

MPH4711

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

Université Saad Dahleb de - Blida 1 -

UNIVERSITE SAAD DAHLEB
DE BLIDA 1



Faculté de Médecine

Département de Pharmacie

LES MENINGITES BACTERIENNES
CHU DE BLIDA
ASPECT BACTERIOLOGIQUE ET RESISTANCE AUX
ANTIBIOTIQUES

MEMOIRE DE FIN D'ETUDE

Présenté en vue de l'obtention du diplôme de Docteur en Pharmacie

Session : Juin 2014

Présenté par :

BELDJOUHER Aicha

DERBALA Imane

Devant le jury :

- **Président : Pr. Bellouni.R. Professeur en Microbiologie CHU Blida**
- **Examinatrice: Dr. AZROU S. Maitre Assistante en Microbiologie CHU Blida**
- **Examinatrice : Dr. BENAMARA M. Assistante en Microbiologie CHU Blida**
- **Promotrice : Dr. BEROUAKEN S. Maitre Assistante en Microbiologie CHU Blida**

EXCERPT

REMERCIEMENTS

*On dit souvent que le trajet est aussi important que la destination.
Les six années d'étude nous ont permis de bien comprendre la signification
de cette phrase toute simple.
Ce parcours, en effet, ne s'est pas réalisé sans défis et sans soulever de nombreuses
questions pour lesquelles les réponses nécessitent de longues heures de travail.*

*A priori, on commence par rendre grâce à DIEU qui nous a donné la santé, la force
et les moyens nécessaires pour mener à terme ce travail et pour les heures de
courage, de patience et de sagesse qu'il nous a inspiré.
Que sa bénédiction et sa protection accompagnent tout nos actes dans
ce monde ici-bas.*

*On est redevables à Professeur R. Belouni, chef de service de laboratoire central de
CHU de Blida, chef de département de Pharmacie. Nous apprécions ses qualités
pédagogiques et scientifiques, son dévouement pour l'amélioration de
la qualité du travail bien fait et ses recherches enrichissantes.
Veuillez accepter nos sentiments de plus grand respect et de notre
profonde reconnaissance.*

*Nos remerciements vont droit à Dr. Berouaken, vous nous avez fait confiance en
acceptant de nous guider dans la réalisation de ce mémoire qui est d'ailleurs le
votre. Vos remarques et suggestions ont sans doute contribué à l'amélioration
de la qualité de ce travail.
Permettez- nous cher Maîtresse, de vous exprimer à travers ce travail tout notre
respect et notre profonde gratitude.*

*Membres de jury, on vous remercie pour l'honneur que vous nous faites en
acceptant de siéger dans ce jury malgré vos multiples occupations.
Trouvez ici un accomplissement satisfaisant.*

*Nous sommes reconnaissantes à Mr. Badji Y. et Mme. Mokdad S. pour l'accueil
qu'ils ont bien voulu nous réserver dans leurs officines et de nous donner
l'opportunité de vivre une expérience aussi enrichissante tout sur le plan humain
que professionnel.*

DEDICACE

Ce travail est le fruit d'une « aventure », qui n'aurait pas pu voir le jour sans le soutien de nombreuses personnes que je tiens à leur dédier ce travail.

Mes premiers mots vont à mes chers parents, sensibles au devenir de leurs enfants, pour leur sens élevé du devoir et leur souci de travail bien fait, pour leur soutien et appui moral, matériel et financier qui ne m'ont jamais fait défaut.

Puisse ALLAH m'aider à vous satisfaire d'avantage par ce modeste travail que je souhaite qu'il couronne vos sacrifices.

A ma chère sœur ZINOUBA, son mari AMAR et leur petite adorable fillette YASMINE.

A mes chères sœurs ROFEIDA et ANFEL

A mes chers frères AYOUB et IHEB

Que DIEU nous garde toujours unis par cette image de fraternité accomplie dans sa totalité.

A l'ensemble de la famille DERBALA et SAIDANI

Je suis reconnaissante à ma chère KYARA ANJANA, pour les merveilleux moments de découverte, de compréhension mutuelle et pour sa sincère amitié. Merci d'avoir décidé de faire la route avec moi, je te remercie également pour la sympathie dont tu m'as témoigné.

Mes années d'étude n'auraient pas été si mémorables sans la compagnie de mes amies BEKHTA, SAMIA, NAILA, SAMIRA et ZAHRA.

J'espère que les liens tissés par ces années seront solides et que le temps ne viendra pas à bout de cette si forte et belle amitié qui nous unit.

J'aimerais inventer un mot assez fort pour deux chères personnes que nous a réunis la pharmacie BADJI : HADJER et ALI, pour qu'elles n'aient jamais de doute à ce que je ressens pour eux.

Merci de m'avoir donné le goût de l'effort et de m'avoir appris qu'aucune vague n'est insurmontable, le temps qui passe n'efface aucun de mes souvenirs radieux avec vous, à nous d'écrire la suite.

IMEN

Dédicace

*Tout d'abord Dieu merci d'avoir me donner le courage et la patience pour
faire ce travail*

*Je dédie ce travail tout d'abord à l'homme le plus cher de ma vie qui a cru en
moi, qui était toujours sûr de mes capacités et qui a tellement rêvé de ce jour.
Je suis y arrivée papa, comme je souhaite que tu étais là pour voire tes prières
sur la terre de la réalité.*

Je t'aime papito.

*A ma très adorable maman qui était toujours là pour moi et ne m'a jamais
oublié dans ces prière; qui sans elle je ne serai jamais où je suis maintenant,
que Dieu te protège et te réserve pour moi, je n'oublierai jamais ta patience et
ton encouragement.*

*A ma deuxième mère et ma sœur aînée Nabia, merci d'avoir être aussi
généreuse avec moi.*

A mon frère passé Mohammed

*A tous mes frères et sœurs : Malika, Rabah, Cherifa, Ayoub, Fadhila et
Ibrahim qui m'ont soutenus tout au long du chemin.*

*A ma très cher sœur Khadidja qui m'a empêché de faire la mauvaise décision,
merci ma sœur, que le dieu soit avec toi à jamais. Love you sister.*

*A mon beau frère Khalifa qui a, depuis que je l'ai reconnu rendu beaucoup de
choses plus faciles pour moi et était là à mes moments de besoins*

A ma nièce Ritadj et mon neuf Abdel Ouadoud

*A mes très belles amies Bakhta Samia et Naila d'avoir être les meilleures
amies qui m'ont soutenue en mes moments de faiblesse, d'incertitude et de
chagrin.*

Vous êtes pour moi plus que sœurs, que Dieu vous protègent.

*Et certainement A mon binôme ma sœur et mon amie Imen pour être aussi
patiente avec moi, tolérer mes hauts et mes bas et être toujours avec moi
quand j'en avais besoin d'elle.*

Merci ma belle.

AICHA

TABLE DES MATIERES

Introduction

Partie Bibliographique.

Chapitre I : Généralités.....	1
I.1. Rappel anatomique.....	1
I.2. Le liquide céphalo-rachidien.....	2
I.2.1.. Définition du LCR.....	2
I.2.2. Localisation du LCR.....	2
I.2.3. Circulation du LCR.....	2
I.2.4. Source et formation du LCR.....	3
I.2.5. Evacuation du LCR.....	3
I.2.6. Absorption du LCR.....	4
I.2.7. Caractéristiques physiques et chimiques du LCR.....	4
I.2.8. Fonction du LCR.....	5
Chapitre II : Les méningites.....	6
II.1 Définition des méningites.....	6
II.2. Différentes formes des méningites et leurs étiologies.....	6
II.2.1. Les méningites purulentes.....	6
II.2.1.1. Les méningites communautaires.....	6
II.2.1.2. Les méningites nosocomiales.....	7
II.2.2. Les méningites à liquide clair.....	8
II.2.2.1. Les méningites à liquide clair virales.....	8
II.2.2.2. Les méningites à liquide clair bactériennes.....	
II.3. physiopathologie des méningites.....	9
II.4. Signes cliniques des méningites.....	11
Chapitre III : Les étiologies bactériennes responsables de méningites... 13	
III.1. <i>Neisseria meningitidis</i>	13
III.1.1. Taxonomie.....	13
III.1.2. Habitat.....	13
III.1.3. Caractères morphologiques.....	13

III.1.4. Caractères cultureux.....	13
III.1.5. Caractères biochimiques	14
III.1.6. Caractères antigéniques.....	14
III.1.7. Caractères de virulence	14
III.1.8. Pouvoir pathogène.....	14
III.1.9. Vaccination	15
III.2. <i>Streptococcus pneumoniae</i>	15
III.2.1. Taxonomie	15
III.2.2. Habitat	15
III.2.3. Caractères morphologiques.....	15
III.2.4. Caractères cultureux	16
III.2.5. Caractères biochimiques	16
III.2.6. Caractères antigéniques	16
III.2.7. Facteurs de virulence	16
III.2.8. Vaccination.....	17
III.3. <i>Haemophilus influenzae</i>	17
III.3.1. Taxonomie.....	17
III.3.2. Habitat.....	17
III.3.3. Caractères morphologiques.....	17
III.3.4. Caractères cultureux.....	17
III.3.5. Caractères biochimiques.....	18
III.3.6. Caractères antigéniques.....	18
III.3.7. Facteurs de virulence.....	18
III.3.8. Pouvoir pathogène.....	18
III.3.9. Vaccination.....	18
III.4. <i>Listeria monocytogenes</i>	19
III.4.1. Taxonomie.....	19
III.4.2. Habitat.....	19
III.4.3. Caractères morphologiques.....	19
III.4.4. Caractères cultureux.....	19
III.4.5. Caractères biochimiques.....	19
III.4.6. Caractères antigéniques.....	20
III.4.7. Pouvoir pathogène.....	20
III.5. Les staphylocoques.....	20
III.5.1. Taxonomie.....	20

III.5.2. Habitat.....	20
III.5.3. Caractères morphologiques.....	21
III.5.4. Caractères cultureux.....	21
III.5.5. Caractères biochimiques.....	21
III.5.6. Facteurs de virulence.....	21
III.5.7. Pouvoir pathogène.....	22
III.6. Les entérobactéries.....	22
III.6.1. Taxonomie.....	22
III.6.2. Habitat.....	22
III.6.3. Caractères généraux.....	22
III.7. <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	24
III.7.1. Taxonomie.....	25
III.7.2. Habitat.....	25
III.7.3. Caractères morphologiques.....	25
III.7.4. Caractères cultureux.....	25
III.7.5. Caractères biochimiques.....	26
III.7.6. Facteurs de virulence.....	26
III.7.7. Pouvoir pathogène.....	26
III.8. <i>Acinetobacter</i>.....	26
III.8.1. Taxonomie.....	26
III.8.2. Habitat.....	26
III.8.3. Caractères morphologiques.....	26
III.8.4. Caractères cultureux.....	27
III.8.5. Caractères biochimiques.....	27
III.8.6. Facteurs de virulence.....	27
III.8.7. Pouvoir pathogène.....	27
III.9. <i>Mycobacterium tuberculosis</i>	27
III.9.1. Taxonomie.....	27
III.9.2. Habitat.....	28
III.9.3. Caractères morphologiques.....	28
III.9.4. Caractères cultureux.....	28
III.9.5. Caractères biochimiques.....	28
III.10. <i>Brucella</i>	28
III.10.1. Taxonomie.....	29
III.10.2. Habitat.....	29

III.10.3. Caractères morphologiques.....	29
III.10.4. Caractères cultureux.....	29
III.10.5. Caractères biochimiques.....	29
III.10.6. Caractères antigéniques.....	30
III.10.7. Pouvoir pathogène.....	30
III.11. Leptospira.....	30
III.11.1. Taxonomie.....	30
III.11.2. Habitat.....	30
III.11.3. Caractères morphologiques.....	30
III.11.4. Caractères cultureux.....	31
III.11.5. Pouvoir pathogène.....	31
III.12. Borrelia.....	31
III.12.1. Taxonomie.....	31
III.12.2. Habitat.....	31
III.12.3. Caractères morphologiques.....	31
III.12.4. Caractères cultureux.....	31
III.12.5. Facteur de pathogénicité.....	31
Chapitre IV : La résistance des bactéries aux antibiotiques.....	32
IV.1. Définition de la résistance bactérienne.....	32
IV.2. Types de la résistance bactérienne.....	32
IV.2.1. La résistance naturelle.....	32
IV.2.2. La résistance acquise.....	32
IV.3. Mécanismes de la résistance des bactéries aux antibiotiques.....	33
IV.3.1. Synthèse d'enzymes inactivant l'antibiotique.....	33
IV.3.2. Diminution d'antibiotiques atteignant la cible.....	33
IV.3.2.1. Diminution de la perméabilité de la membrane externe.....	34
IV.3.2.2. Mécanisme d'efflux.....	34
IV.3.3. Modification de la cible.....	34
Partie pratique	
Chapitre I : Matériel.....	36
I.1. Appareillage.....	36
I.2. Matériel non biologique.....	36
I.3. Matériel biologique.....	36
I.3.1. Les prélèvements	36

I.3.1.1. Le mode de prélèvement.....	36
I.3.1.2. Conditions de conservation et de transport du prélèvement.....	38
I.3.1.3. Fiche de renseignements.....	38
I.3.2. Les souches de référence.....	38
CHAPITRE II : Méthodes.....	39
II.1. Etude macroscopique du LCR.....	40
II.2. Etude microscopique du LCR.....	41
II.2.1. Cytologie quantitative.....	41
II.2.2. Cytologie qualitative.....	41
II.3. Etude biochimique.....	42
II.3.1. Dosage de protéinorachie.....	42
II.3.2. Dosage de la glycorachie.....	43
II.3.3. Dosage de la chlorurrachie.....	44
II.4. Recherche des antigènes solubles.....	46
II.5. La culture.....	47
II.5.1. Mise en culture.....	47
II.5.2. Les milieux de culture utilisés et condition d'incubation.....	47
II.5.3. Lecture et interprétation.....	47
II.6. Identification.....	49
II.6.1. Test d'orientation.....	49
II.6.1.1. Test de la catalase.....	49
II.6.1.2. Test de l'oxydase.....	49
II.6.2. Etude de métabolisme.....	50
II.6.2.1. Galerie classique.....	50
II.6.2.2. Galerie API.....	53
II.7. Etude de la sensibilité aux antibiotiques.....	55
II.7.1. Antibiogramme par diffusion des disques.....	55
II.7.2. Les tests complémentaires.....	56
II.7.2.1. La recherche de la résistance des staphylocoques à l'oxacilline.....	56
II.7.2.2. La recherche de bêta lactamases.....	60
II.7.2.3. La détection des souches de <i>S. pneumoniae</i> de sensibilité diminuée à la Pénicilline.....	61
II.7.2.4. Recherche de bêta lactamases à spectre élargi (BLSE) chez les entérobactéries, <i>Pseudomonas aeruginosa</i> et <i>Acinetobacter spp</i>	64

II.7.3. Contrôle de qualité de l'antibiogramme.....	67
Chapitre III : Résultats.....	68
III.1. Résultats de l'étude rétrospective.....	68
III.1.1. Répartition des cas positifs selon la provenance des prélèvements.....	68
III.1.2. Répartition des cas positifs selon le sexe.....	68
III.1.3. Répartition des cas positifs selon le service.....	69
III.1.4. Répartition des bactéries isolées selon le caractère morpho-tinctorial.	69
III.1.5. Répartition des bactéries isolées par genre bactérien.....	70
III.1.6. Répartition des espèces bactériennes isolées.....	72
III.1.7. Résistance des bactéries isolées aux antibiotiques.....	75
III.2. Résultats de l'étude prospective.....	76
III.2.1. Répartition des prélèvements selon le sexe.....	76
III.2.2. Répartition des prélèvements selon le service	77
III.2.3. Répartition des prélèvements selon les résultats de l'examen microscopique....	77
III.2.4. Répartition des prélèvements selon la glycorachie.....	78
III.2.5. Répartition des prélèvements selon le taux de positivité des cultures.....	78
III.2.6. Relation entre le taux de GB et le taux de positivité des cultures.....	79
III.2.7. Relation entre la glycorachie et le taux de positivité des cultures.....	79
III.2.8. Répartition des bactéries isolées selon la coloration de Gram.....	80
III.2.9. Répartition des bactéries isolées selon le genre bactérien.....	80
III.2.10. Répartition des bactéries isolées selon l'espèce bactérienne	80
III.2.11. Antibiorésistance des principales bactéries isolées.....	81
Chapitre IV: Discussion	82
Conclusion	
Références bibliographiques	
Annexe	

LISTE DES TABLEAUX

Tableau I :	Etiologie bactérienne en fonction du contexte clinique.....	8
Tableau II :	Souches de référence utilisées au laboratoire et fournies par l'institut Pasteur Algérie.....	38
Tableau III :	Hypothèses diagnostiques en fonction de l'aspect macroscopique du LCR.....	41
Tableau VI :	Etude du LCR dans les différentes affections neurologiques.....	45
Tableau V :	La recherche de la résistance des <i>staphylococcus spp</i> à l'oxacilline et interprétation des tests (méthode de diffusion des disques).....	57
Tableau VI :	Techniques utilisées pour la recherche de la résistance à l'oxacilline....	58
Tableau VII :	Interprétation des tests de recherche de la résistance à l'oxacilline.....	59
Tableau VIII :	Recherche de <i>S.pneumoniae</i> de sensibilité diminuée aux bêtalactamines...	62
Tableau IX :	Valeurs critiques pour les CMI de <i>S.pneumoniae</i>	64
Tableau X :	Répartition des prélèvements reçus selon la glycorachie.....	78
Tableau XI :	Relation entre le taux de GB et le taux de positivité des cultures.....	79
Tableau XII :	Relation entre la glycorachie et le taux de positivité des cultures.....	79
Tableau XIII :	Répartition des cas selon le sexe dans les études similaires.....	82
Tableau XIV :	Répartition des prélèvements selon le taux de positivité des cultures dans les études similaires.....	83
Tableau XV :	Taux de positivité et réaction inflammatoire.....	83
Tableau XVI :	Cultures négatives et réaction inflammatoire.....	84
Tableau XVII :	Taux de positivité et glycorachie.....	84
Tableau XVIII :	Fréquence d'isolement de <i>Neisseria meningitidis</i> , <i>Streptococcus pneumoniae</i> et <i>Haemophilus influenzae</i>	85
Tableau XIX :	Valeurs critiques des diamètres des zones d'inhibition et des CMI pour Entérobactéries..... (Annexe III)	
Tableau XX :	Valeurs critiques des diamètres des zones d'inhibition et des CMI pour <i>Pseudomonas aeruginosa</i> (Annexe III)	
Tableau XXI :	Valeurs critiques des diamètres des zones d'inhibition et des CMI pour <i>Acinetobacter.sp</i> (Annexe III)	

Tableau XXII : Valeurs critiques des diamètres des zones d'inhibition et des CMI pour *Staphylococcus.sp*..... (Annexe III)

Tableau XXIII : Valeurs critiques des diamètres des zones d'inhibition et des CMI pour *Streptococcus pneumoniae*..... (Annexe III)

Tableau XXIV : Valeurs critiques des diamètres des zones d'inhibition et des CMI pour *Neisseria meningitidis*..... (Annexe III)

Tableau XXV : Valeurs critiques des diamètres des zones d'inhibition et des CMI pour *Haemophilus.sp*..... (Annexe III)

Tableau XXVI : Valeurs critiques des diamètres des zones d'inhibition et des CMI pour *Enterococcus.sp*..... (Annexe III)

Tableau XXVII : Liste d'abréviation des antibiotiques..... (Annexe III)

Tableau XXVIII : Fréquences des bactéries isolées en 2009..... (Annexe IV)

Tableau XXIX : Fréquences des bactéries isolées en 2010..... (Annexe IV)

Tableau XXX : Fréquences des bactéries isolées en 2011. (Annexe IV)

Tableau XXXI : Fréquences des bactéries isolées en 2012. (Annexe IV)

Tableau XXXII : Fréquences des bactéries isolées en 2013..... (Annexe IV)

Tableau XXXIII : Fréquences des bactéries isolées durant 4 mois (Janvier – Avril 2014).....
..... Annexe IV)

LISTE DES FIGURES

- Figure 01** : Méninges et espaces méningés.
- Figure 02** : Localisation du LCR (l'espace sous-arachnoïdien).
- Figure 03** : Circulation du LCR.
- Figure 04** : Ponction lombaire.
- Figure 05** : Ponction sous occipital.
- Figure 06** : Ponction intra ventriculaire.
- Figure 07** : Les étapes de l'examen cyto bactériologique du LCR.
- Figure 08** : Aspect trouble du LCR.
- Figure 09** : Aspect hématique du LCR.
- Figure 10** : Aspect xanthochromique du LCR.
- Figure 11** : Lecture de la coloration au bleu de méthylène.
- Figure 12** : Technique d'agglutination.
- Figure 13** : Lecture de la réaction d'agglutination sur latex.
- Figure 14** : Lecture de la coloration de Gram.
- Figure 15** : Lecture de la catalase.
- Figure 16** : Lecture de l'oxydase.
- Figure 17** : Galerie API 20E avant ensemencement.
- Figure 18** : Galerie API 20E après incubation.
- Figure 19** : Production de bêta lactamases chez l'*Haemophilus.sp* par la technique microbiologique (Test de trèfle).
- Figure 20** : CMI par technique E-test.
- Figure 21** : Image de synergie.
- Figure 22** : Absence de synergie.
- Figure 23** : Test de double disque.
- Figure 24** : Répartition des cas positifs selon la provenance des prélèvements (externe / interne) (2009-2013).
- Figure 25** : Répartition des cas positifs selon le sexe (2009-2014).
- Figure 26** : Répartition des cas positifs selon le service (2009-2014).
- Figure 27** : Répartition des bactéries isolées selon la coloration de Gram (2009-2014).
- Figure 28** : Répartition des genres bactériens isolés en 2009.

Figure 29 : Répartition des genres bactériens isolés en 2010.

Figure 30 : Répartition des genres bactériens isolés en 2011.

Figure 31 : Répartition des genres bactériens isolés en 2012.

Figure 32 : Répartition des genres bactériens isolés en 2013.

Figure 33 : Répartition des espèces bactériennes isolées pour l'année 2009.

Figure 34 : Répartition des espèces bactériennes isolées pour l'année 2010.

Figure 35 : Répartition des espèces bactériennes isolées pour l'année 2011.

Figure 36 : Répartition des espèces bactériennes isolées pour l'année 2012.

Figure 37 : Répartition des espèces bactériennes isolées pour l'année 2013.

Figure 38 : Répartition des prélèvements selon le sexe en 2014.

Figure 39 : Répartition des prélèvements selon le service en 2014.

Figure 40 : Répartition des prélèvements selon les résultats de l'examen microscopique en 2014.

Figure 41 : Répartition des prélèvements selon le taux de positivité des cultures en 2014.

Figure 42 : Répartition des bactéries isolées selon la coloration de Gram en 2014.

Figure 43 : Répartition des bactéries isolées selon le genre bactérien en 2014.

Figure 44 : Répartition des bactéries isolées selon l'espèce bactérienne en 2014.

LISTE DES ABRÉVIATIONS

AARN : Algerian Anti-bacterial Resistance Net work

ADN : Acide désoxyribonucléique.

ADN gyrase : Acide désoxyribonucléique gyrase.

API : Appareillage Procédés d'Identification.

ATCC : American Type Culture Collection.

BCP : Pourpre de bromocrésol.

BGN : Bacilles à Gram Négatif.

BLSE : Bétalactamases à spectre élargi.

BHIB : Brain-Heart Infusion Broth.

BK : Bacilles de Koch.

CAC : Centre Anti Cancéreux

Ca²⁺ : ion de Calcium.

Cl : chlore.

CHU : Centre Hospitalo-Universitaire.

CLSI: Clinical and Laboratory Standards Institute.

CMI: Concentration minimale inhibitrice.

° : Degré.

C: Celsius.

cm: centimètre.

DAEC : *E.coli* à adhésion diffuse.

ECB : Etude Cytobactériologique.

EARSS : European Antibiotics Résistance Surveillance System.

EHEC : *E.coli* entérohémorragique.

EPEC : *E.coli* entéropathogène.

EIEC : *E.coli* entéroinvasif.

Fc : Fragment constant.

GN : Gélose nutritive.

GOD : Glucose oxydase.

H₂S : hydrogène sulfuré.

HCO₃⁻ : bicarbonate.

IgA : Immunoglobuline A.

IgG : Immunoglobuline G.

IL 1 : Interleukine 1.

IL 6 : Interleukine 6.

IL 8 : Interleukine 8.

K⁺ : ion de Potassium.

LCD : Lysine décarboxylase.

LCR : Liquide Céphalo-Rachidien.

mEq : mili equivalent.

ml : millilitre.

mmol : mili mol

min : minute.

mm Hg : millimètre de mercure.

µm : micro mètre.

MNEC : *E.coli* responsable de méningite chez le nouveau-né.

NAD : Nicotinamide adénine dinucléotide.

NAR : Nitrate réductase.

ODC : Ornithine décarboxylase.

ORL: Oto-rhino-laryngologie.

PCO₂ : pression du dioxyde de carbone.

PLP : Protéines liant la pénicilline.

POD : Peroxyde oxydase.

RM : Rouge de Méthylène.

SN: Système nerveux.

SCN : Staphylocoque à coagulase négative.

SNC : Système nerveux central.

SNP : Système nerveux périphérique.

TCH : Hydrazide de l'acide thiofène 2 carboxylique.

TDA : Tryptophane Désaminase.

TNF: Tumor Necrosis Factor.

UPEC: *E.coli* uropathogène.

VIH : Virus d'immunodéficience humaine.

VP : Voges Proskauer.

GLOSSAIRE

Anthropozoonose: une maladie ou infection qui se transmet naturellement des animaux vertébrés à l'être humain.

Antibiotique: substance antimicrobienne d'origine biologique ou de synthèse chimique, il est capable d'inhiber la multiplication bactérienne ou de détruire d'autres microorganismes.

Antibiothérapie: est le traitement par un antibiotique.

Biotype : Ensemble de caractères biochimiques variant au sein d'une même espèce bactérienne permettant une individualisation des souches d'une même espèce.

Folliculite : est l'inflammation d'un follicule pileux.

Hydrocéphalie : est une pathologie neurologique qui se manifeste par l'augmentation du volume de liquide céphalo-rachidien.

Iatrogéniques: troubles provoqués par un traitement médical ou un médicament.

Infection nosocomiale : est une infection survenant au cours ou à la suite de la prise en charge d'un patient, à condition que l'infection ne soit ni présente, ni en incubation au moment de la prise en charge.

Méningo-encéphalite : est une pathologie du système nerveux central dont le pronostic est parfois sombre, caractérisée par un processus inflammatoire touchant le tissu cérébral associé à une réaction méningée.

Méningocèle : constitue une malformation de nature congénitale due à l'absence de la fermeture de la colonne vertébrale. Cette malformation se caractérise par l'apparition, directe sous la peau, des méninges.

Monotriche : arrangement caractéristique de flagelles chez les bactéries représentant un seul flagelle polaire

Neutropénie : un trouble du système sanguin caractérisé par une baisse du taux de granulocytes neutrophiles.

Néoplasie : est une tumeur ou une croissance anormale de nouveau tissu.

Ostéomyélite: inflammation de la moelle osseuse et du tissu osseux adjacent, causée par une infection.

Otite : L'otite est une infection ou une inflammation de l'oreille.

Pili : pluriel de pilus, est terme générique désignant deux types d'appendices de surface des bactéries : les fimbriae et les pili sexuels, également appelés pili de conjugaison.

Photophobie : est l'intolérance à la lumière.

Purpura fulminans : est une forme grave de sepsis.

Porine : est une protéine transmembranaire des bactéries permettant le passage des ions et autres petites molécules hydrophiles.

Rhinopharyngite : est une infection des voies respiratoires, et plus précisément du rhinopharynx, la cavité qui s'étend des fosses nasales jusqu'au pharynx.

Sinusite : désigne l'inflammation des muqueuses qui recouvrent l'intérieur des sinus. Les sinus sont des cavités osseuses (réparties en 4 paires) situées dans les os du visage.

Spondylite : est en fait une ostéomyélite vertébrale. Elle est très souvent associée à une inflammation du disque intervertébral adjacent : on parle alors de spondylodiscite.

Spina-bifida : est le développement incomplet de la colonne vertébrale. Il s'agit d'une malformation qui survient avant la naissance, causant la paralysie et la perte de sensibilité des membres inférieurs.

Sinus veineux: des canaux localisés dans la dure-mère dont la fonction est de drainer le sang veineux du cerveau.

Résumé

Afin d'étudier le profil épidémiologique et bactériologique des méningites bactériennes et d'estimer le profil de résistance des germes isolés, nous avons réalisé une étude au niveau de CHU de Blida.

L'étude a porté sur l'examen cyto-bactériologique du liquide céphalo-rachidien ; et s'est répartie en deux volets, une étude rétrospective étalée sur une période de cinq ans (2009 -2013) et une étude prospective ayant duré 04 mois (de Janvier 2014 à Avril 2014).

Les analyses microbiologiques réalisées ont permis d'isoler 331 souches bactériennes dans l'étude rétrospective et 20 souches dans l'étude prospective, dont les bactéries à Gram négatif dominant.

On constate que *Staphylococcus sp* et *Pseudomonas aeruginosa* viennent en tête des étiologies des méningites bactériennes , quant au principaux germes responsables de méningites communautaires (*Neisseria meningitidis* , *Streptococcus pneumoniae* et *Haemophilus influenzae*) isolés à un taux faible .

L'étude de l'antibiorésistance montre un taux élevé d'entérobactéries productrices de bêta-lactamase à spectre élargi et les staphylocoques méticillinorésistant.

Les méningites bactériennes sont des infections graves. La connaissance de la nature, la fréquence et la sensibilité des bactéries responsables permet d'améliorer la prise en charge thérapeutiques de ces infections.

Mots clés: LCR, Méningites, Résistance.

Abstract

Our study was a retrospective study over a period of 05 years, from 2009 to 2013 and prospective study carried out in the laboratory of Microbiology, at the university hospital center of Blida for the purpose of identifying the epidemiological and bacteriological profile of bacterial meningitis.

During the study period, total of 331 strains bacteria at the retrospective study and 20 strains bacteria were isolated of cerebral spinal fluid.

We found that *Staphylococcus sp* and *Pseudomonas aeruginosa* were the most frequently isolated in bacterial meningitis while the main germs responsible of communal meningitis (*Neisseria meningitidis*, *Streptococcus pneumoniae* and *Haemophilus influenzae*) were less frequent.

The antibio-resistance evaluation shows a high rate of enterobacteriaceae that produces extended spectrum betalactamases (ESBL) and *Staphylococcus* meticillino resistant.

Bacterial meningitis are very serious infections. Knowing the nature, the frequency and the sensibility of the responsible bacteria help to improve the therapy.

Key words: LCR, Meningitis, Resistance.

Introduction

Introduction

Une méningite est un processus inflammatoire généralement d'origine infectieuse, liée à l'invasion du liquide céphalo-rachidien (LCR) par un micro-organisme qui s'y développe, elle est le plus souvent d'origine virale ou bactérienne, les autres causes (fongiques, parasitaire...) sont beaucoup moins fréquentes.

Les méningites virales sont généralement bénignes, le rétablissement est le plus souvent spontané.

Les méningites bactériennes sont graves, constituent un problème de santé publique vu qu'elles sont responsables de séquelles majeures et d'une lourde mortalité.

Les méningites bactériennes constituent une **urgence médicale diagnostique et thérapeutique**.

C'est là où apparaît l'importance du laboratoire de microbiologie dans la recherche des étiologies, leur identification et l'étude de leurs profils de résistance aux antibiotiques.

Les méningites bactériennes ont fait l'objet de très nombreuses études antérieures tant sur le plan épidémiologique, clinique que du traitement ou du pronostic.

Notre étude vise à détecter le lien existant entre les constantes biologiques du LCR et la positivité des cultures, définir les germes fréquemment incriminés et leurs phénotypes de résistance.

La connaissance de la nature, la fréquence et la sensibilité des bactéries responsables de méningites permet d'améliorer la prise en charge thérapeutiques de ces infections.

Partie
Biogéographique

Chapitre I

Généralités

Chapitre I: Généralités

I.1. Rappel anatomique :

Le système nerveux (SN) est constitué de système nerveux central (SNC) et de système nerveux périphérique (SNP).

Le SNC est constitué de haut en bas, par l'encéphale (cerveau, tronc cérébral et cervelet) prolongé par la moelle épinière. (Arnaud.C, 2004)

L'axe cérébrospinal est entièrement enveloppé par des enveloppes membraneuses qui se disposent concentriquement et que l'on désigne sous le nom générique de **méninges**, elles sont interposées entre l'os et le tissu nerveux (le cerveau n'est pas en contact direct avec les os de la boîte crânienne). Le mot « méninge » provient du grec et signifie « recouvrir ».

Ces membranes péri -nerveuses sont au nombre de trois et se superposent dans l'ordre suivant:

- En dehors : une membrane fibreuse rigide, qui entoure le cerveau et la moelle épinière appelée **dure-mère**.
- En dedans: une membrane cellulo-vasculaire appelée **pie-mère**, il s'agit d'une fine membrane adhérant fortement à la surface du cerveau.
- Entre les deux : une membrane séreuse remarquable par sa minceur appelée **arachnoïde**, elle prend l'apparence d'une toile d'araignée, son nom provenant du grec « Arachné » qui signifie araignée.

Ces enveloppes délimitent des espaces :

-L'espace **extra-dural** compris entre le périoste et la dure-mère.

-L'espace sous-dural situé entre la **dure-mère** et l'arachnoïde.

-L'espace **sus-dural** situé entre l'arachnoïde et la pie-mère. (Bellouni.R et al, 2000)

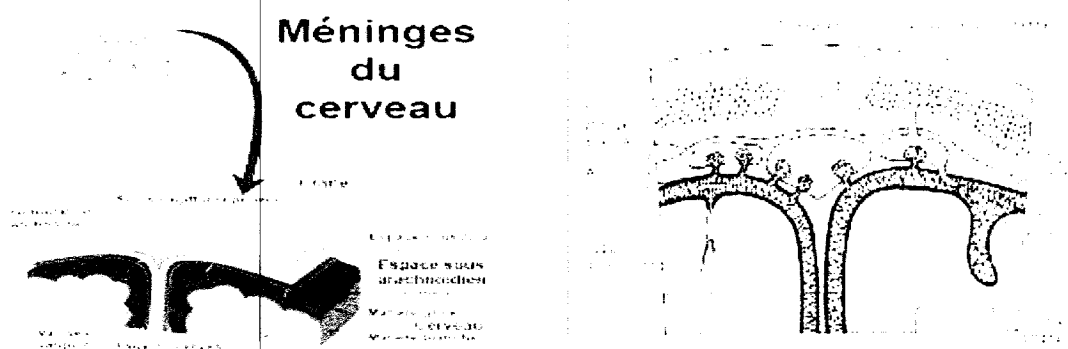


Figure 01: Méninges

(<http://www.docteurcliv.com/encyclopedie/meninges.aspx>)

I.2. Le liquide céphalo-rachidien :

I.2.1. Définition du LCR :

Le LCR est un liquide biologique transparent (en eau de roche) dans lequel baignent le cerveau et la moelle épinière.

I.2.2. Localisation du LCR :

Le LCR occupe deux grands compartiments du SNC : les ventricules cérébraux (ventricules latéraux, III^{ème} et IV^{ème} ventricules) et les espaces sous-arachnoïdien.

En permanence des cellules spécialisées de l'encéphale au niveau du plexus choroïde, sécrètent le LCR, celui-ci descend dans les ventricules puis une proportion minime continue dans la moelle, la majeure partie passant dans le compartiment méningé par des orifices.

(Pauline.D, 2007)

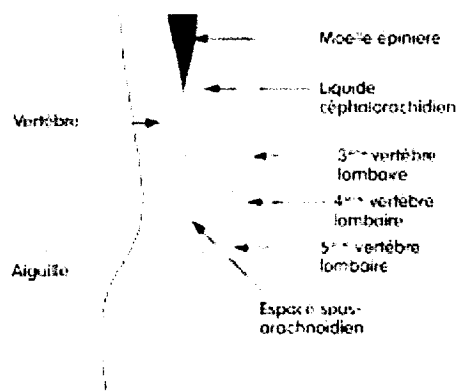


Figure 02: Localisation du LCR (l'espace sous-arachnoïdien).

(http://www.mipsep.org/mv/sep_pl.php)

I.2.3. Circulation du LCR :

Le LCR sécrété va se drainer d'abord par le trou de Monro dans le III^{ème} ventricule, ensuite par l'intermédiaire de l'aqueduc de Sylvius, atteindre le IV^{ème} ventricule.

Du IV^{ème} ventricule, le LCR gagne à la fois la grande citerne par l'intermédiaire du trou de Magendie et les citernes périphériques par l'intermédiaire des trous de Luschka latéraux.

Le LCR est résorbé par les villosités arachnoïdiennes. (Bellouni.R et al, 2000)

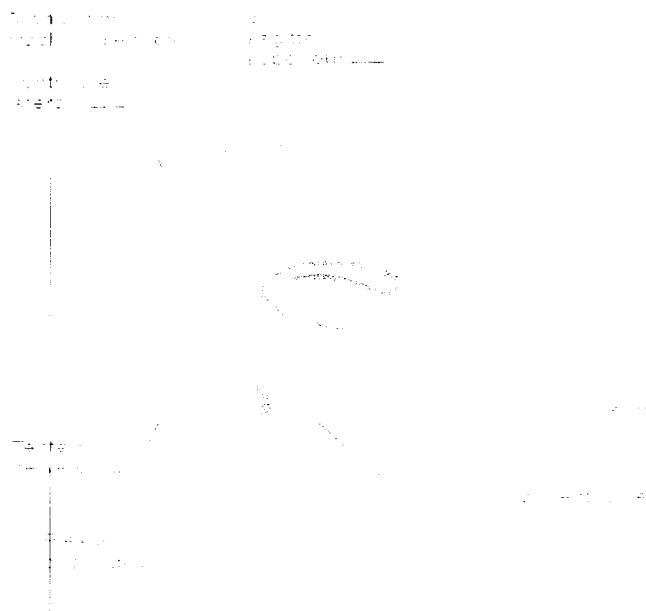


Figure 03: Circulation du LCR.

(http://www.uvp5.univparis5.fr/Neurophysiologie_UPMC/2007-neurophysio-LCR)

I.2.4. Source et formation du LCR :

Le LCR est un liquide qui se renouvelle constamment, sa formation et sa composition résultent simultanément de la filtration plasmatique au travers des capillaires choroïdiens (par dialyse aux dépens des vaisseaux méningo-encéphaliques au niveau des plexus choroïde) et d'une sécrétion nécessitant un transport actif.

La production du LCR serait peu influencée par les variations de pression intra crânienne ; cependant une obstruction chronique provoquant une hydrocéphalie induirait une diminution de la résorption du LCR par atrophie des plexus choroïdes et diminution de production en phase terminale. **(Pauline.D, 2007)**

I.2.5. Evacuation du LCR :

Le LCR subit une véritable circulation et s'écoule très lentement dans les différents lacs de la base qui jouent le rôle de réservoir, puis il passe dans les espaces sous-arachnoïdiens médullaires et cérébraux qui ne sont qu'un stade du cycle d'écoulement du liquide qui se fait par deux voies:

- La voie veineuse : l'évacuation se fait par les minuscules villosités arachnoïdiennes qui se prolongent dans les parois de la dure-mère.

- La voie lymphatique: l'arachnoïde forme une gaine autour des nerfs crâniens et par l'intermédiaire de ces gaines péri-neurales il y a passage du liquide dans les lymphatiques. (C.Arnaud, 2004)

I.2.6. Absorption du LCR :

Le LCR est principalement résorbé par les sinus veineux et les veines cérébrales localisées au niveau des villosités arachnoïdiennes où l'absorption est unidirectionnelle (du LCR vers le sang) et pour une faible quantité, par les vaisseaux veineux et lymphatiques situés autour de la racine des nerfs rachidiens et des deux premiers nerfs crâniens.

Le LCR peut également pénétrer le parenchyme cérébral quand la pression intra ventriculaire est augmentée, et être, de ce fait, absorbé par les vaisseaux sanguins cérébraux.

Il existe un seuil de pression (20 à 40 mm d'eau chez l'homme) à partir duquel l'absorption commence. Lors de conditions pathologiques, l'accumulation de grandes particules (protéines, leucocytes par exemple) peut altérer l'absorption et ainsi entraîner une hydrocéphalie. (D.Pauline, 2007)

I.2.7. Caractéristiques physiques et chimiques du LCR :

Le volume du LCR est approximativement 120 à 140 ml chez l'adulte, 100 ml chez l'enfant et 50 ml chez le nourrisson.

Environ 0,5 ml du LCR est produit chaque minute et son renouvellement nécessite 4 à 6 heures.

La composition du LCR est différente de celle du plasma :

- le pH est plus acide (7,33) dans le LCR que dans le plasma parce que la pCO₂ y est plus élevée.

- les concentrations de protéines, glucose, et K⁺ sont plus basses dans le LCR que dans le plasma.

- le LCR ne comporte que 0,42 +/- 0,05 g/l de protides et une teneur en glucose égale à 50 à 75% de la glycémie (Glucose : 2,7 à 4,1 mmol/l) alors que la concentration de Cl⁻ y est plus élevée 120 à 130 mEq/l.

- le HCO₃⁻ est le principal tampon dans le LCR. Sa concentration s'élève en cas d'acidose respiratoire.

- la concentration de Ca²⁺ dans le LCR est identique à la concentration de Ca²⁺ dans le plasma.

La pression du LCR mesurée par ponction lombaire atteint 10 mm Hg (13 cm d'eau) chez un sujet en position horizontale. (Laurent. B, 2005)

I.2.8. Fonction du LCR :

- Dans les premiers stades de la vie embryonnaire, en l'absence de toute barrière hémato-méningée, le LCR a une importante fonction nutritionnelle.
- Chez l'adulte, le LCR possède de multiples fonctions :
 - absorbe et amortit les mouvements ou les chocs qui risqueraient d'endommager le cerveau.
 - module les variations de la pression intracrânienne en adaptant son volume selon les changements des composants intra-crâniens.
 - transport de métabolites et de nutriments.
 - excrétion des déchets du métabolisme cellulaire.
 - protection contre les infections , il possède une certaine activité antibactérienne car il contient les médiateurs de l'immunité humorale et cellulaire.
 - Il participe également aux fonctions endocriniennes en tant que médiateur dans le transport de neuro-hormones. **(D.Pauline, 2007)**

Chapitre II

Méningites

Chapitre II : Les méningites

II.1. Définition des méningites :

Les infections du système nerveux central peuvent être de deux ordres. Elles peuvent toucher uniquement les méninges, en provoquant une **méningite**, ou concerner le parenchyme cérébral lui-même, et donner soit de véritables abcès, soit des infections beaucoup plus diffuses appelées encéphalites. (**Rapport Inserm, 1996**)

Une méningite est un processus inflammatoire généralement d'origine infectieuse (bactérienne, viral ou parasitaire) atteignant les méninges et entraînant des modifications des constantes biologiques du liquide céphalo-rachidien (LCR). (**Lyon.G, 2000 ; Leib.SL, 1999**)

Les méningites bactériennes ont toujours constitué un important problème de santé publique, non seulement parce qu'elles surviennent par épidémie, mais également en raison de la forte mortalité qui leur est associée. Malgré les progrès de l'antibiothérapie, cette mortalité reste de l'ordre de 10 à 30 %, selon l'étiologie. (**Rapport Inserm, 1996**)

Tous les ans, on estime à un million le nombre de cas de méningite survenant dans le monde, dont 200000 sont fatals. (<http://www.who.int/emc>)

II.2. Différentes formes des méningites et leurs étiologies:

En pratique, on subdivise les méningites infectieuses en deux groupes en fonction de l'aspect macroscopique du LCR :

II.2.1. Les méningites purulentes :

Elles sont les plus fréquentes et représentent surtout les méningites bactériennes. C'est une suppuration diffuse à pyogènes des méninges s'accompagnant d'une turbidité du LCR qui contient des polynucléaires altérés en grand nombre. (**Fauchere. J, 1990 ; Julie L, 2006**)

Les méningites purulentes constituent une urgence médicale majeure, touchant avec prédilection les enfants. (**Julie L, 2006**)

Les méningites purulentes peuvent être classées en deux groupes, les méningites communautaires et les méningites nosocomiales. (**Fauchere. J, 1990**)

II.2.1.1. Les méningites communautaires :

Trois sous-groupes en fonction de l'âge des sujets chez lesquels elles surviennent.

- ✓ **Les méningites néonatales** sont habituellement causées par :
 - Des entérobactéries, principalement *Escherichia coli* K1.
 - *Listeria monocytogenes* qui réalise habituellement une forme généralisée avec atteinte méningée.
 - *Streptococcus agalactiae* (Streptocoque du groupe B).

✓ **Les méningites du nourrisson** sont causées essentiellement par trois espèces bactériennes responsables d'infections ORL :

-*Neisseria meningitidis*.

-*Streptococcus pneumoniae*.

-*Haemophilus influenzae* (type b surtout) dont la prévalence tend à diminuer en raison de la mise en place d'une politique vaccinale depuis le début des années 1990 et dans les années 2000 en Algérie.

✓ **Les méningites de l'enfant et de l'adulte** peuvent être causées par n'importe quelle espèce bactérienne, mais trois espèces sont isolées avec une fréquence relativement plus élevée :

-*Neisseria meningitidis* responsable classiquement de méningite chez l'enfant d'âge scolaire et le jeune adulte.

-*Streptococcus pneumoniae*, qui est retrouvé à tous les âges et dont il faut souligner l'émergence de souches de sensibilité diminuée aux bêta-lactamines.

-*Listeria monocytogenes* impliquée dans les méningites de l'adulte de plus de 50 ans et aussi fœto-maternelles. Cette espèce provoque, soit une méningite suppurée, soit plus volontiers une méningo-encéphalite ; l'immunodépression joue un rôle important dans la survenue de ce type d'infection. (Fauchere. J, 1990)

II.2.1.2. Les méningites nosocomiales :

Les méningites nosocomiales sont des méningites iatrogéniques. Elles sont en général consécutives à une intervention neurochirurgicale, à la mise en place d'une dérivation du liquide céphalorachidien et plus exceptionnellement à une anesthésie péridurale, une ponction lombaire ou ventriculaire iatrogène, encéphalographie ou myélographie.

Les staphylocoques (*S.aureus* et surtout Staphylocoque à coagulase négative), les bacilles à Gram négatif non fermentaires (*Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa*), et les entérobactéries dites VP+ (*Klebsiella*, *Enterobacter*, *Serratia*) sont le plus souvent rencontrés dans les méningites iatrogènes. (Benoit.V et al, 2004)

Tableau I : Etiologie bactérienne en fonction du contexte clinique.

Contexte clinique	Espèces le plus souvent en cause
Méningites communautaires : - nouveau-né. - nourrisson et enfant (au-delà de l'âge de 3 à 5 mois). - enfant > 5 ans et adulte.	<i>Streptococcus agalactiae</i> , <i>Listeria monocytogenes</i> , <i>Escherichia coli</i> Pneumocoque, Méningocoque, <i>Haemophilus influenzae</i> Pneumocoque, Méningocoque
Méningites neurochirurgicales.	<i>Staphylococcus aureus</i> ou Staphylocoques à coagulase négative, <i>Propionibacterium spp</i> , bactéries corynéformes, Pneumocoque, Entérobactéries, <i>Pseudomonas aeruginosa</i> et apparentés
Méningite des immunodéprimés.	<i>Listeria monocytogenes</i> , Entérobactéries, autres bactéries diverses, champignons.

Rémic, **Référentiel en microbiologie médicale (bactériologie et mycologie)**. 2^{ème} édition SFM, par le groupe Rémic de la société française de microbiologie. France 2004. P : 41.

II.2.2. Méningite à liquide clair correspondent à une inflammation des méninges se traduisant par une hypersécrétion du liquide céphalo-rachidien (LCR) d'aspect clair. Souvent synonymes de méningites lymphocytaires, elles répondent à des étiologies variées, notamment infectieuses. (SoumarE.M et al, 2005)

Elles sont causées par des virus, des bactéries, ou des champignons (*Cryptococcus neoformans* et *Candida albicans*). (Fauchere. J, 1990)

II.2.2.1. Les méningites à liquide clair virales :

Sont dues essentiellement aux Echovirus (les sérotypes 30 et 33 ont un net tropisme méningé et sont très épidémiques) et Coxsackie virus qui représentent à eux seuls près de 85 % des virus isolés du LCR.

Le virus ourlien occupe la troisième place par ordre de fréquence d'isolement dans le LCR ; la méningite ourlienne peut être primitive ou secondaire à la parotidite. (Fauchere. J, 1990)

II.2.2.2. Les méningites à liquide clair bactériennes :

Certaines espèces bactériennes sont susceptibles de provoquer des méningites à liquide clair. Il s'agit principalement du bacille de la tuberculose, moins fréquemment des leptospires, des listéries, des brucelles, le tréponème pâle (à la phase secondaire de la syphilis). (Fauchere. J, 1990)

II.3. Physiopathologie des méningites :

Pour développer une méningite, la bactérie doit être capable d'envahir le LCR, de s'y multiplier et d'y produire une inflammation. (Bruneel. F et al, 2000)

a-Voies d'invasion des méninges :

Les voies d'invasion des méninges peuvent être directes ou indirectes :

- **Inoculation indirecte :**

- L'infection des méninges se fait le plus souvent par voie hématogène à partir d'un foyer infectieux situé à distance, en particulier de la sphère naso-oro-pharyngée (rhinopharyngite, otite aigue ou chronique, sinusite) dans ce cas, les germes incriminés sont *Neisseria meningitidis*, *Streptococcus pneumoniae*, *Haemophilus influenzae* sérotype b. (Lyon.G, 2000 ; Bellouni.R, 2000)

- Le foyer infectieux original peut être également intestinal ou génital (cas d'infection materno-fœtales) et déterminer particulièrement chez le nouveau-né des méningites purulentes à Streptocoque du groupe B, *Listeria monocytogenese* et *Escherichia coli*.

- Il peut s'agir également d'un foyer pulmonaire, pleural, endocarditique, ou d'un foyer osseux en contact étroit avec les méninges (ostéomyélite crânienne ou vertébrale). Dans ce cas les germes isolés le plus souvent sont *Mycobacterium tuberculosis* et *Staphylococcus aureus*.

La méningite est donc précédée ou accompagnée d'une bactériémie. (Bellouni.R, 2000)

- **L'inoculation peut être directe lors :**

- De manœuvres instrumentales ou d'interventions neurochirurgicales dans le cas des méningites iatrogéniques, dans ce cas sont les germes de l'hospitalisme infectieux qui sont habituellement incriminés : Les Staphylocoques (*S.aureus* et surtout les Staphylocoques à coagulase négative), *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeroginosa*, entérobactéries VP+. (Fauchere. J, 1990)

- De lésions traumatiques : traumatisme crânien avec la brèche dans la dure -mère, fracture de la base du crane ou du rachis .Dans ce cas, la brèche ostéoméningée laisse fuir du LCR vers l'extérieur ou met en communication les méninges avec la sphère ORL (méningites à *Streptococcus pneumoniae*). (Benoit.V et al, 2004)

- Des malformations du SNC ou de ces enveloppes ; par exemples, l'hernie d'un sac méningé contenant du LCR et du tissu nerveux peut être fistulisée et laisse donc s'écouler du LCR (spina bifida lombo-sacrée). Dans ce cas, les germes de la flore intestinale qui sont à l'origine de l'infection : *E. coli*, *Klebsiella.spp*, *Enterobacter.spp*, *Proteus.spp*. (Benoit.V et al, 2004)

b-Colonisation de muqueuse et passage dans le LCR :

La première étape réside dans la colonisation de la muqueuse de l'oropharynx par des bactéries devenant, dans certaines circonstances encore méconnues, invasives (essentiellement pneumocoque, méningocoque et *Hæmophilus*). Celle-ci est facilitée par plusieurs mécanismes : pili à la surface des bactéries (méningocoque, *Hæmophilus*) favorisant la fixation à l'épithélium, polysaccharide de la capsule (pneumocoque, *Hæmophilus*), synthèse de protéases détruisant les IgA sécrétoires.

On assiste ensuite à une phase de bactériémie prolongée, favorisée par l'encapsulation qui permet aux bactéries d'échapper au complément.

Les méninges sont alorsensemencées par voie hématogène et le LCR est envahi, par franchissement de la barrière hémato méningée, par deux mécanismes principaux : directement au niveau de l'endothélium des capillaires méningés ou par franchissement au niveau des plexus choroïdes. Les mécanismes impliqués dans la spécificité des bactéries pour la barrière hémato méningée et dans son franchissement sont mal connus. (Bruneel. F, 2000)

NB : Dans le cas des méningites par inoculation direct, il n'y a pas d'étape de colonisation, le germe se trouve directement dans le LCR.

c-Inflammation méningée et altération de la barrière hématoencéphalique :

La prolifération des micro-organismes dans le LCR est favorisée par la faiblesse des défenses immunitaires (concentrations faibles d'immunoglobulines et de complément). En effet les mécanismes de défense de l'hôte au niveau cérébral sont inefficaces pour éliminer les pathogènes. (Nathan. B.R, 2000)

Sous l'influence de plusieurs facteurs de virulence des bactéries (lipopolysaccharide, peptidoglycane, acide techoïque), les macrophages des méninges synthétisent in situ des cytokines, essentiellement IL-1 et TNF mais aussi IL-6 et IL-8. Ces cytokines vont induire l'expression de plusieurs adhésines à la surface des polynucléaires neutrophiles et des cellules endothéliales des veinules méningées, ce qui aboutit à l'adhérence des polynucléaires aux cellules endothéliales, puis à l'afflux des polynucléaires dans le LCR. (Bruneel. F, 2000)

On assiste ensuite à l'altération de la barrière hématoencéphalique qui relève de plusieurs mécanismes : diminution de son étanchéité médiée surtout par l'IL-1 en synergie avec le TNF, favorisant le relâchement des jonctions serrées des capillaires cérébraux, libération par les polynucléaires activés in situ par les cytokines de plusieurs médiateurs. (Bruneel. F, 2000)

La perméabilité augmentée de la barrière hématoencéphalique permet une exsudation d'albumine responsable de l'hyperprotéinorachie observée en clinique, et favorise l'afflux de cellules de l'inflammation qui vont contribuer à majorer la réaction inflammatoire. C'est la réaction inflammatoire de l'hôte plutôt que l'agent pathogène lui-même qui est responsable des lésions du parenchyme cérébral. (Bruneel. F, 2000)

d-Événements tardifs :

Les événements qui surviennent ultérieurement sont la conséquence de l'afflux des polynucléaires et des altérations de la barrière hématoencéphalique.

L'hypertension intracrânienne est essentiellement en relation avec l'œdème cérébral, mais peut aussi compliquer une hydrocéphalie et/ou une augmentation du débit sanguin cérébral.

L'œdème cérébral est plurifactoriel : vasogénique (altération de la barrière hématoencéphalique), directement cytotoxique (substances et médiateurs synthétisés par les bactéries et les polynucléaires neutrophiles), interstitiel (par défaut de résorption du LCR au niveau des villosités arachnoïdiennes pouvant conduire à une hydrocéphalie).

Enfin, l'inflammation méningée peut aboutir à de profondes altérations vasculaires sur les vaisseaux méningés, réalisant une véritable vascularite participant à l'anoxie cérébrale et aux altérations du débit sanguin cérébral. (Bruneel. F, 2000)

L'issue fatale des méningites bactériennes est principalement liée aux complications neurologiques. (Lyon.G, 2000)

I.4. Signes cliniques des méningites :

Le début est généralement brutal, aigu, sans prodromes. On observe l'association d'un syndrome infectieux, d'un syndrome méningé et d'un syndrome rachidien.

- **Le syndrome infectieux :**

Il se caractérise par :

-Une fièvre élevée constamment supérieure à 38°C (de l'ordre de 39°-40°C).

-Des signes fonctionnels d'intensité variable : frissons, sueurs, instabilité hémodynamique, et parfois des arthralgies.

-Parfois une discrète splénomégalie.

- **Le syndrome méningé :**

Il se caractérise par :

- Des céphalées intenses : c'est le signe le plus constant chez l'enfant, elles sont atroces, rebelles aux antalgiques, diffuses ou avec prédominance frontale ou occipitale, majorées par les mouvements, le bruit ou la lumière et irradiant vers le rachis.
- Des vomissements : signe capital du syndrome méningé. Ils sont précoces, faciles en jet, explosifs, sans rapport avec les repas.
- Une photophobie.

- **Le syndrome rachidien :**

Il se manifeste par une contracture douloureuse du rachis.

A l'examen clinique la contracture est mise en évidence par la recherche de la raideur de la nuque, du signe de Kernig et du signe de Brudzinski.

- La raideur de la nuque : c'est le maître symptôme de l'atteinte méningée. La flexion de la tête se heurte à une résistance invincible et douloureuse, alors que les mouvements de latéralité restent possibles. (ADAMS, B et all, 1994)
- Signe de Kernig : résistance douloureuse lors de l'extension passive du membre inférieur.
- Signe de Brudzinski: flexion involontaire des membres inférieurs lorsqu'on tente de fléchir la nuque.

Capitolo

Indicazioni

Chapitre III : Les étiologies bactériennes responsables de méningites :**III.1. NEISSERIA MENINGITIDIS**

Neisseria meningitidis est un agent infectieux isolé dans le LCR, dans le sang, les liquides articulaires qui peut entraîner de graves infections généralisées voire le décès du patient.

(Nguyen.C, 2012)

III.1.1. Taxonomie :

Anciennement appelé *N.intracellularis*, le méningocoque appartient à la famille des *Neisseriaceae*, au genre *Neisseria* et c'est l'espèce *meningitidis*. (Avril J.L et al 1992)

III.1.2. Habitat :

Neisseria meningitidis est spécifiquement humaine, on ne la retrouve pas dans la nature, elle est présente dans le rhinopharynx d'un grand nombre de sujets (porteurs sains). (Nauciel.C et al, 2005 ; Kante.F, 2008)

Elle est portée de façon asymptomatique par 3 à 10 % de la population.

La fréquence du portage est variable selon l'âge, il est peu fréquent chez les enfants de moins de 5 ans, extrêmement fréquent chez les adolescents et les jeunes adultes et plutôt rare chez les adultes. (Nguyen.C, 2012)

La transmission est strictement humaine par le biais des porteurs sains ou malades.

Elle se fait par voie aérienne (sous forme de gouttelettes de salive) ou par contact direct par le biais de sécrétions respiratoires générées par la toux ou l'éternuement ou encore la parole d'un sujet infecté, elle peut être rapide dans les collectivités (milieux militaires ou scolaires). (Nguyen.C, 2012 ; Nauciel.C et al, 2005)

III.1.3. Caractères morphologiques :

Il se présente sous forme de diplocoque à Gram négatif encapsulé ; les deux faces opposées sont légèrement bombées, chaque coque a 0,8 à 1 micron de diamètre.

Dans le liquide céphalo-rachidien, il se trouve dans la position intracellulaire. On le trouve aussi à l'extérieur quand il y a lyse des polynucléaires neutrophiles.

En milieu de culture la morphologie du méningocoque change, on observe des éléments arrondis, non encapsulés de petite et de grande taille, pouvant être isolés en deux ou en tétrade. (Kante .F, 2008)

III.1.4. Caractères cultureux :

Le méningocoque est un germe aérobic strict, Il pousse à une température optimale étant de 35°C. Le PH quant à lui varie entre 7,4 et 7,6. Sa croissance est favorisée par l'humidité et une atmosphère enrichie en CO₂. (Nauciel.C et al, 2005)

Le méningocoque pousse mal sur les milieux de culture usuels gélose nutritive (GN), il pousse bien sur gélose au sang cuit, incubé à 35°C, en atmosphère enrichie de 5 % de CO₂.

Les cultures sont positives en 18 heures et donnent des colonies grisâtres, opaques, à surface lisse, les formes capsulées forment des colonies mucoïde. (Avril J.L et al 1992)

III.1.5. Caractères biochimiques :

Il est oxydase positif, catalase positif et gamma-glutamyl-transférase positif.

Il acidifie le glucose et le maltose pour se développer.

Les nitrites sont réduits par 60% des souches. (Avril J.L et al 1992)

III.1.6. Caractères antigéniques :

L'antigène le plus important est le polysaccharide capsulaire, appelé polysaccharide.

La nature du polysaccharide de la capsule permet de distinguer 13 sérogroupes, les plus fréquents sont : A, B, C, W135, X, Y (90% des infections sont provoquées par les sérogroupes A, B et C), les autres (29E, Z, H, I, K, L) sont isolés plus rarement.

Les sérogroupes de *Neisseria meningitidis* ont été subdivisés en sérotypes. Ceux-ci correspondent à des spécificités antigéniques portées par 5 protéines de la membrane externe.

(Avril J.L et al 1992 ; Kante .F, 2008)

III.1.7. Facteurs de virulence :

Les facteurs de pathogénicité du méningocoque sont représentés par :

- **Adhésines :**

Elles permettent l'adhésion de la bactérie aux muqueuses et sont donc impliqués dans le processus de colonisation. La principale adhésine est constituée par les pili, mais des protéines de la membrane externe interviennent également.

- **Capsule :**

Si la bactérie franchit la muqueuse, la capsule lui permet de résister à l'action du complément et à la phagocytose. Les anticorps dirigés contre la capsule (spécifiques de séro groupe) permettent au complément d'exercer une action bactériolytique. Les anticorps anti capsulaires sont donc protecteurs. Ils peuvent apparaître en réponse à un portage au niveau du rhinopharynx ou à une vaccination.

- **Lipopolysaccharides :**

Ils sont impliqués dans les phénomènes de choc qui peuvent survenir au cours des infections à méningocoques et, en particulier, dans le purpura fulminans. (Nauciel.C et al, 2005)

III.1.8. Pouvoir pathogène :

Chez un petit nombre d'individus, la bactérie franchit la barrière muqueuse et gagne les méninges par voie hématogène, ou bien produit une septicémie.

La méningite à méningocoque survient surtout chez l'enfant et l'adulte jeune. Elle s'accompagne parfois d'un purpura pétéchial. L'évolution peut être rapide, d'où une mortalité de l'ordre de 5 à 10%.

La maladie peut provoquer des épidémies dans certaines collectivités (en milieu scolaire ou militaire). (Nauciel.C et al, 2005)

III.1.9. Vaccination :

Il existe actuellement deux types de vaccins: les vaccins polysaccharidiques non conjugués et les vaccins polysaccharidiques conjugués, qui sont efficaces contre les quatre souches: A, C, Y, et W135.

Les vaccins polysaccharidiques n'induisent pas de mémoire immunologique et ont peu ou pas d'effet sur le portage au niveau du nasopharynx.

Le vaccin polysaccharidique conjugué permet d'améliorer les réponses vaccinales. La capsule polysaccharidique a été conjuguée à une protéine porteuse devenant ainsi un antigène T-dépendant capable d'induire une réponse immune dès l'enfance et de produire une immunité mémoire.

En ce qui concerne le séro groupe B, aucun vaccin n'existe actuellement car, contrairement aux autres sérogroupes, l'utilisation d'un polysaccharide de capsule comme antigène n'est pas possible. (Celine .L, 2009)

III.2. *STREPTOCOCCUS PNEUMONIAE*

III.2.1. Taxonomie :

Anciennement appelé *Diplococcus pneumoniae*, le pneumocoque appartient à la famille des *Streptococcaceae*, au genre *Streptococcus* et c'est l'espèce *pneumoniae*. (Agnes .A, 2007)

III.2.2. Habitat :

S. pneumoniae est une bactérie commensale qui colonise les muqueuses de l'homme. Son habitat principal est constitué par le rhino-pharynx et pratiquement tout individu a été en contact avec des Pneumocoques avant l'âge de 2 ans. C'est un germe essentiellement humain rarement isolé chez les animaux et transmis par voie aérienne. (Agnes .A, 2007 ; Avril J.L et al 1992)

III.2.3. Caractères morphologiques :

Cocci à Gram positif, généralement capsulée d'allure lancéolée (en flamme de bougie), typiquement groupée par deux (diplocoque) ou parfois de manière isolée ou en chaînette. Quand il est en voie de lyse, il peut se présenter sous forme plus ou moins pseudo-bacillaire. (Agnes .A, 2007)

III.2.4. Caractères culturels :

S. pneumoniae est une bactérie anaérobie aéro-tolérante, une atmosphère anaérobie est préférable mais non indispensable. Il pousse à une température optimale de 37°C et un PH optimal de 7,3. Sa croissance est favorisée par une atmosphère enrichie en CO₂.

Il est cultivé sur des milieux riches, généralement sur gélose supplémentée à 5% de sang de mouton. La culture est positive en 24 à 36 heures en anaérobiose strict ou sous atmosphère enrichie en CO₂ et elle donne des colonies petites, rondes de 0,5 à 1,5 mm de diamètre, lisses, bombées, brillantes, entourées d'une zone d'hémolyse partielle (alpha) donnant à la gélose une couleur verdâtre. (Avril J.L et al 1992)

Le pneumocoque peut prendre un aspect de petites colonies « ombiliquées » ; l'aspect concave de leur surface résulte de leur destruction par une autolysine. (Agnes .A, 2007 ; Avril J.L et al 1992)

III.2.5. Caractères biochimiques :

Le pneumocoque est dépourvu de catalase et de peroxydase, il est nitrate réductase -, gélatinase-, raffinose +, glucose+, lactose +, saccharose+, Esculine-, inuline- .

Il est sensible à l'optochine (éthylhydrocupréine). (Avril J.L et al 1992)

III.2.6. Caractère antigénique :**•Les antigènes capsulaires :**

Une grande partie des souches de *S. pneumoniae* possède une capsule composée de polysaccharides dont la composition permet de distinguer près de 90 sérotypes classés en 45 sérogroupes.

•Les antigènes somatiques :

Il s'agit des antigènes liés à la paroi cellulaire. Ils sont répartis en deux couches antigéniques : l'une protéique, spécifique du type, l'autre polysidique, spécifique de l'espèce.

III.2.7. Facteurs de virulence :

Le pouvoir pathogène des pneumocoques a été attribué à de nombreux facteurs de virulence. En fonction du type de réponse qu'ils induisent chez l'hôte, ils sont classés en deux groupes :

-Le premier groupe est constitué par des composants de surface (capsule, protéine A de surface, protéine liant le facteur H du système complémentaire, protéase active sur le composé C3 du complément) qui joue un rôle important au début de l'infection en inhibant la phagocytose.

-Le deuxième groupe rassemble des composants (polysaccharide lié au peptidoglycane, pneumolysine) qui interviennent à un stade plus tardif de l'infection. (Agnes .A, 2007)

III.2.8. La vaccination :

Il existe deux types de vaccins :

- **Vaccin polyosidique (Pneumo 23) :**

Constitué par les polyosides capsulaires des sérotypes les plus fréquents, ce vaccin est inefficace chez l'enfant moins de 2 ans et confère une immunité faible et de courte durée.

- **Vaccin conjugué (Prévenar) :**

Obtenu par la conjugaison des polyosides capsulaires à des protéines porteuses, ce vaccin confère des réponses immunitaires améliorées et durables. Il est surtout efficace chez l'enfant moins de 2 ans. (Agnes .A, 2007)

III.3. HAEMOPHILUS INFLUENZAE

III.3.1. Taxonomie :

H.influenzae est l'espèce type du genre *Haemophilus* au sein de la famille des *Pasteurellaceae*. (Agnes .A, 2007 ; Jean F et al, 2000)

III.3.2. Habitat :

H.influenzae fait partie de la flore normale des muqueuses des voies respiratoires supérieures de l'enfant et de l'adulte (l'oropharynx et le nasopharynx) dont la colonisation débute très tôt après la naissance et se poursuit tout au long de la vie. Cette colonisation sera le point de départ, tant des manifestations invasives, que des infections de voisinages ORL. (Agnes .A, 2007 ; Jean F et al, 2000)

III.3.3. Caractères morphologiques :

H.influenzae est un petit bacille à Gram négatif (coccobacilles), fin, immobile et non sporulé. Il existe aussi des formes longues, traduisant un polymorphisme qui peut être observé dans certains produits pathologiques (LCR).

Certaines souches, responsables de manifestations invasives, possèdent une capsule polysaccharidique. (Agnes .A, 2007)

III.3.4. Caractères cultureux :

H. influenzae est un germe aéro-anaérobie facultatif.

L'humidité et l'atmosphère enrichie en CO₂ sont indispensables à sa croissance.

La température optimale de croissance est 35°C.

Sa culture exige des facteurs de croissance intervenant dans les enzymes de la chaîne respiratoire : le facteur X ou hémine et le facteur V ou NAD (nicotinamide adénine dinucléotide) présents dans le sang.

Sa croissance est optimale sur gélose « chocolat », gélose au sang cuit enrichi en facteur de croissance V, à la température de 37° dans une atmosphère enrichie en CO₂.

Les souches capsulées donnent des colonies muqueuses, volumineuses, blanchâtres, ayant tendance à s'étaler. Les colonies des souches non capsulées sont plus petites, sans iridescence. Les souches dégagent une odeur caractéristique d'indole. (Agnes .A, 2007)

III.3.5. Caractères biochimiques :

H.influenzae possède une catalase et une oxydase.

Il fermente le glucose, le maltose, le ribose et le xylose mais pas le lactose ni le saccharose.

Des tests biochimiques (uréase, indole, ODC) permettent de séparer 8 biotypes numérotés de I à VIII, le biotype I est le plus fréquemment isolé. (Avril J.L et al 1992)

III.3.6. Caractères antigéniques :

Les souches capsulées possèdent un antigène polysaccharidique lié à la capsule permet de définir six sérotypes, de a à f, le type b est le plus fréquent. (Avril J.L et al 1992)

III.3.7. Facteurs de virulence :

Les principaux facteurs de virulence sont :

- **Le polysaccharide capsulaire :**

Il confère une protection contre la phagocytose et l'action lytique du complément. La virulence la plus forte est observée pour le type b, suivi par les sérotypes a, e et f.

- **Les pili :**

La présence de pili confère à la bactérie un certain nombre de propriétés entre autre l'adhésion aux cellules épithéliales buccale.

- **IgA protéases :**

Haemophilus influenzae, produit une enzyme qui a la propriété de cliver les immunoglobulines humaines de type A (IgA).C'est une protéase extracellulaire constitutive d'origine chromosomique spécifique d'IgA humaine, ainsi *H.influenzae* pourrait se protéger de la présence locale des IgA sécrétoires. (Agnes .A, 2007 ; Sarr .E, 2002)

III.3.8. Pouvoir pathogène :

H.influenzae est une bactérie pyogène responsable d'infections variées parfois sévères observées à tous les âges mais plus fréquemment chez l'enfant. Il s'agit soit d'infections aiguës systémiques provoquées par des souches invasives capsulées de type b soit d'infections aiguës sans bactériémie ou chroniques provoquées par des souches non capsulées dans lesquelles *H.influenzaea* ne joue parfois qu'un rôle secondaire. (Avril J.L et al 1992)

III.3.9. Vaccination :

L'antigène vaccinal est constitué de polysaccharide de *H.influenzae* de type b.

Le but de la vaccination est de protéger les enfants de la forme la plus grave de l'infection à *H.influenzae*, la méningite.

Grâce à la vaccination anti-*Haemophilus influenzae* de type b, le portage de souches capsulées a nettement diminué, concernant moins de 5% des sujets, adultes ou enfants. (Agnes .A, 2007)

III.4. LISTERIA MONOCYTOGENES

III.4.1. Taxonomie :

Listeria a longtemps été considérée comme une bactérie corynéforme ; il est actuellement admis que les bactéries de ce genre appartiennent à la branche phylogénétique des *Clostridium*.

Listeria monocytogenes est l'espèce type du genre *Listeria*. (Kaismoune .N, 2009)

III.4.2. Habitat :

C'est une bactérie ubiquitaire présente dans les sols humides, les eaux, les végétaux et souvent le tube digestif des animaux.

Elle contamine les aliments et sa capacité à se multiplier à 4°C lui permet d'atteindre des concentrations élevées en cas de conservation prolongée au froid.

C'est l'ingestion d'aliment contaminés qui permet la transmission à l'homme. En outre une transmission foeto-maternelle est possible. (Nauciel.C et al, 2005)

III.4.3. Caractères morphologiques :

Listeria monocytogenes est un petit bacille à Gram positif à tropisme intracellulaire, se présentant de manière isolée ou groupés en V ou en L ou en palissades ou, parfois, en courtes chaînes ou petits amas. C'est une bactérie non capsulée, non sporulée, mobile à 22-25°C mais immobile à 37°C. (Kaismoune .N, 2009 ; Julie .L, 2006)

III.4.4. Caractères cultureux :

L.monocytogenes est un germe aérobie-anaérobie facultatif.

Elle est capable de se multiplier à de très basses températures (jusqu'à 2°C), se développe facilement sur milieux usuels ou sur gélose au sang frais, incubé à 35°C, les cultures sont positives en 18 heures et donnent des petites colonies, arrondies, lisses, entourées d'une zone de β hémolyse. (Kaismoune .N, 2009 ; Julie .L, 2006)

III.4.5. Caractères biochimiques :

Catalase +, oxydase –

Fermente le glucose sans production de gaz ni de H₂S.

RM+, VP+.

Elle ne possède pas d'uréase, ne produit pas d'indole.

Hydrolyse l'esculine. (Kaismoune .N, 2009)

III.4.6. Caractères antigénique :

Il existe deux types d'antigènes :

- **Antigènes somatiques** : sont des acides téichoïques de la paroi, ils sont au nombre de 15 (I à XV).
- **Antigènes flagellaires** : protéiques, au nombre de 5 (A, B, C, D, E).

La combinaison des deux types d'antigènes détermine 17 sérotypes différents.

La plupart des souches isolées appartiennent au sérotypes 4b, 1/2a et 1/2b. (Avril J.L et al 1992)

III.4.7. Pouvoir pathogène :

Listeria est une bactérie opportuniste occasionnant des troubles chez les sujets fragiles ou immunodéprimés, trois types d'infections chez l'homme:

- **La listériose de la femme enceinte** : qui est une infection bénigne pour la femme mais grave pour le fœtus.
- **La listériose du nouveau-né** : On en a deux formes cliniques :
 - Forme à début précoce pour laquelle l'atteinte méningée est rare.
 - Forme à début tardif, où l'atteinte méningée est fréquente.
- **La listériose de l'adulte** : qui survient chez les immunodéprimés et donne lieu à une méningo-encéphalite, plus rarement à une septicémie. (Avril J.L et al, 1992)

III.5. LES STAPHYLOCOQUES

Les méningites à staphylocoques sont relativement rares mais deviennent de plus en plus fréquentes du fait de l'émergence de souches nosocomiales souvent multirésistantes.

III.5.1. Taxonomie :

Le genre *Staphylococcus* appartient à la famille des *Staphylococaceae*. Ils sont classés en :

- Staphylocoques à coagulase positive représentés par le *S.aureus*.
- Staphylocoques à coagulase négative dont l'espèce le plus couramment isolée est le *S.epidermidis*. (Nauciel.C et al, 2005)

III.5.2. Habitat :

Les staphylocoques sont des bactéries de la flore commensale cutanée et muqueuses des mammifères et des oiseaux. (Jean .F et al, 2000)

Chez l'homme, le *S.aureus* est hébergé au niveau des muqueuses (principalement les fosses nasales) et des zones cutanées humides (périnée et aisselles). (Nauciel.C et al, 2005)

III.5.3. Caractère morphologique :

Les staphylocoques sont des cocci à Gram positif, sphérique de 0,5 à 1µm de diamètre. On les retrouve le plus souvent regroupés, par deux (diplocoques), par quatre (tétraèdres), ou en petits amas irréguliers (grappes). Ils sont immobiles, non sporulés et habituellement non capsulés. (Matthieu .E, 2007 ; Robert .D, 2013)

III.5.4. Caractères cultureux :

Les staphylocoques sont des bactéries aéro-anaérobies facultatifs.

Ils cultivent facilement sur les milieux usuels dans des conditions de température et de PH variables (entre 10 et 45 °C). (Nauciel.C et al, 2005)

Les colonies observées après 24 heures d'incubation sur GN sont lisses, opaques, convexes et rondes (à bord net). *S.aureus* donne des colonies produisant un pigment doré d'où l'appellation Staphylocoque doré.

Il faut préciser que les *S. aureus* peuvent également croître en milieu hostile : gélose Chapman, milieu sélectif contenant des fortes concentrations en sels (NaCl 7,5%). (Nauciel.C et al, 2005 ; Robert .D, 2013)

III.5.5. Caractères biochimiques :

Les staphylocoques produisent une catalase.

S.aureus possède une coagulase (enzyme provoquant la coagulation du plasma), ce qui la distingue de la plupart des autres espèces de staphylocoques. (Nauciel.C et al, 2005)

III.5.6. Facteurs de virulence :

Le *S.aureus* exprime de nombreux facteurs de virulence :

- Protéines de surface qui initialisent la colonisation des tissus de l'hôte : des adhésines et un récepteur pour la fibronectine.
- Facteurs inhibant la phagocytose représentés essentiellement par la protéine A qui a la propriété de fixer les IgG par leur région Fc.
- Toxines qui lésent les cellules et provoquent des syndromes pathologiques tel que : leucocidine, hémolysine, hyaluronidases et les toxines exfoliatrices. (Nauciel.C et al, 2005 ; Jean.F et al, 2000)

III.5.7. Pouvoir pathogène :

Ils sont responsables d'infections suppuratives cutanées et muqueuses qui sont très fréquentes, et d'infections profondes issues de l'extension loco-régionale des infections superficielles telle que les septicémies et les méningites. (Nauciel.C et al, 2005)

Quelquefois elles succèdent à une infection primitive (folliculite, ostéomyélite, spondylite, arthrite purulente ou staphylococcie pleuropulmonaire.) ou compliquent des affections neurochirurgicales (Spina bifida, méningocèle, sinus dermique, hydrocéphalies valvées), mais la majorité sont d'origine nosocomiale. (Julie .L, 2006)

III.6. LES ENTEROBACTERIES

Les entérobactéries sont responsables de nombreuses infections chez l'homme, en particulier chez les malades hospitalisés ou immunodéprimés. Ils se rencontrent dans les infections méningées sur des terrains particuliers : nouveau-né, dénutrition, drépanocytose. Ils ont une capacité de résister à de nombreux antibiotiques ce qui explique la gravité de certaines de ces infections dites nosocomiales. (Benzegouta.N, 2005 ; Julie.L, 2006)

III.6.1. Taxonomie :

La famille des *Enterobacteriaceae* comprend une centaine d'espèces dont les plus isolées en pathologie clinique appartiennent à 12 genres qui sont : *Escherichia*, *Citrobacter*, *Enterobacter*, *Hafnia*, *Klebsiella*, *Morganella*, *Proteus*, *Providencia*, *Salmonella*, *Serratia*, *Shigella*, *Yersinia*. (Oulymata.G, 2007 ; Nauciel.C et al, 2005)

III.6.2. Habitat :

Les *Entérobactéries* sont des hôtes du tube digestif de l'homme et de nombreux animaux. Sont des bactéries très ubiquitaires, certaines espèces sont des saprophytes (*Klebsiella*, *Serratia*, *Enterobacter*), d'autres sont des pathogènes spécifiques (*Salmonella*, *Shigella*, *Yersinia*), mais la plupart des espèces sont commensales (*Escherichia coli*). . (Oulymata.G, 2007 ; Nauciel.C et al, 2005)

III.6.3. Caractères généraux :

Les bactéries de la famille des *Enterobacteriaceae* se définissent comme suit :

- bacilles à Gram négatif.
- immobiles ou mobiles grâce à une ciliature péritriche.
- aéro- anaérobies facultatifs.

- se développent aisément sur milieu ordinaire (non exigeants) et sur milieux sélectifs (Hektoen et BCP). Dans la plupart des cas, les *Enterobacteriaceae* donnent après 18 à 24 h d'incubation à 37°C en atmosphère ordinaire des colonies rondes, lisses à bords réguliers, d'un diamètre de 2 à 3 mm.
- fermentant le glucose avec ou sans production de gaz.
- dépourvus d'oxydase.
- possédant une catalase à l'exception de *Shigella dysenteriae*.
- réduisant les nitrates en nitrites (exception *Erwinia*).
- Les entérobactéries possèdent toutes, des antigènes de paroi (somatiques) ou antigènes O. Les espèces mobiles quant à elles renferment en plus des antigènes O, des antigènes H ou flagellaires (c'est le cas d'*E.coli*). Enfin, certains possèdent un antigène d'enveloppe ou antigène K. (Oulymata.G, 2007)

Les entérobactéries les plus incriminés dans les méningites :

➤ *Escherichia coli*

Escherichia coli représente une espèce bactérienne très étudiée. Il existe de nombreuses différences entre les souches de cette même espèce. On peut distinguer trois grands groupes d'*E. coli*:

- des bactéries commensales
- des bactéries pathogènes « intestinales » : (les *E.coli* Entérohémorragiques (EHEC), les *E. coli* Entérotoxigènes (ETEC), les *E.coli* Entéropathogènes (EPEC), les *E.coli* Entéroaggrégatifs (EAEC), les *E.coli* Entéroinvasifs (EIEC) et les *E.coli* à adhésion diffuse (DAEC))
- et enfin le groupe des bactéries pathogènes« extra-intestinales » (les *E. coli* uropathogènes (UPEC) et *E. coli* K1 responsables des méningites chez le nouveau-né (NMEC)).

Les premières sont des colonisatrices intestinales et ne présentent aucun danger pour leur hôte, celles du deuxième groupe provoquent des maladies intestinales (diarrhée ,diarrhée hémorragique...) .Les UPEC et NMEC sont responsables de troubles au niveau de nombreux sites extra-intestinaux. (Mohamed.M.S, 2012)

➤ *Klebsiella pneumoniae*

Klebsiella pneumoniae fait partie des espèces commensales, c'est-à-dire des flores normales du sujet sain.

Elle est responsable de plus de 10 % des infections nosocomiales, d'après le rapport de l'European Antibiotics Resistance Surveillance System (EARSS) de 2008.

Ce pathogène opportuniste est isolé d'infections suppuratives, urinaires, respiratoires, biliaires qui peuvent être à l'origine de bactériémie et surtout de septicémie de pronostic sévère, principalement chez les malades immunodéprimés. (Sekhri-arafa.N, 2011)

➤ *Enterobacter.spp*

Les *Enterobacter* sont des pathogènes opportunistes pouvant être responsables de septicémies, de méningites, d'infections urinaires, d'infections néonatales et de suppurations diverses. (Avril J.L et al, 1992)

➤ *Serratia*

Les *Serratia* sont peu pathogènes pour les sujets sains. Elles sont responsables d'infections hospitalières parfois épidémiques, particulièrement *S.marcescens*.

La localisation de l'infection dépend de l'activité du service hospitalier : infections urinaires après manœuvres instrumentales ; infections respiratoires dues à l'emploi d'appareils de ventilation artificielle ; surinfections des plaies par des antiseptiques contaminés ; septicémies compliquant les infections précédentes ou consécutives à l'usage de cathéters.

Des infections graves à *Serratia* ont été observées (endocardites, ostéomyélites, méningite). (Avril J.L et al, 1992)

➤ *Salmonella.spp*

Certaines *Salmonella* sont strictement adaptées à l'homme comme: *S.typhi*, *S.paratyphi* (A, B et C), responsables de la fièvre typhoïde et paratyphoïde humaine, ce sont les "salmonelles majeures".

Et il y a d'autres sérotypes, qui peuvent engendrer des toxi-infections alimentaires comme *S.enteritidis* et *S.typhimurinum*, qui sont connues comme des "salmonelles mineures". Un manque d'hygiène est très souvent à l'origine de la transmission.

Il existe aussi des formes extra-digestives plus rares : infections urinaires, cholécystites, méningites, infections pulmonaires,... Ces formes surviennent plus volontiers chez les malades immunodéprimés. (Avril J.L et al, 1992 ; Benzegouta.N, 2011)

III.7. PSEUDOMONAS AERUGINOSA

Les infections méningées à *P.aeruginosa* sont rares, toute fois 10% des méningites après intervention neurochirurgicales sont dues à *P.aeruginosa*. Elles surviennent chez les patients fragilisés (néoplasiques, neutropéniques, brûlées, infectés par le VIH). Elles peuvent être primitives liées aux bactériémies ou secondaires (voisinages, inoculation). (Avril J.L et al, 1992)

III.7.1. Taxonomie :

P.aeruginosa est connu depuis longtemps sous le nom de *Bacillus pyocyaneus* (bacille pyocyanique) ou agent du pus bleu des plaies surinfectées.

P.aeruginosa est l'espèce type du genre *Pseudomonas*, fait partie de l'ordre *Pseudomonadales* et de la famille des *Pseudomonadaceae*. (Hichem.C, 2012)

III.7.2. Habitat :

P.aeruginosa est largement répandu dans l'environnement. C'est une bactérie ubiquitaire. Elle peut vivre à l'état saprophyte dans l'eau, le sol, les végétaux, les solutions antiseptiques et sur des surfaces inorganiques.

Cette bactérie est également présente dans le tube digestif et sur la peau des mammifères.

P.aeruginosa est très présent en milieu hospitalier et elle est responsable de nombreuses infections nosocomiales (11% des infections nosocomiales). (Avril J.L et al, 1992 ; Hichem.C, 2012)

III.7.3. Caractères morphologiques:

C'est un bacille à Gram négatif non sporulé. Il mesure 1 à 5 µm de long et 0,5 à 1 µm de large, mobile grâce à la présence d'un flagelle monotriche polaire. (Avril J.L et al, 1992)

III.7.4. Caractères cultureux :

P.aeruginosa est une bactérie aérobie stricte, cultive facilement sur les milieux usuels.

La température optimale de croissance se situe entre 30 et 37°C mais elle est capable de se développer dans des températures allant de +4°C à +45°C.

Il dégage une odeur aromatique caractéristique (odeur de jasmin) due à la production d'ortho-amino-acétophénone. (Avril J.L et al, 1992 ; Hichem.C, 2012)

Il donne lieu à des colonies généralement verdâtres dont l'aspect de colonies est particulier à cette espèce, une dissociation spontanée en 3 types principaux peut être observée :

- Colonies larges, isolées, grandes avec une partie centrale bombée et un contour irrégulier.
- Colonies petites, mates, légèrement bombées avec un bord circulaire régulier.
- Colonies muqueuses, bombées, opaques, visqueuses parfois coulantes. (Avril J.L et al, 1992)

P.aeruginosa produit deux pigments qui diffusent dans le milieu de culture :

- **la pyocyanine** : spécifique de *Pseudomonas aeruginosa*, pigment bleu vert.
- **la pyoverdine** ou **fluorescens** : pigment jaune vert, présente chez d'autres *Pseudomonas*.

III.7.5. Caractères biochimiques :

Il a un métabolisme oxydatif.

Oxydation de certains sucres avec production d'acides.

Il utilise comme source de carbone et d'énergie de nombreux substrats hydrocarbonés.

Il hydrolyse la gélatine, la lécithine, l'ADN.

Il est oxydase positif et arginine déshydrogénase positive. (Avril J.L et al, 1992)

III.7.6. Facteurs de virulence :

P.aeruginosa élabore des protéines et des substances toxiques pour l'homme, l'animal et les plantes : on distingue principalement : une hémolysine thermostable, des exo-enzymes (protéases, phospholipases) et des toxines protéiques (exotoxines, enterotoxines). Sa virulence est multifactorielle. (Avril J.L et al, 1992)

III.7.7. Pouvoir pathogène :

Pseudomonas aeruginosa est l'agent responsable des pneumopathies nosocomiales dans 16 à 30 % des cas mais aussi des infections urinaires, d'escarres ou des bactériémies. Les autres sites comme les méninges ou l'endocarde sont plus rarement infectés par la bactérie. (Kienlen.J, 1998)

III.8. ACINETOBACTER

Acinetobacter est réputé comme une bactérie de faible pathogénicité et responsable d'infections nosocomiales chez les patients immunodéprimés. (Jean.F et al, 2000)

III.8.1. Taxonomie :

Le genre Acinetobacter appartient à la famille des *Moraxellaceae* au sein de l'ordre *Gammaproteobacteria*.

Acinetobacter baumannii est l'espèce type de ce genre. (Jean.F et al, 2000)

III.8.2. Habitat :

Acinetobacter est une bactérie ubiquitaire se trouvant principalement dans le sol et l'eau (douce et marine), isolé parfois dans le lait et les produits laitiers.

Chez l'homme, elle est fréquemment isolée dans la peau, la salive, les urines et la conjonctive. Elle figure parmi la flore normale de la gorge et du revêtement cutané avec une préférence pour les zones chaudes et humides. (Avril J.L et al, 1992)

III.8.3. Caractères morphologiques :

Ce sont des coccobacilles courts à Gram négatif souvent groupés en diplococobacilles. Ils sont immobiles, non sporulés et souvent encapsulés. (Avril J.L et al, 1992)

III.8.4. Caractères cultureux :

Ce sont des germes aérobies stricts, prototropes, ils peuvent croître sur un milieu minéral avec une source de carbone simple.

La plupart des espèces sauf *A.johnsonii* poussent à 37°C.

Bactérie non exigeante après 24 h d'incubation donnent des colonies ont 1 à 4 mm de diamètre, elles sont lisses, souvent muqueuses, blanc jaunâtres et d'aspect butyreux. (Avril J.L et al, 1992)

III.8.5. Caractères biochimiques :

La plupart des caractères biochimiques utilisés en bactériologie clinique sont négatifs à savoir : l'oxydase, le nitrate réductase, LDC, ODC, indole, thiosulfate réductase (H₂S) quant à la gélatinase est positive. (Jean.F et al, 2000)

III.8.6. Facteurs de virulence :

Les facteurs de virulence sont peu connus chez *Acinetobacter* mais on peut souligner le rôle potentiel de quelques éléments :

- les polysaccharides capsulaires jouent un rôle dans l'adhésion aux cellules de l'hôte.
- L'endotoxine est responsable de choc septique.
- La production des slimes augmente la virulence en modifiant les fonctions et la structure cellulaire des phagocytes. (Jean.F et al, 2000 ; Avril J.L et al, 1992)

III.8.7. Pouvoir pathogène :

A. baumannii est rarement impliqué dans les méningites nosocomiales et est exceptionnellement source de méningite postopératoire en milieu neurochirurgical.

(Zohoun.A et al, 2012)

III.9. MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS

Les infections mycobactériennes du système nerveux central sont le plus souvent dues au *Mycobacterium tuberculosis*, qui est le principal agent de la tuberculose, couramment dénommé bacille de Koch ou BK, c'est un pathogène strict de l'homme.

(<http://MycobactériesBKanne.decoستر.free.fr/bk/bk.htm>Mycobacterium)

III.9.1. Taxonomie :

Le genre bactérien *Mycobacterium* est le seul genre de la famille des *Mycobacteriaceae*. Cette famille bactérienne fait partie du sous-ordre *Corynebacterineae*, de l'ordre *Actinomycetales*, de la sous-classe *Actinobacterineae*, et de la classe *Actinobacteria*. (Nicolas.R, 2011)

III.9.2. Habitat :

La bactérie infecte essentiellement l'homme, avec une prédilection pour l'appareil pulmonaire.

La transmission se fait par voie aérienne. Le malade bacillifère transmet l'infection à son entourage en émettant des aérosols contaminés, à l'occasion d'accès de toux ou d'éternuements, voire en parlant. (Nauciel.C et al, 2005)

III.9.3. Caractères morphologiques :

Dans les produits pathologiques, ils sont sous forme isolée ou en petits amas.

Il a la structure d'un Gram + mais, il est difficilement colorable par cette technique. Pour l'observer au microscope, il faut avoir recours à la méthode de Ziehl-Nielsen ou à l'auramine spécifiques des mycobactéries, ces dernières contiennent dans leur paroi des acides mycoliques qui sont des structures lipidiques révélant leur acido- alcoolo résistance. (Avril J.L et al, 1992; <http://MycobactériesBKanne.decoستر.free.fr/bk/bk.htmMycobacterium>)

III.9.4. Caractères cultureux :

Il s'agit de bacilles aérobies stricts, ils cultivent très lentement en aérobiose.

La température optimale de croissance est de 35 à 37 °C et le PH optimum est de 6.8 à 7.

L'humidité est nécessaire à la culture ainsi que de CO₂ (5 à 10%) sur les milieux gélosés.

La culture sur milieux solides est lente (3 à 4 semaines) ; le temps de génération est environ 20 heures. Le milieu de culture le plus utilisé est le milieu à l'œuf de Loewenstein-Jensen.

Les colonies apparaissent en 15 jours ou 3 semaines et sont caractéristiques, en chou-fleur, rugueuses et verruqueuses, de couleur crème. (Avril J.L et al, 1992; <http://MycobactériesBKanne.decoستر.free.fr/bk/bk.htmMycobacterium>)

III.9.5. Caractères biochimiques :

Des caractères biochimiques et enzymatiques propres au *M. Tuberculosis* permettent son identification au sein du genre :

- Présence de nitrate réductase, de catalase.
- Résistance à l'hydrazide de l'acide thiophène 2 carboxylique (TCH)
- Hydrolyse l'urée, la pyrazinamide et le nicotinamide. (Avril J.L et al, 1992;

<http://MycobactériesBKanne.decoستر.free.fr/bk/bk.htmMycobacterium>)

III.10. BRUCELLA

Les *Brucella* sont des bactéries responsables de septicémie subaiguë avec localisations viscérales multiples (articulaires, neuro-méningées, etc...). Elles peuvent infecter les animaux ou l'homme en provoquant une maladie, la brucellose (Fièvre de Malte). (Avril J.L et al, 1992; DCEM1 2002)

III.10.1. Taxonomie :

Le genre *Brucella* comprend six espèces sur la base des caractères de culture, métaboliques, et antigéniques. Trois espèces peuvent infecter l'homme, ce sont : *B.melitensis*, *B.abortus*, *B.suis*. Les trois d'autres espèces beaucoup plus rares : *B.ovis*, *B.canis*, *B.neotomae*. (Avril J.L et al, 1992)

III.10.2. Habitat :

Les *Brucella* sont responsables d'une anthroponose qui touche le monde rural et répandue dans le monde entier. (Avril J.L et al, 1992)

La transmission inter-animale se fait par voie génitale.

La transmission à l'homme est accidentelle (maladie rurale et professionnelle), se fait par voie digestive (ingestion de produits laitiers non pasteurisés ou de viande insuffisamment cuite), cutanée favorisée par des blessures ou excoriations (lors des contacts avec des animaux malades, des carcasses, des produits d'avortements) ou par contact accidentel avec des prélèvements dans un laboratoire) ou aérienne (par de la poussière de litière dans une étable vide.

La transmission interhumaine est exceptionnelle. (DCEM, 2002 ; Dantouma.K, 2008)

III.10.3. Caractères morphologiques :

Brucella est un très petit coccobacille (0.5 à 1.5 µm de long), à Gram négatif, immobile, non encapsulé, non sporulé. (Avril J.L et al, 1992)

III.10.4. Caractères culturels :

Brucella est un germe aérobic strict, à multiplication intracellulaires facultative.

La température optimale de croissance est 34°C et le pH optimal est 6,8.

La brucelle cultivant mal sur milieux ordinaires, nécessite l'utilisation de milieux riches, leur croissance est souvent améliorée par le CO₂.

La culture est visible sur milieu solide après 48h d'incubation. (Avril J.L et al, 1992 ; Dantouma.K, 2008)

III.10.5. Caractères biochimiques :

Les *Brucella* possèdent : oxydase, catalase, NAR et uréase (négatif pour *B.ovis*).

Elles n'utilisent pas le citrate et ne produisent pas d'indole.

L'utilisation des sucres est lente et n'est pas décelée sur les milieux usuels

Pour l'identification de l'espèce, on utilise les caractères suivants :

- Exigence en CO₂.
- Production d' H₂S.
- Action bactériostatique des colorants : fuchsine, thionine. (Avril J.L et al, 1992)

III.10.6. Caractères antigéniques :

Les *Brucella* possèdent des antigènes de structure de nature lipopolycaccharidique : A et M inégalement répartis selon les espèces.

L'antigène A est dominant chez *B.abortus*, M chez *B.melitensis*, existe en proportion égale chez *B. suis*. (Nauciel.C et al, 2005)

III.10.7. Pouvoir pathogène :

La brucellose aigue septicémique à début insidieux : c'est la fièvre ondulante sudoro-algique.

La brucellose subaigue : survenant après la forme septicémique et pouvant donner des formes méningo-encéphalique.

La brucellose chronique. (Jean.F et al, 2000)

III.11. LEPTOSPIRA

Leptospira est une bactérie responsable d'une anthroponose dite leptospirose qui est une infection potentiellement mortelle dont les rongeurs sont le principal réservoir et elle transmise accidentellement à l'homme. (Marylène.J, 2011)

III.11.1. Taxonomie :

La bactérie du genre *Leptospira* appartient à l'ordre des *Spirochetales*, constitue à lui seul la famille des *Leptospiraceae*.

On distingue deux espèces :

- *Leptospira interrogans*, espèce pathogène pour l'homme et l'animal. Elle comprend environ 200 sérovars.

- *Leptospira biflexa*, espèce saprophyte libre, vivant dans les eaux profondes et rarement associée à des infections chez les mammifères. (Avril J.L et al, 1992 ; Marylène.J, 2011)

III.11.2. Habitat :

Les leptospires sont des bactéries qui infectent de nombreuses espèces animales sauvages (rongeurs surtout) ou domestiques. La contamination résulte habituellement d'un contact avec des eaux ou des boues contaminées, surtout par temps chaud, plus rarement d'un contact avec un animal infecté. (Marylène.J, 2011 ; Nauciel.C et al, 2005)

L'homme se contamine en général par voie transcutanée, plus rarement par voie muqueuse.

La transmission interhumaine est exceptionnelle, l'homme étant un hôte accidentel.

III.11.3. Caractères morphologique :

Les leptospires sont des micro-organismes à Gram négatif, spiralés, très fins et allongés avec un diamètre de 0,22µm et de longueur de 6 à 25µm, présentent un grand nombre de spires serrées (entre 18 et 30). (Avril J.L et al, 1992 ; Marylène.J, 2011 ; Nauciel.C et al, 2005)

III.11.4. Caractères cultureux :

Ils sont aérobies, mais la culture est favorisée par une atmosphère légèrement enrichie en CO₂.

Les leptospires se développent préférentiellement à 30°C en présence d'oxygène.

Par ailleurs la culture nécessite un pH neutre voire légèrement alcalin (7,2 - 7,6) et l'abri de la lumière. La culture sur milieu solide est très lente (colonies en une vingtaine de jours au minimum). (Marylène.J, 2011 ; Nauciel.C et al, 2005)

III.11.5. Pouvoir pathogène :

La leptospirose ictéro-hémorragique est la manifestation la plus sévère des infections à leptospires. Après une incubation d'une dizaine de jours en moyennes, la maladie se traduit par un syndrome infectieux à début brutal, accompagné des myalgies et après quelques jours d'un ictère et d'une insuffisance rénale pouvant parfois entraîner une anurie. Des signes méningés et parfois un syndrome hémorragique peuvent être présents. (Nauciel.C et al, 2005)

III.12. BORRELIA BURGENDORFERI:**III.12.1. Taxonomie:**

Les *Borrelia* appartiennent à la famille des *Spirochaetaceae*, ils sont responsables des fièvres récurrentes (ou borrélioses). (Avril J.L et al, 1992)

III.12.2. Habitat :

La bactérie infecte les mammifères et les oiseaux ; de nombreuses espèces animales sauvages constituent ainsi des réservoirs potentiels de *B. burgdorferi*. (Avril J.L et al, 1992)

L'infection est transmise à l'homme par des piqûres de tiques, insectes hématophages. (Nauciel.C et al, 2005)

III.12.3. Caractères morphologiques:

Les *Borrelia* sont des bactéries hélicoïdales irrégulièrement spiralées, mobiles, non colorées par la méthode de Gram. (Nauciel.C et al, 2005)

III.12.4. Caractères cultureux :

Ces bactéries sont cultivables dans des milieux liquides spécifiques, mais la culture n'est pratiquée que dans des laboratoires spécialisés. (Nauciel.C et al, 2005)

III.12.5. Facteurs de pathogénicité :

Ils sont mal connus. Différentes protéines de surface désignées sous le terme d'Osp (Outer surface proteins) ont été décrites dont certaines sont codées par des gènes plasmidiques. (Nauciel.C et al, 2005)

Chapitre V Résistance aux antibiotiques

Chapitre IV: La résistance des bactéries aux antibiotiques :

IV.1. Définition de la résistance bactérienne :

Une souche est dite résistante à un antibiotique lorsqu'elle peut croître en présence d'une concentration d'antibiotique plus élevée que la concentration qui inhibe la majorité des souches de la même espèce. (Sekhri-arafa.N, 2011)

IV.2. Types de la résistance bactérienne :

La résistance aux antibiotiques peut être naturelle ou acquise. La résistance naturelle est présente chez tous les membres d'une même espèce ou d'un même genre bactérien. Elle est liée à son patrimoine génétique alors que la résistance acquise résulte d'une modification portant sur ce patrimoine. (Nauciel.C et al, 2005)

IV.2.1. La résistance naturelle :

La résistance naturelle ou intrinsèque à un antibiotique est essentiellement due à la présence de gènes chromosomiques ; elle est donc commune à toutes les bactéries d'une même espèce.

- Elle peut être due à des particularités structurales s'opposant à l'action de l'antibiotique sur sa cible comme la présence d'une membrane externe chez les bactéries à Gram négatif les rendant naturellement résistantes aux antibiotiques de poids moléculaire élevé comme les glycopeptides. (Mohamed.M.S, 2012)
- elle peut en résulter de l'absence d'un système transporteur ; c'est le cas des bactéries anaérobies naturellement résistantes aux aminosides (le passage des aminosides à travers la membrane cytoplasmique nécessite un système de transport actif absent chez les anaérobies). Pour les mêmes raisons, les bactéries aéro-anaérobies facultatives sont moins sensibles aux aminosides lorsqu'elles sont placées dans un environnement pauvre en oxygène. (Sekhri-arafa.N, 2011)
- Certaines espèces (*Klebsiella spp.*, *Enterobacter spp.*, *Serratia spp.*, *Citrobacter spp.*, *Morganella spp.*, *Providencia spp.*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Bacteroides fragilis*, *Bacillus cereus*, *Nocardia spp.*, ...) produisent naturellement des β -lactamases. (Sekhri-arafa.N, 2011)

IV.2.2. La résistance acquise :

Ce terme est utilisé pour désigner le résultat d'un processus permettant à des bactéries d'une espèce originellement sensible de devenir résistante à un ou plusieurs antibiotiques.

L'acquisition de ces résistances est déterminée par des modifications génétiques consécutives à des mutations ou à l'acquisition de gènes de résistance exogènes. (Mohamed.M.S, 2012)

IV.3. Mécanismes de la résistance des bactéries aux antibiotiques :

Il existe de nombreux mécanismes aboutissant à l'expression de la résistance. Les bactéries s'échappent de l'action des antibiotiques : par la destruction de la molécule, par la modification de structures particulières (porines) aboutissant à minimiser sa pénétration ou même à la rejeter (pompes d'efflux actif), ou par modification de sa cible la rendant inopérante par défaut de substrat. (Mohamed.M.S, 2012 ; Nauciel.C et al, 2005)

IV.3.1. Synthèse d'enzymes inactivant l'antibiotique :

En effet de nombreuses classes d'antibiotiques et pratiquement toutes les espèces bactériennes sont concernées.

Qualitativement et quantitativement, ce mécanisme de résistance est le plus important et le plus répandu dans le monde bactérien. (Cathrine.G, 2005 ; Mohamed.M.S, 2012)

Ce type de résistance se traduit par la destruction de la molécule ou en son inactivation supprimant ainsi l'interaction avec sa cible. Il s'agit de l'expression d'enzymes spécifiques d'un antibiotique ou d'une famille d'antibiotiques qui permet leur destruction ou leur modification. (Cathrine.G, 2005 ; Mohamed.M.S, 2012)

L'exemple type est : **Les β -lactamases**

Ces enzymes hydrolysent le cycle β -lactame, empêchant ainsi les β -lactamines de se fixer de façon covalente (acylation) sur le site actif des enzymes impliquées dans la synthèse de la paroi, les protéines liant la pénicilline (PLP).

Des mutations spontanées peuvent conduire à la surexpression ou à l'introduction de changements dans la structure primaire des β -lactamases, ceci peut accroître l'activité de celles-ci vis-à-vis de β -lactamines résistantes à l'hydrolyse enzymatique.

Ainsi dans les années 1990 apparaissent les premières souches de BLSE (β -lactamases à spectre étendu) capables d'inactiver des céphalosporines de troisième génération. Les premières souches productrices de BLSE appartenaient à l'espèce *K.pneumoniae*. (Sekhri-arafa.N, 2011)

IV.3.2. Diminution d'antibiotiques atteignant la cible :**IV.3.2.1. Diminution de la perméabilité de la membrane externe :**

C'est un phénomène observé chez les bactéries à Gram négatif.

La structure de leur paroi et plus particulièrement la présence des porines est à l'origine de ce type de résistance. (Sekhri-arafa.N, 2011 ; Mohamed.M.S, 2012)

La diminution de la perméabilité résulte souvent d'une mutation affectant la structure des porines ou diminuant leur synthèse.

Ce mécanisme est surtout retrouvé chez : *Escherichia coli*, *Enterobacter spp*, *Serratia spp*, *Klebsiella spp* et *Pseudomonas aeruginosa*, une ou plusieurs modifications des porines sont à l'origine d'une résistance acquise aux bêta-lactamines, aux quinolones, au chloramphénicol, aux sulfamides, au triméthoprim et aux tétracyclines. (Sekhri-arafa.N, 2011)

Dans le cas des aminosides, l'imperméabilité résulte d'un mécanisme différent, c'est une modification de la membrane cytoplasmique.

Elle est due à des mutations modifiant le système de transport actif de ces molécules (le système glycérophosphate) et provoquant une diminution d'activité de tous les aminosides. (Sekhri-arafa.N, 2011 ; Cathrine.G, 2005)

IV.3.2.2. Mécanisme d'efflux :

Ce mécanisme aboutit à la diminution de la concentration intracellulaire de l'antibiotique par des protéines membranaires qui refoule activement (excrétion rapide ou efflux) l'antibiotique hors de la bactérie.

Les systèmes d'efflux actifs sont constitués de protéines transmembranaires capables de transporter activement du milieu intracellulaire vers le milieu extérieur une variété d'antibiotiques.

La protéine d'efflux enchâssée dans la membrane interne constitue l'élément de pompage actif du système en couplant l'entrée de proton à l'évacuation de l'antibiotique. (Mohamed.M.S, 2012)

Ces systèmes jouent un rôle dans la résistance naturelle. Sous l'effet de mutation, leur niveau d'expression peut augmenter et faire apparaître une résistance acquise pouvant toucher simultanément plusieurs familles d'antibiotiques (par exemple fluoroquinolones et bêtalactamines). (Nauciel.C et al, 2005)

Exp: La résistance aux tétracyclines est souvent due à l'acquisition d'un gène responsable d'un mécanisme d'efflux et elle était décrite pour la première fois chez *E.coli*. (Nauciel.C et al, 2005)

IV.3.3. Modification de la cible:

Après la pénétration cellulaire de l'antibiotique, il existe une étape de reconnaissance de la cible, c'est à ce niveau qu'intervient ce type de résistance.

Ce mécanisme de résistance se traduit par une diminution de l'affinité entre la cible et son antibiotique consécutive à la modification de la cible. Ce mode de résistance touche plusieurs classes d'antibiotiques et notamment les β -lactamines, les quinolones et les macrolides. (Cathrine.G, 2005 ; Mohamed.M.S, 2012)

On cite à titre d'exemple :

- La résistance des staphylocoques vis-à-vis les bêtalactamines résulte de l'acquisition de matériel génétique (le gène *mecA*) qui code pour une nouvelle PLP : PLP 2a possédant une mauvaise affinité pour les bêtalactamines quelle que soit la molécule, expliquant ainsi la résistance croisée vis-à-vis de toute la famille. **(Cathrine.G, 2005)**
- Des mutations chromosomiques du gène codant pour l'ADN gyrase entraînent la synthèse d'une enzyme modifiée possédant moins d'affinité pour les molécules de quinolones c'est le principal mécanisme responsable de la résistance aux quinolones. **(Cathrine.G, 2005)**

Partie Pratique

Objectifs :

Les objectifs de ce présent travail sont :

- ❖ La détermination des étiologies des méningites bactériennes dans le but d'établir le profil bactériologique et épidémiologique des méningites bactériennes au CHU de Blida.
- ❖ L'étude de la sensibilité aux antibiotiques des bactéries incriminées afin d'adapter l'antibiothérapie.

Protocole :

Notre étude a eu lieu au niveau de l'unité de microbiologie du laboratoire central du CHU de Blida.

L'étude a porté sur l'examen cyto-bactériologique du LCR ; et s'est répartie en deux volets :

- ❖ Une étude rétrospective étalée sur une période de cinq années, allant de Janvier 2009 à Décembre 2013.
- ❖ Une étude prospective ayant duré 04 mois, de Janvier 2014 à Avril 2014.

Chapitre
Matériaux

Chapitre I : Matériel

I.1. Appareillage : (Annexe I)

Étuve, autoclave, microscope optique, bec bunsen, séchoir, hotte, réfrigérateur.

I.2. Matériel non biologique : (Annexe I)

Représenté par : les milieux de culture, la verrerie, les lames, cellule de Nageotte, seringues, eau physiologique, disques d'antibiotiques, galeries d'identification et les réactifs.

I.3. Matériel biologique :

Représenté par les prélèvements ayant été l'objet de l'étude et de souches de références (ATCC).

I.3.1. Les prélèvements :

I.3.1.1. Le mode de prélèvement : (Bellouni.R et al, 2011)

Le prélèvement du LCR est effectué dans des conditions rigoureuses d'asepsie, le liquide peut être recueilli soit au niveau lombaire soit par ponction dans la grande citerne soit directement dans les ventricules.

- **La ponction lombaire :**

On ponctionne le cul de sac dural. Le malade est assis fortement penché en avant ou bien il est placé en décubitus latérale, le dos rond. On trace une ligne joignant les crêtes iliaques. L'aiguille de ponction est enfencée entre le 4^{ème} et le 5^{ème} vertèbre lombaire sur une profondeur de 4 à 5 cm ; on retire le mandrin et le LCR coule de l'aiguille.



Figure 04: Ponction lombaire

(<http://www.urgence-serveur.fr/IMG/ipg/PL.jpg>)

La ponction lombaire est contre-indiquée face à :

- ✓ Une hypertension intra-crânienne.
- ✓ Un mal de Pott (tuberculose vertébrale) car l'aiguille risque d'entraîner des bacilles dans les méninges.
- ✓ Un syndrome hémorragique (saignements diffus) qui pourrait provoquer une hémorragie méningée.

- **La ponction sous-occipitale :**

Le LCR est prélevé par ponction dans la grande citerne après introduction d'une aiguille dans l'espace atloïdo-occipital.



Figure 05: Ponction sous occipitale.

(<http://www.med.univ-rennes1.fr>)

- **La ponction intra ventriculaire :**

Le LCR est prélevé directement dans les ventricules soit par voie transfontanellaire chez le nourrisson, soit par le biais d'un trou de trépan frontal chez l'enfant ou l'adulte.

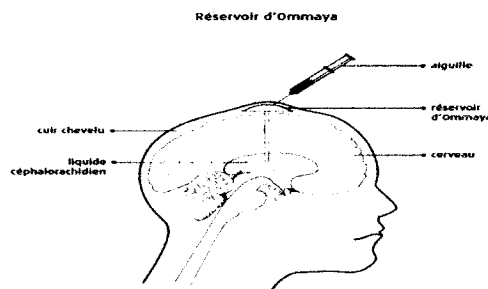


Figure 06: Ponction intra ventriculaire.

(<http://www.neuro-club.info>)

NB : La ponction intra ventriculaire et la ponction sous-occipitale sont du ressort du neurochirurgien.

I.3.1.2. Conditions de conservation et de transport du prélèvement :

L'acheminement du LCR vers le laboratoire doit se faire sans délai (moins de 30 minutes) en raison de la lyse rapide des polynucléaires (jusqu'à 50 % en 2 heures), et à l'abri du froid en raison de la fragilité de certaines bactéries, notamment les méningocoques.

I.3.1.3. Fiche de renseignements : (Annexe II)

Le prélèvement doit être accompagné d'une fiche de renseignements sur laquelle figure les informations relatives à chaque patient : nom, prénom, l'âge, le sexe, les signes cliniques, la présomption diagnostique, les traitements antibiotiques antérieurement reçus par le malade.

I.3.2. Les souches de référence :

Ces souches sont utilisées pour valider les différents tests effectués, les souches de références du laboratoire sont fournies par l'institut Pasteur d'Algérie et sont mentionnées dans le tableau suivant :

Souches	Référence
<i>Escherichia coli</i>	ATCC 25922
<i>Staphylococcus aureus</i> MRSA -	ATCC 25923
<i>Staphylococcus aureus</i> MRSA +	ATCC 43300
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	ATCC 27853
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	ATCC 49619

Tableau II: souches de référence utilisées au laboratoire

Chapitre II

Méthodes

Chapitre II : Méthodes

Une fois le prélèvement du LCR est transféré au laboratoire, une analyse bactériologique est effectuée dont les étapes sont représentées dans la figure 07 :

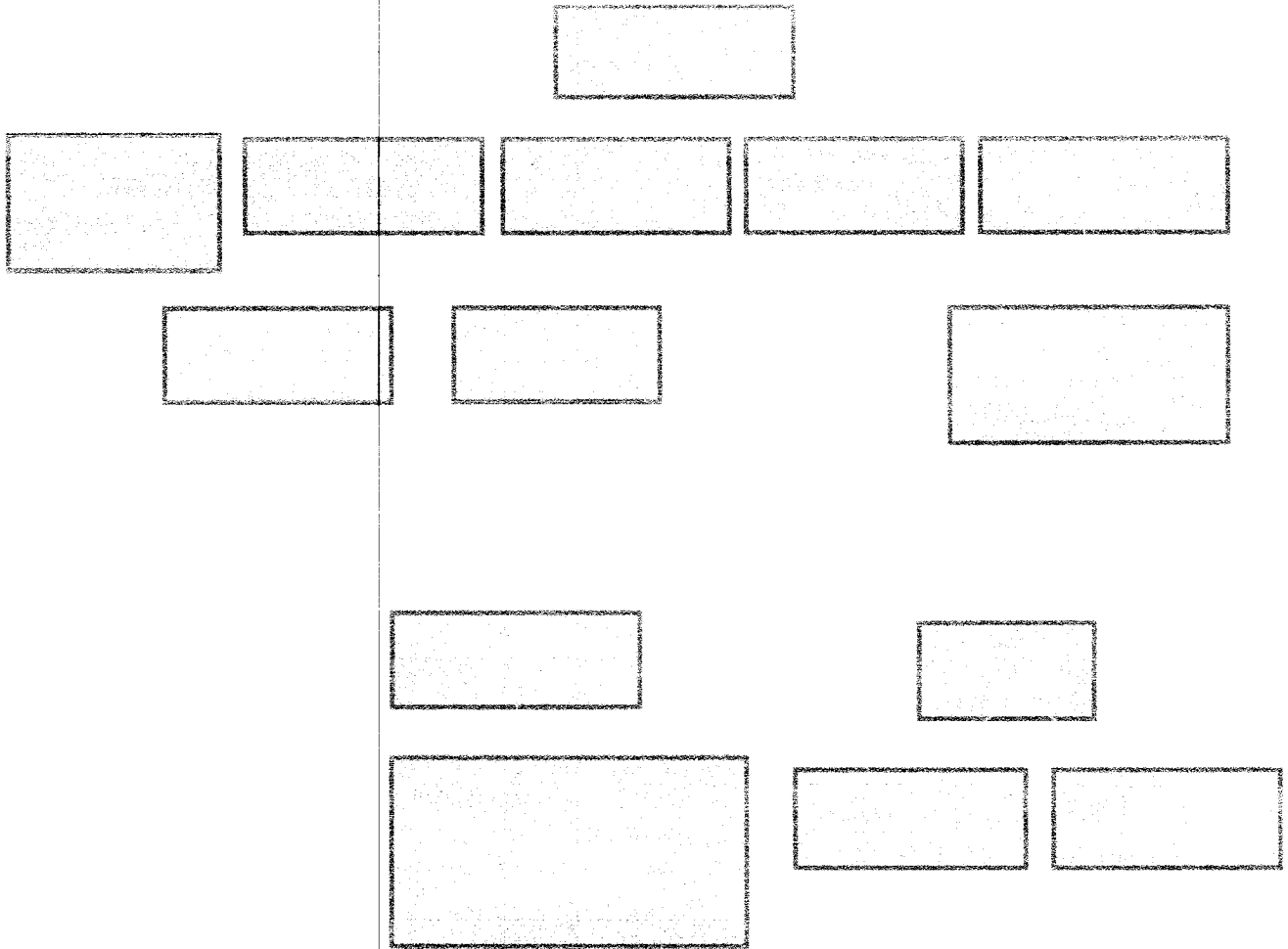


Figure 07: Les étapes de l'examen cyto-bactériologique du LCR
(Originale)

II.1. Etude macroscopique du LCR : (Bellouni.R, 2011)

Le LCR normal est un liquide clair limpide qualifié « eau de roche ». Un LCR pathologique peut revêtir divers aspects :

- **Trouble :**

Cet aspect est provoqué par une hyperleucocytose et en fonction de son intensité, tous les degrés existent depuis la légère turbidité jusqu'au pus, en passant par le classique aspect eau de riz.



Figure 08 : Aspect trouble du LCR (Originale)

- **Hématique :**

il s'agit soit d'un accident lors de prélèvement soit d'une hémorragie méningée.

Cela justifie le recueil du LCR dans 3 tubes : en cas d'hémorragie méningée, l'aspect du LCR est le même dans les différents tubes alors qu'en cas de blessure vasculaire le LCR a tendance à coaguler spontanément et le 3^{ème} tube contient moins de sang que le 1^{er}.



Figure 09 : Aspect légèrement hématique du LCR (Originale)

- **Xanthochromique :**

teinté au jaune ; cette modification peut s'observer à la suite d'une hémorragie méningée ou au cours de certaines affections du névraxe (compression médullaire), toute hyperprotéinorachie donne également cet aspect.

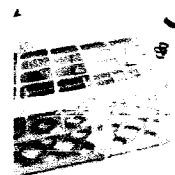


Figure 10 : Aspect xanthochromique du LCR. (Originale)

L'aspect macroscopique du LCR permet une orientation diagnostique comme la décrit le tableau III :

Tableau III: Hypothèses diagnostiques en fonction de l'aspect macroscopique du LCR

Aspect	Désignation	Signification
Limpide	Clair	LCR normal ou Méningite virale, bactérienne décapitée, tuberculeuse, méningite au début.
Jaune citrin	Xanthochromique	Hémorragie méningée ancienne, compression médullaire, tuberculose
Rosé ou rouge	Hémorragique ou hématique	Hémorragie sub-arachnoïdienne récente ou atteinte accidentelle d'un vaisseau lors de la ponction (brèche vasculaire locale) ou méningite infectieuse, hémopathie maligne.
Trouble, purulent, eau de riz	Purulent	Méningite à germe pyogène

(H. Belabbass et al, Guide de la lutte contre les méningites bactériennes communautaires, MS, Maroc, 2010)

II.2. Etude microscopique du LCR :

II.2.1. Cytologie quantitative :

Consiste à déterminer le nombre des cellules (leucocytes) par mm^3 du liquide qui témoignent la réaction inflammatoire.

La numération des éléments cellulaires est faite à l'aide d'un hématimètre : cellule de Nageotte ou cellule de Malassez. (Annexe I)

Le résultat final de comptage des éléments est exprimé en élément/ mm^3 .

Le LCR normal contient moins de 2 éléments/ mm^3 .

II.2.2. Cytologie qualitative :

Elle permet à la fois l'étude morphologique des principales cellules rencontrées dans le LCR (polynucléaire et lymphocytes) et l'établissement de l'équilibre leucocytaire (taux des polynucléaire et des lymphocytes pour 100 élément) ce qui permet de distinguer l'origine de l'infection (virale ou bactérienne).

Cela est possible grâce à la coloration au bleu de méthylène ou MGG.

- **Coloration au bleu de méthylène :**

Principe :

La coloration au bleu de méthylène (BM) est une coloration très simple qui permet d'apprécier les types cellulaires.

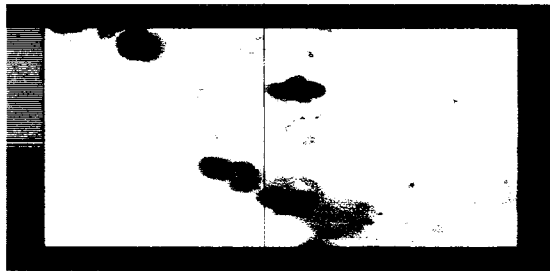
Technique :

- Réaliser un frottis et le fixer.
- Recouvrir le frottis de bleu de méthylène et laisser agir 3 min.
- Rincer à l'eau distillée.
- Sécher avec un papier buvard.

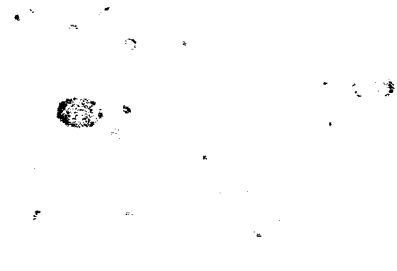
Lecture :

Examiner à l'objectif x100 à l'immersion avec un éclairage important.

Tous les noyaux des cellules apparaissent colorés en bleu, les polynucléaires se caractérisent par un noyau segmenté en lobes tandis que les lymphocytes ont un noyau volumineux.



Polynucléaires



Lymphocytes

Figure 11: Lecture de la coloration au bleu de méthylène

(<http://umvf.omsk-osma.ru/microbiologie>)

II.3. Etude biochimique :

Elle consiste à déterminer la protéinorachie, la glycorachie et la chlorurrachie.

II.3.1. Dosage de la protéinorachie :

Le dosage de la protéinorachie se fait par des méthodes colorimétriques dont la méthode au rouge de pyrogallol et le bleu de Coumassie.

La méthode la plus utilisée est celle au rouge de pyrogallol.

Principe :

La méthode au rouge de pyrogallol est une méthode colorimétrique qui détecte des concentrations très faibles de protéines.

Ces derniers fixent le rouge de pyrogallol pour donner un complexe coloré dont l'intensité de la coloration est proportionnelle au taux de protéines.

Mode opératoire :

	Blanc réactif	Etalon	Contrôles	malades
Eau distillée	20 µl			
Etalon		20 µl		
Contrôles			20 µl	
Malades				20 µl
Réactifs	1000 µl	1000 µl	1000 µl	1000 µl

Incuber 10 minutes à température ambiante ou 5 minutes à 37°C.

Lecture :

Lire la densité optique à une longueur d'onde de 598 nm.

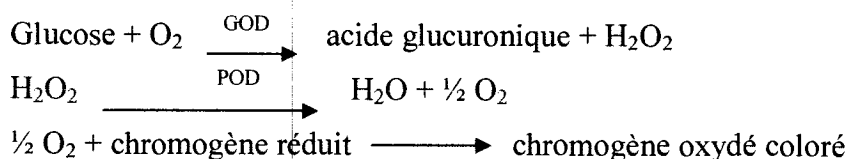
Valeurs normales :

Les valeurs normales sont comprises entre 0.25 à 0.5 g/l, les valeurs sont plus basse chez l'enfant (0,15g /l), plus élevées chez le prématuré (1 ,15 g /l) et le nourrisson (0 ,9 g /l). ⁽⁶³⁾

II.3.2. Dosage de la glycorachie :

Le dosage du glucose dans le LCR se fait par les mêmes méthodes de dosage utilisées pour doser la glycémie.

La méthode la plus utilisée est la méthode à la glucose- oxydase (GOD-POD).

Principe :

Mode opératoire :

	Blanc réactif	Etalon	Controles	Malades
Eau distillée	10 µl			
Etalon		10µl		
Controles			10µl	
Malades				10 µl
Réactifs	1000 µl	1000 µl	1000 µl	1000 µl

Incuber 10 minutes à température ambiante ou 5 minutes à 37°C.

Lecture :

Lire la densité optique à une longueur d'onde de 505 nm.

Valeurs normales :

Chez l'adulte sain ,la glycorachie représente 50 à 75 % de la glycémie, soit 2,7 à 4,1 mmol /l. (Bellouni.R et al, 2011)

Le dosage du glucose du LCR doit etre réalisé simultanément avec celui du sang .

II.3.3. Dosage de la chlorurrachie :**Principe :**

Le dosage des chlorures avec le thiocyanate mercurique provoque la libération d'ions thiocyanate qui forment avec le nitrate ferrique et en présence d'acide nitrique, un complexe rouge.

Mode opératoire :

	Dosage	Etalon	Blanc
Malades	10 µl		
Etalon		10 µl	
Réactifs	1ml	1ml	1ml

Incuber 15 min à température ambiante.

Lecture :

Lire la densité optique à une longueur d'onde de 450 nm.

Valeurs normales : 120 à 130 mEq/l . (Bellouni.R et al, 2011)

Tableau IV: Etude du LCR dans les différentes affections neurologiques

LCR normal					
Adulte	Clair	1 à 2	0,25 - 0,50	0,50	120-130
Nouveau-né		10 à 30			
Méningite Purulente	Trouble	500 80% polynucléaire Altérés	$\uparrow > 1$	\downarrow	N
Méningite virale	Clair	4- 1000 prédominance lymphocytaire	0.5-1	N ou \downarrow	N
Méningite tuberculeuse	Clair	25 - 300	1-10 $\uparrow\uparrow$	$\downarrow\downarrow$	\downarrow
Méningites Spécifique	Clair	5 - 50 Lymphocytose	0.4-1	N ou \uparrow	N
Méningite Mycosique	Clair	≤ 800 lymphocytes	\uparrow	N ou \downarrow	N
Hémorragie Cérébrale (méningite)	Hématique	Hématies Nombreuses	\uparrow	N	N
Compression Médullaire	Clair	Peu d'éléments	2-40 $\uparrow\uparrow$ dissociation cyto-albumine	N	N
Syndrome de Guillain-Barré	Clair	Normale	$\uparrow\uparrow$ dissociation cyto-albumine	N	N

Diagnostic des méningites purulentes -Institut Pasteur d'Algérie 2011-

II.4. Recherche des antigènes solubles :

Les antigènes bactériens sont des polysaccharides, du fait de leur caractère soluble et diffusible, ils peuvent être retrouvés dans les liquides biologiques dont le LCR.

On recherche dans le LCR particulièrement les antigènes solubles de :

N.meningitidis (A, B, C, W135), *S. pneumoniae*, *H. influenzae type b*, le streptocoque du groupe B et *Escherichia coli* sérotype K1.

Cette recherche doit être pratiquée systématiquement dans le LCR lorsque :

- L'examen cytologique est en faveur d'une méningite bactérienne (polynucléose franche).
- Un traitement antibiotique ambulatoire a été instauré.

Parmi les techniques les plus utilisées on distingue l'agglutination au latex.

Technique :

- Centrifuger le LCR 5 mn à 1500 tours/min et recueillir le surnageant.
 - Chauffer le tube de surnageant 3min à 100°C.
 - Laisser refroidir à température ambiante puis centrifuger 5min à 3000g.
 - Déposer une goutte de surnageant dans chaque cercle de carte jetable.
 - Déposer une goutte de chaque réactif latex sur la carte jetable
- Suivant la répartition indiquée.
- Mélanger les latex à l'échantillon au moyen d'un bâtonnet.
 - Donner à la carte un mouvement de rotation pendant 10min.
 - Observer dans ce délai l'apparition éventuelle d'une agglutination.

Lecture :

- Réaction (+) : Elle se traduit par la formation d'une agglutination franche à l'œil nu.
- Réaction (-) : Suspension homogène, absence d'agrégats.
- Réaction non interprétable : Une réaction est non interprétable si l'échantillon agglutine avec les latex témoins négatifs et/ou avec plusieurs réactifs latex spécifiques.

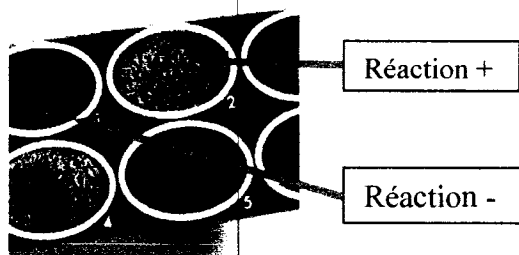


Figure 13 : Lecture de la réaction d'agglutination sur latex (Originale)



Figure 12: Technique d'agglutination (Originale)

II.5. La culture :**II.5.1. Mise en culture :**

La culture est l'examen de référence pour le diagnostic de méningite bactérienne. Elle permet d'affirmer le diagnostic, identifier l'agent étiologique et étudier la sensibilité aux antibiotiques.

II.5.2. Les milieux de culture utilisés et condition d'incubation : (Annexe I)

Dans tous les cas sont ensemencés des milieux de culture permettant la croissance de germes exigeants et non exigeants.

- Gélose au sang cuit supplémentée en facteurs de croissance, incubée à 37°C sous une atmosphère de 5-10% de CO₂.
- Gélose au sang incubée à 37°C sous une atmosphère de 5-10% de CO₂.
- Milieu Chapman sélectif pour les staphylocoques incubés sous une atmosphère ordinaire.
- Milieu Hecktoen ou BCP sélectif pour les bacilles à Gram négatif incubé en atmosphère ordinaire.
- Milieu d'enrichissement : BHIB.

Cas particuliers:

- Méningite lymphocytaire chez l'immunodéprimé: Gélose de Sabouraud sans actidione.
- Suspicion de tuberculose (méningite lymphocytaire avec hypoglycorachie): Lowenstein Jensen (tube ensemencé richement si possible).
- Suspicion de bactéries anaérobies : gélose Columbia incubé en anaérobiose.

II.5.3. Lecture et interprétation :

Les milieux ensemencés sont observés après 18 à 48h d'incubation à 35 -37°C et conservés pendant 5 jours.

- **Aspect des colonies :**

On note la taille, la couleur et l'aspect.

- **Coloration de Gram :**

Principe :

La coloration de Gram permet de distinguer les bactéries à Gram négatif des bactéries à Gram positif.

Cette différence de coloration est liée à des différences de nature de la paroi bactérienne.

Elle permet de renseigner sur :

- le type de Gram + ou Gram - ;
- la forme des bactéries (coque, bacille) ;
- la taille ;
- le mode de regroupement.

Technique :

- réaliser un frottis et le fixer.
- recouvrir la lame par le violet de gentiane pendant 1 minute.
- fixer la coloration avec du lugol pendant 1 minute.
- rincer à l'eau distillée.
- décolorer dix secondes à l'alcool.
- rincer immédiatement à l'eau distillée.
- recouvrir la lame par la fuchsine phéniquée pendant 1 minute.
- laver la lame à l'eau distillée.
- sécher la lame en la tamponnant avec du papier buvard.

Lecture :

Observer à l'objectif x100 à l'immersion et à pleine lumière.

Les bactéries à Gram négatif apparaissent colorées en rose alors que les bactéries à Gram positif prennent une couleur violette.

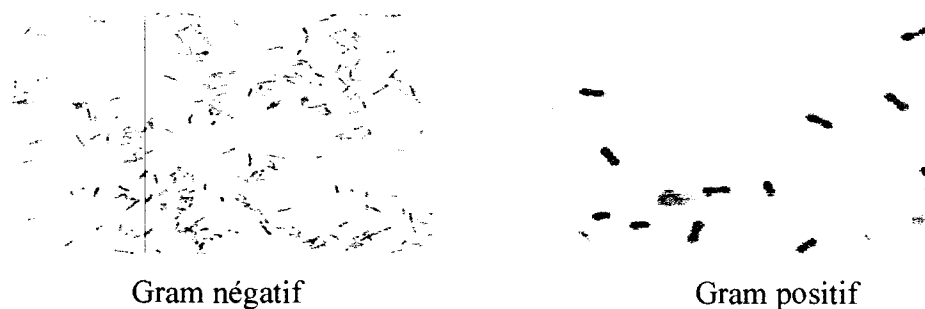


Figure 14: Lecture de la coloration de Gram.

(<http://umvf.omsk-osma.ru/microbiologie>)

II.6. Identification :

Les caractères d'identification des bactéries sont essentiellement biochimiques, on utilise des tests d'orientation et d'autres tests étudiant le métabolisme.

L'identification biochimique se fait grâce à des galeries (classique ou Api) permettant l'étude simultanée de plusieurs caractères biochimiques.

II.6.1. Les tests d'orientation :

II.6.1.1. Test de la catalase :

Principe :

Recherche de bactérie capable de dégrader le peroxyde d'hydrogène grâce à l'enzyme catalase.



Technique :

Sur une lame propre et sèche déposer une goutte d'eau oxygénée. A l'aide d'une pipette Pasteur boutonnée, ajouter l'inoculum bactérien.

Lecture :

L'observation est immédiate.

- Apparition de bulles, dégagement gazeux de dioxygène : catalase +
- Pas de bulles : catalase -.



Figure 15: Lecture de la catalase.

(<http://umvf.omsk-osma.ru/microbiologie>)

II.6.1.2. Test de l'oxydase :

Principe :

La recherche de l'oxydase est un test fondamental pour orienter l'identification des bacilles à Gram négatif.

Technique :

Sur une lame propre et sèche déposer le disque d'oxydase. On prend une colonie à l'aide d'une pipette et on la dépose sur le disque.

Lecture :

S'il y a apparition d'une couleur violette on dit que la bactérie est oxydase +, dans les cas contraire c'est-à-dire s'il n'y a pas de virage de couleur on dit qu'elle oxydase -.

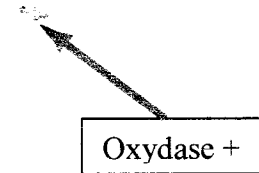


Figure 16: Lecture de l'oxydase.

(<http://umvf.omsk-osma.ru/microbiologie>)

II.6.2. Etude du métabolisme :**II.6.2.1. Galerie classique : (Annexe I)**

Ensemble de milieux en tubes qui servira à réaliser les tests biochimiques.

- **Etude de la voie d'attaque des glucides :**

Principe :

On étudie la voie d'attaque des glucides dans le milieu MEVAG-HUGS et LEIFSON.

Les bactéries attaquent les sucres soit par voie oxydative, fermentaire ou les deux à la fois.

Technique :

Au moment de l'emploi, régénérer le milieu en plaçant les tubes au bain marie pendant 15 min.

Laisser refroidir, puis ensemencer les deux tubes par pique centrale, ajouter à l'un des deux tubes de la vaseline stérile fondue pour mettre en évidence le rôle de l'O₂.

Incuber à 37°C pendant 18 à 24 h.

Lecture :

- Si seule la partie supérieure du tube sans huile est acidifiée ; le germe est oxydatif.

- S'il y a acidification des deux tubes : le germe est fermentaire.

- **Mise en évidence de la fermentation des sucres :**

Principe :

L'utilisation de l'un des sucres contenus dans le milieu TSI (Triple -Sugar -Iron) se traduit par une acidification (virage au jaune du rouge phénol).

Une alcalinisation se révèle par une coloration rouge foncée.

La production de sulfure d'hydrogène à partir du thiosulfate est mise en évidence par la formation d'une coloration noire.

Technique :

A l'aide d'une pipette remplie avec la suspension bactérienne, on fait une piqure centrale puis on ensemence la pente.

Lecture :

La gélose TSI fournit 4 renseignements principaux :

- Fermentation de glucose se traduit par le virage de la couleur du culot du rouge vers le jaune.
- Fermentation du lactose et/ou du saccharose se révèle par le virage de la couleur de la pente inclinée vers le jaune.
- Production du gaz est révélée par la formation de bulles de gaz ou par le décollement de la gélose.

Formation de H₂S se traduit par une coloration noire entre le culot et la pente ou le long de la piqure.

- **Etude de la dégradation du lactose :**

Principe :

On utilise l'ONPG ou l'ortho-Nitro-Phényle-pyranogalactoside qui est un analogue structural du lactose, pour la recherche d'une bêta galactosidase.

Technique :

- Réaliser une suspension bactérienne dense.
- Ajouter un disque d'ONPG.
- Incuber à 37°C pendant 24 h.

Lecture :

- Coloration jaune : réaction positive, bêta galactosidase +.
- Pas de coloration (milieu limpide): réaction négative, bêta galactosidase - .

- **Détermination de la voie fermentaire**

Les deux voies que nous cherchons sont :

- Voie des acides mixtes mise en évidence par le test RM (rouge de méthyle)
- Voie de butylène -glycol mise en évidence par la réaction de VP (Voges Proskauer)

Technique :

Le milieu utilisé est le bouillon Clark-Lubs, qui est ensemencé et incubé à 37°C pendant 24 h.

Après incubation, le bouillon est subdivisé en deux tubes, ajouter au premier le réactif RM et au deuxième tube les réactifs VP1 et VP2, laisser le tube ouvert 10 min incliné sur le bec bunsen.

Lecture :

RM+ : virage vers le rouge.

RM - : couleur jaune.

VP+ : virage vers le rose clair.

VP- : couleur jaune.

• **Recherche de l'uréase, Tryptophane désaminase (TDA) et Tryptophanase :**

Le milieu utilisé est le milieu de Ferguson qui contient : le tryptophane, l'urée et le rouge de phénol (le milieu est jaune) ensemencé et incubé à 37°C pendant 24h.

A/ Recherche de l'uréase :

Principe:



Lecture:

L'ammoniac formé par la bactérie uréase + provoque l'alcalinisation du milieu qui vire vers le rouge violacé.

Dans le cas contraire, le milieu reste inchangé.

B/ Recherche de Tryptophanase (Production d'indole) :

Principe :

Les bactéries possédant une tryptophanase dégradent le tryptophane et produit de l'indole.

Technique :

Après incubation, ajouter le réactif de KOVACS.

Lecture :

La présence de l'indole se révèle par l'apparition d'un anneau rouge.

C/ Recherche de la TDA :

Principe :

Les germes produisant cette enzyme conduisent par désamination oxydative du tryptophane à la formation de l'acide pyruvique.

Technique :

Après incubation, ajouter quelques gouttes de perchlorure de fer.

Lecture :

- Si la coloration est rouge brune : réaction (+)
- Si la coloration est jaune : réaction (-)

- **Recherche des décarboxylases :**

Principe :

Les bactéries dégradent les L.lysine, L.ornithine, Acide glutamique, L.arginie en empruntant des voies multiples qui, toutes aboutissent à la libération de NH_3 ou la diamine alcalin.

Technique :

Le milieu utilisé est le milieu de Moeller-Falkow qui contient l'acide aminé à étudier, du glucose du pourpre de bromocrésol d'où la coloration violette du milieu.

Ensemencer en mettant quelques gouttes de la suspension bactérienne.

Ajouter quelques gouttes d'huile de vaseline.

Incuber pendant 18h à 24h à 37°C.

Il faut toujours en parallèle faire un témoin ce dernier ne contenant que du glucose.

Lecture :

- Coloration violette : réaction (+)
- Coloration jaune : réaction (-)

Le témoin doit être après incubation jaune si non la réaction est sans valeur et elle ne peut pas être interprétée.

II.6.2.2. Galerie API : (Annexe I)

C'est un système standardisé pour l'identification des bactéries comprenant en général 20 tests biochimiques miniaturisés ; ainsi qu'une base de données.

Il existe plusieurs types de galerie selon le germe recherché :

- API 20 E : pour l'identification des entérobactéries.
- API 20NE : pour l'identification des bacilles à Gram négatif non entérobactéries.
- API Staph : pour l'identification des staphylocoques.
- API Strepto : pour l'identification des streptocoques.
- API NH : pour l'identification des Neisseria et Haemophilus.

Principe :

La galerie API comporte 20 microtubes contenant des milieux déshydratés, dans lesquelles la suspension bactérienne doit être introduite et dissout les substrats déshydratés.

Les réactions produites pendant l'incubation se traduisent par des virages colorés spontanés ou révélés par l'addition de réactifs.



Figure 17: Galerie API 20E avant ensemencement. (Originale)

Technique :

Ajouter de l'eau physiologique ou de l'eau distillée à la galerie pour humidifier l'atmosphère.

Préparer une suspension de la bactérie à identifier à partir d'une culture pure.

A l'aide d'une pipette Pasteur, introduire la suspension bactérienne dans les microtubes en appuyant sur le côté pour éviter la formation des bulles d'air.

Le remplissage doit suivre les instructions mentionnées sous chaque microtube.

Incuber la galerie à 37°C pendant 18 à 24 h.

Lecture et interprétation :



Figure 18: Galerie API 20E après incubation. (Originale)

Les réactions produites pendant l'incubation se traduisent par des virages colorés spontanés ou révélés par addition des réactifs.

La lecture de ces réactions se fait à l'aide du tableau de lecture (obtention d'un code) et l'identification est obtenue à l'aide d'un catalogue analytique ou d'un logiciel d'identification.

II.7. Etudes de la sensibilité aux antibiotiques :

Chaque souche bactérienne isolée a bénéficié d'une étude de la sensibilité aux antibiotiques selon les normes du CLSI et la standardisation en vigueur. (Rahal.K et al, 2011)

II.7.1: Antibiogramme par diffusion des disques :**Principe :**

C'est un examen qui permet d'évaluer la sensibilité de la bactérie étudiée vis-à-vis des antibiotiques auxquels elle est mise en contact.

Il consiste à placer la culture bactérienne, objet du test, en présence des antibiotiques qu'en veut étudier et à observer le développement et la survie de celle-ci.

L'effet exercé par l'antibiotique sur la culture se traduit par une zone d'inhibition dont la mesure du diamètre permet de trancher entre la sensibilité et la résistance de la souche.

L'antibiogramme se fait sur milieu Muller Hinton permettant la diffusion homogène des antibiotiques.

Il est à noter qu'il existe deux variantes de Muller Hinton : simple pour les germes non exigeants et enrichi pour les germes exigeants.

Technique :**• Préparation de l'inoculum :**

A partir d'une culture pure de 18 à 24 h, racler à l'aide d'une anse de platine quelques colonies isolées et parfaitement identiques et la décharger dans l'eau physiologique stérile à 0,9%.

Homogénéiser la suspension bactérienne dont l'opacité doit être équivalente à 0.5 MF.

• L'ensemencement :

Tremper l'écouvillon stérile dans l'inoculum (la suspension bactérienne 0,5 MF).

L'essorer en le pressant fortement (en le tournant sur la paroi interne du tube afin de le décharger au maximum).

Frotter l'écouvillon sur la gélose sur trois plans en dessinant des stries serrées et tout en tournant la boîte de 60° à chaque fois et en pivotant l'écouvillon sur lui-même.

Finir l'ensemencement en passant l'écouvillon sur la périphérie de la gélose.

• Application des disques :

Les disques d'antibiotiques sont déposés et pressés à l'aide d'une pince stérile et ne doivent en aucun cas être déplacé après application.

Le choix des antibiotiques à tester est fonction de la bactérie étudiée. (Annexe I)

- **Conditions d'incubation :**

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

Lecture :

Mesurer les diamètres des zones d'inhibition à l'aide d'un pied à coulisse puis comparer les résultats obtenus, aux valeurs critiques figurant dans les tables de lecture correspondantes.

(Annexe I)

Classer les bactéries dans l'une des catégories : Sensible (S), Résistante (R), Intermédiaire (I).

NB : Pour chaque espèce bactérienne testée, un contrôle qualité est réalisé dans les mêmes conditions de test.

II.7.2. Les tests complémentaires : (Rahal et al, 2008 ; 2011)

Pour certaines antibiotiques ou familles d'antibiotiques, l'antibiogramme standard n'est pas suffisant et des tests complémentaires doivent être pratiqués avant toute interprétation définitive.

Ces tests sont :

- La recherche de la résistance des staphylocoques à l'oxacilline.
- La recherche des bêtalactamases.
- La recherche de souches de *S. pneumoniae* de sensibilité diminuée à la pénicilline.
- Recherche de bêtalactamases à spectre élargi (BLSE) chez les entérobactéries, *Pseudomonas aeruginosa* et *Acinetobacter spp.*

II.7.2.1. La recherche de la résistance des staphylocoques à l'oxacilline :

Pour le *S. aureus*, le disque de céfoxitine est comparable à celui de l'oxacilline pour détecter la résistance à l'oxacilline par production de PLP2a (gène *MecA*) ; cependant le disque de céfoxitine est plus facile à lire et donc c'est la méthode préférée.

Pour le *S. lugdunensis* et les autres staphylocoques à coagulase négative (SCN), le test à la céfoxitine doit être utilisé pour prédire la résistance à l'oxacilline.

En pratique, pour une meilleure détection de la résistance, les disques d'oxacilline (1 µg) et de céfoxitine (30 µg) doivent être testés simultanément au niveau de l'antibiogramme standard de *S. aureus*.

Technique :

- Faire un antibiogramme selon les conditions standards d'antibiogramme.
- Appliquer le disque de céfoxitine 30µg et de disque d'oxacilline 1 µg dans l'antibiogramme standard.

Lecture et interprétation :

La lecture des diamètres d'inhibition se fait à l'aide d'un pied à coulisse et l'interprétation se fait selon les tableaux suivants :

Tableau V: La recherche de la résistance des *staphylococcus spp* à l'oxacilline et interprétation des tests (méthode de diffusion des disques)

Antibiotique	Oxacilline (1 µg)	Céfoxitine (30µg)	Interprétation
<i>S. aureus</i>	≥13 mm	≥ 22 mm	Souche OXA S
	≤12 mm	≤ 21 mm	Souche OXA R
<i>S. lugdunensis</i>	—	≥ 22 mm	Souche OXA S
	—	≤ 21 mm	Souche OXA R
Autres SCN	—	≥ 25 mm	Souche OXA S
	—	≤ 24 mm	Souche OXA R

Standardisation de l'antibiogramme à l'échelle nationale en médecine humaine et vétérinaire, 6^{ème} édition 2011 (K. Rahal et al)

En cas de discordance entre le disque de l'oxacilline et de céfoxitine pour *S.aureus*, en présence d'une infection sévère à SCN, effectuer une des recherches suivantes:

- Recherche de PLP2a.
- Screening test à l'oxacilline.
- Détermination de la CMI de l'oxacilline.

Tableau VI: Techniques utilisées pour la recherche de la résistance à l'oxacilline.

	Technique	Inoculum	Milieu	T° d'incubation	Durée d'incubation
Céfoxitine 30µg Oxacilline 1µg	Diffusion du disque en milieu gélifié	0.5 MF0	Muller Hinton	33-35°C	16-18 h
Screening test Oxa	Dilution en milieu gélifié 6 mg/ml	0.5 MF	Muller Hinton + 4 % NaCl	33-35 °C	24 h
CMI Oxa	Dilution en milieu gélifié ou Muller Hinton liquide ou E-Test	0.5 MF dilué à 1/10	Muller Hinton + 2 %NaCl	35°C	24 h
PLP2a	Selon les recommandations du fabricant	—	—	—	—

Standardisation de l'antibiogramme à l'échelle nationale en médecine humaine et
vétérinaire, 6^{ème} édition 2011(K. Rahal et al)

Tableau VII: Interprétation des tests de recherche de la résistance à l'oxacilline

	<i>S.aureus</i>	<i>S.lugdunensis</i>	SCN	Souches témoins
Céfoxitine 30 µg Oxacilline 1 µg	≤ 21 mm Résistant	≤ 21mm Résistant	≤ 24 mm Résistant	ATCC <i>S.aureus</i> 25923 sensible
Screening test Oxa	> 1 colonie = résistant	> 1 colonie = résistant	> 1 colonie =résistant	ATCC <i>S.aureus</i> 29213 sensible ATCC <i>S.aureus</i> 43300 résistant
CMI Oxa	≤ 2 et ≥ 4		≤ 0.25 et ≥ 0.5	ATCC <i>S.aureus</i> 29213 sensible 1-4µg/ml ATCC <i>S.aureus</i> 43300 résistant > 4µg/ml
PLP2a	Agglutination : PLP2a (+) Absence d'agglutination : PLP2a (-)	Agglutination LP2a: (+) Absence d'agglutination : PLP2a (-)	-	-

**Standardisation de l'antibiogramme à l'échelle nationale en médecine humaine et
vétérinaire, 6^{ème} édition 2011(Rahal.K et al)**

NB : Pour l'étude prospective application des nouvelles instructions pour la recherche de la résistance des *staphylococcus spp* à l'oxacilline (disque de céfoxitine 30 µg ou CMI a oxacilline). (Rahal.K et al, 2013)

II.7.2.2. La recherche de bêta-lactamases :

La recherche des bêta-lactamases est obligatoire pour *Haemophilus spp*, *Enterococcus spp* et *Staphylococcus spp*.

Ces tests doivent être effectués précocement en raison des implications thérapeutiques évidentes.

Plusieurs techniques peuvent être utilisées : chromogéniques, microbiologiques et iodométriques.

En pratique, c'est la technique microbiologique qui est utilisée qu'on appelle le test de trèfle.

Matériel :

- Souches de référence : *S.aureus* ATCC 2592 3 sensible à la pénicilline.
S .aureus ATCC 43300 résistant à la pénicilline.
- Souches à tester.
- Gélose Muller Hinton.
- Disques de pénicilline G ou ampicilline.

Technique :

Ensemencer une souche de *S.aureus* ATCC 25923 sur une gélose Muller Hinton à sang cuit s'il s'agit d'*Haemophilus spp*.

Appliquer un disque de pénicilline G au centre de la boîte dans le cas d'un *Staphylococcus spp* ou un disque d'ampicilline dans le cas d'*Haemophilus spp* et *Enterococcus spp*.

Ensemencer en stries radiales (du centre de la boîte vers la périphérie) la souche à tester, une souche témoin négatif (*S .aureus* ATCC 25923), une souche témoin positif (*S. aureus* ATCC 43300).

Incuber la boîte à 35°C en atmosphère normale et en atmosphère enrichie en CO₂ pour *Haemophilus spp* pendant 18 h à 24 h.

Lecture et interprétation :

La production de bêta-lactamases (pénicillinase) par la souche à étudier et la souche témoin positif induit la culture de la souche témoin négatif (sensible à la pénicilline) jusqu'au contact du disque d'ampicilline ou de pénicilline.

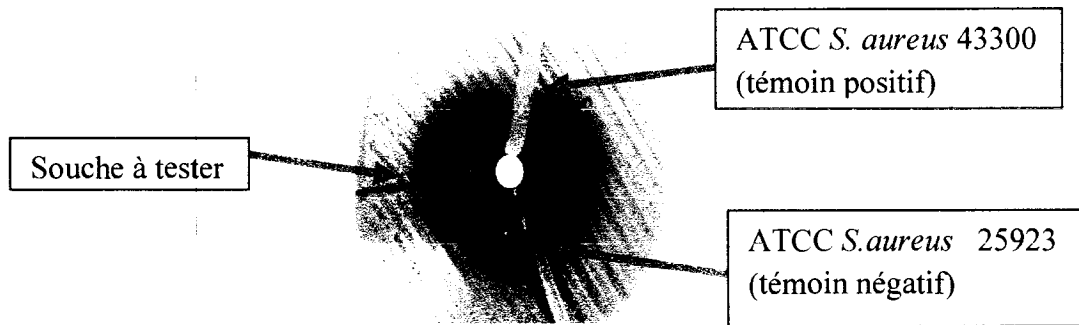


Figure 19: Production de bêta-lactamases chez l'*Haemophilus* spp par la technique microbologique (Test de trèfle). (Originale)

II.7.2.3. La détection des souches de *S. pneumoniae* de sensibilité diminuée à la pénicilline :

Actuellement des souches de *S. pneumoniae* de sensibilité diminuée aux bêta-lactamines sont de plus en plus isolées dans le LCR.

Pour cela, la recherche de ces niveaux de résistance est systématique car le choix d'antibiotiques est alors basé sur la valeur de la CMI et non pas sur les résultats de l'antibiogramme.

La détection de ces souches est effectuée en plusieurs étapes :

- Antibiogramme.
- CMI par bandelette E-test.
- Test de confirmation par CMI en milieu liquide.

Pour l'ensemble de ces tests, la souche de référence *S. pneumoniae* ATCC 49619 (CMI pénicilline : intermédiaire) doit être testée dans les mêmes conditions.

A/ L'antibiogramme :

CLSI recommande de tester un disque d'oxacilline chargé à 1 µg pour la détection de la résistance à la pénicilline. Cependant, le disque chargé à 1 µg est instable et se décharge rapidement même si la date de péremption n'est pas encore atteinte. Par conséquent, il est préférable de tester les deux disques chargés à 1 et 5 µg d'oxacilline.

Tableau VIII: Recherche de *S. pneumoniae* de sensibilité diminuée aux bêta-lactamines.

Inoculum	Oxacilline 1 µg		Oxacilline 5 µg	
	0.5 Mc Farland		0.5 Mc Farland	
Diamètre d'inhibition	≥ 20 mm	≤ 19 mm	≥ 26 mm	≤ 25 mm
Interprétation	Sensible à toutes les β-lactamines	Sensibilité diminuée à la pénicilline	Sensible à toutes les β-lactamines	Sensibilité diminuée à la pénicilline
Tests complémentaires	—	Détermination de la CMI à la pénicilline, amoxicilline, céfotaxime et imipénème	—	Détermination de la CMI à la pénicilline, amoxicilline, céfotaxime et imipénème

Standardisation de l'antibiogramme à l'échelle nationale en médecine humaine et vétérinaire, 6^{ème} édition 2011 (K. Rahal et al)

B/ CMI par bandelettes E-test :

Cette technique, utilisant des bandes imprégnées d'un gradient de concentration d'antibiotiques, permet d'obtenir simplement et rapidement une détermination de la CMI, dans les mêmes conditions que l'antibiogramme standards.

Technique :

- Ensemencer le milieu par la souche à tester en suivant les conditions standards d'antibiogramme.
- Prélever la bandelette à l'aide d'une pince bactériologique flambée au bec bunsen.
- Le contact avec la pince doit se faire au niveau de l'extrémité E.
- Déposer la bandelette délicatement sur la gélosée en commençant de l'extrémité correspondant aux concentrations les plus faibles de l'antibiotique à tester.
- Eviter la formation des bulles d'air entre la gélose et la bandelette.
- Il est à noter qu'une fois la bandelette est appliquée elle ne peut pas être déplacé.
- Laisser la boîte couvercle en haut pendant 15 min.
- Incuber la boîte dans les conditions requises selon la nature de la bactérie testée.

Lecture :

L'interprétation ne peut se faire que si les résultats de la souche de référence *S.pneumoniae* ATCC 49619 rentrent dans l'intervalle des valeurs critiques données par le CLSI.

Lire la valeur de la CMI correspondant à l'intersection entre l'ellipse de non culture et la bandelette.

Comparer ces résultats aux valeurs critiques figurant dans le tableau récapitulatif des valeurs critiques pour les CMI de *S.pneumoniae*. Classer la bactérie dans l'une des catégories : sensible, intermédiaire ou résistante.

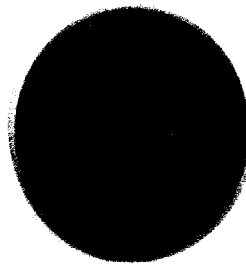


Figure 20 : CMI par technique E-test. (Originale)

Tableau IX: Valeurs critiques pour les CMI de *S. pneumoniae*.

Interprétation	Sensible	Intermédiaire	Résistant	Contrôle de qualité de <i>S.pneumoniae</i> ATCC 49619
β -lactamines				
Pénicilline parentérale				
Méningite	≤ 0.06	-	≥ 0.12	0.25 - 1
Autre que méningite	≤ 2	4	≥ 8	
Pénicilline orale (pénicilline V) ($\mu\text{g/ml}$)	≤ 0.06	0.12 - 1	≥ 2	0.25 - 1
Amoxicilline ($\mu\text{g/ml}$)				
Autre que méningite	≤ 2	4	≥ 8	0.03 - 0.12
Céfotaxime ($\mu\text{g/ml}$)				
Méningite	≤ 0.5	1	≥ 2	0.03 - 0.12
Autre que méningite	≤ 1	2	≥ 4	
Imipénème ($\mu\text{g/ml}$)	≤ 0.12	0.25 - 0.5	≥ 1	0.03 - 0.12

Standardisation de l'antibiogramme à l'échelle nationale en médecine humaine et vétérinaire, 6^{ème} édition 2011 (K. Rahal et al)

II.6.2.4. Recherche de bêtalactamases à spectre élargi (BLSE) chez les entérobactéries, *Pseudomonas aeruginosa* et *Acinetobacter spp* :

• **Définition des BLSE :**

Ce sont des enzymes produites par les entérobactéries, *Pseudomonas aeruginosa* et *Acinetobacter* entraînant une diminution de l'activité des céphalosporines de 3^{ème} génération (céfotaxime CTX, céftazidime CAZ, céftriaxone CRO) et des monobactames (aztréonam ATM) mais n'ayant aucune activité vis-à-vis des céphamycines (céfoxitine FOX) ni des carbapénèmes (imipénème IPM).

Selon les recommandations du CLSI, la recherche de la BLSE n'est pas obligatoire cependant elle garde son intérêt dans les études épidémiologiques et en hygiène hospitalière.

On recherche une BLSE devant un diamètre inférieur aux valeurs suivantes :

Céfotaxime (27 mm).

Céftazidime (22 mm).

Céftriaxone (25 mm).

Aztréonam (27 mm).

- **Méthode de détection de BLSE :**

- a/ **Le test de synergie :**

Les BLSE dérivées des enzymes de classe A sont inhibées par les inhibiteurs de bêtalactamases (acide clavulanique).

- **Entérobactéries :**

- Technique :**

La recherche de la BLSE se fait dans les conditions standards de l'antibiogramme en déposant un disque d'amoxicilline +acide clavulanique AMC (20/10 µg) à 30mm centre à centre d'un disque de C3G (céfotaxime CTX 30 µg ou céftriaxone CRO 30 µg).

Incuber 18 h à 35°C.

- Lecture :**

La production d'enzyme peut se traduire par l'apparition d'une image de synergie ou bouchon de champagne entre les disques :

AMC et CTX

AMC et CRO



Figure 21 : Image de synergie. (Originale)

En absence d'une image de synergie, la production de BLSE est suspectée devant toute diminution du diamètre autour des disques de C3G.

- ***Pseudomonas aeruginosa* et *Acinetobacter spp* :**

La détection est plus difficile en raison d'association avec d'autres mécanismes de résistance tels : hyperproduction de céphalosporinases.

Technique :

La recherche se fait dans les conditions standards de l'antibiogramme en déposant un disque de ticarcilline +acide clavulanique (TCC 75/10 µg) à 30 mm (centre à centre) d'un disque de C3G : céftazidime (CAZ 30µg), aztréonam (ATM 30µ g), céfépime (FEP 30µg).

Incubation :

Incuber 18 h à 35 °C.

Lecture :

Le test est positif s'il y a apparition d'une image de synergie entre les disques :

TCC et CAZ

TCC et ATM

TCC et FEP

b/ Test de confirmation ou technique du double disque (Test espagnol) :

Ce test doit être fait systématiquement devant :

- Absence de synergie avec diminution des diamètres des C3G.
- La présence d'une résistance aux molécules suivantes : ampicilline, ticarcilline, céfazoline, avec un diamètre inférieur à 6 mm par contre l'AMC présente un diamètre d'inhibition.



Figure 22: Absence de synergie. (Originale)

Technique :

Ce test se fait dans les conditions standards de l'antibiogramme.

- Appliquer les disques d'antibiotiques :

Pour les entérobactéries déposer un disque d'AMC et un disque de C3G (CTX ou CRO) à une distance de 30mm (centre à centre).

Pour *P.aeruginosa* et *Acinetobacter spp*, déposer un disque de TCC avec un disque de C3G (CAZ) ou monobactame (ATM) à une distance de 25 mm.

- Laisser diffuser les antibiotiques pendant une heure, à température ambiante, la boîte déposée couvercle vers le haut.

- Après 1 h d'incubation ôter le disque d'AMC et le remplacer par un disque de C3G (CTX ou CRO) pour les entérobactéries, CAZ pour le *Pseudomonas aeruginosa* et *Acinetobacter spp*.

- incuber la boîte 18 h à 35°C.

Lecture et interprétation :

Le test du double disque est positif quand le diamètre d'inhibition autour du C3G appliqué après diffusion du disque d'AMC ou TCC est supérieur ou égale à 5 mm par rapport à celui autour du disque de C3G.



Figure 23: Test de double disque.(Originale)

II.6.3. Contrôle de qualité de l'antibiogramme :

Ce contrôle a pour but de vérifier :

- La précision et la fiabilité de la technique des tests de sensibilité.
- La performance des réactifs utilisés dans les tests.
- La performance du personnel qui effectue les tests et la lecture.

Il est pratiqué en moyen d'une fois par semaine à chaque nouveau lot de Mueller Hinton et / ou d'antibiotiques, réalisés pour les 4 souches de référence, dans les mêmes conditions opératoires que celles décrites pour les bactéries isolées.

Chapitre III

Résultats

Chapitre III : Résultats

Les résultats obtenus se répartissent en deux volets :

- Les résultats de l'étude rétrospective qui s'est étalée sur une période de cinq années allant de Janvier 2009 à Décembre 2013.
- Les résultats de l'étude prospective qui a duré quatre mois (de Janvier à Avril 2014).

Les résultats étaient exploités à partir d'un registre pour l'étude prospective et grâce au logiciel WHONET 5.6, pour l'étude rétrospective, ceci est un logiciel utilisé pour la surveillance de la résistance bactérienne aux antibiotiques.

III.1. Résultats de l'étude rétrospective :

Les données de l'étude rétrospective ont permis de recenser 331 cas positifs (75 cas en 2009, 44 cas en 2010, 82 cas en 2011, 67 cas en 2012 et 63 cas en 2013).

III.1.1. Répartition des cas positifs selon la provenance des prélèvements

(externe/interne) :

Les résultats de l'étude rétrospective montrent que la plupart des cas positifs sont identifiés chez les patients hospitalisés soient 79 % en 2009, 77 % en 2010, 89 % en 2011, 96 % en 2012 et 97 % en 2013

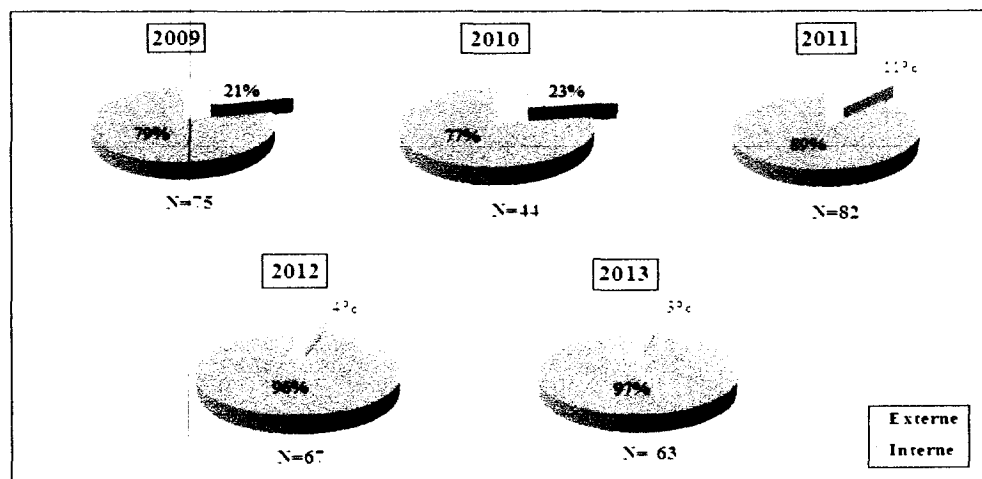


Figure 24: Répartition des cas positifs selon la provenance des prélèvements (externe/interne) (2009-2013)

III.1.2. Répartition des cas positifs selon le sexe :

Globalement, l'étude montre que les cas positifs sont rencontrés un peu plus chez les sujets de sexe masculin soient 64 %, 50%, 57 % et 57 % respectivement pour les années 2009, 2011, 2012 et 2013, sauf en 2010 où on note une légère prédominance de cas positifs chez les sujets de sexe féminin soit 52%. Alors qu'on marque la présence de 13 cas dont le sexe est indéterminé.

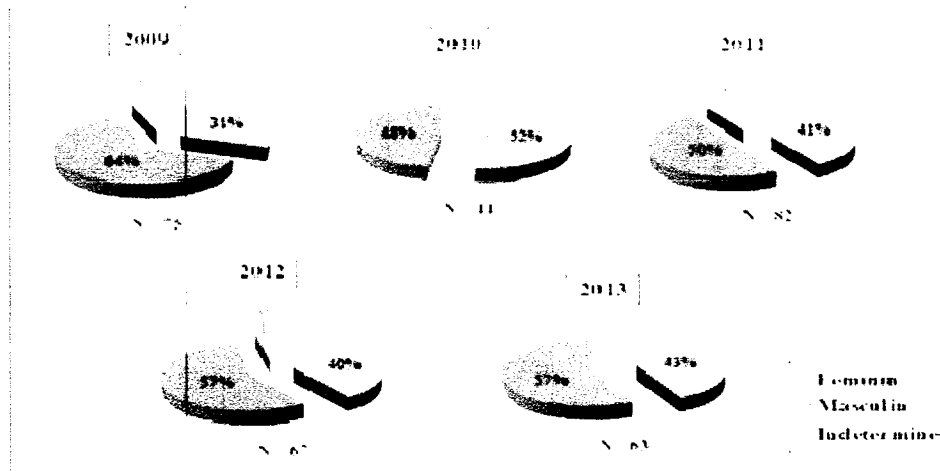


Figure 25: Répartition des cas positifs selon le sexe (2009-2013)

III.1.3. Répartition des cas positifs selon le service :

D'après les résultats obtenus sur les cinq années de l'étude, on observe que la plupart des cas positifs sont rencontrés dans le service de neurochirurgie soient 55 % en 2009, 54 % en 2010, 56 % en 2011, 79 % en 2012 et 95 % en 2013, suivi par la pédiatrie et la néonatalogie, les autres cas positifs proviennent d'autres services notamment le service de neurologie.

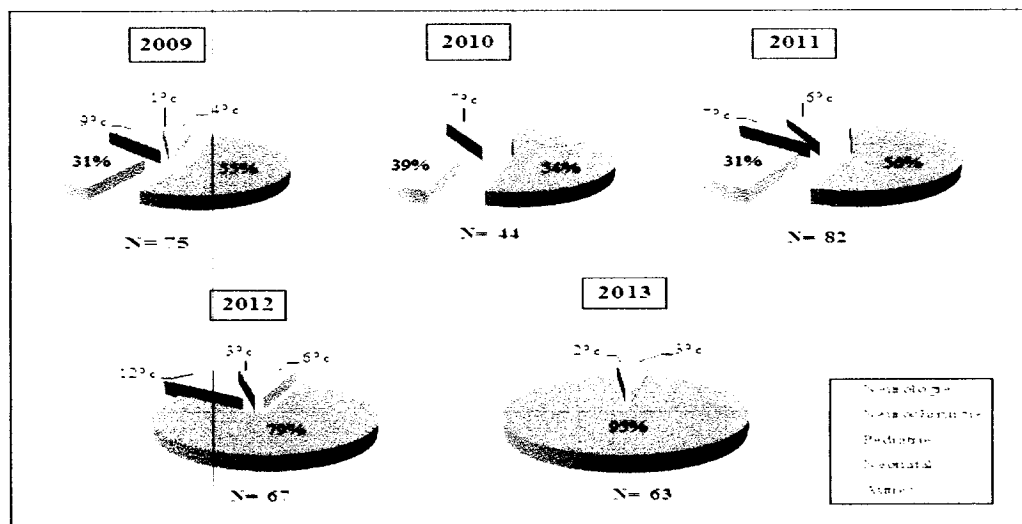


Figure 26: Répartition des cas positifs selon les services (2009-2013)

III.1.4. Répartition des bactéries isolées selon le caractère morpho-tinctorial :

D'après les données de l'étude, on note la dominance des bactéries à Gram négatif par rapport aux bactéries à Gram positif surtout en 2009 où on trouve 79 % de bactéries à Gram négatif et 21 % de bactéries à Gram positif, alors qu'on note une exception en 2011 où on trouve plus de bactéries à Gram positif soit 60 % que des bactéries à Gram négatif soit 40 %.

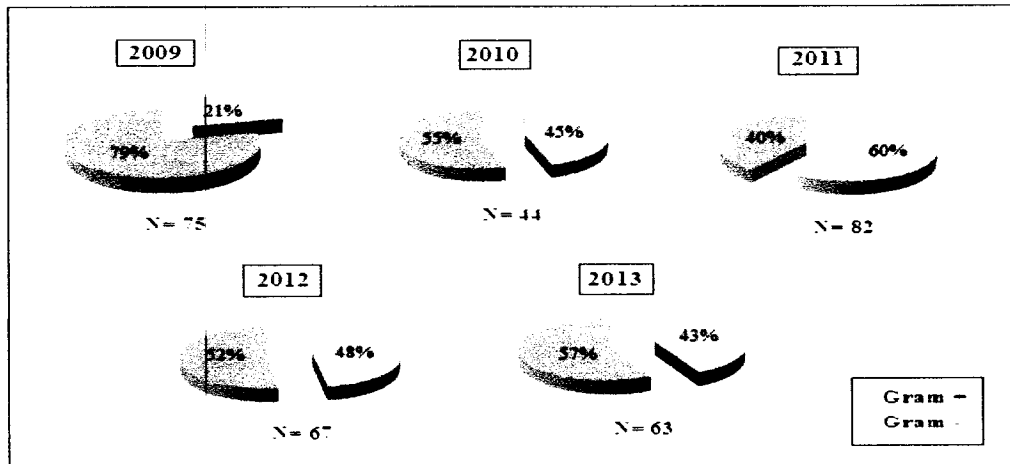


Figure 27: Répartition des bactéries isolées selon la coloration de Gram.(2009-2013)

III.1.5. Répartition des bactéries isolées par genre bactérien :

Dans cette étude on note la présence d'une diversité de genres bactériens isolés à partir des prélèvements du LCR donnant de culture positive, notons que les genres bactériens les plus fréquemment incriminées dans les méningites appartiennent aux genres Staphylocoque, Pseudomonas, Acinetobacter et Streptococcus.

Les résultats obtenus sont représentés ci-dessous :

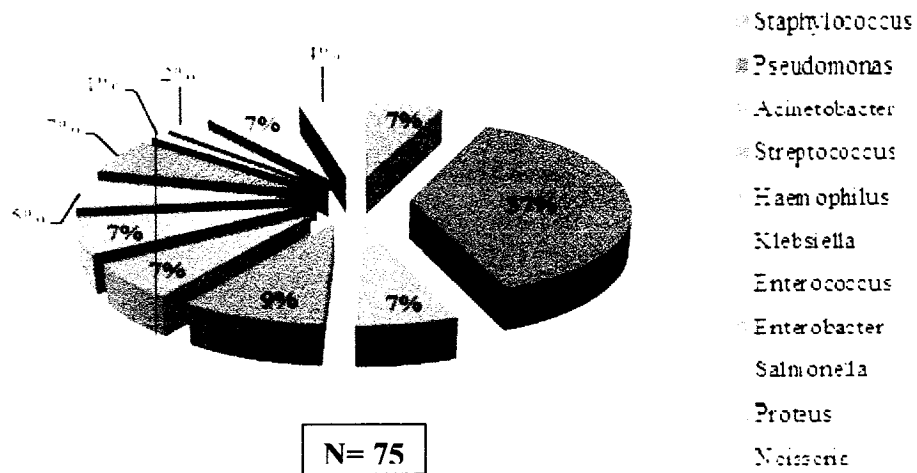


Figure 28: Répartition des genres bactériens isolés en 2009

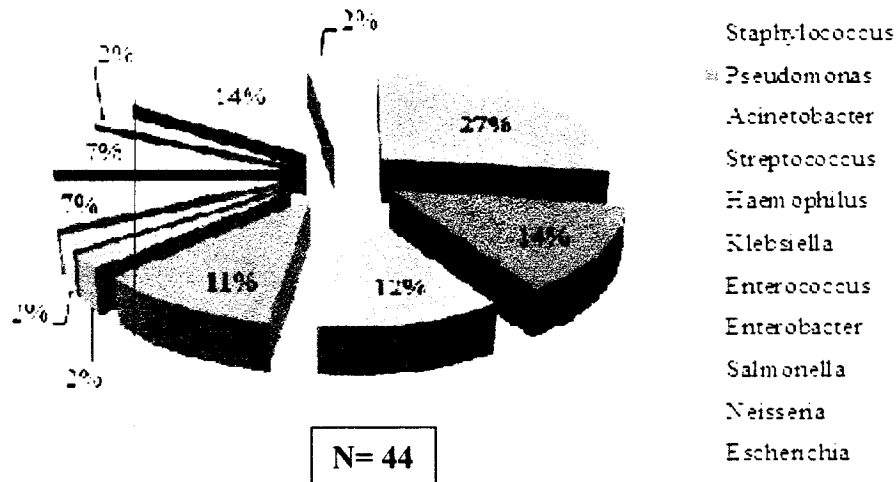


Figure 29: Répartition des genres bactériens isolés en 2010.

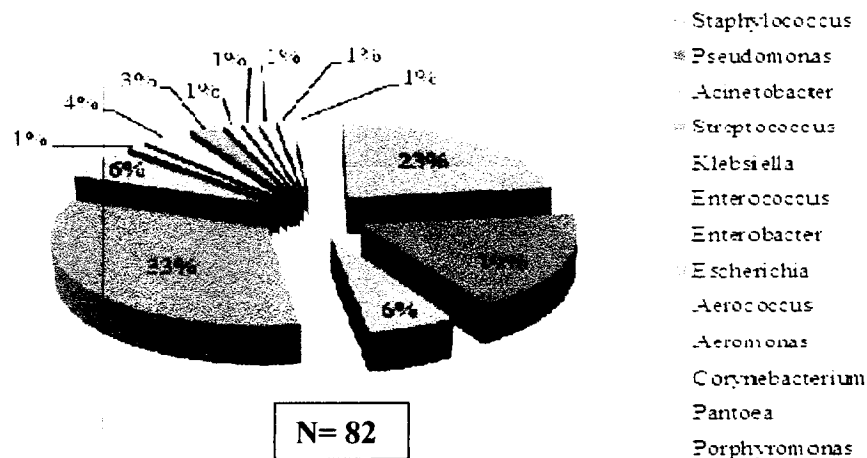


Figure 30: Répartition des genres bactériens isolés en 2011.

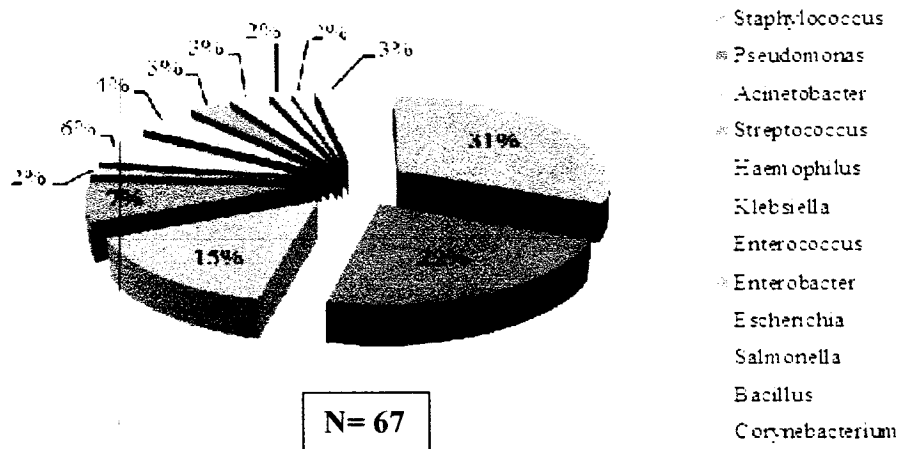


Figure 31: Répartition des genres bactériens isolés en 2012.

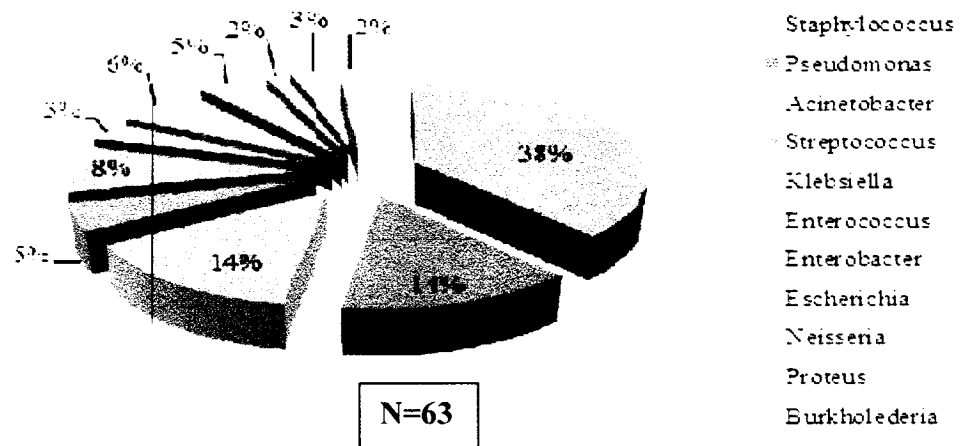


Figure 32: Répartition des genres bactériens isolés en 2013.

III.1.6. Répartition des espèces bactériennes isolées : (Annexe IV)

La répartition des germes selon les espèces bactériennes isolées durant les cinq années d'étude (2009 à 2013) est illustrée par les figures ci-dessous :

En 2009, *Pseudomonas aeruginosa* arrive en tête avec 24 souches sur 75 soit 32 %.

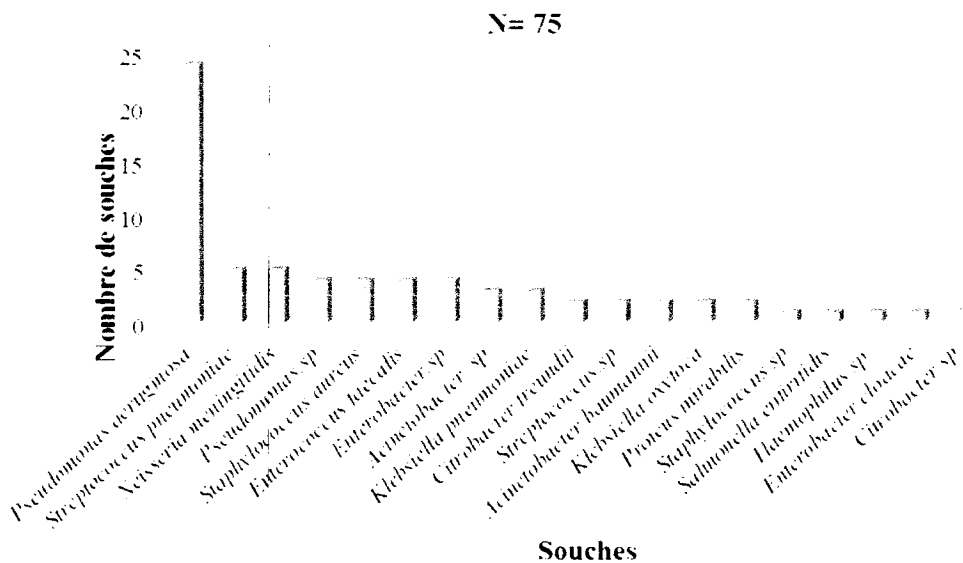


Figure 33: Répartition des espèces bactériennes isolées pour l'année 2009.

En 2010, les staphylocoques à coagulase négative arrivent en première place avec un chiffre de 10 souches sur 44 soit 22.72 %, suivi par *Neisseria meningitidis* avec 06 souches sur 44 soit 13.63 %, alors que en 3^{ème} position, on trouve *Pseudomonas aeruginosa* avec 05 souches sur 44 soit 11.36 % et puis *Acinetobacter baumannii* et *Streptococcus pneumoniae* avec 03 souches chacun.

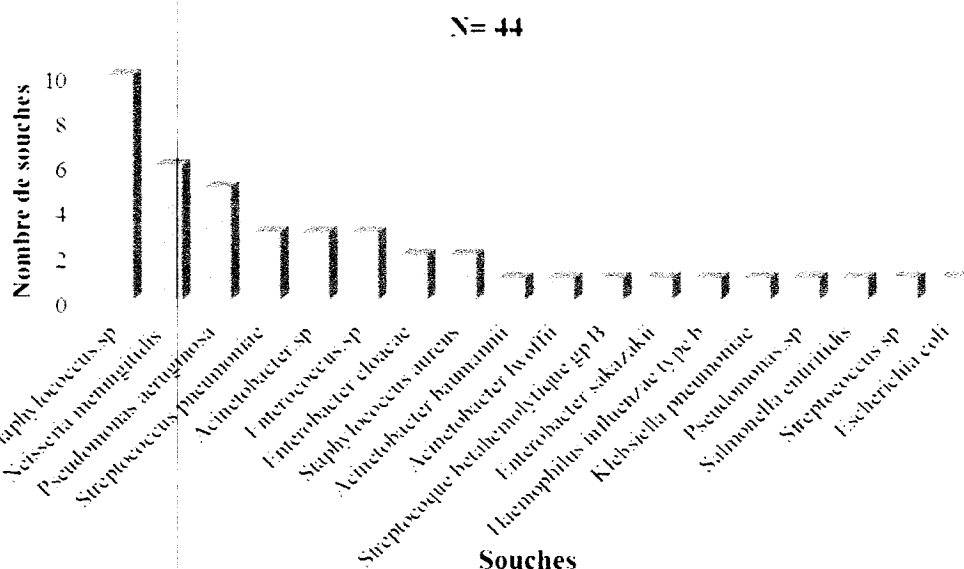


Figure 34: Répartition des espèces bactériennes isolées pour l'année 2010.

En 2011, les espèces *Streptococcus.sp* et les Staphylocoques à coagulase négative arrivaient en tête avec 17 et 16 souches isolées sur 82 soit 20.76% et 19.51 % respectivement, suivi par *Pseudomonas aeruginosa* avec 12 souches soit 14.63 %, en 3^{ème} position, on trouve *Streptococcus pneumoniae* avec un nombre de 07 souches sur 82 (soit 08.53 % des isolats) et puis *Acinetobacter baumannii* avec 05 souches (soit 06.09% des isolats).

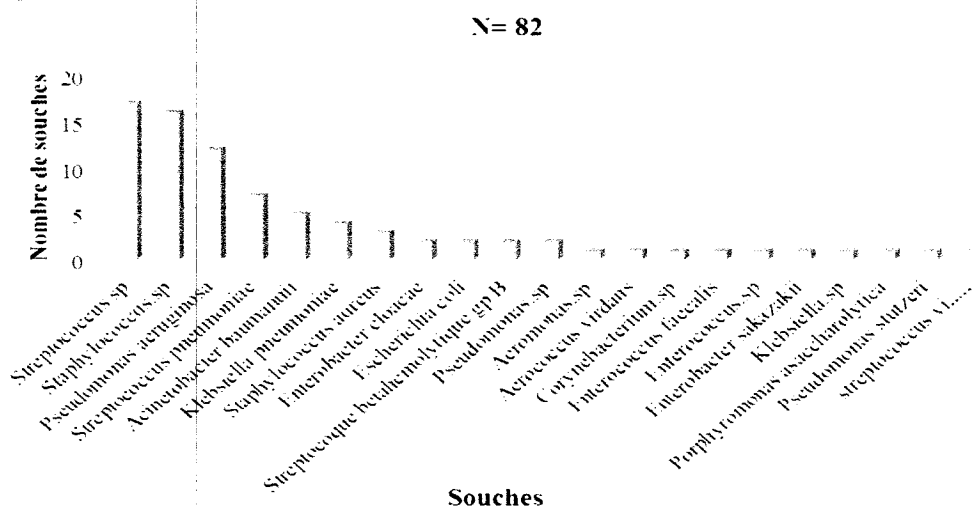


Figure 35: Répartition des espèces bactériennes isolées pour l'année 2011.

En 2012, les Staphylocoques à coagulase négative et *Pseudomonas aeruginosa* arrivaient en tête de liste avec 18 souches sur 67 soit 26.86 % des isolats pour les Staphylocoques à coagulase négative et 10 souches sur 67 soit 14.92% des isolats pour *Pseudomonas aeruginosa*, suivi par *Acinetobacter baumannii* avec 07 souches soit 10.44% des isolats.

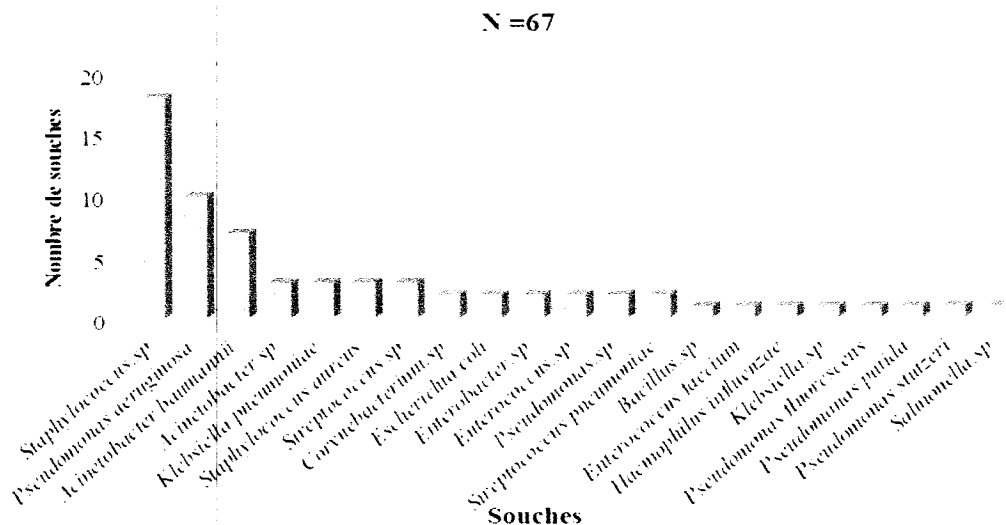


Figure 36: Répartition des espèces bactériennes isolées pour l'année 2012.

Pour l'année 2013, les Staphylocoques à coagulase négative était en tête de liste avec 22 souches sur 63 (soit 34.92 % des isolats), puis arrive *Acinetobacter baumannii* avec 08 souches sur 63 (soit 12.70 % des isolats), alors qu'en 3^{ème} position, on trouve *Pseudomonas aeruginosa* avec 07 souches sur 63 (soit 11.11 % des isolats) puis *Klebsiella pneumoniae* avec 05 souches sur 63 (soit 07.94 % des isolats).

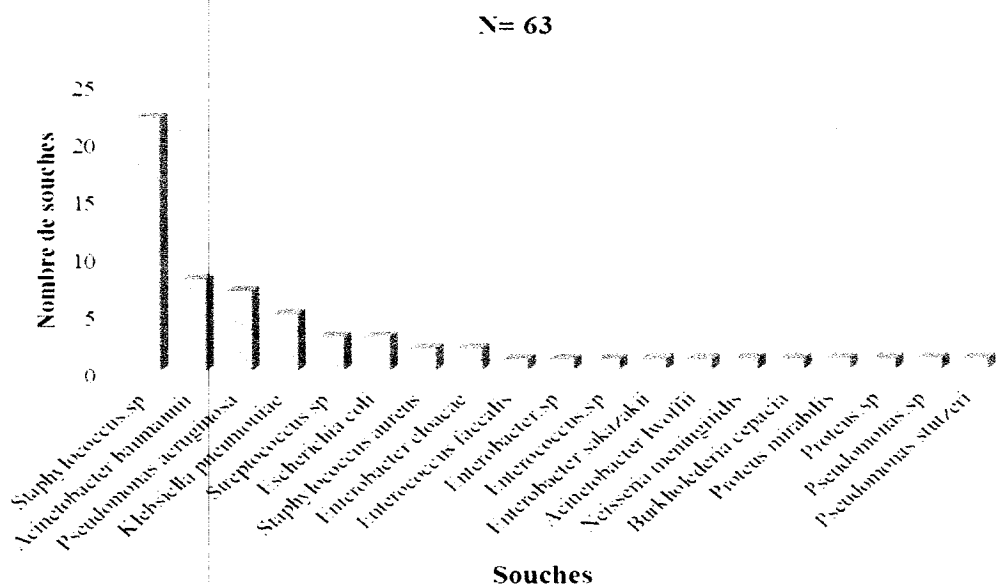


Figure 37: Répartition des espèces bactériennes isolées pour l'année 2013.

Notons l'isolement d'une souche de *salmonella enteritidis* au cours de l'année 2009 et 2010, et une souche de *Salmonella.sp* en 2012.

En 2012, on peut remarquer l'isolement d'une souche de *Porphyromonas asaccharolytica*.

En ce qui concerne les principaux germes responsables de méningites communautaires, le taux d'isolement sur les 05 années d'études étaient faibles : *Neisseria meningitidis* (03.62 %), *Streptococcus pneumoniae* (14.19 %) et *Haemophilus influenzae* (02.11 %).

**Neisseria meningitidis* : En 2009, le nombre de souches isolées était de 05 sur 75, 06 souches sur 44 en 2010, et une seule souche sur 63 en 2013, alors qu'aucune souche n'a été isolée durant les années 2011 et 2012.

**Streptococcus pneumoniae* : En 2009, on a trouvé 05 souches sur 75, 03 souches sur 44 en 2010, 07 souches sur 82 en 2011 et 02 souches sur 67 en 2012, alors qu'aucune souche n'a été isolée durant l'année 2013.

**Haemophilus influenzae* : En 2009, le nombre des souches isolées était de 04 sur 75, et d'une seule souche sur 44 en 2010, alors qu'aucune souche n'a été isolée durant les années 2011, 2012 et 2013.

III.1.7. Résistance des bactéries isolées aux antibiotiques :

- **Les staphylocoques et résistance à la méticilline:**

D'après les résultats de l'étude, on remarque que le taux des staphylocoques méticillino-résistants est important : 02 souches sur 05 en 2009, 10 souches sur 12 en 2010, 13 souches sur 19 en 2011, 12 souches sur 21 en 2012 et 18 souches sur 24 en 2013.

Notons que la méticillino-résistance a été détectée surtout chez les Staphylocoques à coagulase négative.

- **Les entérobactéries isolées et production de BLSE :**

La recherches de la BLSE a été effectuée chez les différentes souches d'entérobactéries, certaines ont présenté le phénotype BLSE, il s'agit des souches qui appartiennent aux genres *Klebsiella*, *Enterobacter* et *Escherichia*.

Nous avons pu constater que environ 50% des entérobactéries isolées étaient productrices de BLSE : 05 souches sur 10 en 2009, 03 souches sur 06 en 2010, 07 souches sur 10 en 2011, 04 souches sur 09 en 2012.

Alors que pour l'année 2013, plus de la moitié des souches isolées étaient productrices de BLSE (10 souches sur 14 isolées).

Il est à mentionner que sur les cinq années d'étude, 06 entérobactéries isolées étaient résistantes à l'imipénème.

- ***Pseudomonas aeruginosa* et résistance aux antibiotiques :**

D'après nos résultats, aucune souche de *Pseudomonas aeruginosa* isolée n'a présenté le phénotype BLSE.

Pour la résistance de *Pseudomonas aeruginosa* à l'imipénème, seulement une souche sur les 24 isolées en 2009, une sur les 10 isolées en 2012 et une sur les 07 isolées en 2013 étaient résistantes, alors que toutes les souches isolées en 2010 et 2011 étaient sensibles.

- ***Acinetobacter baumannii* et résistance aux antibiotiques :**

Toutes les souches du genre *Acinetobacter* isolées en 2009, 2010 et 2011 n'étaient pas productrices de BLSE.

En 2012, une seule souche sur les 10 isolées était BLSE +, alors que pour l'année 2013, nous avons constaté que 02 souches sur les 09 souches isolées étaient productrices de BLSE. A noter que les souches BLSE+ étaient des *Acinetobacter baumannii*.

Toutes les souches *Acinetobacter* isolées en 2009 et 2010 étaient sensibles à l'imipénème, alors que 02 souches sur les 05 isolées en 2011, 03 souches sur les 10 isolées en 2012 et une seule sur les 09 isolées en 2013 étaient résistantes.

A noter que les souches résistantes étaient des *Acinetobacter baumannii*.

- ***Haemophilus* isolés producteurs de pénicillinase (PASE) :**

Sur les cinq années, une seule souche d'*Haemophilus influenzae* sur les 07 isolées était productrice de pénicillinase.

- ***Streptococcus pneumoniae* isolés et sensibilité diminuée à la pénicilline (PSDP) :**

Sur les cinq années, 17 *Streptococcus pneumoniae* ont été isolées, environ la moitié était des pneumocoques de sensibilité diminuée à la pénicilline.

III.2. Résultats de l'étude prospective :

Les résultats de l'étude prospective ont permis de recenser 237 prélèvements du LCR provenant des malades hospitalisés.

II.2.1. Répartition des prélèvements selon le sexe :

Parmi les 237 prélèvements reçus, 126 soit 53.16 % proviennent des sujets de sexe masculin, alors que 111 soit 46.84 % proviennent des sujets de sexe féminin donc une légère prédominance masculine.

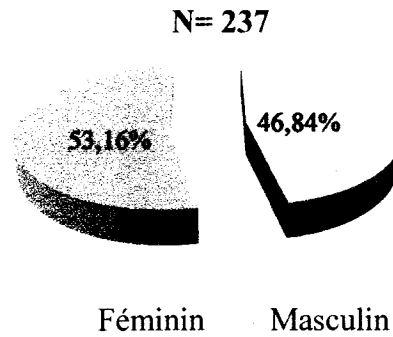


Figure 38: Répartition des prélèvements selon le sexe en 2014

III.2.2. Répartition des prélèvements selon le service :

Les services de neurologie et de neurochirurgie sont les plus demandeurs d'examen bactériologique du LCR avec des pourcentages de 37.97 % et 36.71 % respectivement, alors que le service CAC/Hématologie occupe la troisième place avec un pourcentage de 23.21 %.

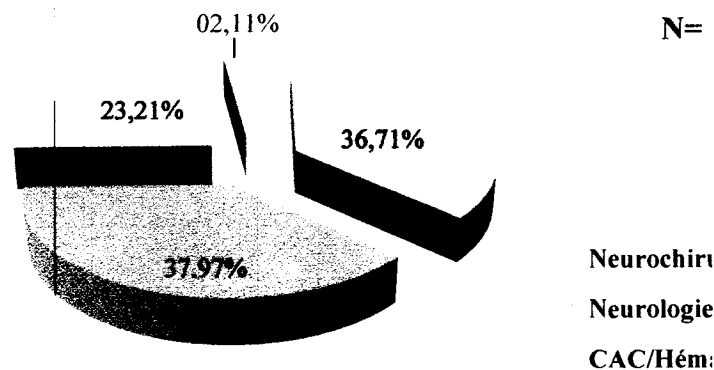


Figure 39: Répartition des prélèvements selon le service en 2014

III.2.3. Répartition des prélèvements selon les résultats de l'examen microscopique :

L'étude montre que parmi les 237 prélèvements, 129 soit 54.43 % révèlent une cytologie normale du LCR, tandis que 99 prélèvements soit 41.77 % présentent un taux de globules blancs évocateur d'une réaction inflammatoire.

Il est à noter que 09 prélèvements sur 237 soit 03.80% présentent un aspect hématique pour lesquels la quantification des globules blancs est impraticable.

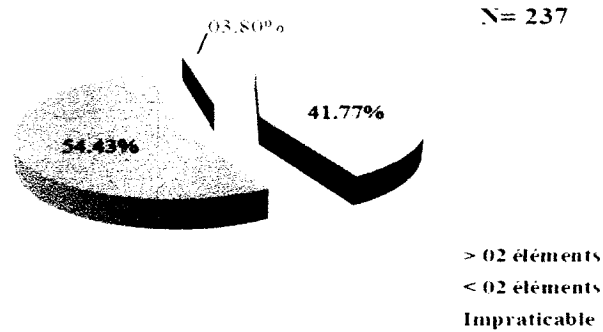


Figure 40: Répartition des prélèvements selon les résultats de l'examen microscopique en 2014

III.2.4. Répartition des prélèvements selon la glycorachie :

La glycorachie a été réalisée pour 213 prélèvements sur les 237 reçus, La détermination de la glycorachie a permis de classer les prélèvements reçus en quatre catégories, les résultats obtenus sont résumés dans le tableau ci-dessous :

	Hypoglycorachie	Glycorachie normale	Hyperglycorachie	Impraticable
Nombre de prélèvements	74 / 237	10 / 237	129 / 237	24 / 237

Tableau X: Répartition des prélèvements reçus selon la glycorachie.

III.2.5. Répartition des prélèvements selon le taux de positivité de la culture :

La mise en culture des 237 prélèvements a donné 20 cultures positives et 217 cultures négatives, soit un taux de positivité égale à 08.44 %.

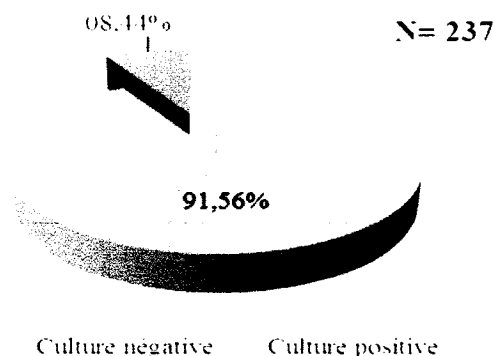


Figure 41: Répartition des prélèvements selon le taux de positivité des cultures en 2014.

III.2.6. Relation entre le taux de GB et le taux de positivité des cultures :

La répartition des cultures positives et négatives en fonction des taux des globules blancs est représentée dans le tableau ci-dessous :

	Culture positive	Culture négative	Taux de positivité
≤ 02 éléments	00	129	00/129
02 – 100 éléments Réaction inflammatoire moyenne	10	73	10/ 83
>100 éléments* Réaction inflammatoire importante	06	10	06 / 16
Impraticable	04	05	04 / 09

Tableau XI: Relation entre le taux de GB et le taux de positivité des cultures.

Ainsi, on constate que plus la réaction inflammatoire est importante plus le taux de positivité des cultures augmente.

A noter qu'un taux de positivité non négligeable a été retrouvé dans des cas où l'examen microscopique était impraticable (04 cultures positives pour 09 prélèvements).

III.2.7. Relation entre la glycorachie et le taux de positivité des cultures :

Les résultats obtenus concernant la répartition des cultures positives et négatives en fonction des valeurs de la glycorachie sont répertoriés dans le tableau ci-dessus :

	Culture positive	Culture négative	Taux de positivité
Glycorachie normale	00	10	00 / 10
Hypoglycorachie	10	64	10 / 74
Hyperglycorachie	04	125	04 / 129
Impraticable	06	18	06 / 24

Tableau XII: Relation entre la glycorachie et le taux de positivité des cultures.

On remarque que dans 50 % des cas, la positivité des cultures est en relation avec une hypoglycorachie, tandis que 04 cultures positives soit 20 % proviennent des prélèvements du LCR reçus présentant une hyperglycorachie.

Il est à mentionner que 06 cultures positives sur 20 proviennent des prélèvements à aspect hématique ou citrin pour lesquels la glycorachie n'a pas pu être déterminée.

* OVERTURF GD. Defining bacterial meningitis and other infections of the central nervous system. Pediatric Care 2005; 6(Suppl. 3):S14-8.)

III.2.8. Répartition des bactéries isolées selon la coloration de Gram :

Sur les 20 souches isolées, 11 souches soit 55 % sont des bactéries à Gram positif, alors que les bactéries à Gram négatif sont isolées à un taux de 45% soit 09 souches.

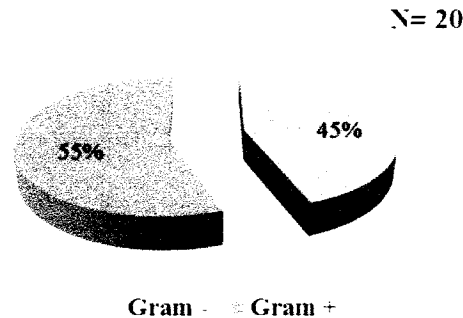


Figure 42: Répartition des bactéries isolées selon la coloration de Gram en 2014

III.2.9. Répartition des bactéries isolées selon le genre bactérien :

D'après les résultats de notre étude, les staphylocoques occupent la première place avec un chiffre de 07 souches sur 20 soit 35 %, puis viennent les genres bactériens *Pseudomonas* et *Enterococcus* en deuxième position avec 04 souches sur les 20 souches isolées soit 20 % chacun.

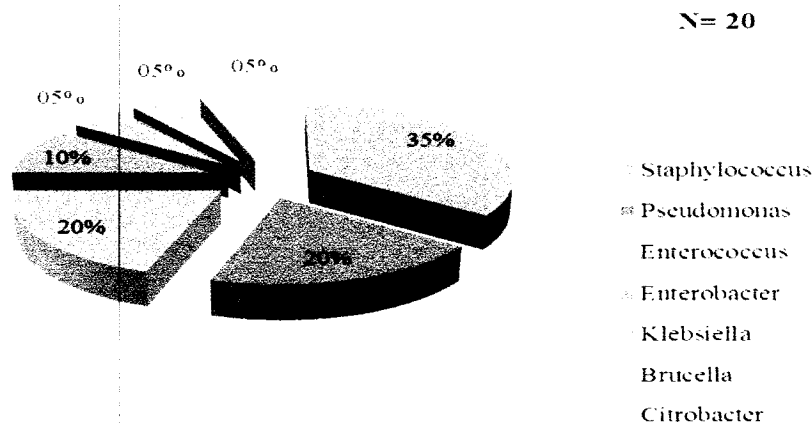


Figure 43: Répartition des bactéries isolées selon le genre bactérien en 2014

III.2.10. Répartition des bactéries isolées selon l'espèce bactérienne : (Annexe IV)

Dans notre étude, les Staphylocoques à coagulase négative sont en tête de liste avec 06 souches sur 20 soit 30 % puis arrivent *Pseudomonas aeruginosa*, *Enterobacter cloacae*, *Enterococcus faecalis* et *Enterococcus faecium* avec 02 souches chacun soit 10 %. Notons l'isolement d'une souche de *Brucella melitensis*.

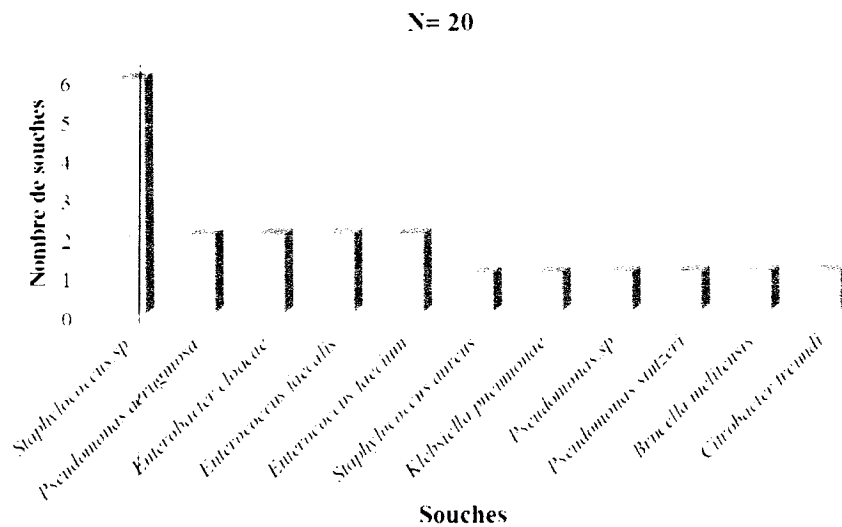


Figure 44: Répartition des bactéries isolées selon l'espèce bactérienne en 2014

III.2.11. Antibiorésistance des principales bactéries isolées :

- **Staphylocoques et antibiorésistance :**

L'étude montre que toutes les souches de staphylocoques isolées sont résistantes à la pénicilline.

Il est à mentionner que 05 souches sur les 06 isolées soit 83.33 % sont méticillino-résistantes et aucune souche n'a été résistante aux glycopeptides.

- **Entérobactéries et antibiorésistance :**

D'après les résultats obtenus, une seule souche d'entérobactéries parmi les 04 isolées présente le phénotype BLSE, il s'agit d'*Enterobacter cloacae*.

Pour ce qui est de la résistance des entérobactéries isolées aux bêtalactamines, on note que toutes les souches sont résistantes à l'ampicilline, à la céfazoline, alors qu'aucune souche ne résiste à l'imipénème.

- **Pseudomonas et antibiorésistance :**

D'après nos résultats, aucune souche de *Pseudomonas* isolée ne présente le phénotype BLSE et elles sont toutes sensibles à la céftazidime.

- **Enterococcus et antibiorésistance :**

Les résultats de notre étude montrent que sur les 04 souches d'*Enterococcus* isolée, aucune souche ne résiste à l'ampicilline.

On note que 100% des souches isolées sont sensible aux glycopeptides.

Chapitre IV
Discussion

Chapitre IV : Discussion

Les méningites bactériennes sont une urgence thérapeutique dont le délai entre l'évocation du diagnostic et l'antibiothérapie doit être le plus court possible en raison du pronostic redoutable.

Les résultats de l'étude rétrospective et prospective nous ont permis de faire les constatations suivantes :

La majorité des prélèvements proviennent des sujets hospitalisés (entre 79 % et 97 % étude rétrospective, 100% étude prospective), cela est également constaté dans une étude rétrospective étalée sur une période de 10 ans (2003-2012) réalisée par **D. Haouchine et al (2013)** au laboratoire de microbiologie et de parasitologie du CHU Tizi-Ouzou où ils ont retrouvé un taux égale à 100%.

Les services de neurochirurgie et de neurologie sont les services les plus demandeurs d'ECB du LCR, suivis par le service de pédiatrie et de néonatalogie.

La plupart des cas de méningites confirmées bactériologiquement proviennent de sujets hospitalisés laissant suggérer qu'il puisse s'agir d'une méningite nosocomiale et plus particulièrement au niveau de service de neurochirurgie (67.8% rétrospective, 100 % prospective), ce taux est supérieur a celui observé au CHU de Annaba (22.7 %) selon l'étude de **Nedjadi. S et al(2013)** et à Boston (40 %) d'après l'étude de **Durand.ML et al 1993**.

Ce taux élevé peut être expliquée par la présence de facteurs favorisant des méningites nosocomiales, et qui sont :

- ✓ Les interventions récentes de neurochirurgie.
- ✓ La présence d'un dispositif de drainage du LCR.
- ✓ La fuite du LCR.
- ✓ Les fistules cérébro-meningées. (**Pottecher.T et al, 1999 ; Nedjadi. S et al, 2013**)

Pour ce qui est de la répartition selon le sexe, une légère prédominance masculine est remarquée; cette prédominance a été rapportée par d'autres études sans qu'il ait d'explication. (**L'étude de Julie Lhoste 2006 et de Cisse Sékou Mamadou 2008**).

Etude Sexe	Etude rétrospective	Etude prospective	Julie Lhoste 2006	CisseSékou Mamadou 2008
Masculin	55.2%	53.16%	68.5%	61.22%
Féminin	44.8%	46.84%	31.5%	38.78%

Tableau XIII : Répartition des cas selon le sexe dans les études similaires

En ce qui concerne le taux de positivité de la culture, d'après l'étude prospective, le taux de cultures revenant positives est faible, ce taux est proche de celui rapporté dans les études similaires (Talhata Mahamar Haïdara 2001 et Adjabi A et al 2013).

Etude	Etude prospective Janvier-Avril 2014	Etude de Talhata Mahamar Haïdara Janvier-Avril 2001	Etude de Adjabi.A et al, 2013
Culture			
Culture +	20 (08.44%)	47 (11.44%)	73/566 (12.89 %)
Culture -	217 (91.56%)	364 (88.56%)	493/566 (87.11%)

Tableau XIV : Répartition des prélèvements selon le taux de positivité des cultures dans les études similaires.

Les méningites bactériennes sont un processus inflammatoire entraînant des modifications des constantes biologiques du liquide céphalo-rachidien (LCR).

L'examen microscopique est une étape importante et primordiale de l'ECB du LCR.

La numération des globules blancs a permis de détecter une réaction inflammatoire dans les 20 cas positifs et on constate que plus la réaction inflammatoire est importante plus le taux de positivité des cultures augmente, ainsi on peut dire que l'examen microscopique a une bonne valeur prédictive positive.

Taux de globules blancs	Taux de positivité
≤ 02 éléments	00 %
02 – 100 éléments Réaction inflammatoire moyenne	12,05%
>100 éléments Réaction inflammatoire importante	37,5%

Tableau XV: Taux de positivité et réaction inflammatoire

On a observé des cas où on avait une réaction inflammatoire à l'examen microscopique mais les cultures sont revenues négative :

Taux de globules blancs	Cultures négatives
≤ 02 éléments	100%
02 – 100 éléments Réaction inflammatoire moyenne	87,95 %
>100 éléments Réaction inflammatoire importante	62,50 %

Tableau XVI : Cultures négatives et réaction inflammatoire

Cela pourrait être expliqué par la possibilité que les méningites suspectées soient :

- ✓ Méningites virales.
- ✓ Méningites décapitées par une antibiothérapie probabiliste,
- ✓ Méningites à germes particulier, bactéries anaérobies ou mycobactéries, ces dernières ne sont pas recherchées systématiquement.

La glycorachie est également l'un des paramètres biologiques prédictifs pour le diagnostic des méningites.

Sa détermination nous a permis de déceler une glycorachie perturbée pour l'ensemble des cas positifs, 50% des cultures positives avait une hypoglycorachie.

Une culture positive à été noté dans 13,51% des cas d'hypoglycorachie ce qui revient à dire que 86,48 % des cas d'hypoglycorachie sont à culture négative

Glycorachie	Taux de positivité
Glycorachie normale	00 %
Hypoglycorachie	13,51%
Hyperglycorachie	0,03%

Tableau XVII : Taux de positivité et glycorachie

Cela pourrait être expliqué par :

- ✓ L'antibiothérapie, sachant que la sensibilité de la glycorachie est inférieure à 50 % en cas de traitement précoce. (Grall. N et al, 2011)
- ✓ Méningites à germes particulier.

Sur le plan microbiologique :

La répartition des bactéries selon l'aspect morpho tinctoriale a marqué une nette prédominance des bactéries à Gram négatif dans l'étude rétrospective, ce qui concorde avec les résultats de l'étude de **Adjabi. A et al 2013** qui a rapporté 78.07 % de bactéries à Gram négatif et l'étude de **Haouchine. Det al 2013** qui a isolé 66.19% de bactéries à Gram négatif.

Alors qu'on note une légère prédominance des bactéries à Gram positif dans l'étude prospective.

Parmi les bactéries identifiées, il ressort que *Staphylococcus sp* et *Pseudomonas aeruginosa* sont les bactéries les plus fréquemment isolées, ces dernières étant les principales étiologies des méningites nosocomiales, laissant suggérer que les méningites diagnostiquées bactériologiquement au niveau du laboratoire de microbiologie sont plus nosocomiales que communautaires.

Cette fréquence a été également rapportée par les résultats de l'étude d'**Adjabi. A et al 2013** et de l'étude de **Haouchine. D et al2013**.

Les taux d'isolement des principaux germes responsables de méningites communautaires que nous rapportons sont faibles : *Streptococcus pneumoniae* (14.19%), *Neisseria meningetidis* (3.62%) et *Haemophilus influenzae* (2.11%).

On note une nette régression du taux d'*Haemophilus influenzae* en 2011, 2012 et 2013 ceci est en relation avec à l'introduction du vaccin anti Hib dans le calendrier national de vaccination depuis le 1^{er} Janvier2008 (arrêté de 15 juillet 2007), constatation aussi rapportée par l'étude de **Belabbass. H et al, Maroc 2010**.

La fréquence d'isolement de *Neisseria meningetidis*, *Streptococcus pneumoniae* et *Haemophilus influenza* dans les méningites communautaires sont rapporté dans le tableau ci dessous :

Bactérie \ Etude	Etude rétrospective (N= 32)	Rapport d'atelier national de consensus 1998	AARN 1999-2008	Mezghani Maalej.Set al, 2006
<i>S.pneumoniae</i>	53.12 %	36.2 %	38.42 %	32.1 %
<i>N.meningetidis</i>	37.5 %	38.7 %	31.81 %	10.7 %
<i>H. influenzae</i>	09.37 %	25.1%	29.77 %	37.1 %

Tableau XVIII: fréquence d'isolement de *Neisseria meningetidis*, *Streptococcus pneumoniae* et *Haemophilus influenzae*

La fréquence d'isolement de *Streptococcus pneumoniae*, *Neisseria meningitidis* et *Haemophilus influenza* dans les méningites communautaires que nous rapportons est proche au taux national (AARN 1999-2008).

Dans notre étude il ressort que la *Streptococcus pneumoniae*, est l'espèce la plus fréquente suivi par *Neisseria meningitidis* et *Haemophilus influenzae*, ces résultats ne sont pas en adéquation avec ceux de l'étude de **Mezghani Maalej.S et al, 2006** en Tunisie.

On souligne également l'isolement durant la période de l'étude :

D'une *salmonella sp* chez des nouveau-nés et des nourrissons à savoir que les méningites à salmonelles mineurs sont graves dont le pronostic demeure redoutable, même en cas de traitement précoce et approprié. (**Diagne-Guèye. N.R et al, 2011**)

D'une bactérie anaérobie, il s'agit de *Porphyromonas asaccharolytica* sachant que les méningites à germes anaérobies représentent moins de 1 % des méningites bactériennes. Cette proportion est probablement sous estimée, du fait de conditions particulières de prélèvement et de culture pour les germes anaérobies. (**Khatib. G et al, 1999**)

D'une *Brucella melitensis*, les manifestations cliniques de la méningite brucellienne sont variées, les complications sont rares et probablement favorisées par un retard du diagnostic de l'invasion du système nerveux par la bactérie ou un traitement initial insuffisant. (**Korri.H et al, 2008**).

Il est très important de déterminer la résistance des bactéries aux antibiotiques au cours des méningites, en particulier les méningites nosocomiales en raison du problème majeur que pose ces résistances pour la santé publique.

L'étude de l'antibiorésistance des bactéries isolées nous a permis de faire les constatations suivantes:

Un taux important de Staphylocoques résistantes à la méticilline (plus de 50% des souches isolées) ce taux est proche de celui rapporté dans l'étude de **Nedjai. S et al, 2013** (38,50%).

Le taux des entérobactéries BLSE+ dans l'étude prospective a été estimé à 25%. Ce taux est proche du taux national rapporté par le réseau algérien de surveillance de la résistance aux antibiotiques en 2011 (30.28%). (**www.santé.dz/aarn**)

Par ailleurs un taux plus élevé a été noté dans l'étude rétrospective (50%) mais proche de taux de l'étude de **Adjabi. A et al, 2013** (44,11%).

Les carbapénèmes sont aujourd'hui parmi les traitements de choix des infections sévères dues aux entérobactéries productrices de β -lactamases à spectre étendu (BLSE), cependant nous avons constaté 06 entérobactéries résistantes à l'imipénème. (Grall.N et al, 2011)

En ce qui concerne les BGN non fermentaires (*Pseudomonas aeruginosa* et *Acinetobacter baumannii*) :

Nous n'avons révélé aucun cas de *Pseudomonas aeruginosa* BLSE +, pour ce qui est des souches *Acinetobacter baumannii* BLSE +, un nombre faible de cas a été observé (03 souches).

Par ailleurs nous avons constaté des souches résistantes à l'imipénème (03 souches de *Pseudomonas aeruginosa* et 06 souches *Acinetobacter baumannii*).

Pour ce qui est de la résistance des bactéries responsables de méningites communautaires : Environ 50% des souches de *Streptococcus pneumoniae* étaient de sensibilité diminuée à la pénicilline ce taux est proche au taux national (43.9%). (www.santé.dz/aarn)

Par ailleurs ce taux est élève par rapport aux taux rapporté au Maroc (12.5 % durant la période 1994-1997 et 25 % en 2006-2008) (Belabbass. H et al, 2010) et en Tunisie (27.2 % entre 1993- 2001) (Mezghani Maale j.S, 2006)

14.28 % des souches d' *Haemophilus influenzae* étaient productrices de pénicillinase ce taux est plus faible par rapport a celui du réseau Algérien de surveillance AARN 1999-2008 (22.7 %) et celui de l'étude de Mezghani Maalej. S et al, 2006 en Tunisie (1993 à 2001) (28.8%).

Enfin, compte tenu de l'évolution croissante de la résistance aux antibiotiques, devient impératif de pratiquer pour chaque germe isolé du LCR une étude de la sensibilité aux antibiotiques afin d'adapter l'antibiothérapie.

Conclusion

Conclusion

L'analyse de nos résultats a permis de constater que les méningites diagnostiquées au CHU de Blida durant la période d'étude sont plus des méningites hospitalières que des méningites communautaires. Les sujets admis en neurochirurgie sont particulièrement exposés.

D'après les résultats obtenus sur la répartition des germes, les bactéries à Gram négatif sont les plus fréquentes.

Les germes les plus fréquemment rencontrés sont représentés principalement par *Staphylococcus sp* puis *Pseudomonas aeruginosa*.

Le taux d'isolement des principaux germes responsables de méningites communautaires (*Neisseria meningitidis*, *Streptococcus pneumoniae* et *Haemophilus influenzae*) est faible.

L'analyse des profils d'antibiorésistance des bactéries isolées montre un taux de résistance élevé.

50% des entérobactéries sont productrices de BLSE. Toutefois, l'imipénème qui reste la molécule la plus active sur ces bactéries et l'antibiotique de référence comme alternative thérapeutique n'est pas épargné de la résistance.

Un taux de plus de 50% de staphylocoques méticillino-résistants, ce profil de méticillino-résistance est particulièrement fréquent chez les staphylocoques à coagulase négative.

La surveillance des bactéries multi-résistantes est formellement recommandée en raison de leur fréquence, de la gravité des infections dont elles sont responsables et de leur capacité à diffuser.

Les méningites bactériennes hospitalières sont des infections graves, pouvant mettre en jeu le pronostic vital. La prévention est de mise, elle comprend la surveillance épidémiologique, l'application stricte des mesures d'hygiène, et l'utilisation rationnelle des antibiotiques.

Références bibliographiques

ARNAUD COSTE, Thèse pour le diplôme d'état de docteur en chirurgie dentaire : Etude de l'innervation trigéminal des territoires méningés : Implications odontologiques, Décembre 2004

AVRIL.J.L et all, bactériologie clinique 2^{ème} édition ellipses 1992 p : 9 ; 55 ; 95 ; 102 ; 149-196 ; 265.

ADAMS, B et all., Méningites infectieuses a liquide clair et méningites purulentes de l'enfant. Revue du praticien, 1994. 44(9): p. 1253-60

AGNES ATALE ; La baisse des résistances aux antibiotiques dans les crèches dijonnaises : l'effet conjugué du bon usage de ces médicaments et du respect du calendrier vaccinal, 2007.

AMELIE CAMART-PERIE, thèse pour le doctorat vétérinaire, Ecole nationale vétérinaire d'Alfort ; Salmonella, Salmonelloses bovines : Etat des lieux, Epidémiologie en France, 2006.

ANTOINE VIMONT, Thèse pour l'obtention du diplôme de doctorat en médecine, Optimisation de la recherche des *Escherichia coli* producteurs de Shiga- toxines (STEC), 2007.

ADJABI A. ; SISSAOUI I. ; BENLAL Y. ; AMOURA K. ; AMIRI S. ; DJAHMI N. ; OTMANE A. ; DEKHIL M. : communiqué affiché de la journée thématique de pathologie infectieuse de l'enfant, bactériologie des méningites chez les patients hospitalisés à l'hôpital pédiatrique Sainte Thérèse CHU Annaba, service de microbiologie CHU Annaba.

AMMARI H. ; RAHAL K. : communiqué affiché de la journée thématique de pathologie infectieuse de l'enfant, aspects bactériologiques des méningites communautaires en Algérie, Données du réseau Algérien de surveillance de la résistance bactérienne aux antibiotiques.

BELLOUNI R. ; TALI MAAMAR H. ; RAHAL K. : ECB et biochimie du LCR techniques microbiologiques Institut Pasteur d'Algérie 2000.

BELLOUNI R et al, ECB et biochimie du LCR techniques microbiologiques Institut Pasteur d'Algérie, 2011

BENDIB A. ; BELLOUNI R. ; BENHABYLES N. ; BOUAKAZ R. ; DEKKAR N. ; DIF A. ; OMARI A. ; RAHAL K. ; SOUKEHAL A. ; ZEBBOUDJ : lutte contre les méningites bactériennes purulentes, rapport de 'atelier national de consensus 1998 Algérie.

BELABBASS H. ; CHAKIBA. ; EL MDAGHRI N. ; JOUHADI Z. ; EL FILALI K. ; NAJIB CHAKIB NEJJARI K. ; BOUSKRAOUI M. ; BENCHEKROUN S. ; ECH CHERIF EL KETTANI S. ; EL HAFIDI N. ; ALI ZEGGWAGH A. : Guide de la lutte contre les méningites bactériennes communautaires, MS, Maroc, 2010)

BENZEGOUTA NAIROUZ ; thèse présentée en vue de l'obtention du diplôme de Magister en pharmacochémie, étude de l'activité anti bactérienne des huiles infusées de 4 plantes médicinales connues comme aliment 2004/2005.

Bactériologie, Université Pierre et Marie Curie, Faculté de Médecine Pitié-Salpêtrière, Niveau DCEM1 2002 – 2003, P : 2-12.

BAKHOUM. I, thèse pour l'obtention de diplôme de docteur en pharmacie: Contrôle de qualité et validation de différentes microméthodes d'identification bactérienne, 2004

BRUNEEL. F et WOLFF. M, Méningites aiguës. Encyclopédie Médicale Chirurgicale (Editions Scientifiques et Médicales Elsevier SAS, Paris), Neurologie, 17-160-C-10, 2000, p.12.

BENOIT VEBER, CLAUDE MARTIN, PHILIPPE MONTRAVERS , ALAIN LEPAPE, REMY GAUZIT, JEAN-CLAUDE GRANRY, LAURENT DUBE, JEAN-LOUIS POURRIAT, JEAN-PIERRE BEDOS, JEAN-PIERRE SOLLET, MICHEL WOLF, FRANÇOIS CARON, OLIVIER LORTHALARY , VIOLAINE NOEL, JEAN-LUC MAINARDI, JEAN-MARIE SAÏSSY, GILLES POTEL , EMMANUEL GRIMPEL ; Société

française d'anesthésie et de réanimation en collaboration avec la Société de réanimation de langue française, Société de pathologie infectieuse de langue française, Société de microbiologie médecine militaire ; Société de médecine d'urgence , Société française de pédiatrie ; Conférence d'experts ; Antibiothérapie probabiliste des états septiques graves 2004.

CELINE LAFAYE, Thèse pour obtenir le grade de docteur de l'université JOSEPH FOURIER : Etude Biochimique et Structurale de DsbA1, DsbA2 et DsbA chez *Neisseria meningitidis*, 2009.

CATHRINE GAUDY, JACQUES BRUXERAUD, Antibiotiques : pharmacologie et thérapeutique, 1^{ère} édition Elsevier 2005 p13-30.

CISSE SEKOU MAMADOU, thèse pour obtenir le grade de Docteur en Médecine Générale: profil épidémiologique, étiologique et pronostique de la méningite, 2008.

Diagne-Guèye N. R. ; P.M. Faye, Diagne I. ; Dramé M. ; Fall A. L. ; Camara B. ; Noukeu D. ; Guèye M. ; Ba A. ; Dème-Ly I. ; Diack-Mbaye A. ; Sy-Signaté H. : Méningite récidivante à *Salmonella enterica* chez le nourrisson : à propos d'un cas, Journal de Pédiatrie et Puériculture, Volume 24, Issue 6, December 2011, Pages 288-290.

DURAND ML. ; KALDERWOOD SB. ; WEBER DJ. ; MULLER.SI ; SOUTHWICK .VS CAVINEES et al.acute bacterial meningitis in adult. Med 1993;32 B:21-28.

DANTOUMA KOITA, thèse pour obtenir le grade de docteur en médecine, Prévalence de la brucellose dans le centre urbain de Mopti : au cabinet médical Duflosise à Mossinkoré 2008.

Diagnostic bactériologique des méningites purulents Institut Pasteur d'Algérie 2011.

Expertise collective Inserm – Méningites bactériennes, Données cliniques et physiopathologie des méningites (Rapport. Paris, Les éditions Inserm, 1996, p 167-170).

FAUCHERE JEAN LOUIS , Bactériofiches techniques en bactériologie Clinique. Collection Ellipses Ed .Marketing,1^{ère} Edition1990.

GRALL.N, ANDREMONT.A, ARMAND-LEFEVRE.L, Résistance aux carbapénèmes : vers une nouvelle impasse, Journal des Anti-infectieux (2011).

HICHEM CHAKER, Thèse Pour obtenir le grade de docteur de l'université de Grenoble, Régulation de l'adaptation de la bactérie *Pseudomonas aeruginosa* à son hôte : implication des métabolites du tryptophane, 2012.

HAOUCHINE.D, AZZAM.A, AMRANE.K, HAMIDI.A, HANNACHI.S,HELLAL, M.CHERGOU, communiqué affiché de la journée thématique de pathologie infectieuse de l'enfant, résultants d'ECB du LCR Durant 10 ans au CHU Tizou- ouzou, laboratoire de microbiologie-parasitologie du CHU Tizou- ouzou.2013

<http://umvf.omsk-osma.ru/microbiologie>

<http://www.urgence-serveur.fr/IMG/tpg/PL.jpg>

<http://www.med.univ-rennes1.fr/cerf/iconocerf/N/MEDI-001514/N0402/14.GIF>

<http://www.neuro-club.info/img/concept/banniere.gif>

<http://MycobactériesBKanne.decoaster.free.fr/bk/bk.htmMycobacterium>

JACQUES POIRIER, Le système nerveux central et périphérique : formation, fonction et rôle, ARSEP© Dernière mise à jour : 05/08/2013.

JEAN-MARIE LIESSE IYAMBA, Thèse présentée en vue de l'obtention du grade de Docteur en Sciences Biomédicales et Pharmaceutiques : Etude de l'interaction des souches cliniques de *Staphylococcus aureus* avec une surface abiotique, Octobre 2012.

JEAN FRENEY, FRANÇOIS RENAUD, WILLY HANSEN et CLAUDE BOLLET ,précis de bactériologie clinique, Édition ESKA2000 p : 1439

JULIE LHOSTE, thèse pour obtenir le grade de docteur en médecine, Les méningites purulentes communautaires de l'enfant. Etude rétrospective de 1998 à 2003 de deux cohortes à Dakar, Sénégal et à Nancy, France. Décembre 2006

KANTE FATOUMATA DEMBA CISSE, thèse pour l'obtention du grade de Docteur en médecine : les épidémies de méningites à méningocoque en Afrique de 1996 à 2006, DsbA3 : Les trois homologues à l'oxydoréductase de Thiol-disulfure, 2008.

KAISMOUNE NAWEL, Mémoire de stage en vue de l'obtention du diplôme de post-graduation spécialisée filière sciences alimentaires et nutrition option alimentation, nutrition et santé intitulé gestion de la qualité des aliments, *Listeria monocytogenes* et les produits alimentaires 2009.

Khatib.G, Dunan.M.O, Broche.J.A, Méningite à *Fusobacterium nucleatum* chez un enfant , Médecine et Maladies Infectieuses, Volume 29, Issue 9, Septembre 1999, Pages 584-586.

Korri.H, Awada.A, Ali.Y, Choucai.J , Méningite brucellienne compliquée d'hémorragie méningée par rupture d'anévrisme : rapport d'un cas et revue de la littérature , Revue Neurologique, Volume 164, Issue 12, Decembre 2008, Pages 1052-1055.

KIENLEN.J, Conférences d'actualisation 1998, Infections à pyocyaniques en réanimation p. 551-567 édition 1998 Elsevier, Paris, et SFAR

LAURENT BAUD, SYSTEME NERVEUX CENTRAL : Circulation Cérébrale, Barrière Hémato-Encéphalique & Liquide Céphalo-rachidien, .mise à jour Janvier 2005.

LYON, G, P.EVRARD, Neuropédiatrie. 2^{ème} édition, Masson Paris 2000. P: 281- 287

LEIB SL, T.M., Pathogenesis of bacterial meningitis. Inf Dis Clinics North America, 1999. 13: p.527-548.

Marylène JUIF, Thèse pour obtenir le Diplôme d'Etat de Docteur en Pharmacie : Les zoonoses transmissibles du rat à l'homme : conseils en officine, 2011.

MOHAMED MOUSTAPHA SARR, Prévalence des souches d'*Escherichia coli* porteuses de gènes de virulence associés aux *Escherichia coli* entérohémorragiques (EHEC) et/ou résistantes aux antibiotiques dans les effluents de la station d'épuration de Cambérène et des abattoirs de Dakar. (E.I.S.N.V) 2012, thèse N° 39.

MATTHIEU EVEILLARD, Thèse de doctorat en pharmacie, Politique de dépistage de *Staphylococcus aureus* résistant à la méticilline à l'admission : adaptation à la diversification des facteurs de risque de portage, conséquences de cette adaptation à la diversification des facteurs de risque de portage, conséquences, de cette politique pour les indicateurs de surveillance et la transmission 2007.

MEZGHANI MAALEJ.S, KASSIS.M, MAHJoubi RHIML.F, DAMAK.J, HAMMAMI.A, Médecine et maladies infectieuses 2006, p : 105–110. (Méningites communautaires confirmés bactériologiquement entre 1993 et 2001. Les liquides céphalorachidiens provenaient de malades hospitalisés dans les différents services des CHU Hédi-Chaker et Habib-Bourguiba de Sfax (Sud Tunisien).

NATHAN. B.R and W.M. SCHELD, New Advances in the Pathogenesis and Pathophysiology of Bacterial Meningitis. Curr Infect Dis Rep, 2000. 2(4): p. 332-336.

NAUCIEL.C, VALIDE.J.L, Bactériologie médicale ,2^{ème} édition Masson paris 2005 P : 2 ; 20, 26,35, 88, 106, 215.

NGUYEN-CUU NAM-KIM, thèse pour l'obtention de diplôme en médecine, Vaccination anti méningococcique conjuguée, 2 ans après : Enquête descriptive aux urgences pédiatriques de l'hôpital de Meaux. 2012

NICOLAS RADOMSKI, thèse de Doctorat en Sciences et Techniques de l'Environnement: Sources des mycobactéries non-tuberculeuses dans les bassins versants, 2011

NEDJADIS, DJAHML.N, DKHELIM, communiqué affiché ; de la journée thématique de pathologie infectieuse de l'enfant, prévalence des méningites postopératoires dans le CHU de Annaba, service de microbiologie, CHU Ibn Rochd, Annaba.

OULYMATA GUEYE, Thèse pour obtenir le grade de docteur en pharmacie: Utilisation des méthodes biométriques dans l'identification de quelques bacilles à gram négatif, 2007.

OVERTURF GD. Defining bacterial meningitis and other infections of the central nervous system. *Pediatric Care* 2005; 6(Suppl. 3):S14–8.)

PAULINE DENISET, thèse pour le doctorat vétérinaire, ponction de liquide cérébro-spinal et maladies inflammatoires du système nerveux central : étude rétrospective à l'école nationale vétérinaire d'Alfort de 1996 à 2005, Année 2007.

POTTECHER.T, BALABAUD-PICHON.V, Méningites nosocomiales de l'adulte, Réunion de neuro-anesthésie-réanimation, *Mh Ann Fr Anesth Rkanim* 1999 ; 18 : 558-666, Ed Elsevier. Paris.

QASSIMI LOBNA Thèse (N° 040/10) pour l'obtention du Doctorat en médecine : Epidémiologies des infections nosocomiales en milieu de réanimation (a propos de 147 cas).2008

RAHAL.K et All, standardisation de l'antibiogramme en médecine humaine et vétérinaire à l'échelle nationale, 5^{ème} édition 2008.

RAHAL.K et All, standardisation de l'antibiogramme en médecine humaine et vétérinaire à l'échelle nationale, 6^{ème} édition 2011.

RAHAL.K Standardisation de l'antibiogramme à l'échelle nationale (médecine humaine et vétérinaire) 6^{ème} édition 2011, addendum 2013.

Rémic, Référentiel en microbiologie médicale (bactériologie et mycologie). 2^{ème} édition SFM, par le groupe Rémic de la société française de microbiologie. France 2004. P : 41.

ROBERT DAVID, thèse pour le diplôme d'état de docteur en pharmacie : *Staphylococcus aureus* résistant à la méticilline (SARM) : généralités, antibiotiques actifs, résistances acquises, et implication en pathologie communautaire illustrée par l'exemple des infections acquises au cours de la pratique sportive, 2013.

SEKHRI-ARAFA NEDJOUA, thèse Pour l'obtention du Grade de Docteur en Sciences, Fréquence et marqueurs épidémiologiques de *Klebsiella pneumoniae* dans les services à haut risque infectieux au niveau du CHU Benbadis de Constantine. Année universitaire: 2010-2011

SARR EL HADJI, Thèse pour obtenir le grade de docteur en pharmacie : Les déterminants de la virulence des souches d' *H.influeanzae* non b à l'origine d'infections respiratoires, 2002

SOUMARE.M, SEYDLM, NDOUR.C.T , DIENG.Y , NGOM-FAYE.N.F , FALL.N & DIOP B. M. Les méningites à liquide clair chez les patients infectés par le VIH à Dakar. "Biologie clinique", *Bull Soc PatholExot*, 2005, 98, 2, 104-107

Techniques de Laboratoire pour le Diagnostic des Méningites à *Neisseria meningitidis*, *Streptococcus pneumonia* et *Haemophilus influenzae*, Organisation mondiale de la Santé Département Maladies Transmissibles, Surveillance et action, WHO/CDS/CSR/EDC/99.7 <http://www.who.int/emc>.

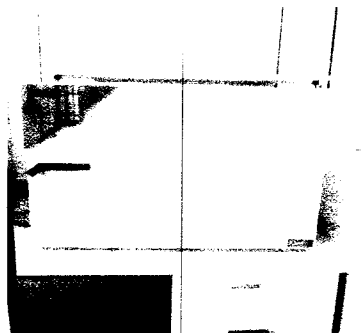
TALHATA MAHAMAR HAÏDARA, thèse pour obtenir le grade de Docteur en Pharmacie : étude cyto bactériologique du liquide céphalo-rachidien à Bamako : 1415 CAS, 2001).

www.santé.dz/aarn

ZOHOUN.A, DAO.I, KARFO .R, ESSAYAGH.T, Y. SEKHSOKH, M.BOUSTA ,S. EL HAMZAOU, Pathologie Biologie 2ème édition Elsevier, 2012, P: 6-8

Annexes

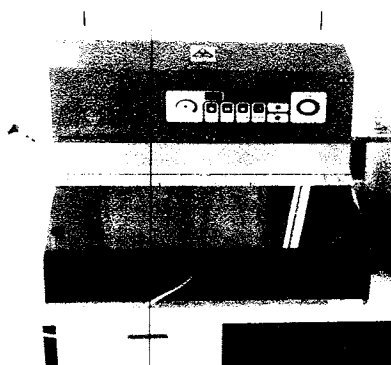
APPAREILLAGE



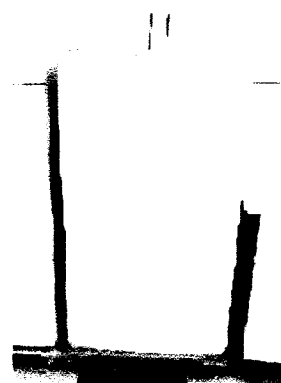
Etuve (Originale)



Séchoir (Originale)



Hotte (Originale)



Réfrigérateur (Originale)



Microscope optique (Originale)



Bec bunsen (Originale)

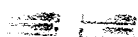
MATERIEL NON BIOLOGIQUE



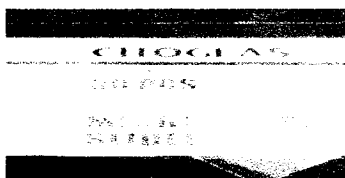
Pipette Pasteur stérile (Originale)



*Flacon d'eau physiologique
(Originale)*



Lamelles (Originale)



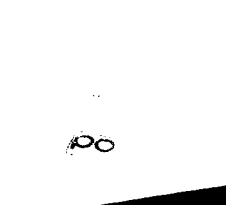
Lame (Originale)



Pince (originale)



*Cellule Nageotte
(Originale)*



*Cellule Malassez
(Originale)*

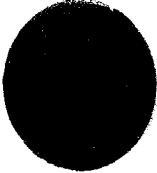
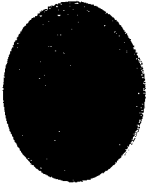


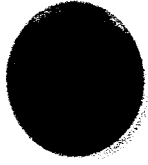

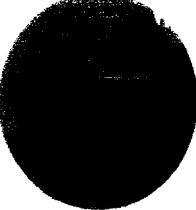
Jarre anaérobie (Originale)

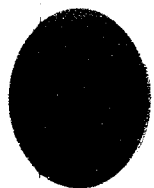


Pied à coulisse (Originale)

LES MILIEUX DE CULTURE ET D'ANTIBIOGRAMME

MILIEU	COMPOSITION	UTILISATION
<p><i>Gélose nutritive (Originale)</i></p>	<ul style="list-style-type: none"> - Extrait de viande de bœuf 1 g. - Extrait de levure 2 g. - Peptone 5 g. - Chlorure de sodium.....15 g. - Agar15 g. <p style="text-align: center;">PH= 7.4</p>	<p>Milieu d'isolement pour les germes non exigeants.</p>
<p style="text-align: center;"></p> <p style="text-align: center;"><i>Gélose Hecktoen (Originale)</i></p>	<ul style="list-style-type: none"> - Extrait de levure 3 g. - Protéase peptone12 g. - Lactose12 g. - Saccharose2 g. - Salicine2 g. - Citrate ferrique1.5 g. - Sels biliaires9 g. - Fuchsine acide0.5 g. - Bleu de promothymol0.065 g. - Chlorure de sodium5 g. - Thiosulfate de sodium5 g. - Agar 13g. <p style="text-align: center;">PH= 7.5</p>	<p>Milieu d'isolement des bacilles à Gram négatif.</p>
<p style="text-align: center;"></p> <p style="text-align: center;"><i>Gélose Chapman (Originale)</i></p>	<ul style="list-style-type: none"> - Peptone10,0 g. - Extrait de viande de bœuf1,0 g. - Chlorure de sodium75,0 g. - Mannitol10,0 g. - Rouge de phénol0,025 g. - Agar-Agar15,0 g. - Eau distillée1000 ml. <p style="text-align: center;">PH = 7,4</p>	<p>Milieu sélectif pour l'isolement des staphylocoques.</p>

MILIEU	COMPOSITION	UTILISATION
 <p><i>Milieu BCP (Originale)</i></p>	<ul style="list-style-type: none"> - Peptone5,0 g - Extrait de viande de bœuf 3,0 g - Lactose10,0 g - Pourpre de bromocrésol 25 mg - Agar 15 g <p style="text-align: center;">PH = 6,8</p>	<p style="text-align: center;">Isolement des entérobactéries.</p>
 <p><i>Gélose au sang frais (Originale)</i></p>	<ul style="list-style-type: none"> - Infusion de cœur et de muscle375 g. - Bothicone10 g. - Chlorure de Sodium5 g. - Gélose15 g. <p style="text-align: center;">PH= 7.4</p>	<p style="text-align: center;">Isolement des germes exigeants.</p>
 <p><i>Gélose au sang cuit (Originale)</i></p>	<ul style="list-style-type: none"> - Peptone de caséine7.5 g. - Peptone de viande.....7.5 g. - Amidon de maïs1 g. - Phosphate dipotassique4 g. - Chlorure de Sodium5 g. - Hémoglobine10 g. - Agar10 g. <p style="text-align: center;">PH= 7.3</p>	<p style="text-align: center;">Isolement des germes exigeants.</p>
<p><i>Gélose Muller Hinton (Originale)</i></p>	<ul style="list-style-type: none"> - Infusion de viande de bœuf déshydratée.....300 g. - Hydrolysate de caséine17.5 g. - Amidon de maïs1.5 g. - Agar13 g. - Eau distillée1000 ml. <p style="text-align: center;">PH= 7.4</p>	<p style="text-align: center;">Réalisation de L'antibiogramme.</p>



*Milieu Chapman avant
ensemencement (Originale)*



*Milieu Chapman après
incubation (Originale)*



*Milieu de culture Hecktoen avant
ensemencement (Originale)*



*Milieu de culture Hecktoen
après incubation (Originale)*



*Réactifs de lecture de galerie API
(Originale)*



*Réactifs de la coloration de
Gram (Originale)*

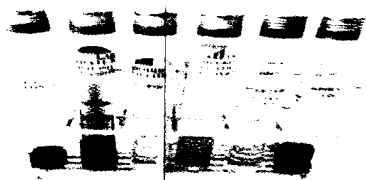


*Flacon de bleu de méthylène
(Originale)*

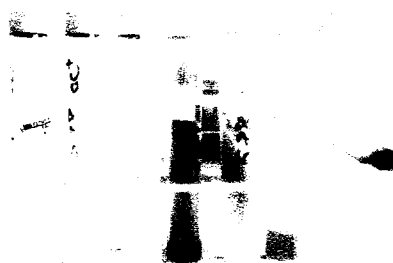


*Technique de coloration au bleu de
(Originale)*

GALERIES D'IDENTIFICATION BIOCHIMIQUE



*Galerie classique avant ensemencement
des milieux (Originale)*



*Galerie classique après incubation
(Originale)*



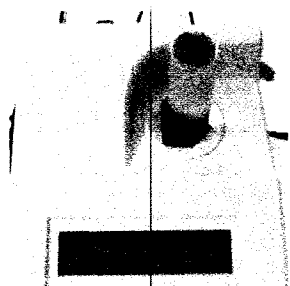
*Galerie API 20E avant ensemencement.
(Originale)*



*Galerie API 20E après incubation.
(Originale)*

Chéquier de lecture de galerie API 20E (Originale)

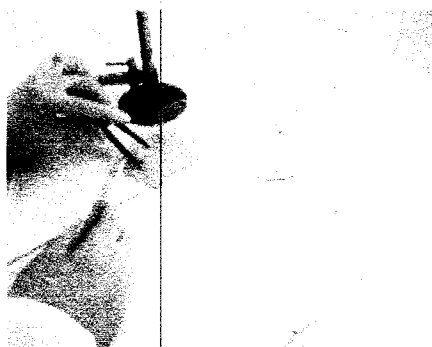
ETAPES DE L'ANTIBIOGRAMME



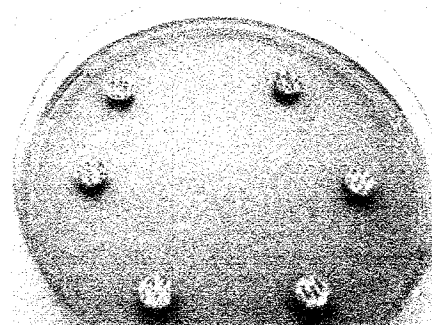
*Densitomètre avec un inoculum
à 0.5 Mc Ferland. (Originale)*



*Ensemencement par écouvillonnage
sur gélose Muller Hinton. (Originale)*



Application et disposition des disques d'antibiotiques. (Originale)



Mesure des diamètres des zones d'inhibition. (Originale)

MINISTERE DE LA SANTE, DE LA POPULATION ET DE LA REFORME HOSPITALIERE

CENTRE HOSPITALO-UNIVERSITAIRE DE BLIDA
UNITE FRANTZ - FANON

LABORATOIRE CENTRAL DE BIOLOGIE
UNITE DE MICROBIOLOGIE

FICHE DE RENSEIGNEMENTS

—000—

N° d'ordre :

Nom et Prénoms :

Age :

Service :

Nature du prélèvement :

Date : et heure du prélèvement :

Examens demandés :

Traitement éventuel :

- Antibiothérapie : - préventive
- Curative
- Autre traitement

Renseignements clinique (maladies associées, antécédents...)

Bilan Biologie :

Autres exploration :

Hospitalisation :

- Motif d'admission :
- Date d'entrée :
- Date de sortie :

Signature et griffe du médecin,

MINISTÈRE DE LA SANTÉ, DE LA POPULATION ET DE LA RÉFORME HOSPITALIÈRE
 CENTRE HOSPITALO - UNIVERSITAIRE DE BLIDA
 UNITÉ FRANTZ - FANON
 LABORATOIRE CENTRAL DE BIOLOGIE UNITÉ DE MICROBIOLOGIE

FEUILLE DE RESULTATS : ANTIBIOGRAMME

Nom - Prénoms : Age :

N° d'ordre : Service :

Nature du prélèvement :

Germe (s) isolé (s) :

Commentaires :

ANTIBIOTIQUES	SIEGES	RESULTATS				Concentrations critiques mg/l
		S	I	R	CMI mg/l	

BETA - LACTAMINES

Pénicilline	P				
Oxacilline	OX				
Ampicilline	AM				
Amoxicilline	AMX				
Ticarcilline	TIC				
Pipéracilline	PIP				
Amox+Ac clavulanique	AMC				
Céfazoline/Céfalexine	CZ/CN				
Céfoxitine	FOX				
Céfotaxime/Ceftriaxone	CTX/CRO				
Ceftazidime	CAZ				
Imipénème	IPM				
Aztréonam	ATM				

AMINOSIDES

Gentamicine	GM				
Amikacine	AN				
Tobramycine	TM				
Spectinomycine	SPT				

Interprétation : S:sensible - I : Intermédiaire - R : Résistant.

ANTIBIOTIQUES	SIEGES	RESULTATS				Concentrations critiques mg/l
		S	I	R	CMI mg/l	

MACROLIDES

Erythromycine	E				
Lincomycine	L				
Clindamycine	CM				
Pristinamycine	PT				
Spiramycine	SR				
Azitromycine	AZM				

QUINOLONES

Acide nalidixique	NA				
Ofloxacin/Péfloxacin	OFX/PEF				
Ciprofloxacine	CIP				
Levofloxacine	LEV				

DIVERS

Tétracycline	TE				
Colistine	CS				
Cotrimoxazole	SXT				
Furanes	FT				
Acide fusidique	FA				
Rifamycine	RA				
Fosfomycine	FOS				
Vancomycine	VA				
Metronidazole	MTR				

Entérobactéries.

Tableau XIX: Valeurs critiques des diamètres des zones d'inhibition et des CMI pour

Antibiotiques testés	Charge des Disques	Diamètres critiques (mm)			CMI critiques (µg/ml)			Commentaires
		R	I	S	R	I	S	
Ampicilline	10µg	≤ 13	14 – 16	≥ 17	≥ 32	16	≤ 8	La réponse à l'ampicilline est valable pour l'amoxicilline
Amoxicilline +Ac.clavulanique	20/10µg	≤ 13	14 – 17	≥ 18	≥ 32/16	16/8	≤ 8/4	Les breakpoints des céphalosporines et de l'Aztréonam ont été révisés en fonction des propriétés PK-PD et des données cliniques. Ainsi, l'application de ces breakpoints dépend du respect de posologies précises : céfazoline (2g toutes les 8h), céfotaxime (1g toutes les 8h), ceftriaxone (1g toutes les 24h)... Suite à la révision des breakpoints des céphalosporines, la lecture interprétative anciennement basée sur la détection ou non d'une BLSE, n'est plus nécessaire. La réponse R, I ou S se fait en se référant aux seuls diamètres mesurés. A souligner cependant que la détection phénotypique de la BLSE garde tout son intérêt dans les études épidémiologiques et en hygiène hospitalière. (voir chapitre recherches complémentaires).
Céfazoline	30µg	≤ 19	20 – 22	≥ 23	≥ 8	4	≤ 2	
Céfalotine	30µg	≤ 14	15 – 17	≥ 18	≥ 32	16	≤ 8	
Cefoxitine	30µg	≤ 14	15 – 17	≥ 18	≥ 32	16	≤ 8	
Céfotaxime	30µg	≤ 22	23 – 25	≥ 26	≥ 4	2	≤ 1	
Ceftriaxone	30µg	≤ 19	20 – 22	≥ 23	≥ 4	2	≤ 1	
Impénème/Meropénème	10µg	≤ 19	20 - 22	≥ 23	≥ 4	2	≤ 1	Les breakpoints des carbapénèmes ont été révisés en fonction des propriétés PK-PD et des données cliniques. L'application de ces breakpoints dépend du respect des posologies suivantes : Impénème : 500 mg toutes les 6h ou 1 g toutes les 8h, Ertapénème : 1g toutes les 24h, Méropénème : 1g toutes les 8h. La détection phénotypique d'une carbapénémase par le test MHT est réservée aux études épidémiologiques (voir chapitre recherches complémentaires).
Ertapénème	10µg	≤ 19	20 - 22	≥ 23	≥ 1	0,5	≤ 0,25	
Amikacine	30µg	≤ 14	15 – 16	≥ 17	≥ 64	32	≤ 16	
Gentamicine	10µg	≤ 12	13 – 14	≥ 15	≥ 16	8	≤ 4	
Acide nalidixique	30µg	≤ 13	14 – 18	≥ 19	≥ 32	—	≤ 16	La sensibilité diminuée aux fluoroquinolones est détectée chez les salmonelles isolées d'infections extra-intestinales en testant l'Acide nalidixique à l'antibiogramme.
Ciprofloxacine	5µg	≤ 15	16 – 20	≥ 21	≥ 4	2	≤ 1	
Chloramphénicol	30µg	≤ 12	13 – 17	≥ 18	≥ 32	16	≤ 8	Ne pas tester en routine sauf pour les salmonelles.
Colistine	—	—	—	—	—	—	—	Ne tester à l'antibiogramme que pour un but diagnostique. (résistance si culture au contact du disque ou présence d'une cocarde).
Furanes	300µg	≤ 14	15 – 16	≥ 17	≥ 128	64	≤ 32	
Fosfomycine	200µg	≤ 12	13 – 15	≥ 16	≥ 256	128	≤ 64	Indiqué uniquement pour les souches d'E.coli isolées d'infections urinaires. La CMI est déterminée par la technique de dilution en gélose supplémentée de 25µg/ml de glucose 6-phosphate.
Triméthoprim+ Sulfaméthoxazole	1.25/23.75µg	≤ 10	11 – 15	≥ 16	≥ 4/76	—	≤ 2/38	

* Tableau extrait du Document M100 – S21. Vol. 31, n°1. 2011. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing; twenty-first informational supplement.

** Extrait des recommandations 2011 du Comité de l'Antibiogramme de la Société Française de Microbiologie

Tableau XX: Valeurs critiques des diamètres des zones d'inhibition et des CMI pour *Pseudomonas aeruginosa*

Antibiotiques testés	Charge des disques	Diamètres critiques (mm)			CMI critiques (µg/ml)			Commentaires
		R	I	S	R	I	S	
Ticarilline TC	75 µg	≤ 14	16-23	≥ 15	≥ 128	32-64	≤ 64	Détecter une BLSE en plaçant le disque de TCC entre le disque de CAZ et le disque d'AZM (voir chapitre tests complémentaires). L'application des breakpoints pour les céphalosporines dépend du respect de posologies précises. Ceftazidime et Aztréonam : 1g toutes les 6h ou 2g toutes les 8h. Il est recommandé d'informer les infectiologues, pharmaciens, comité des antibiotiques et CLIN de l'hôpital, de ces nouveaux critères d'interprétation. Consulter le clinicien, en particulier pour les patients spécifiques.
Ticarilline + ac.clavulanique	75/10µg	≤ 14	—	≥ 15	≥ 128/2	—	≤ 64/2	
Pipéracilline PR2	100 µg	≤ 17	15-20	≥ 18	≥ 128	—	≤ 64	
Ceftazidime PR2	30 µg	≤ 14	15 - 17	≥ 18	≥ 32	16	≤ 8	
Aztréonam PR1	30 µg	≤ 15	16 - 21	≥ 22	≥ 32	16	≤ 8	
Imipénème	10 µg	≤ 13	14 - 15	≥ 16	≥ 16	8	≤ 4	En cas de diamètre R ou I, détection de carbapénémases (voir recherches complémentaires).
Amikacine	30 µg	≤ 14	15 - 16	≥ 17	≥ 64	32	≤ 16	
Gentamicine	10 µg	≤ 12	13 - 14	≥ 15	≥ 16	8	≤ 4	
Nétilmicine H6	30 µg	≤ 12	13 - 14	≥ 15	≥ 32	16	≤ 8	
Tobramycine Teb	10 µg	≤ 12	13 - 14	≥ 15	≥ 16	8	≤ 4	
Ciprofloxacine	5µg	≤ 15	16 - 20	≥ 21	≥ 4	2	≤ 1	
Lévofloxacine	5µg	≤ 13	14 - 16	≥ 17	≥ 8	4	≤ 2	
Fosfomycine **	50µg + 50µg G6P	< 14	—	≥ 14	> 32	—	≤ 32	Tester avec un inoculum 0,5MF dilué au 1/10 ^{ème} — ne pas prendre en compte la présence de colonies dans la zone d'inhibition
Rifampicine **	30 µg	< 14	14 - 18	≥ 19	> 16	16-8	≤ 4	Tester avec un inoculum 0,5MF dilué au 1/10 ^{ème}
Colistine	10µg	≤ 10	—	≥ 11	≥ 8	4	≤ 2	

* Tableau extrait du Document M100 – S21. Vol. 31, n°1, 2011. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing; twenty-first informational supplement.

** Extraits des recommandations 2011 du Comité de l'Antibiogramme de la Société Française de Microbiologie

Tableau XXI: Valeurs critiques des diamètres des zones d'inhibition et des CMI pour *Acinetobacter.sp*

Antibiotiques testés	Charge des disques	Diamètres critiques (mm)			CMI critiques (µg/ml)			Commentaires
		R	I	S	R	I	S	
Ticarcilline	75 µg	≤ 14	15 - 19	≥ 20	≥ 128	32-64	≤ 16	Le disque de TCC doit être placé à côté du disque de CAZ. Une synergie entre les 2 disques indique la présence d'une BLSE. (voir recherches complémentaires).
Ticarcilline + ac.clavulanique	75/10µg	≤ 14	15 - 19	≥ 20	≥ 128/2	32/2-64/2	≤ 16/2	
Pipéracilline	100 µg	≤ 17	18 - 20	≥ 21	≥ 128	32-64	≤ 16	
Céftazidime	30 µg	≤ 14	15 - 17	≥ 18	≥ 32	16	≤ 8	
Impénème	10 µg	≤ 13	14 - 15	≥ 16	≥ 16	8	≤ 4	
Amikacine	30 µg	≤ 14	15 - 16	≥ 17	≥ 64	32	≤ 16	
Gentamicine	10 µg	≤ 12	13 - 14	≥ 15	≥ 16	8	≤ 4	
Tobramycine	10 µg	≤ 12	13 - 14	≥ 15	≥ 16	8	≤ 4	
Nétilmicine	CMI	---	---	---	≥ 32	16	≤ 8	
Ciprofloxacine	5µg	≤ 15	16 - 20	≥ 21	≥ 4	2	≤ 1	
Lévofloxacine	5µg	≤ 13	14 - 16	≥ 17	≥ 8	4	≤ 2	
Doxycycline	30µg	≤ 9	10 - 12	≥ 13	≥ 16	8	≤ 4	Si résistance à doxycycline, réponse valable pour tétracycline
Triméthoprim+ sulfaméthoxazole	1.25/23.75µg	≤ 10	11 - 15	≥ 16	≥ 4/76	---	≤ 2/38	
Colistine	---	---	---	---	> 2		≤ 2	La colistine est testée pour usage thérapeutique. Il faut déterminer la CMI.
Rifampicine**	30µg	<14	14 - 18	≥19	> 16	16-8	≤ 4	Lecture valable pour <i>S.maltophilia</i> - Diluer l'inoculum 0,5 MF au 1/10 ^{ème} Tester avec un inoculum 0,5MF dilué au 1/10 ^{ème}

* Tableau extrait du Document M100 - S21. Vol. 31, n°1. 2011. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing; twenty-first informational supplement.

** Extraits des recommandations 2011 du Comité de l'Antibiogramme de la Société Française de Microbiologie

Staphylococcus.sp
Tableau XXIII: Valeurs critiques des diamètres des zones d'inhibition et des CMI pour

Antibiotiques testés	Charge des disques	Diamètres critiques (mm)			CMI critiques (µg/ml)			Commentaires
		R	I	S	R	I	S	
Pénicilline	10 UI	≤ 28	—	≥ 29	≥ 0,25	—	≤ 0,12	Le test de la β-lactamase confirme les cas douteux (voir « Tests complémentaires ».) Interprétation valable pour toutes les pénicillines inactivées par les β-lactamases (ampicilline, ticarcilline, pipéracilline....)
Oxacilline (<i>S.aureus</i>)	1 µg	≤ 10	11 – 12	≥ 13	≥ 4	—	≤ 2	Tester le disque de céfoxitine 30 µg pour détecter la résistance à la méticilline de <i>S.aureus</i> et des staphylocoques à coagulase négative. En cas de résultat intermédiaire ou de discordance entre les disques d'oxacilline et de céfoxitine, se référer au chapitre « Tests complémentaires ». La résistance à la céfoxitine (et à l'oxacilline) signifie la résistance à toute la famille des β- lactamines.
Oxacilline (<i>S.lugdunensis</i>)	1 µg	—	—	—	≥ 4	—	≤ 2	
Céfoxitine (<i>S.aureus</i> et <i>S.lugdunensis</i>)	30 µg	≤ 21	—	≥ 22	≥ 8	—	≤ 4	
Oxacilline (S.C.N. sauf <i>S.lugdunensis</i>)	1 µg	—	—	—	≥ 0,5	—	≤ 0,25	
Céfoxitine (S.C.N.sauf <i>S.lugdunensis</i>)	30 µg	≤ 24	—	≥ 25	—	—	—	
Gentamicine	10 µg	≤ 12	13 – 14	≥ 15	≥ 16	8	≤ 4	Les souches résistantes à la gentamicine sont résistantes à tous les autres aminosides sauf à la streptomycine.**
Kanamycine	30 µg	≤ 13	14 – 17	≥ 18	≥ 64	32	≤ 16	Pour <i>S.aureus</i> , les souches résistantes à la Kanamycine doivent être interprétées « R » à l'amikacine quelque soit le diamètre autour de l'amikacine**.
Amikacine	30 µg	≤ 14	15 – 16	≥ 17	≥ 64	32	≤ 16	
Erythromycine	15 µg	≤ 13	14 – 22	≥ 23	≥ 8	1-4	≤ 0,5	Détecter la résistance inductible en plaçant le disque d'érythromycine à côté du disque de clindamycine. En présence d'une image d'antagonisme, répondre « Résistance à érythromycine et clindamycine »
Clindamycine	2µg	≤ 14	15 – 20	≥ 21	≥ 4	1-2	≤ 0,5	

Tableau XXII: Valeurs critiques des diamètres des zones d'inhibition et des CMI pour *Staphylococcus.sp*

Antibiotiques testés	Charge des disques	Diamètres critiques (mm)			CMI critiques (µg/ml)			Commentaires
		R	I	S	R	I	S	
Vancomycine	CMI	—	—	---	≥32	8-16	≤4	Le disque de vancomycine <u>ne permet pas de différencier</u> les souches vanco « S » et « I » de <i>Staphylococcus aureus</i> , ni de différencier les souches vanco « S », « I » et « R » de S.C.N., car les diamètres d'inhibition sont similaires. La détermination de la CMI de vancomycine est obligatoire.
Teicoplanine	30 µg	≤ 10	11 – 13	≥14	≥32	16	≤8	
Ofloxacine	5µg	≤ 14	15 – 17	≥18	≥4	2	≤1	Interprétation valable pour péfloxacine, lévofloxacine et Ciprofloxacine
Triméthoprim+ sulfaméthoxazole	1.25/23.75µg	≤ 10	11 – 15	≥16	≥ 4/76	—	≤2/38	
Rifampicine	5µg	≤ 16	17 – 19	≥20	≥ 4	2	≤1	
Tétracycline	30µg	≤ 14	15 – 18	≥19	≥16	8	≤ 4	Les souches sensibles à la tétracycline, sont sensibles à la doxycycline et à la minocycline.
Chloramphénicol	30µg	≤ 12	13 – 17	≥18	≥32	16	≤ 8	
Pristinamycine	15 µg	< 19	19 – 21	≥ 22	> 2		≤ 1	Réponse de la pristinamycine est valable pour la quinupristine-dalfopristine
Acide fusidique**	10 µg	< 24	—	≥ 24	> 1		≤ 1	Tester ces molécules avec un inoculum 0,5MF dilué au 1/10 ^{ème}
Fosfomycine**	50 µg	< 14	—	≥ 14	> 32		≤ 32	

* Tableau extrait du Document M100 – S21, Vol. 31, n°1, 2011. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing; twenty-first informational supplement.

** Extraits des recommandations 2011 du Comité de l'Antibiogramme de la Société Française de Microbiologie

Tableau XXIII: Valeurs critiques des diamètres des zones d'inhibition et des CMI pour *Streptococcus pneumoniae*

Antibiotiques testés	Charge des Disques	Diamètres critiques (mm)			Valeurs Critiques CMI (µg/ml)			Commentaires
		R	I	S	R	I	S	
Pénicilline parentérale (non méningite)	----	----	----	----	≥ 8	4	≤ 2	
Pénicilline parentérale(Méningite)	----	----	----	----	≥ 0,12	-	≤ 0,06	
Pénicilline orale	----	----	----	----	≥ 2	0,12-1	≤ 0,06	
Oxacilline	1 µg		----	≥ 20	----	----	----	La détection des souches de pneumocoques PSDP se fait en testant un disque d'oxacilline (à 1µg ou 5µg). En cas de réponse « R » ou « I », déterminer les CMI de pénicilline, amoxicilline, céfotaxime et imipénème. (Voir « Tests complémentaires »).
Oxacilline**	5µg			≥ 26				
Amoxicilline	----	----	----	----	≥ 8	4	≤ 2	Les valeurs critiques de l'amoxicilline ne s'appliquent pas au LCR car il n'y a pas de valeurs critiques de CMI de l'amoxicilline pour ce site.
Céfotaxime (non méningite)	----	----	----	----	≥ 4	2	≤ 1	L'interprétation est valable pour le céftriaxone
Céfotaxime (Méningite)	----	----	----	----	≥ 2	1	≤ 0,5	
Imipénème	----	----	----	----	≥ 1	0,25 – 0,5	≤ 0,12	Déterminer la CMI de l'imipénème seulement dans le cas de méningite.
Vancomycine	30 µg	---	---	≥ 17	---	---	≤ 1	
Erythromycine	15 µg	≤15	16 – 20	≥ 21	≥ 1	0,5	≤ 0,25	
Clindamycine	2µg	≤15	16 – 18	≥ 19	≥ 1	0,5	≤ 0,25	
Lévofloxacine	5µg	≤13	14 – 16	≥ 17	≥ 8	4	≤ 2	
Tétracycline	30µg	≤18	19 – 22	≥23	≥ 8	4	≤ 2	L'interprétation est valable pour la doxycycline.
Chloramphénicol	30 µg	≤20	---	≥ 21	≥ 8	---	≤ 4	
Rifampicine	5µg	≤16	17 – 18	≥ 19	≥ 4	2	≤ 1	
Triméthoprim+sulfaméthoxazole	1,25/23,75µg	≤ 15	16 – 18	≥ 19	≥ 4/76	1/19-2/38	≤ 0,5/9,5	
Pristinamicine**	15µg	<19	---	≥ 19	> 1	---	≤ 1	Tester ces 2 molécules avec un inoculum 0,5 MF. Ne pas diluer.
Fosfomycine**	50µg	< 14	---	≥14	> 32	---	≤ 32	

*Tableau extrait du Document M100 – S21 Vol. 31 n°1. 2011. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing; twenty-first informational supplement.

** Extraits des recommandations 2011 du Comité de l'Antibiogramme de la Société Française de Microbiologie

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

Antibiotique	Charge du disque	Concentrations critiques (mg/l)			Diamètres critiques (mm)			Commentaires
		S	I	R	S	I	R	
Pénicilline G	---	≤ 0,06	0,125-0,25	> 0,5	---	---	---	Ne pas tester de disque de pénicilline ou d'ampicilline pour <i>N.meningitidis</i> . Il faut déterminer les CMI de ces 2 molécules. Une β-lactamase (très rare) est recherchée par technique chromogénique. Interprétation pour l'ampicilline est valable pour l'amoxicilline
Ampicilline	---	≤ 0,12	0,25-1	≥ 2	---	---	---	
Spiramycine**	100µg	≤ 1	2-4	> 4	≥ 24	---	≤ 19	Antibiotique utilisé uniquement en prophylaxie.
Rifampicine	5 µg	≤ 0,5	1	≥ 2	≥ 25	20 - 24	≤ 19	
Chloramphénicol	30µg	≤ 2	4	≥ 8	≥ 26	20 - 25	≤ 19	
Acide nalidixique**	30µg	---		≥ 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 extrait du Document M100 – S21 Vol. 31 n°1. 2011. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing; twenty-first informational supplement

**Extraits des recommandations 2007 et 2011 du Comité de l'Antibiogramme de la Société Française de Microbiologie

Tableau XXV: Valeurs critiques des diamètres des zones d'inhibition et des CMI pour *Haemophilus sp*

Antibiotiques testés	Charge des Disques	Diamètres critiques (mm)			Valeurs critiques des CMI (µg/ml)			Commentaires
		R	I	S	R	I	S	
Ampicilline	10 µg	≤ 18	19 – 21	≥ 22	≥ 4	2	≤ 1	Interprétation valable pour amoxicilline. La majorité des souches d' <i>H. influenzae</i> résistantes à ampicilline et amoxicilline produisent une β-lactamase type TEM. Il faut effectuer un test de détection de la β-lactamase.
Amoxicilline + Ac. clavulanique	20/10 µg	≤ 19	---	≥ 20	≥ 8/4	---	≤ 4/2	Le disque d'AMC doit être placé à côté du disque de CTX pour détecter une éventuelle souche productrice de BLSE.
Céfotaxime ou Ceftriaxone	30 µg	---	---	≥ 26	---	---	≤ 2	
Ampicilline**	2 µg	<20	---	≥20	>1	---	≤ 1	Les disques d'ampicilline à 2µg et de céfalotine à 30µg servent à la détection des souches BLNAR. voir chapitre « tests complémentaires »
Céfalotine**	30 µg	< 17	---	---	> 8	---	---	
Ofloxacin	5 µg	---	---	≥ 16	---	---	≤2	La sensibilité diminuée à ofloxacin est détectée par le disque de NAL.
Azithromycine	15 µg	---	---	≥ 12	---	---	≤ 4	
Chloramphénicol	30 µg	≤ 25	26 – 28	≥ 29	≥ 8	4	≤ 2	
Tétracycline	30 µg	≤ 25	26 – 28	≥ 29	≥ 8	4	≤ 2	Réponse valable pour doxycycline
Triméthoprim + sulfaméthoxazole	1,25/23,75µg	≤ 10	11 – 15	≥ 16	≥ 4/76	1/19-2/38	≤ 0,5/9,5	
Acide nalidixique**	30 µg	<21	---	≥ 21	---	---	---	Tester le disque de NAL avec un inoculum 0,5MF dilué au 1/10 ^{ème} – Permet de détecter la sensibilité diminuée aux fluoroquinolones (faire CMI des fluoroquinolones si NAL résistant)

*Tableau extrait du Document M100 – S21, Vol. 31, n°1, 2011. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing; twenty-first informational supplement.

** Extraits des recommandations 2011 du Comité de l'Antibiogramme de la Société Française de Microbiologie

Tableau XXVI: Valeurs critiques des diamètres des zones d'inhibition et des CMI pour *Enterococcus* sp

Antibiotiques testés	Charge des disques	Diamètres critiques (mm)			CMI critiques (µg/ml)			Commentaires
		R	I	S	R	I	S	
Ampicilline	10µg	≤16	—	≥ 17	≥ 16	—	≤ 8	Interprétation valable pour amoxicilline
Tétracycline	30µg	≤ 14	15 – 18	≥ 19	≥ 16	8	≤ 4	Interprétation valable pour doxycycline
Vancomycine	30µg	≤ 14	15 – 16	≥ 17	≥ 32	8-16	≤ 4	Rechercher la sensibilité diminuée aux glycopeptides (voir « Tests complémentaires »). Confirmer par la CMI de vancomycine et de teicoplanine en cas de réponse R ou I ou de screening test positif.
Teicoplanine	30µg	≤ 10	11 – 13	≥ 14	≥ 32	16	≤ 8	
Gentamicine Haut niveau	120µg	≤ 6	7 – 9	≥ 10	> 500	—	≤ 500	CMI en milieu solide (BHI agar)
Streptomycine Haut niveau	300µg	≤ 6	7 – 9	≥ 10	> 1000 > 2000		≤ 500 ≤ 1000	CMI en milieu liquide (BHI bouillon) CMI en milieu solide (BHA)
Lévofoxacine	5µg	≤ 13	14 – 16	≥ 17	≥ 8		≤ 2	
Erythromycine	15µg	≤ 13	14 – 22	≥ 23	≥ 8	1-4	≤ 0,5	
Furanes	300µg	≤14	15 – 16	≥ 17	≥ 128	64	≤ 32	Interprétation valable uniquement pour les souches isolées des urines.
Rifampicine	5µg	≤ 16	17 – 19	≥ 20	≥ 4	2	≤ 1	
Fosfomycine	200µg	≤ 12	13 – 15	≥ 16	≥ 256	128	≤ 64	Recommandé pour les souches d' <i>E. faecalis</i> isolées du tractus urinaire.
Quinupristine-Dalfopristine	15µg	≤ 15	16 – 18	≥ 19	≥ 4	2	≤ 1	Spectre limité à <i>E. faecium</i> vancomycine résistant.
Chloramphénicol	30µg	≤ 12	13 – 17	≥ 18	≥ 32	16	≤ 8	Interprétation non valable pour les souches urinaires. Interprétation valable pour thiamphénicol.

*Tableau extrait du Document M100 – S21. Vol. 31, n°1. 2011. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing; twenty-first informational supplement.

Tableau XXVII : Liste d'abréviation des antibiotiques

β-LACTAMINES	
Pénicilline	PEN
Oxacilline	OXA
Cloxacilline	CLOX
Ampicilline	AMP
Amoxicilline	AMX
Amoxicilline+Ac.clavulanique	AMC
Ticarcilline	TIC
Ticarcilline +Ac.clavulanique	TCC
Pipéracilline	PIP
Céfalexine	LEX
Céfazoline	CZO
Céfalotine	CEF
Cépirome	CPO
Céfoxitine	FOX
Céfotaxime	CTX
Céfotétan	CTT
Céfotétan+400µg Ac boronique	CTT+bor
Céftiofur	TIO
Céftriaxone	CRO
Céftazidime	CAZ
Cloxacilline	CLOXA
Aztréonam	ATM
Imipénème	IPM
Céfuroxime	CXM
Pipéracilline+ tazobactam	TAZ
Céftazidime+ac clavulanique	CAZ CLAV
Acide clavulanique	AC
Imipénème+EDTA	IM+ED
Méropénème	MER
Ertapénème	ERT
AMINOSIDES	
Gentamicine	GEN
Gentamicine Haut niveau	GEH
Streptomycine	STR
Streptomycine Haut niveau	STH
Kanamycine	KAN
Amikacine	AMK
Tobramycine	TOB
Nétilmicine	NET
Spectinomycine	SPT
Néomycine	NEO
CYCLINES	
Tétracycline	TCY
Doxycycline	DOX
MACROLIDES	
Erythromycine	ERY
Azithromycine	AZM
Clindamycine	CLI
Pristinamycine	PRI
Spiramycine	SPI
Tilmicosine	TIL

PHENICOLES	
Chloramphénicol	CHL
POLYPEPTIDES	
Colistine	COL
GLYCOPEPTIDES	
Vancomycine	VAN
Teicoplanine	TEC
SULFAMIDES ET ASSOCIES	
Triméthoprime	TMP
Triméthoprime+ sulfaméthoxazole	SXT
QUINOLONES	
Acide nalidixique	NAL
Ofloxacin	OFX
Ciprofloxacine	CIP
NITROFURANTOINES	
Furanes	NIT
AUTRES	
Acide fusidique	FUS
Rifampicine	RIF
Fosfomycine	FOS

Autres abréviations

Céphalosporines de 1 ^{ère} génération	C1G
Quinolones	QUI
Ethylène- diamino-tétra-acétique	EDTA
Acide dipicolinique	DPA
Acide boronique	BOR
Mueller- Hinton	MH
Mueller- Hinton liquide ajusté en cations	MHLAC
Mueller- Hinton base ajusté en cations	MHBAC
Mac Farland	MF
Inhibiteur de β-lactamase	IBL
Hautement chargé	HC
Pneumocoque de sensibilité diminuée à la pénicilline	PSDP

Tableau XXVIII: Fréquences des bactéries isolées en 2009.

Bactéries isolées	Nombre de souches	Fréquences
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	24	32%
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	5	06.67 %
<i>Neisseria meningitidis</i>	5	06.67 %
<i>Pseudomonas. sp</i>	4	05.33 %
<i>Staphylococcus aureus</i>	4	05.33 %
<i>Enterococcus faecalis</i>	4	05.33 %
<i>Enterobacter. sp</i>	4	05.33 %
<i>Acinetobacter. sp</i>	3	04 %
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	3	04 %
<i>Citrobacter freundii</i>	2	02.67 %
<i>Streptococcus. sp</i>	2	02.67 %
<i>Acinetobacter baumannii</i>	2	02.67 %
<i>Klebsiella oxytoca</i>	2	02.67 %
<i>Proteus mirabilis</i>	2	02.67 %
Staphylocoque à coagulase négative	1	01.33 %
<i>Salmonella entiritidis</i>	1	01.33 %
<i>Haemophilus. sp</i>	1	01.33 %
<i>Enterobacter cloacae</i>	1	01.33 %
<i>Citrobacter. sp</i>	1	01.33 %

Tableau XXIX: Fréquences des bactéries isolées en 2010.

Bactéries isolées	Nombre de souches	Fréquences
Staphylocoque à coagulase négative	10	22.73 %
<i>Neisseria meningitidis</i>	6	13.64 %
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	5	11.36 %
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	3	06.82 %
<i>Acinetobacter. sp</i>	3	06.82 %
<i>Enterococcus. sp</i>	3	06.82 %
<i>Enterobacter cloacae</i>	2	04.55 %
<i>Staphylococcus aureus</i>	2	04.55 %
<i>Acinetobacter baumannii</i>	1	02.27 %
<i>Acinetobacter lwoffii</i>	1	02.27 %
Streptocoque bêta-hémolytique du grp B	1	02.27 %
<i>Enterobacter sakazakii</i>	1	02.27 %
<i>Haemophilus influenzae type b</i>	1	02.27 %
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	1	02.27 %
<i>Pseudomonas. sp</i>	1	02.27 %
<i>Salmonella enteritidis</i>	1	02.27 %
<i>Streptococcus. sp</i>	1	02.27 %
<i>Escherichia coli</i>	1	02.27 %

Tableau XXX: Fréquences des bactéries isolées en 2011.

Bactéries isolées	Nombre de souches	Fréquences
<i>Streptococcus. sp</i>	17	20.73 %
Staphylocoques à coagulase négative	16	19.51 %
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	12	14.63 %
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	7	08.54 %
<i>Acinetobacter baumannii</i>	5	06.10 %
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	4	04.88 %
<i>Staphylococcus aureus</i>	3	03.66 %
<i>Enterobacter cloacae</i>	2	02.44 %
<i>Escherichia coli</i>	2	02.44 %
Streptocoque bêta-hémolytique du grp B	2	02.44 %
<i>Pseudomonas. sp</i>	2	02.44 %
<i>Aeromonas. Sp</i>	1	01.22 %
<i>Aerococcus viridans</i>	1	01.22 %
<i>Corynebacterium. sp</i>	1	01.22 %
<i>Enterococcus faecalis</i>	1	01.22 %
<i>Enterococcus. sp</i>	1	01.22 %
<i>Enterobacter sakazakii</i>	1	01.22 %
<i>Klebsiella. Sp</i>	1	01.22 %
<i>Porphyromonas asaccharolytica</i>	1	01.22 %
<i>Pseudomonas stutzeri</i>	1	01.22 %
<i>Streptococcus vi.....</i>	1	01.22 %

Tableau XXXI: Fréquences des bactéries isolées en 2012.

Bactéries isolées	Nombre de souches	Fréquences
Staphylocoque à coagulase négative	18	26.87 %
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	10	14.93 %
<i>Acinetobacter baumannii</i>	7	10.45 %
<i>Acinetobacter. sp</i>	3	04.48 %
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	3	04.48 %
<i>Staphylococcus aureus</i>	3	04.48 %
<i>Streptococcus. sp</i>	3	04.48 %
<i>Corynebacterium. sp</i>	2	02.98 %
<i>Escherichia coli</i>	2	02.98 %
<i>Enterobacter. sp</i>	2	02.98 %
<i>Enterococcus. sp</i>	2	02.98 %
<i>Pseudomonas. sp</i>	2	02.98 %
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	2	02.98 %
<i>Bacillus. Sp</i>	1	01.49 %
<i>Enterococcus faecium</i>	1	01.49 %
<i>Haemophilus influenzae</i>	1	01.49 %
<i>Klebsiella. Sp</i>	1	01.49 %
<i>Pseudomonas fluorescens</i>	1	01.49 %
<i>Pseudomonas putida</i>	1	01.49 %
<i>Pseudomonas stutzeri</i>	1	01.49 %
<i>Salmonella. Sp</i>	1	01.49 %

Tableau XXXII: Fréquences des bactéries isolées en 2013.

Bactéries isolées	Nombre de souches	Fréquences
Staphylocoque à coagulase négative	22	34.92 %
<i>Acinetobacter baumannii</i>	8	12.70 %
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	7	11.11 %
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	5	07.94 %
<i>Streptococcus. sp</i>	3	04.76 %
<i>Escherichia coli</i>	3	04.76 %
<i>Staphylococcus aureus</i>	2	03.17 %
<i>Enterobacter cloacae</i>	2	03.17 %
<i>Enterococcus faecalis</i>	1	01.59 %
<i>Enterobacter. sp</i>	1	01.59 %
<i>Enterococcus.sp</i>	1	01.59 %
<i>Enterobacter sakazakii</i>	1	01.59 %
<i>Acinetobacter lwoffii</i>	1	01.59 %
<i>Neisseria meningitidis</i>	1	01.59 %
<i>Burkholderia cepacia</i>	1	01.59 %
<i>Proteus mirabilis</i>	1	01.59 %
<i>Proteus. Sp</i>	1	01.59 %
<i>Pseudomonas. sp</i>	1	01.59 %
<i>Pseudomonas stutzeri</i>	1	01.59 %

Tableau XXXIII: Fréquences des bactéries isolées durant 4 mois (Janvier – Avril 2014).

Bactéries isolées	Nombre de souches	Fréquences
Staphylocoque à coagulase négative	6	30 %
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	2	10 %
<i>Enterobacter cloacae</i>	2	10 %
<i>Enterococcus faecalis</i>	2	10 %
<i>Enterococcus faecium</i>	2	10 %
<i>Staphylococcus aureus</i>	1	05 %
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	1	05 %
<i>Pseudomonas. sp</i>	1	05 %
<i>Pseudomonas stutzeri</i>	1	05 %
<i>Brucella melitensis</i>	1	05 %
<i>Citrobacter freundii</i>	1	05 %

BELDJOUHER Aicha

kyaraanjana@life.fr

DERBALA Imen

Rawenegirl@outlook.com

Résumé :

Afin d'étudier le profil épidémiologique et bactériologique des méningites bactériennes et d'estimer le profil de résistance des germes isolés, nous avons réalisé une étude au niveau de CHU de Blida.

L'étude a porté sur l'examen cyto-bactériologique du liquide céphalo-rachidien; et s'est répartie en deux volets, une étude rétrospective étalée sur une période de cinq ans (2009 -2013) et une étude prospective ayant duré 04 mois (de Janvier 2014 à Avril 2014).

Les analyses microbiologiques réalisées ont permis d'isoler 331 souches bactériennes dans l'étude rétrospective et 20 souches dans l'étude prospective, dont les bactéries à Gram négatif dominant.

On constate que Staphylococcus sp et Pseudomonas aeruginosa viennent en tête des étiologies des méningites bactériennes, quant au principaux germes responsables de méningites communautaires (Neisseria meningitidis, Streptococcus pneumoniae et Haemophilus influenzae) ont un taux est faible .

L'étude de l'antibiorésistance montre un taux élevé d'entérobactéries productrices de bêta-lactamase à spectre élargi et les staphylocoques méticillinorésistants.

Les méningites bactériennes sont des infections graves. La connaissance de la nature, la fréquence et la sensibilité des bactéries responsables permet d'améliorer la prise en charge thérapeutiques de ces infections.

Mots clés : LCR, Méningite, Résistance.

Abstract :

Our study was a retrospective study over a period of 05 years, from 2009 to 2013 and prospective study carried out in the laboratory of Microbiology, at the university hospital center of Blida for the purpose of identifying the epidemiological and bacteriological profile of bacterial meningitis.

During the study period, total of 331 strains bacteria at the retrospective study and 20 strains bacteria were isolated of cerebral spinal fluid.

We found that Staphylococcus sp and Pseudomonas aeruginosa were the most frequently isolated in bacterial meningitis while the main germs responsible of communal meningitis (Neisseria meningitidis, Streptococcus pneumoniae and Haemophilus influenzae) were less frequent.

The antibio-resistance evaluation shows a high rate of enterobacteriaceae that produces extended spectrum betalactamases (ESBL) and Staphylococcus meticillino resistant.

Bacterial meningitis are very serious infections. Knowing the nature, the frequency and the sensibility of the responsible bacteria help to improve the therapy.

Key words: LCR, Meningitis, Resistance.