le rhinopharynx ; selon GROSJEAN et al (2009), 50% de porteurs, sa transmission est interhumaine et se fait par voie aérienne (NAUCIEL et VILDE, 2005).

Caractères morphologiques cultureux et biochimique de *S.pneumoniae*

Caractères morphologiques	
Forme	Diplocoques lancéolés.
Capsule et spore	Présence de capsule mais pas de spore
Mobilité	Immobile
Gram	Gram positif
Caractères cultureux	
Types respiratoire	Aéroanaérobie (Culture favorisée par le CO ₂)
Gélose permettant la poussée	Gélose au sang cuit et bouillon cœur cerveau (BHIB)
Aspect des colonies	Colonies Alpha hémolytiques, parfois muqueuses. Se lyse très vite en milieu acide.

Caractères biochimiques	
Oxydase	-
Catalase	-
Optochine	Sensible

(GROSJEAN *et al.*, 2009)

Caractères antigéniques

La capsule, de nature polysaccharidique, de composition variable en fonction du sérotype a un rôle très important dans la virulence. Elle empêche la phagocytose de la bactérie. Cette capsule est antigénique. A l'aide d'antisérums, on peut individualiser 90 sérotypes. Une vingtaine de ces sérotypes est responsable de la majorité des infections ce qui a permis la mise au point d'un vaccin (FAUCHERE et AVRIL, 2002).

Epidémiologie

Certains facteurs de risque sont associés à la survenue de méningite à pneumocoque : alcoolisme, splénectomie, infection par le VIH, brèche méningée (traumatique ou chirurgicale ou secondaire à une infection O.R.L), les méningites à pneumocoque chez l'enfant surviennent essentiellement avant l'âge de 2 ans.

C'est le germe le plus redoutable pour le système nerveux. La mortalité chez l'enfant est de 8 à 15%. Environ 30% des enfants qui ont eu une méningite gardent des séquelles auditives ou neurologiques (ANGERLET et MORTIER, 2002).

Sensibilité aux antibiotiques

Les souches de *S. pneumoniae* sont naturellement sensibles aux bêta-lactamines, notamment à la pénicilline G et à l'amoxicilline avec des CMI inférieure à 0,06 mg/l. Néanmoins la proportion des souches de sensibilité intermédiaire (I) à la pénicilline (CMI comprise entre 0,1 et 1 mg/l) et celle des souches résistantes (R) à la pénicilline (CMI > 1mg/l) ne cesse de croître.

Cette résistance est due à une modification de l'affinité des protéines de liaison aux pénicillines (PLP) de la membrane cytoplasmique du pneumocoque pour la pénicilline G. La céfotaxime et l'imipénème restent généralement actifs (FAUCHERE et AVRIL, 2002).

D. Mycobacterium tuberculosis

Phylum: *Actinobacteria* (PRESCOTT et al., 2003).

Famille : *Mycobacteriaceae* (BAUDRY et BRUZELLEC, 2006.)

Genre : *Mycobacterium*.

Ce sont des bacilles ayant une propriété tinctoriale essentielle (ils sont alcool-acido-résistants : BAAR) et contenant des acides mycoliques.

Habitat

- Homme
- Toujours pathogène (GROSJEAN et al., 2009).

Caractères morphologiques, culturels et biochimiques de *M.tuberculosis*

Caractères culturels	
Forme	Bacilles parfois filamenteux
Capsule et spore	Pas de capsule
Mobilité	Immobile.
Gram	Invisible
Caractères culturels	
Types respiratoire	Aérobie strict
Gélose permettant la poussée	Lowenstein-Jensen
Aspect des colonies	Lisse et crème au début puis grossit, devient rugueuse en chou fleur beige.
Caractères biochimiques	
Oxydase	-
Catalase	+

(GROSJEAN et al., 2009)

Sensibilité aux antibiotiques

1- Résistance acquise

L'utilisation à dose efficace d'antituberculeux entraîne la destruction des bacilles sensibles, mais sélectionne les bacilles résistants. Après un certain temps de traitement les bacilles résistants se sont multipliés et la totalité de la population bacillaire est devenue résistante. C'est la résistance acquise ou secondaire.

Cela explique pourquoi, dans le traitement de la tuberculose, il est nécessaire d'associer plusieurs antibiotiques. On évite ainsi la sélection de mutants résistants (**FAUCHERE et AVRIL, 2002**).

2- Resistance primaire

Les malades porteurs de bacilles ayant une résistance acquise peuvent transmettre leurs bacilles résistants à des sujets qui développeront une tuberculose à bacilles d'emblée résistants aux antibiotiques. C'est la résistance primaire.

La multi-résistance de *M.tuberculosis* se définit comme la résistance conjointe à l'Isoniazide et à la Rifampicine (**FAUCHERE et AVRIL, 2002**).

III.4.2. Virus

A. Virus des oreillons

- Le virus des oreillons appartient à la famille des *Paramyxoviridae* (**KAYSER et al., 2008**).
- Sous famille des *Paramyxovirinae*.
- genre *Rubulavirus*.
- espèce *Mumps virus* (**GROSJEAN et al., 2009**).

virus de grande taille polymorphe (300 nm), capsid de symétrie hélicoïdale, génome ARN simple brin de polarité négative de 15 kb (**GROSJEAN et al., 2009**). Virus enveloppé (**POZZETTO, 2001**), contamination par voie aérienne ou indirecte par contact. Virus strictement humain (**GROSJEAN et al., 2009**).

- **Diagnostic** : il existe deux méthodes de diagnostic, le diagnostic direct et indirect :

- **Diagnostic direct**

- Recherche du génome viral : RT-PCR.
- Recherche d'antigènes viraux : par PCR.
- Recherche du virus par culture (**GROSJEAN et al., 2009**).

- **Diagnostic indirect**

Les anticorps spécifiques IgG et IgM sont recherchés par technique ELISA (**POZZETTO, 2001**).

B. Les Herpes virus

- Famille : *Herpesviridae*.
- 3 sous familles : *Alphaherpesvirinae*.
 - Betaherpesvirinae*.
 - Gammaherpesvirinae*.
- Ils sont Strictement humains. Ce sont des virus à ADN. Ils ont une capsid e icosaédrique faite sur le même modèle (162 capsomères). Ils ont un péplos ou enveloppe, dérivé de la membrane nucléaire (**HURAUX et al., 2007**).
- **Diagnostic** : deux méthodes de diagnostic :
 - **Diagnostic direct**
 - Recherche du génome viral : PCR en temps réel.
 - Recherche d'antigènes viraux : par ELISA ou par IF.
 - Recherche du virus par culture.
 - **Diagnostic indirect**
 - Recherche d'anticorps spécifiques : IgG (**GROSJEAN et al., 2009**).

C. Les Entérovirus

- Famille des *Picornaviridae* (petit virus à ARN).
- genre *Enterovirus*.
- espèce *Humain Enterovirus* (**GROSJEAN et al., 2009**).

Virus de petite taille (30 nm), capsid e de symétrie icosaédrique, génome ARN simple brin de polarité positive de 8 kb (**GROSJEAN et al., 2009**). Ils sont strictement humains (**HURAUX et al., 2007**).

- **Diagnostic** : deux méthodes de diagnostic :
 - **Diagnostic direct**
 - Recherche du génome viral : RT-PCR sur LCR.
 - Recherche du virus sur culture cellulaire : révélation par effet cytopathique, immunofluorescence, typage par seroneutralisation, RT-PCR.
 - **Diagnostic indirect**
 - Recherche d'anticorps spécifiques : IgG (**GROSJEAN et al., 2009**).

III.4.2-1. Epidémiologie viral

Virus	Epidémiologie	Particularité
Entérovirus	>85% des méningites virales. Toute l'année dans les régions tropicales. Recrudescence été/automne dans les zones tempérées.	Fréquence chez l'enfant, 1 ^{ère} cause <1 an. Bénignes, hormis chez les nouveau-nés, immunodéprimé.
Oreillons	10% des méningites virales dans les régions non vaccinées. Population non immunisées, épidémies.	Homme > Femme Bénigne
Herpes virus	4% des méningites virales.	Létalité élevée quand c'est associé à une encéphalite.

(PARENT, 2012)

III.5.Prévention de la méningite

Le risque d'infection est considérablement élevé s'il y'a des contacts familiaux et sociaux intimes (baisers, partage de brosse à dents,...) (SHOLTIS BRUNNER et *al.*, 2006).

La méningite virale guérit spontanément en 3 à 8 jours, et ne nécessite qu'un traitement symptomatique (repos, antalgique, antipyrétique).

Il n'existe pas encore, à l'heure actuelle de vaccin protégeant contre toutes les méningites bactériennes. Il existe seulement deux vaccins :

- Un vaccin contre la méningite à *Haemophilus influenzae* (typeB).
- Un vaccin protégeant contre la méningite à pneumocoques, administrable dès l'âge de deux mois (CRETEUR, 2008).

Matériel et méthodes

II. matériel et méthodes

Notre étude a été réalisée au niveau du laboratoire d'EPH de Boufarik sur une période allant de Janvier en Juin 2013.

II.1. Matériel

A. Matériel non biologiques

Voir annexe n° II.

B. Matériel biologiques

L'échantillon biologique sur lequel est effectuée cette étude est le liquide céphalorachidien.

Nous avons reçu 1219 prélèvements de LCR, provenant de 759 sujets de sexe masculin et de 460 sujets de sexe féminin. L'âge des patients varie de quelques jours à 82 ans.

II.2. Méthodes

L'examen cytobactériologique du LCR consiste en une analyse cytologique et microbiologique du prélèvement de LCR. Ce dernier renferme des données utiles pour la thérapeutique. Le protocole est représenté par la figure 4.

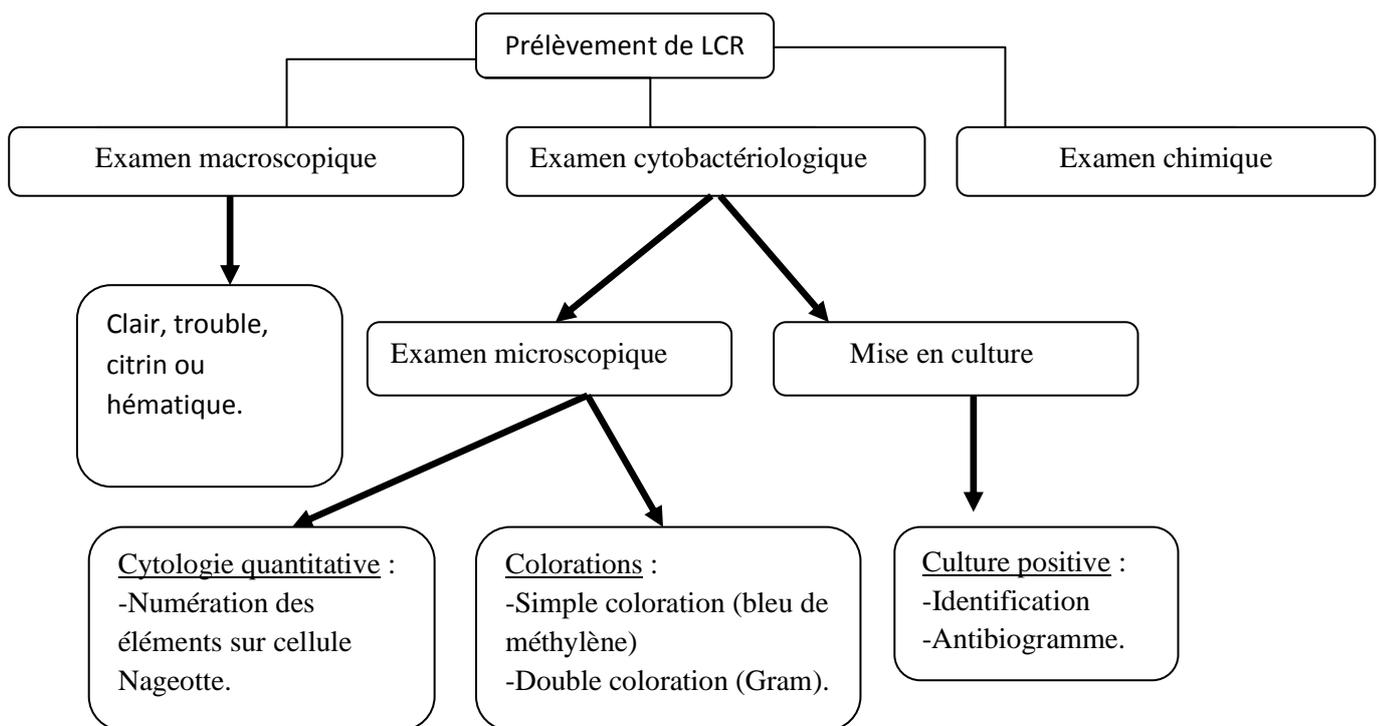


Figure 3 : Protocole analytique du LCR (DENIS et al., 2007).

II.2.1. Etude macroscopique

L'observation macroscopique permet de différencier les liquides clairs, citrins, hémorragiques, troubles ou purulents. Le temps nécessaire pour une interprétation correcte d'un LCR est d'environ 20min (VEBER, 2004).

II.2.2. Etude microscopique

C'est un examen sous microscope qui permet l'observation et la numération des éléments cellulaires (lymphocytes et polynucléaires) ainsi que les germes.

A. Etude cytologique

C'est la numération des éléments cellulaires (lymphocytes et polynucléaire neutrophiles).

Mode opératoire

On utilise pour la numération une cellule Nageotte.

- Dans un tube sec on dilue le LCR afin de lyser les hématies pour ne pas fausser l'examen. A l'aide d'une pipette Pasteur on prend le même volume d'AZARUS et de LCR.
- Placer une lamelle sur la cellule Nageotte.
- Poser la cellule sur une surface bien horizontale.
- Introduire le liquide à analyser (dilué) entre lamelle et cellule Nageotte.

Numération

Elle se fait au microscope optique ($G \times 40$).

- Compter le nombre d'éléments contenu dans une bande.
 - Multiplier le nombre obtenu ($\times 2$) de la dilution, puis ($\times 0.8$) la surface de la bande.
- ❖ Le nombre d'éléments chez l'enfant et l'adulte ne doit pas dépasser 10 éléments/ mm^3 et chez le nouveau-né, ce nombre ne doit pas dépasser 30 éléments/ mm^3 .

B. Méthodes de colorations

1. Simple coloration

Principe

La coloration au bleu de méthylène est une coloration simple. Elle permet d'observer la richesse microbiologique de l'échantillon, la forme et le mode de regroupement des bactéries (PERRIER *et al.*, 1997).

Mode opératoire

Réaliser sur un frottis fixé à la chaleur puis le recouvrir avec le bleu de méthylène pendant 3 minutes.

Lecture

L'observation se fait sous microscope optique (G x 100) après avoir ajouté une goutte d'huile à immersion.

2. Double coloration

Principe

La coloration Gram repose sur la perméabilité de la paroi bactérienne. Les bactéries à Gram positif, dont la perméabilité est moins importante que celle des bactéries à Gram négative, ne sont pas décolorées par l'alcool et restent colorées en violet. Ce procédé de coloration différentielle divise les bactéries en deux classes : Gram-négatives et Gram-positives (PRESCOTT *et al.*, 2003).

Mode opératoire

La coloration Gram s'effectue sur un frottis fixé à la chaleur selon les étapes suivantes :

- Couvrir la lame avec une solution de violet de gentiane pendant 1 minute.
- Rincer le violet de gentiane à l'eau du robinet.
- Recouvrir la préparation avec du lugol pendant 1 minute pour la fixation.
- Rincer le lugol.
- Verser quelques gouttes d'alcool à 90° pour la décoloration pendant quelques secondes.
- Rinçage à l'eau.

- Recouvrir la préparation avec la fuchsine phéniquée puis rinçage à l'eau.
- Sécher la lame en la tamponnant avec du papier buvard (**Annexe II**).

Lecture

Déposer une goutte d'huile à immersion sur la lame et examiner au microscope optique (G x 100) :

- Gram positif : coloré en violet.
- Gram négatif : coloré en rose.

II.2.3. Etude microbiologique

A. Mise en culture

En cytologie lorsque le nombre d'élément est élevé une culture s'impose, elle se fait sur gélose au sang cuit et sur bouillon cœur cervelle ou BHIB qui est un bouillon d'enrichissement pour les bactéries exigeantes (**Annexe II**).

Mode opératoire

- Ensemencement sur gélose au sang cuit :
 - Prélever à l'aide d'une pipette Pasteur quelques gouttes de LCR.
 - Déposer les gouttes à la périphérie de la boîte de gélose au sang cuit.
 - Procéder à l'ensemencement par stries.
 - On incube la boîte dans une étuve à CO₂ ou dans une cloche sous atmosphère enrichie de CO₂ à une température de 37° C.
 - Lecture se fait après 18 à 24 heures.
- Ensemencement sur bouillon cœur cervelle :
 - Prélever quelques gouttes de LCR et les ajouter au bouillon cœur cervelle ou BHIB, puis on incube le tube à 37°C pendant 24 heures.
- ❖ Si les résultats de l'analyse cytologique montrent une prédominance lymphocytaire l'incubation sera prolongée de 24 à 48 heures.
- ❖ Dans le cas où il y a prédominance de polynucléaire l'incubation de la boîte sera prolongée jusqu'au 5^{ème} jour.

B. Les tests d'orientation enzymatique

1. Test de catalase

La catalase est une enzyme détruisant l'eau oxygénée H_2O_2 avec libération d'oxygène (CARETTE, 2005).



Mode opératoire

- Le test se réalise en déposant les bactéries (prélever du milieu de culture), dans une goutte d'eau oxygénée.

Lecture

Observer immédiatement : - l'apparition de bulles : catalase positive.

- absence de bulles : catalase négative (figure 5).

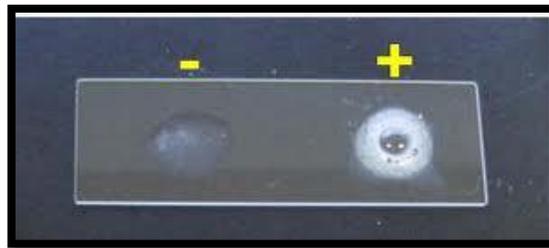


Figure 4 : Test de catalase.

2. Test de coagulase

La coagulase est une enzyme excrétée dans le milieu de culture au cours de la croissance bactérienne. Ce dernier différencie les staphylocoques dorés (ou aureus) disposant d'une coagulase des autres qui n'en possèdent pas (les staphylocoques à coagulase négative) (REMY, 2010).

Mode opératoire

- Prendre une quantité de sérum humain et le verser dans 3 tubes secs.
- Ajouter quelques colonies de *Staphylococcus aureus* (souche de référence) au premier tube.

- Ajouter quelques colonies de la boîte à examiner au deuxième tube.
- Ne rien ajouter au troisième tube (témoin).
- Incuber dans l'étuve à 37°C.

Lecture

Présence de coagulation : *Staphylococcus aureus*.

Absence de coagulation : staphylocoques à coagulase négative (**figure6**).

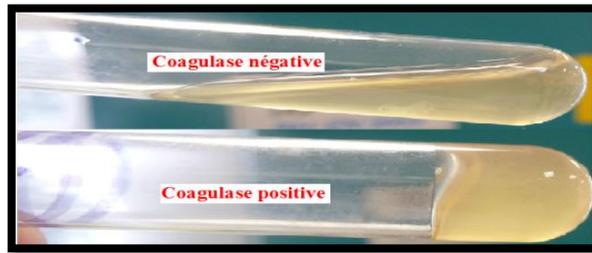


Figure 5 : test de coagulase.

3. Test d'oxydase

Ce test est fondamental pour orienter l'identification des bacilles à Gram négatif.

Mode opératoire

- Déposer un disque d'oxydase sur une lame propre et sèche.
- Prendre une colonie à l'aide d'une pipette, et la déposer sur le disque.

Lecture

- On observe immédiatement le virage de la couleur de la colonie qui devient violet, la bactérie est dite : oxydase positive.
- S'il n'y a pas de virage de couleur la bactérie est dite oxydase négative.

C. Galeries d'identification biochimique

1. La galerie classique

Préparation de la suspension bactérienne

Prélever à l'aide d'une pipette pasteur stérile quelques colonies de la souche à étudier et les introduire dans un tube à essai contenant 10ml d'eau physiologique stérile. Après une bonne homogénéisation cette suspension est ensemencée dans les différents milieux d'identification.

❖ Etude de la fermentation des sucres

Ce milieu permet la mise en évidence rapide de la fermentation du lactose, du glucose (avec ou sans production de gaz), du saccharose et de la production de sulfure d'hydrogène.

Mode opératoire

A partir de la suspension préparée,ensemencer le culot par piqûre centrale et la surface inclinée par stries serrées. L'incubation se fait à 37°C pendant 24heures.

Lecture

La gélose TSI fournit quatre renseignements principaux, qui se traduisent par le virage de couleur :

- Formation de glucose :
 - Culot rouge : glucose non fermenté.
 - Culot jaune : glucose fermenté.
- Fermentation du lactose et ou du saccharose :
 - Pente inclinée rouge : lactose et saccharose non fermentés.
 - Pente inclinée jaune : lactose et ou saccharose fermentés.
- Production de gaz :
 - Apparition de gaz dans le culot.
- Formation de sulfure d'hydrogène H₂S :
 - Formation d'une coloration noire entre le culot et la pente ou le long de la piqûre.

❖ Etude de la source de carbone

Le milieu est présenté sous forme de gélose inclinée, il permet de mettre en évidence l'utilisation de citrate comme seule source de carbone et d'énergie.

Mode opératoire

A partir de la suspension bactérienne préparée ; la pente du milieu estensemencé par des stries longitudinales à la surface de la gélose, puis les tubes sont incubés à 37°C pendant 18à 24heures.

Lecture

La bactérie est dite citrate positif lorsque le milieu vire du vert au bleu.

❖ Etude des voies métaboliques

Ce milieu synthétique permet de révéler trois voies métaboliques :

- La dégradation de l'urée et donc la présence d'une uréase.
- La dégradation du tryptophane en indole.
- La dégradation du tryptophane en α -cetoacide par la TDA (tryptophane désaminase).

Mode opératoire

Ensemencer le milieu urée-indole avec la suspension bactérienne préparée, puis incuber 24 heures à 37°C.

Lecture

- S'il y a virage de couleur de jaune vers le rouge, la bactérie est dite : uréase positive.
- Dans le cas contraire la bactérie est dite : uréase négative.

Après ajout de quelques gouttes de réactif de Kovacs :

- Présence d'un anneau rouge : indole positif.
- Absence d'un anneau rouge : indole négatif.

❖ Etude des produits de fermentation de Glucose

Il permet l'étude des produits de fermentation du glucose : différenciation entre les fermentations des « acides mixtes » et « butylène glycolique ».

Mode opératoire

Ensemencer le bouillon CLARK et LUBS avec la suspension bactérienne, puis incuber 24 heures à 37°C.

Lecture

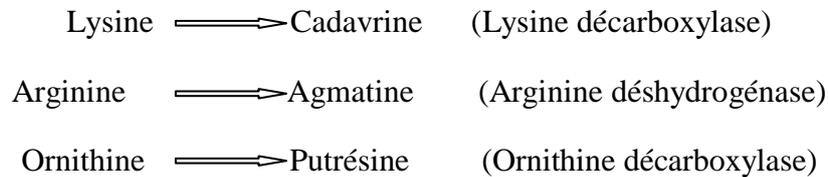
Ajouter 10 gouttes du réactif VP1, puis 10 gouttes du réactif VP2 :

- Apparition de couleur rose à rouge en surface : le test VP est alors positif.

- Si le milieu reste incolore, le test est négatif.

❖ Etude de la dégradation des acides aminés

Les décarboxylases scindent les acides aminés et entraînent la formation de l'amine correspondante par libération du CO₂.



Les tests de décarboxylase détectent la capacité d'un microorganisme à produire des décarboxylases.

Mode opératoire

Ensemencer trois tubes qui contiennent les acides aminés suivant Lysine, Arginine, Ornithine avec la suspension bactérienne et un tube témoin sans acide aminé est prévu.

Ajouter une goutte d'huile de vaseline aux tubes car la réaction a lieu dans un milieu acide en anaérobiose.

Lecture

- Le témoin : virage au jaune indique la fermentation du glucose et l'acidification du milieu.
- Les autres tubes : virage de la couleur du jaune au violet indique la présence de l'enzyme décarboxylase, et si le milieu reste jaune : absence de l'enzyme.

2. La galerie API 20^E

La galerie API 20 E est un système standardisé pour l'identification des *Enterobacteriaceae* et autres bacilles à Gram négatif. Elle comporte 20 microtubules contenant des substrats déshydratés.

Mode opératoire

- Préparer une suspension bactérienne de 0.5 Mc Farland (à partir de la boîte de gélose qu'on veut étudier).
- Inoculer les microtubules de la galerie avec la suspension préparée selon les indications du fabricant.

- Incuber à 37°C pendant 18 – 24 heures.

Lecture : Les réactions produites pendant la période d'incubation se traduisent par des virages colorés spontanés ou révélés par l'addition de réactifs (**Annexe II**).

II.2.4. Identification confirmative

A. Identification de *Streptococcus pneumoniae*

Streptococcus pneumoniae est sensible à l'optochine (chlorhydrate d'éthylhydrocupréine).

Mode opératoire

- Réaliser un isolement de la souche à identifier sur gélose au sang cuit.
- Déposer à l'aide d'une pince un disque d'optochine entre le premier et le deuxième cadran d'isolement.
- Incuber 18 à 24 heures à 37°C.

Lecture

- Si la culture autour du disque d'antibiotique ou zone d'inhibition est peu importante, les bactéries sont résistantes à l'optochine.
- Si la zone d'inhibition autour du disque d'antibiotique est supérieure à 15 mm, les bactéries sont sensibles à l'optochine.

B. Identification de *Haemophilus influenzae*

- **Exigence en facteurs X et V**

Elle se fait par le test de satellitisme, ce dernier permet le développement de colonies d'*Haemophilus influenzae* à proximité des stries de *Staphylococcus aureus*.

Mode opératoire

- Inonder une boîte de gélose au sang frais avec une suspension de la souche à identifier.
- Une souche de *Staphylococcus aureus* β hémolytique est ensemencée en stries centrales sur cette même boîte.
- Incubation 18 à 24 heures à 37°C.

Lecture

Développement des colonies d'*Haemophilus influenzae* tout au long de ces stries et cela signifie l'exigence de la souche en facteur X et V.

- ❖ L'hémolyse des globules rouge par le *Staphylococcus aureus* libère des quantités suffisantes de facteurs X (l'hémine, nécessaire à la bactérie pour la synthèse des enzymes contenant de l'hème : cytochromes, catalase, oxydase) et le facteur V à été identifié comme NAD.

C. Recherche de *Mycobacterium tuberculosis*

La recherche de BK (Bacille de Koch) se fait si le médecin le demande en fonction des signes cliniques du patient (s'il y a suspicion de méningite tuberculeuse), par ensemencement sur milieu Lowenstein Jensen. La lecture définitive se fait après 72 jours.

II.2.5. L'antibiogramme

L'antibiogramme est une technique qui permet de tester la capacité d'un antibiotique à inhiber la croissance bactérienne (OMS,2011).

Milieu pour l'antibiogramme

- Le milieu utilisé c'est la gélose au sang pour les germes exigeants ou gélose Mueller Hinton pour les autres germes.
- Le milieu doit être coulé en boîte de pétri sur une épaisseur de 4 mm.
- Les géloses doivent être séchées avant l'emploi.

Préparation de l'inoculum

- A partir d'une culture pure de 18 à 24 heures sur milieu d'isolement approprié, racler à l'aide d'une pipette pasteur quelques colonies bien isolées et parfaitement identiques. Dans le cas de *Streptococcus spp* et d'*Haemophilus spp*, utiliser un écouvillon pour prélever plus facilement les colonies bactériennes.
- Bien décharger la pipette ou l'écouvillon dans 5 à 10 ml d'eau physiologique stérile à 0.9%.
- Bien homogénéiser la suspension bactérienne à l'aide d'un agitateur, son opacité doit être équivalente à 0,5 Mc Farland mesurer avec le densitomètre (OMS,2011).

Ensemencement

- Tremper un écouvillon stérile dans l'inoculum.
- L'essorer en le pressant fermement (et en le tournant) contre la paroi interne du tube, afin de le décharger au maximum.
- Frotter l'écouvillon sur la totalité de la surface gélosée, sèche, de haut en bas, en stries serrées.
- Répéter l'opération 2 fois, en tournant la boîte de 60° à chaque fois, sans oublier de faire pivoter l'écouvillon sur lui-même. Finir l'ensemencement en passant l'écouvillon sur la périphérie de la gélose, et dans le cas où l'on ensemence plusieurs boîtes de pétri, il faut recharger l'écouvillon à chaque fois (**OMS,2011**).

Application des disques d'antibiotiques

- Il est préférable de ne pas mettre plus de 6 disques d'antibiotique sur une boîte de 90mm.
- Pour les bactéries exigeantes (*Streptococcus spp*, *Neisseria meningitidis*, *Haemophilus spp*), ne pas mettre plus de 4 disques par boîte de 90 mm.
- Presser chaque disque d'antibiotique à l'aide de pinces bactériologiques stériles et ne pas déplacer les disques après application (**OMS,2011**).

Condition d'incubation

Il faut respecter la température, l'atmosphère et la durée d'incubation recommandées pour chaque bactérie.

Lecture

- Mesure avec précision les diamètres d'inhibition à l'aide d'un pied à coulisse.
- Pour les bactéries testées sur Mueller Hinton simple, les mesures seront prises en procédant par transparence à travers le fond de la boîte de pétri fermée.
- Pour les bactéries testées sur Mueller Hinton au sang, les mesures de diamètres de zones d'inhibition seront prises, boîte de pétri ouverte et bien éclairée.
- Comparer les résultats obtenus, aux valeurs critiques figurant dans les tables de lecture correspondantes (**OMS,2011**).

Classer la bactérie dans une catégorie S (sensible), R (résistante) ou I (intermédiaire).

II.2.6. Etude biochimique

Deux paramètres sont systématiquement dosés dans le LCR : la glycorachie, et la protéinorachie (albuminorachie).

A. La glycorachie

Principe

Le principe de la glycorachie est de mesurer le taux de glucose dans le LCR.

Mode opératoire

- Prendre 100 ml de réactif de glycémie dans un tube sec.
- Ajouter 10 µl de LCR à cette quantité de réactif.
- Laisser au bain Marie pendant au moins 10 minutes.
- Passer au spectrophotomètre pour mesurer le taux de glucose.

Le taux normal de la glycorachie est en moyenne de 0.5 g/l (il représente le ½ de la glycémie).

Tableau II : Mesure de la glycorachie

Mesure dans les tubes à essai	Dosage	Etalon	Blanc
Echantillon	10 µl	-	-
Etalon	-	10 µl	-
Mélange réactif	1 ml	1 ml	1 ml

B. La protéinorachie

Consiste à mesurer le taux de protéine dans le LCR.

Mode opératoire

- Ajouter 20 µl de LCR dans 100 ml de réactif d'albumine.
- Incuber au bain Marie pendant 10 minutes.
- Passer au spectrophotomètre afin de mesurer la protéinorachie.

Le taux normal de la protéinorachie est compris entre 0.2 g/l à 0.40 g/l.

Tableau III : Mesure de la protéinorachie

	Blanc	Etalon	Dosage
Réactif	1 ml	1 ml	1 ml
Eau distillée	20 µl	-	-
Etalon	-	20 µl	-
Echantillon	-	-	20 µl

II.2.7. Recherche des champignons

Les champignons sont généralement recherchés chez les patients immunodéprimés, sidéens en particulier.

A. Etat frais

- Après centrifugation on observe la présence de levures capsulées.
- Un test à l'encre de chine met en évidence la capsule spécifique du genre *Cryptococcus* (**Annexe I**).

B. Auxacolor

Principe

La galerie auxacolor est un système d'identification dont le principe repose sur l'assimilation des sucres. La croissance des levures est visualisée par le virage d'un indicateur de pH.

La galerie comporte également 3 tests enzymatiques dont un test de détection de l'activité phénoloxydasique de *Cryptococcus neoformans*.

Mode opératoire

- Mettre les milieux de suspension à température ambiante avant l'utilisation.
- Préparer l'inoculum à partir d'une culture de 24 à 48 heures réalisée sur milieu Sabouraud (avec ou sans antibiotique) pour obtenir une opacité de 1.5 Mc Farland, il est nécessaire de respecter l'opacité de l'inoculum pour garantir la qualité du résultat.
- Homogénéiser la suspension à l'aide d'un agitateur.
- Prélever et distribuer à l'aide d'une micropipette 100 µl de l'inoculum dans chacune des cupules de la microplaque.
- Recouvrir la microplaque avec l'adhésif en s'assurant que l'adhésion est parfaitement uniforme.
- Incuber 48 heures (72 heures si nécessaire) à 30°C.

Lecture des résultats

- La lecture définitive doit s'effectuer après 48 heures.
- En cas de suspicion d'infection à cryptocoque, la lecture définitive s'effectuera à 72 heures étant donné la croissance lente de ces microorganismes.
- L'interprétation des résultats se fait grâce à un guide d'interprétation des réactions colorées (**Annexe II**).

Résultats et discussion

A. Résultats

I. Classification des prélèvements de LCR

Les données consignées dans le tableau I représentent les résultats de l'examen direct selon la positivité ou la négativité de la cytologie.

Tableau IV : Répartition des prélèvements de LCR selon les résultats de l'examen direct :

	Nombre de prélèvements	Fréquence
Cytologie positive	330	27,07%
Cytologie négative	889	72,93%
Totale	1219	100%

Le tableau IV montre un taux de 27,07% soit 330 cas ayant une cytologie positive et un taux 72,93% soit 889 cas révélés négatifs.

- **Répartition des prélèvements dans les différents services**

Les données consignées dans le tableau V représentent la répartition des prélèvements de LCR reçu selon leur provenance des différents services.

Tableau V : Répartition des prélèvements de LCR selon leur provenance des services
n= 1219.

service	NéoNat	Pédiatrie	MIP	MIF	MIH
Nombre de prélèvement	205	189	324	204	297

MIP : maladies infectieuses pédiatries

MIF : maladies infectieuses femmes

MIH : maladies infectieuses hommes.

NeoNat : néonatale.

Les résultats obtenus montrent que le nombre de prélèvement reçu du service des maladies infectieuses est plus élevé par rapport à ceux des autres services.

I.1. Répartition des résultats positifs selon les mois (n= 330).

On remarque que le nombre de LCR positifs est élevé au cours du mois de Janvier avec 78 cas (24%) puis on note une diminution remarquable pour les mois de Février, Mars et Avril. Ce nombre augmente ensuite au cours des mois de Mai et Juin (**Tableau XIII Annexe III**).

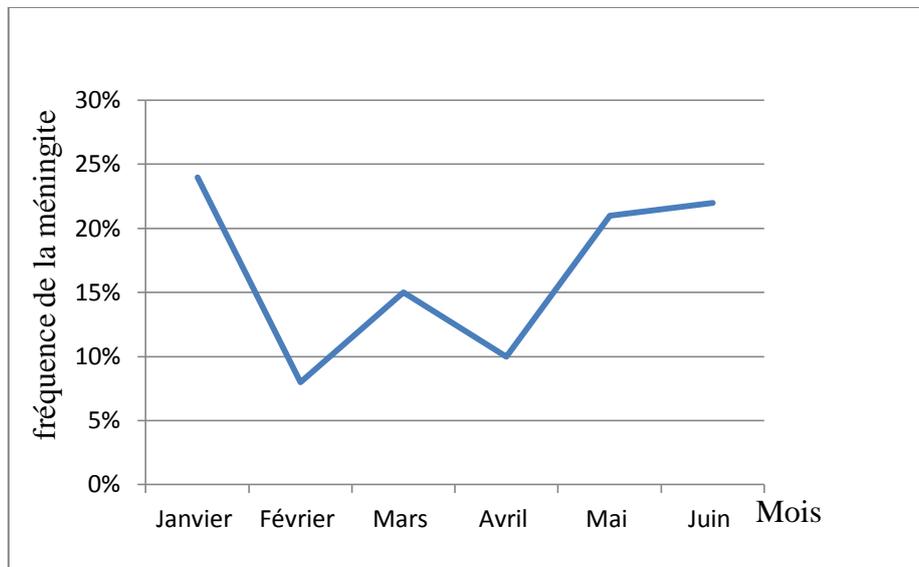


Figure 6 : Courbe de distribution mensuelle des LCR positifs reçus.

I.2. Répartition des prélèvements positifs selon l'aspect macroscopique (n=330).

Les résultats de 330 prélèvements positifs selon leurs aspect macroscopique sont illustrés par la figure 8 permettant de faire un diagnostic primitif sur la positivité du prélèvement.

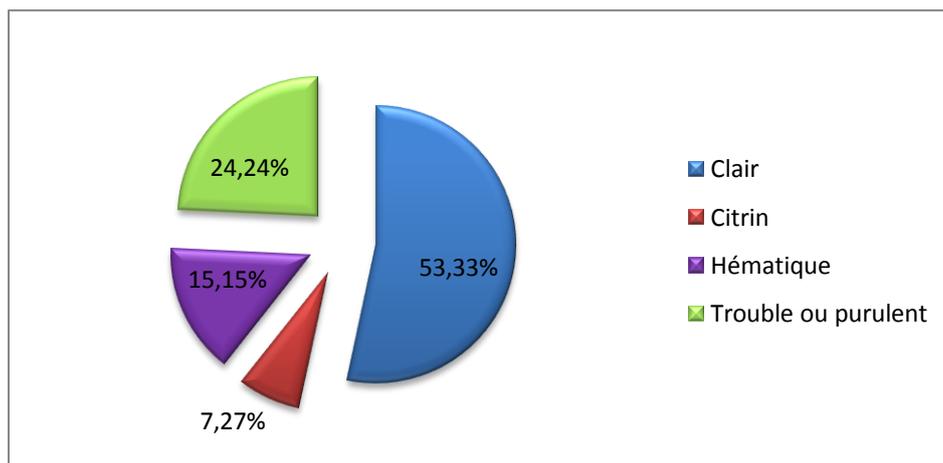


Figure 7 : Répartition des prélèvements positifs selon l'aspect macroscopique.

Les résultats représentés dans la figure 8 montrent une prédominance du liquide clair avec un taux de 53,33% soit 176 prélèvements positifs. L'aspect trouble est faiblement représenté par rapport au liquide clair avec un taux de 24,24% ainsi que l'aspect hématique avec un taux de 15,15% et l'aspect citrin avec un taux de 7,27% (**Tableau XIV Annexe III**).

I.3. Répartition des prélèvements positifs selon le type de méningite (n= 330).

En déterminant le type de méningite par rapport à l'examen macroscopique on peut connaître la nature du traitement approprié, car si le liquide est trouble c'est un signe d'une méningite bactérienne et le traitement d'antibiotique doit être immédiatement entamé.

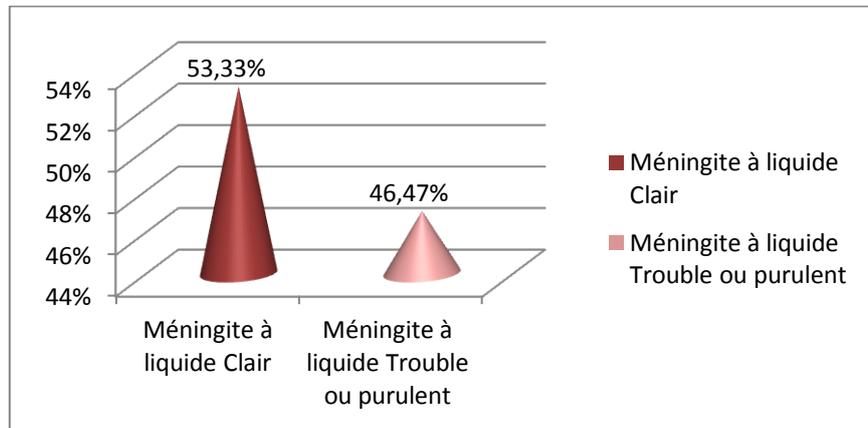


Figure 8 : Distribution des méningites selon l'aspect macroscopique.

Les résultats illustrés dans la figure 9 montrent une prédominance de méningite à liquide clair avec un taux de 53,33% et la méningite à liquide trouble représente un taux de 46,47% (**Tableaux XV Annexe III**).

I.4. Répartition des méningites selon le sexe (n=330).

La figure ci-dessous représente le nombre de cas atteints de méningite en fonction de leur sexe.

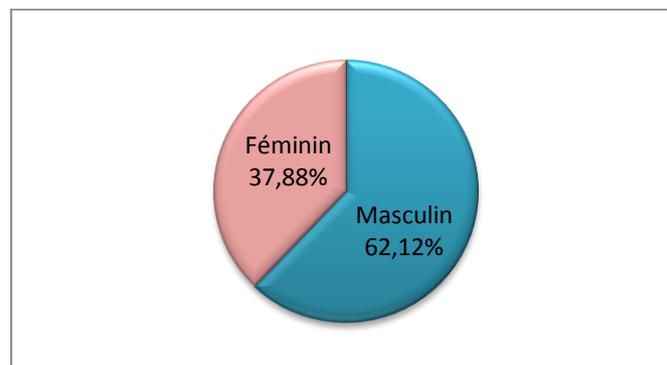


Figure 9 : Répartition des méningites selon le sexe.

On remarque une prédominance masculine dans les LCR positifs (malades) avec 205 sujets atteints soit 62,12% par rapport au sexe féminin avec 125 sujets atteints soit 37,88% (Tableau XVI Annexe III).

I.5. Répartition des prélèvements positifs selon l'âge (n= 330).

La figure ci dessous représente le nombre de cas ayant la méningite en fonction de l'âge des patients.

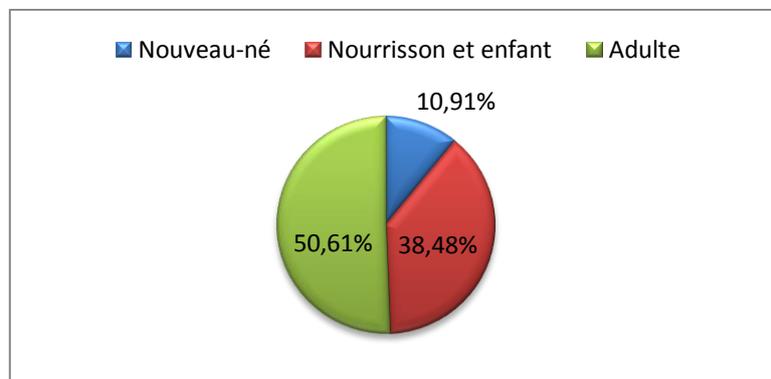


Figure 10 : Répartition des prélèvements positifs selon l'âge.

Ces résultats montrent que les adultes sont les plus touchés par la méningite avec un taux de 50,61% soit 167 cas par rapport aux nouveau-nés et aux enfants avec respectivement des taux de 10,91% et 38,48% (Tableau XVII Annexe III).

II. Répartition selon l'examen cyto bactériologique

II.1. Répartition des méningites selon la formule leucocytaire (n=330).

L'étude des méningites selon la formule leucocytaire a donné les résultats qui sont représentés sur la figure 12.

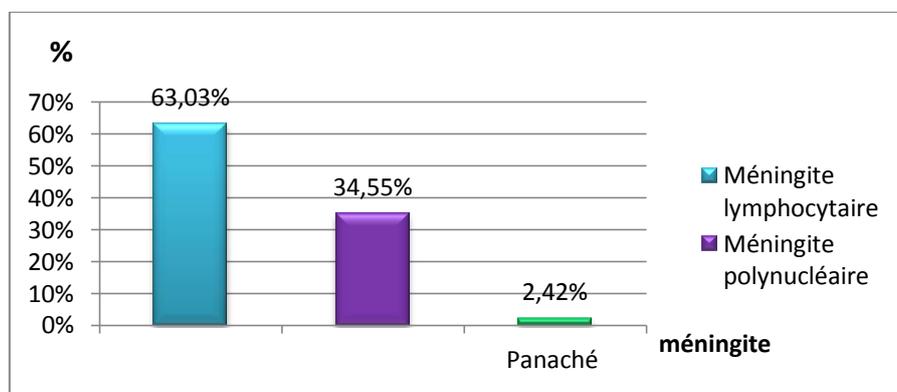


Figure 11 : Répartition des méningites selon la formule leucocytaire.

Ces résultats montrent que la méningite lymphocytaire est la plus représentée avec un taux de 63,03% soit 208 cas, la méningite polynucléaire représente un taux de 34,55% soit 114 cas positifs et on retrouve en dernier les méningites avec formule leucocytaire panachée et qui représente seulement 08 cas soit un taux de 2,42% (**Tableau XVIII Annexe III**).

II.2. Distribution des méningites selon la positivité de la culture (n=330).

La représentation graphique ci-dessous représente la répartition des résultats de la culture.

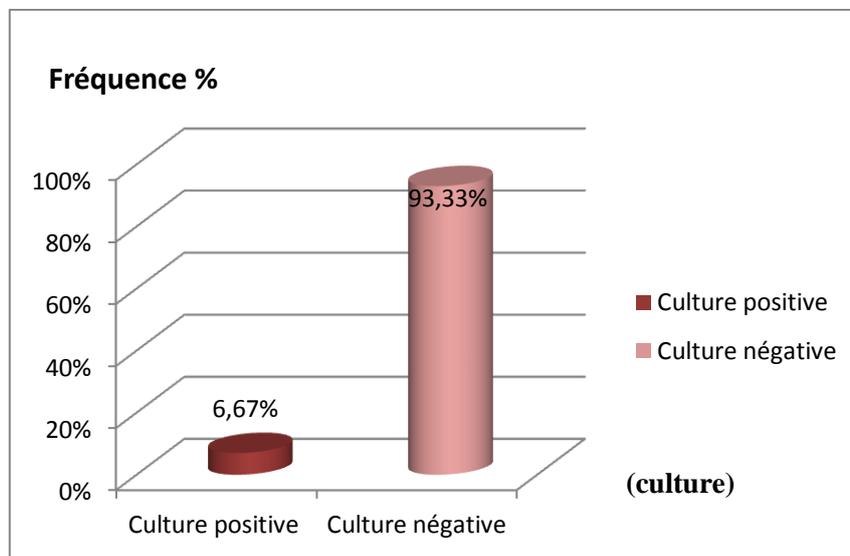


Figure 12 : Répartition des méningites selon la positivité de la culture.

On remarque que sur 330 prélèvements de LCR positifs seuls 6,67% des prélèvements ont poussé en culture (culture positive) alors que 93,33% des prélèvements sont de culture négative (**Tableau XIX Annexe III**).

a. Distribution des méningites polynucléaires selon la positivité de la culture

On remarque que sur 114 cas de méningites polynucléaire on retrouve uniquement 18 à culture positive soit 15,79% (**Tableau XX Annexe III**).

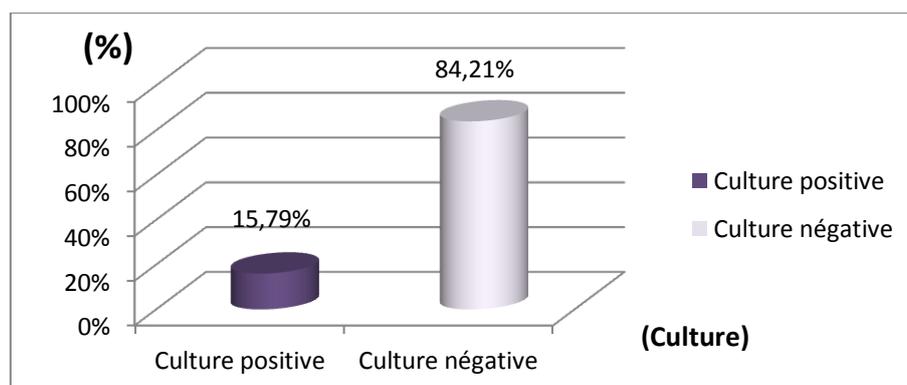


Figure 13 : Distribution des méningites polynucléaires selon la positivité de la culture

b .Distribution des méningites lymphocytaires selon la positivité de la culture (n=330).

Sur 208 cas de méningite lymphocytaire seulement 04 sont à culture positive soit 1,92%, comme le montre la figure ci-dessous (**Tableau XXI Annexe III**).

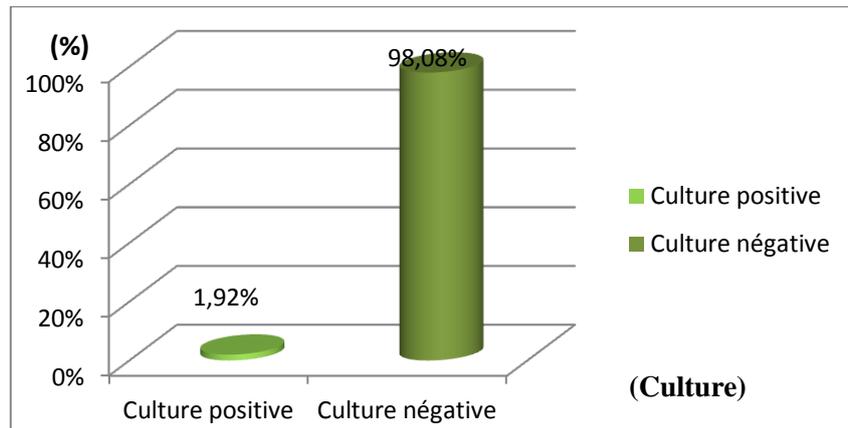


Figure 14 : Distribution des méningites lymphocytaires selon la positivité de la culture.

II.3. Les germes isolés en culture (n= 22).

La répartition des cultures positives selon le germe isolé est illustrée par la figure 16 :

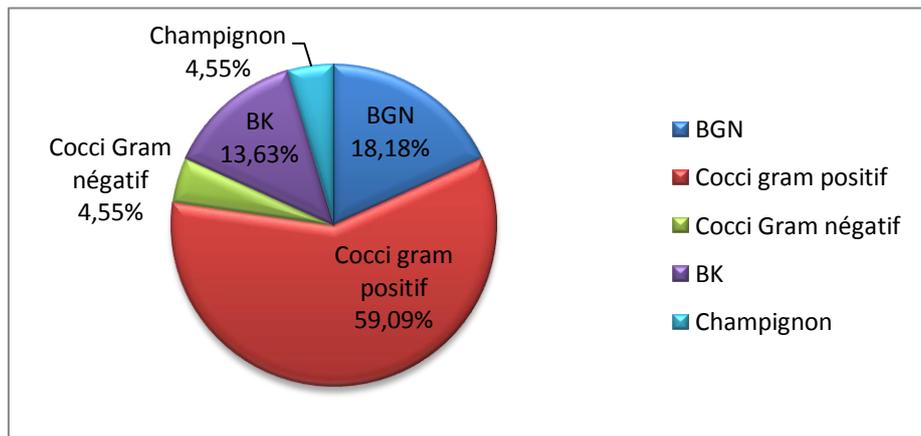


Figure15 : Répartition des cultures positives selon les germes isolés.

Cette figure montre que :

- Les cocci à Gram positifs représentent 59,09% soit 13 cas.
- Les BGN (Bacilles à Gram Négatifs) représentent un taux de 18,18% soit 04 cas.
- Les BK (Bacilles de Koch) représentent un taux de 13,63 % soit 03 cas.
- Les cocci à Gram négatifs sont représentées avec un taux de 4,55% soit 01 cas.
- Le champignon (*Cryptococcus sp*) est représenté avec un taux de 4,55% soit 01 cas (**Tableau XXII Annexe III**).

II.4. Répartition des germes selon leurs natures (n = 22).

Le tableau VI représente la distribution des germes selon la nature nosocomiale ou communautaire.

Tableau VI : Répartition des germes selon leurs origines nosocomiales ou communautaires

	Méningite à liquide trouble ou purulente (polynucléaire)		Méningite à liquide clair (lymphocytaire)
	Méningite communautaire	Méningite nosocomiale	
	<i>Streptococcus pneumoniae</i> <i>Neisseria meningitidis</i>	<i>Escherichia coli</i> <i>Enterobacter cloacae</i> <i>Serratia marcescens</i> <i>Staphylococcus aureus</i> <i>Staphylococcus epidermidis</i> <i>Staphylococcus saprophyticus</i> <i>Streptococcus sp</i> <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	<i>Mycobacterium tuberculosis</i> <i>Cryptococcus sp</i>
Nombre	06	12	04
Fréquence	27,27%	54,55%	18,18%

La figure 17 montre que la méningite nosocomiale est plus fréquente avec un taux de 54,55% par rapport à la méningite communautaire avec un taux de 27,27%.

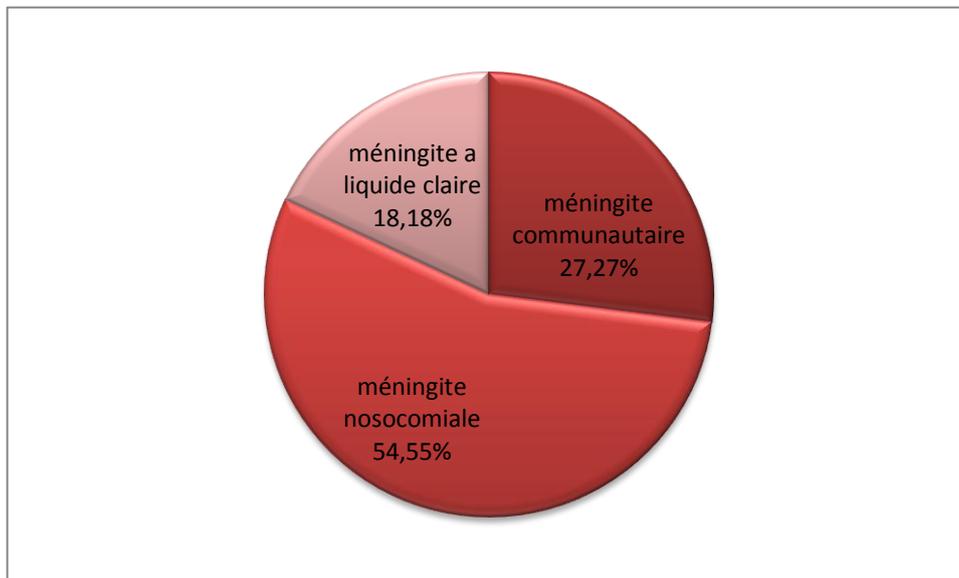


Figure 16 : Répartition des méningites selon l'origine des germes.

III. Sensibilité aux antibiotiques

III.1. Résistance des BGN

a. Les entérobactéries

On remarque dans la figure 18 que sur les trois bactéries il y a une seule qui est multirésistante, elle est apparue chez une patiente âgée et ayant une septicémie à *E.coli*, les autres bactéries ont été sensibles à la plupart les antibiotiques (**Tableau XXIII Annexe III**).

Les antibiotiques utilisés sont : céfalotine (KF), ampicilline (AMP), ceftazidime (CAZ), ticarcilline + acide clavulanique (TIM), cefotaxime (CTX), céftazidime (CAZ), chloramphénicol (C), acide nalidixique (NA), ciprofloxacine (CIP), imipénème (IPM), teicoplanine (TEC), gentamicine (GN), amikacine (AK), cotrimoxazole (SXT).

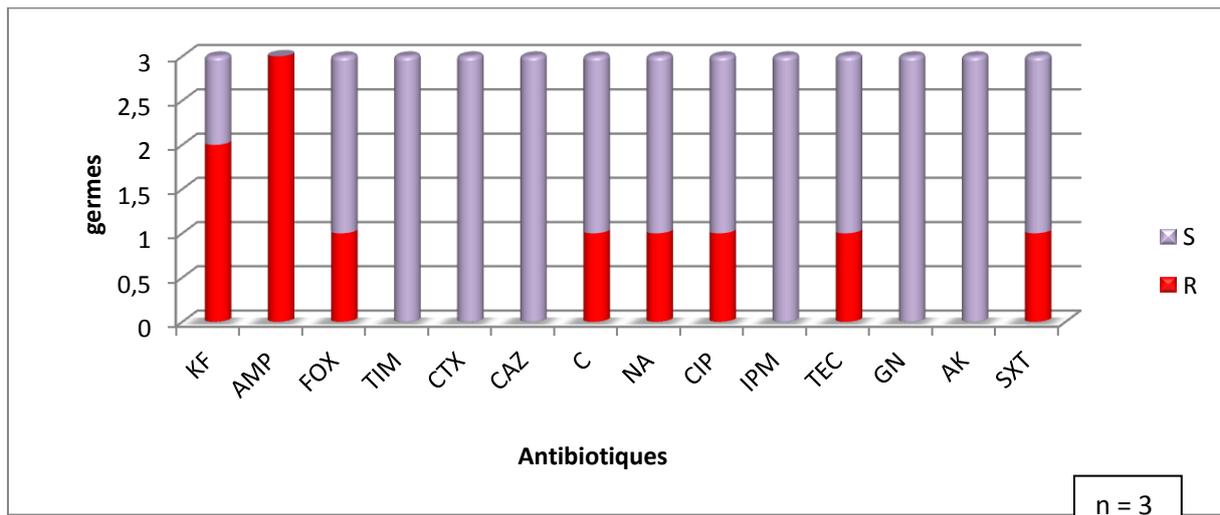


Figure 17 : Répartition de la résistance des entérobactéries aux antibiotiques :

b. *Pseudomonas*

Les résultats de l'antibiogramme de *Pseudomonas aeruginosa* montrent que la bactérie a été sensible à la plupart des antibiotiques testés. Le patient est un nouveau-né souffrant de la Spina bifida (anomalie de la soudure de la moelle épinière). Ces résultats sont représentés dans le tableau VII.

Tableau VII : Résistance de *Pseudomonas aeruginosa* aux antibiotiques (n = 1).

Antibiotiques	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
C (Chloramphénicol)	R
CAZ (Céftazidime)	S
TE (Tétracycline)	S
TIC (Ticarcilline)	S
GN (Gentamicine)	S
AK (Amikacine)	S
CIP (Ciprofloxacine)	S
IPM (Imipénème)	S

III.2. Résistance des cocci gram positif aux antibiotiques

❖ Antibiogramme de *Streptococcus pneumoniae*

On remarque dans la figure 19 que les pneumocoques isolés sont sensibles aux antibiotiques (Tableau XXIV Annexe III).

Les antibiotiques utilisés sont : Pristinamycine (PT), Vancomycine (VA), Teicoplanine (TEC), Cotrimoxazole (SXT), Rifampicine (RD), Clindamycine (DA), Erythromycine (E), Tétracycline (T), Gentamicine (GN), Imipenème (IPM), Ampicilline (AMP), Pénicilline (P).

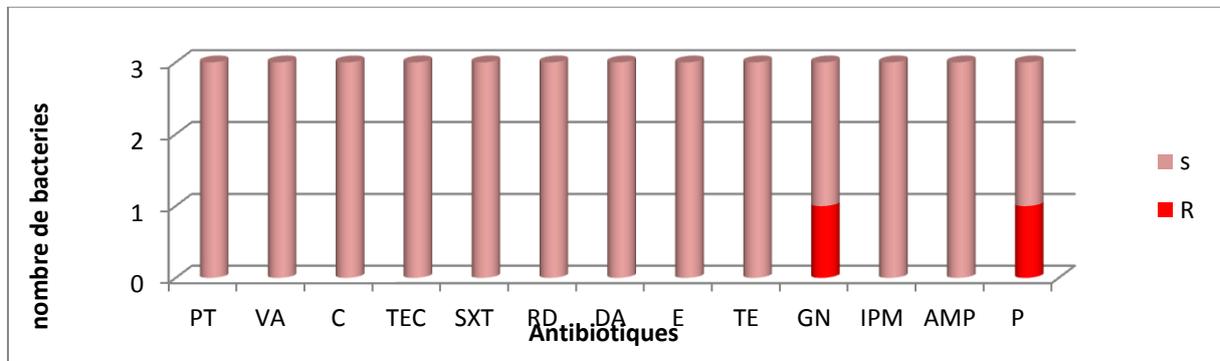


Figure 18: Répartition de la résistance des Pneumocoques aux antibiotiques n = 3

❖ Antibiogramme de *Streptococcus sp*

D'après les résultats de l'antibiogramme on constate que les bactéries de *Streptococcus sp* sont plus ou moins sensibles aux antibiotiques malgré la présence de certaines résistances (Tableau XXV Annexe III).

Les antibiotiques utilisés sont : Gentamicine (GN), Erithromycine(E), Clindamycine (DA), Tétracycline (TE), Teicoplanine (TEC), Cotrimoxazole (SXT), Pristinamycine (PT), Vancomicine (VA), Chloramphénicol (C), Rifampicine (RD), Pénicilline (P), cefotaxime (CXT), imipenème (IPM), Ampicilline (AMP).

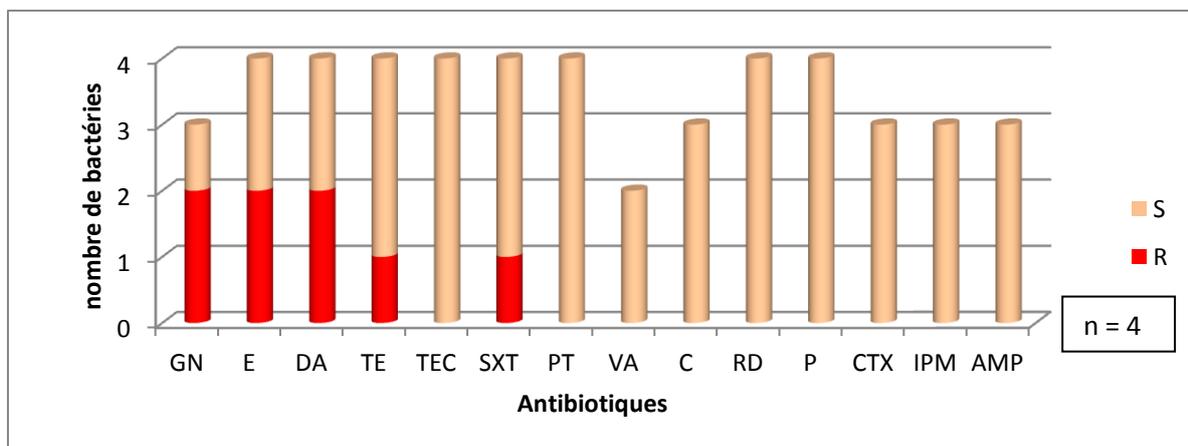


Figure 19 : Répartition de la résistance des *Streptocoques sp* aux antibiotiques.

❖ Antibiogramme des staphylocoques

De la figure 21 on remarque que les souches de staphylocoques sont sensibles aux antibiotiques malgré la présence de certaines résistances, sauf *S.epidermidis* qui est multirésistante (**Tableau XXVI Annexe III**).

Les antibiotiques utilisés : Vancomicine (VA), Gentamycine (GN), Cotrimoxazole (SXT), Ciprofloxacine (CIP), Rifampicine (RD), Amikacine (AK), Tétracycline (TE), Cloramphénicol (C), Teicoplanine (TEC), Érythromycine (E), Cefoxitine (FOX), Clindamycine (DA), Pénicilline (P), Acide fusidique (FA), Pristinamycine (PT), Oxacilline (OX).

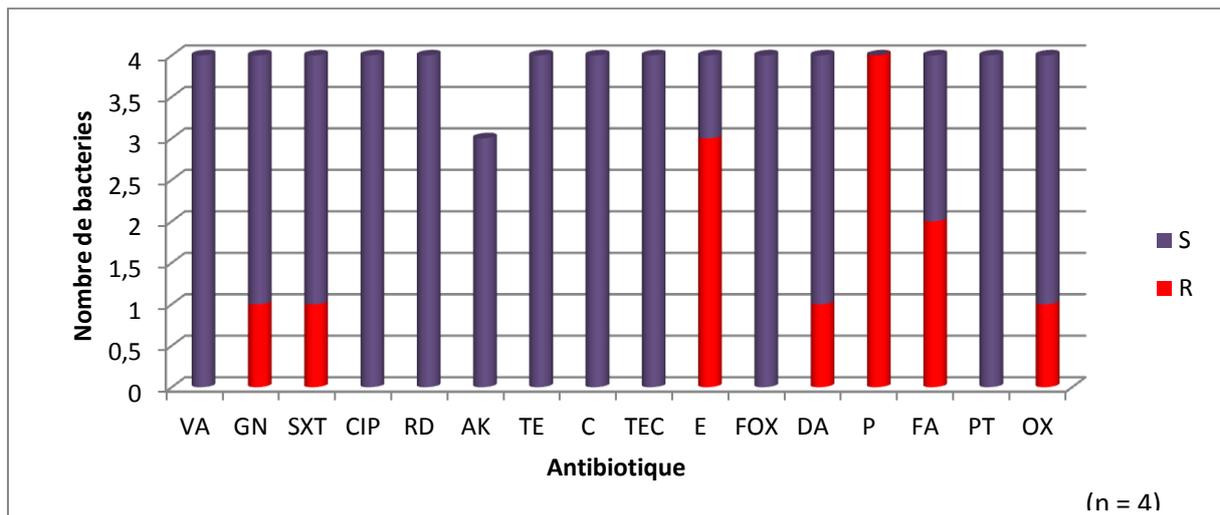


Figure 20 : Répartition de la résistance des Staphylocoques aux antibiotiques.

III.3. Résistances des cocci Gram négatifs aux antibiotiques (n = 1)

Les résultats de l'antibiogramme représentés dans le tableau VIII montrent que *N.meningitidis* est sensible aux antibiotiques utilisés.

Tableaux VIII : Antibiogramme du méningocoque.

Antibiotiques	N.meningitidis
Penicilline	S
Amoxicilline	S
Spiramycine	S
Lincomycine	R
Rifampicine	S
Ciprofloxacine	S
Chloramphénicol	S
Acide nalidixique	S

III.4. Résistance des BK (n= 3)

Les résultats de l'antibiogramme testé sur *Mycobacterium tuberculosis* isolés en culture sont rapportés dans le tableau IX.

Tableau IX : Antibiogramme des bacilles de koch

Antibiotiques	<i>Mycobacterium tuberculosis</i>	<i>Mycobacterium tuberculosis</i>
Isoniazide	S	S
Streptomycine	S	
Rifampicine	S	S
Ethambutol	S	

Trois *Mycobacterium tuberculosis* sont apparus en culture et pour lesquelles il est primordial de réaliser un antibiogramme.

- Pour la première bactérie la réalisation d'un antibiogramme est impossible parce que le titrage est faible.
- Pour la deuxième bactérie la réalisation d'un antibiogramme est possible, et les résultats de l'antibiogramme effectué montrent que cette bactérie est sensible à tous les antibiotiques testés.
- Deux antibiotiques testés sur le troisième BK par PCR afin d'entamer le traitement d'antibiotique le plus rapidement possible à cause du jeune âge du patient.

B. Discussion

Les résultats de l'examen direct montrent qu'il y a 27,07% de cytologie positive. Selon **SINDIC (2002)**, le diagnostic de la méningite repose sur la cytologie du LCR, donc une cytologie positive diagnostique la présence de méningite.

Il y a eu une augmentation de cas présentant la méningite au cours du mois de Janvier et cela s'explique par la présence d'une épidémie de méningite durant cette période. L'augmentation de cas positifs durant les mois de Mai et Juin revient à la présence de la chaleur comme l'explique **DULEX-THEODAT (2003)**, les périodes chaudes sont réputées favorable pour la méningite.

La prédominance de méningite à liquide clair est expliquée par les travaux de **STHAL (2013)**, par le fait que le diagnostic des méningites virales est fortement suspecté en cas de LCR clair et selon **CRETEUR (2008)**, les méningites virales touchent 70 à 80% des cas.

Les résultats de prédominance de méningite chez les adultes avec un taux de 62,12% ne sont pas en adéquation avec les résultats de **CRETEUR (2008)**, qui dit que la méningite touche beaucoup plus les enfants avec un taux de 61% puis les adultes avec un taux de 39% des cas.

Nos résultats de prédominance lymphocytaire ne correspondent pas aux travaux de **SENE et al (2002)**, qui ont trouvé une prédominance polynucléaire avec un taux de 51% et expliquent cela par la réalisation rapide de la ponction lombaire après l'apparition des premiers signes, et ils trouvent que la valeur des polynucléaires neutrophiles dans le LCR était corrélée au délai de la prise en charge du patient présentant des signes de méningites. Selon **CHALOUHI et al (2007)**, une prédominance de polynucléaire est fréquente à la phase initiale de la maladie, ces polynucléaires ne sont pas lysés, le passage à la formule lymphocytaire survient au-delà de 24 heures d'évolution. La prédominance lymphocytaire apparaîtra secondairement en quelques jours ce qui est évocateur de l'étiologie virale en absence d'antibiothérapie (**FOTAN et GUILLARD, 1990 ; SENE et al, 2002**).

On explique la prédominance lymphocytaire de nos résultats par la prise en charge des patients un peu tardive et la réalisation d'une ponction lombaire à la phase secondaire de la maladie, mais aussi à la prédominance des méningites virales.

L'absence de culture revient généralement au fait que les patients prennent des antibiotiques avant leur prise en charge et au fait que les méningites virales sont les plus prédominantes par rapport aux méningites bactériennes.

Selon **BRUNEEL et WOLFF(2000)**, les méningites bactériennes présentent une nette prédominance polynucléaire neutrophile. Lorsque les résultats de la culture du LCR sont négatifs, la méningite peut être d'origine bactérienne mais décapité par une antibiothérapie (**POURRIAT, 2005**).

Selon **CHALOUHI et al (2007)**, les méningites lymphocytaires sont le plus souvent d'étiologie virale, et d'après **BOUTOILLE (2011)**, les méningites virales présentent environ 70% des méningites, nos résultats relatifs à la prédominance de culture négative par les méningites lymphocytaires s'explique par le fait que les virus sont à culture négative et le 1,92% de culture positive représente des méningites dues à *Mycobactérium tuberculosis* qui est une bactérie et *Cryptococcus sp* qui est un champignon.

Les méningites à pneumocoque sont les plus fréquentes des méningites bactériennes (tout âge confondus). Elles représentent une cause majeure de morbidité et de mortalité. La fréquence des méningites à pneumocoque est relativement peu élevée, mais elles sont volontiers plus graves que les autres méningites purulentes (**EL MASSAOUDI, 2011**).

Le méningocoque est la principale étiologie des méningites survenant chez l'adulte jeune entre 16 et 24 ans (90%). Les méningites à méningocoque sont à déclaration obligatoire. (**EL MASSAOUDI, 2011**), et c'est le cas de notre patient qui était un jeune âgé de 17 ans.

Les méningites tuberculeuses sont des affections rares mais dont la létalité demeurent élever.

Les méningites à staphylocoques sont relativement rares mais deviennent de plus en plus fréquentes du fait de l'émergence de souches nosocomiales souvent multirésistantes (**LHOSTE, 2006**).

Le Spina Bifida c'est des malformations complexes caractérisées par l'absence de l'arc postérieur sur une ou plusieurs vertèbres, qui surviennent pendant le développement du fœtus (**AKHADDAR, 2010 ; BOUCHARD et DE BRAEKELEER, 1992**). Ces malformations intéressent à un degré divers les enveloppes méningés et la moelle épinière, d'où l'atteinte de méningite (**AKHADDAR, 2010**).

La prédominance des méningites purulentes nosocomiales s'explique selon les travaux de **CHARCET et al (2009)**, qui notent que la fréquence des méningites bactériennes iatrogènes (nosocomiale) par rapport à celle d'origine communautaire augmente depuis les années 1960. Avant 1970, elle était de 28% puis de 45% entre 1980 et 1988 pour atteindre près de 50% actuellement.

La prescription d'un antibiotique, qu'elle soit empirique ou consécutive à des résultats bactériologiques, doit tenir compte des notions de sensibilité et de résistance des bactéries suspectés ou effectivement impliqué (**BERMAN et al., 2001**).

Pour les entérobactéries l'usage trop fréquent d'une même classe d'antibiotique induit une pression de sélection aboutissant à l'émergence de résistance acquise aux antibiotiques des entérobactéries (**BEN ABDALLAH et al., 2008**). Ce qui explique la multiresistance d'E.coli qui avait été isolée dans notre étude.

Dans le cas *Pseudomonas aeruginosa* l'usage d'une association d'antibiotiques est recommandé, quelque soit l'antibiotique utilisé dans le traitement de *P.aeruginosa* du fait de sa moindre sensibilité, de mécanismes particuliers de résistance et de la sélection fréquente de mutants résistants sous traitement (**POURRIAT et MARTIN, 2005**).

Le pneumocoque est une espèce naturellement sensible à la plupart des antibiotiques actifs sur les bactéries à Gram positif (**CHAMOULLI et al., 2004**), et c'est le cas des germes isolés.

Selon **ANDREMONT et TIBON-CORNILLOT (2007)**, l'évolution de la consommation de la vancomycine (VA) se soit considérablement accrue dans les hôpitaux, qui est en relation avec l'augmentation de la fréquence des souches de staphylocoques résistantes aux autres antibiotiques. Dans notre cas les bactéries de staphylocoques été sensibles à tout les antibiotiques sauf pour *S.epidermidis* qui a été multirésistante mais sensible à la vancomycine.

L'antibiogramme optimal de *N.meningitidis* doit comprendre une pénicilline (Pénicilline G, ampicilline ou amoxicilline), une céphalosporine de troisième génération, le chloramphénicol (en Afrique), la rifampicine et la ciprofloxacine. Il n'y a pas actuellement de résistance décrite aux céphalosporines de troisième génération (**TAHA, 2012**).

Parmi les 21 bactéries isolées en culture, trois bactéries sont révélés résistantes aux antibiotiques testés, les autres bactéries sont sensibles à la majorité des antibiotiques.

Conclusion

Les méningites restent en nombre et en gravité l'une des éventualités pathologiques les plus sévères et les plus redoutées en pathologie humaine. Cette infection est souvent redoutable notamment dans les pays en voie de développement où les conditions sanitaires sont souvent précaires. L'examen clé pour le diagnostic de la méningite est la ponction lombaire permettant une analyse cytologique, biochimique et microbiologique du LCR.

D'après notre étude au niveau du centre hospitalier de Boufarik on a pu constater que :

- La plupart des méningites sont des méningites lymphocytaires qui sont le plus souvent d'étiologie virale.
- Les méningites bactériennes nosocomiales prédominent, généralement à cause de la précarité sanitaire.
- Le sexe masculin est le plus touché quelque soit l'âge.

Il faut souligner l'urgence absolue que représentent les méningites bactériennes qui peuvent être fatale, d'autant plus que le traitement est retardé.

Le choix du traitement optimal repose sur la connaissance des bactéries et de leur sensibilité aux antibiotiques. L'évolution des bactéries responsables vers une moindre sensibilité rend ce traitement plus difficile qu'auparavant.

Recommandations :

De point de vue prophylactique :

- Lors d'une méningite bactérienne, le traitement doit débiter en urgence et consiste en l'administration intraveineuse d'antibiotiques à large spectre, ensuite il sera adapté aux résultats de l'analyse du LCR et de l'antibiogramme.
- Malgré que les méningites virales guérissent spontanément les patients immunodéprimés peuvent bénéficier d'un traitement antiviral.
- Il est recommandé d'avoir une bonne hygiène hospitalière afin de diminuer le taux des méningites nosocomiales.
- Cette prophylaxie consiste aussi à traiter par antibiothérapie toutes les personnes ayant été en contact avec la personne présentant une méningite. Il s'agit d'empêcher que l'infection ne se déclare.

References bibliographiques

Références

- **AKHADDAR P., 2010 :** Les dysraphies spinales, cours de pathologie neurochirurgicale de 4^{ème} année médecine, hopitale militaire d'instruction Mohammed V, Maroc, pp3.
- **AMERI A., 1997 :** Neurologie clinique : Guide pratique, édition HEURES DE FRANCE, p 293.
- **ANDREMONT A et TIBON-CARNELLOT., 2007 :** Le triomphe des bactéries : la fin des antibiotiques ?, édition Max Milo.
- **BAUDRY C et BREZELLE C H., 2006 :** Microbiologie, immunologie, édition Wolters Kluwers France, p24.
- **BEN ABDALLAH H., SAHNOUN O., BEN ROMDHANE F., LOUSSAIEF C., NOOMEN S., BOUZOUAIA N., CHAKROUN M. et MASTOURI M., 2008:** Profil de sensibilité aux antibiotiques des entérobactéries uropathogène isolées dans la region de Monastir, 2,5.8.
- **BERNARD G., NOVEL C. et VERGNES R., 2007 :** Neurologie et neurochirurgie, édition ESTM, p73.
- **BERREBI W., 2009 :** Diagnostic et thérapeutique de poche : guide pratique du symptôme à la prescription, 5^{ème} édition, édition ESTEM,p 1065
- **BOST-BRU C et PLANTAZ D., 2004 :** méningite infectieuse de l'enfant.
- **BOUCHARD G. et DE BRAEKELEER., 1992 :** Pourquoi des maladies héréditaires ? population et génétique au Saguenay-Lac de Saint-Jean, édition Septentrion, pp41.
- **BOUREE P et VITTECOQ D., 2002 :** Maladies infectieuses, édition ESTEM, p66.
- **BOUTOILLE D., 2011 :** infections neuroméningées, maladies infectieuses et tropicales, CHU de Nantes.
- **BRISON P., CHAMOUILLI J-M., GAILLARD T. et MUZELLE C Y., 2004 :** Infections à pneumocoque, EMC- Encyclopédie Médico-chirurgicale, 2004 : 4-260-p-10.
- **BRUNEEL F. et WOLFF M.,2000 :** Meningitis aiguës, Elsevier Masson, EMC- Encyclopedie Medico-chirurgical ;17-160-C-10.
- **CARETTE J., 2005 :** De la grappe au verre, edition publibook, p 108.

- **CARLI P., RIOU B. et TELION C., 2004** : Urgence médico-chirurgicales de l'adulte, 2^{ème} édition, p 362.
- **CHALOUHI C., FAESCH S., CHAPPUY H. et CHERON G., 2007** : méningites lymphocytaires aiguës. Elsevier Masson-EMC, Pédiatrie, 4-098-C-10.
- **CHAPEL H., HAENEY M., MISBAH S. et SNOWDEN N., 2004**: Immunologie Clinique: de la théorie à la pratique, avec cas cliniques, 4^{ème} édition anglaise, édition De Boeck et Larciét s.a Belgique.
- **CHARVET A., GARCIN F., ALBANESE J. et MARTIN L., 2009** : méningites nosocomiales, Elsevier Masson ,EMC- Antibiotique : 11,18-27.
- **CRETEUR E., 2008** : Les méningites virales et bactériennes, Elsevier Masson, EMC- Pathologie, Soins et aides soignantes n° 23.
- **Delmas C., 2006**: fiche technique, laboratoire de bactériologie hygiène CHU Toulouse, centre Toulousain pour le contrôle de qualité en biologie Clinique.
- **DENIS F., POLY M-C., MARTIN C., BINGEN E et QUENTIN R., 2007** : Bactériologie Médicale, techniques usuelles, édition Elsevier Masson, pp159.
- **DULEX-THEODAT J-M (2003)** : Haiti république dominicaine- une ile pour deux, édition Karthala, p 283.
- **EL MASSAOUDI ABDALHAQ M., 2011** : Les facteurs pronostiques des méningites bactériennes communautaires de l'adulte, thèse de doctorat d'état, Tunis.
- **ENGELKIRK P-G et DUBEN –ENGELKIRK J-L., 2008** : laboratory diagnosis of infectious diseases essentials of diagnostic microbiology, édition lippincot william et wilkins, pp 281-383.
- **FAUCHER J-L et AVRIL J-L., 2002** : bactériologie générale et médicale, édition ellipses ISBN.
- **FONTAN D et GUILLARD J.M., 1990** : Méningites lymphocytaires aiguës.EMC- pédiatrie- maladies infectieuses : 1-0(article 4-098-C-10).
- **GOUBAU P et PELLERGRINS., 2000** : Repères en microbiologie, éditon 2000, page 252.
- **GROSJEAN J., CLAVE D., ARCHAMBAUD M.et PASQUIER C., 2009** : Bactériologie et virologie pratique, Edition De Boeck, p288
- **GUENARD Hervé., 2001** : physiologie humaine, 3^{ème} édition, Wolkers Kluwer France, p 44.

- **HURAUX J-M., AGUT H., FILLET A-M ., CALVEZ V., THIBAUT V., GAUTHERET-DEJEAN A., MARCELIN A-G et DEBACK C.,2007:**Virologie., faculté de médecine Pierre et Marie CURIE, Université PARIS- VI.
- **KAYSER F-H., BOTTGER E-C., ZINKERNAGEL R-M., HALLER O., ECKERT J. et DEPLAZES P., 2008:** Manuel de poche de Microbiologie médicale, traduction de la 11^{ème} édition allemande.
- **LATERRE C-E., 2008 :** Sémiologie des maladies nerveuses, édition De Boeck supérieur, pp 28.
- **LE GAL M., 2010 :** Comprendre une situation clinique par l’anatomie-physiologie, édition ESTEM, p67-68.
- **LEHOUELLEUR J ., 2010 :** Neurosciences et neurologie, université de Montpellier 2, pp 5-7.
- **LHOSTE –CHAIX J., 2006 :** Les méningites purulentes communautaires de l’enfant, thèse de doctorat d’état, France.
- **LORAUX N., GUILLEMIN M-C ., MICHEL C ., PRADAT P., RIERA C., VIGNARD H., 2005 :** neurologie, neurochirurgie et soins infirmiers : module n°10, 2^{ème} édition, p 76.
- **LORIOU M. et HERVE N., 2008 :** 100(cent) conseils de comptoir, 4^{ème} édition, p 26.
- **MACLACHLAN J-N et DUBOVI E-J., 2010:** fenner’s veterinary virology, edition Academic press, pp 181.
- **MEVEL P., 2013 :** les méningites. Elsevier Masson-EMC pathologie.
- **MILLER N-R., BURTON WALCH F et HOYT W-F., 2005:** Walsh and Hoyt’s clinical Neuro-ophthalmology, edition Lippincott Williams et wilkins, pp 2817.
- **MOORE K-L. et DALLEY A-F., 2001:**Anatomie médicale aspects fondamentaux et application cliniques, traduction de la 4^{ème} édition, édition De Boeck, pp481.
- **NAUCIEL C. et VILDE J-L., 2005 :** Bactériologie médicale, édition Elsevier Masson,pp 257.
- **NGUYEN S-H et BOUROUINA R., 2008 :** Manuel d’anatomie et de physiologie, édition LAMARRE, 4^{ème} édition, pp80.
- **OMS, 2011 :** Standardisation de l’antibiogramme de médecine humaine et vétérinaire à l’échelle nationale, 6^{ème} Edition
- **PARENT I., 2012 :** Epidémiologie des méningites aiguës en France, institut de veille Sanitaire, p3.

- **PEBRET F., 2003** : Maladies infectieuses : toutes les pathologies des programmes officiels des études médicales ou paramédicales, édition HEURES DE FRANCE. P 565.
- **PERRIER R. et al., 1997** : expérience facile et moins facile en science biologiques, édition Wolters Kluwer France, p 166.
- **PINET P., DENES E., CARNIER F., DUROX H., DUCROIX-ROUBERTOU S. et WEINBRECK P., 2009** : Méningite communautaire à *Staphylococcus aureus* méticilline sensible, Elsevier Masson, EMC-Médecine et maladies infectieuses, pp175.
- **POURRIAT J-L et MARTIN Claude., 2005** : Principe de réanimation chirurgicale, 2^{ème} édition, pp 1228.
- **POZZETTO B., 2001** : Les infections nosocomiales virales et à agent transmissible non conventionnels, édition John Libbey Eurotext, pp 554.
- **PRESCOTT L-M., HARLEY J-P. et KLEIN D-A., 2003**: Microbiologie, 2^{ème} édition française, édition De Boeck.
- **REMY D., 2010** : Les mammites, édition France agricole, p41.
- **SADAPHAL P., RAO P., COMSKOCK G-W et BEG M-F.,2008**: image processing technique for identifying Mycobacterium tuberculosis in Ziehl-Neelson stains, Short communication, 12(5):579-582.
- **SAIDANI M.,2010** : *Sterptococcus pneumoniae* : Rappels Bacteriologique et état actuel de sensibilité aux antibiotiques, laboratoire de Microbiologie, Hopitale CHAR les Nicolles de Tunis, college des maladies infectieuses Microbiologie-Parasitologie-Mycologie, p4.
- **SENE D., BOSSI P., ZELLER V., CAUMES E. et BRICAIRE F.,2002** : méningites virales aiguës, Elsevier Masson-EMC 31 :254-8.
- **SHOTIS BRUNNER L ., SMELTZER Suzanne C., SMITH SUDDARTH D. et BARE B., 2006** : soins infirmiers en médecine et en chirurgie : 6.Fonctions sensorielle, neurologique et musculosquelettique . 4^{ème} édition, p117- 230.
- **SINDIC C, (2002)** : Neuro-infectiologie, édition Wolters klowers France, p346.
- **STAHL J-P., 2013** : méningites aiguës. EMC- Neurologie, 10(1) :1-11 (article 17-160-C-10).
- **STAHL J-P.,2009** : les méningites bactériennes en 2009,les raisons d'une conférence de consensus. EMC-Neurologique

- **TAHA M-K., 2012** : Infection à méningocoques, EMC-Maladies infectieuses 2012, 9(3) :1-17(article 8-013-A-10).
- **TORTORA G-J., FUNKE B-R. et CASE C-L., 2003**: introduction à la microbiologie, édition du Renouveau Pédagogique Inc.
- **TRUFFOT-PERBOT C-H., 1995** : revue française des laboratoires, numéro 273, laboratoire central de bactériologie virologie, France.
- **TURPIN J-C., 2010** : Abord clinique en neurologie, édition springer, p 170.
- **VAUBOURDOLLE M., 2007** : Infectiologie, 3^{ème} édition, collection LE MONITEUR, P 304-305-306.
- **VEBER B., 2004** : antibiothérapie probabiliste des états septiques graves, edition ELSEVIER, p26.

Annexes



Figure 21 : Coloration de Gram d'*Haemophilus influenzae*. (ENGLKIRK, 2008)

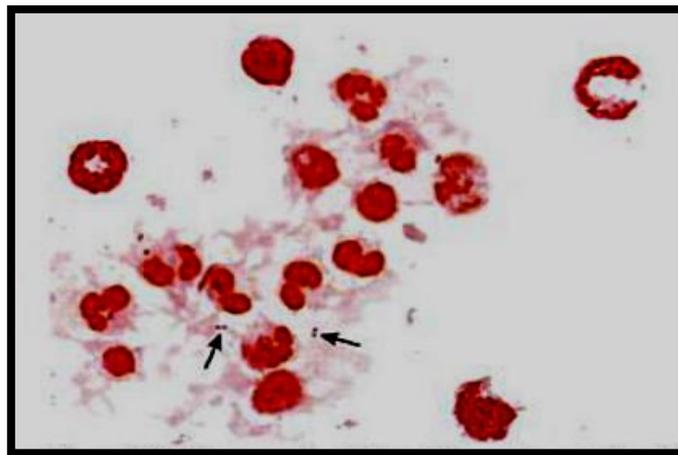


Figure 22 : Diplocoques à Gram négatif (*N.meningitidis*), coloration de gram dans un sédiment de liquide céphalorachidien. (ENGLKIRK, 2008)

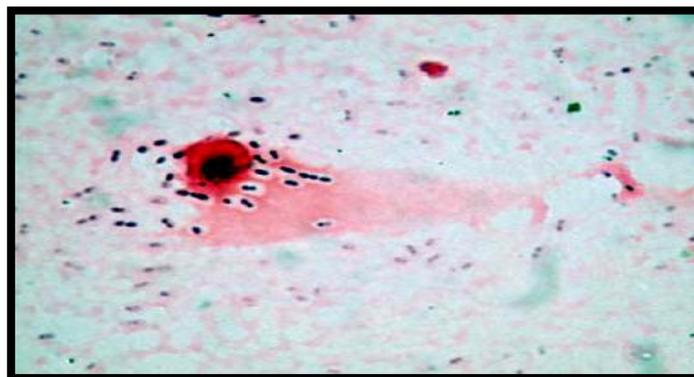


Figure 23 : Aspect en coloration de Gram d'un pneumocoque dans le liquide céphalorachidien. (BRISON et al., 2004)

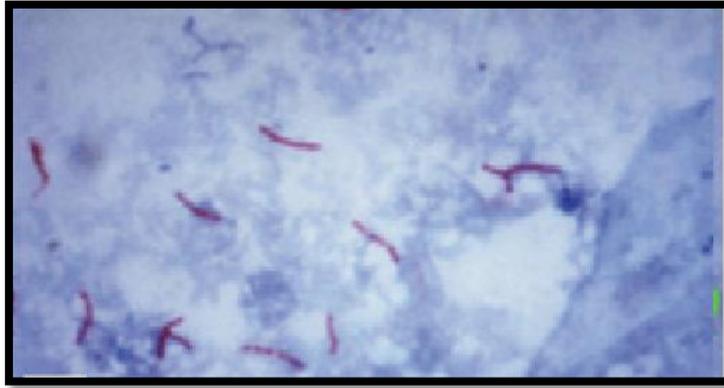


Figure 24: Coloration de Ziehl Neelsen de *Mycobacterium tuberculosis*. (SADAPHAL et al., 2008)

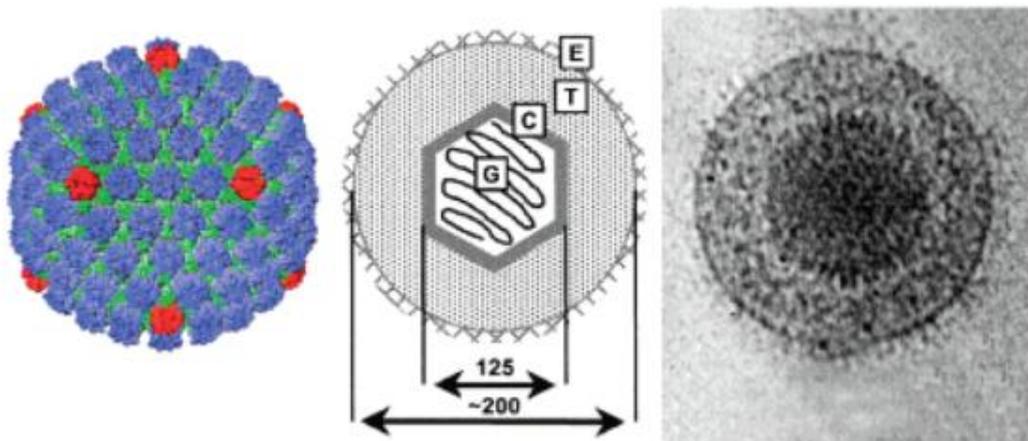


Figure 25: Morphologie de l'*Herpes virus* sous microscope électronique. (MACLACHLAM et DUBOVI, 2010)

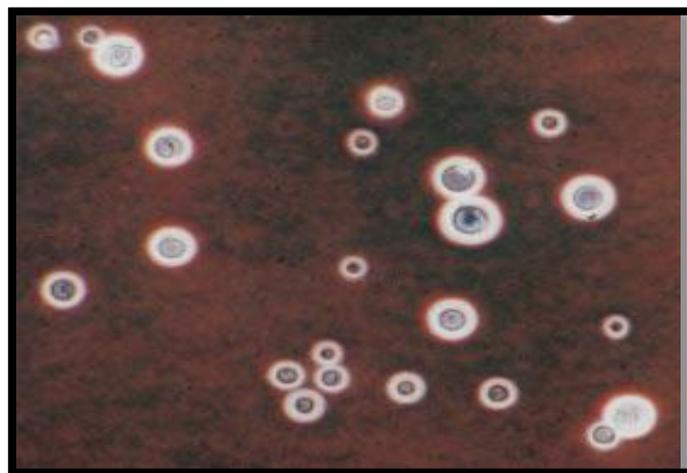


Figure 26 : Examen direct du liquide céphalorachidien après coloration à l'encre de Chine. Mise en évidence de cryptocoques. (PRADAT et DELATTRE, 2002).

Matériel non biologique :

Matériels de laboratoire.	Milieux de culture.	Colorants	Réactifs	Solutions utilisées
<ul style="list-style-type: none"> - Microscope optique - Bec bunsen - Congélateur - Réfrigérateur - Etuve à 37°C - Etuve à CO₂ - Cloche à CO₂ - Poupinelle de stérilisation - Agitateur - Densitomètre - Tubes à essai - Tubes sec - Cellules Nageote - Pipette Pasteur - Poire - Lames et lamelles - Boites de Pétris - Portoir - Ecouvillons - Pincés. - Galerie API - Auxacolor 	<ul style="list-style-type: none"> -Gélose nutritive -Gélose au sang frais - Gélose au sang cuit - Gélose CHAPMAN - Gélose hectoen -Gélose Muller Hinton - Milieu cœur cervelle BHIB - Milieu sabouraud - Milieu lowenstien Jensen 	<ul style="list-style-type: none"> -Violet de Gentiane - Lugol - Fushine phéniqué - Bleu de méthylène 	<ul style="list-style-type: none"> -VP1 et VP2 -Kovacs 	<ul style="list-style-type: none"> - Eau oxygéné - Eau distillé - Huile de vaseline et d'immersion -Azarus - Alcool 90° - Disques d'antibiotiques.

Les colorants utilisés dans la coloration de Gram :



Figure 27 : Les colorants de Gram.

Mise en culture :



Figure 28 : Milieu BHIB, gélose nutritive et gélose au sang cuit (originale).

Galerie classique :



Figure 29 : Les milieux de la galerie classique.

Galerie API 20^E :



Figure 30 : Galerie API 20^E de *E.coli* (originale)

Test de l'optochine :



Figure 31 : Test de sensibilité à l'optochine (originale)

Test de satellitisme :



Figure 32 : Identification d'*Haemophilus influenzae* par le test de satellitisme.

Antibiogramme :



Figure33 : Antibiogramme de pneumocoque sur gélose au sang cuit. (Originale)

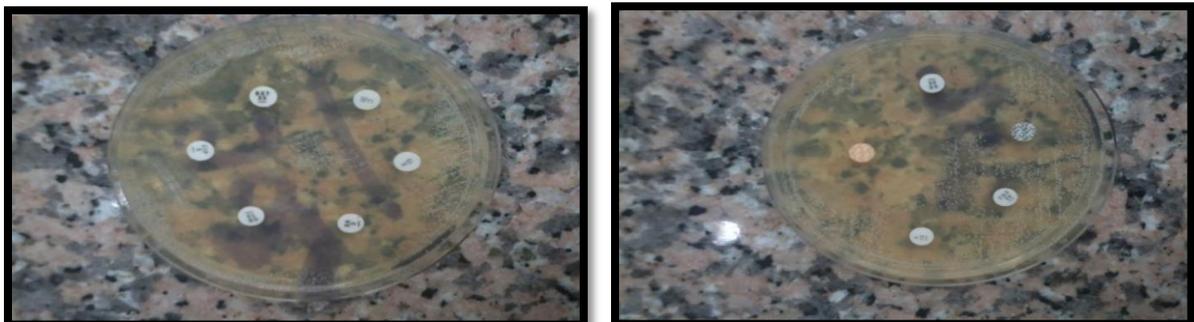


Figure 34 : antibiogramme de *E.coli* (originale).

Culture de *Neisseria meningitidis* :

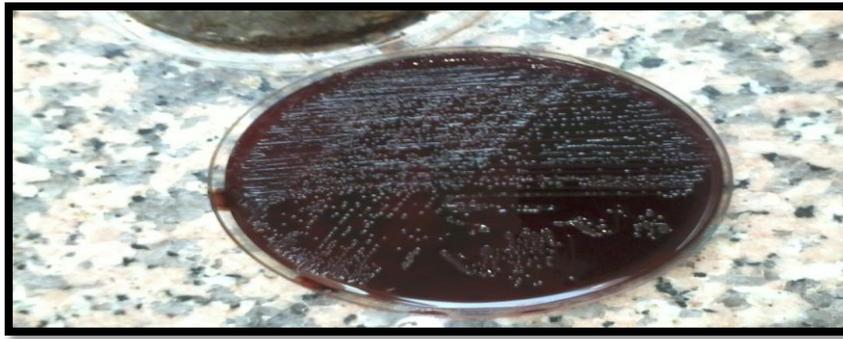


Figure 35 : Culture sur gélose au sang cuit de *Neisseria meningitidis* (Originale).

Culture de *Mycobacterium tuberculosis* sur milieu Lowenstein Junsen :



Figure 36 : Culture de *Mycobacterium tuberculosis* (originale).

L'Auxacolor :

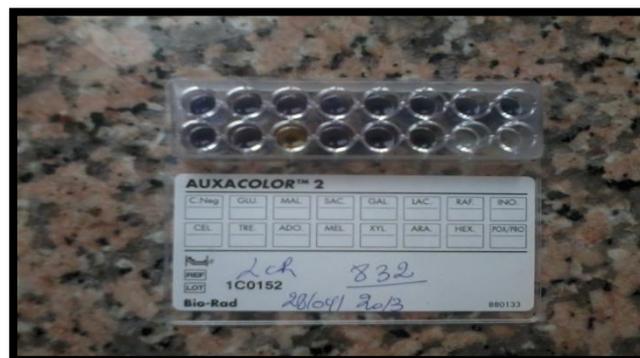


Figure 37 : Auxacolor de *Cryptococcus* sp.

Tableau X: Tableau de lecture de la galerie API 20^E.

Tests	Composant actifs	Réactions/Enzymes	Résultats	
			négatif	positif
ONPG	2-nitrophényl-βD-galactopyranoside	Beta-galactosidase	Incolore	Jaune
ADH	L-arginine	Arginine dihydrolase	Jaune	Rouge-orangé
LDC	L-lysine	lysine décarboxylase	Jaune	Rouge- orangé
ODC	L-ornithine	Ornithine décarboxylase	Jaune	Rouge –orangé
CIT	Trisodium citrate	Utilisation du citrate	Vert pale- jaune	Bleu-vert-bleu
H ₂ S	Sodium thiosulfate	Production d'H ₂ S	Incolore-grisâtre	Dépôt noir
URE	Urée	Uréase	Jaune	Rouge orangé
TDA	L-tryptophane	Tryptophane désaminase	Jaune	Marron- rougeâtre
IND	L-tryptophane	Production d'indole	Incolore-vert pale-jaune	Rose
VP	Sodium pyruvate	Production d'acétoine	Incolore-rose pale	Rose-rouge
GEL	Gélatine	Gélatinase	Non diffusion	Diffusion du pigment noir
GLU	D-glucose	Fermentation-oxydation	Bleu/bleu vert	Jaune-jaune gris
MAN	D-manitol	Fermentation pxydation	Bleu/bleu vert	Jaune
INO	Inositol	Fermentation oxydation	Bleu/bleu vert	Jaune
SOR	D-sorbitol	Fermentation oxydation	Bleu/bleu vert	Jaune
RHA	L-ramnose	Fermentation oxydation	Bleu/bleu vert	Jaune
SAC	D-saccharose	Fermentation oxydation	Bleu/bleu vert	Jaune
MEL	D-melibiose	Fermentation oxydation	Bleu/bleu vert	Jaune
AMY	Amygdaline	Fermentation oxydation	Bleu/bleu vert	Jaune
ARA	L-arabinose	Fermentation oxydation	Bleu/bleu vert	Jaune

Tableau XI : Guide d'interprétation des réactions colorées de l'Auxacolor.

	cupule	Test	Couleur/ interpretation	
Témoin négatif	C. Neg	Contrôle négatif	bleu	
			Négatif	Positif
Tests d'assimilation des sucres	GLU	Glucose (témoin positif)	Bleu(a) ou Gris	Jaune (b) ou incolore
	MAL	Maltose		
	SAC	Saccharose		
	GAL	Galactose		
	LAC	Lactose		
	RAF	Raffinose		
	INO	Inositol		
	CEL	Cellobiose		
	TRE	Trehalose		
	ADO	Adonitol		
	MEL	Melezitose		
	XYL	Xylose		
	ARA	Arabinose		
Tests enzymatiques	HEX	Détection de l'activité N-acétyl-galactosaminidase (Hexosaminidase)	Incolore	Jaune
	POX/PRO	Détection de l'activité phénoloxydase de <i>Cryptococcus neoformans</i> (POX)	Incolore ou Gris (c)	Marron
		Détection de l'activité proline-arylamidase (PRO)		Jaune

Liste d'abréviation des antibiotiques :

KF/ CF : Cefalotine.

AMP : Ampicilline

FOX : Cefoxitine

TIM : Ticarcilline + Acide clavulanique

CTX : Cefotaxime

C : Chloramphenicol

NA : Acide nalidixique

CIP : Ciprofloxacine

IPM : Imipeneme

TEC : Teicoplanine

TE : Tetracycline

CN/ GM : Gentamicine

AK/AN : Amilacine

SXT : Cotimoxazole

TIC/ TC : Ticarcilline

PT : Pristinamycine

RD/RA : Rifampicine

E : Erythromycine

P : Penicilline

OP : Optochine

PNV : Novobiocine

FA : Acide fusidique

AMC : Amoxicilline + Acide clavulanique

Tableau XII : Valeurs critiques des diamètres des zones d'inhibition et des CMI, pour *Neisseria meningitidis*.

Antibiotiques testés	Charge du disque	Valeurs critiques des diamètres d'inhibition (mm)			Valeurs critiques des CMI ($\mu\text{g/ml}$)			commentaires
		S	I	R	S	I	R	
Pénicilline G	---	≤ 0.06	0.125-0.25	> 0.5	---	---	---	Ne pas tester de disque de pénicilline ou d'ampicilline pour <i>N.meningitidis</i> . il faut déterminer les CMI de ces 2 molécules. Une β -lactamase (très rare) est recherchée par technique chromo-génique. Interprétation pour l'ampicilline est valable pour l'amoxicilline.
Ampicilline	---	≤ 0.12	0.25-1	≥ 2	---	---	---	
Spiramycine	100 μg	≤ 1	2-4	> 4	≥ 24		≤ 19	Antibiotiques utilisé uniquement en prophylaxie.
Rifampicine	5 μg	≤ 0.5	1	≥ 2	≥ 25	20-24	≤ 19	
Chloramphénicol	30 μg	≤ 2	4	≥ 8	≥ 26	20-25	≤ 19	
Acide nalidixique	30 μg	---	---	≥ 8	---	---	< 25	La détection d'une sensibilité diminuée aux fluoroquinolones est détectée en testant un disque de NAL à l'antibiogramme. Si diamètre de NAL inférieur à 25, déterminer CMI des fluoroquinolones (OFX ou CIP)

Tableau XIII : Répartition des résultats positifs selon les mois : n= 330.

Mois	Résultats	Fréquences
Janvier	78	24%
Février	27	8%
Mars	50	15%
Avril	35	10%
Mai	68	21%
Juin	72	22%
Totale	330	100%

Tableau XIV : Répartition des prélèvements positifs selon l'aspect macroscopique : n=330.

Aspect	Clair	Citrin	Hématique	Trouble ou purulent
Nombre de prélèvement	176	24	50	80
pourcentage	53,33	7,27	15,15	24,24

Tableau XV : Répartition des prélèvements positifs selon le type de méningite : n= 330.

Aspect	Méningite à liquide Clair	Méningite à liquide Trouble ou purulent
Nombre de prélèvement	176	154
Fréquence	53,33%	46,67%

Tableau XVI : Répartition des méningites selon le sexe : n=330.

Sexe	Masculin	Féminin
Résultats	205	125
fréquence	62,12%	37,88%

Tableau XVII : Répartition des prélèvements positifs selon l'âge : n= 330.

Age	Nouveau-né	Nourrisson et enfant	Adulte
Nombre de prélèvement	36	127	167
Fréquences	10,91%	38,48%	50,61%

Tableau XVIII: Répartition des méningites selon la formule leucocytaire

Type de méningite	Méningite lymphocytaire	Méningite polynucléaire	Panaché
Nombre de prélèvement	208	114	08
Fréquences	63,03%	34,55%	2,42%

Tableau XIX: Distribution des méningites selon la positivité de la culture : n=330.

Culture	Nombre de prélèvement	Fréquence
Culture positive	22	6,67%
Culture négative	308	93,33%

Tableau XX : Distribution des méningites polynucléaires selon la positivité du prélèvement : n=114

culture	Nombre de prélèvement	Fréquence
Culture positive	18	15,79%
Culture négative	96	84,21%
Totale	114	100%

Tableau XXI : Distribution des méningites lymphocytaires selon la positivité de la culture : n= 208.

Culture	Nombre de prélèvement	fréquence
Culture positive	04	1,92%
Culture négative	204	98,08%
Totale	208	100%

Tableau XXII : Répartition des cultures positives selon le germe isolé

	Germes	Nombre	Nombre totale	Fréquence
BGN	<i>E.coli</i>	01	04	18,18%
	<i>Enterobacter cloacae</i>	01		
	<i>Serratia marcescens</i>	01		
	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	01		
Cocci Gram positif	<i>S.pneumoniae</i>	05	13	59,09%
	<i>S.aureus</i>	01		
	<i>S.epidermidis</i>	02		
	<i>S.saprophyticus</i>	01		
	<i>Streptococcus sp</i>	04		
Cocci Gram négatif	<i>Neisseria meningitidis</i>	01	01	4,55%
BK	<i>Mycobacterium tuberculosis</i>	03	03	13,63%
champignon	<i>Cryptococcus sp</i>	01	01	4,55%

Tableau XXIII : antibiogramme des enterobactéries.

Antibiotique	<i>Enterobacter clouacae</i>	<i>Serratia marcescens</i>	<i>E.coli</i>
KF	R	R	S
AMP	R	R	R
FOX	R	S	S
TIM	S	S	S
CTX	S	S	S
CAZ	S	S	S
C	S	S	R
NA	S	S	R
CIP	S	S	R
IPM	S	S	S
TC	S	S	R
GN	S	S	S
AK	S	S	S
SXT	S	S	R

Tableau XXIV: Antibiogramme de *Streptococcus pneumoniae*

Antibiotiques	S.pneumoniae	S.pneumoniae	S.pneumoniae (tupe 19 F)
PT	S	S	S
VA	S	S	S
C	S	S	S
TEC	S	S	S
SXT	S	S	S
RD	S	S	S
DA	S	S	S
E	S	S	S
TE	S	S	S
GN	R	S	S
IPM	S	S	S
AMP	S	S	S
P	S	S	R

Tableau XXV :*Streptococcus sp*

Antibiotiques	<i>Sterptococcus sp</i>	<i>Sterptococcus sp</i>	<i>Sterptococcus sp</i>	<i>Sterptococcus sp</i>
GN	R	Non tester	R	S
E	R	S	S	R
DA	R	S	S	R
TE	R	S	S	S
TEC	S	S	S	S
SXT	S	R	S	S
PT	S	S	S	S
VA	S	Non tester	Non tester	S
C	S	S	S	Non tester

RD	S	S	S	S
P	S	S	S	S
CTX	Non tester	S	S	S
IPM	Non tester	S	S	S
AMP	Non tester	S	S	S

Tableau XXVI: Antibiogramme des staphylocoques :

Antibiotiques	S.aureus	S.epidermidis	S.epidermidis	S.saprophyticus
VA	S	S	S	S
GN	S	R	S	S
SXT	S	R	S	S
CIP	S	S	S	S
RD	S	S	S	S
AK	S	Non tester	S	S
TE	S	S	S	S
C	S	S	S	S
TEC	S	S	S	S
E	R	R	R	S
FOX	S	S	S	S
DA	S	S	S	R
P	R	R	R	R
FA	S	R	R	S
PT	S	S	S	S
OX	S	R	S	S