

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEURE ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE



UNIVERSITE KASDI MERBAH - OUARGLA
FACULTE DES SCIENCES ET SCIENCES DE L'INGENIEUR

MEMOIRE DE FIN D' ETUDES

*En vue de l'obtention du diplôme d'Etudes Supérieures en Biologie
Option Microbiologie*

THEME

***Examen cyto bactériologique du Liquide
Céphalo Rachidien au cours de l'infection***

Présenté par :

* DEROUCHE Aïcha

* KHAZENE Kheira

Composition du jury :

Président : Mr BENSACI Messaoud..... Maître assistant chargé de cours

Promoteur : Mlle MERGOUD Lilia..... Maître assistant

Examineur : Mme KHALLEF Sakina..... Maître assistant

Année Universitaire : 2004/2005

Remerciements

Nous tenons à remercier plus particulièrement :

MIIE MERGOUD .L Maître assistant d'avoir diriger ce travail qui sans ses encouragements nous n'aurions pas progressé.

Mr BENSACI .M Maître assistant chargé de cours pour avoir accepter de présider ce jury et de porter son jugement à ce travail.

Mme KHALLEF.S Maître assistant d'avoir examiné et jugé ce modeste travail.

Les laborantins de l'hôpital Mohamed BOUDIAF et plus particulier **Mme KOURIME** d'avoir proposé ce travail.

Tous les personnels de direction de prévention de Ouargla.
Tous qui sont contribué a la réalisation de ce travail.

Table de matière		Page
Introduction		01
PARTIE BIBLIOGRAPHIQUE		
Chapitre I : Rappel anatomique et physiologique		
1- Anatomie de méninge		02
1.1 Définition		02
a- La dure-mère		02
b- l'arachnoïde		02
c- La pie-mère.....		02
2- Physiologie du liquide céphalo-rachidien		05
2.1 Définition.....		05
2.2 Localisation.....		05
a- Les ventricules cérébraux.....		05
b- Les espaces sous-arachnoïdiens et spinaux		05
2.3 Fonction.....		05
1- Protection mécanique		05
2- Protection chimique		05
3- Circulation		05
Chapitre II Méningite		
1- Généralité.....		08
2- Symptômes		09
3-Manifatisation clinique.....		09
4- Types de méningite.....		10
4.1 Méningite bactérienne aiguë.....		10
4.1.1 Définition.....		10
4.1.2 Agent infectieux.....		10
4.1.3 Anatomo-pathologie		10
4.1.4 Etiologie		11
4.2 Méningite virale.....		14
4.2.1 Définition		14
4.2.2 Anatomo-pathologie.....		14
4.2.3 Etiologie.....		15
4.2.4 Epidémiologie		15
4.3 Les méningites à liquide claire.....		15
4.3.1 Méningite tuberculeuse		15
4.3.2 Méningite fongique et parasitaire		16
a- Agent mycosique.....		16
b- Les protozoaires.....		17
Chapitre III Les bactéries responsables d'une méningite purulente		
1- Cocci Gram négatif.....		18
1- <i>Neisseria meningitidis</i>		18
1.1 Morphologie.....		18
1.2 Caractères cultureux		18
1.3 Caractères biochimique		18
1.4 Caractères antigénique		18
1.5 Epidémiologie		20
2- Cocci Gram positif.....		21
2.1 <i>Streptococcus pneumoniae</i>		21
2.1.1 Morphologie.....		21
2.1.2 Caractères cultureux		21

2.1.3 Caractères biochimiques	21
2.1.4 Caractères antigéniques	22
2.1.5 Epidémiologie	23
2.2 Staphylocoques.....	23
2.2 1 Morphologie.....	23
2.2.2 Caractères cultureux	23
2.2.3 Caractères biochimiques.....	23
2.2.4 Caractères antigéniques..	23
2.2.5 Epidémiologie	24
3) Les bacilles à Gram négatif.....	24
3.1 <i>Haemophilus influenzae</i>	24
3.1.1 Morphologie.....	24
3.1.2 Caractères cultureux	24
3.1.3 Caractères biochimique	24
3.1.4 Caractères antigénique	24
3.1.5 Epidémiologie	25
3.2 <i>Escherichia coli</i>	25
3.2.1 Morphologie.....	25
3.2.2 Caractères cultureux	25
3.2.3 Caractères biochimique	25
3.2.4 Caractères antigénique	25
3.2.5 Epidémiologie	26
4) Les bacilles à Gram positif.....	26
4- <i>Listeria monocytogenes</i>	26
4.1 Morphologie.....	26
4.2 Caractères cultureux	26
4.3 Caractères biochimiques	26
4.4 Caractères antigéniques.....	26
4.5 Epidémiologie	27

Chapitre IV Examen cyto bactériologique de liquide céphalo-rachidien au cours de méningite

1- prélèvement	28
2- ponction lombaire.....	28
3- Examen cyto bactériologique de liquide céphalo-rachidien.....	30
3.1 Aspect macroscopique.....	30
3.2 Examen cytologique.....	31
3.2.1 Examen microscopique	33
a) Sur le LCR complet.....	33
b) À partir de culot de centrifugation	33
c) Frottis colorés au Gram	34
3.3 Cultures bactériologiques.....	35
3.3.1 Mise en culture.....	36
3.3.2 Identification préliminaire.....	37
3.4 Mise en évidence d'antigènes solubles bactériennes	38
3.5 Examen Biochimique	38
3.6 Antibiogramme.....	39

PARTIE PRATIQUE

I- Matériels et méthodes

1- Matériel de travail.....	40
2- Méthodologie de travail.....	41
A- Prélèvement	41
B- Examen au laboratoire	41

B.1 L'aspect macroscopique.....	41
B.2 Examen cytologique.....	41
1- Etude quantitative.....	41
1.1 Mode opératoire.....	41
1.2 Lecture	42
2- Etude qualitative.....	42
2.1 Coloration de May-Grunwald Giemsa.....	43
2.2 Coloration de Gram.....	43
B.3 Culture.....	44
B.4 Antibiogramme.....	45
B.5 Détection de antigènes solubles	45

II-Résultats et discussion

Analyse au laboratoire	46
1- Aspect macroscopique	46
a- Aspect clair	46
b- Aspect hémorragique.....	46
c- Aspect xanthochromique.....	46
d- Aspect trouble	46
1.2 Examen cytologique.....	47
1.2.1 Etude quantitative.....	47
1.2.2 Etude qualitative.....	47
a) Résultat de coloration de MGG.....	47
b) Résultat de coloration de Gram.....	48
1.3 La culture et l'antibiogramme	48
1.4 La détection des antigènes solubles.....	48
- Répartition selon l'évolution mensuelle	53
- Répartition selon le sexe.....	55
- Les germes isolés.....	56
Conclusion	60
Références bibliographiques	62
Annexe	65

Liste des tableaux

Tableau	Titre	Page
01	Liste des microorganismes susceptibles d'être à l'origine de méningite.	12
02	Germes retrouvés au cours des méningites en fonction des tranches d'âges.	13
03	Résultat de l'examen du LCR.	32
04	Résultat de l'examen du LCR associés la méningite.	35
05	Choix de milieux de culture pour le prélèvement de LCR en fonction des résultats du frottis coloré au Gram.	37
06	Répartition des 53 prélèvements de LCR selon les services et 5 mois de travail.	41
07	Résultat de l'étude cyto bactériologique de LCR durant la période de travail.	49
08	Répartition de la maladie selon l'âge et le sexe durant la période d'étude.	50
09	Évolution saisonnière de la méningite virale et de la méningite bactérienne de l'année 2003.	53
10	Évolution saisonnière de la méningite virale et de la méningite bactérienne de l'année 2004.	53
11	Répartition de méningite par âge et par sexe 2003.	55
12	Répartition de méningite par âge et par sexe 2004.	55
13	Fréquence des germes isolés selon les tranches d'âge (2003.2004).	57

Liste des figures

Figure	Titre	Page
01	Vue antérieure et coupe transversale de la moelle épinière	3
02	Coupe frontale du crâne montrant les méninges crâniennes	4
03	Coupe sagittale de l'encéphale et de la moelle épinière montre la circulation de LCR	6
04	Schéma montrant la circulation de liquide céphalo-rachidien	7
05	Photos de méningocoque (liquide céphalorachidien)	19
06	Ceinture de méningocoque A	20
07	Photo de pneumocoque (liquide céphalorachidien)	22
08	Technique de la ponction lombaire	29
09	Cellule de Nageotte	33
10	Cellule de Malassez	33
11	Histogramme de répartition de 53 prélèvements de LCR selon les services et 5 mois de travail	52
12	Histogramme de l'évolution de la méningite durant la période d'étude chez les enfants	54
13	Histogramme de l'évolution de la méningite durant la période d'étude chez les malades adultes	54
14	Répartition des germes isolés chez les enfants (2003)	58
15	Répartition des germes isolés chez les malades adultes (2003)	58
16	Répartition des germes isolés chez les enfants (2004)	59
17	Répartition des germes isolés chez les malades adultes (2004)	59

LISTE DES ANNEXES

Annexes 01: Composition des milieux de cultures utilisées pour l'isolement des bactéries responsables d'une méningite purulente.

Annexes 02 : Modèle fiche de l'examen cyto bactériologique du liquide céphalorachidien

Annexes 03 : Lexique médical.

Résumé

Notre étude a pour objectif de rechercher l'étiologie de la méningite d'origine microbienne et ainsi de proposer un traitement adapté. Les 53 prélèvements de ponction lombaire reçus au niveau de l'hôpital Mohamed BOUDIAF à Ouargla ont subi une étude cyto bactériologique.

Les examens cyto bactériologiques ont révélé que la méningite virale est prédominante et la portion de méningite bactérienne est causée principalement par des Pneumocoques.

Les résultats de l'étude statistique nous a permis de faire apparaître la nette diminution du nombre des sujets atteints par rapport à celui des 2 années précédentes et que la méningite n'est pas limitée à un sexe sans l'autre avec des répartitions presque égaux, mais elle est plus fréquente chez les enfants que les adultes.

Les mots clés : Méningite bactérienne, méninge, liquide céphalo-rachidien.

Summary

The focus of study is to reach the meningitis etiology, that's have a microbien origin, and to propose an adaptable treatment.

The selections of the fifty three samples are devoted for core feminine puncture from the laboratory bacteriological of hospital Mohamed BOUDIAF level, Ouargla .It is about to realisation of the cytobacteriologic study.

The cytobacteriologic examination reveal the domination of viral meningitis, the bacterial meningitis is mainly caused by the pneumococci .

As result of statistic study, we are allowed to appear that it was decreased among many attaints in comparison to the last two years ago.

The meningitis is not limited between sex and other, and its distribution nearly the same, but it is very frequented at the children than the adults.

Key words: the bacterial meningitis, meninges, cerebrospinal fluid.

! "
& '() * '+ \$ + , \$ - . 53 \$ %
) 6\$ 4 + 5 1 " , (23 + +\$ + 0 - /
(70 " , (23 + +\$ 7 \$8
3 5 : , " 9 1
! <& => ?@ 7 + + 3 A ;3
B " C & D - 9 = \$)E
1 H 2 (. E G " # - 6, D \$F
)CI 5 1 " , (23 9 95 : _____

Abréviation

ADN : Acide Désoxyribo-Nucléique

ARN : Acide Ribo-Nucléique

ATP : Adénosine Tri-Phosphate

LCR : Liquide Céphalo-Rachidien.

L1 : Lombe 1

L2 : Lombe 2

L3 : Lombe 3

L 4: Lombe 4

L 5: Lombe 5

MGG: May Grunwald Giemsa

ONPG: Ortho –Nitro-Phenyl- Galactosidase

ORL: Oto-Rhino-Labyngologie

PL : Ponction Lombaire

SNC : Système Nerveux Centrale

S1 : Sinus1

VIH : Virus d'Immunodéficiency Humaine

Introduction

INTRODUCTION

La méningite reste parmi les plus graves maladies infectieuses qui représente une véritable urgence médicale **(22)**.

Une méningite est une inflammation des méninges, les enveloppes de la moelle épinière et du cerveau dans lesquelles circule le liquide céphalo-rachidien. Les causes sont diverses infectieuses, cancéreuses, médicamenteuses **(12)**.

La méningite d'origine virale est généralement bénigne **(19)** et présente un peu de risque et ne peut être soignée avec des antibiotiques **(19)**.

La méningite d'origine bactérienne est une infection grave, qui évolue de façon extrêmement rapide et qui peut mener à la mort si elle n'est pas diagnostiquée et soignée à temps **(19)**.

Comme toute maladie infectieuse, la méningite bactérienne peut être transmise par les sécrétions provenant du nez ou de la gorge par contact proche **(19)**.

Le diagnostic est biologique repose sur la ponction lombaire.

- Comment se déroule le diagnostic Biologique afin de révéler la présence des bactéries incriminées dans cette affection du liquide céphalo-rachidienne et quelle est son importance dans l'orientation thérapeutique ?

- Quelles sont les personnes à risque d'atteinte et comment la méningite évolue dans le temps ?

Afin de répondre à ces questions, on a procédé à une étude bibliographique contenant 04 chapitres et à une étude expérimentale réalisée à l'hôpital Mohamed BOUDIAF à Ouargla au niveau de laboratoire de Bactériologie à Ouargla pour rechercher les bactéries incriminées dont on a comparé nos résultats avec ceux des données statistiques obtenus directement à partir d'un registre de service de prévention afin de connaître l'extension de cette maladie dans la région de Ouargla durant les 03 années dernières.

Partie Bibliographique

CHAPITRE I : RAPPEL ANATOMIQUE ET PHYSIOLOGIQUE

Les structures protectrices de la moelle épinière décrivent deux revêtements de tissu conjonctif, les méninges et les vertèbres, ainsi qu'un coussin de liquide cérébro-spinal (liquide céphalo-rachidien) produit dans l'encéphale, entourant et protégeant le fragile tissu nerveux (27).

1-L'ANATOMIE DES MENINGES :

1-1-Définition:

Les méninges sont des membranes de tissu conjonctif qui recouvrent la moelle épinière et l'encéphale.

On distingue : les méninges spinales (rachidiennes) (voir figure N°1) et les méninges crâniennes (voir figure N°2).

Sont formés de trois membranes :

a- La dure-mère :

La membrane externe, la plus résistante, elle maintient l'encéphale dans la boîte crânienne et forme un manchon fibreux autour de moelle épinière et des racines rachidiennes (1).

- La moelle épinière est aussi protégée par coussin de tissu adipeux et de tissu conjonctif située dans l'espace épidual ; espace entre la dure-mère et la paroi du canal vertébral (27).

b- L'arachnoïde :

Une fine membrane conjonctive reliée par de fines trabéculations à la pie-mère (9).

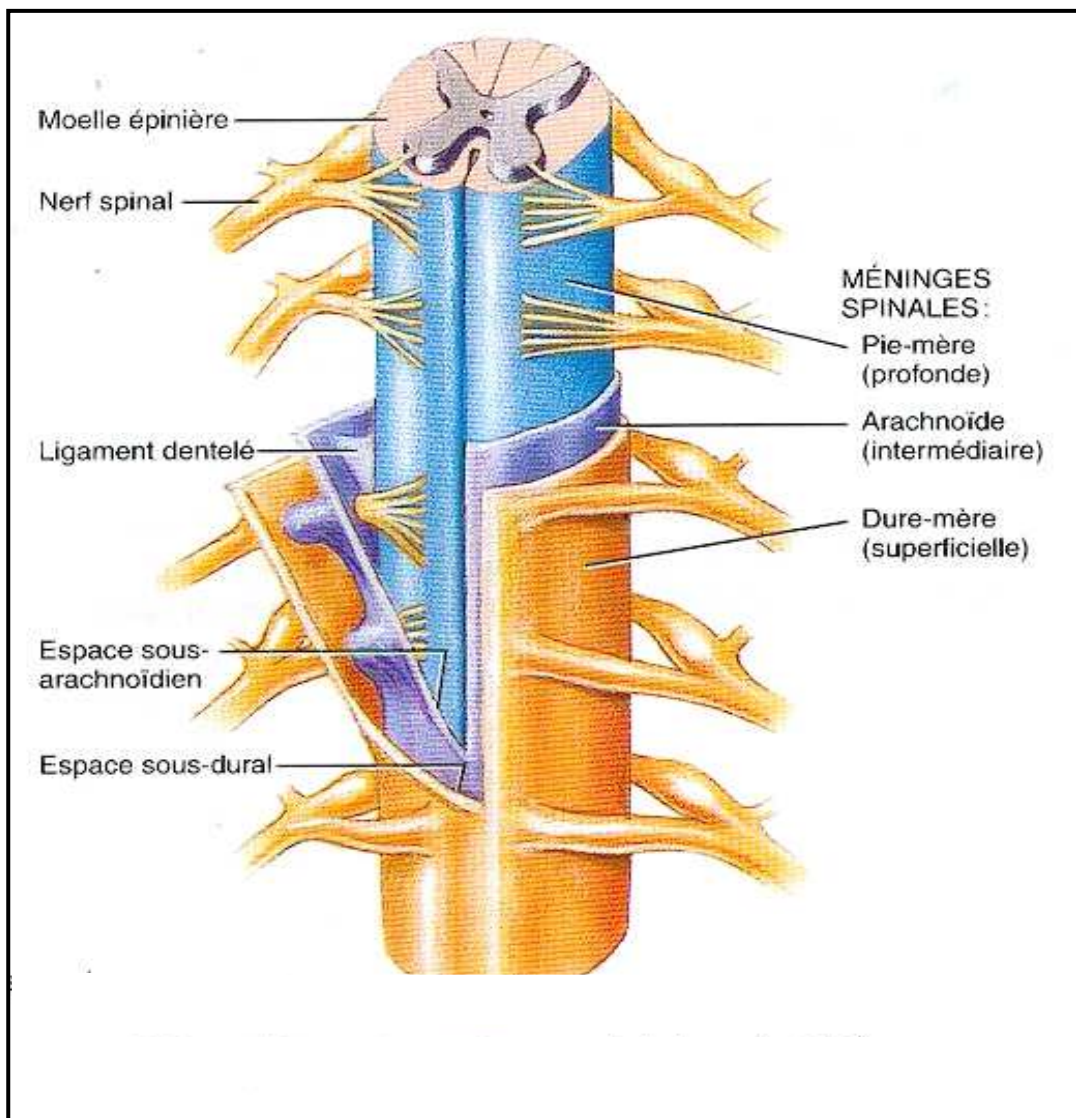
- La dure-mère et l'arachnoïde sont séparées par le mince espace sous dural, qui contient du liquide interstitiel (27).

c-La pie-mère :

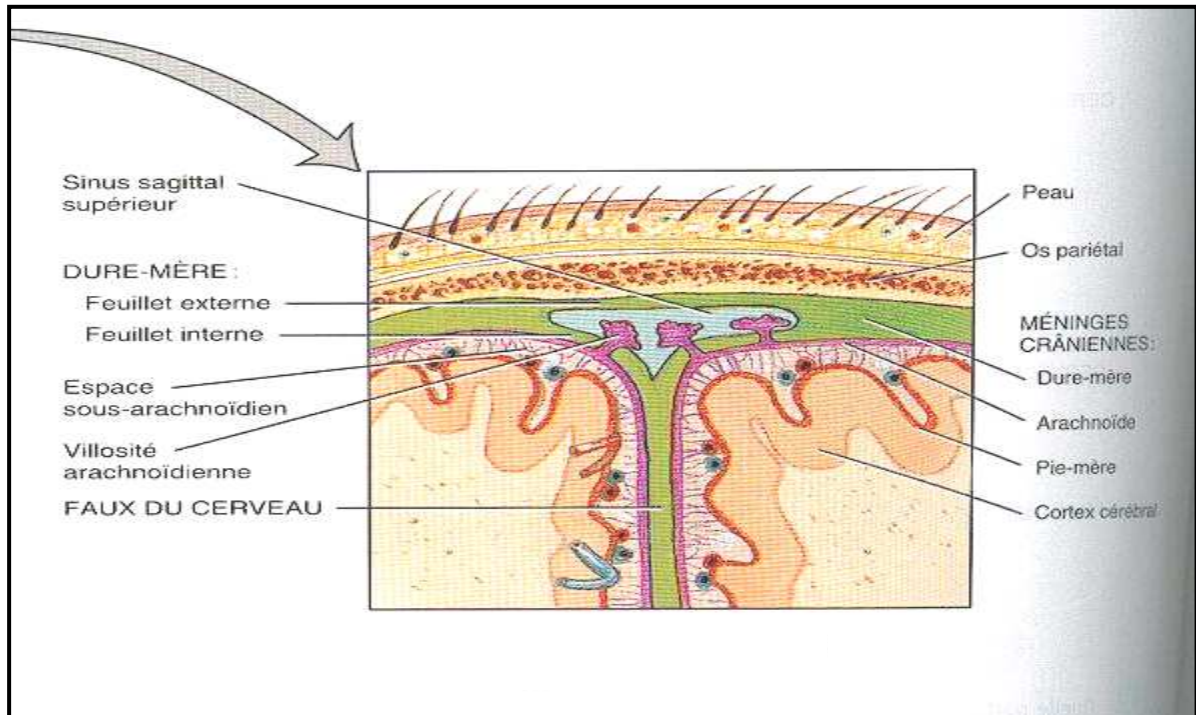
Une couche mince et transparente de tissu conjonctif qui adhère à la surface de la moelle épinière et de l'encéphale.

Elle est composée de faisceaux entrelacés de fibres collagènes et de délicates fibres élastiques; elle contient un grand nombre de vaisseaux sanguins qui fournissent de l'oxygène et de nutriments à la moelle épinière.

- l'arachnoïde et la pie-mère délimitent l'espace sous-arachnoïdien qui contient du liquide cérébro-spinal (27).



(Fig. N°01) : Vue antérieure et coupe transversale de la moelle épinière (27)



(Fig. N°02) : Coupe frontale du crâne montrant les méninges crâniennes (27)

2-PHYSIOLOGIE DU LIQUIDE CEPHALO-RACHIDIEN (LCR) :

2.1 Définition:

Le liquide céphalo-rachidien ou liquide cérébro-spinal est un liquide clair et incolore, protège l'encéphale et la moelle épinière contre les traumatismes chimiques et physiques ; il apporte aux neurones et aux cellules gliales de l'oxygène, du glucose et d'autres substances essentielles contenues dans le sang (27).

2.2 Localisation :

Le (LCR) occupe deux grands compartiments de système nerveux central :

a- Les ventricules cérébraux :

Dans les quels il est sécrété par les plexus choroïdes.

b- Les espaces sous-arachnoïdiens cérébraux et spinaux :

Au niveau des quels le liquide céphalo-rachidien (LCR) est réabsorbé par les villosités arachnoïdiennes (voir figure N°3).

2.3 Fonctions:

1- Protection mécanique :

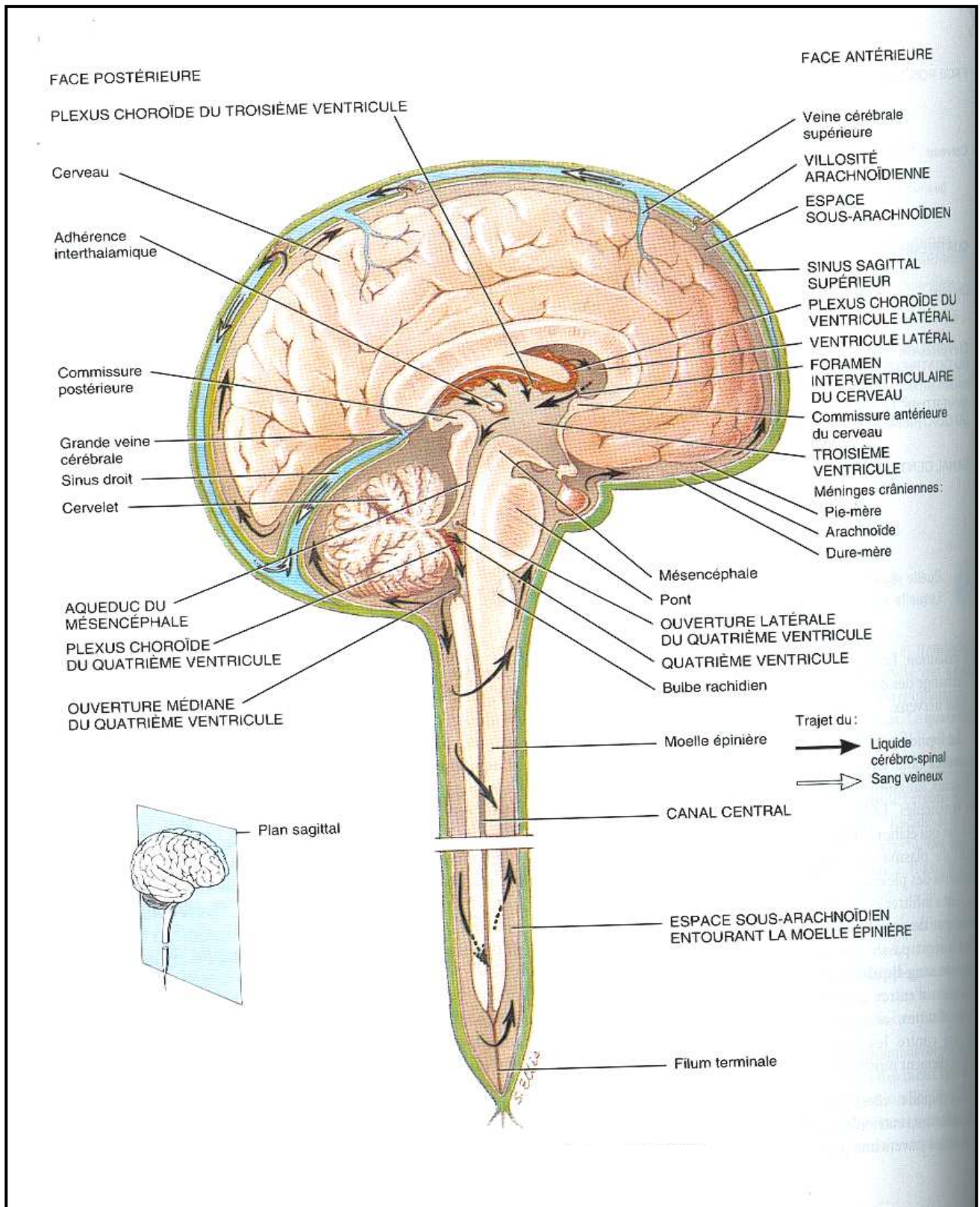
Le (LCR) constitue un coussin qui protège le fragile tissu de l'encéphale et de la moelle épinière contre les secousses qui pourraient le protéger contre les parois du crâne et des vertèbres (27).

2- Protection chimique:

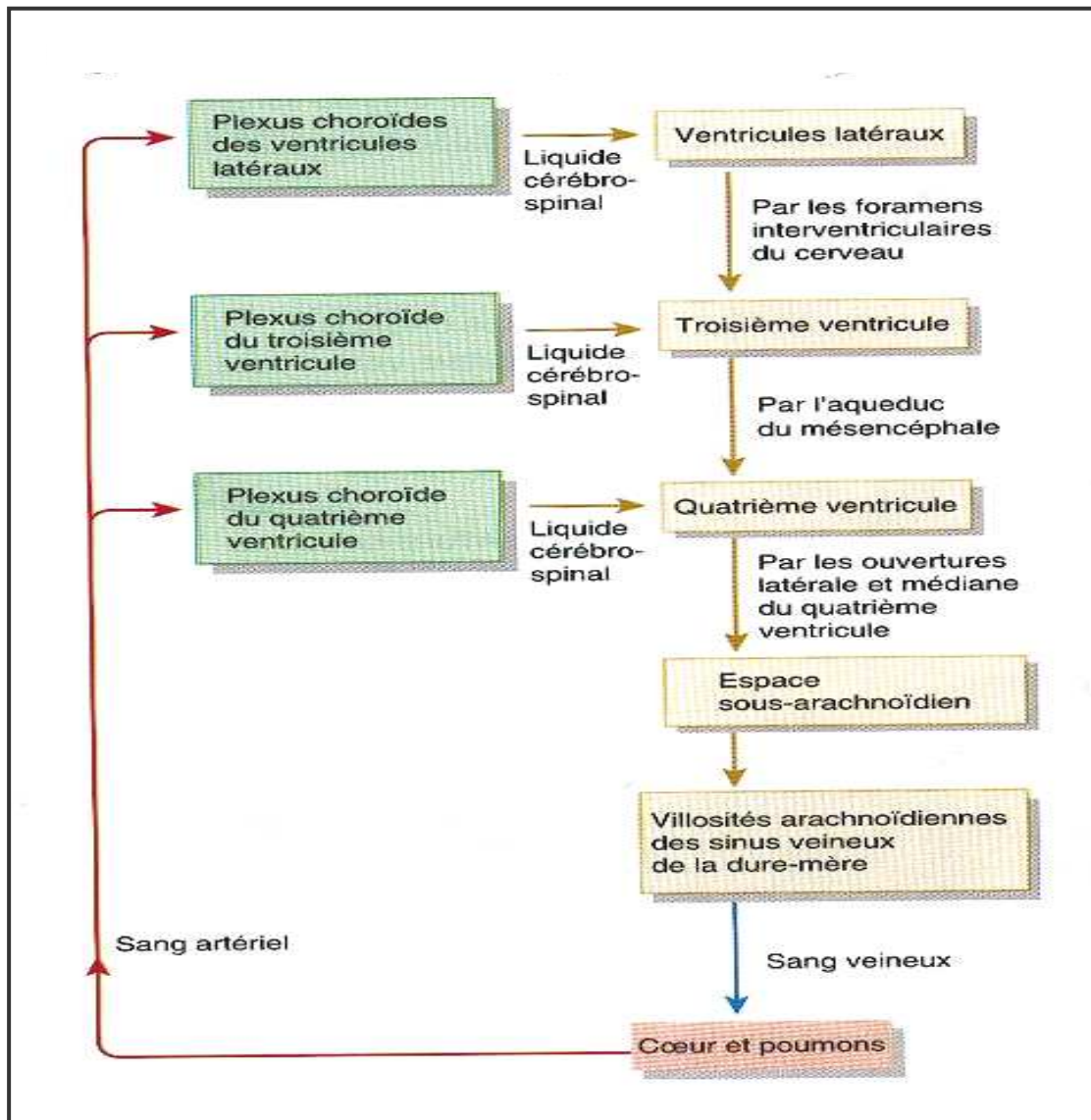
Le liquide céphalo-rachidien (LCR) constitue un milieu chimique propice à l'émission des influx nerveux (27).

3- Circulation :

Le (LCR) sert de milieu pour l'échange des nutriments et des déchets entre le sang et le tissu nerveux (voir figure N°4) (27).



(Fig. N°03) : Coupe sagittale de l'encéphale et de la moelle épinière et la circulation de liquide céphalorachidien (27)



(Fig. N°04) : Schéma montre la circulation du liquide cébro-spinal (27)

CHPITRE II : MENINGITE

1)- Généralité:

On désigne habituellement par le terme de méningite, l'infection ou l'irritation pathologique des méninges moelles de l'espace sous-arachnoïdien compris entre l'arachnoïde et la pie-mère et dans lesquels circule le liquide céphalorachidien **(19)**.

- Cette infection était très grave avant l'ère des antibiotiques, et actuellement parfaitement curable à condition que le traitement soit rapidement appliqué **(1)**.

- Mais elle est définie conventionnellement comme affection caractérisée par l'inflammation aigue ou chronique des méninges de l'encéphale (méningite cérébrale) et de la moelle épinière (méningite spinale) ou des méninges du complexe encéphale- moelle (méningite cérébro-spinale) **(11)**.

Les méningites peuvent être subdivisées en deux catégories :

-Les méningites médicales, qui apparaissent comme primitives, sont en fait consécutives à une infection ORL ou une infection généralisée de type septicémique.

- Les méningites chirurgicales post – traumatiques ou postopératoires, directement introduites par les lésions d'effraction **(6)**.

De nombreux microorganismes peuvent être incriminés : bactéries, virus, et parasites (voir le tableau N°1) page 12.

Dans 70 à 80 % des cas, les méningites sont d'origine virale, elle sont généralement bénignes, le rétablissement étant le plus souvent spontané.

Dans 20 à 25 % des cas, les méningites sont d'origine bactérienne, elle sont grave car l'évolution spontanée est pratiquement toujours mortelle.

Dans moins de 5 % des cas, les méningites infectieuses sont dues à des bactéries non pyogènes, à des parasites ou à des processus néoplasiques **(19)**.

2)- Symptômes :

La symptomatologie clinique, des méningites comporte l'association :

a)- D'un syndrome infectieux :

- Fièvre plus ou moins élevée (Hyperthermie à 39 °C- 40 °C)
- Signes pseudo – grippaux d'origine virale (myalgies, arthralgies, asthénie).

b)- Syndrome méningé :

- Céphalées continues gênant le sommeil et augmentant lors de changement de position.
- Vomissement typique «en jet».
- Constipation.
- Rachialgies, photophobie, raideur méningée.

L'examen clinique retrouve aussi les deux signes suivants :

★ Le signe de Brudzinski :

Chez les patients allongés la flexion de la nuque entraînée la flexion des membres inférieures.

★ Le signe de Kernig:

Chez le patient en décubitus dorsal, une tentative flexion à angle droit sur le bassin des membres inférieurs tendus entraîne une vive douleur rachidienne et le mouvement ne peut être poursuivi sans une flexion de genoux.

La flexion complète de la cuisse sur le bassin, jambes tendues déclenche la douleur et la flexion de la nuque (8).

3)- Manifestation clinique :

La méningite se manifeste comme suite :

- Pour les enfants, les jeunes et les adultes, les symptômes peuvent être présentes séparément ou simultanément : maux de tête, fièvre, vomissement, raideur de la nuque, douleur articulaire, en vie de fuir de la lumière (photophobie), éruption cutanée (apparition des taches rouges), confusion ou somnolence, voir coma.
- Pour les bébés, ces symptômes sont moins marqués : On retiendra l'accès brutal de fièvre accompagnée parfois de convulsion, de vomissement et d'éruption cutanée.

Il faut également être attentif aux modifications du comportement (refus de nourriture, irritabilité, vomissement, apathie et somnolence, difficulté à se réveiller). La méningite peut progresser en un ou deux jours, parfois quelques heures, le patient devient très malade (13).

4)- Types de méningite:

4-1)- Méningite bactérienne aigue :

4.1.1)-Définition :

L'infection bactérienne est caractérisée par l'inflammation aigue de l'arachnoïde et de la pie-mère (leptoméninge), par un syndrome méningé et par un liquide céphalo-rachidien contenant de nombreux polynucléaires le plus souvent altérés (11).

4.1.2)-Agent infectieux :

Un agent infectieux (soit des cellules tumorales, soit du sang) entrant en n'importe quel point de l'espace, peut s'étendre immédiatement à son ensemble, même aux endroits les plus éloignés, par conséquent une méningite est toujours cérébro-spinale.

Dans la méningite bactérienne purulente, le liquide est trouble hypertendu avec plus de 1000 éléments par mm³ surtout des polynucléaires, protéines augmentées et glucose diminué (14).

4.1.3)- Anatomo-pathologie :

La bactérie ou d'autres organismes provoquent, une fois dans les espaces sous-arachnoïdiens, une réaction inflammatoire de la pie-mère et de l'arachnoïde et du LCR. En cas de méningite à germe pyogène, il existe une accumulation de pus dans cet espace. Un agent infectieux ou sa toxine, si elle possède suffisamment de temps pour agir lèse ces structures qui se trouvent dans l'espace sous-arachnoïdien ou les ventricules et les structures qui leur sont adjacents (artères et veines pie-mèriennes, cortex cérébral et cérébelleux sous-jacents, substance blanche sous, pie-mèriennes de la moelle épinière, fibres périphériques de nerfs optiques, tissu (épendymaire et sous-épendymaire). En fin, le LCR purulent peut entraver la circulation du LCR dans les

ventricules ou dans les espaces sous arachnoïdiens autour du tronc cérébral, avec pour résultats une hydrocéphalie obstructive.

Bien que la membrane arachnoïdienne externe constitue une barrière remarquablement efficace contre l'extension de l'infection **(14)**.

4.1.3)-Etiologie : Les bactéries en causes sont représentées dans le tableau (N°1).

Les étiologies des méningites bactériennes varient avec l'âge de la manière suivante :

a)- *Streptococcus pneumoniae* :

Entraîne 30 à 50% des cas chez l'adulte, 10 à 20% chez l'enfant et plus de 5% chez les nourrissons.

b)- *Neisseria meningitidis* : Est à l'origine de 10 à 35% des cas chez l'adulte et 25 à 40% chez les enfants jusqu'à 15 ans, Il est rare chez les nourrissons.

c)- *Haemophilus influenzae type b* :

Est en cause dans 40 à 60% de cas chez l'enfant mais dans seulement de 1 à 3% de ceux de l'adulte et quasiment jamais chez le nourrisson **(11)**.

Les autres causes importantes de méningite sont : *Staphylococcus aureus* et *Staphylococcus épidermidis*.

Ce dernier germe détermine 75% des infections associées à une valve pour l'hydrocéphalie.

Les autres germes incriminés :

- Streptocoque du groupe B en particulier chez les nourrissons.
- Streptocoque anaérobies ou micro aérophiles et les bacilles à Gram négatif **(14)**;

Habituellement associées à des abcès cérébraux, des abcès épiduraux, des traumatismes crâniens, des interventions neurochirurgicales ou thrombophlébites intracrâniennes :

Escherichia coli et autres entérobactéries comme klebsiella, Proteus, les Citrobacter, les Pseudomonas, et les Acinetobacter.

Tableau N°1 : Liste des micro-organismes susceptibles d'être à l'origine de méningite (6)

Bactéries	
<ul style="list-style-type: none"> • <u>Cocci Gram négatif</u> <i>Neisseria meningitidis</i> (32%) (méningite Cérébro-spinale, purpura fulminans). Le sérotype B est prédominant en France. <i>Neisseria gonorrhoeae</i> et autres neisseria (rarement). • <u>Cocci Gram positif</u> <i>Streptococcus pneumoniae</i> (13%). Autres streptocoques (6%). Streptocoques B (méningites néonatales (2%). Streptocoques D (Entérocoques (1%)). <i>Streptococcus suis</i> (méningite des charcutiers) Staphylocoque coagulase + (6%) et coagulase - (8%) (méningites neurochirurgicales) souillure fréquente. • <u>Bacilles Gram négatif</u> <ul style="list-style-type: none"> ▪ <i>Haemophilus influenzae</i> (18%) serotype b, biotype 1 para-influenzae. (très rarement) (0,4%) ▪ Entérobactéries. <i>Escherichia coli</i>, sérotype K₁ (3%) (méningites néonatales). Klebsiella et autres entérobactéries 3% Salmonella (principalement <i>S. typhimurium</i> et <i>S. enteritidis</i>). 	<p><i>Pasteurella multocida</i> <i>Moraxella</i> (très rarement) <i>pseudomonas</i> (3%) <i>Acinetobacter</i> <i>Campylobacter fetus</i>. <i>Flavobacterium meningosepticum</i></p> <ul style="list-style-type: none"> • <u>Bacilles Gram positif</u> <ul style="list-style-type: none"> ○ <i>Listeria</i> (3%) (Formule leucocytaire panachée). ○ <i>Bacillus anthracis</i>. ○ Autres <i>Bacillus</i> (souillures). • <u>Bacilles acido-alcool-resistant</u> <i>Mycobacterium tuberculosis</i> (1%) • <u>Bactéries spirales</u> <i>Leptospira interrogans</i> (divers sérotypes). <ul style="list-style-type: none"> ○ <i>Treponema pallidum</i> • <u>Autres bactéries</u> <i>Rickettsia</i> <i>Chlamydia</i>. <i>Mycoplasma</i>. • <u>Bactéries anaérobies</u> <i>Clostridium</i>. <i>Bacteroides</i>. Autres bactéries non Sporulées.
Autre agents microbiens responsables de méningites.	
<ul style="list-style-type: none"> • <u>Agents mycosiques :</u> <i>Candida</i>. <i>Cryptococcus neoformans</i>. • <u>Protozoaires :</u> • <i>Toxoplasma</i>, <i>Trypanosoma</i>. <i>Schistosoma</i> 	<p>Ténia (éosinophilie). <i>Naegleria</i>. <i>Fowleri</i>. On n'oubliera pas les nombreuses méningites virales ainsi que les réactions méningées amicrobiennes.</p>

Habituellement secondaire à un traumatisme crânien, à une intervention neurochirurgicale, à une anesthésie rachidienne, à une ponction lombaire ou à une dérivation ventriculaire pour traiter une hydrocéphalie.

Environ 20% des méningites bactériennes survenant chez des patients âgés de 50 ans ou plus sont due à des bactéries intestinales à Gram négatif (14).

Les agents pathogènes rarement rencontrés dans la méningite comprennent : Salmonella, Shigella, *Clostridium perfringens* et *Neisseria gonorrhoeae*.

L'apparition de *Listeria monocytogenes* comme un agent pathogène important de méningites bactériennes en particulier chez les personnes âgées (11).

Les germes retrouvés au cours des méningites sont représentés dans le Tableau N°2.

Tableaux N°2 : Germes retrouvés au cours des méningites, en fonction de tranches d'âges (20,9)

-Prématurés	<i>E.coli</i> , Streptocoque du groupe B, Enterobacteries autre que <i>E. coli</i> , <i>S. pneumoniae</i> (<i>Listeria monocytogenes</i>)
-nouveaux-nés	
Enfant 1 – 5 ans	<i>H. influenzae</i> , <i>N. méningitidis</i> , <i>S. pneumoniae</i>
5 à 50 ans	<i>N. meningitidis</i> , Staphylococcus, <i>S. pneumoniae</i>
> 50 ans	<i>S. pneumoniae</i> , Staphylococcus, <i>N. meningitidis</i> Bactéries Gram négatif (<i>Listeria monocytogenes</i>)

4.2)- Méningite virale :

Synonymes : Réaction méningée à lymphocytes, méningites séreuses

4.2.1)- Définition :

Infection virale des méninges habituellement bénignes et de courte durée et la guérison était la règle, caractérisée par de la fièvre, de la céphalée, une raideur de nuque, une photophobie, ces méningites ont été appelées méningite «aseptique» ou «abactérienne» pour souligner l'absence de bactéries à l'examen microscopique du LCR (11,14).

4.2.2)-Anatomo-pathologie :

Les virus diffèrent par leur taille, leur morphologie, leur composition chimique, et leur effet sur l'hôte ; leurs caractères communs sont :

Le génome qui est soit de l'ARN soit le l'ADN entouré par une capsule protéique protectrice ; et le fait qu'ils ne se multiplient qu'à l'intérieur de la cellule et le fait que l'étape initiale de la réplication concerne la séparation du génome de sa capsule protectrice.

Certaines propriétés communes des virus sont des déterminants importants de la maladie qu'ils entraînent. Les Herpès virus ont tendance à rester latents dans les cellules.

- Les entérovirus : se répliquent dans le tractus gastro-intestinal et se transmettent par voie orale ou fécale.

- Les mycovirus : contiennent un génome segmenté qui tend à se recombiner.

La plus part des infections virales du SNC (système nerveux centrale) sont les résultats finaux d'une infection touchant antérieurement d'autres tissus et organes il existe habituellement une phase de réplication virale extra neurologique avant que le système nerveux ne soit atteint, on classe l'infection virale aigue du SNC en fonction des signes cliniques que le patient présent ou selon la partie du système nerveux atteint par le processus morbide (14).

4-2-3)- Etiologie :

- Virus des oreillons (*Myxovirus parotidis*) ; la méningite peut précéder la parotide.
- Les entérovirus : Notamment virus (Coxsackie et Echovirus).
- La méningite à poliovirus est devenue rare à la suite de la vaccination obligatoire.
- Autre virus : Virus de la chorioméningite lymphocytaire, VIH, Cytomégalovirus, Arbovirus, virus de la rougeole, virus de Herpès de la varicelle ou du zona, Adénovirus (11).

4-2-4)- Epidemiologie :

Les méningites virales sont sporadiques dans le monde entier; elles sont plus fréquentes en été et au début de l'automne. Elle est identifiée dans $\frac{2}{3}$ des cas si l'on utilise des techniques adéquates (11).

4-3)- Les méningites à liquide clair :

4-3-1)- Méningite tuberculeuse :

On observe la méningite tuberculeuse chez les mêmes malades qui souffrent de tuberculose active d'autre organe : Les enfants, les adultes, jeunes 20 à 30 ans, les sujets âgés ; les immigrants, les économiquement faibles, les alcooliques.

L'examen du fond d'œil peut montrer plus souvent :

- Un œdème papillaire.
- Hypertension intracrânienne prolongée.
- Dilatation des ventricules et de densité accrue des sillons sous-arachnoïdiens à la base de cerveau.
- La pléocytose est variable, mais généralement montre une prédominance lymphocytaire marquée est habituellement ne comporte que quelque centaines de cellules.
- La teneur en protéines s'élève rapidement.
- Une glucorachie basse.
- On ne peut s'attendre avoir très souvent directement le bacille dans le LCR et les cultures nécessitent jusqu'à 6 semaines (23).

Cause: *Mycobacterium tuberculosis*

- l'incidence de la méningite tuberculeuse est actuellement très faible dans les pays industrialisés. En France, durant les années 1993, 1994 et 1995 les méningites représentent respectivement 1,4 ; 1,9, et 1,4% des cas de tuberculose déclarés à direction générale de la santé dans le cadre de la déclaration obligatoire (7).

- La méningite tuberculeuse reste toute fois redoutable car, malgré l'existence d'antibiotique antituberculeux efficace, elle a encore un taux de létalité élevé et est fréquemment à l'origine des séquelles neurologiques (30).

4.3.2 Méningite fongique et parasitaire :

a) **Agent mycosique :** - *Cryptococcus neoformans*
- *Candida albicans*

1)- *Cryptococcus neoformans* :

Une levure appartenant à la classe des Basidiomycètes.

- La particularité morphologique de cette levure bourgeonnante, arrondie de 3 à 7 µm de diamètre est que les blastospores sont entourées d'une capsule mucilagineuse poly-osidique, cette capsule d'épaisseur variable non colorable, est bien mise en évidence, après dilution du prélèvement ou de la culture dans l'ancre de chine.

Ce dernier permet aussi de différencier la levure équipée d'une capsule volumineuse d'un leucocyte (25).

- *C. neoformans* survient dans la majorité des cas chez des patients séropositifs pour VIH (26).

2)- *Candida albicans* :

Parmi les levures pathogènes pour l'homme, cette espèce est la plus fréquemment rencontrée.

- La candidose est particulièrement envahissante, sur le terrain particulier des déficits de l'immunité cellulaire (observées chez les immunodéprimés), sont dues à des spores inhalées et plus rarement introduites par traumatisme accidentel ou chirurgical (25).

b) Les protozoaires :

Parmi les quels, on rencontre surtout :

Toxoplasme coccidie de chat.

La transmission de la toxoplasmose à l'homme se fait de 03 façons :

En mangeant de la viande mal cuite contenant des Bradyzoïdes.

Absorption des aliments, végétaux le plus souvent souillés par les fécès de chat.

Toxoplasmose grave chez l'immunocompétent (des atteintes neurologiques centrales). En plus, on peut trouver :

Trypanosoma, Schistosoma, Teania (éosinophile), *Naegleria fowleri*_(25).

CHAPITRE III : LES BACTERIES RESPONSABLES D'UNE MENINGITE PURULENTE

1). Cocci Gram négatif

1. *Neisseria meningitidis* ou méningocoque :

1.1. Morphologie :

Bactérie aérobie à Gram négatif se présentant sous la forme d'un diplocoque, en grain de café, habituellement pathogène pour l'homme ; extra ou intra cellulaire. On note rarement plus de 2 à 4 éléments à l'intérieur des polynucléaires (voir figure N°5) (24).

1.2. Caractères cultureux :

Les méningocoques sont des bactéries exigeantes qui nécessitent des milieux enrichis et sans antibiotiques (gélose de Mueller-Hinton ou gélose au sang cuit de type gélose chocolat additionnée du supplément vitaminique) ; bactéries très sensibles au froid, elles sont détruites par séjour de moins d'une heure à température de laboratoire.

L'incubation à une température optimale de 37 C° et de pH optimal de 7,2 maximums en 48 heures, est réalisée en atmosphère humide enrichie de 5 à 10 % de CO₂ (15).

1.3. Caractères biochimiques:

Oxydase (+), catalase (+), glucose (+) sans gaz, maltose (+) sans gaz, nitrate et nitrite (-), et ONPG (-) (24).

1.4. Caractères antigéniques :

Le germe existe à l'état endémique dans le monde entier. Il existe des principaux sérogroupes, en fonction de la présence des polysides capsulaires A, B, C, E29, W135, X, Y, Z.

Les sérogroupes A et C est responsables d'épidémies meurtrières.

Le séro groupe B évolue essentiellement sur le mode endémique (20).

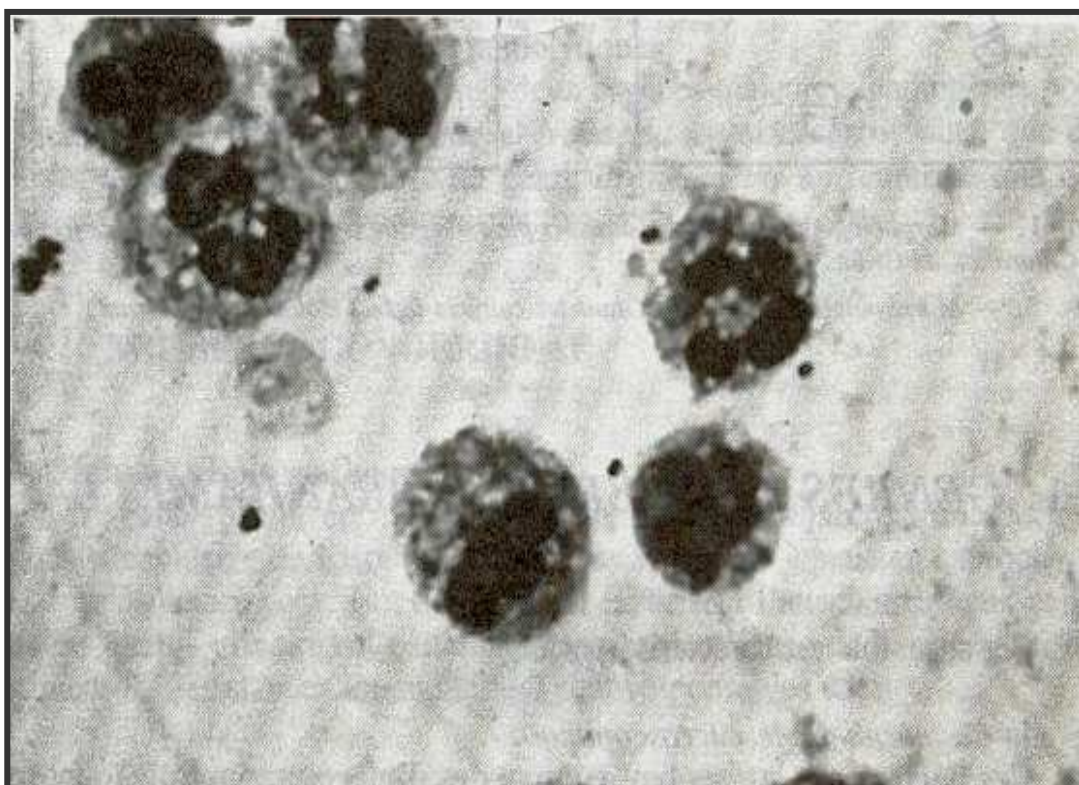


Fig. N°(05) : Méningocoques (liquide céphalorachidien). Coloration de Gram \times 1100 (24)

1.5. Epidémiologie :

Les méningites épidémiques sévissant surtout dans les régions intertropicales sont dues à méningocoques A. Ces régions représentent une «ceinture de la méningite» large de 60 Km s'étendant du Sénégal en passant par l'Afrique saharienne jusqu'en Ethiopie (voire figure N° 6).

N. meningitidis est responsable de 30% de méningite purulente touchant les enfants en France. Dues aux méningocoques B dans (50 à 60%) des cas, débutant la saison sèche (entre décembre et février) et finissant au début de la saison des pluies entre juin et juillet (12).

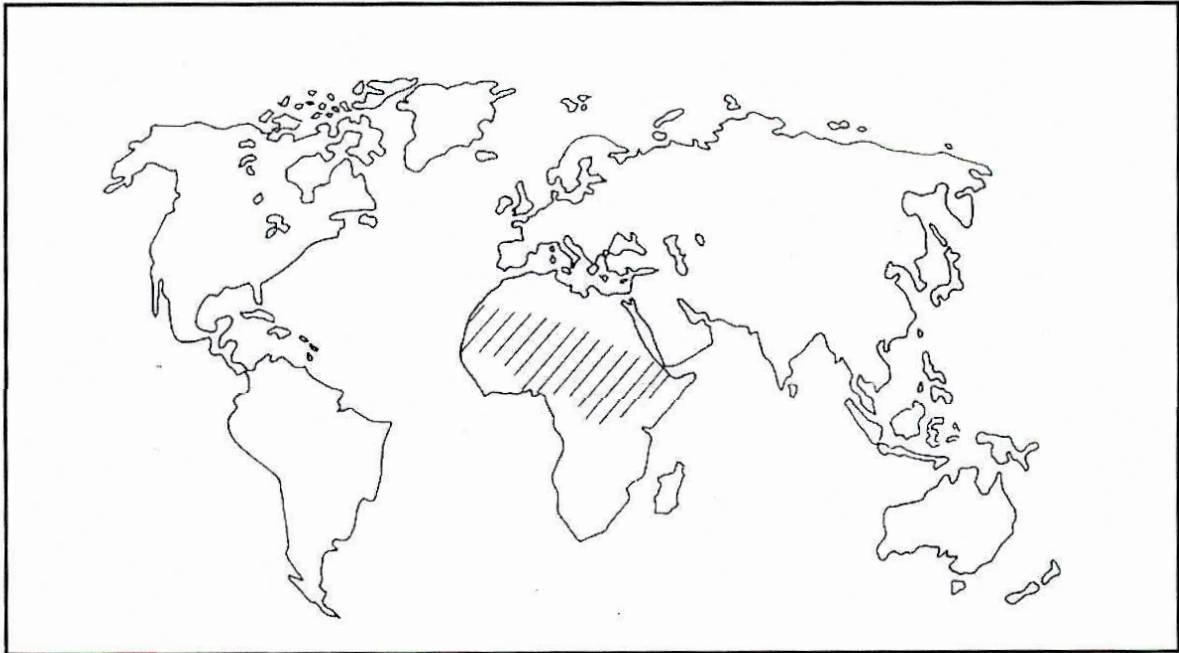


Fig N° (06) : Ceinture de la méningocoque A (12)

2) Les cocci Gram positif

2.1. *Streptococcus pneumoniae* ou pneumocoque :

2.1.1. Morphologie :

Cocci Gram positif, souvent en diplocoque ovoïdes ou lancéolés opposés par leur pointe, formant un huit (8) et entourés d'une large capsule (voir figure N°7), parfois en courtes chaînettes. La capsule est mieux visible après préparations à l'encre de chine (8).

2.1.2. Caractères cultureux :

- Anaérobie facultatif, se développant mieux à température de 37C° et à pH 7,8.
- Se multiplier uniquement sur les milieux enrichis, par des liquides organiques (sang, sérum, ascite) ou par du glucose à 2%.
- Une atmosphère à 10% de CO₂ lui est favorable.
- En bouillon enrichi, on observe en 24 heures un trouble léger qui a tendance à s'éclaircir, car l'autolyse est facile.
 - Sur gélose enrichie, on note de très petites colonies, lisses, bombées, limitées par un bord régulier, parfaitement transparentes et dites «en goutte de rosée».
 - l'étude précise de l'aspect des colonies S (Smooth) lisses, formées de germes capsulés et virulents ; les colonies R (Rough) rugueuses dont les éléments ne sont ni capsulés, ni virulents, les formes R apparaissent lorsque les conditions de cultures sont défavorables (16).
- Sur gélose au sang incubée en atmosphère aérobie ou enrichie en CO₂, on observe autour des colonies une hémolyse de type (alpha) hémolyse incomplète à bords flous donnant à la gélose une couleur verdâtre (5).

2.1.3. Caractères biochimiques :

- Catalase (-).
- Oxydase (-) (21).

2.1.4. Caractères antigéniques :

Il existe plus de 80 sérotypes ou antigènes en fonction de la présence des antigènes polysaccharidiques capsulaires (substance soluble spécifique) (20).

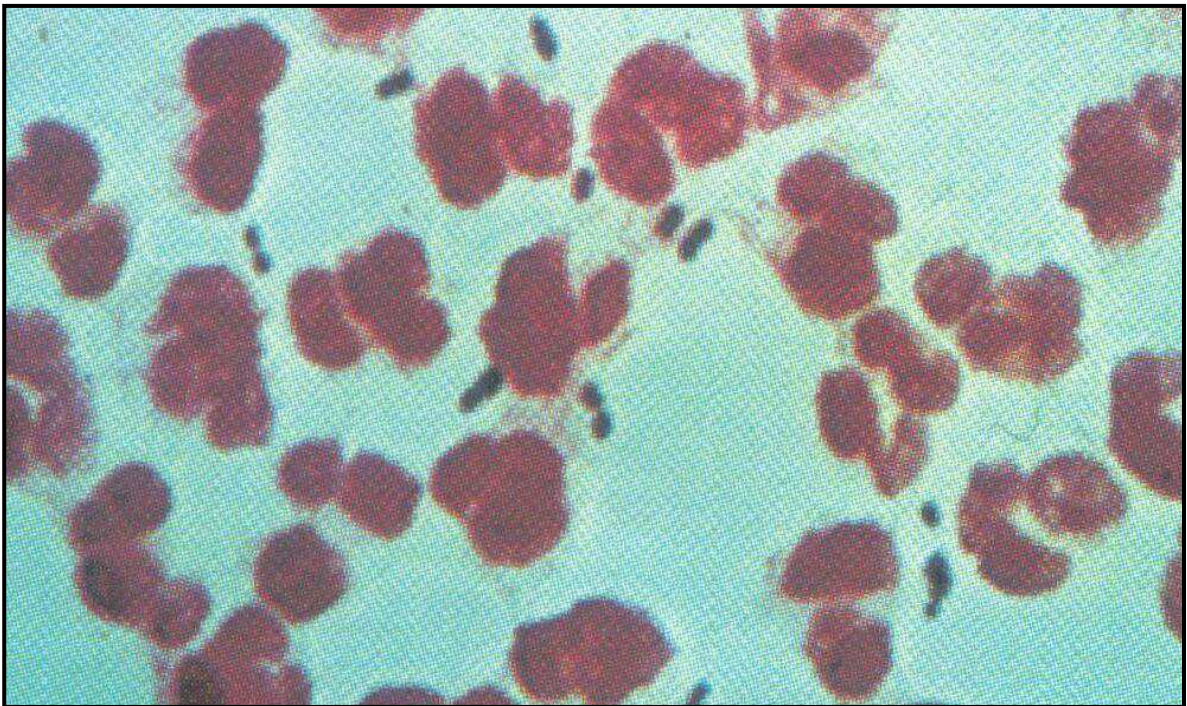


Fig. N° (07) : Pneumocoques dans un liquide céphalorachidien purulent (microscope optique x 1000) (10)

2.1.5. Epidémiologie :

La transmission est interhumaine et non épidémique.

Dans les pays industrialisés, les pneumocoques viennent en tête de causes de mortalité d'origine bactérienne en milieu communautaire. En France, l'incidence des méningites est de 1500 à 3000 cas et en Amérique du nord apparue surtout chez les sujets âgés (13).

2.2. Staphylocoques

2.2.1. Morphologie :

Cocci Gram positif, immobiles, isolés en diplocoques ou les plus souvent en amas «en grappe de raisin », rarement en courtes chaînettes, asporulés, acapsulés (24).

2.2.2. Caractères cultureux :

- Staphylocoque est un germe aérobic facultatif.
- Sur gélose nutritive : des colonies arrondies, bombées luisantes opaques, à contours nets pigmentées après 24 à 36 heures.
- Pouvant alors présenter :
 - *Une coloration ocre jaune (souche de *S. aureus*).
 - * Une teinte blanche, porcelainée (*S. aureus* ou *S. epidermidis* ou *S. saprophyticus*).
- En bouillon nutritif : un trouble uniforme, abondant puis un dépôt et un voile pelliculaire en surface (8).

2.2.3. Caractères biochimiques :

Catalase (+), coagulase (+) \implies (*S. aureus*).

Coagulase (-) \implies (*S. epidermidis*) ou autres.

2.2.4. caractères antigéniques :

Les staphylocoques possèdent de nombreux facteurs de virulence et de pathogénicité : antigènes pariétaux, exotoxines ou enzymes qui interviennent directement dans le développement et l'expression de la maladie.

- Une protéine "A" périphérique présente chez la majorité des souches de *S. aureus* (12).

2.2.5. Epidémiologie :

1-Les méningites à *S.aureus* : surviennent habituellement après intervention neurochirurgicale ou plaies crâniocérébrales.

2-Les méningites à *S.epidermidis* : est habituellement associée aux infections compliquant les shutes intra- ventriculaires (14 ,23).

3) Les bacilles à Gram négatif :

3.1. *Haemophilus influenzae* : Ancien nom Bacille de Preiffer.

3.1.1. Morphologie :

Coccobacilles à Gram négatif, polymorphes, immobiles, généralement capsulés, avec parfois une coloration bipolaire (24, 8).

3.1.2. Caractères cultureux :

H. influenzae exige pour sa croissance les facteurs (X : hémine et V : NAD) aéro-anaérobie, il donne une culture appréciable en 24 heures à 37C° et un pH voisin de 7,5.

- Les meilleurs milieux d'isolement sont :

- Gélose au sang cuit ou gélose chocolat enrichies des facteurs poly- vitaminiques et la gélose à l'extrait globulaire. Ils peuvent être additionnée de bacitracine et d'oxacilline, une atmosphère enrichie en CO₂ favorise la culture ; on peut obtenir :

* Soit des colonies M; blanchâtres, bombées, irisées.

* Soit des colonies S; grisâtres, à centre parfois ombilique à bords abrupts (24, 8).

3.1.3. Caractères biochimiques :

Catalase (+), Oxydase (+) (8).

3.1.4. Caractères antigéniques :

- Des antigènes capsulaires de nature poly osidique, le sérotype "b" est responsable de la quasi-totalité des méningites à *H. influenzae*.

- Des antigènes somatiques ;

- * Une substance "P" protéique libérée par la lyse des bactéries ;
- * Une protéine M est un antigène de surface (24).

3.1.5. Epidémiologie :

Elle est responsable dans 13 à 48% des cas selon les pays et semble moins fréquente en Europe continentale, qu'en Angleterre et en Amérique du nord (23).

3.2 *Escherichia coli* ou Colibacille

3.2.1. Morphologie :

Bacille à Gram négatif appartenant à la famille des Enterobactériaceae, mobile, péritriche (8).

3.2.2. Caractères cultureux :

Bacille aéro-anaérobie facultatif, se développe sur gélose ordinaire en 24 heures à 37C° ; à pH neutre ; *E. coli* acidifie le milieu avec production du gaz.

- Sur gélose, on observe plusieurs types de colonies :

* Colonies S lisses, régulièrement arrondies.

* Colonies R rugueuses, assez plates, de surface rugueuse, translucides et grisâtres.

* Colonies M muqueuses, plus volumineuses, arrondies, très bombées, de surface lisse, brillantes, opaques.

- En bouillon ; les formes S donnent en 24 heures un trouble homogène avec des ondes moirées lors de l'agitation du tube.

- Les formes R donnent une culture granuleuse, déposées dans le fond du tube.

* La culture des formes M se traduit par un trouble intense avec une collerette muqueuse en surface (24).

3.2.3. Caractères biochimiques :

- Réduit les nitrates en nitrites, acétoïne (-)

- Oxydase (+), Indole (+), ONPG (+), lactase (+) (24).

3.2.4. Caractères antigéniques : Antigène "K" (capsulaire), environ 70 antigènes d'enveloppe différents sont reconnus. La majorité des souches (80%), responsables des méningites néonatales possèdent l'antigène "K₁" (8).

3.2.5. Epidémiologie :

Les méningites à *E. coli* k₁, habituellement associées à des abcès cérébraux, des abcès épидурaux, des traumatismes crâniens, et à des interventions neurochirurgicales chez les nouveaux nés (12).

4) Les bacilles à Gram positif :

Listeria monocytogenes

4.1. Morphologie :

Bacille court à Gram positif, souvent coccobacille (en culture jeunes) mais présentes quelques éléments longs (en culture âgées), mobile à 22C° et immobile à 37C°, disposés parfois en paires ou en courtes chaînettes asporulés, et acapsulés (8).

4.2. Caractères cultureux :

Bacille aérobie facultatif, développé sur milieux ordinaires, résistante aux nombreux agents physiques et chimiques et capable de se multiplier à + 4C°.

- Sur gélose nutritive : des petites colonies de type S, convexes ; à bords réguliers, translucides.
- En bouillon nutritif : trouble modéré homogène.
- Sur gélose au sang (5%) (de mouton ou cheval) : des colonies grisâtre et faiblement hémolytiques (8, 24).

4.3. Caractères biochimiques :

- Catalase (+), oxydase (-) (21).

4.4. Caractères antigéniques :

L'analyse des facteurs antigéniques "O" et "H" permet de distinguer quatre sérotypes (1, 2, 3 et 4). Il existe six facteurs antigéniques "O" différentes (I, II, III, IV, vab et vac) et (4) facteurs "H" (A, B, C, et D) différentes (20).

4.5. Epidémiologie :

Les méningites à *L. monocytogenes* s'observent principalement :

- Chez les nouveaux nés il y a un risque de séquelles neurologiques et mortalité dans 15 à 20% des cas.
- Chez l'adulte (50% des cas méningites, encéphalite, neuroencéphalite)
- Chez les femmes enceintes (3% de l'ensemble de cas) **(12)**.

Matériel et méthode

CHAPITRE IV : EXAMEN CYTOBACTERIOLOGIQUE DU LIQUIDE CEPHALORACHIDIEN AU COURS DES MENINGITES

Le liquide céphalorachidien (LCR) est un liquide stérile, dépourvue d'éléments figurés, devant toute suspicion d'atteinte méningée, il est indispensable de procéder à l'examen cyto-bactériologique de ce liquide. Cette étude permet d'apporter des arguments en faveur d'une origine microbienne et ainsi de proposer un traitement adapté aux nombreux micro-organismes d'origine bactérienne **(15)**.

1. Prélèvement :

Le prélèvement de LCR est effectué dans des conditions très rigoureuses d'asepsie **(8)** par ponction des espaces sous arachnoïdiens habituellement dans la région lombaire mais parfois dans la région sous occipitale ou dans la région ventriculaire chez le nourrisson. Elle est effectuée à l'aide d'une longue aiguille de fort calibre **(29)**.

2. Ponction lombaire :

C'est un acte médical dont le malade est maintenu en position assise ou couchée sur le côté, lordose lombaire effacée ;

- L'asepsie doit être rigoureuse avec un produit iodé ;
- La ponction est pratiquée entre les épineuses de L₃-L₄ ou L₄-L₅ ou L₅-S₁, en laissant le mandrin dans l'aiguille ; la technique de la ponction lombaire est représentée dans la Figure N°8.
- L'écoulement du LCR doit être contrôlé par le mandrin pour éviter une décompression brutale ;
- LCR est recueilli successivement dans 3 tubes stériles ce qui permettra de détecter une ponction traumatique souillée de sang veineux ;
- 0,5 à 4 ml de LCR sont recueillis, ou sous un volume de 1 à 10 ml **(17)**.
- Le LCR est un prélèvement précieux qui doit être examiné dans les 30 minutes suivant son prélèvement et acheminé de préférence à 37C° (jamais au froid) **(9)**.

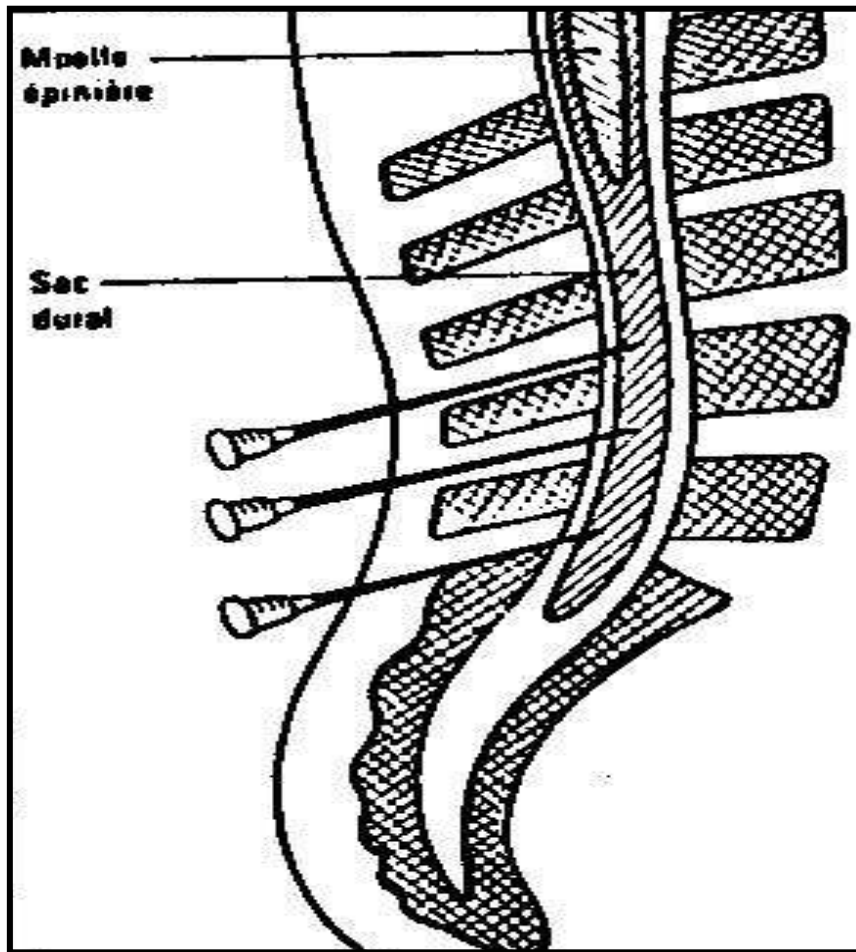


Fig. N°(08) : Technique de la ponction lombaire (6)

3. EXAMEN CYTOBACTÉRIOLOGIQUE DU LCR :

3.1. Aspect macroscopique :

Dès la réception du prélèvement, il faut noter l'aspect «macroscopique» du liquide, le LCR est normalement clair souvent qualifié d'eau de roche (15), chez l'adulte 2 à 4 éléments nucléés /mm³ ;

Nouveau né 5 à 20 éléments nucléés /mm³ avec absence de germe (18).

Cet aspect normal peut subir diverses modifications :

a. Liquide hémorragique :

Ce là peut être expliqué par un traumatisme vasculaire lors du prélèvement ou par une hémorragie méningée, la différenciation est faite facilement si le prélèvement est réalisé dans 03 tubes, en cas de piqûre vasculaire, seul le premier tube contient des hématies (15).

b. Liquide xanthochromique :

De couleur jaune ; ce liquide peut évoquer entre autre une hémorragie méningée ancienne ou une atteinte tuberculeuse des méninges. Il faut toute fois souligner qu'une hyperprotéinorachie importante donne également un tel aspect (14).

c. Liquide trouble :

Cette modification est provoquée par l'hyperleucocytose et tous les degrés existent depuis l'aspect opalescent jusqu'au classique aspect «eau de riz» évocateur d'une méningite à germe pyogène (8).

d. Liquide clair :

Toute fois l'aspect limpide du liquide ne doit en aucun cas éliminer une éventuelle infection puisque les méningites virales, ainsi que les méningites bactériennes décapitées par un antibiothérapie s'accompagnent du liquide clair.

Quelque soit l'aspect du liquide, il est important de la mentionner sur le compte rendu d'analyse (15).

3.2. EXAMEN CYTOLOGIQUE :

L'examen cytologique du LCR est une étape importante du diagnostic.

3.2.1. Examens microscopiques:

Ces examens sont à effectuer sur le LCR complet et sur le culot de centrifugation :

a)- Sur le LCR complet non centrifugé, le nombre de cellule par mm^3 de liquide est déterminé à l'aide d'un hématimètre (cellule de malassaz ou de nageotte), (voir figure N° 9 et 10)

- L'examen du LCR fournit rapidement des renseignements d'ordre diagnostique en révélant la présence de bactéries dans le contexte cellulaire inflammatoire. L'examen à l'état frais entre lame et lamelle renseigne sur les cellules et les bactéries à l'état vivant (mobilité) **(8)**.

b)- À partir du culot de centrifugation de LCR : des frottis sont préparés sur 04 lames différentes par cyto-centrifugation.

Une lame sera colorée au May-Grunwold Giemsa et permettra d'établir la formule leucocytaire. Les autres seront colorées par la méthode au bleu de méthylène et de Gram, pour mettre en évidence des bactéries banales ; et par de Ziehl Neelsen pour mettre en évidence des bacilles acido-alcool-résistants.

La formule leucocytaire a une valeur d'orientation :

1)- Le liquide est dit «purulent» ; lorsqu'il existe plus de 1000 éléments par mm^3 dont plus de 50% de polynucléaire.

2)- Le liquide est dit «lymphocytaires» ; lorsqu'il existe plus de 10 éléments par mm^3 (10 à 1000 / mm^3) sont en majorité lymphocytaire.

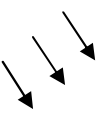
3)- Le liquide est dit «panché» ; lorsqu'il existe plus de 10 éléments par mm^3 avec une égalité entre les polynucléaires et les mononuclées.

Il faut mentionner que la lecture des frottis du LCR colorés par la méthode de Gram est quelque fois problématique, en particulier si le malade reçu précocement une antibiothérapie avant que le prélèvement de LCR n'ait été effectué.

Dans ce cas, les micro-organismes ont une forme inhabituelle voire trompeuse et quelque fois des affinités tinctoriales anormales (8).

Les résultats de l'examen du LCR sont représentés dans le tableau N°3

Tableau N°3 : résultat de l'examen du LCR (3)

	Aspect liquide	Leucocytes / mm³	Formule	Protéines (g/l)	Glucose (%glycémie)	Chlore m mol/l	Germes au direct
Normal Adulte Nouveau-né	Eau de roche	0 - 2 10 - 30	60% lymphocytes ; 60%, polynucléaires	< 0,4 0,9 - 1,5	50 - 75	125	Non
Bactérienne non traitée	Trouble (eau de riz)	> 1000	>80% polynucléaires	> 1	< 50	Sans Intérêt	60 - 80%
Virale	Clair	10 à 1000	Lymphocytes +++	< 1	50 - 75	Sans Intérêt	Non
Tuberculeuse	Clair	100 à 500	Lymphocytes +++	> 1	< 50		Rare
Listeria	Clair	100 à 500	Panché	> 1	< 50 ou normal	Sans Intérêt	Rare
Fongique	Clair	10 à 300	Lymphocytes ou mixte	> 0,5	< 50 (inconstant)	Sans Intérêt	Encre de chine +
Abcès cérébral	Clair	10 à 500	Polynucléaires +++	> 0,5	50 - 75	Sans Intérêt	< 10%
Compression médullaire	Clair	10 à 100	Polynucléaires	> 1	50 - 75	Sans Intérêt	Non

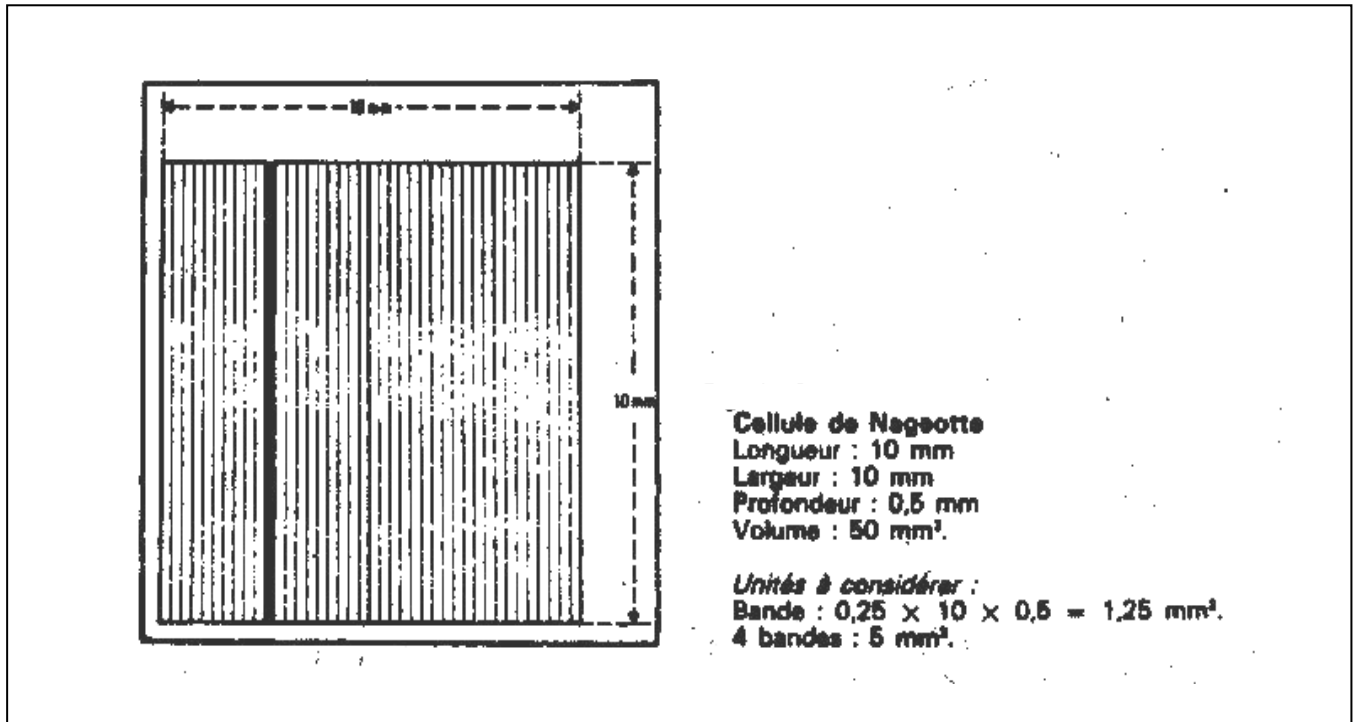


Fig. N°(09) : Cellule de nageotte (6)

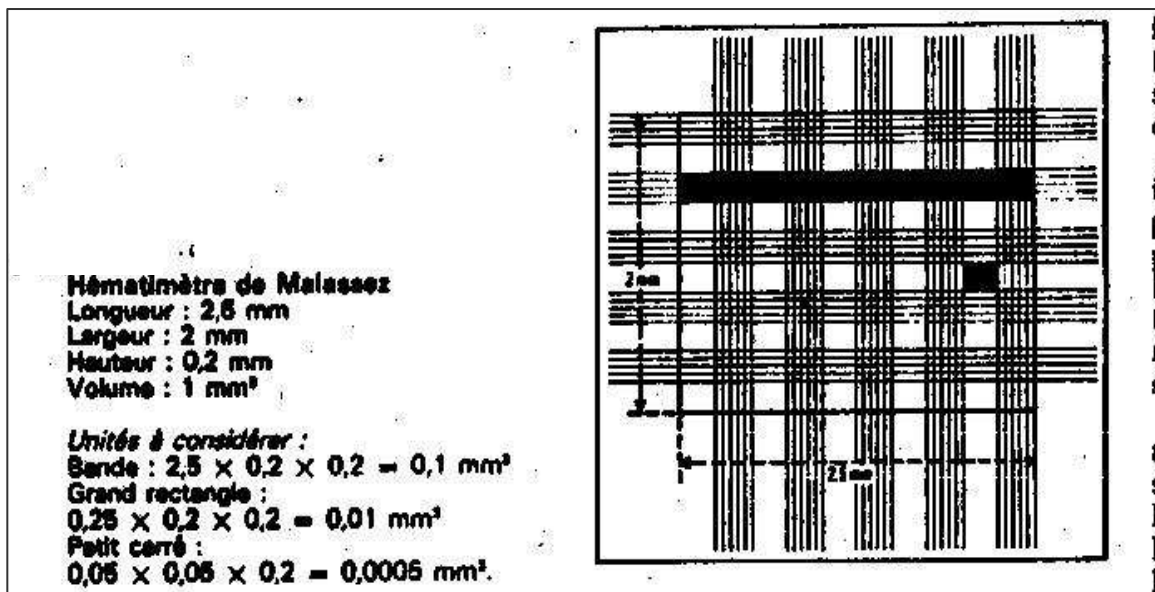


Fig. N°(10) : Cellule de malassaz (6)

c)- Frottis colorés au Gram :

Comme l'agent de la méningite bactérienne s'observe fréquemment dans un frottis colorés au Gram. Cet examen est extrêmement important, sécher le frottis à l'air, le fixer à la chaleur douce et le colorer par la méthode de Gram.

- L'examiner à l'objectif (x 1000) à immersion pendant au moins 10 minutes, ou jusqu'à ce qu'on trouve des bactéries (28).

- Donc la coloration de Gram permet de détecter la présence des bactéries et d'apprécier la morphologie et la situation intra ou extra leucocytaire.

- Devant une présomption de méningite, toutes les bactéries peuvent être incriminées cependant les micro-organismes, les plus fréquemment rencontrés sont :

* Cocci Gram négatif : *Neisseria meningitidis* (méningite cérébro-spinales)

* Cocci Gram positif : *Streptococcus pneumoniae* ; Streptocoque de groupe B (méningite néonatales).

* Bacilles Gram négatif : *Haemophilus influenzae* type b, *Escherichia coli* type K₁ (méningite neonatales) ; klebsella et autre Enterobactéries,

Pasteurella multocida.

• Bacilles Gram positif : *Listeria monocytogenes*.

Des observations diagnostiques importantes pour les différentes formes des méningites sont résumées dans le tableau N°04.

Tableau N°4 : Résultats de l'examen du LCR associés à la méningite. (27)

Type de méningite				
Observation	Bactérienne	Tuberculeuse	Fongique	Virale (aseptique)
Type de leucocyte prédominant	Polynucléaires neutrophiles segmentés	Mononucléaires (jeunes neutrophiles)	Mononucléaires	Mononucléaires
Glucose	Très bas : 5 – 20 mg / 100ml	Bas : 20 – 40 mg /100 ml	Bas : 20 -40 mg / 100 ml	Normal : 65 -70 mg /100 ml
Protéines	Elevées	Elevées	Elevées	Légèrement élevées dans les premiers stade de l'infection
Frottis coloré	Bactéries généralement vues (Gram)	Rarement positif (acido-résistant)	Généralement positif (encre de chine)	Négatif

3.3. Cultures bactériologiques :

Elles doivent être effectuées en premier, dans le cas où aucune orientation diagnostique n'est connue. Il faut utiliser des milieux enrichis, standard qui permettent la croissance de n'importe quelle espèce bactérienne. Il n'est pas utile d'employer des milieux sélectifs. Les milieux sontensemencés avec du LCR non centrifugé, puis incubés à 37 C° en aérobiose et en anaérobiose. L'incubation sous CO₂ est indispensable pour les primo-cultures des Neisseria, Haemophilus et Streptococcus (8).

3.3.1. Mise en culture :

Dans tous les cas, il convient d'ensemencer des milieux de culture permettant la croissance des bactéries exigeantes responsables des méningites purulentes. Ainsi il faut systématiquement ensemencer en isolement à la pipette boutonnée 0,1 ml de LCR non centrifugé sur :

- Une gélose au sang cuit «gélose chocolat» ; supplémentée en facteurs poly-vitaminique ou en facteurs de croissance (hormone, nicotinamide, adénine dinucléotide, vitamines...), incubé à 37C° sous une atmosphère de 5 à 10% de CO₂.
- Une gélose au sang (10% de sang) qui sera incubés sous atmosphère anaérobie contenant 5 à 10% CO₂.
- Une gélose ordinaire.
- Un milieu d'enrichissement.

Compte tenu de la fragilité de certains agents responsables de méningites, ces différents milieux doivent être préalablement mise à température ambiante ou à 37C° avant d'être ensemencés.

- Les cultures sont observées à 24 et à 48h d'incubation et examinées chaque jour. Le tableau N°5 montre les différents milieux de cultures utilisées pour les prélèvements de LCR (28).

Tableau N°5 : Choix des milieux de culture pour les prélèvements de LCR en fonction des résultats du frottis coloré au Gram (28)

Observation	Bacilles à Gram négatif chez le nouveau né	Bacilles à Gram négatif autres	Cocci à Gram positif chez le nouveau né	Cocci à Gram positif autres	Cocci à Gram négatif	Bacilles à Gram positif	Aucun micro-organismes observé
Gélose au sang ^b	+	+	+	+ avec disque imprégné d'optochine	+	+	+
Gélose au sang avec strie de <i>Staphylococcus aureus</i> ^b	+	+					+
Gélose chocolat ^b		(+)			(+)		(+)
Milieu de Mac Conkey	+	(+)					

+ : Utilisation ; (+) : Utilisation facultative.

b : Incuber dans un atmosphère riche en CO₂ (cloche de bougie).

3.3.2. Identification préliminaire :

- Une croissance bactérienne sur un milieu de Mac ConKey évoque une Enterobacteriacée et doit être identifiée plus précisément à l'aide des méthodes et milieux recommandés pour les germes Entéropathogènes.

-Les colonies de cocci Gram positif : présentant une zone étroite de B-hémolyse peuvent appartenir à streptocoque du groupe B. (*Streptococcus agalactiae*).

-Des colonies plates ayant un centre concave et une légère zone d'alpha hémolyse verte appartiennent probablement à *S.pneumoniae*,

-Les colonies d'*H.influenzae*, ne pousseront que sur de la gélose chocolat, ou comme colonies satellites au voisinage des stries de staphylocoques sur de la gélose au sang.

-Les diplocoques à Gram négatif ; poussant sur de la gélose au sang et de la gélose chocolat et donnant une réponse rapidement positive pour la recherche de l'oxydase ; ils peuvent être considérés comme des méningocoques.

-Les colonies de bacille à Gram positif ; avec zone étroite de β -hémolyse sur de la gélose au sang peuvent être des colonies de *Listeria monocytogenes* (28).

3.4. Mise en évidence d'antigènes solubles bactériens :

La détection d'antigènes solubles bactériens dans le LCR a été largement utilisée pour établir un diagnostic étiologique précoce. Actuellement, cette recherche n'est conseillée que comme appoint pour aider le bactériologiste à orienter son diagnostic. Ce résultat conjugué à celui d'un examen direct de qualité peut permettre au biologiste de donner un bon diagnostic d'orientation. Il peut également aider le diagnostic d'une méningite décapitée.

Il est possible de rechercher dans les liquides biologiques les antigènes solubles de Streptococcus groupe B, *Streptococcus pneumoniae*, *Haemophilus influenzae* (sérotipe b) et *Neisseria meningitidis* (sérogroupe A, B, C, W135, Y). Des antigènes solubles sont recherchés par coagglutination ou par ELISA (9).

3.5. Examens biochimiques :

Ils consistent à déterminer la protéinorachie, la glycorachie et chlorurachie. L'inflammation des méninges entraîne des modifications de la barrière hémoméningée et il en résulte un passage plus important des substances plasmatiques dans le LCR ainsi :

- La protéinorachie est augmentée.

- La glycorachie est souvent modifiée, car la présence de bactéries entraîne une consommation de glucose.

- L'interprétation d'une glucorachie doit tenir compte d'une éventuelle hyperglycémie.
- Les chlorures sont également dosés car l'hypochlorachie est habituelle dans les méningites tuberculeuses (8).

3.6. Antibiogramme :

En raison de l'urgence du traitement d'une méningite et du caractère habituellement mono bactérien du LCR, un antibiogramme peut être lente à titre indicatif sur le LCR complet, si des bactéries ont été observées sur les frottis colorés.

- En pratique, on peut étaler deux gouttes de LCR complet directement sur deux milieux gélosés au sang cuit avec supplément vitaminique.
- Les disques d'antibiotiques sont déposés à la surface de la gélose
- Un antibiogramme, effectué dans des conditions normalisées, sera réalisé dès que la souche aura été isolée (8).

Partie pratique

PARTIE PRATIQUE

I- MATEERIEL ET METHODE

1. MATERIEL DE TRAVAIL :

a. Matériels :

- Microscope standard
- lame (porte-objet)
- Lamelles (couvre-objet)
- boites de Pétri
- Distributeurs automatiques des disques d'antibiotiques
- Etuve à 37C°
- centrifugeuse
- Leucocytomètre (cellule de nageotte)
- Pipette Pasteur
- Anse de platine

b. Les milieux de cultures :

- Gélose au sang (milieu d'isolement des Pneumocoques)
- Gélose de Mueller-Hinton (Milieu de l'antibiogramme).La composition de ces milieux de cultures est indiquée dans l'annexe N°1.

c. Les réactifs :

- Solution de May Grunwald
- Solution de Geimsa
- Huile d'immersion
- Cristal violet
- Lugol
- Alcool
- Solution de Fuchsine diluée
- Solution de l'azarus
- Réactif de latex

Il y a aussi :

- Carte d'agglutination jetable - Pince jetable.
- Eau, feuille de papier buvard sont aussi indispensables.

2. METHODOLOGIE DE TRAVAIL :

a. Prélèvement :

L'étude a été réalisée au niveau de l'hôpital Mohamed BOUDIAF ; on a reçu 53 prélèvements de PL pendant les 5 mois de pratique commencée en Janvier et finie en Mai au sein de laboratoire de Bactériologie.

Le tableau N°6 représente la répartition des 53 prélèvements selon les services et les mois d'étude.

Tableau N°6 : Répartition de 53 prélèvements de PL selon les services et mois de travail.

Mois	Nombre de prélèvement	Pédiatrie	Médecine interne homme	Médecine interne femme
Janvier	9	6	1	2
Février	11	10	1	0
Mars	17	17	0	0
Avril	8	8	0	0
Mai	8	5	2	1
Total	53	46	4	3

b. Examen au laboratoire :

B.1. Aspect macroscopique :

- Si le LCR est transparent et homogène on l'appelle aspect clair.
- Si le LCR est teintée en rouge on l'appelle aspect hémorragique.
- Si le LCR colorées en jaune on l'appelle aspect xanthochromique.
- Si le LCR est hétérogène on l'appelle aspect trouble ou purulente.

B.2. Examen cytologique :

- 1. Etude quantitative :** Elle est réalisée à l'aide d'une cellule de nageotte

1.1. Mode opératoire :

- Le LCR doit être fluide est ça après avoir agité pour remettre en suspension les éléments cellulaires.

Lorsque les hématies sont présentées avec un nombre très élevé et pour éviter de confondre avec les leucocytes lors de comptage, on ajoute quelque goutte de lazarus avec une petite quantité de LCR dans un tube, agiter et laisser reposé pendant 03minutes.

- On prélève stérilement une quantité de LCR à l'aide d'une pipette Pasteur.

- On place la pointe sur la partie centrale de la cellule au contact du bord de lamelle.

- La cellule se remplit par capillarité.

- Le remplissage est complet quand le liquide déborde les rigoles latérales.

- On la laissé au repos quelques minutes pour que les éléments cellulaires sédimentent.

- L'observation au microscope est effectuée avec l'objectif 40X.

1.2. Lecture :

- On compte les éléments contenus dans une seule bande puis on le multiplie à 0.8.

- Les hématies apparaissent parfaitement circulaires, brillantes de petite taille, et selon les cas de prélèvement reçu elles peuvent être trouvées avec un nombre très élevé dans le liquide hémorragique.

- Un nombre légèrement élevé dans le liquide trouble et xanthochromique, et un nombre très petit presque néant dans le liquide clair.

Les leucocytes sont de plus grande taille ; Ils présentent un contour moins régulier, Ils sont réfringentes (6), leur nombre diffère aussi selon les aspects des prélèvements, dont le liquide trouble on observe une quantité très élevée de leucocytes dans une bande (généralement on ne peut pas les compter) due à l'intensité de cette dernière ; on note directement que le nombre de leucocytes est supérieur à 1000 éléments/ mm³.

2. Etude Qualitative :

Réalisation d'un frottis :

- Centrifugation de LCR : le liquide examiné est placé dans un tube à centrifugeur conique et soumis à une centrifugation de 600g pendant 10 minutes.
- Le surnageant est éliminé et le culot est étalé sur une lame propre (L'étalement est effectué à l'aide d'une anse ou une lame rodée).
- Fixation de frottis : sur un frottis bien sec en le recouvrant de méthanol jusqu'à l'évaporation (6).

2.1. Coloration de May –Grunwald Giemsa :

Lorsque le frottis est parfaitement sec, la lame est posée horizontalement sur un bac à coloration, le frottis est recouvert par 15 à 20 gouttes de May–Grunwald. Après un temps de pause de 3 minutes, la même quantité d'eau tamponnée est ajoutée de façon à diluer le May–Grunwald au demi, le temps de pause est de 2 à 3 minutes. Pendant ce laps de temps, la solution de Giemsa doit être préparée par dilution au 1/10^{ème} dans de l'eau tamponnée. Après avoir retiré le May–Grunwald de la lame, le frottis est recouvert de la solution de Giemsa pendant (20 à 30 minutes) ; la lame est ensuite sous un courant d'eau tamponnée et séchée à l'air libre (4).

- Le frottis coloré est soumis à l'examen à l'immersion avec un plus fort grossissement.
- **Expression des résultats:** Les leucocytes (cellules lymphocytaires et les polynucléaires) leur noyau est coloré en bleu, le cytoplasme en rose.
- Les bactéries sont colorées en bleu, intra et extra cellulaire.
- On peut donc apprécier le type de leucocytes et de classer les différents types des méningites.

2.2. Coloration de Gram : sur le frottis fixé :

- 1) Recouvrir le frottis de la solution de cristal violet, laissez agir 1 minute
- 2) Rejeter le colorant, laver à l'eau.
- 3) Recouvrir la préparation de lugol, laisser agir 1 minute.
- 4) Rejeter le lugol, laver à l'eau.

5) Décolorer à l'alcool 95°, la durée de décoloration est adaptée à l'épaisseur de frottis.

6) Rincer à l'eau courante et recouvrir la lame de la solution de fuchsine diluée, laisser agir quelques secondes.

7) Rejeter la fuchsine, laver abondamment, égoutter, sécher entre deux feuilles de papier buvard propre, le frottis coloré est soumis à l'examen à l'immersion (6).

*** Expression de résultats :**

- Les leucocytes - Noyau colorée en violet.

- Cytoplasme en rose.

- Les bactéries Gram (+) bien colorées en violet.

- Les bactéries Gram (-) colorés en rose.

B.3. Culture : Le milieu de culture utilisé c'est la gélose au sang.

- On prélève stérilement à la pipette Pasteur une quantité de LCR, 3 gouttes de LCR sont déposées à la surface de la gélose au sang préalablement séchée, à l'aide d'une anse on les étale à toute la surface jusqu'à ce qu'ils soient absorbés par la gélose.

- Les boîtes sont incubées à l'étuve à 37°C pendant (24h à 48h).

Expressions des résultats :

* En 24 heures, les colonies de *Staphylococcus aureus* sont volumineuses, éventuellement pigmentées et hémolytiques.

* *Streptococcus pneumoniae* donne des colonies plates, opaques avec dépression centrale. Certains sérotypes donnent des colonies muqueuses dont le diamètre peut dépasser 3mm.

* Streptocoques des groupe "A","C" et "G" : colonies transparentes, endôme, d'un diamètre de 0.5mm.

* Streptocoques "B" et "D" : colonies bombées, opaques, de 1 à 2mm de diamètre.

* Streptocoques du groupe "F" et certaines souches de *Streptococcus mutans* ont la taille d'une tête d'épingle "Minute colonies".

- L'hémolyse "α" : se manifeste par une zone brunâtre ou verdâtre étroite autour des colonies.

- L'hémolyse " β " apparaissant comme une zone claire assez large (3-4mm) autour des colonies.

B.4. L'antibiogramme :

Est effectué sur milieu de Muller Hinton additionner du sang frais, et gélose au sang.

- On prélève stérilement une quantité de LCR dans un tube à l'aide d'une pipette pasteur.
- On dépose 3 gouttes de LCR sur gélose au sang et gélose de Muller-Hinton.
- L'étalement à l'aide d'une anse à la surface de la gélose par des stries parallèles.
- L'application des disques d'antibiotiques est effectué à l'aide d'un distributeur automatique ou à la pince dont en appuyant légèrement pour assurer le contact avec le milieu.
- Placer à l'étuve à 37°C pendant 24 à 48h.

Expression des résultats : Les résultats de l'antibiogramme est négatif due a l'exigence de quelques espèces en atmosphère riche en CO₂ (les conditions de l'étuvage sont défavorables).

B.5. Détection des antigènes solubles:

- On prélève stérilement une quantité de LCR à l'aide d'une pipette pasteur.
- Sur une carte jetable d'agglutination sur les deux cercles noir 4 et 5 correspond respectivement au *Streptococcus pneumoniae* et Streptocoque B on dépose une goutte de LCR dans chaque cercle de la carte.
- Après l'agitation de réactif de latex vert spécifique de *Streptococcus pneumoniae* (Réactif N°4) ce réactif est déposé sur les deux gouttes de LCR.
- On fait un mouvement de rotation circulaire sur la carte pendant 5 minutes.
- **Expression des résultats :** On observe l'apparition des agglutinations (visible à l'œil nu).

Résultats et Discussion

-RÉSULTATS ET DISSCUSSION

1. Analyse au laboratoire :

1.1. Aspect macroscopique : Les 53 PL reçues dans laboratoire sont présentes sous différents aspects ; les résultats sont représentés dans le tableau N°7.

a. Aspect clair : 41 PL ont reçu on un aspect clair.

- D'après (FAUCHÈRE, J.L, AVRIL, J.L2002). à l'état normal, le liquide s'écoule en gouttes, limpides, incolores, sont aspect est typiquement «eau de roche».

- La méningite à liquide clair causé souvent par des virus et le liquide est présentée aussi sous un aspect clair.

b. Aspect hémorragique : 7 PL reçues ont un aspects hémorragiques, dont le liquide est teinté en rouge due à l'intensité des globules rouges présentes dans le liquide,il s'agit soit :

- D'un accident de prélèvement ou le LCR à tendance à coaguler dans le tube.

- En cas d'hémorragie méningée le liquide ne coagule pas.

c. Aspect xanthochromique : Un Seul PL présentes sous un aspect xanthochromique.

Le liquide est jaune dû soit d'une hémorragie méningée ancienne, ou d'une hyper-proteinorachie importante, rarement d'une atteinte tuberculeuse.

d. Aspect trouble : 4 PL reçues sont présentes entre un aspect opalescent jusqu'au aspect trouble «eau de riz». Le liquide est purulente due à un hyperleucocytose évocateur d'une méningite à germes pyogènes.

- On peut considère que l'aspect macroscopique comme un première indice dans l'examen biologique.

1.2. Examen cytologique :

1.2.1. Etude quantitative : Toutes les PL sont soumises à un examen cytologique.

- C'est une étude quantitative dont elle permet de détermine le nombre des éléments présents dans le LCR.

- Les résultats de lecture sur la cellule des différents prélèvements de PL sont représentés dans le tableau N°7.

D'après les travaux de (ALAIN, F.LISABELH.P, ANNE.V.2001) :

- Si le nombre de leucocytes est " < 10 " éléments / mm^3 on dit le liquide est normal, il ne s'agit pas d'une cas de méningites.
- Si le nombre de leucocytes entre " $10 \rightarrow 1000$ " éléments / mm^3 on conclu donc qu'il y a une étiologie souvent virale et rarement fongique, parasitaire, tuberculeuse.
- Si le nombre de leucocytes est " >1000 " ça évoque une infection à germes pyogènes. Les résultats obtenus dans se travail présentent une similitudes avec les résultats de ces auteurs.

1.2.2. Etude qualitative : Réalisation d'un frottis coloré :

Lorsque le LCR contient un nombre très élevé de leucocytes, le liquide est soumis à une centrifugation de 1000 tours pendant 3 à 5 min.

Le culot de centrifugation est étalé sur deux lames puis soumis à une coloration de MGG et Gram.

a. Résultats de coloration de MGG :

Les résultats de coloration de MGG sont représentés dans le tableau N°7.

- L'analyse du frottis de LCR colorée sous le microscope permet de faire la différenciation entre les polynucléaires et les lymphocytes avec un noyau coloré en bleu, le cytoplasme en rose.

Donc l'examen sur frottis permet d'apprécier le type de cellules leucocytaires présentées dans le LCR.

b. Résultats de coloration de Gram :

Les résultats de coloration de Gram sont représentés dans le tableau N°7.

L'analyse de frottis de LCR colorée en Gram à permis de voir des bactéries colorées en violet en forme diplocoque, donc les bactéries Gram (+) présentes dans le LCR sont des pneumocoques.

La coloration de Gram permet aussi de faire une différenciation entre les bactéries qu'ont une forme proche par exemple les bactéries diplocoques Gram (+) (pneumocoques) et Gram (-) (méningocoques).

1.3. La culture et l'antibiogramme :

a. **Culture** : les LCR dont leur aspect est trouble, hémorragique et xanthochromique et dont le nombre de leucocytes est considérable, sont ensemencés dans le milieu de gélose au sang.

b. **Antibiogramme** : À partir des cultures positives (soit du gélose au sang, du Chapman ou Mac-Conkey) on a préparé des suspensions bactériennes qui sont soumis à un antibiogramme sur gélose Mueller-Hinton et gélose au sang.

Les résultats de cultures et l'antibiogramme sont représentés dans le tableau °7. Malgré que la culture est une étape très importante dans l'isolement des bactéries responsables de l'affection, ainsi que l'antibiogramme qui permet de déterminer la sensibilité de ces bactéries aux antibiotiques, et par conséquent l'établissement d'une antibiothérapie adéquate ; les résultats de ces deux étapes critiques ont été négatifs due aux mauvaises conditions de culture surtout pour les genres exigeants (*Neisseria*, *Haemophilus*, *Streptococcus*) qui nécessitent l'incubation sous un atmosphère riche en CO₂ ce qui nous a manqué.

Donc, il faut optimiser toutes les conditions de travail au laboratoire de Bactériologie de Mohamed BOUDIAF en l'approvisionnant par tous les équipements indispensables (milieux de cultures, appareillages, réactifs...).

1.4. La détection des antigènes solubles : Les résultats de la détection des antigènes solubles sont représentés dans le tableau N°7. Le test réalisé sur 04 LCR dont le seul germe apparaît à l'examen microscopique et l'examen sur frottis coloré est le *Streptococcus pneumoniae*. Le test spécifique pour les pneumocoques est positif avec une agglutination visible à l'oeil nu.

Tableau N° 7 : Résultat de l'étude cyto bactériologique de LCR durant les 5 mois de travail.

Mois	Aspect de LCR	Nombre de PL	Nombre de leucocytes (x)/mm ³	Résultats de frottis	Recherche d'antigènes solubles	Résultats de culture	Résultats de l'antibiogramme
Janvier	Hémorragique	1	x = 140 éléments/mm ³	Polynucléaires		Négative	
	Trouble	1	x=291 éléments/mm ³	Polynucléaires		Négative	
	Clair	7	x < 10 10 ≥ x ≤ 193	Lymphocytaires			
Février	Hémorragique	2	x = 165 x > 1000	Lymphocyte + PN + présence des bactéries en diplocoque	Positif	Négative	Négative
	Clair	8	0 < x ≤ 4 19 ≤ x ≤ 760	Lymphocytaires			
Mars	Clair	15	4 ≤ x ≤ 8 12 ≤ x ≤ 780	Lymphocytaires		Négative	
	Trouble	2	x > 1000	PN + bactéries en diplocoques	Positif	Négative	Négative
	Xanthochromique	1	x = 250	Lymphocytaires		Négative	
Avril	Clair	6	17 ≤ x < 107	Lymphocytaires		Négative	
	Hémorragique	2	x = 4 x = 182	Lymphocytaires		Négative	
Mai	Clair	5	0 ≤ x ≤ 8 x = 38	Lymphocytaires			
	Hémorragique	2	x = 9 x = 84	Lymphocytaires			
	Trouble	1	x > 1000	Polynucléaires		Négative	Négative

En analysant le tableau N°8 qui montre que le nombre d'individus déclarés à l'hôpital Mohamed BOUDIAF est de 35 cas durant la période de travail, on constate sur l'ensemble des résultats les méningites virales sont les plus fréquentes avec 74.28% de cas. En comparant ce taux avec ceux observés durant les années 2003 et 2004 où la méningite virale a représenté successivement 83.33 et 43.47%, on remarque sa recrudescence après une régression considérable.

Tableau N° 8 : Répartition de la maladie selon l'âge et le sexe durant la période d'étude

Âge	Mois	Liquide clair		Méningite atypique		Méningite virale		Méningite bactérienne		Totale
		M	F	M	F	M	F	M	F	
13 ans	Janvier	1	1	1	1	2	0	0	0	4
	Février	2	1	0	0	2	3	0	1	6
	Mars	4	2	0	1	5	3	1	0	10
	Avril	0	1	0	1	2	4	0	0	7
	Mai	1	2	0	0	0	2	0	0	2
	Total	8	7	1	3	11	12	1	1	29
Âge	Mois	Liquide clair		Méningite atypique		Méningite Virale		Méningite bactérienne		Totale
		M	F	M	F	M	F	M	F	
Plus de 14 ans	Janvier	0	0	0	1	1	1	0	0	3
	Février	0	0	0	0	1	0	0	0	1
	Mars	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Avril	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Mai	1	1	0	0	1	0	1	0	2
	Total	1	1	0	1	2	1	1	0	6

M : masculin

F : féminin

D'après la littérature (LAURANT Labréze. 2002) ce type d'affection représente 70 à 80% des cas, qui sont généralement bénignes. Ces résultats sont presque comparables à nos résultats obtenus.

Les méningites bactériennes représentent un faible pourcentage 8.57 % des cas par rapport à ceux qui sont apparus dans les années 2003 et 2004, avec des fréquences 16.67% et 56.52% des cas successivement, (voir le tableau N° 9 et 10), sachant qu'elles ne représentent que 20 à 25 % des cas selon (LAURANT Labréze, 2002). Donc la fréquence de la méningite bactérienne dans ce travail est inférieure à celles enregistrées en 2003 et 2004.

Les autres méningites sont de 14.28% des cas déclarés pendant la période de notre travail. La figure N° 11 indique la répartition des 53 prélèvements de PL selon les services pendant la période de travail on constate que le service de pédiatrie est le plus touché.

- Chez les enfants on note la prédominance des méningites virale suivie par les méningites à liquide clair suivie par les méningites atypiques et à moindre degré les méningites bactériennes.

- Chez les malades adultes on note durant le mois de Janvier une prédominance des méningites virales suivie des méningites atypiques qui sont due à l'utilisation anarchique des antibiotiques alors que dans les mois suivants, on note la régression des cas de méningites pour s'élève dans le mois de Mai avec une prédominance des méningites à liquide clair suivie par des taux presque égaux des cas de méningite virale et bactérienne.

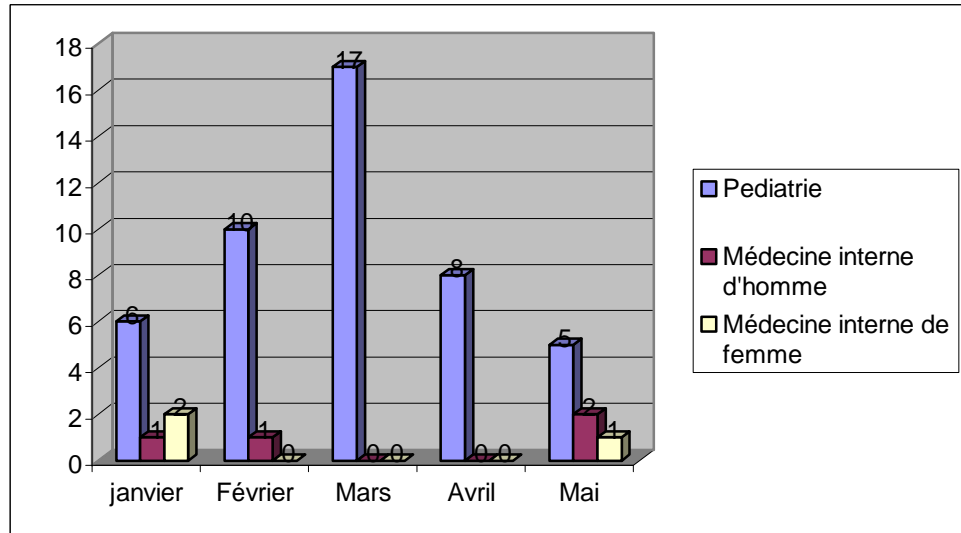


Fig N° (11) : Histogramme de répartition des 53 prélèvements de LCR selon les services et 5 mois de travail

Répartition selon l'évolution mensuelle (mois) : À partir des résultats représentés dans le tableau N°9 et 10 on note que le nombre d'individus atteints semble moins élevé en hiver et en printemps (février et Mars) par rapport à celui des années 2003 et 2004.

- En 2003, le nombre d'individus atteints est élevé en automne et en été (Octobre et Juin).

-En 2004, le nombre est élevé en hiver et en été (février et Juillet).

Tableau N° 9 : Evolution saisonnière de la méningite virale (lymphocytaire) et de la méningite bactérienne de l'année 2003

MOIS	Méningite virale	Méningite bactérienne	TOTAL
Janvier	2	1	3
Février	2	2	4
Mars	7	0	7
Avril	3	1	4
Mai	6	0	6
Juin	13	0	13
Juillet	4	0	4
Août	3	0	3
Septembre	9	0	9
Octobre	8	2	10
Novembre	2	3	5
Décembre	1	4	5
TOTAL	60 (82.19%)	13 (17.80%)	73

Tableau N°10 : L'évolution saisonnière de la méningite virale (Lymphocytaire) et de la méningite bactérienne de l'année 2004

Mois	Méningite virale	Méningite bactérienne	TOTAL
Janvier	1	4	5
Février	3	5	8
Mars	2	2	4
Avril	2	1	3
Mai	2	1	3
Juin	3	1	4
Juillet	8	1	9
Août	6	1	7
Septembre	0	3	3
Octobre	2	1	3
Novembre	2	1	3
Décembre	3	0	3
TOTAL	34 (61.81 %)	21 (38.8 %)	55

En comparant nos résultats des méningites virales et bactériennes et ceux de l'année 2003 et 2004, on observe une évolution mensuelle des méningites plus marquées au mois de Mars.

La figure N° 12 et 13 montre l'évolution mensuelle de la maladie.

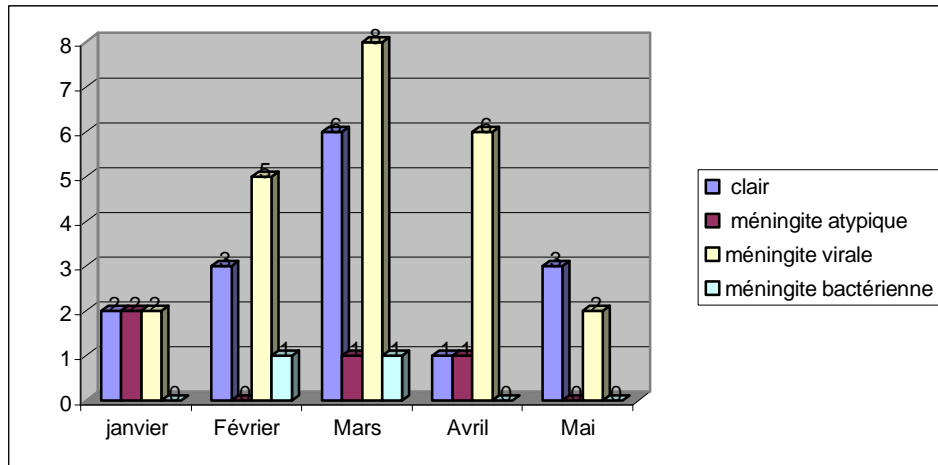


Fig N°(12) : Histogramme de l'évolution de la méningite durant la période d'étude chez les enfants

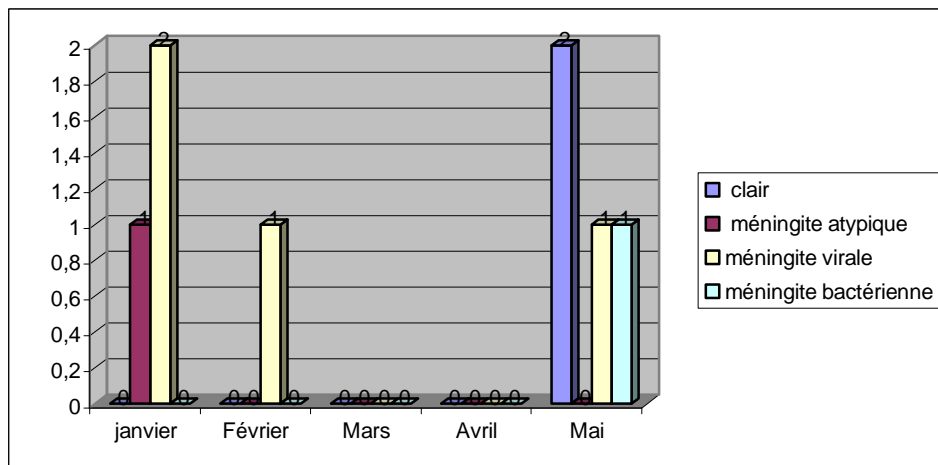


Fig N°(13) : Histogramme de l'évolution de la méningite durant la période d'étude chez les malades adultes

Répartition selon le sexe : Nos résultats obtenus montre une distribution presque égale entre le sexe masculin (16 cas) et le sexe féminin (18 cas), en 2003 et 2004, les cas de méningites chez le sexe masculin sont en nombre très élevé par rapport à celui de sexe féminin.

Cette différence dans la déclaration de la maladie elle ne peut être exprimée, car les méningites sont des maladies infectieuses transmissibles, elles peuvent toucher les 02 sexes à la fois. (Voir tableau N°11 et 12).

Tableau N°11 : Répartition de méningite par âge et par sexe (Année 2003)

Maladies	Méningite bactérienne		Méningite virale (lymphocytaire)		TOTAL
	M	F	M	F	
Âge	sexe				
1j – 4 ans	4	4	26	11	43
5 – 9 ans	1	0	6	3	10
10 – 14 ans	0	0	6	1	7
15 – 19 ans	0	0	2	0	1
20 – 29 ans	1	0	2	0	3
30 et plus	2	0	1	3	6
TOTAL	8	4	43	18	73

Tableau N°12 : Répartition de méningite par âge et par sexe (année 2004)

Maladies	Méningite bactérienne		méningite virale (lymphocytaire)		TOTAL
	M	F	M	F	
Âge	sexe				
1j – 4 ans	10	2	13	10	35
5 – 9 ans	1	2	4	2	9
10 – 14 ans	0	0	2	0	2
15 – 19 ans	1	0	0	0	1
20 – 29 ans	0	1	1	0	2
30 et plus	3	1	2	0	6
TOTAL	15	6	22	12	55

M : masculin
F : féminin

Les germes isolés : Le seul germe isolé au cours des méningites purulentes c'est le pneumocoque avec proportion 80% chez l'enfant de moins 14 ans et 20% chez un adulte âgée de germe non déterminé.

- durant l'année 2003, plusieurs germes non déterminés demeurent responsable des méningites purulentes des jeunes enfants de 55.55% chez l'enfant de moins de 14 ans, le tableau N°13 et les figures N° 14, 15, 16,17 montrent la fréquence des germes isolées en 2003,2004.

Pneumocoque et *H.influenzae* représentent une même proportion de 22.22% des germes isolés.

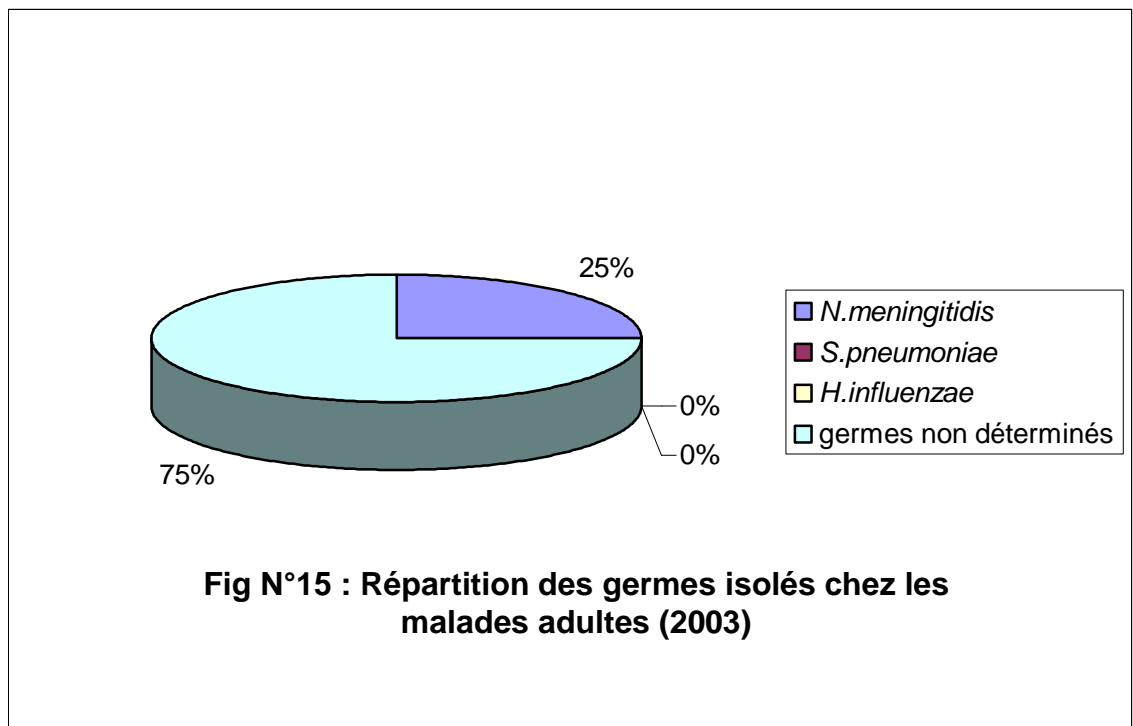
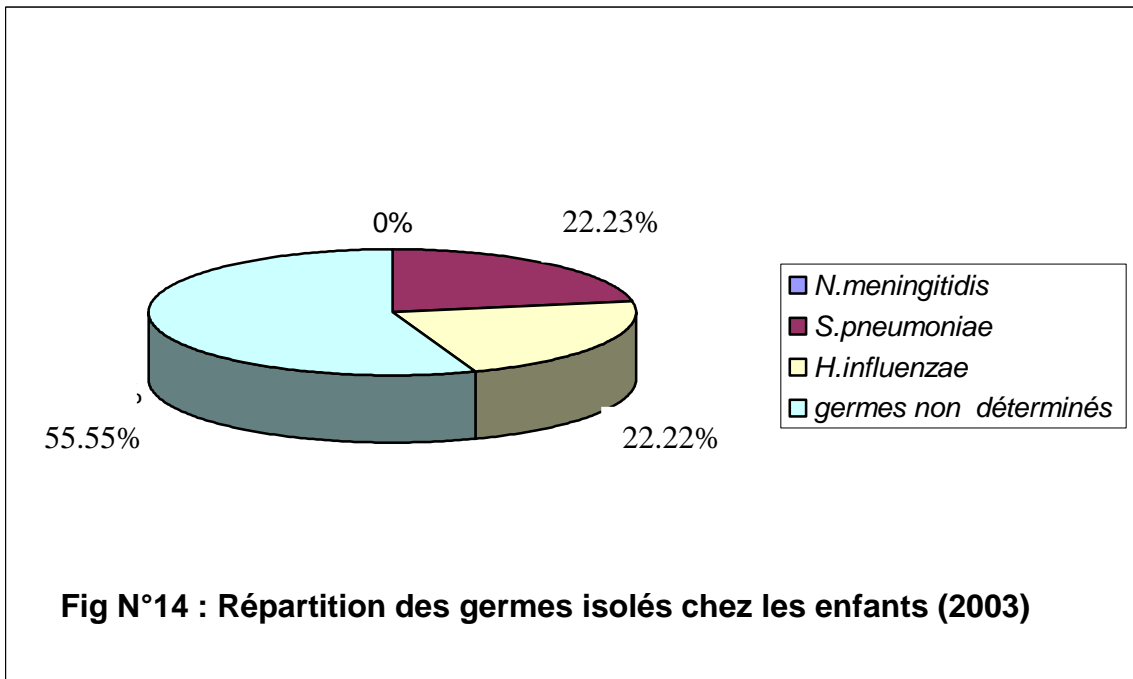
N. meningitidis n'apparaît pas chez les enfants mais elle est incriminée chez l'adulte dans 25% des cas observés.

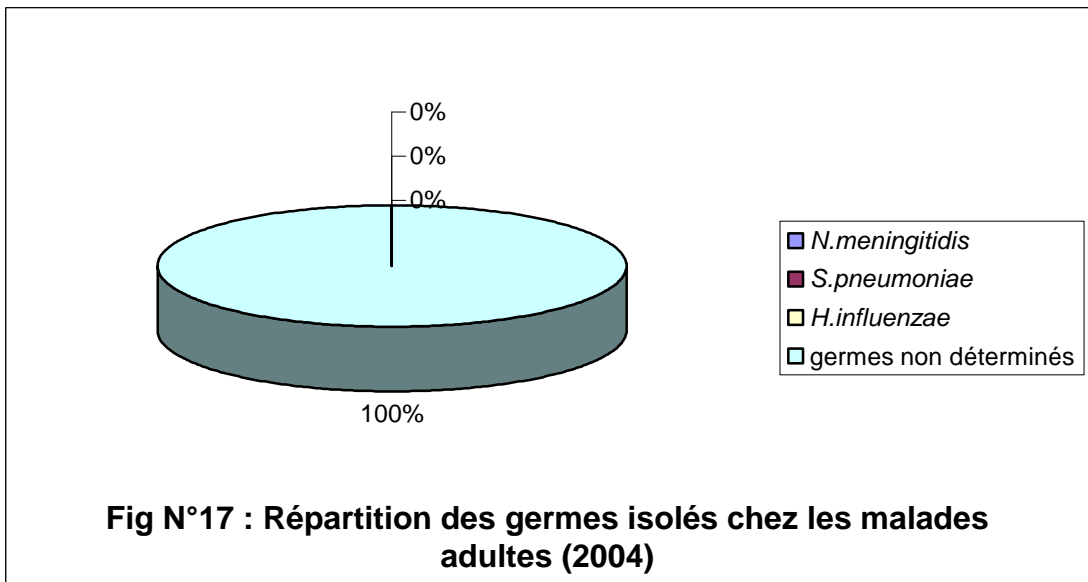
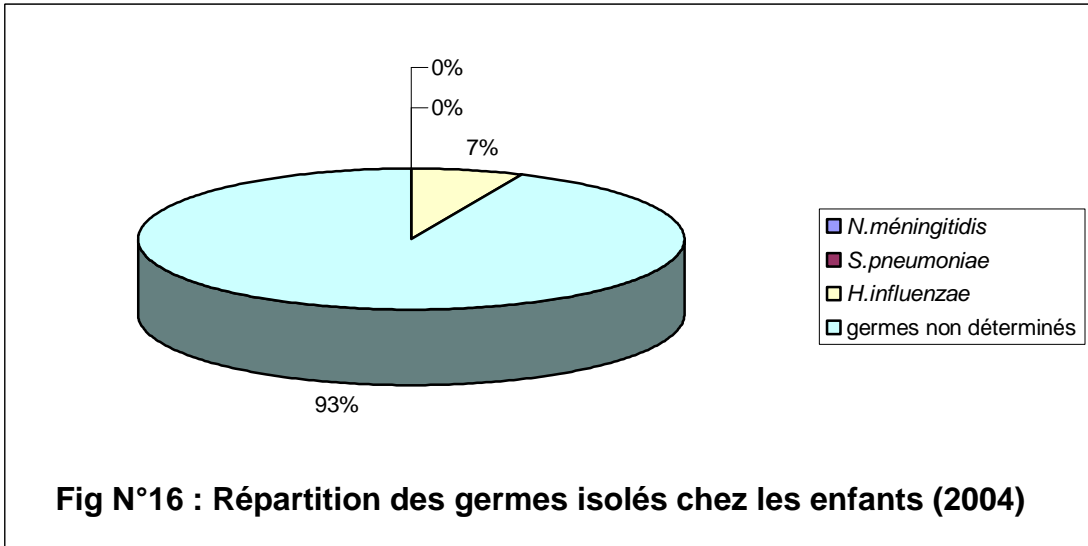
Cependant en 2004, dans le plus part des cas de méningite purulente, les germes responsables ne sont pas déterminés chez les enfants. Cela est du :

- aux mauvaises conditions de l'isolement de certaines espèces bactériennes exigeantes.
- à la sensibilité de certaines souches au cours de transport et leur rareté dans le LCR tel que *Neisseria meningitidis*.

Tableau N°13 : Fréquence des germes isolés selon les tranches d'âge (2003-2004).

Année 2003				
Germe	1jour – 13 ans		14ans – adulte âgée	
	Nombre	Fréquence %	Nombre	Fréquence %
<i>N. meningitidis</i>	0	0	1	25%
<i>S. pneumoniae</i>	2	22.22%	0	0
<i>H. influenzae</i>	2	22.22%	0	0
Germes non déterminés	5	55.55%	3	75%
Totale	9	100%	4	100%
Année 2004				
Germe	1jour- 13 ans		14 ans – adulte âgée	
	Nombre	Fréquence %	Nombre	Fréquence %
<i>N. meningitidis</i>	0	0	0	0
<i>S. pneumoniae</i>	0	0	0	0
<i>H. influenzae</i>	1	6.67%	0	0
Germes non déterminés	14	93.33%	5	100%
Totale	15	100%	5	100%





Conclusion

CONCLUSION

Notre contribution dans l'étude cyto-bactériologique de liquide céphalo-rachidien a porté sur la révélation des étiologies bactériennes sur des échantillons de PL provenant de deux services (médecine interne et pédiatrie) au niveau de l'hôpital Mohamed BOUDIAF en suivant plusieurs étapes.

Les résultats obtenus nous ont permis de conclure :

- L'examen macroscopique permet de préciser l'état physique du prélèvement et tout particulièrement l'état de purulence.
- L'examen microscopique fournit rapidement des renseignements, en révélant, la présence, des bactéries dans un contexte cellulaire inflammatoire.
- L'examen à l'état frais permet de déterminer le nombre des cellules présentes.
- L'examen sur frottis coloré au MGG permet d'apprécier plus particulièrement la réaction cellulaire.
- L'examen sur frottis coloré au Gram permet de préciser la morphologie et le caractère Gram (+) et Gram (-) des bactéries.
- La culture permet d'isoler les bactéries exigeantes, et l'étude de la sensibilité aux antibiotiques (antibiogramme) ;

Malgré l'importance de l'examen bactériologique dans le diagnostic biologique, il manque de précision, car les conditions de l'étuvage sont défavorables pour le développement des germes exigeants en atmosphère riche en CO₂ (manque d'un jarre d'anaérobiose).

À la lumière de nos résultats statistiques, il est montré que le nombre d'individus atteints de méningite bactérienne dans les années 2003, 2004, 2005 tend vers une diminution à cause du développement de mode de vie des personnes et leur conscience .

- Elle atteint les deux sexes et elle est plus fréquente chez l'enfant que l'adulte.
- Les germes isolés dans ces années dont l'atteinte par pneumocoques et

H. influenzae constitue un élément de gravité et une menace sur la vie de petit malade.

- Etant donné que la méningite bactérienne présente un danger sur la santé de l'homme, il faut prendre quelques prédispositions pour l'éviter ou empêcher son évolution :
 - ★ Il faut conditionner tous les moyens de travail au laboratoire de l'hôpital Mohamed BOUDIAF afin de préciser l'agent microbien responsable de cette maladie.
 - ★ Sensibiliser la population de la gravité de la méningite bactérienne.
 - ★ Respecter les mesures d'hygiène personnelles et sociales et celle des lieux.
 - ★ Une mode de vie sain afin de ne pas affaiblir le système immunitaire.
 - ★ Vaccination.

Bibliographie

Références bibliographiques

- 1- AGENCE ROGER VIOLET**, (1970) : Encyclopédie 360, Espagne. pp182.
- 2- ALAIN BLACQUE ; BELAIN NICOLE**, (1995) : L'infirmière et les examens biologiques cliniques, L'application pratique en médecine, Aloine, Paris .pp123-125.
- 3- ALAIN FIACRE ; LISABELH PLOVIER ; ANNE VINCENET**, (2001), Les examens de laboratoire, Aloine, Paris. pp152-154.
- 4- BERAUD J.** (2001), Le technicien d'analyses biologiques, Tec & doc, Paris .pp551, 790.
- 5- BOUVET A.** 2000, Cours de bactériologie générale, Hôtel dieu université, Paris.
- 6- CARBOUNELLE B. ; DENIS F. ; MARMONIER A. ; PINON G. ; VARGUES R.**, (1990), Bactériologie médicale –techniques usuelles, Paris. pp47.
- 7- DECLUDT B. ; VAILANT V.**,(1997), Les cas de tuberculose déclarés, France.pp16-19.
- 8- FAUCHERE J L. ; AVRIL J L.**, (2002), Bactériologie générale et médicale, Ellipses, France. pp 199,223 ,234 ,289 .
- 9- FAUCHERE J L ; SIMONET M**, (1997), Bactériofiches techniques en biologie clinique, Ellipses, Paris, pp88-99.
- 10-Figarella F.,Leyral G. ,Terret M.**,(2001), Microbiologie générale et appliquées Collection sciences et techniques biologiques , France pp 21.
- 11- FOTTOROSSO V.; RITTER O.**, (2001), Vademecum clinique du diagnostic au traitement, 16^{eme} édition, Paris. pp 712-714.
- 12- PEBRET F.**, (2003), Maladies infectieuses, France. pp 171 ,174 ,182 ,208 ,564.
- 13-GENVIERE DUCOFFRE**, (2004), Maladies infectieuses. Information sur la méningite, Laboratoire vigies, Maras.

- 14-HARISSON TR.**, (1988), Principe de médecine interne, Médecine –Science – Flammarion, Paris. pp180 ,574 ,602 ,1968.
- 15-JACQUES BERAUD LONDRES**,(2001), Le technicien d’analyses biologiques – Guide théorique et pratique, Paris .pp1111,1113.
- 16-JEAN NOEL JOFFIN ; GUY LEYRAL** ;(2001), Microbiologie technique, tome 1-Dictionnaire des techniques –Biologie technique, France. pp198, 199.
- 17-JOSEPH A. ; HORAUD T.**, (1995), Streptococcus et germes apparentes, Picum, Milan. pp56.
- 18- KAMOUN P. ; FREJAVILLE J P.**, (2002), Guides des examens de laboratoire 4e édition, Médecine –Science – Flammarion, Paris. pp123, 125.
- 19- KUBAB N. ; HAKAWATI I. ; ALAJATI K.**, (1994), Guides des examens biologique, éditions L’amarre, Paris .pp 47.
- 20- LAURANT LABREZE**, (2001), La méningite, Impact médecine, Dossier du praticien N°554, france.
- 21- PASCAL DIEUSAERT**, (2002), Guide pratique des analyses médicales, 3e édition, Maloine , Paris . pp 654,663.
- 22- MARCHAL N. ; BOURDON J L. ; RICHARD**, (1991), Les milieux de cultures pour l’isolement et identification biochimique des bactéries, biologie appliquée, Paris.
- 23- PECHERE J C. ; ACAR J. ; ARMENGAUD M. ;GRENIER B. ; MOELLERING R. ; SANDE J R. ; WALDVOGEL S Z.** ,(1991), Les infections 3^{eme} édition ,Québec .pp 562,563 ,573 ,296,569.
- 24- PILET C. ;BOURDON J L. ; TOMA B. ; MARCHAL N. ; BALBASTRE C. ,** (1981),Bactériologie médicale et vétérinaire -systématique bactérienne –France. pp 24-28,113-115,142.
- 25- ROUSSET J J.**, (1995), Maladies parasitaires, Masson, Paris. pp 151,152.
- 26- SERGE P. ; XAVIER A. ; EMMANUEL M.**,(2002), Les maladies infectieuses, France, pp 11-21, 298, 301, 313,364.

27- TORTORA G., (2002), Principe d'anatomie et de physiologie, Deboek –Université, 3^{ème} édition, Canada. pp324, 435-436, 472-473.

28- VANDEPILLE J. ; ENGBAEK K. ; PIOT P. ; HEUCK C C., (1994), Bactériologie clinique-technique de base pour laboratoire, Organisation mondiale de la santé, Paris .pp 26-30.

29- WARWICK J C., (2000), Le vadmecum consultation, Aide mémoire de diagnostic, étiologie et thérapeutic 2^{ème} édition, Paris. pp218-301.

30- WASZH OCKER T O. ; GENZ H. ; LANDMAM H. ;OCKDITZH W. , (1988), Influence de la vaccination des nouveau-nés par BCG sur l'incidence des méningites tuberculeuses post-primaires chez l'enfant , France pp52 ,54 ,63.

Annexe

Annexe n°01

Composition des milieux de cultures utilisés dans l'isolement des bactéries responsable de méningite bactérienne (16).

Gélose Nutritive: milieu d'isolement courant dont la composition très variable.

Composition:

Extrait de viande.....	1,0g.
Extrait de levure.....	2.0g.
Peptone.....	5,0g.
Chlorure de sodium.....	5,0g.
Agar.....	15,0g.

PH=7,4

(La gélose peut être additionnée de sang et donne une gélose au sang utilisée dans l'isolement des Pneumocoques)

Chocolat (gélose) : Généralement utilisée avec supplément dans l'identification des Haemophilus.

Composition :

Peptone tryptique de caséine.....	7.5g.
Peptone pepsique de viande.....	7.5g.
Amidon de maïs.....	1.0g.
Hydrogénophosphate de potassium.....	4.0g.
Dihydrogénophosphate de potassium.....	1.0g.
Chlorure de sodium.....	5.0g.
Hémoglobine.....	10.0g.
Supplément glucosé, vitamine type polyvitex.....	1.0cm ³ .
Vancomycine.....	3.0mg.
Colimycine.....	7.5mg.
Agar.....	15.0g.

PH =7,2

Mueller Hinton (gélose) : Gélose riche pour la réalisation de l'antibiogramme standard.

Composition :

Infusion de viande de bœuf.....	300.0cm ³ .
Peptone de caséine.....	17.5g.
Amidon de maïs.....	1.5g.
Agar.....	17.0g.

PH = 7, 4

Chapman (gélose) : Isolement des Staphylococcus.

Composition :

Peptone.....	10.0g.
Extrait de viande de boeuf.....	1,0g.
Chlorure de sodium.....	75.0g.
Manitol.....	10.0g.
Rouge de phénol.....	0.025g.
Agar.....	5.0g.

PH =7, 4

Mac ConKey (gélose) : Isolement des Bacilles Gram négatif.

Composition:

Peptone	20g.
Lactose	10.0g.
Sels biliaires N°2.....	1.5g.
Cristal violet.....	0.001g.
Rouge neutre.....	0.05g.
Chlorure de sodium.....	5,0g.
Agar.....	15.0g

PH=7,4

ANNEXE n°2 : MODELE FICHE DE LEXAMEN CYTOBACTERIOLOGIQUE DU LCR
HOPITAL DU SECTEUR SANITAIRE DE OUARGLA

LABORATOIRE INTERNE
- M I C R O B I O L O G I E -

Nom: Prénoms: Age:
 Service: Date de Réception:

 ★ EXAMEN CYTOBACTERIOLOGIQUE DE LA PONCTION ★

S/N°...../

1) - **A S P E C T**

- Clair
- Hémorragique
- Exanthochromique
- Purulent

2) - **EXAMEN MICROSCOPIQUE**

A- **Numération**

- Leucocytes : (Nombre par mm³) :
- Hématies : (Nombre par mm³) :

B- **Etude** : cyto bactériologique

- Leucocytes

- Bactérie Présence :
 Absence :

3) - **C U L T U R E**

- Absence de culture
- Présence de culture
 de :.....

4) - **I N T E R P R E T A T I O N**

- Absence d'infection
- Présence d'infection a

Ouargla le.....

LE LABORANTIN

LE PHARMACIEN

Annexe n°03

Lexique médical

Apathie : absence de volonté, d'énergie, mollesse.

Arthralgie : douleur articulaire.

Asthénie : état de fatigue et d'épuisement sans cause organique.

Myalgies : douleur musculaire.

Néoplasique : qui concerne un néoplasme ; tissu nouvellement formé dans l'organisme, en particulier tumeur.

Photophobie : phobie de la lumière. (Sensation pénible produite par la lumière dans certaines maladies

Rachialgie : douleur au rachis.

Somnolence : état de sommeil léger, manque d'activité mollesse.