

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



UNIVERSITE KASDI MARBAH OUARGLA

FACULTE DES SCIENCES ET SCIENCES DE L'INGENIEUR

DEPARTEMENT DE BIOLOGIE

MEMOIRE DE FIN D'ETUDES

En vue l'obtention de diplôme d'études supérieures en biologie

Option biochimie

Thème

Relation entre perturbation biochimique de liquide céphalorachidien et germes en cause

Présenté par

KADIR Soumia

Composition du jury :

Président : BOUZGAG Brahim M.A.C.C. (université de Ouargla)
Promoteur : Dr. M^{me} ZENOUNE Houda Médecin biologiste à l'hôpital de Touggourt
Co- promoteur: M. OULD ELHADJ M^{ed} Didi Maître de Conférence (université de Ouargla)
Examineurs : M. BOUAL Zakaria DES (université de Ouargla)

Année Universitaire : 2007/2008

Remerciements

Avant tout, je remercie Dieu tout puissant de m'avoir accordée la force, le courage, les moyens afin de pouvoir accomplir ce mémoire, puis mes parents pour leurs soutiens moraux et leurs aides

Au terme de ce travail je tiens tout particulièrement à témoigner ma profonde gratitude à ma promotrice Mme ZANOUNE H. médecin biologiste au laboratoire centrale de l'hôpital AMIRAT Sliman de Touggourt, pour ses précieux conseils, sa patience et sa gentillesse et ses orientations durant la réalisation de ce mémoire.

J'exprime mes vifs remerciements à mon co-promoteur : M.OULD EL HADJ M^{ed} Didi, maître de conférence à la faculté des sciences et des sciences de l'ingénieur de l'université KASDI Merbah de Ouargla ; pour l'honneur d'avoir accepté de diriger en co- promotion ce travail.

*Mes sincères remerciement également aux membres du jury particulièrement à :
Président : M. : BOUZGAG Brahim (M.A.C.C.) ;
Examineur : M. BOUALE Zakaria (DES),
pour l'honneur qu'ils m'accordent en acceptant d'examiner et d'évaluer ce travail.
Je remercie tout le personnel de l'hôpital AMIRAT Sliman ; et en particulier ceux du laboratoire où ce travail est élaboré.*

Enfin, je tiens à exprimer mes reconnaissances et mes remerciements à tous ceux qui ont contribué de près ou de loin par leur soutien pour la réalisation de ce modeste travail.

KADIR S.

Abréviation

Ag	: antigènes.
ATB	: antibiotique
BCP	: glucose bromocrésole pourpre
CMI	: concentration minimale inhibitrice
FRU	: fructose
GLU	: glucose.
GN	: gélose nutritive
GSC	: gélose au sang cuit
GSF	: gélose au sang frais
γGT	: g-glutamyltransférase
IPA	: Institut Pasteur d'Alger
LCR	: liquide céphalorachidien
LCS	: liquide cérébrospinale
MAL	: maltose
NCCLS	: National Committee for Clinical Laboratory Standards
ODC	: ornithine décarboxydase
ONPG	: ortho-nitro-phényle-galactosidase.
OX	: oxydase
PDA	: N- diméthyl paraphénylène diamine
PL	: ponction lombaire
SNC	: Système Nerveux Central
VL	: Ventricule Latérale

Liste des figures

figures	titre	Page
1	Localisation du liquide céphalorachidien.	09
2	Circulation du liquide céphalorachidien.	12
3	Coupe sagittale de l'encéphale et de la moelle épinière et la circulation du liquide céphalorachidien.	13
4	Schéma montre la circulation du liquide céphalorachidien	14
5	Méningocoque d'un liquide céphalorachidien (coloration du Gram)	22
6	Streptococcus pneumoniae dans le LCR (coloration du Gram).	23
7	Technique de la ponction lombaire	30
8	Prélèvement d'un malade adulte.	30
9	Organigramme expérimental de l'analyse biochimique et bactériologique d'un LCR ;	31

Liste des tableaux

Tableau	Titre	Page
1	Composition du liquide céphalorachidien	10
2	Principales constantes chimiques du LCR et du sang	10
3	Liste des micro-organismes susceptibles d'être à l'origine de méningite	18
4	Identification bactériologique de différents germes trouvés durant la période de travail	46
5	Etude de 12 prélèvements effectués dans la pratique	47
6	Etude cyto-bactériologique et biochimique de 5 cas de liquide trouble	48

Résumé

Le liquide céphalorachidien (LCR) est un liquide dans lequel baignent le cerveau et la moelle épinière. Ce liquide normalement stérile dépourvu d'éléments cellulaires.

La présence des bactéries dans ce liquide entraîne un syndrome méningé ou une méningite.

Le travail cherche les relations entre la présence des bactéries dans le LCR et les modifications biochimiques qui peuvent les entraîner, par deux études: bactériologique et cytochimique. Les résultats obtenus montrent qu'il n'y a pas de spécificité bactérienne par rapport aux glucorachie et protéinorachie.

L'étude bactériologique et cytochimique faite sur les prélèvements de la ponction lombaire obtenus dans laboratoire centrale de l'hôpital AMIRAT Sliman de Touggourt, révèlent que la méningite virale prédominance plus que la méningite bactérienne qui est causée principalement – dans cette étude – par : *Streptococcus pneumoniae*, *Neisseria meningitidis*, et *Haemophilus influenzae* de type b.

Mots clés: liquide céphalorachidien, méningite, bactériologique, cytochimique, ponction.

Summary

The cerebrospinal fluid (CSF) is a liquid in which bathe the brain and spinal cord. This fluid normally sterile devoid of cellular components.

The presence of bacteria in the liquid causes a syndrome Meningeal or meningitis.

The work seeks relations between the presence of bacteria in the CSF and changes that can lead by two studies: bacteriological and cytochemical. The results showed that there was no specific bacterial compared to glucorachie and protéinorachie.

The study biological and cytochemical done on samples of the lumbar puncture obtained in laboratory central hospital of Touggourt AMIRAT Sliman reveal that the predominant viral meningitis more than bacterial meningitis is caused primarily - in this study - by *Streptococcus pneumoniae*, *Neisseria meningitidis*, and *Haemophilus influenzae* type b

Keywords: cerebrospinal fluid, meningitis, bacteriological, cytochemical, puncture

\$ " !
 " % & ' # 0# *
 " + , -. / & , 0 & . 0 .
 1 & \$ 56 ! 1 & . 7 0 . 1 2 3 0 3 4+ % 3
 ' + ; . " % & . : & 0 3 \$ 9 % 0 - 80+ . *
 " 0 . & & 1 & . & . ' ' 0 (03 - %
 & %) & \$ 1 # 003 < % 1 & * % & . & 0
 < % , % & ! + , -. / & * 1 ! = 1 &) . = 1 & 3 % < ! . > . < %
 : . & . + , -. / &

Streptococcus pneumoniae, *Neisseria meningitidis*, et *Haemophilus influenzae* de type b.

% 9 % 9 & . 9 + , -. / & 9 ! : _____ "

Tables des matières

INTRODUCTION

Premier partie : Bibliographique

<i>Chapitre I : Généralités sur le liquide céphalorachidien (LCR).</i>	7
I-1- Définition et localisation.....	8
I-2- Composition du LCR.....	8
I-3- Physiologie et circulation du LCR.	11
I-4- Rôles du LCR.	11
<i>Chapitre II : Pathologie du liquide céphalorachidien.</i>	15
II-1- Pathologie du LCR :	16
II-1-1- Méningite.....	16
II-1-2-Encéphalite.....	16
II-2- Méningites :.....	17
II-2-1- Définition.	17
II-2-2 Le syndrome méningé.	17
II-2-3-Types de méningite.....	17
II-2-3-1Méningites bactériennes.	17
II-2-3-2Méningites virales.....	17

II-2-3-3-Méningites tuberculeuses.	17
Chapitre III : Germes en causes.	19
III-1- Définition.	20
III-2- Principaux germes rencontrés.	20
III-3- Définition de quelques germes principales.....	21
Chapitre IV : Perturbation biochimique du LCR.	24
IV-1- Protéines.	25
IV-2- Glycorachie.	25
IV-3- Chlorure.	25

Deuxième partie : PRATIQUE

Chapitre I : Matériels et méthode	28
I-1-Matériels de travail.	28
I-2- Méthode :.....	29
I-2-1-Zone d'étude.....	29
I-2-2-Prélèvement.....	29
I-2-3-Transport	31
I-2-4-Plan du travail.....	31
Chapitre II : Etude bactériologique du LCR.	32
II-1- Etude macroscopique :.....	32
II-1-1-Etude macroscopique.....	32
II-1-2-Etude cytologique :	32
II-1-2-1-Cytologie quantitative.	33
II-1-2-2-Cytologie qualitative.....	33
II-2- Mis en culture :.....	33
II-2-1-Isolement sur milieux de culture.....	33
II-2-2-Enrichissement sur bouillon de culture.	34
II-2-3-Recherche de la catalase et de l'oxydase.....	34

II-3- Examen microscopique des souches : Coloration de Gram.....	36
II-4- Identification bactériologique (en fonction des germes trouvées).....	36
II-5- Détection des antigènes solubles : méthode au latex.	38
II-6- L'antibiogramme.	38
Chapitre III : Etude biochimique du LCR.	40
III-1- Dosage des protéines totales : Protéïnorachie	40
III-2- Dosage de glucose : Glycorachie.....	41

Troisième partie : RESULTATS ET DISCUSSION

1- Résultat :	44
1-1-Examen macroscopique.....	44
1-2-Examen cytologique.....	44
1-3-Examen direct de la détection des antigènes solubles.....	45
1-4-Résultat et discussion de la culture :.....	45
• Caractères culturaux.....	45
• Examen microscopique après coloration de Gram.	46
• Résultat de bouillon d'enrichissement.....	46
• Identification biochimique.....	46
2- Etude statistique.....	47
2-1-Nombre de cas	47
2-2-Résultat et discussion	47

CONCLUSION

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

ANNEXES

INTRODUCTION

La méningite est l'inflammation des méninges, membranes qui entourent le cerveau et la moelle épinière dans lesquelles circule le liquide céphalorachidien. Les méninges ont un rôle de protection mais aussi de nutrition du cerveau car elles contiennent les vaisseaux sanguins qu'alimente le tissu cérébral (PATRICE, 2002).

La méningite est une réaction inflammatoire des méninges qui se traduit par une modification du LCR. Les causes de cette infection sont diverses infectieuses, cancéreuses, médicamenteuses (PEBRET, 2003).

La méningite d'origine virale est généralement bénigne et présente un peu de risque ; par contre la méningite d'origine bactérienne est une infection grave, qui évolue de façon très rapide et qui peut être mortelle si elle n'est pas diagnostiquée et soignée rapidement (KUBAB, 1994).

Le diagnostic est biologique, repose sur la ponction lombaire qui donne le LCR. (PATRICE, 2002).

L'examen cytochimique du LCR permet de reconnaître ou de suspecter une étiologie bactérienne justifiant un traitement antibiotique immédiat.

Comment se déroule ce diagnostic biologiquement afin de révéler la présence des bactéries causant cette affection de liquide céphalorachidien ?

Est-ce qu'il y a une spécificité bactérienne par rapport à la modification biochimique du LCR ?

Afin de répondre à ces questions, on procède à une étude bibliographique qui pose le problème, une autre expérimentale réalisée à l'EPH Slimane AMIRAT de Touggourt au niveau de laboratoire central de biologie en vue de chercher les bactéries

incriminées causant la perturbation du LCR. En comparant les résultats obtenus avec ceux des données statistiques à partir d'un registre de service de pédiatrie.

CHAPITRE I

Généralités Sur le LCR

Les structures protectrices de la moelle épinière décrites deux revêtement de tissu conjonctif; les méninges et les vertèbres, ainsi qu'un coussin de liquide céphalorachidien (liquide cérébrospinale) produit dans l'encéphale, entourant et protègent le fragile tissu nerveux (TORTORA, 2002).

I-1-Définition et localisation

Le liquide céphalorachidien (ou LCR) ou encore liquide cérébrospinale (ou LCS); est le liquide dans lequel baignent le cerveau et la moelle épinière. Il est contenu dans les méninges, plus précisément entre *la pie mère* (qui couvre le système nerveux centrale) et *l'arachnoïde* (qui tapisse le versant interne de la *dure mère*, elle même solidement attachée aux structures osseuses) (SERRETRICE et al.). Donc; le liquide céphalorachidien occupe deux grands compartiments du système nerveux centrale : les ventricules cérébraux et les espaces arachnoïdiens (BELOUNI ,2000).

Il est synthétisé au niveau des plexus choroïdes, structures très vascularisées qui appartiennent aux ventricules cérébraux (SERRETRICE et al.).Le liquide céphalorachidien normal est limpide, et incolore (eau de roche). Son volume total varie de 90 à 150 ml (1/500 du poids corporel en moyen) (O.M.S. 1994). (Fig. 1).

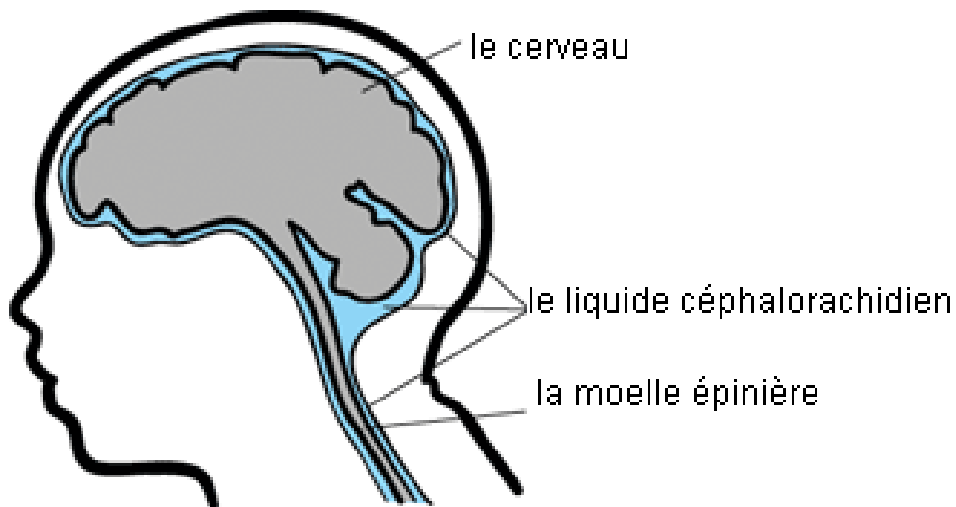
I-2-Composition de liquide céphalorachidien (Tableau 1et tableau 2)

Le LCR à l'état normale est d'aspect claire, il est constitué de (DUPEYRON, 1995 ; MULLER, 1998) :

- Eau : 99%.
- Protéines (Protéïnorachie) : 0,2-0,4 g/l.
- Glucose (glucorachie) : 0,40 à 0,80 g/l (50% de la glycémie).

- Chlorure (chlorurorachie) : 120 à 130 mmol/l.
- Cellules/mm³ : 0-2 cellules/mm³ de type mononuclées.
- Formule leucocytaire : *Lymphocytes* (0 à 2 éléments/ mm³).
- Examen direct bactériologique Négatif et culture Négative.

- 17 -



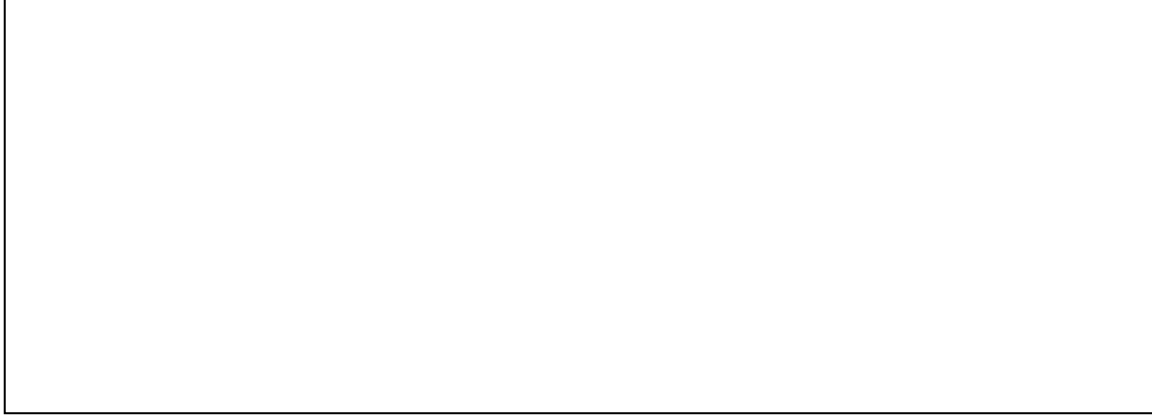


Figure 1: Localisation du liquide céphalorachidien. (O. M. S., 1994)

Tableau 1 : Composition de liquide céphalorachidien (MULLER, 1998).

	Aspect	Protéines g/l	Glucose g/l	Chlorure mmol/l	Cellules/mm ³	Formule leucocytaire	Bactéries
LCR normal	Limpide et incolore	0,2-0,4	0,5	120-130	0-2	Lymphocytes	Stérile

Tableau 2 : Principales constantes chimiques du LCR et du sang (GOUST, 1979).

	LCR (pour 100cm ³)	Sang (pour 100cm ³)

- Eau.....	98,3 à 99,66g	90,88 à 92g
- Protéines totales.....	0,20g à 0,40g	6,7 à 8,7g
- Glucose....	0,45 à 0,80g	0,10 à 0,12g
- Cholestérol.....	Traces	0,15 à 0,275g
- Chlorure.....	0,60 à 0,70g	0,59 à 0,70g
- Urée.....	0,024g	0,024g

I-3-Physiologie et circulation du LCR

Les cerveaux et la moelle épinière baignent dans le liquide céphalorachidien à l'intérieur de la boîte crânienne et de la colonne vertébrale. Le LCR nourrit le tissu du système nerveux central- car il apporte aux neurones et aux cellules gliales de l'oxygène, du glucose et d'autres substances essentielles contenues dans le sang- et contribue à protéger des traumatismes le cerveau et la moelle épinière (GOUST, 1979).

Le LCR secrété par les plexus choroïdes dans les deux ventricules latéraux (VL droit et VL gauche) du troisième ventricule (de la région diencéphalohémisphérique) par le trou de *Monro*, ensuite par l'intermédiaire de l'aqueduc (canal) de *Sylvius*, atteindre le quatrième ventricule (BELOUNI, 2000).

Du quatrième 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 (fig.2, 3)(BELOUNI, 2000)

Les leptoméninges sont formées de trois feuillets (la dure mère, l'arachnoïde, la pie mère) qui délimitent des espaces (BELOUNI, 2000). :

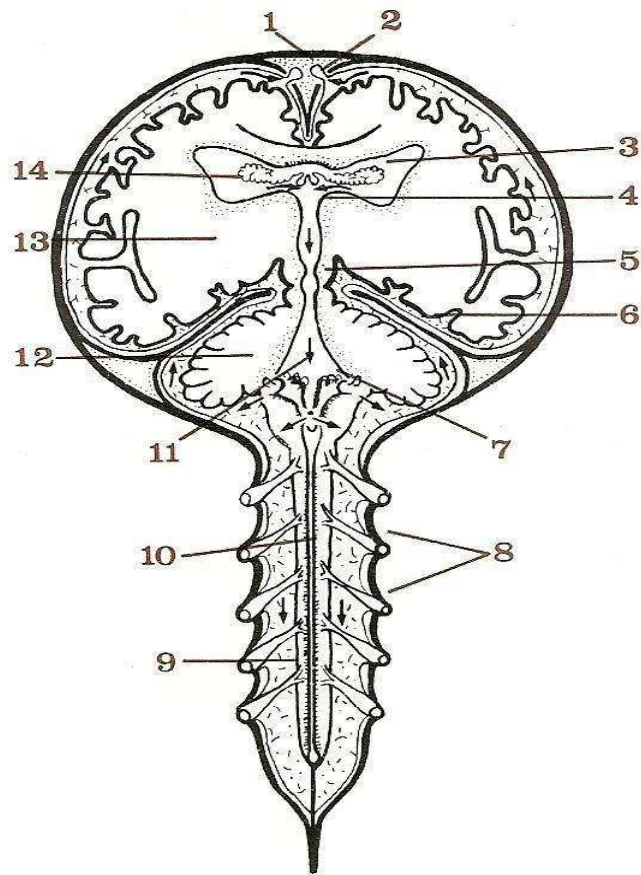
1. L'espace *extradural* compris entre le périoste et la dure mère;
2. L'espace *sous dural* situe entre la dure mère et l'arachnoïde ;
3. L'espace *sous arachnoïdien* qui situe entre l'arachnoïde et la pie mère dans lequel circule le LCR.

I-4-Les rôles de liquide céphalorachidien

- La protection mécanique du système nerveux centrale contre les chocs par amortissement des mouvements, c'est à dire 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 (TORTORA, 2002).

- La protection contre les infections, car il contient les médiateurs de l'immunité humorale et cellulaire (TORTORA, 2002).
- La protection chimique; puisque le liquide céphalorachidien (LCR) constitue un milieu propice à l'émission des influx nerveux (TORTORA, 2002).
- Le LCR sert de milieu pour l'échange des nutriments et des déchets entre le sang et le tissu nerveux (BELOUNI, 2000) (fig. 4).



- 1) Granulation arachnoïde
- 2) Sinus sagittal supérieur
- 3) Plexus choroïdes latéraux
- 4) Troisième ventricule
- 5) Aqueduc de Sylvius
- 6) Tente du cervelet
- 7) Plexus choroïdes inférieurs
- 8) Racine des nerfs rachidiens
- 9) Espace spinal sous-arachnoïdien
- 10) Moelle épinière
- 11) Quatrième ventricule
- 12) Cervelet
- 13) Hémisphère cérébral
- 14) Ventricule latéral

Figure 2: Circulation de liquide céphalorachidien (SCHULLER, 1995).

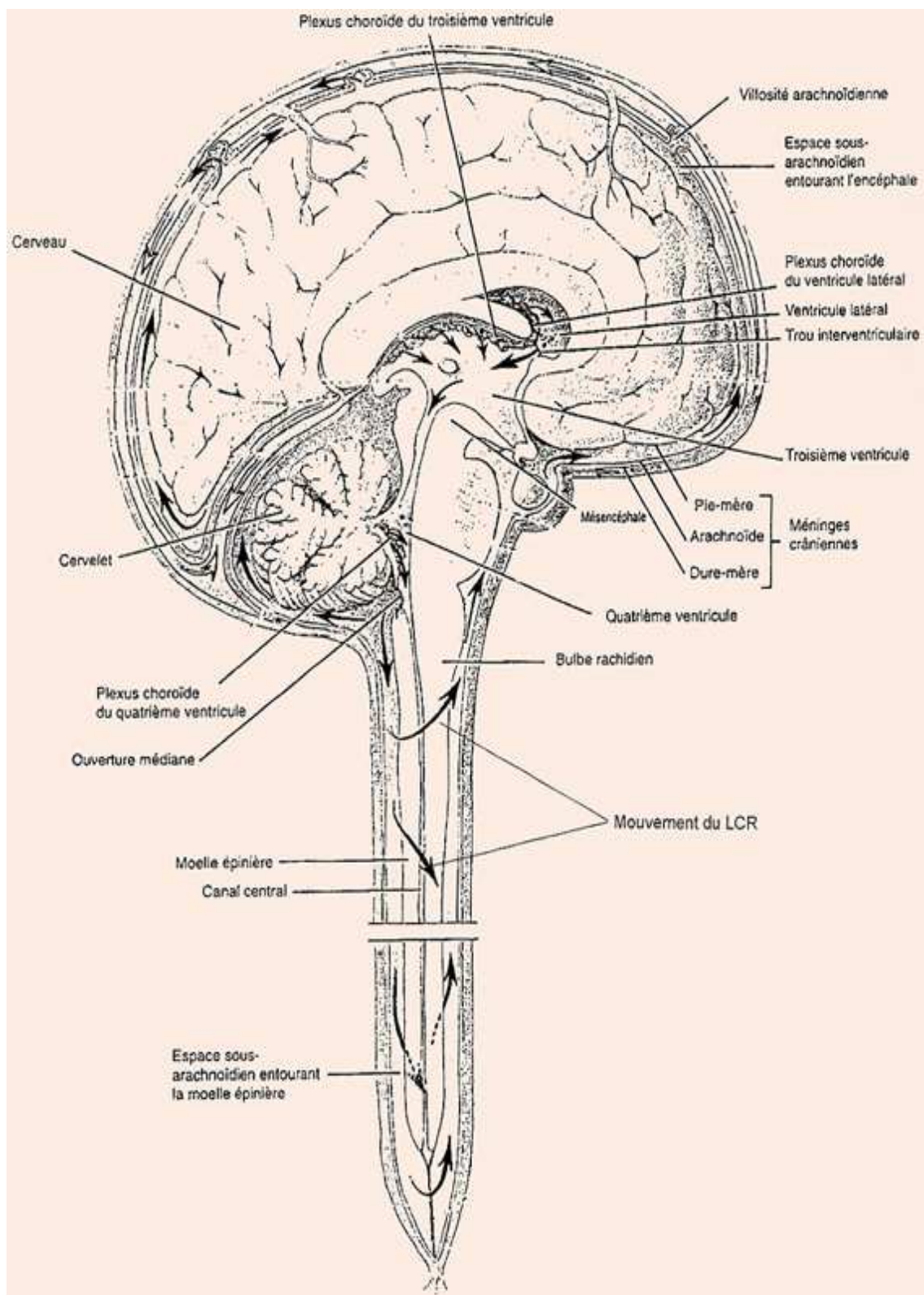


Figure 3 : coupe sagittale de l'encéphale et de la moelle épinière et la circulation de liquide céphalorachidien (TORTORA, 2002).

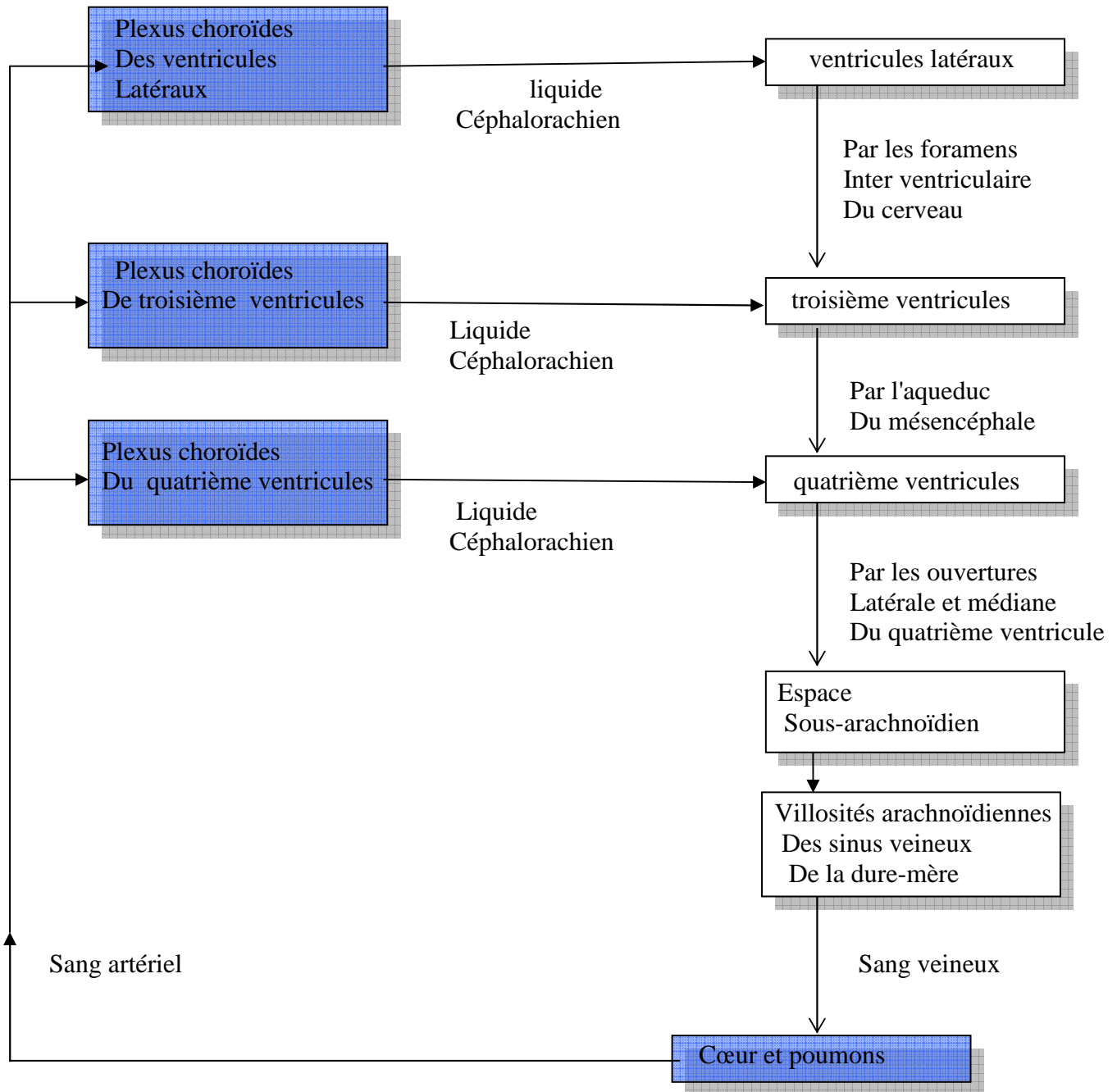


Figure 04 : Circulation du liquide Céphalorachien (TORTORA, 2002).

Chapitre II

Pathologie du liquide céphalorachidien

II-1 Pathologie du LCR

Le liquide céphalorachidien (LCR) est normalement stérile. La présence de bactéries dans les méninges entraîne un syndrome méningé ou méningite, de pronostic sévère, qu'il faut traiter de toute urgence afin d'éviter des séquelles graves. (GALMAND, 1998). Les modifications les plus fréquentes de ce liquide; sont par exemple : *la méningite, et l'encéphalite.*

*Méningite

La méningite reste parmi les plus graves maladies infectieuses qui représentent une véritable urgence médicale (MARCHAL et al, 1991).

Une méningite est une inflammation des méninges, les enveloppes de la moelle épinière et du cerveau dans lesquelles circule le liquide céphalorachidien. Les causes sont diverses infectieuse, cancéreuses, et médicamenteuses (PEBRET, 2003).

La méningite d'origine virale en générale est bénigne et présente un peu de risque et ne peut être soignée avec des antibiotiques. Mais 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 (KUBAB et al, 1994).

* Encéphalite

L'encéphale est la partie du système nerveux centrale (SNC) comprenant le cerveau, le cervelet et le tronc cérébral. Toute inflammation de cette région évoluant rapidement constituer "*une encéphalite aigue*» (SMELTZER et al, 2006).

L'encéphalite pure est rare: on rencontre plutôt des méningo-encéphalites accompagnées de signes méningés plus ou moins prononcés et d'anomalies du liquide céphalorachidien.

Deux types d'encéphalites sont décrits:

1/- Encéphalite infectieuse.

2/- Encéphalite post infectieuse.

Dans le premier cas, l'agent infectieux le plus souvent un virus, pénètre le système lymphatique de l'hôte; soit par inhalation (virus respiratoire), soit par ingestion (entérovirus). Dans l'encéphalite dite post infectieuse; il est impossible de cultiver le germe ou de l'identifier en microscopie (ELSEVIES, 2007).

II-2- Méningites

II-2-1- Définition

La méningite est une inflammation des méninges (PATRICE, 2002). Donc, le terme méningite désigne l'infection ou l'irritation pathologique des méningites de l'espace sous arachnoïdien qui compris entre l'arachnoïde et la pie-mère dans lesquels circule le liquide cérébrospinal (KUBAB, 1994).

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**) (VITTORIO, 2006).

Elle est ; la plupart du temps; la conséquence d'un agent infectieux qui franchit la barrière hémato-encéphalique et atteint les méninges et l'encéphale (PATRICE, 2002).

De nombreux micro-organismes peuvent être incriminés: bactéries; virus; et parasites (Tableau 3).

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

*- Dans 20 à 25% des cas; les méningites sont d'origine bactérienne, elles sont grave car l'évolution spontanée et pratiquement parfois mortelles.

*- Dans moins de 5% des cas, les méningites infectieuses sont dues à des bactéries non pyogènes, à des parasites ou à des processus néoplasiques (KUBAB, 1994).

II-2-2- Syndrome méningé

C'est l'ensemble des signes cliniques imputables à l'irritation des méninges quelle qu'en soit la cause hémorragie méningée ou méningite. Ce syndrome associe des maux de tête, des vomissements, une raideur de la nuque empêchant la flexion de la tête en avant et un signe de kernig, c'est à dire une impossibilité pour le malade de fléchir les cuisses sur le bassin tout en maintenant les genoux en extension.

II-2-3- types de méningite:

II-2-3-1-Méningites bactériennes:

Méningites purulentes qui sont des inflammations aiguës de leptoméninge (l'arachnoïde et la pie mère), c'est à dire une infection bactérienne caractérisée par l'inflammation le plus souvent aiguë des méninges modulaires, et cérébrales. Provoqués par le méningocoque ou d'autres germes pyogènes (pneumocoque, staphylocoque, streptocoque etc..) qui se traduisent par un syndrome méningé, des modifications du LCR purulent et riche en polynucléaires et dont le pronostic a été transformé par le traitement antibiotique. (PATRICE, 2002).

II-2-3-2-Méningites virales

Infection virale des méninges habituellement bénignes et de courte durée ou la guérison était la règle, caractérisée par de la fièvre, des céphalées, une raideur de nuque, une photophobie. Ces méningites ont été appelés méningite "aseptique" ou "abactérienne" pour désigne l'absence de bactéries à l'examen microscopique du LCR (VITTORIO, 2006).

II-2-3-3-Méningites tuberculeuses

Localisation nerveuse la plus fréquente de la tuberculose apparaissant le plus souvent dans les mois suivants la primo-infection. Elle touche dans la majorité des cas, des sujets débilisés qui ont fait au paravent une tuberculose pulmonaire (elle est rare de 1 à 2 méningite/an).

Le pronostic est grave bien que sa prophylaxie par le BCG et son traitement chimiothérapique soient actuellement tout à fait au point.

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 (WASZH et al, 1988).

Tableau 3: Micro-organismes susceptibles d'être à l'origine de méningite (CARBOUNELLE et al, 1990)

Bactéries	
<ul style="list-style-type: none"> • Cocci Gram négative <i>Neisseria méningitidis</i> (32%) (Méningite Céphalorachidien, purpura fulminans). Le sérotype B est prédominant en France <i>Neisseria gonorrhoeae</i> et autres <i>Neisseria</i> (rarement). • Cocci Gram positive <i>Streptococcus pneumoniae</i> (12,3%) Autres streptocoques (6%) Streptocoques B (méningites néonatales (2%)) Streptocoques D (Entérocoques (1%)) Streptocoques suis (méningites des charcutiers) Staphylocoque coagulase + (6%) et coagulase – fréquente. • Bacilles Gram négative <ul style="list-style-type: none"> • <i>Haemophilus influenzae</i> (18%) Sérotype b, biotype 1 para –influenzae (très rarement) (0.4%) • Entérobactéries. <i>Escherichia Coli</i>, sérotype (3%) (Méningites néonatales). <i>Klebsiella</i> et autres entérobactéries 3% <i>Salmonella</i> (principalement <i>S. typhimurium</i> et <i>S. enteritidis</i>). 	<p><i>Pasteurella multocida</i> <i>Moraxelle</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"> • Bacilles Gram positive <ul style="list-style-type: none"> • <i>Listeria</i> (3%) (Formule leucocytaire panachée). • <i>Bacillus anthracis</i>. • Autres <i>Bacillus</i> (souillures) • Bacilles acido-alcool-résistants <i>Mycobacterium tuberculosis</i> (1%) • Bactéries spiralées Le ptospiro-interrogans divers sérotypes). * <i>Treponema</i> • Autres bactéries <i>Rickettsia</i> <i>Chlamydia</i> <i>Mycoplasma</i> • Bactéries anaérobies <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> Candida. <i>Cryptococcus neoformans</i>. • <u>Protozoaires</u> • <i>Toxoplasma</i>, <i>Trypanosoma</i> <i>Schistosoma</i> 	<p>Ténia (éosinophilie). <i>Naegleria. Fowleri</i> .On N'oublie pas les nombreuses méningites virales ainsi que les réactions méningées amicrobiennes.</p>

Chapitre III

Germes en cause

III-1-Définition

En santé, le germe est un microorganisme, qui agit surtout en tant qu'agent pathogène. Les germes pathogènes ou les bactéries pathogènes sont responsables de maladies. Donc, les bactéries sont des organismes de très petite taille, elles sont observées au microscope électronique ou au microscope optique, donc sont des éléments figurés (KERNBAUM, 1982).

On trouve les bactéries sous trois formes:

- *- en forme de bâtonnet; qui sont les bacilles;
- *-ou en forme de coques; ce sont les cocci;
- *- ou en petits bacilles très court de forme ovalaire : les coccobacilles.

Suivant leur biologie, on distingue:

- *- Les aérobies: qui ont besoin d'oxygène;
- *-Les anaérobies: qui ne peuvent vivre qu'en l'absence d'oxygène (BARIETY et al, 2003).

III-2- Principaux germes rencontrés

On distingue deux sortes de méningites : celles à liquide trouble et celles à liquide clair (I.P.A.) :

a) Dans les méningites à liquide trouble, les bactéries que l'on rencontre le plus souvent sont :

- méningocoque.*
- pneumocoque.*
- staphylocoque.*
- haemophilus influenzae.*
- bacille monocyanique.*
- listeria monocytogenes.*
- entérobactéries.*
- streptocoques.*

b) Dans les méningites à liquide clair les germes que l'on peut éventuellement détecter sont :

- mycobactérium tubercelosis.*
- brucella.*
- listeria monocytogenes, quelquefois.*
- leptospira.*
- treponema pallidum.*

III-3-Définition de quelques germes principales

- *Neisseria meningitidis*

Le genre *Neisseria* est constitué de cocci à Gram négatif groupés par paires. (Fig. 5)

N. meningitidis, ou méningocoque, est une bactérie fragile ne cultivant que sur les milieux riches, sous une atmosphère enrichie en CO₂. Elle possède une capsule polysaccharidique dont il existe plusieurs variétés permettant une classification en sérogroupes. Les groupes les plus fréquents sont les groupes A, B, C, Y et W135.

La méningite à méningocoque (ou méningite cérébro-spinale) survient surtout chez les enfants et l'adulte jeune. Elle s'accompagne parfois d'un purpura pétéchial. (CHARLES, 2000).

- *Staphylocoques*

Les staphylocoques sont des cocci à Gram positif qui tendent à se grouper en amas. Une espèce, *Staphylococcus aureus* (staphylocoque doré), tient une place très importante dans les infections communautaires et nosocomiales (CHARLES, 2000).

- *Haemophilus influenzae*

Les hémophiles sont des bacilles à Gram négatif qui nécessitent pour leurs croissances des milieux enrichis de sang.

Haemophilus influenzae : l'espèce la plus importante en pathologie humaine. Cette espèce est tenue pour responsable de nombreuses infections aiguës. Chez l'enfant, en particulier de méningites, et de surinfections chez les malades atteintes d'affections respiratoires chroniques (BERCHE et al, 1988).

- *Streptococcus pneumoniae*

Les pneumocoques sont des diplocoques à Gram positifs, disposés en flammes de bougie, leurs croissances se fait dans les milieux enrichis de sang (fig. 6). *Streptococcus pneumoniae* est une bactérie naturellement sensible aux antibiotiques (sauf les aminosides, résistance de bas niveau) (BELOUNI, 2000)

Ce germe peut provoquer une méningite à la suite d'une infection pulmonaire ou d'une otite (PATRICE B). Donc, il entraîne 30 à 50% des cas de méningites bactériennes chez l'adulte, 10 à 20% des cas chez l'enfant et plus de 5% chez les nourrissons (CARBONELLE et al 1990)

- *Entérobactéries*

Les entérobactéries constituent une famille de bactéries très importante comportant de nombreux genres subdivisés eux-mêmes en espèces. Ce sont des bacilles à Gram négatif dont la plus part sont mobiles, grâce à des flagelles disposés de manière périt riche. Ils cultivent facilement sur les milieux usuels et sont aéro-anaérobies facultatifs.

Les espèces les plus fréquemment rencontrées en pathologie humaine : *Escherichia Coli*, bactéries des genres *Salmonella*, *Shigella* et *Yersinia* (CHARLES, 2000).

- *Mycobactérium tuberculosis*

Il peut également provoquer des méningites, plus difficiles à diagnostiquer.

Les méningites tuberculeuses évoluent sur une longue période et ne présentent pas toujours de signes précis de localisation en dehors de l'atteinte de l'état général (fièvre, amaigrissement) (CHARLES, 2000).

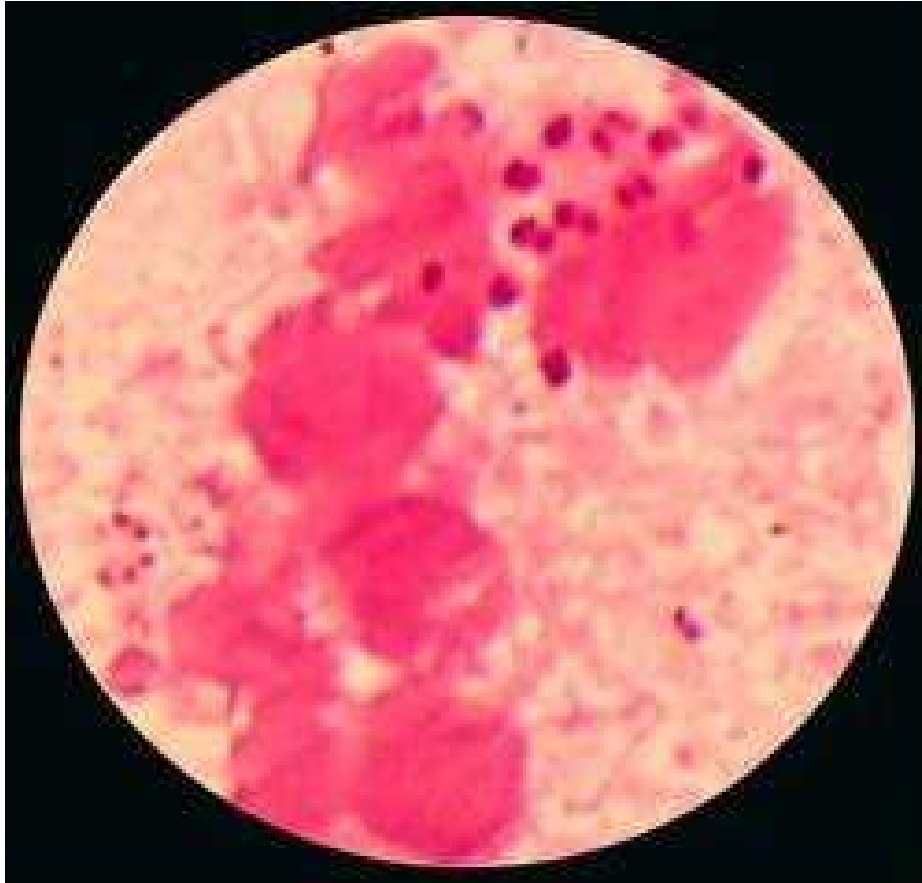


Figure 5 : Méningocoques dans un liquide céphalorachidien (coloration de gram× 1100) (BERCHE et al1988)

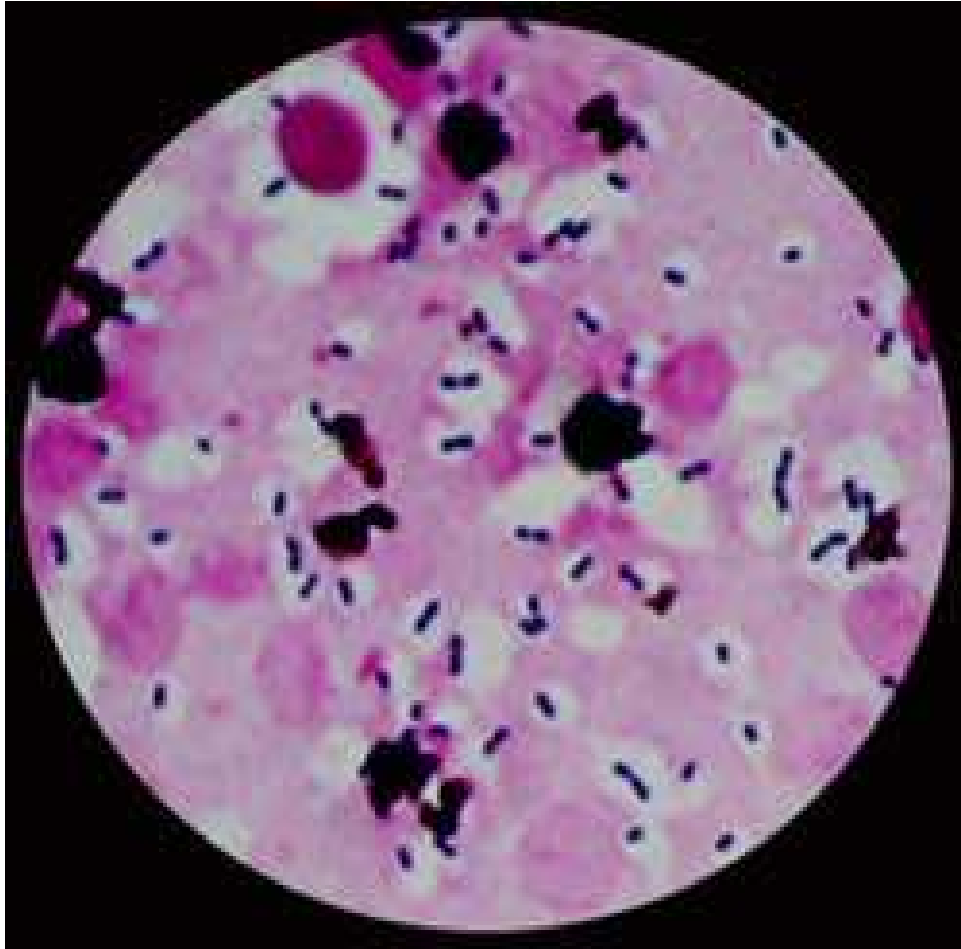


Figure 6 : Streptococcus pneumoniae dans le LCR (coloration de Gram) (BERCHE et al, 1988).

Chapitre IV

Perturbation biochimique du LCR

L'étude des protéines du LCR comprend :

- **L'étude des protéines totales** ou **Protéïnorachie** (albumine, globulines) ; elle peut être faite par de nombreuses méthodes donnant des résultats différents.

La protéïnorachie cisternale est d'environ les 2/3 de la Protéïnorachie lombaire. La Protéïnorachie ventriculaire est encore plus basse (moitié de la Protéïnorachie lombaire).

Selon l'âge, la Protéïnorachie est nettement plus basse dans les premières années de la vie (environ la moitié de celle de l'adulte), puis s'élève progressivement avec l'âge.

- **L'électrophorèse des protéines.**

Les techniques électrophorétiques utilisées pour le LCR sont celles qui ont été, au départ, mises au point pour la séparation des protéines sériques.

Il existe un très grand nombre de protéines dans le LCR (20 à 30 dans le LCR normal). Il peut exister jusqu'à 4 fractions alpha α_2 dans le LCR. (ALAIN et al, 1980).

Plus de trente protéines ont déjà été identifiées dans le LCR normal. La plupart sont du même type que celles du plasma, mais quelques-unes sont spécifiques du système nerveux.

Il est très difficile de pouvoir identifier toutes ces protéines par les techniques électrophorétiques classiques. C'est pourquoi on leur préfère maintenant les méthodes immunochimiques, bien plus sensibles et spécifiques. (SCHULLER, 1995)

Modifications pathologiques des protéines et des fractions protéiniques du LCR :

- a) L'augmentation de la préalbumine survient à chaque fois que la protéïnorachie est inférieur à 0,30g/l.

Le syndrome hypoprotéïnorachie + augmentation de la préalbumine n'a pas encore de signification diagnostique bien précise.

- b) L'augmentation de l'albumine (l'albumine du LCR de poids moléculaire de 40000, semble être uniquement d'origine sérique à l'état normal et même pathologique) pourra être en rapport avec :
 - une hémorragie dans l'espace sous-arachnoïdien.
 - Une hyper albuminémie.
 - Un blocage du flux de LCR dans l'espace sous arachnoïdien empêchant l'épuration normale du liquide.
 - Surtout une lésion de la barrière sang- système nerveux- liquide céphalorachidien avec élévation de l'albumine dans l'espace extracellulaire entourant les cellules nerveuses, puis de la diffusion dans le LCR.

c) L'augmentation de l'alpha globulines s'observe :

- Lors du développement des processus néoplasiques primitifs (gliomes) ou secondaires (métastases)
- Dans la plupart des atteintes infectieuses du système nerveux (augmentation des alpha 2).
- Plus rarement, dans les collagénoses (en association avec l'élévation des gammaglobulines).

d) L'augmentation des bêta-globulines survient au cours des maladies dégénératives, c'est-à-dire des atrophies cérébrales ou cérébelleuses, de la sclérose latérale amyotrophique, de la syringomyélie, etc.....

e) L'augmentation des gammaglobulines et surtout leur aspect qualitatif (homogénéité ou hétérogénéité de la zone gamma) permettent de distinguer les trois aspects suivants : *l'aspect monoclonal ; aspect poly clonal et aspect oligoclonal*. (ALAIN et al, 1980).

IV-2-Glucorachie

Sa moyenne normale est de 0,50g/l (de 0,40g/l à 0,85), soit 3,3 mmol/l (de 2,2 à 4,7 mmol/l). Elle varie en principe avec la glycémie: la glucorachie est égale à 50 p.100 de la glycémie (ALAIN et al, 1980).

L'hypo glucorachie se définit par une glucorachie inférieure à 0,40g/l. les principales causes sont:

- a) La méningite tuberculeuse, au cours de laquelle la normalisation de la glucorachie constitue un élément pronostique favorable; certains antibiotiques, surtout s'ils sont introduits par voie rachidienne peuvent interférer avec le dosage et masquer ainsi une hypo glucorachie ;
- b) D'autres méningites bactériennes: *méningocoque* et *pneumocoque* notamment;
- c) Les tumeurs malignes: carcinomateuses méningées, métastases, mélanomes ;
- d) La sarcoïdose méningée (piège classique avec la méningite tuberculeuse) ;
- e) L'hypoglycémie organique (hyperinsulinisme).

Quant à l'élévation anormale de la glucorachie, elle est, pratiquement toujours, le reflet d'une hyperglycémie (SERRETRICE et al.).

IV-3-Chlorure :

Le taux de chlorure du LCR exprimé :

- Soit en chlorure de sodium : le taux normale est de 7 à 7,40 g/l ou de 120 à 130 mmol/l.
- Soit en chlore : le taux normale est de 4,50 g/l ou de 127mmol/l.

Ce taux de chlorure peut augmenter dans l'Urémie et Crises convulsives. Diminution précoce dans la méningite tuberculeuse, plus tardive dans les méningites aiguës bactériennes et lymphocytaires c'est-à-dire dans les méningites purulentes (ALAIN et al, 1980).

Deuxième partie

PRATIQUE

I-1- Matériel de travail

a. Matériels

- Microscope standard ;
- Lame (porte-objet) ;
- Lamelles (couvre-objet) ;
- Centrifugeuse ;
- Spectrophotomètre ;
- Leucocytomètre (cellule de Nageotte) ;
- Etuve à 37C° ;
- Boite de Pétri.
- Pipette de Pasteur ;
- Anse de platine ;
- Distributeurs automatiques des disques d'antibiotiques.

b. Milieux de cultures

- Gélose au sang (frais et cuit): milieu d'isolement des pneumocoques ;
- Gélose de Mueller-Hinton : milieu de l'antibiogramme.
- Les galeries biochimiques : milieux pour l'identification biochimique des bactéries.
- BCP

c. 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 ;

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

I-2- Méthode

I-2-1-Zone d'étude

Touggourt, est la plus grande daïra de la willaya de Ouargla; à 650 km au Sud-est d'Alger ; et à 160km au Nord de chef lieu de la willaya.

Notre étude a été faite au niveau de secteur sanitaire de Touggourt ; E.P.H. AMIRAT Sliman, précisément au laboratoire central de biologie.

Ce service comporte :

- Une salle de réception ;
- Bureau de chef service paramédical ;
- Bureau de médecin ;
- Une salle de biochimie et d'hématologie ;
- Une salle de bactériologie.

Les examens réalisées au niveau de salle de bactériologie, sont : examen cyto bactériologique des urines, examen parasitologique et coproculture des selles, examen des prélèvements divers (pus, pertes vaginales, LCR.)

I-2-2-Prélèvement

Le diagnostic d'un certain nombre de maladies comme la méningite, la sclérose en plaque, l'hémorragie méningée, bénéficie de l'examen du LCR, obtenu par ponction lombaire.(BROOKER et al, 2001) ; cette ponction est réalisée avec une asepsie rigoureuse.

Le prélèvement est effectué le plus souvent en urgence (obligatoirement après étude du fond d'œil chez l'adulte). Le patient doit s'allonger sur un coté et courber le dos.

Le LCR est prélevé par ponction au niveau des vertèbres lombaires à l'aide d'une aiguille à ponction lombaire. Quelques centilitres de LCR sont prélevés et rapidement amenés au laboratoire pour être analysés.

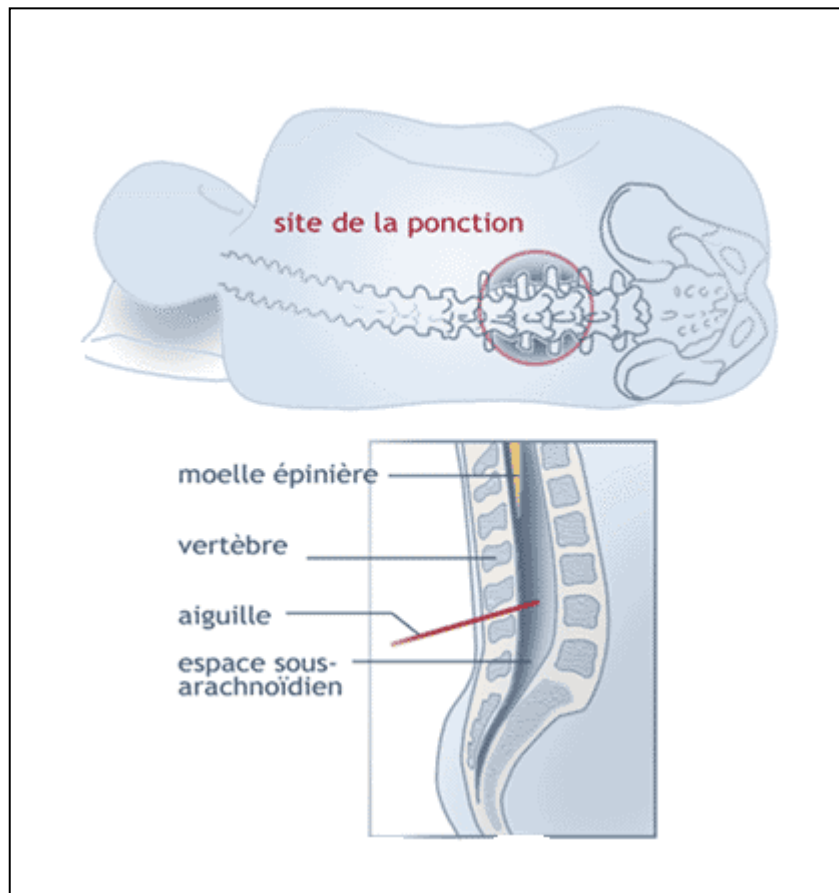


Figure 7 : Technique de la ponction lombaire (BROOKER et al, 2001.)



Figure8 : Prélèvement du LCR d'un malade adulte

I-2-3-Transport

Les prélèvements sont effectués au service de pédiatrie ou au sein des autres services (mais rarement).

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 le méningocoque.

I-2-4-Plan du travail

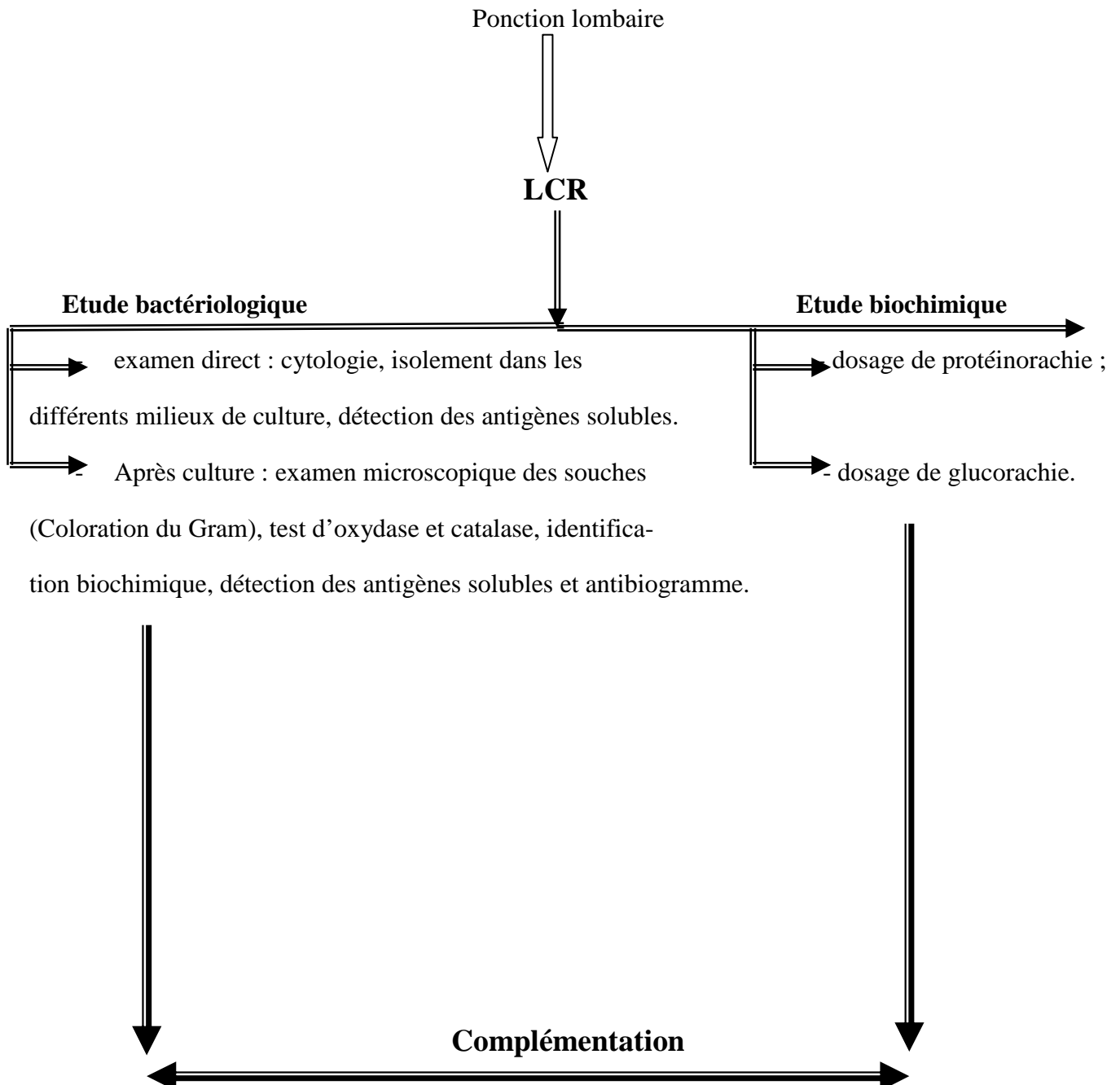


Figure 9 : Organigramme expérimental de l'analyse biochimique et bactériologique d'un LCR

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 cytot 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. (JACQUES, 2001)

II-1- Etude macroscopique

II-1-1-Etude macroscopique :

Dès la réception du prélèvement, il faut noter l'aspect « macroscopique » du liquide, le LCR est normalement clair, limpide souvent qualifié d'eau de roche, sans réticulum fibrineux. Chez l'adulte 2 à 4 éléments nucléés/mm³ ; nouveau né 5 à 20 éléments nucléés/mm³ avec absence de germe (JACQUES, 2001)

Mais cet aspect de liquide parfaitement transparent est susceptible d'être observé dans certains états pathologiques (méningite ourlienne, tuberculeuse, paralysie générale), car il faut déjà une importante réaction cellulaire pour le rendre trouble (ALAIN et al, 1980).

Cet aspect normal peut subir diverses modifications :

II-1-1-1-Liquide trouble

Cette modification est provoquée par l'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 » évocateur d'une méningite à pyogène (FAUCHER et al, 2002).

II-1-1-2-Liquide hémorragique

Il s'agit soit d'un accident de prélèvement (effraction d'un vaisseau sanguin) soit d'une hémorragie méningée. Ce problème qui est une importance clinique capital justifie le recueil du LCR dans 3 tubes successifs : en cas d'hémorragie méningée ; l'aspect du LCR est le même dans les différents tubes et le liquide ne coagule pas, alors qu'en cas de blessure vasculaire le LCR a tendance de coaguler spontanément et le 3^{ème} tube contient moins de sang que le 1^{er}. (BELOUNI, 2000).

II-1-1-3Liquide xanthochromique

De couleur jaune ; cette modification peut s'observer à la suite d'une hémorragie méningée ou au cours de certaines affections du névraxe (compression modulaire). Il faut toute fois souligner qu'une hyperprotéinorachie importante donne également cet aspect (BELOUNI, 2000).

II-1-2-Etude cytologique

Les examens microscopiques sont à effectuer sur LCR complet et sur culot de centrifugation

II-1-2-1-Cytologie quantitative

Sur le LCR complet, non centrifugé, le nombre des cellules par mm³ du liquide (leucocytes et hématies) est déterminé à l'aide d'un hématimètre: cellule de Nageotte ou cellule de Malassez

L'addition d'une goutte de solution alcoolique saturée de bleu de méthylène facilite la différenciation entre hématies et cellules nucléées par coloration du noyau des cellules.

- le liquide est dit « purulent » ; lorsqu'il existe plus de 1000 éléments par mm³ dont plus de 50% de polynucléaire ;
- le liquide est dit « lymphocytaire » ; lorsqu'il existe plus de 10 éléments par mm³ (10 à 1000 par mm³) sont en majorité lymphocytaire ;
- le liquide est dit « panaché » ; lorsqu'il existe plus de 1000 éléments par mm³ avec une égalité entre les polynucléaires et les mononuclées.

II-1-2-2-Cytologie qualitative

L'étude morphologique des éléments du LCR est une aide précieuse pour le clinicien et l'établissement de la formule à l'aide de coloration au May-Grundwall-Giemsa est obligatoire dès que le liquide est pathologique (nombre d'éléments supérieur à 10/mm³) (BELOUNI, 2000).

Donc à partir du culot de centrifugation de LCR ; des frottis sont préparés sur 03 lames différentes par cyto-centrifugation.

Une lame sera colorée au May-Grundwall-Giemsa et permettra d'établir la formule leucocytaire. Les deux autres seront colorées par la méthode au bleu de méthylène et au Gram, pour mettre en évidence des bactéries banales.

« Comme l'agent de la méningite bactérienne s'observe fréquemment dans un frottis colorés au Gram. Cet examen extrêmement important, permet de détecter la présence des bactéries et d'apprécier la morphologie et la situation intra ou extra leucocytaire » (BRECHE et al, 1988, VANDEPILLE et al, 1994).

II-2- Mise en culture

Elle doit être effectuée quelque soit le résultat de l'examen microscopique (la cytologie) c'est-à-dire même dans le cas d'un résultat négatif. On peut considérer deux types de situations suivant les résultats de l'examen microscopique du prélèvement (étude cytologique, coloration de Gram...) confrontés aux données cliniques, (orientation diagnostique) lesquelles orienteront le type de mise en culture (systématique ou orientée).

II-2-1-Isolement sur différents milieux de culture

C'est la première étape systématique pour tout LCR.

Les LCR sont ensemencés dans des milieux permettant la croissance des bactéries incriminées des méningites purulentes. A titre indicatif :

- Gélose au sang cuit « gélose chocolat » ; supplémentée ou non en facteurs de croissance (hormone, nicotinamide, adénine dinucléotide, vitamines...), incubé à 37°C sous une atmosphère de 5 à 10 % de CO₂.
- Gélose au sang frais (10% de sang) qui sera incubés sous atmosphère anaérobie contenant 5 à 10% CO₂ ;
- Une gélose nutritive ; incubée à 37°C en aérobiose.
- Gélose Hektoen ou BCP ; incubée en aérobiose à 37°C.

Les culturesensemencées dans ces milieux sont observées après 18 h à 48 h d'incubation à 37°C.

REMARQUE : la composition de ces milieux est motionnée dans les annexes.

II-2-2-Enrichissement des LCR dans bouillon prélevé

On procède à un enrichissement d'une quantité de LCR prélevé dans un tube de bouillon glucose tamponne « B.G.T. », augmentant ainsi les chances d'isoler le germe pathogène. Le tube est incubé à 37°C pendant 24 heures.

-*Lecture de l'enrichissement* : un bouillon trouble traduit un enrichissement positif.

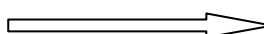
II-2-3-Recherche de la catalase et de l'oxydase

- *Test de la catalase :*

Ce test permet la différenciation en les Staphylocoques catalase (+) et les Streptocoques catalase (-), qui poussent sur les géloses nutritives, géloses au sang frais et au sang cuit.



Ce test se réalisé sur une lame :

- prélever une colonie et la déposer sur une lame stérile;
- ajouter une goutte d'eau oxygénée (H₂O₂) à concentration de 30%, sur la colonie ;
- observer le dégagement immédiat de gaz  test positif

- *Test de l'oxydase :*

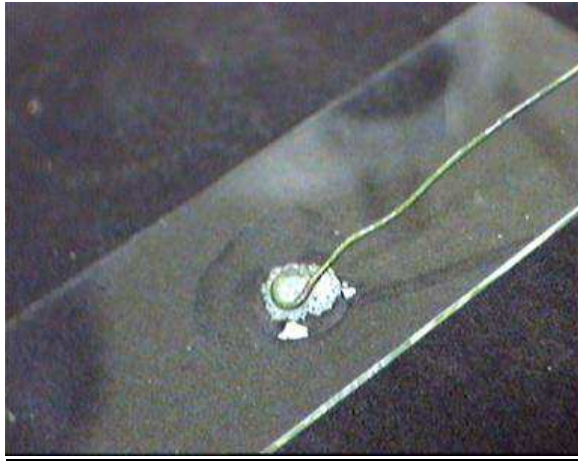
Ce test est essentiel pour orienter l'identification des bacilles et coques gram (-).

Le réactif utilisé est le chlorhydrate ou l'oxalate de N- diméthyl paraphénylène diamine (PDA). On peut utiliser ce réactif en solution mais le plus souvent on utilise des disques imprégnés de ce réactif (disques oxydases).

Ce test est réalisé sur une lame :

- on dépose le disque d'oxydase, sur la lame de verre stérile
- on prélève des colonies avec une pipette pasteur boutonnée avec laquelle on les écrase sur le disque.
- Si la disque présente une tache violette : le PDA a été oxydé, la bactérie possède une oxydase.

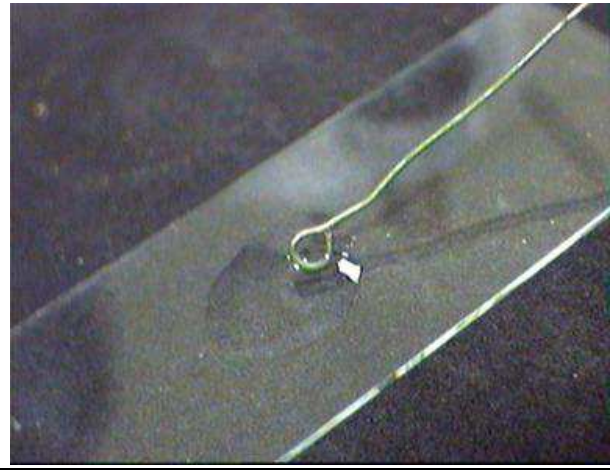
(Les photos de ces deux tests sont dans l'annexe)



Apparition de bulles d'oxygène.

La bactérie possède une catalase

Elle est dite catalase (+)

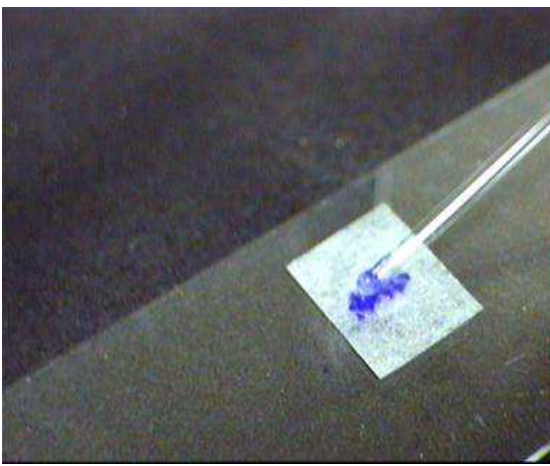


Pas d'apparition de l'oxygène.

La bactérie ne possède pas de catalase

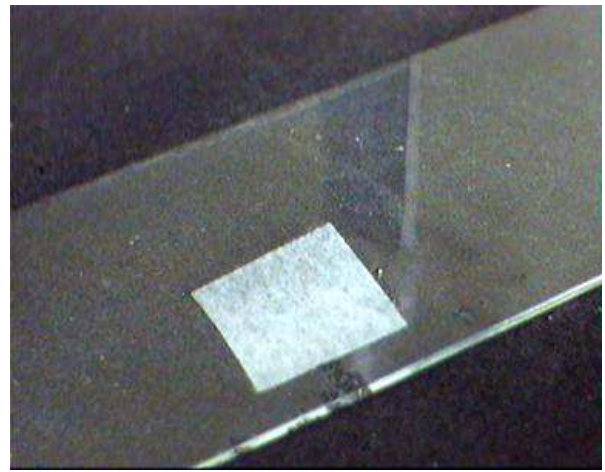
Elle est dite catalase (-)

Test de la catalase : catalase (+) à gauche, catalase (-) à droite



Oxydase (+), le PDA est oxydé

Donc la bactérie possède une oxydase.



oxydase (-), le PDA reste réducteur

Donc la bactérie n'a pas une oxydase.

Test de l'oxydase : (+) à gauche, (-) à droite.

II-3-Examen microscopique des souches (*coloration du Gram*)

A partir des colonies suspectées isolées précédemment sur les milieux de culture utilisées, on a réalisé une coloration de Gram à fin d'apprécier le gram de bactéries, mais aussi leur mode de regroupement.

Principe de la coloration

- Faire un frottis et le fixer, recouvrir la lame de violet de Gentiane pendant une minute ;
- Laver à l'eau distillée, recouvrir la lame d'une solution du Lugol (30 secondes) ;
- Rejeter la solution, et recouvrir une autre fois par le Lugol (30 secondes) ;
- Laver à l'eau distillée, décolorer à l'éthanol (alcool) pendant 10 à 20 secondes ;
- Laver rapidement à l'eau distillée, et recouvrir par quelques gouttes (4 à 6 gouttes) de Fuschine phéniqué (30 secondes à 1 minute) ;
- Laver à l'eau distillée, sécher entre deux papiers buvard ;
- Observer à l'immersion (objectif 100 ×) et à pleine lumière avec une goutte d'huile de vaseline.

Cette coloration différencie les bactéries Gram positif et négatif :

- *Neisseria méningitidis* : cocci à gram négatif, se présentant sous forme de coques asymétriques groupées par deux (grains de café) ;
- *Streptococcus pneumonie* : aspect en diplocoques, en flamme de bougie, en 8 et en courtes chaînettes, capsulées à Gram positif ;
- *Haemophilus influenzae* : coccobacilles ou bacilles à Gram négatif ;

II-4- Identification bactériologique (*en fonction des germes trouvés*)

Dans cette identification on va étudier (Tableau 04) :

- Les caractères morphologiques ;
- Les caractères cultureux ;
- Les caractères biochimiques.

II-5- Détection des antigènes solubles (par la méthode de latex)

La recherche par les techniques immunologiques des antigènes solubles libérés par le germe au cours de l'infection dans les liquides biologiques (notamment le LCR) permet un diagnostic plus rapide que les autres techniques d'identification par culture.

Les Matériels solubles recherchés au moyen de cette méthode sont des polysaccharides spécifiques (oligosaccharides ou glycoprotéines) de sérogroupes ou de sérotypes : *Streptococcus pneumoniae*, *Haemophilus influenzae* de type b, *Neisseria meningitidis* groupe A, groupe B/ E. Coli K₁, groupe C, groupe Y/ W135 et *Streptococcus* groupe B.

❖ Principe : l'antigène présent dans l'échantillon testé est identifié à l'aide de particules de latex recouvertes d'anticorps spécifiques. Ces particules s'agglutinent fortement en présence de l'antigène homologue alors qu'elles restent en suspension homogène en l'absence de celui-ci.

❖ Mode opératoire :

Dans le cas d'un LCR trouble ou présentant une quantité importante de globules rouges ; le centrifuger durant 5 minutes à 350g et recueillir le surnageant ;

- chauffer l'échantillon 3mn à 100°C (bain marie) ;
- laisser refroidir à température ambiante puis centrifuger 5 mn à 3000g ;
- déposer une goutte de 40 à 50 µl de surnageant dans chaque cercle de carte jetable ;
- bien homogénéiser les réactifs latex, puis déposer une goutte de chaque réactif latex sur la carte jetable suivant la répartition indiquée ;
- mélanger les latex à échantillon au moyen d'un bâtonnet en changeant de bâtonnet pour chaque latex ;
- donner à la carte un mouvement de rotation pendant (6 à 10 mn) ;
- observer dans ce délai de 10 minutes, l'apparition éventuelle d'une agglutination. L'lecture à l'œil nu et sous un bon éclairage.

II-6- L'antibiogramme : (selon la méthode NCCLS, recommandation de l'IPA)

L'examen des colonies, le Gram, l'oxydase et la catalase permet de préciser l'orientation diagnostique qui détermine le choix de la galerie d'identification à ensemencer, les choix des techniques d'étude de la sensibilité aux antibiotiques et les méthodes de typage à mettre en oeuvre.

Pour réaliser l'antibiogramme par la méthode des disques, la culture bactérienne est effectuée à la surface d'une gélose spécialement conçue ; la gélose au sang cuit pour la Streptocoques ; et pour les Haemophilus, la gélose de Mueller-Hinton pour les restes. Les disques pré imprégnés d'une dose connue d'antibiotique, sont déposés à la surface de la gélose. L'antibiotique diffuse à partir du disque en créant un gradient de concentration. La détermination du diamètre de la zone d'inhibition permet une estimation de la concentration minimale inhibitrice (CMI).

Donc, la souche étudiée peut alors être classée en sensible (S), intermédiaire (I) ou résistante (R) en comparant le diamètre d'inhibition au diamètre critique.

REMARQUE la technique de l'antibiogramme par diffusion est mentionnée dans une fiche technique dans l'annexe.

Elle consiste à déterminer la protéinorachie, la glucorachie et la chlorurorachie.

L'inflammation des méninges entraîne des modifications de la barrière hémato-méningée et il en résulte un passage plus important des substances plasmatiques dans le LCR ainsi :

- La protéinorachie est augmentée ;
- La glucorachie est souvent modifiée, car la présence des 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'hypochlorurorachie est habituelle dans les méningites tuberculeuses (BELOUNI, 2000, et FAUCHER, 2002).

III-1- Dosage des protéines totales du LCR

Ce dosage présente des difficultés particulières en raison de la faible concentration des protéines dans le LCR. Il n'existe pas de méthode de référence répondant à tous les critères exigés : précision, exactitude, linéarité, sensibilité et spécificité. On propose une méthode qui est au rouge de pyrogallol (la même méthode de dosage pour les protéines urinaires « protéine de 24h »).

Principe :

Les protéines fixent le rouge de pyrogallol en présence de molybdate pour former un complexe coloré.

Réactifs :

- Rouge de pyrogallol 60 μ mol / L
- Molybdate de sodium 40 μ mol / L
- Oxalate de sodium 1,04 mmol / L
- Benzoate de sodium 3,47 mmol / L
- Méthanol 01 mmol / L
- Acide succinique 50 mmol / L

Etalon :

- Albumine / globulines 01 g/L
- Valeurs normales : 80 – 320 mg/L

Mode opératoire :

Mélanger et lire la densité optique (DO) après 5 minutes d'incubation.

- Longueur d'onde 598 nm
- Température : 37°C, 30°C, 25°C
- Cuve : trajet optique 1 cm

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

- Calcul en g/l : $\frac{\text{DO dosage}}{\text{DO étalon}} \times \text{concentration de l'étalon en g/l}$

III-2- Dosage du glucose : glucorachie

Toutes les méthodes classiquement employées pour doser la glycémie sont applicables à la détermination de la glucorachie.

La glucorachie doit être déterminée très rapidement et dès réception du prélèvement.

L'hyper glucorachie franche n'est observée en pratique qu'en cas d'hyperglycémie. Pour être significatif, le dosage du glucorachie doit être réalisé simultanément avec celui du sang.

On propose la méthode à glucose oxydase.

Principe :

En présence de glucose oxydase, le glucose est oxydé en acide gluconique. L'eau oxygénée, libérée au cours de la réaction, réagit sous l'action de peroxydase, avec le phénol et l' amino-4-phénazone, pour former un complexe rose. L'intensité de la coloration est proportionnelle à la concentration en glucose.

Réactifs :

- Flacon R1 Tampon enzymes
- Flacon R2 Phénol
- Flacon R3 Etalon G/L (5,55 mmol/L)

Dissoudre le contenu d'un flacon R1 avec 500ml d'eau distillée. Ajouter le contenu d'un flacon R2.

Mode opératoire :

Mélanger, laisser reposer 15 minutes à 37°C ou 30 minutes à température ambiante. Lire à 500 nm (470 – 560) contre le blanc réactif.

Mesurer dans des tubes à essais :	Dosage	Etalon	Blanc
Echantillon	10 µl		
Etalon		10 µl	
Mélange réactif	1 ml	1 ml	1 ml

- Calcul : $\frac{\text{DO dosage}}{\text{DO étalon}} \times \text{concentration de l'étalon.}$

Troisième partie

RESULTATS ET DISCUSSION

Pendant la période de travail qui débute en Mars et finie à Septembre, 61 prélèvements ont été effectués au niveau de l'EPH de Touggourt.

Seulement 12 prélèvements ont été pris en considération, car pour le reste des prélèvements le taux de protéines (protéïnorachie) n'a pas été faite par manque de réactif.

Les résultats de 12 prélèvements effectués sont présents dans le tableau N°5.

1- Résultat

1-1-Examen macroscopique

Parmi les 61 prélèvements reçues dans laboratoire ;

- ◆ Aspect clair : 39 prélèvements.
- ◆ Aspect hémorragique : 13 prélèvements

Un seul prélèvement a été acheminé pour chaque cas.

- ◆ Aspect xanthochromique : 04 prélèvements
- ◆ Aspect trouble : 05 prélèvements

1-2-Examen cytologique : tous les prélèvements reçus sont soumis un examen cytologique ;

Donc seulement 12 prélèvements ont été pris en charge dans notre étude

1-2-1- Cytologie quantitative : l'étude quantitative a permis de déterminer le nombre des éléments présents dans le LCR. (Tableau 5)

- 5 Prélèvements sur 12 cas sont revenus à liquide trouble (Tableau 6)
- 7 autres prélèvements à liquide clair ou hémorragique avaient un taux de leucocytes variant entre 01 à 355 éléments

L'équilibre leucocytaire n'a pas été fait pour 2 prélèvements

Les 5 prélèvements restant l'équilibre leucocytaire a montré une prédominance lymphocytaire en faveur d'une méningite virale.

*Pour les 7 cas la culture est revenue négative.

1-2-2- Cytologie qualitative : Réalisation d'un frottis coloré sur les 5 prélèvements à liquide trouble

LCR est centrifugé à 1000 tours pendant 3 min pour une préparation d'un Gram à partir de ce culot

La coloration de Gram a permis de faire une différenciation entre les bactéries

Gram (+) : coloration en violet

Gram (-) : coloration rose

Les résultats de cette coloration sont représentés dans le tableau 6.

- 3 germes ont mis en évidence :

Cocci Gram (+): en faveur d'un streptocoque pneumoniae

Cocci Gram (-) : en faveur d'une : *Neisseriae meningitidis*

Coco bacille Gram (-) : en faveur d'un *Haemophilus influenzae*.

1-3- Examen direct de la détection des antigènes solubles : (Tableau 6.)

La détection des antigènes solubles par la méthode de Latex est réalisée pour les 5 LCR troubles ;

Dans les 3 premiers agglutination franche avec l'antigène capsulaire :

- *Streptococcus pneumoniae*,

- *Haemophilus influenzae*

- *Neisseriae meningitidis* de type A.

Mais dans les 2 restants agglutination fine avec l'antigène :

- *Neisseriae meningitidis* de type B.

- *Haemophilus influenzae* type b.

1-4-Résultat et discussion des cultures (Tableau 4)

Pendant la période d'étude, nous avons pu identifier bactériologiquement 04 de germes :

- *Streptococcus pneumoniae* ;
- *Haemophilus influenzae* ;
- *Neisseria meningitidis* : de type A et de type B.

❖ **Caractères culturels** : (en fonction des germes identifiés)

- *Streptococcus pneumoniae* : - culture positive sur GSC et GSF.

- petites colonies transparentes rondes de 0,5 à 1,5mm.

- Apparition d'hémolyse α à température ambiante.

- *Haemophilus influenzae* : - culture : - Positive sur GSC

-Négative sur GSF

- colonies lisses rondes à bord régulier bombé.

-
- *Neisseriae meningitidis* : - culture positive sur GSC + suppléments poly vitaminiques
 - colonies jaunâtres de 0,5 à 1 mm de diamètre.

❖ Examen microscopique après coloration du Gram des colonies de cultures

A montrer :

- *Streptococcus pneumoniae* : diplocoques en flamme de bougie Gram (+) (coloré en violet)
- *Neisseriae meningitidis* : grain de café Gram (-) (coloré en rose).
- *Haemophilus influenza* : des petites Coco bacilles Gram (-) (coloré en rose)

❖ Résultat de bouillon d'enrichissement

On dit que l'enrichissement est positif, si le bouillon est trouble

Le seulement pour le pneumocoque le bouillon revenu trouble.

❖ Identification biochimique (Tableau 4)

Suite à l'isolement de germes en culture ; l'identification microscopique et après coloration du Gram ; un ensemble de test a été fait pour cette identification : (tableau n4)

- *Streptococcus pneumoniae* : catalase (-) ; sensibilité à l'optochine
- *Haemophilus influenzae* : phénomène de satellisme avec une strie de Staphylocoques, ODC (+), urée (+) ; indole (+)
- *Neisseriae meningitidis* : on a utilisé un kit de *Neisseriae meningitidis* qui permet de mettre en évidence :

*hydrolyse des glucide : GLU+, MAL +, FRU-, SAC-

* ONPG (-) ; Tributyrine (-) ; γ GT (+).

*Réduction des : NO₃ (-), NO₂ (-)

*Synthèse de polysaccharides en 24h (-)

*Croissance sur milieu sélectif (+)

*Pigmentation des colonies (-)

*Le complexe soluble qui nous donne le type A ou B.

Tableau 4 : Identification bactériologique de différents germes trouvés durant la période de travail

	Caractères morphologiques	Caractères culture	Caractères biochimiques
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	<ul style="list-style-type: none"> - Cocci Gram (+) - Aspect : sur gélose diplocoques en flamme de bougie ; au bouillon est en 8 et de courte chaînette. 	Sur GSC petites colonies transparentes rondes de 0,5 à 1,5 mm de diamètre, apparition d'une hémolyse α à température ambiante.	<ul style="list-style-type: none"> - Catalase (-) ; - Sensibilité à l'optochine.
<i>Haemophilus influenzae</i>	<ul style="list-style-type: none"> - Petit bacilles court ou coccobacille - Gram (-) 	Apparaît en GSC Colonies lisses ronde à bord régulier bombée.	<ul style="list-style-type: none"> - phénomène de satelisme avec une strie de staphylocoque - ODC (+) - Urée (+), indole (+)
<i>Neisseria meningitidis</i>	<ul style="list-style-type: none"> - Cocci Gram (-) - Pousse au GSC + supplément polyvitaminique - Aspect en grain de café 	Colonies jaunâtres de 0,5 à 1 mm de diamètre.	<p>Identification faite par un Kit de <i>N. meningitidis</i> :</p> <ul style="list-style-type: none"> - hydrolyse des glucide : GLU+, MAL +, FRU-, SAC- - ONPG - - Tributyrine - - γ GT + - Réduction des : NO3 -, NO2 (-) - Synthèse de polysaccharides en 24h - - Croissance sur milieu sélectif + - Pigmentation des colonies - - Le complexe soluble qui nous donne le type A ou B

Tableau 5 : Résultat de l'étude de 12 prélèvements effectués dans la pratique

Taux des éléments / mm ³	Aspect de liquide	Taux de glucorachie	Taux de protéinorachie	Résultat de culture
186 79% lymphocytes	hémorragique	0,93	0,71	Négative
150 100% lymphocyte	claire	0,52	0,42	Négative
355 100% lymphocyte	claire	0,72	0,17	Négative
20	claire	0,51	0,26	Négative
1	Claire avec quelques hématies	0,64	1,31	Négative
400	claire	0,57	1,15	Négative
2	claire	0,52	0,10	Négative
320 90% neutrophiles	Trouble	0,13	1,63	Positive : <i>Streptococcus pneumoniae</i>
4560 100% neutrophiles	Trouble	0,41	1,77	Positive : <i>Haemophilus influenza</i>
192 70% neutrophiles	Faiblement trouble	0,34	0,56	Positive : <i>N.meningitidis</i> de type A
587 80% neutrophiles	Trouble	0,43	1,67	Positive : <i>N.meningitidis</i> de type B
273 70% neutrophiles	Trouble	0,57	1,07	Positive : <i>Haemophilus influenza</i>

Tableau 6 : Etude cyto bactériologique et biochimique de 05 cas de liquide trouble

N°	Aspect de liquide	Age	Taux d'élément/mm ³	Glycorachie	Protéinorachie	Résultat de latex	Résultat de culture
01	Trouble	02 mois	320 90% neutrophile	0,13	1,63	Franche agglutination	Positive sur GSC, GSF Cocci gram (+)
02	Trouble	08 mois	4560 100% neutrophiles	0,41	1,77	Franche agglutination	Positive sur GSC, coccobacilles gram (-)
03	Faiblement trouble	09 mois	192 70% neutrophiles	0,34	0,56	Franche agglutination dans le type A de <i>N.méningitidis</i>	Positive sur GSC cpv, diplocoque gram (-)
04	Trouble	07 jours	587 80% neutrophiles	0,43	1,67	Fine agglutination dans le type B de <i>N.méningitidis</i>	Positive Cocci gram (-)
05	Trouble	11 mois	273 70% neutrophiles	0,57	1,07	Fine agglutination	Positive Coccobacille gram (-)

2-Etude statistique

2-1-Nombre de cas

L'étude a été réalisée au niveau de laboratoire de l'hôpital AMIRAT Slimane, on a reçu 61 prélèvements pendant les 07 mois de stage pratique (Mars à la fin Septembre.)

La majorité des prélèvements sont faits chez des enfants, donc acheminé par le service de pédiatrie.

Sur 56 prélèvements non troubles, on a dosé le glucorachie mais par manque de réactif, le dosage de la protéinorachie n'a pas été fait pour tous les prélèvements.

Pour cela seulement 12 prélèvements seront pris en considération pour notre études dont 5 a liquides troubles et 7 a liquides claire

2-2-Résultats et discussion

➤ Identification des germes

La précocité de l'ensemencement des prélèvements nous a permis d'identifié les germes en causes pour les méningites a liquide trouble.

Donc 41,66% des méningites dans notre étude se sont révélé d'origines bactériennes

En effet :

- 5 germes ont été identifiés dont 3 genres :
 - *Streptococcus pneumoniae*
 - *Haemophilus influenza* type b
 - *Neisseiriae meningitidis*
 - L'utilisation des antigènes solubles a permit d'étayer ces résultats avant et après culture
 - Enfin l'utilisation de Kit de *Neisseiriae* a été d'un grand apport pour le diagnostic de ce germe qui est un germe très sensible
- Relation entre perturbation biochimique du LCR et les germes causale

Dans notre étude :

On remarque que le taux de la glucorachie et de protéinorachie varie en rapport avec la littérature sans spécificité pour un germe par rapport à un autre.

Donc : -une diminution de glucorachie;

- une augmentation de protéinorachie.

conclusion

La méningite cérébrospinale occupe la première place parmi les méningites purulentes bactériennes, elle sert à l'état endémo épidémique avec des flambées épidémiques tous les 8 à 10 ans environ.

L'étude de la ponction lombaire est un exemple d'analyse dont les résultats pèsent lourd dans l'orientation du traitement donc dans l'évolution de l'infection.

Ce type d'infection est sévère et le traitement initial qui conditionne largement l'évolution doit être institué dans les heures qui suivent l'apparition des signes cliniques.

Les résultats de l'examen cytbactériologique sont déterminants pour le choix du traitement initial.

Notre étude faite à l'hôpital de Touggourt a montrée que 58 % des méningites étaient d'origines virales, les 42% restant qui étaient d'origine bactérienne n'as pas révélé de spécificité bactérienne particulière par rapport aux variations glucorachique ou protéinorachique.

Par contre l'utilisation des complexes solubles a été d'une grande aide pour le diagnostic précoce de ce type d'infection donc dans l'orientation précoce du traitement.

Références bibliographiques

-
1. **ALAIN B. B., BERNARD M., 1980** : Dictionnaire des substances biologique et physique (application clinique et exploration para clinique). 5^{ème} édition, Paris. Pp. 214 - 224
 2. **BARIETY M., BARIETY M. J. C., et Robert B. ,2003** : Sémiologie Médicale. pp.35.
 3. **BELOUNI R., TALIMAAMAR H., et RAHAL K. ,2000**: Etude cyto bactériologique et biochimique du liquide céphalorachidien. Edition de l'Institut PASTEUR d'Alger. Pp. 7, 9, 10 – 16.
 4. **BERCHE P., GAILLARD J.L. et SIMONET M., 1988** : Bactériologie : bactéries des infections humaines. 1^{ère} édition, Paris.
 5. **BROOKER C., LANGLOIS-WILS I., 2001**: Le corps humain étude, structure et fonction. Edition ESTEM. Paris. pp.84
 6. **CARBOUNELLE B., DENIS F., MARMONIER A., VARGUE R., 1990**: Bactériologie médicale : techniques usuelles. Paris. Pp.47
 7. **CHARLES N., 2000**: Bactériologie médicale. 6^{ème} édition. Paris.
 8. **DUPEYRON C., 1995** : Développement et santé. Edition l'AMARRE. Paris. Pp.117.
 9. **ELSEVIES M., 2007** : Urgences et soins intensifs pédiatriques. 2^{ème} édition. Paris.
 10. **FAUCHER J L., AVRIL JL., 2002** : Bactériologie générale et médicale. Edition de ELLIPSES, Fance. Pp. 199, 234, 289.
 11. **GALMAND M., 1998** : The new England Journal of medicine . London.
 12. **GOUST F., 1979** : La médecine pour tous. Edition LAROUSSE. Paris. pp. 643.
 13. **Institut Pasteur d'Alger (I.P.A.), 1988** : Microbiologie appliquée : Diagnostic bactériologique direct des affection bactériennes. Alger.
 14. **JACQUE B. L., 2001** : Le technicien d'analyses biologiques – Guide théorique et pratique. Paris
 15. **KERNBAUM S. 1982** : Eléments de pathologie infectieuse. L'hôpital. Claud-Bernard. Paris.
 16. **KUBAB N., HAKAWATI I., et ALAJATI K., 1994** : Guide des examens biologiques. Edition l'AMARRE. Paris. Pp. 47
 17. **MARCHAL N., BOURDON J.L., RICHARD 1991** : Les milieux de culture pour l'isolement et l'identification biochimique des bactéries, biologie appliquée. Paris.
 18. **MULLER C., 1998** : Mémento : Les examens de laboratoire. Paris. Pp.197 -201.
 19. **Organisation Mondial de la Santé (O.M.S.), 1994** : Manuel des techniques de base pour le laboratoire médicale. Paris .

-
20. **PATRICE B., 2002** : Modulo pratique : Maladies infectieuses. Edition de ESTEM. Paris. Pp. 66 -69.
 21. **PEBRET F., 2003** : Maladies infectieuses. France. Pp.171, 174, 208, 564
 22. **RENE C., 2004** : 250 Examens de laboratoire : Prescription et interprétation .9^{ème} édition. Paris.
 23. **SCHULLER E.** (Laboratoire de neuroimmunologie, hôpital de la Salpêtrière. Paris) : les protéines du liquide céphalorachidien et les maladies immunitaires du système nerveux.
 24. **SERRETRICE et autres** : les examens complémentaire en neurologie. Pp. 65- 66- 67.
 25. **SMELTZER S., GBARE B., LILLIAN S. 2006** : soins infirmiers, Médecine et chirurgie. Pp. 236.
 26. **TORTORA G., 2002** : Principe d'anatomie et de physiologie ; Deboek Université. 3^{ème} édition. Canada.
 27. **VANDEPILLE J., ENGBAEK K. 1994** : Bactériologie clinique : Techniques de base pour laboratoire, Organisation mondiale de la santé. Pp. 26 – 30.
 28. **VITTORIO F. ; OTTO R., 2006**: Vademmecum clinique du diagnostic au traitement. Pp. 675. La 16^{ème} édition, Paris
 29. **WASZH O., GENZ H., LANDMAM H. 1988**: Influence de la vaccination des nouveaux-nés par BCG sur l'incidence des méningites tuberculeuses post-primaires chez l'enfant. France. Pp52, 54, 63.

Annexe

A. Compositions et caractéristiques des milieux de culture utilisés

1. Gélose nutritive (GN)

Milieu GN	Formule en g/l d'eau distillée
	Peptone10g
	Extrait de viande5g
	Chlorure de sodium5g
	Gélose15g
PH	7,2
Caractéristiques	<ul style="list-style-type: none">○ Milieu d'isolement courant○ Utilisé pour la culture des germes non exigeantes○ Répartie en boîtes de Pétri

2. Gélose au sang (GS)

Milieu de base pour la gélose au sang	Formule en g/l d'eau distillée :
	Protéose peptone15g
	Extrait de foie2,5g
	Extrait de levure5g
	Chlorure de sodium5g
	Gélose12g
PH	7,4
Préparation	<ul style="list-style-type: none">○ Liquéfier le milieu de base○ Laisser refroidir au bain d'eau entre 45°C et 50°C○ Ajouter stérilement, la quantité nécessaire de sang permettant d'obtenir une concentration finale de 5 à 10%○ Bien homogénéiser le mélange○ Pour la gélose au sang cuit : après homogénéisation, les flacons sont portés à 10 mn au bain Marie à 75-80 °C○ Couler en boîtes de Pétri

3. Mueller-Hinton (MH)

Milieu Muller- Hinton	Formule en g/l d'eau distillée
	Infusion de viande du bœuf300g
	Peptone de caséine17,5g
	Amidon1,5g
	Gélose17,5g
PH	7,4
Caractéristiques	<ul style="list-style-type: none"> ○ Gélose standardisée pour la réalisation de l'antibiogramme ○ Permettant de tester l'action des antibiotiques sur les bactéries ○ Peut être additionnée de sang (pour les streptocoques) ○ Coulée en boites de façon à obtenir une épaisseur de 4mm

4. Gélose Hecton (HN)

Milieu gélose Hecton	Formule en g/l d'eau distillée
	Protéase peptone12g
	Extrait de levure03g
	Chlorure de sodium05g
	Salicine02g
	Lactose12g
	Saccharose12g
	Gélose14g
PH	7
Caractéristique	<ul style="list-style-type: none"> ○ Milieu d'isolement des entérobactéries ○ La présence d'extrait de levure et de sucre, la qualité des peptones favorisent la croissance des Salmonelles et des shigelles même fragile.

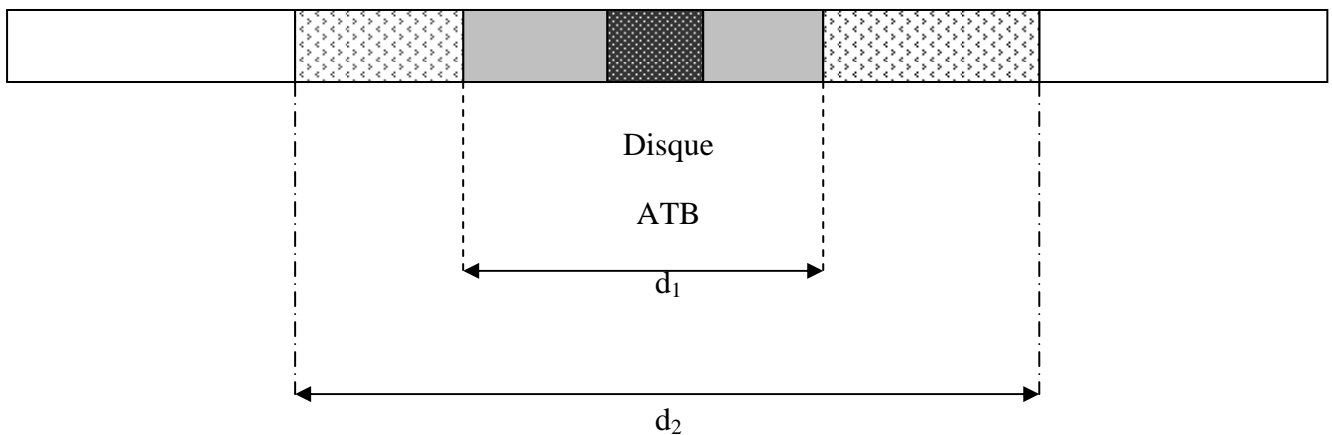
5. Gélose lactose au bromocrésol pourpre (BCP)

Milieu BCP	Formule en g/l d'eau distillée Peptone5g Extrait de viande3g Lactose10g Agar15g Pourpre de bromocrésolé0,025g
PH	7
Caractéristique	<ul style="list-style-type: none">○ Milieu non selectif○ Milieu d'isolement des entérobactéries○ Permet une différentiation entre entérobactéries Lactose Positif et entérobactéries Lactose Négatif○ Milieu utiliser coulée en boites

B. Fiche technique de l'antibiogramme par diffusion

Selon la méthode NCCLS

- Milieu de Muller – Hinton gélosé (épaisseur 4 mm) ;
- Inoculation : À partir de l'ensemencement, réaliser une suspension bactérienne légère ;
- Ensemencement par écouvillonnage : Frottant délicatement l'écouvillon sur la gélose, tourner la boîte de façon à croiser les stries ;
- Application des disques : Des disques individuels en papier absorbant de diamètre 6mm présentés en cartouches, sont appliqués sur la gélose par un distributeur.
- Incubation : les boîtes sont placées à l'étuve à 37°C pendant 24 heures ;
- Lecture :
 - Vérifier la pureté de la souche
 - Mesurer les diamètres d'inhibition (d) ;
 - Les reporter sur un abaque de concordance pour les comparer aux diamètre critiques (d_1 et d_2)
 - Interpréter en S ($d \geq d_2$) , I ($d_2 > d \geq d_1$) ou R ($d < d_1$)



C. Différents syndromes biologiques observés après étude des paramètres biochimiques, cytologiques et bactériologiques (VANDEPILLE J., 1994)

	LCR Normale	Méningite purulente	Méningite tuberculeuse	Méningite virale	Méningite leucosique
Aspect	eau de roche	trouble	claire	claire	louche
Protéine g/l	0.20	2 ou 3 ou plus	<1	<1	<1
Glucose g/l	0.50-2.80	↘ Ou disparu	↘↘	Voisin de la normal	↘ Ou disparu
Chlorures mg/l	120	normaux	Diminuées	normaux	Normaux ou ↘↘
Cellules /mm ³	2	>1000	100 - 500	Environ 100	Environ 100
Types cellulaires	Mononuclées	Polynucléaires	Lymphocytes	Lymphocytes	Cellules leucosique
Présence de bactéries examen direct	Néant	Présentes	Eventuellement présentes après coloration de Ziehl	Néant	Néant
Présence de bactéries après culture	Néant	Présentes	Présentes sur de milieu de Janson	Néant	Néant

Quelque photo de résultats de cultures et de la méthode de Latex

➤ Photo du 1^{er} cas : *Streptococcus pneumoniae*

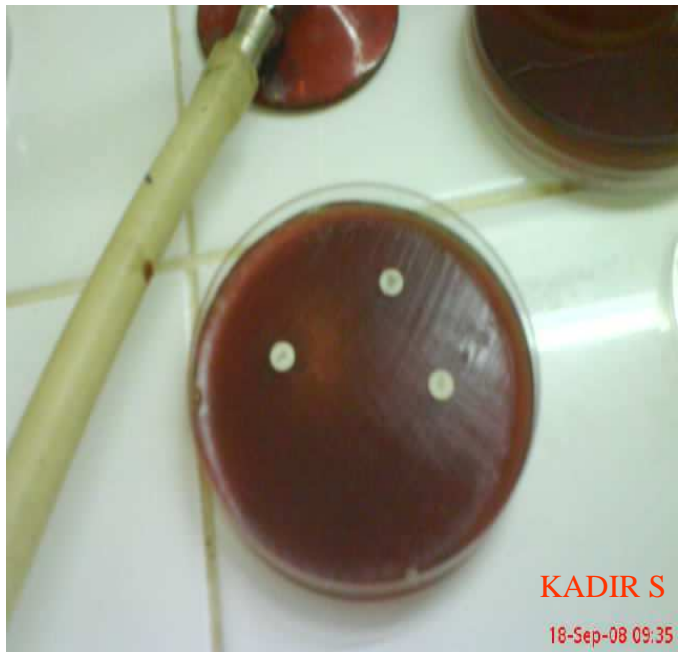


Repiquage sur GSC



Détection des Ag solubles par la méthode de Latex

Antibiogramme



➤ photo de 2^{ème} cas : *Haemophilus influenzae*



Aspect de liquide trouble



Culture de *H.influenzae* sur GSC bien déterminé

➤ photo du 3^{ème} cas : *N. meningitidis*



Culture de méningocoque sur GSC + SPV





Kits de la *Neisseria* qui montre les caractères biochimiques