REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEURE ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

UNIVERSITE DE MEDEA

FACULTE DES SCIENCES



Mémoire

Présenté pour obtenir le diplôme de **Master**

En **Biologie**

Spécialité : Immunologie et maladies infectieuses

Par :

LAKEHAL Rachida
MELAABI Fatima

Recherche et identification des bactéries responsables de la méningite à l'hôpital de Médéa.

Soutenue publiquement le : 15/06 /2017. Devant le jury composé de :

Président : Mr. MEDDAH. B	Maitre assistant	SNV Médéa.
Examinateur 1 :Mr. KHAMES. M	Maitre assistant	SNV Médéa.
Examinateur 2 : Mr. BOUDIAF. F	Maitre assistant	SNV Médéa.
Encadreur : Mr. RAHAL. M	Maitre assistant	SNV Médéa.
Co-encadreur 1 : Mme. KABACHE. R	Dr. Spécialiste	EPH Médéa.
Co-encadreur 2 : Mr. MOKHETARI. M	Epidémiologiste	EPH Médéa.

Année universitaire 2016/2017

Dédicace :

Je dédis ce travail:

***A Dieu** le Tout Puissant et Miséricordieux de m'avoir donné l'énergie nécessaire pour franchir les différentes étapes jusqu'aujourd'hui.*

***A mon père** Bouzide : Les mots me manquent pour exprimer tout ce que j'éprouve en ce moment aussi important de ma vie.*

***A ma mère**: Pour l'immense affection maternelle dont tu nous a toujours entourée. Ce travail est le tiens et je souhaite qu'il couronne tes sacrifices.*

***A mes frère**: Mouhamed, Zino, Oualide,plus particulièrement Isleme pour arrivée à ce niveau ou plus. Mes tantes, mes oncles.*

***A mes meilleurs roses** : Karima, Sara, Salima, Soumia,wahiba ,ahlem , maha , zeyneb , hizia , KHadidja ,loulou,Nabila ,Hasna ,Massouda et ma chère :fathiya*

A ma très chère et tendre Rachida pour tout l'amour ton soutien, ta patience

A toutes les victimes des méningites bactériennes.



*****M.Fatima ****

Dédicace

Je dédié le bon dieu de m'avoir donné le courage et la volonté nécessaire pour atteindre mon objectif.

Je dédié ce présent mémoire à ma chère ***maman*** *et ma chère* ***papa****.*

A ma petite fleur Malek, pour arrivée à ce niveau ou plus.

Mes tantes, mes oncles.

*-****Mes frères*** *bachir et Abd Elkader.*

- ***Mes sœurs*** *Djamila, karima, souad et saida et tous leurs enfants et leurs maris.*

- ***A mes meilleurs roses*** *: zeyneb, KHadidja, Ouahiba, Karima, soumia, fatiha , yasmin, nassira, maha , kaltoum, nesrin , hizia et son fiancé hamza, et un dédicace spéciale pour Dr louisa et son mari djamel et leurs fils malek et wail .*

Ames chère binôme :fatima.

- un dédicace vraiment spéciale pour ce qu'il a donné le plus dans ma vie et je dis à lui "je suis vraiment désolé et merci".

*****Rachida*****



Remerciements

Avant tout nous remerciant ***Allah*** *tout puissant, de m'avoir guidé toutes ces années d'étude et de m'avoir donné la volonté la patiente, le courage pour terminer ce travail.*

Nous tenent à remercier ***Mad KABACHE .R,*** *notre co-promotrice de recherche, pour donner sa aidé , et tous ce qu'elle fait pour nous.*

NOUS tenent aussi à remercier ***Mr.MOKHTARI.M,*** *notre co-promoteur de recherche, pour donner sa patience, et ses conseils.*

Nous nous remerciant les m'ombres de jury :

-Mr .MEDDAH .B *a avoir fait l'honneur de accepter de présider le jury de soutenance.*

- Mr KHAMES MAMMAR *merci d'accepter d'examiner ce travail*

-Mr. BOUDIAF FAHED *a pour son aide précieuse ; et accepter d'examiner ce travail.*

Merci à tous mes enseignements durent les années d'étude, qui sont toujours encouragent ; et un remerciement spéciale pour notre père d'étude ***Mr OUMOUNA Mustapha*** *pour tous ce qu'il a fait pour la biologie en Médéa et particulièrement notre spécialité, Nous remercions les techniciens de laboratoire à l'hôpital de Médéa.*

N'oublier jamais tous nos amis en particulier la promotion Immunologie et Maladie Infectieuse 2016/2017.

Enfin nous remercie tous ceux qui ont bien voulu m'aidé de près ou de loin pour réalise ce travail.





Remerciement

Avant de commencer nous remerciant avant tout Allah tout puissant de m'avoir donné la volonté, la patiente pour terminer ce travail.

Nous avons M^ELLE LAKEHAL Rachida et M^ELLE MELLABI Fatima tenent à expriment tout nous Remerciement à ***Mr RAHaL.M,*** *notre directeur de recherche, pour m'avoir donné l'occasion de encadré, orienté, aidé ce projet, sa patience, ses encouragements et ses conseils.*

M^r RAhaL.M.

Liste des Abréviations

ADH : Arginine dihydrolase

API NH : API Neisseria Haemophilus

BHE : barrière hémato-encéphalique

BK : bacille de koch

CFU /ml : Colony Forming Unit par millimètre

CO_2 : Dioxyde de carbone

GC : Gélose chocolat

g/l : Gramme par litre

GSC : Gélose au sang cuit

GSF : Gélose au sang frais

H_2O_2 : Eau oxygéné

H_2S: Sodium thiosulfate

Hi: *Haemophilus influenzae*

Hib : *Haemophilus influenzae b*

IL-1 : Interleukine 1

IL-1b : Interleukine 1b

IL-10 : Interleukine 10

LDC : lysine décarboxylase

LCR : liquide céphalo-rachidien

Lm : *Listéria monocytogène*

LPS : Lipopolysaccharides

M : Molaire

MB : Méningite bactérienne

MBA : Méningite bactérienne aigue

Mm³ : Millimètre cube

MMPs : Matrix métalloproteinases

NaCl : Chlorure de sodium

NAD : Nicotinamide Adenine Dinucléotude

NF-κB : Nuclear factor-kappa B

Nm : *Neisseria meningitidis*
NmA : *Neisseria meningitidis A*
NmW : *Neisseria meningitidis W*
NmC : *Neisseria meningitidis C*
NmX *: Neisseria meningitidis X*
MV : Méningite virale

ODC : Ornithine décarboxylase

OX : Oxydase

pH : Potentiel hydrogène

PL : Ponction lombaire

PNN : Polynucléaires neutrophiles

Ppm : Patients par million

PRR : Pattern Recognition Receptors

SNV : Système nerveux centrale

Sp : *Streptococcus pneumoniae*

TLR : Toll-like Receptor

TNF : Tumoral Nécrose Factor

TNFα : Tumoral Nécrose Factor α (Facteur de nécrose tumorale α)

VP : sodium pyruvate

µl : Micro litre

µm : Micro mètre

Liste des tableaux :

N°	Titre	Page
01	Les principales caractéristiques biochimique de *N. meningitidis.*	**09**
02	Les principales caractéristiques biochimiques de *S. pneumoniae.*	**10**
03	Les principales caractéristiques biochimiques d'identification de *H influenzae*.	**12**
04	Hypothèse de diagnostic en fonction de l'aspect de LCR.	**19**
05	Comparaisant entre la méningite bacterienne et la méningite viral.	**22**
06	Incidence globale des MB dans certaines parties du monde.	**30**
07	Comparaison chimique entre LCR en cas normale et en cas de méningite.	**34**
08	Présentation clinique des méningites bactériennes identifie.	**44**
09	Répartition de nombre des leucocytes dans LCR.	**46**
10	Répartition de différentes valeurs de Glycorachie.	**47**
11	Répartition de différentes valeurs de protéinorachie.	**48**
12	Test échantillon appariés entre les déférentes variables.	**51**

Listes des figures :

N°	Titre	page
Figure N°1 :	Anatomie des méninges.	**03**
Figure N°2 :	Illustration schématique de l'espace sous-arachnoïdien (a) normal et (b) enflammé.	**05**
Figure N°3 :	Principales étapes de la physiopathologie des méningites bactériennes.	**07**
Figure N°4 :	*N.meningitidis* : ensemencement en strie et aspect des colonies sur gélose au sang.	**08**
Figure N°5 :	*S.pneumoniae* : ensemencement en strie et aspect des colonies sur gélose au sang.	**10**
Figure N°6 :	*H.influenzae* : ensemencement en stries et aspect des colonies sur gélose chocolat.	**11**
Figure N°7 :	Examen bacteriologique direct du LCR aprés coloration de gram .	**21**
Figure N°8 :	Réaction d'oxydase positive à gauche, Réaction d'oxydase négative à droite.	**23**
Figure N°9 :	Photo de la galerie API NH d'identification de *N. méningitidis* .	**24**
Figure N°10	Identification de *S.pneumoniae* par le test de sensibilité à l'optochine.la souche de la strie du haut est résistante à l'optochine, ce n'est pas un pneumocoque.les souches des stries du centre et du bas sont sensibles à l'optochine, ce sont des pneumocoques.	**25**
Figure N°11 :	Identification de *S.pneumoniae*.	**26**
Figure N°12 :	Photo de la galerie API NH d'identification de *H.influianzae*.	**27**
Figure N°13 :	l'aspect macroscopique de LCR (clair à droit et hémorragique à gauche).	**32**
Figure N°14 :	Photo de dosage de glycorachie.	**34**
Figure N°15 :	Photo de réactif de glycorachie à gauche (glucose) et protéinorachie à droite (protéine).	**34**

Figure N°16 :	Photo d'un instrument ″spectrophotomètre″ pour le dosage de glycorachie et de protéinorachie.	**35**
Figure N°17 :	Photo d'incubation des bactéries en milieu anaérobie**.**	**36**
Figure N°18 :	Test d'oxydase positive à gauche et témoin négatif à droite.	**37**
Figure N°19 :	Test catalase positive.	**37**
Figure N°20 :	Photo de la galerie API 20 E pour l'identification des *Entérobactéries*.	**38**
Figure N°21 :	Photo de PASTOREX meningitidis kit pour l'identification de *N. meningitidis* et *S. pneumoniae*.	**39**
Figure N°22	Démarche diagnostique sur le liquide céphalorachidienne (LCR).	**40**
Figure N°23 :	Taux en pourcentage des résultats cytologique de LCR.	**41**
Figure N°24 :	Taux en pourcentage des résultats de la bactériologie parmi les échantillons à cytologie positive.	**41**
Figure N°25 :	Pourcentage des méningites suspectées selon le sexe.	**42**
Figure N°26	Répartition selon l'âge.	**43**
Figure N°27	La répartition de la méningite suspectée selon les services hospitaliers**.**	**43**
Figure N°28	Répartition des cas de méningite selon l'aspect de LCR.	**45**
Figure N°29	La distribution des nombres des lymphocytes et des polynucléaires dans LCR.	**46**
Figure N°30 :	Répartition des bactéries isolées dans LCR.	**48**
Figure N°31 :	Photo des colonies suspectes de *S. pneumoniae* sur gélose au sang cuit.	**49**
Figure N°32 :	Photo *d'Entérobacter sakazakii* sur gélose au sang cuit (à gauche) et sur gélose héktoen (à droite).	**49**
Figure N°33 :	Test de corrélation linière entre les déférentes variables.	**50**

Sommaire

Dédicaces

Remerciement

Liste des abréviations

Liste des tableaux

Liste des figures

Résumé

Introduction …………..1

Premier partie : Etude bibliographique

I. Définition……2

II. Rappelle anatomique et physiologique de LCR et des meninges :……2

1. les méninges……2

2. Le liquide céphalo-rachidien (LCR)……3

III. La physiopathologie des méningites bactériennes :……..3

1. La colonisation du muqueuse et passage dans le liquide céphalo-rachidien (LCR)……3

2. La réponse l'immunitaire et les mécanismes inflammatoires……..4

VI. **Etiologies de la méningite bactérienne (les bactéries responsable) :……..7**

1. Les principaux agents pathogènes :……...7

1.1. ***Neisseria meningitidis***……..7

1.1.1. Morphologies……7

1.1.2. Caractères culturaux :……...8

1.1.3. Caractères biochimiques……...8

1.2. ***Streptococcus pneumonie*** :……9

2.1.1. Morphologies……9

2.1.2. Caractères culturaux……9

2.1.3. Caractères biochimiques……10

1.3. ***Haemophilus influenzae*** :……..10

3.1.1. Morphologies……..11

3.1.2. Caractères culturaux……11

3.1.3. Caractères biochimiques……11

2. Autres agents pathogènes :……...12

2.1. *Listéria monocytogène*……...12

2.2 .Pseudomenas aeroginosa……..……13

2.3. Acinetobacter baumannii……...……14

2.4. Staphylococcus aureus……...……14

2.5. *Streptococcus spp*……...……15

2.6. *Enterobacter*……...16

2.7. *Enterobacter sakazakii*……...……16

V. Diagnostic de la méningite bactérienne :……17

1. diagnostic clinique :……..17
2. Diagnostique biologique:……..18

2.1. Le prélèvement de LCR :……..……...……18

2.2. Analyse de LCR :……..……18

2.2.1. L'aspect de LCR :……...……18

2.2.2. Analyses cytologiques :……..……19

2.2.3. Examen biochimique de LCR :……..……20

2.3. Examen direct et coloration de Gram :……20

2.4. Mettre en culture de LCR :……...……22

3. Diagnostic bacteriologique :……22

VI. Epidémiologie des méningites bactériennes :

Dexieume partie : Etude expérimental

I. Objectifs :……....31

II. Matériels et méthodes :……..31

1. matériels :……...31

2.1 .Lieu et période d'étude :……....31

2.2 .les patients:……...31

2. Méthodes :……32
2.1. Etude de liquide céphalorachidienne :……..……32
2.1.1. Le prélèvement de LCR :…….……..32
2.1.2. Examen macroscopique :…….……..…32
2.1.3. Examen microscopique :……...32
2.1.4. Examen biochimique :…….…..33
2.2. Identification des germes :…….…...36

Résultat

I. Répartition des méningites :…….…….41

1. Répartition des cas selon le sexe :……..……...42

2. Répartition des cas selon l'âge :…….……42

3. répartition des cas selon les services hospitaliers :……...…….43

II. Examen clinique :…….……44

III. Analyse de LCR :……...…….45

1. Examen macroscopique de LCR :…….……45
2. Examen microscopique de LCR :…….45
3. Examen biochimique du LCR :…….……47
4. Examen bactériologique de LCR :……..…….48

IV. Analyses statistique :……..……50

Discussion

I.L'analyse des résultats bactériologiques :……..……52

1. L'analyse des résultats obtenus selon le sexe :…….……..53

2. l'analyse des résultats selon l'âge :…….……53

II. Analyse de LCR :……..…54

1. Examen microscopique de LCR :……...……..54
2. Examen macroscopique de LCR :……...……..55
3. Examen biochimique de LCR :…….55

3.1. La glycorachie :……..…..56
3.2. La protéinorachie :……...……..…..57
4. Examen bactériologique de LCR :……57

Conclusion:.…….60

Annexes

Recommandation

Références bibliographiques

Résumé

La méningite bactérienne constitue par leur fréquence et leur gravité un important problème de santé publique. Elle demeure une cause majeure de morbidité et de mortalité particulièrement dans les pays en voie de développement.

L'objectif de notre travail a été l'identification des différentes bactéries responsables de la méningite en milieu hospitalier de la wilaya de Médéa avec une étude statistique et épidémiologique de l'implication de ces bactéries dans ce type d'infections et aussi d'apprécier la corrélation entre la biochimie, la cytologie de liquide céphalorachidienne(LCR) et l'éventuel résultat positive de la bactériologie.

À travers cette étude, nous avons reçu 613 prélèvements de LCR, L'analyse cytologique et biochimique de LCR a été effectuée et la culture est faite principalement sur gélose au sang cuit incubé en milieu enrichis en CO_2 avec une identification morphologique, biochimique et antigénique.

Nous avons rapporté 104 LCR avec une cytologie positive dont 9 cas ont été confirmés comme méningite bactérienne. Les échantillons de 9 cas positive nous ont montré que les enfants de moins de deux ans représentent la majorité avec une prédominance masculin dans de 77.78%, sur le plan biologique, un taux de cellularité supérieur à 500 éléments/Mm^3 dans 88,90% et une prédominance des polynucléaires qui ont été retrouvés dans tous les cas, la glycorachie était inferieure à 0,2 g/l dans 88,90% des cas et une protéinorachie supérieure à 1g/l a été observée dans 44,44% des cas, concernant la bactériologie, on a identifié des germes variable tel que *pseudomenas aeruginosa qui* a été signalé dans la majorité des cas avec un taux de 33,32% suivi par *Entérobacter sakazakii* dans 16,66 %, alors que *S.pneumoniae*, *Neisseria meningitidis*, *S.aureus*, *Entérobacter*, *Acinetobacter baumannii et streptococcus spp* représentent un taux de 8,33 % pour chacune.

Étant donné que le nombre des bactéries identifiées était très faible, il n'était pas possible de confirmer leur implication dans la méningite bactérienne aiguë. Le travail a donc été très prometteur et nécessite d'être exploité dans le future, d'autre part, le protocole expérimental suivi doit être réadapté pour avoir plus de possibilité d'obtenir des résultats positifs et d'avoir plus d'idées sur ce type de maladie.

Les mots clés : Méningite, bactérienne, *S.pneumoniae*, *Neisseria meningitidis*.

Abstract

Bacterial meningitis is by their frequency and their gravity an important public health problem. They remain a major cause of morbidity and mortality particularly in developing countries.

The aim of this study was to identify the different implicated bacteria in meningitis in hospital of Medea with a statistical and epidemiological study of the implication of these bacteria and also to appreciate the correlation between cerebrospinal fluid (CSF) biochemistry, CSF cytology and possible positive result of bacteriology.

Through this study, we received 613 CSF specimens, cytological and biochemical analysis of CSF was carried out and the culture is made mainly on baked blood agar incubated in a CO_2 - enriched medium with a morphological, biochemical and antigenic identification.

We reported 104 CSF with positive cytology, 9 from which were confirmed as BM. Samples of 9 positive cases showed us that the less two years old children represent the majority of them with a male predominance in 77.78%, On the biological plan, a cellularity rate higher than 500 elements / Mm^3 in 88.90%, and a predominance of polymorph nuclear cells that were found in all cases, CSF glucose lower than 0.2 g / l in 88.90% of cases and CSF protein greater than 1 g / l observed in 44.44% of the cases. Concerning the found bacteria, we identified different germs such as *pseudomenas aeruginosa* were reported in the majority of cases with a rate of 33.32% followed by *Enterobacter sakazakii* in 16.66%, and for *S. pneumoniae*, *Neisseria meningitidis*, *S.aureus*, *Enterobacter spp*, *Acinetobacter baumannii* and *streptococcus spp* represent a rate of 8.33% for each.

Since the number of identified bacteria was very low it was not possible to confirm their implication in acute bacterial meningitis, thus the work was very promising and require to be investigated in the future on one hand, on other hand the followed experimental protocol has to be changed and adapted to have more chance get positives results and to have more ideas about this kind of disease.

Key words: Meningitis, bacterial, *S.pneumoniae*, *Neisseria meningitidis*.

ملخص

يمثل التهاب السحايا الجرثومي إحدى أهم مشاكل الصحة العامة, فهو لايزال سببا رئيسيا للوفيات خاصة في البلدان النامية. وكان الهدف من عملنا هذا هو تحديد مختلف البكتيريا المسؤولة عن التهاب السحايا في مستشفى ولاية المدية مع دراسة إحصائية و وبائية لهذه البكتيريا وأيضا تقدير العلاقة الموجودة ما بين الخصائص البيوكيميائية و عدد الخلايا اللمفاوية ومتعددة النوى في السائل النخاعي الدماغي مع احتمال ايجابية زراعة البكتيريا .

من خلال هذه الدراسة، تلقينا 613 عينة من السائل النخاعي الدماغي و قد اعتبرت ايجابية من حيث عدد الخلايا اللمفاوية و متعددة النوى في 104 عينة من بينها 9 حالات كانت دراستها الجرثومية ايجابية و كانت أغلبية زراعة البيكتيريا تتم في أجار الشوكولاتة الذي وضع في وسط غني بغاز ثنائي أكسيد الكربون ثم قمنا بتحديد الخصائص المورفولوجية و البيوكيميائية و المستضدية لهذه البيكتيريا و قد أظهرت نتائج هذه الأخيرة أن الأطفال دون سن الثانية تمثل الأغلبية, منهم ٪77.78 ذكور . أما على المستوى البيولوجي فقد كان عدد الخلايا في ٪ 88.99 من الحالات اكبر من 500 خلية مع أغبية متعددة النوى .من جهة أخرى كانت نسبة الجلوكوز في السائل النخاعي الدماغي اقل من 0.2 غرام في اللتر في ٪88.90 من الحالات, أما نسبة البروتين فكانت أكثر من 1غرام في اللتر في ٪ 44.44 و فيما يخص نتائج زراعة البكتيريا فقد وجدنا أنواع مختلفة من البكتيريا والتي تتمثل أغلبيتها في الزائفة الزنجارية بمعدل ٪33.32 متبوعة بالأمعائية الساكازاكية التي مثلت ب٪16.66 أما فيما يخص المكورة الرئوية ,النيسيرية السحائية , المكورة العنقودية الذهبية ,الأمعائية و الراكدة البومانية تم تحديدها مرة واحدة لكل منها بمعدل ٪8.33.

بما أن عدد البكتيريا التي تم تحديدها كان منخفضا فإنه لم يكن من الممكن تأكيد تأثيرها في التهاب السحايا الجرثومي الحاد، وقد كان العمل هادفا جدا ويتطلب إعادة النظر فيه مستقبلا من جهة، ومن جهة أخرى يجب تغيير البروتوكول التجريبي المتبع وتكييفه للحصول على فرصة أكبر من اجل نتائج إيجابية وإيجاد المزيد من الأفكار حول هذا النوع من المرض.

الكلمات الأساسية التهاب السحايا , جرثومي , المكورة الرئوية ,النيسيرية السحائية.

Première parties : étude bibliographique

Introduction

Introduction :

La méningite est une maladie propice à l'épidémie affectant une proportion significative de la population mondiale. Elle est causée par une large gamme des agents comprenant des bactéries, des parasites, des virus, des champignons, des toxines et même des drogueset traumatisme **(1).**

La méningite bactérienne est la forme la plus fréquente de méningite, c'est une infection aiguë dans laquelle les méninges, l'espace sous-arachnoïdien et le parenchyme du cerveau sont souvent impliqués dans les réactions inflammatoires **(2),** Cette pathologies non seulement causant des séquelles physiques et neurologiques, mais continue d'être une cause importante de mortalité. Bien que la plupart des maladies surviennent chez les nourrissons et les jeunes enfants, une incidence élevée peut être observé chez les enfants et les adolescents plus en bonne santé **(3).**

La méningite bactérienne est associée à une forte mortalité et la morbidité dans le monde entier, avec environ 16 millions en 2013, causant 1,6 million handicapé chaque année. Globalement, les pathogènes impliqués dans cette maladie varie légèrement et l'incidence varie considérablement entre les régions **(4) .**Trois bactéries, *Haemophilus influenzae*, *Streptococcus Pneumoniae* et *Neisseria meningitidis* sont les agents pathogènes causaux les plus fréquents de méningite bactériennes dans le monde, avec une incidence variable dans le temps, la situation géographique et le groupe d'âge **(5).**

Même si une thérapie antibiotique a méningite guérissable, elle reste une maladie mortelle avec des taux de létalité élevés pouvant atteindre 34% chez les *Streptococcus Pneumoniae* et 10% pour *Neisseria meningitidis*, les deux pathogènes les plus courants de ces infections aux périodes néonatale **(6).**

Pour le diagnostic de la méningite, elle est tout aussi important d'obtenir la susceptibilité antimicrobienne du microorganisme causale pour rationaliser le traitement **(7).**Un retard dans le diagnostic et le traitement du BM pourrait entraîner des dommages irréversibles au cerveau, par conséquent, le diagnostic et le traitement précoce des agents causaux sont vitaux pour minimiser les effets néfastes et mise en œuvre d'antimicrobiens appropriés **(8).**

Dans notre pays, les études concernant ce type d'infection étaient très faibles ce qui nous a permis d'établir ce travail de recherche sur cette pathologie et d'essayer d'avoir plus sur leur situation en Algérie et particulièrement au niveau de la wilaya de Médéa.

I .Définition :

La méningite bactérienne est l'une des maladies infectieuses les plus sévères **(3),** se caractérise par une inflammation des méninges, principalement induite par invasion des bactéries dans le système nerveux central (SNC), en particulier le liquide céphalo-rachidien (LCR) dans le ventricule et l'espace sous-arachnoïdien. Les agents pathogènes peuvent infecter le SNC pendant la bactériémie ou plus a fréquemment un accès direct pendant les processus inflammatoires dans les structures adjacentes **(9).**

II. Rappelle anatomique et physiologique de LCR et des méninges :

1. les méninges :

Les méninges représentent les enveloppes protectrices et nourricières du système nerveux central, elles entourent l'encéphale et descendent ensuite dans le canal rachidien, autour de la moelle épinière **(10)**. Les méninges jouent un rôle dans l'ontogenèse du tissu cérébral sous-jacent en induisant la prolifération et la différenciation des neuroblastes et la croissance des axones **(11)**.la moelle épinière est entouré de gaines de tissu conjonctif, la leptoméninge et la méninge spinale (dure-mère) **(12).** Les trois couches méningées se différencient au troisième mois de la vie in utero **(11).**

A. Leptoméninge :

Les leptoméninges sont les deux couches internes du tissu qui enveloppent le cerveau **(13),** sont beaucoup plus fine et plus proche du système nerveux central, elle comprend deux enveloppes ; la pie-mère et l'arachnoïde:**(14)**

- **La pie-mère,** feuillet très mince et transparent, adhère à la surface du cerveau **(14)**, et fixée à la moelle épinière**(17).** Elle renferme de nombreux vaisseaux sanguins qui alimentent la pie-mère **(15).**
- **L'arachnoïde** est un feuillet leptoméninge délicat et avasculaire comprise entre la dure-mère et la pie-mère. Elle tapisse la face interne de la dure-mère y compris au niveau de ses expansions, L'espace sous arachnoïdien, compris entre l'arachnoïde et la pie-mère, contient du liquide céphalorachidien (LCR) **(14).**

B.dure-mère :

Est composée de tissu conjonctif dense irrégulier, elle contribue par sa résistance à la protection des délicates structures du SNC **(15),** elle entoure la moelle épinière et la leptoméninge **(12).**

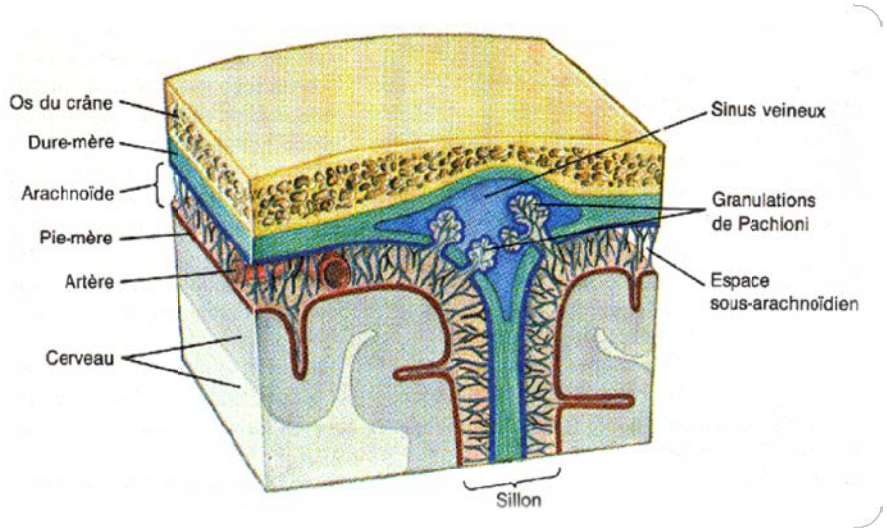


Figure 1: Anatomie des méninges **(16).**

2. le liquide céphalo-rachidien (LCR) :

Le liquide céphalo-rachidien (LCR) est un liquide biologique transparent dans lequel baignent le cerveau et la moelle épinière. Il est contenu dans les méninges entre la pie-mère et l'arachnoïde **(12).**

Le LCR occupe à la fois les espaces sous-arachnoïdiens et le système ventriculaire. Il est produit à l'intérieur des ventricules. Il circule des ventricules latéraux (I et II) vers les IIIème puis IVème ventricule et ensuite vers les espaces sous-arachnoïdiens **(17).**

III. La physiopathologie des méningites bactériennes :

1. La colonisation du muqueuse et le passage dans le liquide céphalorachidien LCR :

Beaucoup des pathogènes méningés sont capables de coloniser la peau et les différentes surfaces des muqueuses des individus en bonne santé. Dans certains cas, les bactéries pénètrent les barrières cellulaires de l'hôte pour déclencher une infection locale pouvant entraîner une propagation systémique **(18).**

Suivant de la survie dans la circulation sanguine ou par propagation des foyers infectieux dans le voisinage du cerveau (mastoïdite, sinusite), des bactéries finira par envahir le système nerveux central (SNC), résultant en une inflammation des méninges, augmentation de la perméabilité de la barrière hémato-encéphalique, et l'infiltration du tissu nerveux **(19).**

Habituellement, le sang-cerveau et le sang-liquide céphalo-rachidien (LCR) protègent le cerveau et l'espace méningé contre les pathogènes microbiens. Certaines bactéries, cependant,

ont mis au point des mécanismes pour surmonter cet obstacle. Au cours des dernières années, divers facteurs ont été identifiés contribuant à la capacité des bactéries à traverser la barrière hémato-encéphalique **(20 ,21).**

2. La réponse l'immunitaire et les mécanismes inflammatoires :

Une fois entrée dans le LCR, la bactérie rencontre peu d'obstacles à son développement. En effet, les éléments responsables de bactéricide sérique font défaut dans le LCR : le complément y est quasiment absent, même en cas de réaction inflammatoire méningée importante, ceci était partiellement le fait de sa dégradation in situ par des protéases leucocytaires **(16).**

La concentration en immunoglobulines y est très basse, par comparaison au sang. Ce déficit local en anticorps et en complément contribue au faible pouvoir bactéricide du LCR et facilite la multiplication des bactéries **(22).**

La défense de l'hôte contre l'invasion bactérienne nécessite la reconnaissance des microbes et l'activation de système immunitaire **(20).**Une cascade inflammatoire est initiée après la reconnaissance des composants bactériens par des nombreux des récepteurs (PRR) dans le SNC **(9).**Ces récepteurs augmentent la capacité de phagocytose par les cellules phagocytaires qui sont largement absentes dans le LCR qui contient on cas normal un ensemble des facteurs anti-inflammatoires et immunosuppresseurs qui suppriment l'activité immunitaire (Fig. 1a) **(13).**

Les cellules immunitaires sont présentes dans toutes les structures non neuronales qui sont en contact direct avec le LCR, ces cellules sont capables de détecter la présence des bactéries dans le LCR. Une fois que les agents pathogènes sont entrés dans l'espace sous-arachnoïdien **(13),** ils profitent de l'immunodéficience dans le LCR et se multiplient facilement et efficacement (I). Les phagocytes reconnaissent les pathogènes grâce à leurs récepteurs de surface (II), et peuvent détruire les agents pathogènes sans aucune aide supplémentaire, mais dans presque tous les cas ils amplifient l'immunité en libérant des cytokines et des chimiokines (III). En conséquence, un grand nombre des neutrophiles sont recrutés dans le LCR (IV), une caractéristique pathologique de la méningite bactérienne aiguë (Fig. 1b) **(13).**

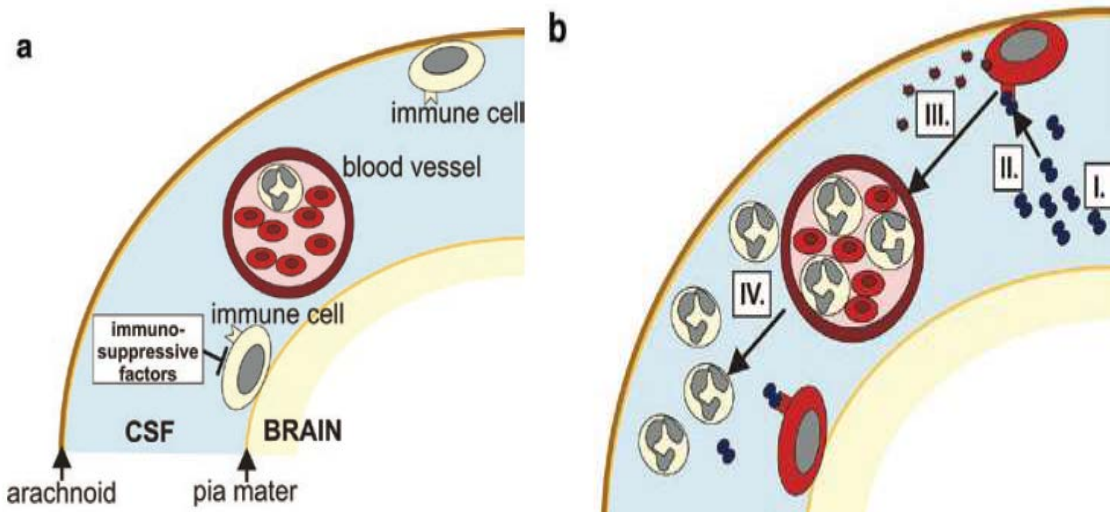


Figure 2: Illustration schématique de l'espace sous-arachnoïdien (a) normal et (b) enflammé **(13).**

❖ **Les récepteurs des TLRs (Toll-like Receptors) :**

Les TLRs sont des régulateurs centraux de l'immunité innée répondant à des modèles moléculaires conservés et partagés par des nombreux micro-organismes **(20).**

Les TLR 1-9 sont exprimés dans des cellules de microglie, alors que les astrocytes expriment les TLR 2, 3 et 9 et les neurones expriment les TLR 3, 7, 8 et 9 **(23).**

Les récepteurs de TLR permettent la détection des composants microbiens et initient la réponse immunitaire et concédèrent aussi comme un événement clé dans l'inflammation des méninges **(13).**

❖ **Les Microglies :**

Les microglies sont des macrophages résidents du parenchyme du SNC **(24),** sont importants pour la réponse immunitaire et probablement aussi pour la protection du cerveau et de la moelle épinière contre l'invasion bactérienne **(20)**. Lorsqu'ils sont activées, les microglies peuvent déclencher une multitude des voies immunologiques et peuvent produire des cytokines, des chimiokines et d'autres médiateurs pro-inflammatoires en réponse à l'infection, cette réponse inflammatoire intense et prolongée peut entraîner des dommages neuronaux et la mort cellulaire et peut être fatale pour les patients **(25,26).**

D'un autre coté ils sont impliqués dans l'inhibition de l'inflammation et de la restauration de l'homéostasie, la réponse inflammatoire suit à l'activation des cellules microgliales peut faciliter l'élimination des microorganismes **(24).**

❖ **Invasion des leucocytes :**

Dans la méningite bactérienne, des nombreuses cellules produisent des facteurs solubles qui stimulent les leucocytes à entrer dans l'espace sous-arachnoïdien. Les leucocytes circulants sont importants pour la défense de l'hôte contre les bactéries, même lorsqu'elles sont déjà entrées dans le SNC **(24).**

L'afflux de polynucléaires dans le LCR est la première conséquence de la libération de cytokines. Les polynucléaire sont capables d'adhérer aux cellules endothéliales et de traverser leur surface s'il y a stimulation par le TNFα, IL-1, ou même LPS. Des molécules appartenant à la superfamille des immunoglobulines, des intégrines et des sélectines sont impliquées dans ce processus **(16).**

❖ **Inflammation neuronale :**

Le rôle des cytokines / chimiokines

La réponse inflammatoire est accompagnée par la production des multiples médiateurs dans CNS. Le facteur de nécrose tumorale- α (TNF- α), l'interleukine 1b, et l'interleukine 6 sont considérées comme les principales cytokines qui déclenchent la cascade inflammatoire qui induit diverses altérations physiopathologiques impliquées dans la méningite bactérienne **(22, 23,27).**

Le TNF- α et IL-1b stimulent l'expression des chimiokines et des molécules d'adhésion, qui jouent un rôle important dans l'afflux des leucocytes de la circulation vers LCR **(22).**et favorise l'adhésion des neutrophiles et des monocytes **(23).**

Le TNF- α est un marqueur d'une inflammation aiguë chez les enfants atteints de la méningite bactérienne **(23),** les cytokines liant aux récepteurs de TNF conduit à l'activation des facteurs de transcription, par exemple, le facteur nucléaire NF-κB, où déclenchent l'activité de la caspace et l'apoptose. La concentration de TNF dans le LCR est élevée dans la phase initiale chez les patients atteints de MB **(28).**

L'IL-6 est synthétisée en réponse au TNF et IL-1, leur niveau est élevé dans le LCR des patients atteints de la MB **(9)**. Un manque de cette cytokine améliore la réponse inflammatoire et diminue la perméabilité vasculaire chez ces patients **(23).**

L'IL-10 inhibe la production de TNF et ayant principalement des propriétés anti-inflammatoires on réduit l'inflammation cérébrale et les complications secondaires dans la méningite à pneumocoque **(9).**

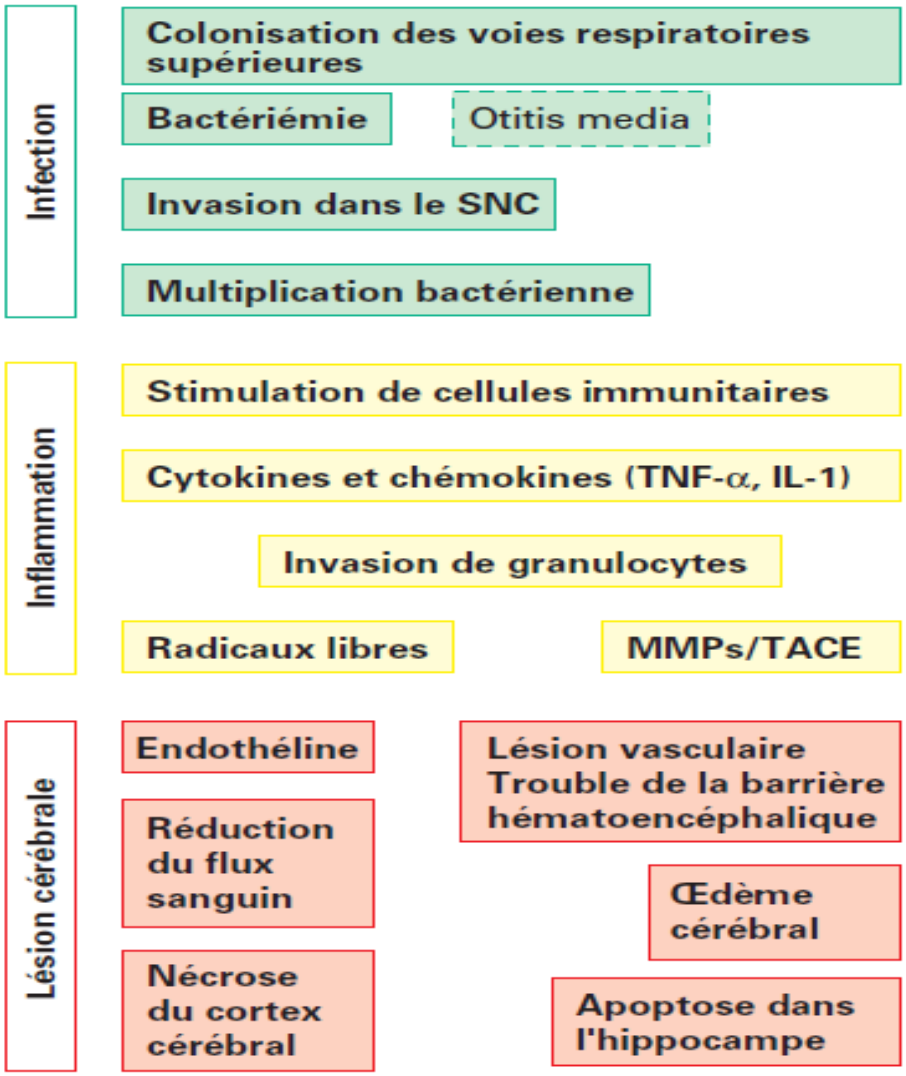


Figure 3 : Principales étapes de la physiopathologie des méningites bactériennes **(29).**

IV. Etiologies de la méningite bactérienne (les bactéries responsables):

1. Les principaux agents pathogènes :

1.1. *Neisseria meningitidis :*

1.1.1. Morphologies :

Les *Neisseria* se présentent sous l'aspect de coques à Gram négatif «réniformes» ou en «grains de café» avec une face plane groupés deux à deux en diplocoques. Ils sont très souvent encapsulés **(30,31 ,32).** Dans les produits pathologiques, ils sont souvent peu nombreux et situés à l'intérieur ou à l'extérieur des polynucléaires **(31).** Leur aspect morphologique est variable dans les cultures **(30).**

1.1.2. Caractères culturaux :

1.1.2.1. Conditions et exigences de culture :

Les méningocoques sont des bactéries aérobies strictes, ces bactéries très exigeantes ne cultivent que sur des milieux enrichis en produits biologiques, plus rapidement (18 à 24 heures), entre 30°C et 38,5°C, avec une atmosphère humidifiée et enrichie à 10% de CO_2 **(30)**. (Le procédé de la bougie permet d'obtenir une concentration en CO_2 de 3 à10 %) **(31).**

Ces bactéries sont très sensibles aux variations de températures et de pH **(30).**

Les échantillons de produit pathologique susceptible de contenir des méningocoques doivent cependant être ensemencés le plus rapidement possible sur un milieu de culture approprié **(31).**

1.1.2.2. Milieux et aspects des cultures :

Sur gélose chocolat (GC) ou gélose au sang cuit (GSC): on observe des petites colonies (1à 2 mm de diamètre) lisses, bombées, luisantes, non pigmentées et transparentes, elles sont parfois muqueuses **(30 ,31).**

Sur gélose au sang frais de mouton (GSF): on observe une culture sans halo d'hémolyse **(30).**

Les formes capsulées forment des colonies mucoïdes **(31).**

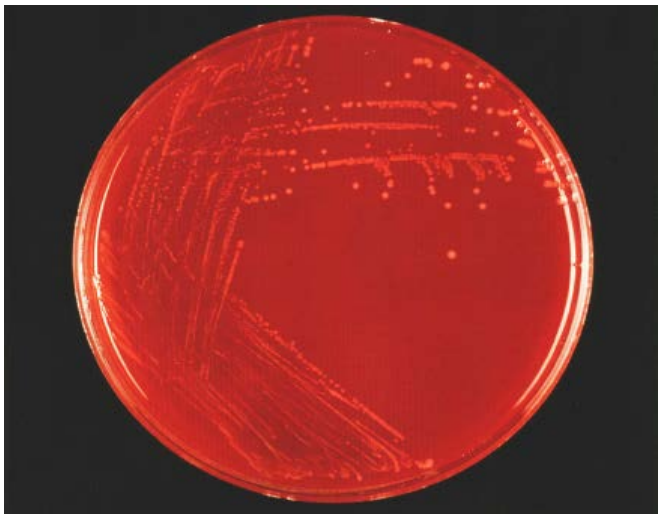


Figure 4 : *N.meningitidis* : ensemencement en strie et aspect des colonies sur gélose au sang (**30**).

1.1.3. Caractères biochimiques :

Les principales caractéristiques biochimiques utilisées dans l'identification de *N. meningitidis* sont représenté dans le tableau suivant :

Tableau 1 : Les principales caractéristiques biochimiques de *N. meningitidis* (**30 ,31**)

Caractère biochimique	Glu	Mal	Lac	Suc	ONPG	Nit	GGT	βGal	Ox	catalase
N.meningitids	+	+	-	-	-	-	+	-	+	+

Glu : glucose ; **Mal** : maltose ; **Lac** : lactose ; **ONPG** : β-Galactosidaseperméase

Suc : Sucrose; **Nit** : nitrate ; **GGT** : gamma- GT ; **βGal** : β galactopyranoside.

1.2. *Streptococcus pneumonie* :

1.2.1. Morphologies :

Les pneumocoques sont des cocci à Gram positif, en flamme de bougie, encapsulés, groupés par paires (diplocoque), dont les deux cocci sont opposées par leur pointe, donnant à l'ensemble de la forme d'un huit, en culture, ils se présentent en cocci ou en chainettes **(31).**

1.2.2. Caractères culturaux :

1.2.2.1. Conditions et exigences de cultures :

Streptococcus pneumonie est un germe aéro-anaérobie facultatif qui cultive entre 35°-37°C (accepte les variations de température entre 24 à 42°C), en milieux enrichis (sang, sérum, glucose ...), en anaérobiose et dans une atmosphère enrichie 5 à 10% de CO_2.

Il ne cultive pas sur milieux ordinaires **(31).**

1.2.2.2. Milieux et aspects des cultures :

La culture du pneumocoque est aussi difficile que celle des streptocoques. Sur gélose au sang en anaérobiose ou sous CO_2, le pneumocoque donne des colonies lisses, transparentes, en goutte de rosée, entourées d'une zone d'hémolyse partielle (alpha).

Par repiquages successifs, les colonies deviennent rugueuses et correspondent à des pneumocoques ayant perdu leur capsule **(31).**

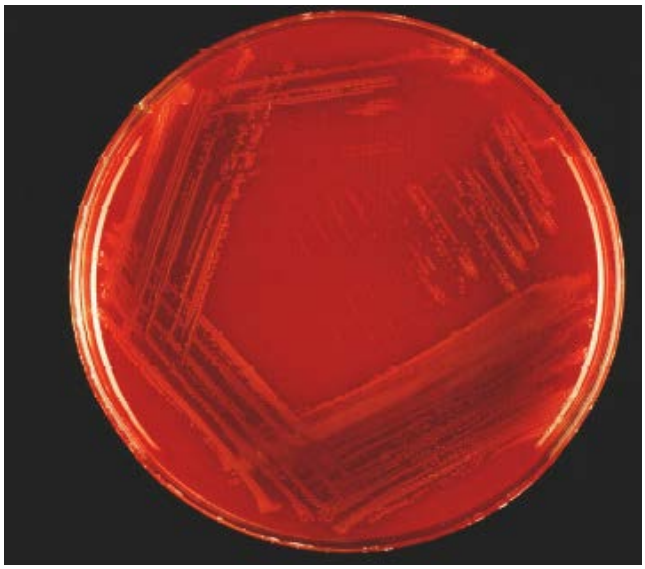


Figure 5: *S.pneumoniae* : ensemencement en strie et aspect des colonies sur gélose au sang (**30**).

1.2.3. Caractères biochimiques :

Le pneumocoque est un germe à métabolisme anaérobie mais aérobie tolérant **(30,31).** L'adjonction de tensio-actifs (bile, sels biliaires) à une culture de pneumocoque en bouillon entraîne la lyse des capsules du pneumocoque et l'éclaircissement immédiat du bouillon, le pneumocoque est sensible à un sel de cuivre, l'éthyl-hydrocupréine (optochine). Cette propriété est utilisée pour l'identification du pneumocoque au laboratoire **(31).**

Tableau 2: Les principales caractéristiques biochimiques de *S. pneumoniae* (**30**).

Caractères biochimique	Glu	SOR	Mal	Sac	Nit	Lac	VP	Man	Rib	OX	Catalase
S. pneumoniae	+	-	+	+	-	+	-	-	-	-	-

Glu : glucose ; **SOR :** sorbitol ; **Mal :** maltose ; **Sac :** saccarose **Nit :** nitrate ; **Lac:** lactose; **VP:** sodium pyruvate; **Man:** mannitol; **Rib :** ribose ; **OX :** oxydase

1.3. *Haemophilus influenzae :*

Dans les pays n'ayant pas mis en place la vaccination *Hib* chez le nourrisson, *H. influenzae*, reste l'une des causes majeures de méningite chez l'enfant de moins de 5 ans. La méningite à *H. influenzae* est exceptionnelle en dehors de cette tranche d'âge **(33).**

1.3.1. Morphologies :

Dans les produits pathologiques, *Hi* se présente sous la forme de petits bacilles à Gram négatif, d'aspect coccobacillaire polymorphe, immobiles, groupés en amas, en courtes chainettes. les souches virulentes sont capsulées **(31 ,32).**

1.3.2. Caractères culturaux :

Hi exige pour sa croissance en aérobiose, la présence d'hémines (facteur de croissance X) et du NAD (facteur de croissance V) dans la gélose au sang cuit ou dans la gélose ordinaire additionnée d'extraits globulaires**.** Leur température optimale de croissance est de 35 à 37 °C **(31,32)** .Certaines souches ne poussent qu'en atmosphère enrichie de 10% de CO_2.

Les colonies apparaissent grises ou avec une légère teinte jaunâtre en 24-48 heures. Et les souches capsulées *(Hi* b) sont muqueuses et de taille plus grande **(31).**

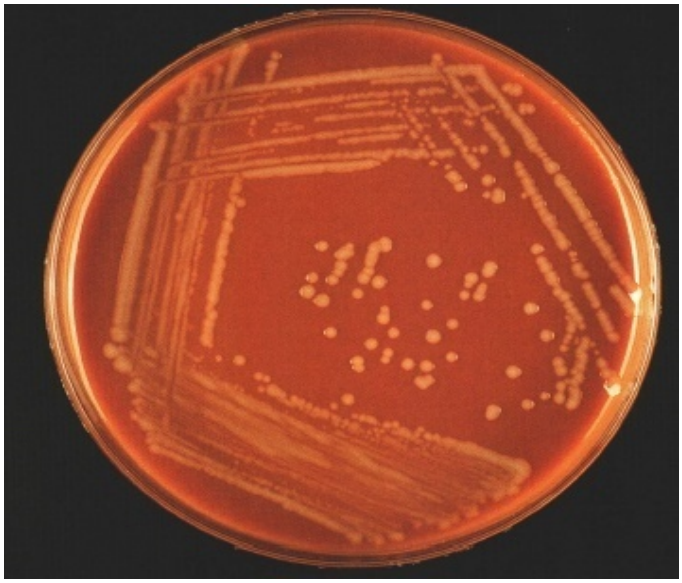


Figure 6*: H.influenzae* : ensemencement en stries et aspect des colonies sur gélose chocolat**(30).**

1.3.3. Caractères biochimiques :

La totalité des espèces *d'Hi* ont la capacité de fermenter le glucose avec ou sans production de H_2S, sont capables d'utiliser du xylose et du ribose est un bon facteur de différenciation des caractères de chaque souche.

Trois caractères biochimiques l'ODC, l'uréase et l'indole ont permis de scinder les espèces d'*Hi* en six biotypes (I à VI), le biotype 1 est presque le seul responsable des méningites et des infections généralisées **(30,32).**

Tableau 3 : Les principales caractéristiques biochimiques d'identification de *H.influenzae* (**30,32**)

Caractères biochimique	Glu	Mal	Rib	Xylose	Lac	Sac	Ind	Ure	ODC	Nit
H. influenzae	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+

Glu : glucose ; **Mal** : maltose ; **Rib** : ribose ; **Lac** :lactose ; **Sac** : saccarose ;
Ind : Indole ; **Ure** : Urée ; **ODC :** ornithine décarboxylase ; **Nit :** nitrate

2. Autres agents pathogènes :

2.1. *Listéria monocytogène* :

2.1.1. Caractères morphologiques :

L. monocytogène est un bacille à Gram positif de 0,5 à1,2 µm, non capsulé, se présentant sous forme de bâtonnets réguliers, aux extrémités arrondies, ou en courtes chaines, et surtout intracellulaire associé aux polynucléaires et aux monocytes provenant de LCR ou en paires sous forme de V**(32,34).**

La bactérie est immobile à 37ºC, mobile à 22-25ºC avec des flagelles peritriches **(31, 34).**

2.1.2. Caractères culturaux :

L .monocytogène peut croitre en aérobiose et en anaérobiose. Sur gélose nutritive, elle forme en 24 à 48 heures à 37 ºC des colonies de 0,5 à 1,5 mm de diamètre.

Sur gélose au sang de mouton ou de cheval, les colonies apparaissent β hémolytiques **(31, 32,34).** Le germe croit facilement sur milieux ordinaires ou gélose au sang ou milieux sélectifs. Il ne possède pas de propriétés d'acido-alcoolo-résistance. *Lm* est une bactérie aéro-anaérobie qui se développe à un pH entre 6 et 9. Cette bactérie est largement répandue dans l'environnement en raison de sa résistance à une vaste amplitude de température. En effet, elle peut résister à des températures relativement basses de l'ordre de 3 à 4°C, ce qui explique sa multiplication dans les réfrigérateurs. Elle peut également se multiplier à des températures allant jusqu'à 45°C. Elle est détruite par un traitement à 60°C **(35).**

2.1.3. Caractères biochimiques :

Ces bactéries sont catalase positive, oxydase négative, esculine positive **(31,34),** et sont capables de fermenter certains sucre sans production de gaz, tels que le glucose dégradé en l'acide lactique et acétoine, le L-rhamnose et le D-xylose (pas le mannitol) **(34).**

2.2. *Pseudomenas aeroginosa* :

2.2.1. Caractères morphologiques :

Sont des bacilles à Gram négatif de 1à 3 µm de long et de 0.5 à 1 µm de large. Parfois entouré d'un pseudo-capsule appelés 'slimes'. L'aspect des colonies est particulier à cette espèce, une dissociation spontanée en 3 types principaux peut être observée :

- Colonies là (large) : isolées, grandes avec une partie centrale bombée et un contour irrégulier. Elles sont caractérisées par une autolyse qui donne un aspect métallique, irisé lors de la culture en nappe de la bactérie.
- Colonie sm (Small) : petites, légèrement bombées avec un bord circulaire régulier.
- Colonie M (muqueuses), bombées, opaques, visqueuses **(32 ,36).**

2.2.2. Caractères culturaux :

Sont des bactéries aérobies strictes, mobiles à ciliature polaire monotriche, la température optimale de 30 à 35 ºC et de pH comprise entre 6.5 et 8.

Pas d'exigence nutritive particulière : la pousse est possible sur des milieux non enrichis, l'isolement à partir de prélèvements pluri-microbiens peut être facilité par l'utilisation des milieux sélectifs disponibles dans le commerce ou par l'incubation des milieux à 41°C. Le germe croit sur la gélose nutritive, gélose trypticase soja **(37).**

2.2.3. Caractères biochimiques :

Utilisent peu de glucides par voie oxydative (glucose, par exemple) **(37).** Elles sont capables d'oxyder certains sucres avec production d'acide et utilisent comme une seule source de carbone et d'énergie de nombreux substrats hydrocarbonés.

En anaérobiose, *p .aeroginosa* respire les nitrates d'où une confusion si la gélose profonde contes des nitrates, mais son métabolisme est uniquement respiratoire **(36).**

C'est une bactérie oxydase positive, dégrade la caséine, et sont capables de produire des pigments **(37).**

2.3. *Acinetobacter baumannii* :

2.3.1. Caractères morphologiques :

Acinetobacter baumannii est un bacille à Gram-négatif, souvent groupé en diplobacilles courts. Les colonies d'*Acinetobacter* apparaissent lisses, opaques, de couleur jaune pâle à grisâtre. *Acinetobacter* est sphérique et généralement groupé on paire ou en amas **(31, 38, 39).**

2.3.2. Caractères culturaux :

Sont des bactéries aérobies stricts, pléomorphe et non mobile. Les *Acinetobacter* sont phototrophes (croissance en milieu minimum avec un substrat comme seule source de carbone et d'énergie) et croît rapidement sur des milieux usuels (gélose de sang de mouton) à 37°C.

Acinetobacter baumannii se caractérise par sa température de croissance entre 15°C et 44°C, critère essentiel dans le diagnostic différentiel avec les autres espèces **(32, 38, 39).**

2.3.3. Caractères biochimiques :

Sont des bactéries strictement aérobies, non-fermentant, non fastidieux, immobiles.

La très grande majorité des tests biochimiques habituellement utilisés en bactériologie clinique sont négatifs : oxydase(-), décarboxylase pour la lysine(-), Ils ne réduisent habituellement pas les nitrates en nitrites en milieu complexe mais sa catalase positive **(32,38).**

2.4. *Staphylococcus aureus* :

2.4.1. Caractères morphologiques :

Les staphylocoques sont des cocci Gram positif, immobiles, isolés ou groupés en diplocoques ou le plus souvent en amas plan de plusieurs éléments (grappe de raisin), diamètre moyen 0,8 à 1 µm.

La grande majorité des souches *S. aureus* sont capsulées, mais les souches peuvent perdre leur capsule après la culture **(31,40).**

2.4.2. Caractères culturaux :

S.aureus cultive facilement sur les milieux usuels à des conditions de pH et de température variables (en 18-24 h à 37 ºC (culture entre 10 et 45 ºC)).

Il est même capable de pousser dans des conditions hostiles, par exemple en présence de 7 % de NaCl. Ce caractère est mis à profit dans le milieu de culture sélectif hypersalé de Chapman pour isoler le staphylocoque d'un prélèvement polymicrobien.

- **Sur gélose ordinaire**, les colonies de *S.aureus* sont lisses, rondes, d'un diamètre de 1 à 3 mm, bombées, opaques, parfois colorées (pigment jaune à jaune-orange), et parfois sont non pigmentées.
- **En gélose profonde**, *S.aureus* pousse dans la zone d'aérobiose et dans la zone d'anaérobiose. C'est donc une bactérie aérobie-anaérobie facultative, capable de pousser sur toute la hauteur du tube signant le caractère aéro-anaérobie facultatif.
- **En bouillon**, la culture de *S.aureus* forme un trouble uniforme en quelques heurs **(31 ,40).**

2.4.3. Caractères biochimiques :

S.aureus a un métabolisme aérobie prédominant et anaérobie facultatif. Il est catalase positive, oxydase négative, métabolise les sucres et de produire l'arginine Dihydrolase (ADH). Il est toutefois capable de fermenter le glucose (métabolisme anaérobie), il est habituellement capable de fermenter le mannitol. Ce caractère est souvent, mais pas obligatoirement associé à la pathogénicité. Il est utilisé dans le milieu de Chapman. La fermentation se traduit par le virage au jaune du milieu de culture **(31,40).**

2.5. *Streptococcus spp* :

2.5.1. Caractères morphologiques :

Les streptocoques sont des cocci de taille et de forme irrégulières, à Gram positif, de diamètre inferieur à 2 µm. Ils sont groupés en diplocoques ou en chainettes de longueur variable, immobiles, acapsulés et asporulés **(31,32)**.

2.5.2. Caractères culturaux :

Les streptocoques sont des germes exigeants qui ne poussent donc pas sur les milieux de culture ordinaires. Ceux-ci doivent être additionnés de sérum ou de sang frais (milieu enrichi de 5% de sang de cheval, de mouton ou de lapin) **(31,32).**

- **En bouillon,** les streptocoques poussent en donnant des flocons et un dépôt au fond du tube dû aux longues chainettes.
- **Sur gélose au sang,** ils donnent de petites colonies grisâtres, translucides, entourées d'une zone d'hémolyse totale (hémolyse bêta) pour les streptocoques des groupes A, C, G, tandis que les autres streptocoques donnent une hémolyse partielle (hémolyse alpha) ou pas d'hémolyse du tout **(31).**

2.5.3. Caractères biochimiques :

Les streptocoques sont des bactéries à métabolisme anaérobie mais aérobie tolérant. Ils n'ont pas de catalase et sont oxydase négatif, Ils produisent de l'acide lactique par fermentation du glucose **(31).**

2.6. *Entérobacter* :

Les espèces du genre *Enterobacter* font partie de la famille des *Enterobacteriaceae,* dans la plupart des cas, les Entérobactéries se développent sous la forme des colonies rondes, lisses (ou « smooth », en abrégé S), à bords réguliers d'un diamètre de 2 à 3 mm après 18 h d'incubation à 37 °C.

Sont définis comme des bacilles à Gram négatif (2 à 4 micromètres de long sur 0,4 à 0,6 micromètre de large), sont aérobies - anaérobies facultatifs, capable de pousser sur les

milieux de culture ordinaires, mobiles avec ciliature péritriche ou immobiles, fermentant le glucose avec ou sans production de gaz, réduisant les nitrates en nitrites, son oxydase négatives, catalases positive, et se caractérise par l'absence des spores**.**

Les espèces du genre *Enterobacter* sont des bacilles Gram négatifs anaérobies facultatifs mesurant 0,6 à 1 µm de diamètre et 1,2 à 3 µm de longueur; ils se déplacent grâce à un flagelle péritriche. Ils produisent un acide à partir de la fermentation du glucose, leur température optimale de croissance est de 30 °C. 80% des bacilles sont encapsulés.

En plus des caractères communs aux entérobactéries, les Enterobacter sont : Glucose (+), Lactose (+), ONPG (+), Urée (-), Indole (-), Citrate (+), H_2S (-) **(31,32).**

2.7. *Enterobacter sakazakii* :

Enterobacter sakazakii est associé à des cas graves et souvent mortels de méningite infantile **(41).**

2.7.1. Caractère morphologique :

E.sakazakii est un bacille, mobile à Gram négatif, asporulés, leurs colonies sont pigmentées en jaune surtout si les milieux de cultures sont incubés à température ambiante (ce pigment peut être perdu en subculture). Deux types de colonies peuvent être observés : des colonies sèches ou mucoïdes difficiles à détacher et des colonies lisses plus faciles à détacher du milieu **(32).**

2.7.2. Caractères de culture :

Sur les boîtes de Pétri, elle peut former deux types de colonies (brillantes et/ou mates) selon le milieu de culture et la souche. Cette espèce est particulièrement résistance à la dessiccation d'acidité et au stress osmotique, ceci expliquant sa capacité à coloniser des surfaces inertes. Enfin, la production d'une capsule lui permet de mieux adhérer aux supports et de former des biofilms **(32).**

2.7.3. Caractère biochimique :

Les souches sont ODC et ADH positif, LDC et uréase négatives. Elles fermentent le saccharose, le mélibiose mais pas le D-sorbitol, ni le mucate. Elles possèdent des activités a-glucosidase. Ces caractères permettent habituellement de les différencier des espèces phénotypiquement proches **(32).**

V. Diagnostic de la méningite bactérienne :

1. Diagnostic clinique :

Le tableau clinique dépend de l'âge du patient.

❖ Enfant de plus d'une année est adulte : se caractérise par une fièvre d'installation brutale (température rectale > 38,5° C) associée à un ou plusieurs des signes suivants :

- Céphalées intenses, photophobie, raideur de nuque, Signes de Brudzinski et de kernig, purpura pétéchial ou ecchymotique (souvent lie à une infection à méningocoque).
- Dans les formes sévères : coma, convulsions, signes de focalisation, purpura fulminans.

❖ Enfant de moins d'une année : les signes classiques sont en règle absents

- Irritabilité, fièvre ou hypothermie, altération de l'état général, refus de s'alimenter /téter ou vomissements, les autres signes peuvent être : convulsion, apnées, trouble de conscience, bombement de la fontanelle(en dehors des cris) ; occasionnellement : raideur de nique et éruption purpurique **(42 ,43).**

- En Tunisie, dans une étude qui effectue dans le service de pédiatrie de l'hôpital Tahar Sfar de Mahdia par **Ben Hamouda.H et al, (2013),** ils ont trouvé que les principaux signes été la fièvre (43,2 %), les troubles de comportement (29,5 %), les convulsions (18,2 %) , la détresse respiratoire (13,6 %) et vomissement avec 9% **(44).**
- Et selon étude qui a été réalisé par **Modi.S, (2013)** en Inde, les patients présentaient des symptomatologies variables qui variaient entre le mal de tête (99%), la fièvre (96,5%), la nausée (90,3%),vomissement par projectile (90%), rigidité du cou (89,2%), altération de conscience (16,3%), convulsions (4%), opisthotonie (3,3%), Hypotension (6,2%) et éruption cutanée dans 12,6% des cas **(45).**
- Et selon **van de Beek.D et al, (2004)** en Pays-Bas, les Symptômes classiques et les signes de méningite bactérienne étaient présents dans une grande proportion des patients, le mal de tête s'est produit dans 87% cas, la raideur du cou dans 83%, la fièvre 77%, et une modification de l'état mental dans 69%. Seulement 44 % des cas ont été caractérisés par la triade classique de la fièvre, de la raideur du cou et un changement d'état mental **(46).**

2. Diagnostique biologique:

Une fois le diagnostic de méningite envisagée sur les arguments cliniques, il ne peut être prouvé que par l'examen du LCR.

Le diagnostic de confirmation de la méningite est avant tout un diagnostic bactériologique. Il dépend de la qualité des prélèvements qui doivent être réalisés avant le démarrage de l'antibiothérapie pour préserver la viabilité des agents étiologiques en respectant les conditions strictes d'asepsie et acheminés au laboratoire dans les plus brefs délais **(47).**

2.1. Le prélèvement de LCR :

En cas de suspicion de méningite bactérienne, le premier geste à réaliser dans un but diagnostique est la ponction lombaire. Le prélèvement de LCR se fait habituellement dans l'espace L4–L5 ou L5–S1**(48).**

L'analyse microbiologique du LCR et du sang restent les premiers examens de confirmation de méningite réalisés avec asepsie. En plus du LCR et du sang, on peut utiliser les prélèvements rhinopharyngé, urétral pour diagnostiquer les méningites **(30).**

Le transport du LCR vers le laboratoire se fait sans délai (moins d'une heure) à cause de la lyse rapide des polynucléaires jusqu'à 50% en 2 heures) **(30,48),** et pour préserver la viabilité des bactéries **(47).**

En aucun cas le LCR ne devra être conservé au réfrigérateur **(47).** Il doit être protégé du froid, de la dessiccation et des fortes températures à cause de la fragilité de certaines bactéries, en particulier les méningocoques **(30).**

2.2. Analyse de LCR :

La première étape de l'analyse consiste à noter l'aspect du liquide **(48).**

2.2.1. L'aspect de LCR :

Un LCR normal présente **un aspect clair**, limpide (eau de roche), dont le taux de glucose est égal à la moitié de la glycémie et le taux de protéines compris entre 0,1 et 0,45 g/l **(49).** Les différents aspects de LCR pathologiques correspondent à des modifications chimiques et / ou cellulaires, il peut apparaitre hémorragique, xanthochromique ou encore trouble **(48, 50) :**

- **Le LCR est d'aspect trouble** par augmentation des polynucléaires. En fonction de l'intensité de cette augmentation on peut distinguer différents degrés : de légèrement trouble à purulent, eau de riz (ou trouble, à partir d'environ 200 éléments /Mm^3).

- **Le LCR est hématique voire hémorragique :** en cas d'hémorragie méningée ou de brèche vasculaire locale **(47,48).**

- **Le LCR néonatal est souvent xanthochromie :** à cause de l'élévation fréquente des niveaux de bilirubine et de protéines à ce groupe âgé **(50).**

Tableau 4 : Hypothèse de diagnostic en fonction de l'aspect de LCR **(47).**

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

2.2.2. Analyses cytologiques :

- **Dénombrer les éléments cellulaires :**

Le premier temps de l'examen est le comptage des leucocytes et des hématies présents dans le LCR. La formule n'est réalisable qu'à partir de 10 éléments /Mm³ **(51).**

Après agitation douce et homogénéisation du LCR, la numération des éléments cellulaires est réalisée dans un hématimètre en verre du type « Cellule de Nageotte ».

Diluer le LCR si nécessaire et tenir compte de la dilution pour le résultat.

En cas de LCR hématique, lyser les globules rouges avec une solution de lyse et tenir compte de la dilution **(47).**

Le **LCR normal** : 3 à 5 éléments / Mm³

En période néonatale, le nombre d'éléments peut atteindre 20 à 50 / Mm³.

Dès que le nombre d'éléments est supérieur à 10/ Mm³, la formule leucocytaire est effectuée.

Dénombrer la proportion des polynucléaires par rapport aux lymphocytes sur une centaine de leucocytes pour établir la formule leucocytaire **(47).**

Les leucocytes dans le LCR sont élevés dans les méningites bactériennes, habituellement supérieurs à 1000/Mm³ **(43).**

La confrontation des données cytologiques et biochimiques du LCR oriente sur différentes hypothèses diagnostiques **(48).**

2.2.3. Examen biochimique de LCR :

Deux paramètres sont systématiquement dosés dans le LCR : la glycorachie, et la protéinorachie **(48).**

- **Protéinorachie :**

Les valeurs normales de la protéinorachie sont comprises entre 0,10 et 0,45 g/l, ces valeurs étant cependant plus élevées en période néonatale jusqu'à 2 mois. Une élévation de la protéinorachie se rencontre dans des nombreuses pathologies notamment en cas d'infection **(52).**

Lors de méningites purulentes, la protéinorachie varie entre 1 et 5 g/l, et l'hyperprotéinorachie peut persister 2 à 3 semaines après le début de la méningite.

Au cours du traitement, la protéinorachie est plus longue à se normaliser que la glycorachie ou la réaction cellulaire. Des hyperprotéinorachie sont également observées dans certaines pathologies neurologiques, mais le contexte clinique diffère de celui des méningites **(48).** La protéinorachie élevée est significativement associée aux méningites bactriennes **(51).**

- **Glycorachie :**

La glycorachie doit toujours être déterminée simultanément à la glycémie, une glycorachie normale étant égale aux deux tiers de la glycémie. Une hypoglycorachie est généralement associée à une méningite bactérienne **(48).** Le taux faible de glycorachie peut être expliqué par la consommation de glucose par les bactéries (glycolyse) **(53).**

Bien que le taux de glucose soit habituellement normal dans les infections virales. Le taux de glycorachie chez les nouveau-nés est généralement varié beaucoup plus que chez les adultes **(50).**

2.3. L'examen direct et coloration de Gram :

La coloration de Gram est rapide, simple, fiable et peu couteuse. Des nombreuses études des méningites bactériennes communautaires ont montrée que la sensibilité de cette technique varie entre 60 et 97 % pour une spécificité qui approche les 100% en l'absence de traitement antibiotique **(54).** En cas de traitement précoce, la sensibilité est généralement comprise entre 40 et 60 %, voire mois. Elle est négative dans 70% des cas chez certains auteurs **(55).**

L'efficacité de cette technique dépend de la charge bactérienne présente dans l'échantillon qui peut être considérablement réduite en cas de pris d'antibiotique. Il est généralement admis qu'un inoculum d'au mois 10^5 (bactéries /ml) est nécessaire pour être visible par la coloration de Gram. En effet, pour un inoculum inférieur à 10^3 (bactérie /ml), la sensibilité de la coloration de Gram est de 25%, pour un inoculum compris entre 10^3 et 10^5 (bactéries /ml), elle est de 60% et de 97% pour un inoculum supérieur à 10^5 (bactéries /ml)

(51,56). Dans cette même étude, les auteurs démontrent que plus de 56% des LCR positifs en culture ont une charge bactrienne supérieure à 10^5 CFU/ml.

L'examen direct bactériologique par coloration de Gram est négatif dans 70% des cas de méningites bactériennes postopératoires. Les cultures doivent être prolongées et sont prolongées et considérées négatives au-delà de 72 heures **(25).**

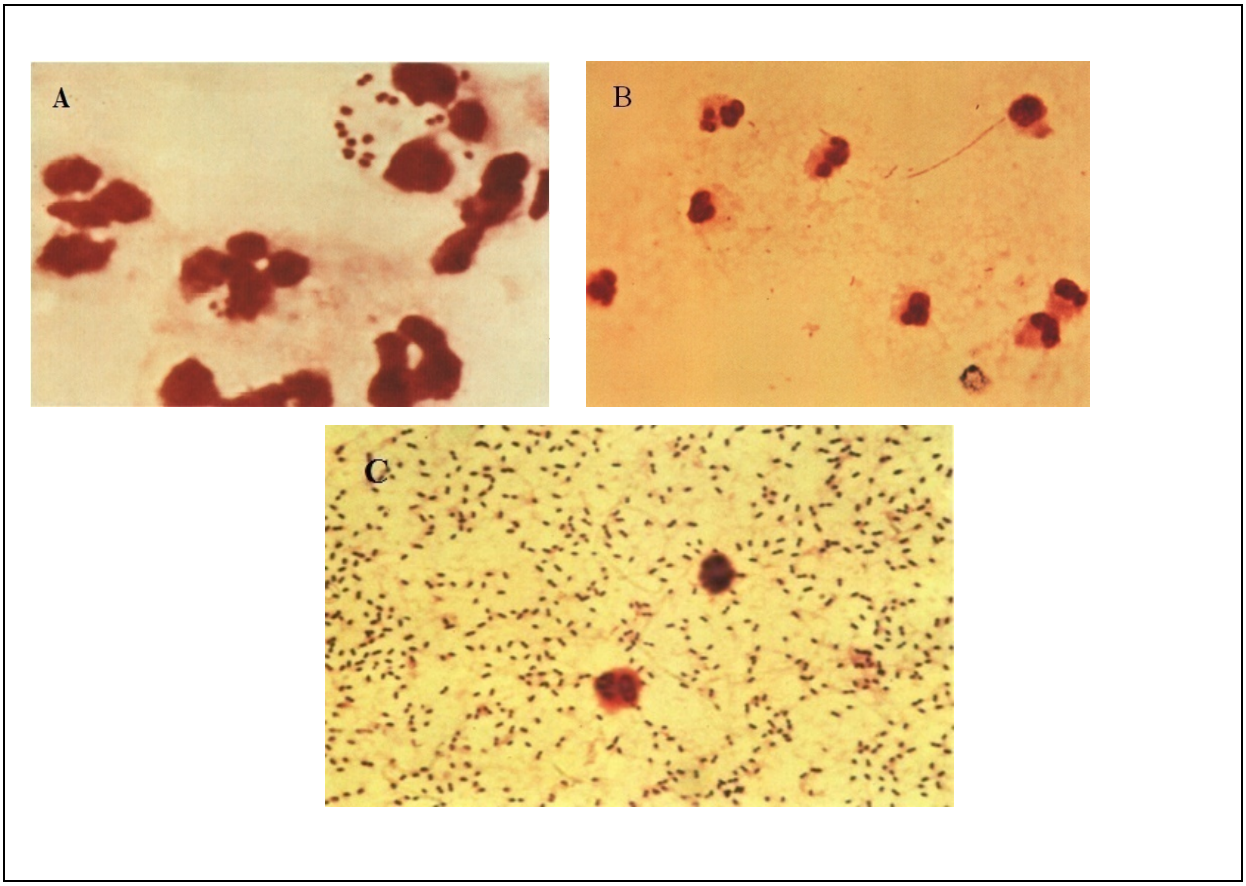


Figure 7: Examen bacteriologique direct du LCR aprés coloration de gram **: (30).**

A : N.méningitidis.

B : H.influenzae .

C : S.pneumoniae.

2.4. Mettre en culture de LCR :

la culture affirme le diagnostic, permet d'identifier la bactérie responsable et de mesurer la sensibilité aux antibiotiques .

Cette examen peut être pris en défaut en raison de la prise d'antibiotique avant la réalisation de la ponction lombaire, du délai et des conditions d'acheminement du prélèvement au laboratoire incompatibles avec la survie des bactéries particulièrement fragiles et aussi si l'inoculum bactèrien est très faible **(51).**

Les mileux ensemensements sont sélectionnés pour permettre la croissance des bactéries les plus fréquemment isolées dans les méningites communautaires quelles que soient leurs exigences **(51).**

Tableau 5 : Comparaisant entre la méningite bacterienne et la méningite viral (**57**).

	La méningite bacterienne	**La méningite viral**
La némiration des globules blanches (cellule par µl)	**1000 - 10000**	**< 300**
Les neutrophiles	**> 80 %**	**< 20%**
Le niveau de protiene	**Elvée**	**Normal**
Le niveau de glucose	**Réduit**	**Normal**

3. Diagnostic bacteriologique :

3.1.*Neiseria meingitidis :*

Pour le diagnostic des *N.meningitidis* on base sur la coloration de Gram donc sont des diplocoques à Gram négatif ensuite on passe aux tests complémentaires suivant :

- **Test de l'oxydase de Kovac :**

Le test de l'oxydase permet de mettre en évidence un cytochrome-oxydase **(30).** Les cytochromes sont des pigments hémo-protéique présents chez la plupart des cellules vivantes en particulier chez les bactéries aéro-anaérobies. Ces protéines interviennent dans les métabolismes d'oxydo-réduction, les cytochromes du type C sont détectés par le test de l'oxydase, seul test utilisé en pratique **(32).**

Le chlorhydrate de tétraméthyle - p- phénylène diamine est oxydé en un composé violet par les bactéries qui possèdent le système cytochrome C dans leur chaine respiratoire **(30).**

La réalisation de test:

Déposer sur une lame porte-objet propre, un disque « Ox » et l'imbiber avec une goutte d'eau distillée ou d'eau physiologique stérile. Prélever une partie des colonies à étudier à l'aide d'une pipette Pasteur boutonnée stérile et l'étaler sur le disque.

Une coloration violet foncé apparait immédiatement sur le disque ou en quelques secondes puis vire au noir **(58).**

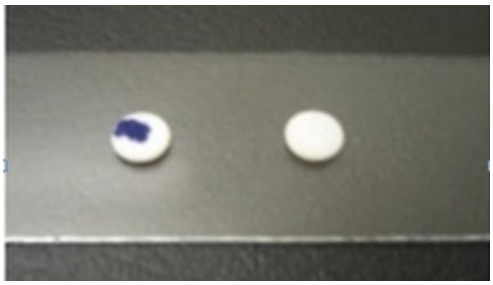


Figure 8 : Réaction d'oxydase positive à gauche, réaction d'oxydase négative à droite (**59**).

- **Test d'agglutination sur lame :**

Des tests d'agglutination sur lame peuvent faciliter l'identification à partir des colonies obtenues sur gélose au sang. On connaît actuellement plusieurs sérogroupes définis par leurs polyosides capsulaires. A, B, C, W135 et Y sont les sérogroupes les plus fréquemment isolés au cours des méningites à méningocoque **(30).** La réaction d'agglutination est facilitée par une température élevée (37-56°C) et le mouvement, qui augmente le contact entre l'antigène et l'anticorps. L'agrégation de grappes nécessite la présence de sels. On peut réaliser le test d'agglutination microscopiquement en mélange un loop de sérum avec une suspension de micro-organismes sur une lame, et en observant le résultat à travers un objectif de faible puissance. Ceci se fait communément pour identifier des cultures inconnues **(60).**

- **La galerie API NH :**

La confirmation de diagnostic des *N. meningitidis* est apportée par des nombreux tests biochimiques **(47),** dont la majorité sont cités dans la partie des caractères biochimiques (tableau 1, page 9).

Le système API NH fournit de 13 tests : 4 tests de fermentation (glucose, fructose, maltose et saccharose) et 8 réactions enzymatiques (ornithine décarboxylase (ODC), uréase, Lipase, prosphatase alcaline, 3-galactosidase, proline Arylamidase, y-glutamyl transferase, production d'indol et détection de la pénicillase.

Les réactions produisent soit spontanément avaient un changement de couleur ou sont révélés par l'ajout de réactifs. L'opacité égale à celle de l'étalon 4 de McFarland standard dans une suspension lourde en solution saline, la suspension a été préparée en roulant un écouvillon sur la culture obtenue à partir une gélose au chocolat.

La suspension était immédiatement inoculée dans les microtubes de la bande selon les instructions du fabricant.

Recouvrir les 7 premiers tests (PEN à URE) d'huile de paraffine. Après une période d'incubation de 2 h à 35 - 37 ° C dans des conditions aérobies, les réactions ont été lues visuellement et l'identification a été obtenue en consultant la liste de profils incluse dans les instructions manuelles **(61).**

Les trois derniers microtubes sont bifonctionnels et permettent la réalisation de 2 réactions dans le même tube :

Le réactif ZYM B est ajouté dans les microtubes 8 et 9 : LIP/ProA et PAL/GGT.

Le réactif JAMES est ajouté dans le microtube 10 : βGAL/IND.

La lecture des résultats est faite avant et après addition des réactifs selon les instructions des fabricants.



Figure 9: Photo de la Galerie API NH d'identification de *N.meningitidis* **(62).**

3.2. *Stréptococcus pneumoniae* :

À la base de coloration de Gram *S. pneumoniae* est un diplocoque à Gram positif. Incuber 18 à 24 heures à 35°C dans un incubateur de CO_2 **(30),** les colonies sont planes avec un centre concave et une légère zone alpha hémolytique verte. Confirmer par le test de sensibilité à l'optochine, le test de lyse par les sels biliaires et l'agglutination avec le latex pneumocoque **(47).**

Test de sensibilité à l'optochine :

L'identification présomptive de *S.pneumoniae* consiste à examiner la sensibilité de la souche à l'optochine.

Réalisation du test :

- Toucher une colonie suspecte alpha hémolytique avec une anse stérile et ensemencer sur une gélose au sang.
- Déposer un disque à l'optochine ou un disque P de 6 mm de diamètre (contenant 5ug d'éthylhydrocupréine) à l'extrémité de la strié, ou a commencé l'ensemencement, trois ou quatre colonies peuvent être testées sur la même boite.
- Incuber 18 à 24 heures à 35 °C dans un incubateur à CO_2 **(30).**

- Les souches alphas hémolytiques présentant une zone d'inhibition supérieure à 14 mm sont des pneumocoques tandis que les souches alphas hémolytiques sans zone d'inhibition sont des streptocoques 'viridans'.
- Les souches alphas hémolytiques avec des zones d'inhibition comprises entre 9 et de 13 doivent subir un test lyse par la bile **(30).**

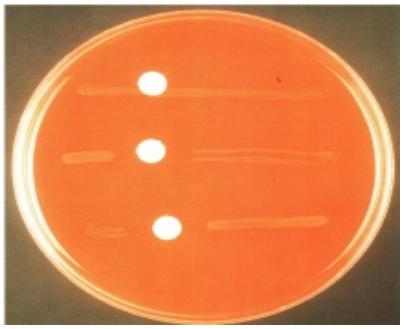


Figure 10 : Identification de *S.pneumoniae* par le test de sensibilité à l'optochine.la souche de la strie du haut est résistante à l'optochine, ce n'est pas un pneumocoque.les souches des stries du centre et du bas sont sensibles à l'optochine, ce sont des pneumocoques (**30**).

Test de solubilité dans les sels biliaires :

L'identification peut être complétée par la lyse par la bile ou les sels biliaires d'une culture en bouillon dans un temps et à une température donnée. Ce test est surtout utilisé pour le diagnostic de *Streptococcus pneumoniae* **(31,32).**

Réalisation de test :

Préparer une solution de désoxycholate de sodium ou à 10% dans l'eau distillée. Une suspension épaisse de la souche à tester est réalisée dans 1 mL d'eau physiologique.

Ajouter une goutte de rouge de phénol et ajuster à pH 7 on ajoutant des goutes de NaOH 0,1 M. Séparer la suspension neutralisée en 2 tubes d'ont un servira de témoin, dans l'un des 2 introduire 0,5 ml de solution de sels biliaires et 0,5ml de l'eau physiologique stérile au tube témoin.

Incuber 3 heures à 35C en agitant toutes les heures, le test est positif pour *S .pneumoniae* **(32).**

Culture positive sur gélose chocolat

Coloration de gram : diplocoques à gram positif

⇩

Test de sensibilité à l'optochine et Test de lyse par la bile

⇩

Sensibilité à L'optochine (mm)	test de lyse par la bile	Interprétation
ZI > 14	**+**	***S. pneumoniae***
14 > ZI > 8	**+**	***S. pneumoniae***
14 > ZI > 8	**-**	**Ce ne pas *S. pneumoniae***
ZI=0	**-**	**Ce ne pas *S. pneumoniae***

ZI = zone d'inhibition autour des disques à l'optochine.

Figure 11 : Identification de *S.pneumoniae* (**30**).

- **Test d'agglutination :**

Des tests d'agglutination sur lame peuvent faciliter l'identification de *S.pneumoniae* à partir des colonies obtenues sur gélose au sang, bien suivre les instructions des fabricants lors d'utilisation de ces tests **(30).**

3.3. *Haemophilus influenzae* :

Le diagnostic de *H. influenzae* basé sur la coloration de Gram donc est des petits bacilles ou coccobacilles à Gram négatif, qui ne cultivent qu'en présence des facteurs X et V, qui poussent sur la gélose chocolat et pas sur gélose au sang.

- **Mise en évidence de l'exigence en facteurs X, V et XV :**

Disques et bandelettes de facteurs X, V et XV :

H.influenzae est un germe exigeant qui a besoin pour cultiver des milieux contenant de l'hémine (facteur X) et du nicotinamide adénine dinucléotide (NAD, facteur V).

La culture sur gélose chocolat est possible car au cours de sa préparation, le chauffage détruit les inhibiteurs de NAD contenus dans le sang frais et libère l'hémine. L'hémine est fourni par

les globules rouges hémolysés et non hémolysés. *H.influenzae* est identifié grâce à son exigence en facteurs X et V **(30, 32).**

- **La galerie API NH :**

La détermination des caractères biochimiques d'identification d'*Hi* par cette galerie est citée précédemment (la partie des caractères biochimique (tableau 3, page 12)).



Figure 12 : Photo de la Galerie API NH d'identification de *H. influenzae* (**62**).

VI. Epidémiologie des méningites bactériennes :

La méningite bactérienne qui est la plus fréquente des infections suppurées intracrâniennes représente un important problème de santé publique, en particulier chez les enfants. Les agents étiologiques des méningites bactériennes varient en fonction de l'âge du sujet et l'état d'immunité du sujet. Passée la période périnatale, trois agents bactériens, dont la transmission se fait d'homme à homme par les sécrétions respiratoires sont les principales causes de la majorité des méningites bactériennes *(Nm, Sp* et *Hi* b) **(30).**

Il y a environ 1,2 million de cas annuel de méningites bactériennes dans le monde.

Cette infection fait partie des dix infections les plus mortelles et est responsable d'environ 135 000 morts annuels, les survivants présentant relativement souvent des séquelles neurologiques importantes (30%). Ce sont surtout les pays en développement qui connaissent l'incidence la plus élevée et la mortalité la plus lourde si bien que la mortalité moyenne est de 20 % environ mais elle dépasse souvent 50 % **(7,63).**

En Afrique des épidémies de méningite frappe chaque année la zone décrite par Lapeyssonie et connue sous le nom de «ceinture de la méningite». Il s'agit d'une zone en Afrique Subsaharienne qui s'étend du Sénégal à l'Éthiopie avec une population évaluée de 400 millions de personnes. L'incidence des MB dans cette région est parmi les plus hautes dans le monde avec une augmentation marquée pendant la saison sèche (entre décembre et juin) **(64,65).** Lorsque les taux d'incidence hebdomadaire augmentent jusqu'à 10/100 000, la ceinture de la méningite africaine et peut dépasser localement 100/100 000 habitants. Même avec des méthodes de traitement rapide et approprié, les cas de mortalité fluctuent autour 10%, et 10-15% des survivants souffrent des séquelles neurologiques à long terme. Alors que *Nm* sérogroupe A (*NmA*) était la principale cause de grandes épidémies de méningite dans la ceinture de méningite africaine, sérogroupes W (*Nm*W), C et X étaient également

responsables des épidémies localisées. D'autres bactéries contribuent à la saisonnalité de la maladie, à savoir *Haemophilus influenzae* type b et *Streptococcus pneumoniae* (**65)**, cette zone a été exposée à des épidémies se produisant à intervalles de 7 à 14 ans au cours des 100 dernières années.

Les facteurs qui peuvent augmenter le risque d'une personne atteint de la méningite bactérienne comprend: âge, milieu communautaire, autres conditions médicales, travailler avec des agents responsables de la méningite et voyager en région endémiques **(1),** et selon l'étude qui a été réalisée par **Gudina. E.K et al, (2016)** en Ethiopie ont montré que *Streptococcus pneumoniae* et *Neisseria meningitidis* sont les plus fréquentes bactéries isolées (respectivement dans 6 cas et 7 cas parmi les 14 cas identifie) **(66).**

Au Maroc, les méningites bactériennes constituent un problème majeur de santé publique en raison de leur incidence, de leur morbidité et de leur mortalité. Au cours de cette dernière décennie des modifications importantes de l'épidémiologie des méningites bactériennes de l'enfant ont été observé partout dans le monde et notamment au Maroc du fait de l'introduction de nouveaux vaccins dirigés contre les principales bactéries responsables des méningites bactériennes **(67).**

L'incidence des MB selon les données du service d'épidémiologie du ministère de la santé, a passé de 17 patients par million d'habitants (ppm) en 2002, à 24 ppm en 2011. La déclaration obligatoire des seuls cas de méningites à méningocoque, la sous déclaration voire même la non déclaration et l'adhésion timide du secteur libéral au système national de surveillance épidémiologique, contribuent à une sous estimation de la fréquence de la maladie **(64).** Selon une étude qui a été faite entre Janvier 2012 et Décembre 2014 incluant tous les cas de méningites bactériennes confirmées dans les différents services de pédiatrie des quatre centres hospitaliers universitaires au Maroc. Le méningocoque était le germe prédominant identifié dans 54,1% des enfants suivi du pneumocoque chez 33% des patients.

Actuellement le méningocoque est devenu le germe le plus responsable de la survenue des méningites bactérienne au Maroc, l'arrivée de nouveaux vaccins et la modification du calendrier vaccinal transformeront encore l'épidémiologie et les données cliniques des méningites d'où la nécessité de la poursuite de la surveillance **(67).**

En Égypte aussi, la méningite bactérienne est endémique avec des cas sporadiques qui se produisent tout au long de l'année **(68).**Et dans une étude qui a été réalisé par **Youssef. FG et al, (2004)** au niveau de douze hôpitaux en Égypte, *Haemophilus influenzae* a été la principale cause de la maladie avec un taux de 39% a suivi par *Streptococcus pneumoniae* (30%) et *Neisseria meningitidis* dans 13% des cas **(69).**

En Tunisie, selon une étude épidémiologique de la méningite bactérienne néonatale réalisée au département de pédiatrie de l'hôpital Hedi Chaker à Sfax pendant 23 ans entre 1990 et 2012**,** 55 cas de MB ont été recueillis. Le taux d'hospitalisation était de 65/100000 avec une apparition annuelle de 2,39 nouveaux cas par an, avec un prédominant des *Enterobacteries* qui a été trouvée dans 50% des cas, suivi de *Streptococcus* du groupe B dans 23,3% **(70).**

En Europe, généralement les pneumocoques sont les agents pathogènes de la méningite les plus fréquents et sont fréquemment à l'origine des séquelles **(29). En Angleterre et Pays de Galles**, *N. meningitidis* est la principale cause de la méningite bactérienne **(71),** le taux d'incidence de la méningite bactérienne acquise est de 1 à 3 pour 100 000 habitants par année. Aux **Pays-Bas**, l'incidence de la méningite chez l'adulte a diminué de 1,72 à 0,94 pour 100 000 par an de 2007 à 2014 **(4).** Et selon étude de **Bijlsma.MW et al, (2015).** Parmi les 1412 cas des méningites bactériennes communautaire, *S. pneumoniae* était la principale espèce causale avec un taux de 72 %, suivi par *Neisseria meningitidis* 17 % **(46).**

En France, et en 2006 le nombre de méningites bactériennes aiguës communautaires survenues a été estimé à 1375 (2,23/100 000). Les germes pathogènes impliqués chez l'adulte sont par ordre de fréquence le *Streptococcus pneumoniae*, *Neisseria meningitidis*, *Listeria monocytogenes, Streptococcus agalactiae* et *Haemophilus influenzae*. La mortalité globale est d'environ 20 % . Les séquelles surviennent dans 30% des cas, plus fréquentes en cas de *streptococcus pneumoniae* **(63).** Deux espèces bactériennes sont à l'origine de 84% des cas : le pneumocoque (59 %) et le méningocoque (25 %). Les autres espèces sont moins souvent responsables des méningites.

La fréquence des bactéries varie en fonction de l'âge. Chez les jeunes adultes (16 à 24 ans), 90% des méningites sont dus au méningocoque. Après l'âge de 25 ans, c'est le pneumocoque qui représente l'étiologie prépondérante, avec près d'un cas sur deux entre 25 et 40 ans et plus de 70% des cas après 40 ans **(63).**

En 2011, la France comptait plus de 10 millions de personnes de plus de 65 ans, soit presque 17 % de la population. Selon les prévisions, cette proportion devrait passer à 29 % en 2025 et à 34 % en 2050. Les maladies infectieuses en général représentent une cause importante de morbidité et de mortalité chez les personnes âgées dont le nombre augmente régulièrement et particulièrement dans les pays développés et sont actuellement une préoccupation quotidienne dans la pratique de tout médecin. C'est d'ailleurs la troisième cause de mortalité primaire après 65 ans et la première cause de mortalité accessoire **(72).**

En Asie, l'incidence des MB diffère d'un pays à l'autre, allant de 183 ppm à 246 ppm selon une étude basée sur l'examen des revues de la littérature de 2000 à 2011 concernant 11 pays (le Bangladesh, le Bhoutan, la Corée du Nord, l'Inde, l'Indonésie, les Maldives, le Myanmar, le Népal, le Sri Lanka, la Thaïlande et Timor Leste) **(73),** et dans une étude qui a été réalisé par **Modi.S et al ,(2013)** en Inde durant la période d'août 2011 à décembre 2012 , *Streptococcus pneumoniae* était le germe le plus fréquemment isolé avec un pourcentage de 60 %, suivi par *Neisseria meningitidis* dans 11% et *Haemophilus influenzae* avec 9,5% des Cas. Alors que les autres agents pathogènes moins isolés souvent, *Escherichia coli* (4%), *Klebsiella spp* (3%) et *Proteus spp* (3%) *Pseudomonas Spp* (2%). *Acinetobacter spp* (1%), *Staphylococcus aureus* (3,50%) et d'autres *Streptococcus* (3%) **(45).**

En Australie, selon une étude qui a été réalisée par **Manning.L et al, (2014),** ont trouvé que parmi les 58 cas avec culture positive, 53 % était *H. influenzae*, 39% était *S. pneumoniae* et *Cryptococcus gattii* dans 5,17% alors que *Staphylococcus aureus* a été isolé dans 1.72% des cas **(74).**

En Amérique, l'incidence annuelle de la méningite bactéries était de 3/100 000 personnes dans l'ensemble et les taux les plus élevés ont été observés parmi nourrissons vieillis < 1 an (77/100 000 personnes) et selon l'étude qui a été réalisée en Amérique du Nord par **Gounder.P, et al. (2015),** ont trouvé que *Streptococcus pneumoniae* a été la principale cause de la maladie avec un taux de 56,27 % a suivi par *Haemophilus influenzae* (23,48 %) et *Neisseria meningitidis* dans 20,24% des cas **(75).**

L'incidence de la méningite bactérienne a considérablement diminué par rapport au 30 années passées grâce à la vaccination systématique des enfants et des adultes sélectionnés. Les soins des cliniciens ont un rôle important dans l'éducation des patients en ce qui concerne l'importance de vaccination. La méningite bactérienne devrait être traitée avec des antibiotiques à large spectre immédiatement pour prévenir une détérioration clinique rapide **(76).**

Tableau 6 : Incidence globale des MB dans certaines parties du monde (**64**).

	Maroc, 2011	**Malawi, 2012**	**France, 2012**	**USA, 2007**	**Cuba, 2007**
Incidence annuelle des MB en ppm	24	200	23	13,8	31

Deuxième partie : étude expérimental

Matériels et méthodes

La partie pratique

I. Objectifs :

1 .Objectif Général :

Recherche et identification des bactéries responsable de la méningite en milieu hospitalier de la wilaya de Médéa.

2. Objectifs spécifiques :

- Déterminer les différentes bactéries isolées du liquide céphalo-rachidien qui sont responsables des infections de la méningite et d'apprécier le taux d'implication de chaque bactérie parmi les autres.
- D'apprécier la corrélation entre la biochimie de LCR, la cytologie de LCR et éventuel résultat positive de la bactériologie.
- Déterminer l'aspect épidémiologique et les principales manifestations de la méningite bactérienne.
- Une étude statistique de la méningite bactérienne dans notre service à l'hôpital de Médéa.

II. Matériels et méthodes :

1. Matériels :

1.1. Lieu et période d'étude :

Notre étude s'est effectuée au niveau de l'hôpital central Mohamed BOUDIAF de la wilaya de Médéa au niveau du laboratoire central de l'hôpital dans le service bactériologie, le (LCR) à été analysé durant une période de Cinq mois, depuis 15 Novembre 2016 jusqu'en 15 Avril 2017.

1.2. Les patients:

Les patients des deux sexes et de tous les âges hospitalisés et diagnostiqués comme des patients attiennent de la méningite.

1.2.1. Inclusion :

Les critères d'inclusion retenus pour cette étude sont des patients de deux sexes.

L'échantillon a été réalisé à partir des consultations des urgences médicales ainsi que des consultations des médecins généraux du déférent service d'hospitalisation pour suspicion de méningite bactérienne.

1.2.2. Exclusion :

Les critères de non-inclusion sont des patients avec une date d'admission en dehors de celles définies pour l'étude, diagnostic biologique de méningite bactérienne confirmé avant l'admission aux urgences, méningite tuberculeuse ou non-bactérienne.

2. Méthodes :

2.1.Etude de liquide céphalorachidienne :

2.1.1. Le prélèvement de LCR :

Tous les malades retenus pour notre étude avaient un prélèvement du LCR par la technique de ponction lombaire qui a été réalisés par un personnel expérimenté (acte médical).

Le LCR était recueilli dans un seul tube puis acheminé dans le service bactériologique au niveau du laboratoire, l'acheminement du LCR vers laboratoire a été faite sans délai (moins de 30 minutes) en raison de la lyse rapide des polynucléaires (jusqu'à 50 % en 2 heures) et la fragilité de certaines bactéries.

2.1.2. Examen macroscopique :

Le LCR réceptionné au laboratoire de bactériologie était soumis à une observation macroscopique on apprécie à l'œil nu les déférentes d'aspect du LCR (**Clair**, **Hématique, Xanthochromique**, **Trouble**, **opalescent.**) (Interprétation : voir la page 18,19).



Figure 13 : Photo de l'aspect macroscopique de LCR (clair à droit et hémorragique à gauche) (photo original).

2.2 : Examen microscopique :

2.2.1 : Examen cytologique :

Le LCR réceptionné était soumis à la cytologie et à un examen microscopique de frottis. La numération leucocytaire a été effectuée directement, après l'agitation douce du LCR total, à la cellule de comptage de Nageotte au microscope à l'objectif x40, elle a permis

de déterminer le nombre de polynucléaires neutrophiles et le nombre de lymphocytes et on prend en considération aussi la présence ou l'absence des globules rouges :

- Déposer sur la cellule de Nageotte une lamelle spéciale.
- Remplir la surface des deux plateaux, on prélève un certain volume à la pipette de pasteur et on remplit la cellule.
- On laisse au repos quelques minutes pour que les éléments se sédimentent.
- La préparation est ensuite placée sur la platine du microscope et on examine à l'objectif x40.
  - ✓ Les comptages se sont fait en élément cellulaire par Mm^3 de LCR.
  - ✓ à l'état normal, LCR à mois de 5 élément / Mm^3(le LCR du nouveau-né peut contenir de 10 à 30 éléments /Mm^3).si la cytologie est positive (supérieure à la valeur normale), une formule leucocytaire doit être effectuée (irréalisable si moins de 10 éléments /Mm^3).

2.2.2 : L'examen direct après coloration de gram :

La coloration de Gram se fait à partir d'un goute de LCR, un frottis a été réalisé sur une lame, ensuite la lame était séché à l'air, fixé et coloré au Gram, la lecture a été réalisée au microscope à l'objectif x100.

Il a permis ainsi la mise en évidence des germes c'est -à- dire leur morphologie et leur mode d'association nous donnant une première approche du diagnostic étiologique et favorisant le choix des milieux techniques d'identification.

2.3. Examen biochimique :

Au même temps avec l'analyse cytobactériologique du LCR, l'analyse biochimique reste obligatoire et préliminaire pour toute interprétation des résultats de méningite. Cette analyse base surtout sur la protéinorachie et la glycorachie.

- ❖ **La Glycorachie :**

En cas de méningite (purulente notamment) la teneur du LCR en glucose est perturbée et le dosage de ce dernier nous permettons d'orienter le diagnostic vers une étiologie précise.

Le dosage de glycémie :

À l'aide d'une micropipette, on a prend 10 µl de LCR avec 1000 µl de glucose et on a mélangé dans un tube à hémolyse stérile qui était par la suit incubé pondant 10 minutes dans un bain marie.

La lecture a été faite par un instrument ″spectrophotomètre″ suit à l'absorption de mélange qui donne la valeur exacte de glycémie dans LCR en g/L.

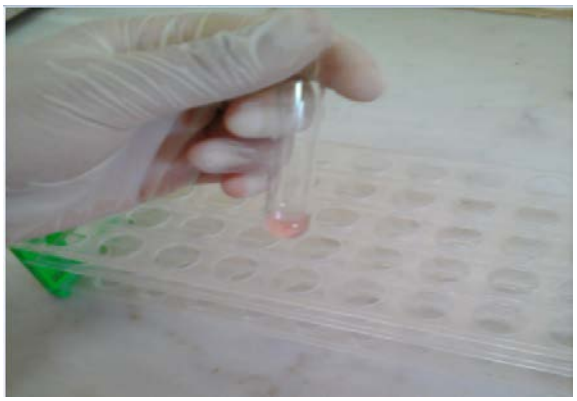


Figure 14 : Photo de dosage de glycorachie (photo original).

❖ **Protéinorachie :**

On a déposé dans un tube à hémolyse stérile 20µl de LCR avec 1000µl de protéines LCR puis le mélange est resté dans une température ambiante pendant 10 minutes. Pour la suit la lecture du résultat a été effectué de la même manière pour le dosage de glycorachie.

Tableau 7 : Comparaison chimique entre LCR en cas normale et en cas de méningite. (Pour plus de détaille voir la page 20).

	LCR normal	Méningite
Protéinorachie	0.10 < PT > 0.45	Hyperprotéinorachie
glycorachie	2/3 de la glycémie	Hypoglycogachie

PT : protéinorachie

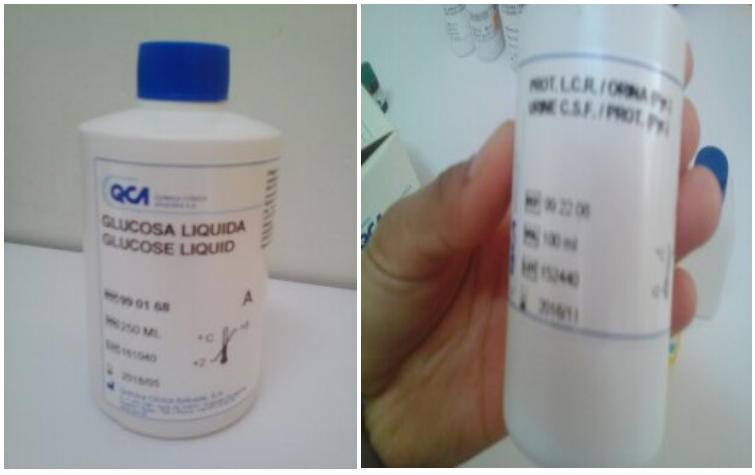


Figure 15: Photo de réactif de glycorachie à gauche (glucose) et protéinorachie à droit (protéine) (photo original).



Figure 16 : Photo d'un instrument ″spectrophotomètre″ pour le dosage de glycorachie et de protéinorachie (photo original).

2.4. La mise en culture :

La culture effectué systématiquement en premier temps afin d'éviter tout risque de contamination du LCR, dans tous les cas, LCR a été ensemencés sur des milieux permettant la croissance des bactéries responsable des méningites.

- La gélose chocolat à base de sang de mouton a été le milieu de culture utilisé pour ensemencer la plupart des germes responsables des MB. les milieux gélosés ensemencés, incubés à 37°C dans une cloche à bougie ce qui permet enrichissement de milieu en CO_2, le résultat a été observé en 24 h à 48 heures.
- Le milieu gélosé ensemencé a été incubé aussi à 37°C en anaérobiose on utilise des sachets industriels (Anaerogen ™ 3,5 L, Atmosphere Generation Systems) qui a été déposé dans une jarre qui est bien fermée pour assurer un milieu anaérobie.
- Utilisation des autres milieux, tel que la gélose au sang du mouton, la gélose nutritif (un milieu ordinaire pour assurer la multiplication de la majorité des bactéries non exigeant), le milieu Chapman (un milieu sélectif pour les *Staphylocoques*) et le milieu héktoen (un milieu sélectif pour les *Entérobactéries),* l'utilisation de ces milieux ont été faite dans certains cas. le choix des milieux utilisé a été basé sur les résultats de la coloration de Gram et examen cytologique de LCR.

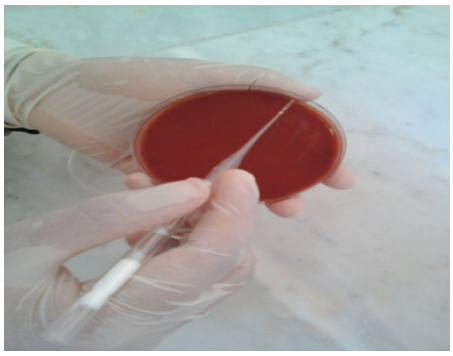






Figure 17 : Photo d'incubation des bactéries en milieu anaérobie (photo original).

2.4.1. Identification des germes :

Identification des bactéries isolées a été faite en fonction des caractères morphologiques, culturaux, biochimiques et antigéniques :

- L'étude des cultures positives est faite par la détermination des caractères biochimiques de la majorité des bactéries, il se fait à l'aide des tests d'orientation rapide telle que : Oxydase, catalase, coagulase et de la sensibilité à optochine (pour les pneumocoques). On base aussi sur examen morphologique et l'aspect des colonies et confirmée par coloration de Gram.
- La pureté des cultures a été vérifiée avec l'aspect des colonies et confirmée par la coloration de Gram. Si la culture n'était pas pure, nous avons procédé aux repiquages afin d'obtenir une culture pure.

❖ La coloration de gram :

- **Préparation de frottis :**

La coloration de gram a été effectuée à partir d'une suspension bactériennes (un ou deux colonies) qui été mélangées avec une ou deux goute de l'eau physiologie et étalé bien sur une lame. Cette dernière est déposée dans l'étuve jusqu'à séchage et en la passante 2 à 3 fois sous le bec benzène pour la fixation.

❖ Le test d'oxydase :

La recherche d'oxydase est un test fondamental pour orienter l'identification des bactéries Gram négative. Le test a été faite par l'utilisation d'un disque d'oxydase qui a été déposé sur une lame, à l'aide d'une pipette Pasteure on a étalé une colonie issue d'une culture de 18 à 24 heures de la bactérie à tester sur ce disque-là.

L'apparition d'une couleur violet au bout de 30 secondes indique que le test est positif et la bactérie possède le cytochrome oxydase.



Figure 18 : Test d'oxydase positive à gauche et témoin négatif à droite (photo original).

❖ Le test catalase :

Sur une lame propre et sèche on a déposé une goutte d'eau oxygénée (H_2O_2), ce dernier a été mettre en contact avec une colonie isolée et prélevée directement avec une pipette Pasteure boutonnée, l'observation est immédiate ;

L'apparition des bulles indique que la bactérie est catalase positive.

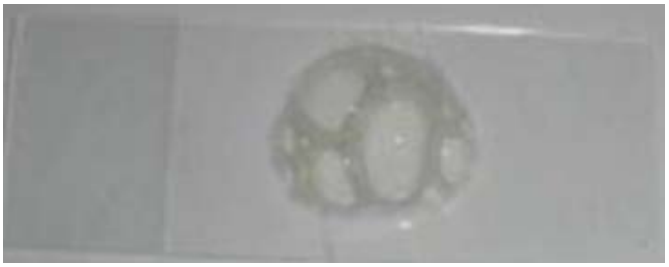


Figure 19 : Test catalase positive (photo original).

❖ Le test de coagulase :

Ce test mettant en évidence l'aptitude des bactéries à coaguler le plasma de lapin est le principal test caractérisant de *S. aureus*.

À l'aide d'une pipette Pasteur on a prélevé quelque colonies isolées de souche à tester que l'on a déposé dans 200 µl de plasma de lapin par la suit l'incubation a été réalisé dans un délai de 4 à 24 heures à 37°C.

La présence de la coagulase est manifestée par la coagulation du plasma et l'apparition d'un caillot est observée en inclinant le tube à 90°.

❖ Galerie API 20 E :

On a utilisé généralement pour identification des entérobactéries.

Préparation de l'inoculum :

À l'aide d'une pipette de Pasteure stérile, on a prélevé quelque colonie bien isolée et on a mélangé dans un tube d'eau physiologie on réalise une suspension bien homogène. La suspension est utilisée immédiatement après sa préparation.

Inoculation de la galerie et la lecture de résultat se fait selon les instruments du fabriquant.



Figure 20 : Photo de la galerie API 20 E pour l'identification des *Entérobactéries* (photo original).

❖ Test de sensibilité à l'optochine :

Ce test est fondamental pour identification de *S. pneumoniae*.

On a disposé un disque d'optochine du commerce (contenant 5µg d'éthylhydrocupréine) sur un ensemencement de pneumocoque en gélose au sang. L'ensemencement a été effectué a partir d'une colonie suspecte alpha hémolytique, ensuit l'incubation a été faite pondant 18-24 heures à 37°C dans une cloche à bougie.

Pour la lecture, les souches alpha hémolytiques présentant une zone d'inhibition supérieure à 14mm sont des pneumocoques. Alors que les souches alpha hémolytiques sans zone d'inhibition sont des streptocoques ″viridans″.

❖ La recherche des antigènes soluble :

La technique utilisée était la réaction d'agglutination sur lame. Le coffret utilisé était: PASTOREX MENINGITIS (BIO-RAD) F- 92430 pour identification de *N.meningitidis* A, B, C, Y, W135 et *S.pneumoniae*. Le test d'agglutination a été réalisé de la façon suivante :

- Sur une lame de verre, ou carte jetable.
- Déposer une goutte de chaque réactif et à chaque goutte, ajouter une ou deux colonies de la bactérie a testé.

- Mélanger l'ensemble à l'aide d'un bâtonnet, en prenant de changer de bâtonnet à chaque réactif. Un léger mouvement de rotation pendant 2 à 10 minutes à main.
- La lecture était faite à partir d'un bon éclairage. La réaction positive se traduisait par l'apparition d'une agglutination en moins de 2 minutes.



Figure 21 : Photo de PASTOREX meningitidis kit pour l'identification de N meningitidis et S. pneumoniae (photo original).

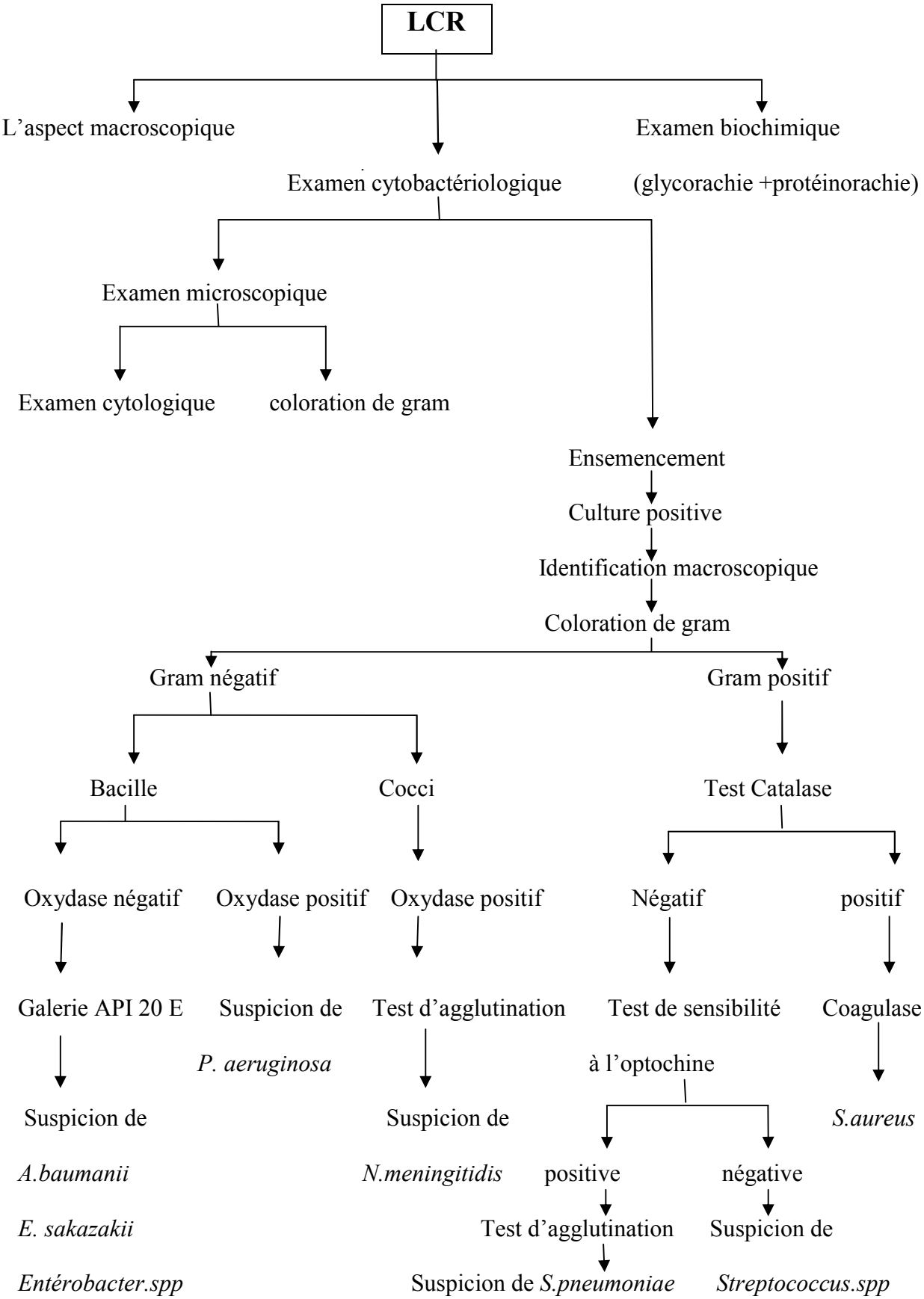


Figure 22 : Démarche diagnostique sur le liquide céphalorachidien (LCR) (original).

Résultat

Résultat :

I. Répartition des méningites :

Dans notre étude nous avons reçu au laboratoire de microbiologie 613 prélèvements de LCR, dont la majorité a été négative d'après l'étude cytobactériologique de LCR avec un taux de 83,03% (509 cas) tant que les cas avec une cytologie positive représentent 16,97% (104 cas).

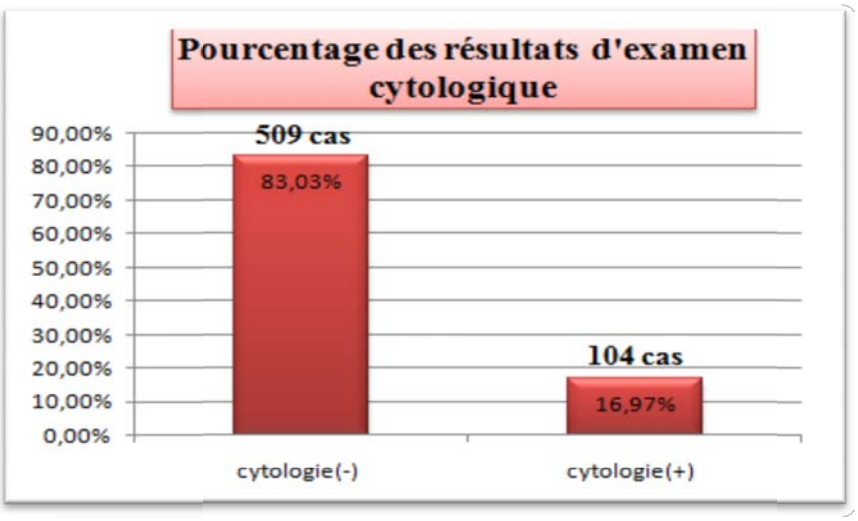


Figure 23: Taux en pourcentage des résultats cytologique de LCR.

Les résultats d'examen cytobactériologique de LCR représentent 91,35% (95 cas) pour la cytologie positive culture négative et ce qui concerne la cytologie positive et culture positive représentent seulement 8,65% (9 cas).

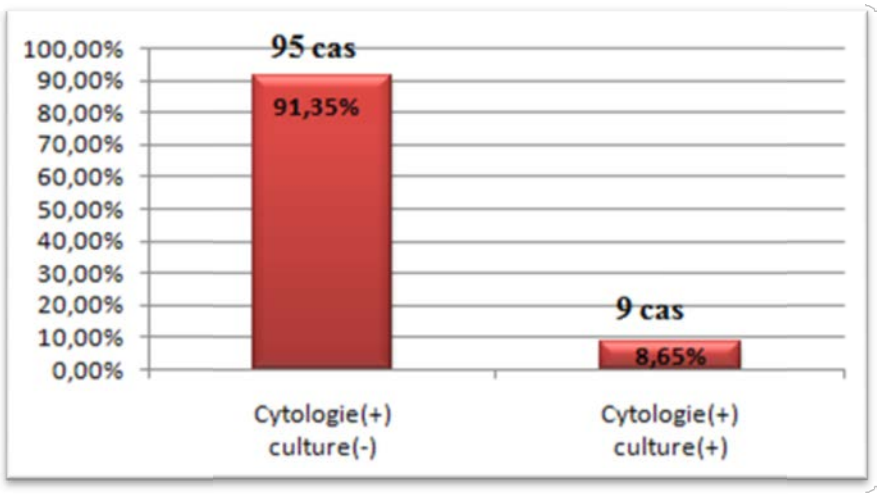


Figure 24: Taux en pourcentage des résultats de la bactériologie parmi les échantillons à cytologie positive.

1. Répartition des cas selon le sexe :

Parmi les 104 LCR qui ont été identifié comme cytologie positive pour suspicion des méningites une prédominance masculine est observée dans 61,54% (sexe-ratio de 1,6) parmi eux, 7 cas ont un examen bactériologique positif, et le sexe féminin avec un taux de 38,46% parmi eux 2 cas ont un examen bactériologique positif. Il s'est avéré que la population la plus touchée par les méningites est de sexe masculin que le féminin.

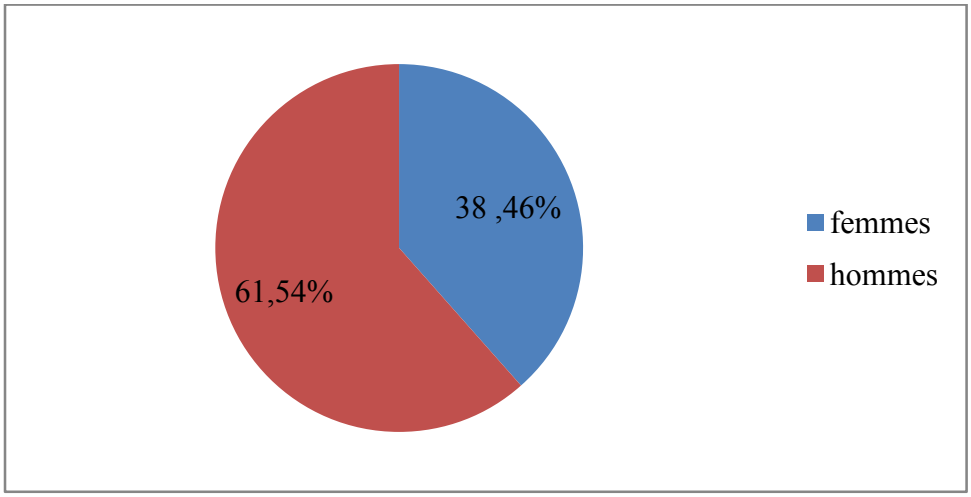


Figure 25 : Pourcentage des méningites suspectées selon le sexe.

2. Répartition des cas selon l'âge :

Les cas de la méningite avec une cytologie positive à été diagnostiqué à tout l'âge, avec des extrêmes de 9 jours à 40 ans.

L'âge n'était pas renseigné chez 2 patients.

Parmi nos patients 95,1% sont des enfants de moins de 15 ans dont 61,76% des nourrissons et des enfants de moins de deux ans et 4,90% sont des adultes plus de 15 ans.

Le résultat de la bactériologie (9 cas) représente sept (7) patients avec un intervalle de l'âge entre 12 jours à 14 mois et deux (2) patients avec 20 et 21 ans.

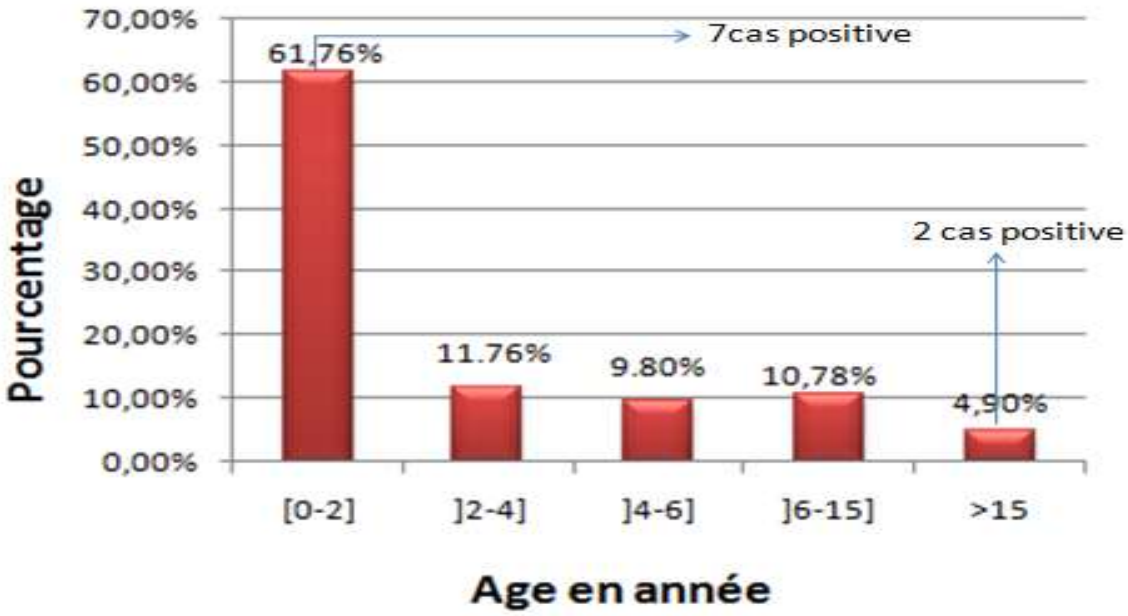


Figure 26 : Répartition selon l'âge.

3. Répartition des cas selon les services hospitaliers :

La répartition des LCR des patients selon les différents services permet l'évaluation des sujets les plus touchés par les méningites. Le taux le plus élevé 59.61% (62 cas) est représentés par les patients provenant de l'urgence médicale. Au deuxième rang vient le service pédiatrie avec un taux de 16.34% (17 cas), suivie du service de chirurgie infantile 12,5 (13 cas), le service Néonatal 8,65% (9 cas) et finalement le service Infectieux 2,88% (3 cas)**.**

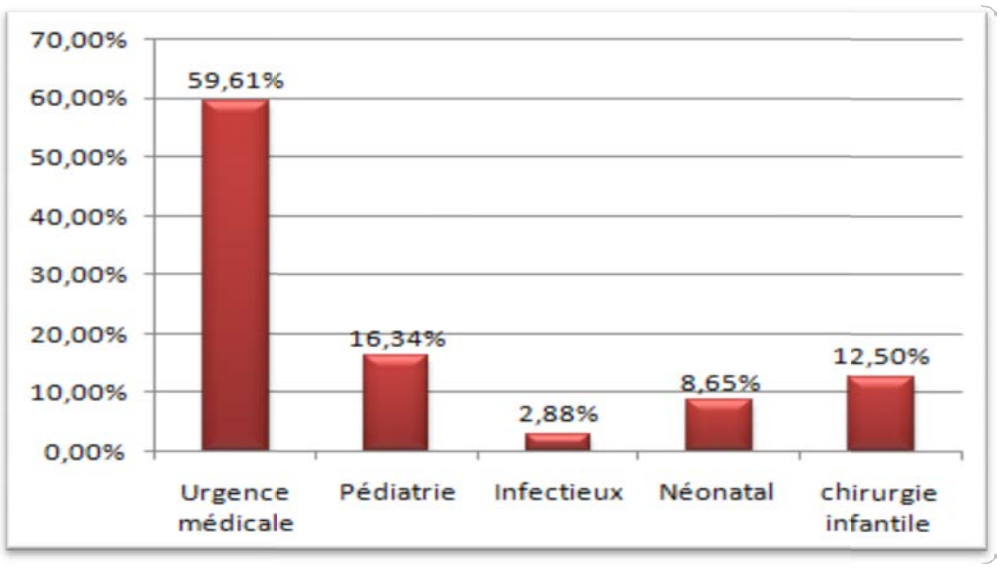


Figure 27 : Répartition de la méningite suspectée selon les services hospitaliers**.**

II. Examen clinique :

Dans notre étude, les signes cliniques des méningites bactériennes identifiées représentent une variabilité large.

La fièvre représente le signe majeur de MB chez nos patients avec un pourcentage de 89%.

Tableau 8 : Présentation clinique des méningites bactériennes identifie.

Les signes cliniques	Les effectifs	Le pourcentage	Les bactéries identifient
Fièvre >38°C	**8**	**89%**	Toutes les bactéries sauf *E.sakazakii.*
Diarrhée	**5**	**56%**	*P. aeruginosa, S.aureus, Entérobacter, E.sakazakii*
vomissement	**6**	**67%**	*S.aureus, Entérobacter spp, E.sakazakii, p.aeruginosa, streptococcus spp.*
céphalée	**2**	**22%**	*E.sakazakii, N.meningitidis.*
Syndrome neurologique	**2**	**22%**	*E.sakazakii, S.pneumoniae.*
Détresse respiratoire	**1**	**11%**	*A.baumanie.*
Syndrome méningé fonctionnel fébrile	**1**	**11%**	*N.meningitidis.*
Surdité droit	**1**	**11%**	*N.meningitidis.*
Apathie	**1**	**11%**	*S.pneumoniae.*
Purpura	**1**	**11%**	*N.meningitidis.*
Coma	**1**	**11%**	*S.pneumoniae.*

III. Analyse de LCR :

1. Examen macroscopique de LCR :

Dans nos résultats de la cytologie positif, la majorité des LCR ayant un aspect clair avec un taux de 51,92%, et un taux non négligeable pour l'aspect xanthomérique avec un pourcentage de 17,30 %, et l'aspect opalescent dans 11,54% des cas, l'aspect hématique et trouble avec un taux de 9,62% pour chacune.

- Chez nos patients qui ont une culture positive la distribution de l'aspect de LCR est représentée par 5 LCR trouble, 2 xanthomérique, 1 opalescent et 1 hématique.

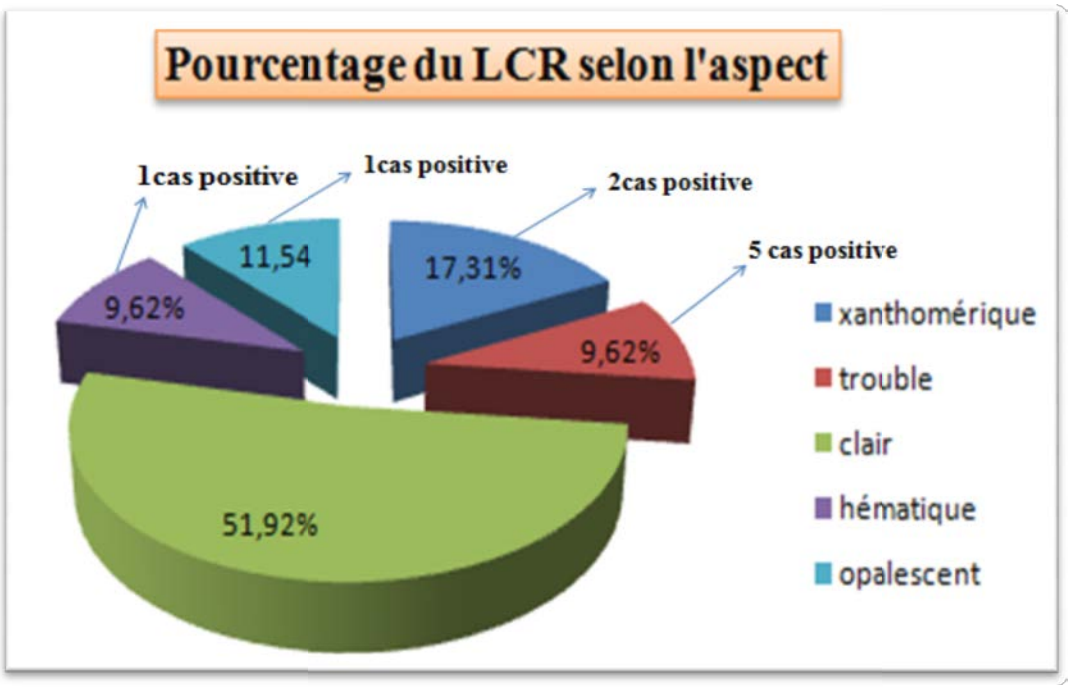


Figure 28 : Répartition des cas de méningite selon l'aspect de LCR.

2. Examen microscopique de LCR :

2.1. Répartition des cas selon la leucorachie :

La répartition de nombre des leucocytes chez les cas de culture positifs identifié a été supérieure à 500 éléments / Mm³ dans 88,90% (8 cas) avec deux (2) valeurs qui ont été supérieures à 10000 éléments/ Mm³ et un seul cas qui a été identifié avec un nombre d'éléments de 250/Mm³.

Parmi les prélèvements qui ont un examen cytologique positif, 44,23% ayant un nombre des leucocytes compris entre 10 et 100 éléments / Mm³ et 34,62% compris entre 101 et 500 éléments / Mm³.

Tableau 9 : Répartition de nombre des leucocytes dans LCR.

Nombre de leucocyte dans le LCR (éléments/Mm³)	Nombre	Pourcentage	bactériologie
10-100	46	44,23%	0 cas
101-500	36	34,62%	1 cas
501-1000	14	13,46%	3 cas
<1000	8	7,69%	5 cas

2.2. Répartition des cas selon le nombre des lymphocytes et des polynucléaires :

Dans notre étude, selon le résultat d'examen cytologique positive, dans 64,65% (64 cas) des cas on a observé une prédominance lymphocytaire, alors qu'une prédominance de PNN a été observée dans 26,26% (26 cas) et pour le reste qui représente 9,09% (9 cas) on a observé une égalité entre les lymphocytes et les PNNs, tandis que les cas de culture positive représentent touts un prédominant de polynucléaire neutrophile avec un seul cas qui est indéterminé.

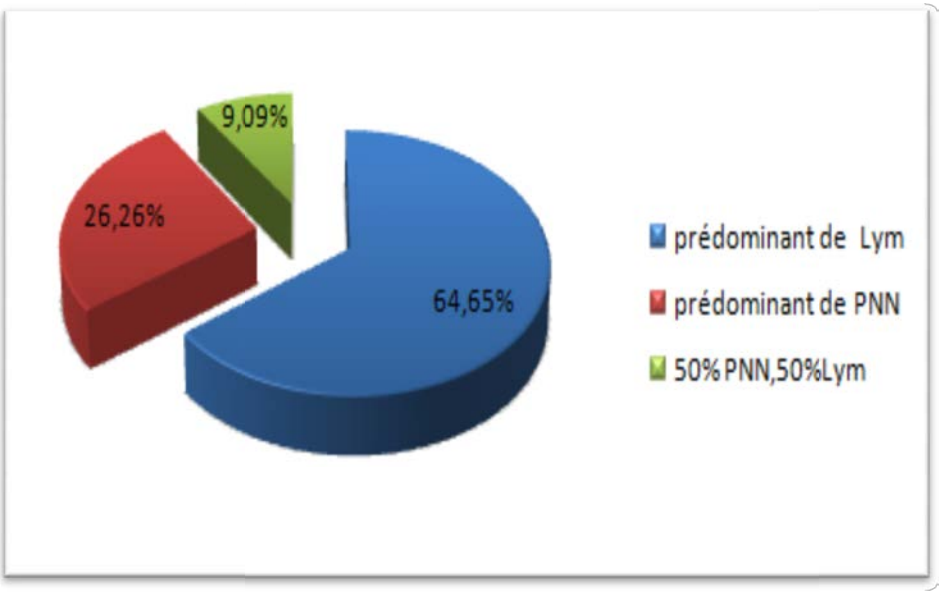


Figure 29 : Distribution des nombres des lymphocytes et des polynucléaires dans LCR.

3. Examen biochimique du LCR :

❖ La glycorachie :

Le taux moyen de glycorachie est de 0.44g/l avec des extrêmes de 0.00 à 0.77 g/l.

Dans notre étude, une glycorachie normale comprise entre 0,5 et 0,6g/l est représenté par un pourcentage de 33,33%, et une glycorachie supérieure à 0,6 g/l a été observé dans 7, 14% des cas. Alors qu'une hypoglycorachie de moins de 0,5 g/l a été rencontré dans 59,52% des cas parmi eux 13,10% étaient inférieurs à 0,2g/l,

La glycorachie n'était pas effectuée chez 20 patients parmi eux 10 patients qui ayant un aspect hémorragique de LCR.

Dans nos résultats de la bactériologie, un pourcentage de 88,89 % (8 cas) représente une glycorachie très faible inférieure à 0,2g/l et avec un seul cas qui était normal avec une valeur de 0,5g/l.

Tableau 10 : Répartition de différentes valeurs de Glycorachie.

Glycorachie en g /l	Nombre	Pourcentage	Bactériologie
[0-0,2]	11	13,10%	8 cas
[0,21-0,49]	39	46,43%	0 cas
[0,5-0,6]	28	33,33%	1cas
> à 0,6	6	7,14%	0 cas

❖ La protéinorachie :

Le taux moyen de protéinorachie est de 0,95 g/l avec des extrêmes de 0,21à 3,23 g/l.

La protéinorachie n'était pas effectuée chez 38 patients.

Nos résultats d'examen cytologique montre une hyperprotéinorachie supérieure à 1g/l dans 25,76% des cas alors qu'une protéinorachie inférieure à 1 g/l représente un pourcentage de 74,24% des cas.

Tableau 11 : Répartition de différentes valeurs de protéinorachie.

protéinorachie. en g/l	Nombre	Pourcentage	**bactériologie**
[0-0,49]	28	42,42%	2 cas
[0,5-0,99]	21	31,82%	0 cas
[1-2]	8	12,12%	1 cas
>2	9	13,64%	3cas

4. Examen bactériologique de LCR

❖ **Identification des germes responsables :**

Dans notre étude, la culture a été positive dans 9 cas avec une distribution variable des germes identifie, *S.pneumoniae*, *Neisseria meningitidis Y/W135*, *S.aureus*, *Entérobacter* lac(+), *Acinetobacter baumannii, streptococcus spp* représentent un taux de 8,33 % pour chacune, alors que *Entérobacter sakazakii* a été identifié dans 16,66 % et pour *pseudomenas aeroginosa* représente la majorité des cas avec un taux de 33,32%.

- Dans deux (2) cas de la méningite bactérienne ont été due à la co-infection :

  -*Entérobacter sakazakii et pseudomenas aeruginosa.*

  - *S.aureus, pseudomenas aeruginosa et Entérobacter spp.*

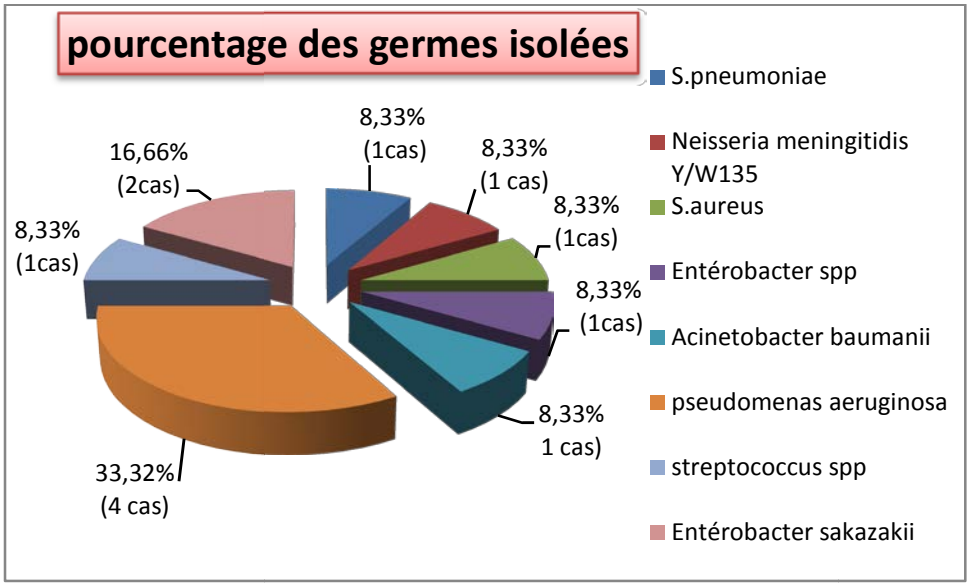


Figure 30 : Répartition des bactéries isolées dans LCR.

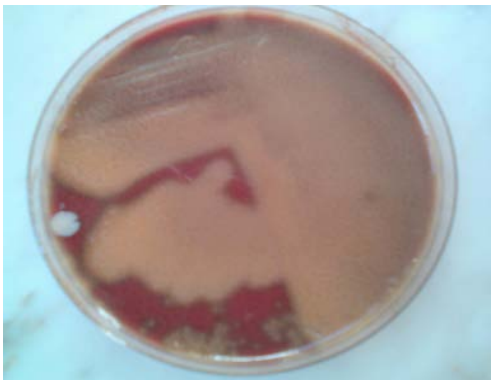


Figure 31 : Photo des colonies suspectes de S. pneumoniae sur gélose au sang cuit (photo original).

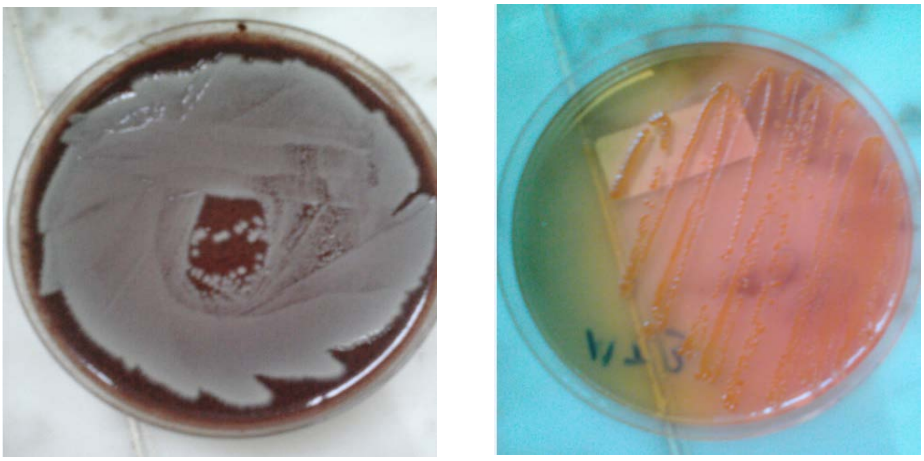


Figure 32 : Photo d'Entérobacter sakazakii sur gélose au sang cuit (à gauche) et sur gélose héktoen (à droite) (photo original).

IV. Analyse statistique :

1. Coefficient de corrélation :

Corrélations

		Glu	Pro	Elm
Glu	Corrélation de Pearson	1	-,380**	-,404**
	Sig. (bilatérale)		,001	,001
	N	67	67	67
Pro	Corrélation de Pearson	-,380**	1	,193
	Sig. (bilatérale)	,001		,117
	N	67	67	67
Elm	Corrélation de Pearson	-,404**	,193	1
	Sig. (bilatérale)	,001	,117	
	N	67	67	67

**. La corrélation est significative au niveau 0.01 (bilatéral).

Figure 33 : Test de corrélation linière entre les déférentes variables:

Elm **:** nombre d'éléments.

Glu : glycorachie. Pro : protéinorachie.

Les résultats de coefficient de corrélation montrent qu'il ya une corrélation significative entre les différentes variables étudier, on ce qui concerne la corrélation entre le nombre d'éléments et la protéinorachie était positive donc ces paramètres sont proportionnel les une des autres, alors que une corrélation significative négative a été observé entre la glycorachie et le nombre d'élément donc ces paramètres sont inversement proportionnel.

2. Test t pour des échantillons appariés :

Différences significatives marquées à p < 0 ,05000.

Tableau 12 : Test échantillons appariés entres les déférentes variables.

	Différences appariées							
	Moyenne	Ecart-type	Erreur standard moyenne	Intervalle de confiance 95% de la différence		t	ddt	sig. (bilatérale)
				Inferieure	Supérieure			
paire 1 Elm-Glu	610,0155	1748,1852	213,57482	183,59963	1036,43141	2,856	66	,006
paire 2 Elm-Pro	609,4871	1747,9540	231,54657	183,12768	1035,84665	2,854	66	,006
paire 3 Cul-Glu	-,35761	,41432	,05062	-,45867	-,25655	-7,065	66	,000
paire 4 Cul-Pro	-,88597	,80216	,09800	-1,08163	-,69031	-9,041	66	,000

Le calcule de la valeur P de test de la corrélation entre ces différentes variables montre qu'il ya une corrélation hautement significative observée vu que la valeur p était inférieure à 0,05 ce qui nous a permis de rejeter l'hypothèse nulle.

Discussion

Discussion :

I. L'analyse des résultats bactériologiques :

Au cours de notre étude la majorité de LCR qui on a reçu au laboratoire de microbiologie a montré des résultats négatifs avec un taux de 83,03% (509 cas), tant que les cas avec une cytologie positive et culture négative représentaient 15,50% (95 cas), alors que les résultats positifs ne représentaient que 1,47% (9 cas).

Ces résultats sont plus susceptibles d'être associée à l'administration des antibiotiques avant la ponction lombaire et avant même d'entamer toutes les analyses bactériologiques de LCR, vu que 40,90% des nos patients ont été déjà traité préalablement par des antibiotiques qui sont théoriquement actifs contre les bactéries cherchées tel quel : cefotascime, ciftazidime, ciprofloscacine, voncomycine, amoxicilline et augmentin ce que peut être l'origine de cette négativité malgré les symptômes cliniques et les analyses biochimiques et cytologiques sont évocatrice de MB.

Cette négativité peut être due à la concentration bactérienne très faible vu que on n'a pas trouvé des résultats positifs par la coloration de Gram qui a été appliquée directement sur LCR ce qui explique que la charge bactérienne a été très faible. Pour cela là il fallait commencer par un enrichissement avant de passer à l'ensemencement direct ce qui n'était pas le cas dans notre étude.

L'étiologie de la méningite peut être due à une infection par des bactéries à culture difficile telle que les *Bacille de Koch*, sachant que la tuberculose qui a fréquemment observé au sein de la population de Médéa. Pour la méningite à *BK* on aurait pu faire une chlorurorachie pour différencier entre *L. monocytogène* et *BK* ce qui n'était pas le cas dans notre étude aussi.

Vu que on a observé pour certains prélèvements une normoglycorachie plus une prédominance des lymphocytes que des polynucléaires ça peuvent être expliqués par une méningite virale.

Une autre explication de ces résultats c'est le fait de ne pas suivre le protocole expérimental bien comme il faut, l'absence d'un incubateur d'enrichissement en CO_2 agit sur nos résultats vu que la majorité des bactéries incriminées nécessite une atmosphère enrichisse

en CO_2 pour cela on a essai d'adapter la technique on utilisant la méthode de bougie donc l'efficacité s'avère très faible.

Nos résultats d'étude sont proches à ceux observés par **Youssef. FG et al, (2004). Ghotaslou.R et al, (2012)** et **Gudina.E.K et al, (2016)** qui ont trouvé des résultats suivants, 11% confirmé par culture **(69),** 11/277 (3,97% seulement) **(77),** 14/425 seulement 3,3% des cas **(66)** successivement. Ces résultats ont été expliqués par le fait que la plupart des patients ont reçu des traitements d'antibiotiques avant la ponction lombaire et qui peut être le cas pour nous aussi.

Et selon **Manning.L et al, (2014),** ont montré que la culture était positive dans 70 à 95% des patients diagnostiqués avec MBA dont ces malades n'ont pas été traité préalablement par des antibiotiques **(74).**

1. L'analyse des résultats obtenus selon le sexe :

Parmi les 104 LCR qui ont été identifié comme cytologie positive pour suspicion des méningites une prédominance masculine est observée dans 61,54% (sexe-ratio de 1,6) parmi eux, 7 cas ont un examen bactériologique positif, et le sexe féminin avec un taux de 38,46% parmi eux 2 cas ont un examen bactériologique positif. Ce résultat est proche à ce publié en France par **E. Varon. (2009),** en l'Australie par **Manning.L et al,(2014),** en Taïwan par **Lin.W-Let al,(2014),** en l'Éthiopie par **Gudina.EK et al,(2016),** en Égypte par **Shawky Khater.W et al,(2016),** en Iran par **Ghotaslou.R et al,(2012)** et en Inde par **Modi.S et al,(2013),** qui ont trouvé les résultats suivants 66% **(63),** 60% **(74),** 63,4% **(53),** 52,7% **(66),** 67,5% **(71),** 59,6% **(77)** et 62,3% **(45)** chez les garçons successivement**.** Cette notion de prédominant masculin reste toujours mal expliquer d'après toutes ces auteures.

2. L'analyse des résultats selon l'âge :

Dans notre étude 95,1% de nos patients sont des enfants de moins de 15 ans dont 61,76% sont des nourrissons et des enfants de moins de deux (2) ans (avec 7 cas de bactériologie positif) et 4,90% sont des adultes plus de 15 ans (avec 2 cas de bactériologie positif) .

La forte attaque de cette tranche d'âge de la population pourrait s'expliquer par la fragilité des systèmes immunitaires des enfants, et de la vascularité élevée du cerveau ainsi que l'insuffisance des anticorps maternels **(78,79 ,80).**

La méningite bactérienne peut affecter des personnes à n'importe quel âge, mais les bébés et les jeunes enfants représentent le tranche d'âge le plus touché, avec environ la moitié de tous les cas déclarés survenant dans les moins de cinq ans **(8).**

les données de notre étude sont proches à ceux observées en Iran par **Ghotaslou.R et al,(2012)** qui ont trouvé 36% dont l'âge étaient inférieurs à 1 mois, alors que 24% des cas ont été observé chez les enfants entre 1 et 5 ans et 40 % entre 6-14 ans avec l'incidence de la méningite bactérienne qui était élevée chez l'enfant âgée de 1 à 5 ans **(77),** et selon **Mezghani Maalej.S et al,(2006)** en Tunisie, 74,5 % des cas de méningites bactériennes communautaires ont été survenus chez les enfants âgés de moins de 15 ans, les nourrissons et les petits enfants (un mois à quatre ans) représentaient plus de la moitié des cas **(81).**

II. Analyse de LCR :

1. Examen macroscopique de LCR :

L'évaluation d'aspect de LCR est le plus important dans le diagnostic de méningite en laboratoire **(82).**

Dans notre étude, le résultat de la culture positif montre une prédominance d'aspect trouble de LCR avec 5cas suivis par l'aspect xanthomérique dans 2 cas, opalescent (1 cas) et hématique (1cas). Pour ces prélèvements qui montrent un aspect trouble on a constaté une hyperleucocytose ce que justifier cet aspect, ce trouble apparait dès la présence de 200 globules blancs par Mm^3**(48,50)**.

Ce résultat est proche à cel observé dans l'étude de **Pusponegoro.HD et al, (1998),** qui a donné 8/11 LCR avaient un aspect trouble **(83).**

Et c'est le cas aussi pour étude qui a été réalisé par **Raji,K.(2010)** et **Ben Hamouda.H,(2013),** qui ont trouvé que l'aspect trouble ou purulent du LCR a été observé dans 80% **(52)** et 68,2% **(44)** respectivement.

Dans nos résultats de la cytologie positif, la majorité des LCR ayant un aspect clair avec un taux de 51,92% et un taux non négligeable pour l'aspect xanthomérique avec un pourcentage de 17,30 % et l'aspect opalescent dans 11,54% des cas, l'aspect hématique et trouble avec un taux de 9,62% pour chacune.

Tous les degrés existent depuis la méningite virale à liquide clair, la méningite tuberculeuse avec un liquide classiquement dépoli, la MB à liquide franchement trouble **(52).**

Dans l'étude de **Roca et al, (2008),** concernant les méningites tuberculeuses, 65% des LCR ont un aspect normal **(84).**

2. Examen microscopique de LCR :

2.1. L'analyse des résultats selon la leucorachie :

La répartition de nombre des leucocytes chez les cas de méningite confirmée par la culture était supérieur à 500 éléments /Mm³ dans 88,90% (8 cas) dont deux (2) ont été supérieure à 10 000 éléments/ Mm³. Une caractéristique claire de BM est l'afflux de leucocytes activés, en particulier les granulocytes dans LCR **(8).**

La réaction cellulaire observée lors des MB est secondaire à l'infection. Les cellules sont d'origine vasculaire et non méningée, 87% des patients atteints de la méningite bactérienne aura un nombre de globules blancs supérieurs à 1 000 éléments / Mm³, tandis que 99% auront plus de 100 éléments / Mm³ **(50).**

Ce résultat est proche à cel qui a été observé dans l'étude de **RAJI. K, (2010),** lorsqu'il a trouvé que plus de 92% des LCR avaient une cellularité supérieure à 500 éléments / Mm et dans plus de 96% des cas, la formule cytologique était à prédominance polynucléaire **(52).**

Les résultats typiques de LCR dans la méningite bactérienne comprennent la pleocytose, avec généralement un nombre des globules blancs supérieurs à 1000 cellules /Mm³ **(85).** Dans notre étude 5/9 des cas qui ont été identifié avaient un nombre d'éléments supérieurs à 1000 éléments / Mm³.

Le résultat de la cytologie positif montre que 44,23% des patients avec un nombre des leucocytes compris entre 10 et 100 éléments /Mm³. Avoir moins de 100 éléments /Mm³ est plus fréquent dans les patients atteints de la méningite virale (**50)**.

2.1.1. L'analyse des résultats selon les pourcentages des lymphocytes et des polynucléaires :

Dans notre étude, selon le résultat d'examen cytologique positive, dans 64,65% (64 cas) des cas on a observé une prédominance lymphocytaire, alors qu'une prédominance de PNN a été observée dans 26,26% (26 cas) et pour le reste qui représente 9,09% (9 cas) on a observé une égalité entre les lymphocytes et les PNNs, ce que justifie l'absence de culture positive dans la plupart des cas vu que la cytologie est évocatrice d'une méningite virale, tuberculeuse ou à *listéria monocytogène*.

La prédominance lymphocytaire est observée dans les infections virales **(48,50 ,52),** fongique et l'infection tuberculeuses du SNC, bien que la prédominance des polynucléaires neutrophiles peut être présente dans les premiers stades de ces infections **(50**), la ponction lombaire répétée autorise à distinguer entre une MB et MV a montré que la proportion des neutrophiles est restée élevée uniquement dans les cas de MB **(86).**

Dans nos résultats des bactériologies positives, une prédominance de polynucléaire neutrophile a été observée dans tous les cas a l'exception d'un seul cas qui est indéterminée.
Ces résultats sont confirmés par étude de **Ray.P et al (2007),** les auteurs montre que la MB peut avoir un nombre relatif de neutrophiles dans LCR avec un prédominant de 50% à 90%, **(87)**. Et selon **Chavez-Bueno.S et al, (2005)**, la majorité des cas de méningite bactérienne représente un nombre des globules blancs supérieurs à 1000 cellules / Mm^3 avec une prédominance des polynucléaires **(85).**

3. Examen biochimique de LCR :

3.1. La glycorachie :

Dans notre étude, une glycorachie normale comprise entre 0,5 et 0,6 g/l est représenté par un pourcentage de 33,33 % et une glycorachie supérieure à 0,6 g/l a été observé dans 7, 14% des cas. Alors qu'une hypoglycorachie de moins de 0,5 g/l a été rencontré dans 59,52% des cas parmi eux 13,10 % étaient inférieurs à 0,2 g/l, qui s'accompagnent d'un taux de cellularité dont 62 % était supérieure à 100 éléments /Mm^3 et 38 % était inférieure à 100 éléments /Mm^3 et avec un taux de protéinorachie supérieure à 1g/l dans 47,06 % des cas.

Dans nos résultats de la bactériologie, un pourcentage de 88,89 % (8 cas) représente une glycorachie très faible inférieure à 0,2g/l et avec un seul cas qui était normal avec une valeur de 0,5g/l. Vu que la charge bactérienne a été très élevée ça a aboutait à la consommation d'une telle quantité de glucose et d'avoir par la suite des résultats positifs, donc une hypoglycorachie très intense témoigne d'une population bactérienne très élevée contrairement aux cas précédents dont la charge n'était pas très importante dans nos prélèvements.
Ce résultat est proche à cel qui a été publié **par Shawky Khater.W et al, (2016),** lorsqu'ils ont trouvé que le niveau de glycorachie dans LCR des patients atteints de la MB était faible (< à 0,4 g/l) chez 87,5% **(71).** Mais dans certains cas surtout lorsqu'ils sont effectués au début de la maladie la glycorachie peut-être normale chez les patients atteints de la méningite bactérienne **(82,85).**

3.2. La protéinorachie :

Nos résultats d'examen cytologique montre une hyperprotéinorachie supérieure à 1 g/l dans 25,76 % des cas alors qu'une protéinorachie inférieure à 1 g/l représente un pourcentage de 74,24 % des cas.

En ce qui concerne le résultat de la culture positive la majorité des cas représentent une protéinorachie élevée supérieure à 1 g/l, alors que 2 cas ayant une valeur inférieure à 0,5 g/l.

Une hyperprotéinorachie intense témoigne d'une inflammation sévère, mais dans certains cas chez les nouveau-nés et les petites enfants une augmentation de protéinorachie peut être considéré comme physiologique mais dans notre étude hyperprotéinorachie est beaucoup plus physiopathologique que physiologique parce qu'elle a été s'accompagner avec des signes cliniques, une cellularité importante et des cultures positive.

Une hyperprotéinorachie peut être due à une ponction lombaire traumatique avec effraction sanguine ou une hémorragie sous-arachnoïdienne mais cette explication est négligeable vu que on a trouvé des cultures positives donc cette hyperprotéinorachie est considérée comme un témoigne d'une inflammation et n'ont pas par la ponction lombaire.

Dans l'étude de **Brivet.FG et al, (2005**), les auteurs montrent que la protéinorachie élevée est significativement associée aux MB **(86),** et c'est le cas aussi pour **Shawky Khater.W et al (2016),** où ils ont trouvé un taux élevé de protéinorachie (> 0,5 g /l) dans 82,5% des échantillons traités comme atteints de la MB **(71).**

Une valeur normale de protéinorachie a été observée dans étude de **Lin.W-L et al, (2014),** lorsqu'ils ont trouvé que 24,5% des patients de MB ayant un niveau normal de protéines dans LCR **(53).**Cependant, une MB ne peut être éliminé devant une protéinorachie normale ou inférieure à 1 g/l, 10 à 15% des méningites bactériennes peuvent se présenter avec une protéinorachie inférieure à 1g/l, notamment si elles sont débutantes ou décapitées par une antibiothérapie préalable **(88).**

4. Examen bactériologique de LCR :

Le nombre des bactéries isolées à partir du LCR était de huit (8), d'après les résultats, on remarque qu'ils ya une distribution variable des germes identifie, *S.pneumoniae*, *Neisseria meningitidis*, *S.aureus*, *Entérobacter spp*, *Acinetobacter baumannii, streptococcus spp, Entérobacter sakazakii* et *pseudomenas aeroginosa*.

Infection de *S.pneumoniae* a été s'accompagner avec des signes cliniques tel que : un examen neurologique perturbé, une fièvre, apathie et coma, ces signes cliniques sont prédominants pour les *S.pneumoniae.* Pour cela on peut constater que l'origine de l'infection peut être une septicémie vu que on a une fièvre, et ce qui concerne *N.meningitidis* les signes cliniques sont généralement représentés par un syndrome méningé fonctionnel fébrile, une hyperthermie, un purpura et une surdité droite ce qui peut expliquer aussi que l'infection peut être d'origine d'une septicémie aussi vu que on un purpura.

Et pour les *Staphylococcus aureus*, *Entérobacter spp*, *Streptococcus.spp, pseudomenas aeroginosa* sont majorés par des signes cliniques tels qu'une diarrhée, vomissement et une fièvre ce qui peut expliquer que le point de dépare de l'infection peut être digestive vu que on a observé des troubles digestifs et par la suit ces bactéries peuvent attendre les méninges à traverse la circulation sanguine sachant que toutes ces bactéries sont dues à des infections nosocomiales.

Et pour ce qui est *E. sakazakii,* les signes cliniques sont majoré par une céphalée, un vomissement et un syndrome neurologique (raideur de nuque, photophobie et signe de kerning et brudzinski). Alors que *A. baumannii* a été s'associe à une fièvre, une détresse respiratoire, ces signes cliniques n'été pas vraiment évocatrice de ces bactéries ce qui rend l'origine de l'infection indéterminée.

D'après nos résultats de la culture on a trouvé les rapports suivants : *pseudomenas aeroginosa* a été signalé dans la majorité des cas avec un taux de 33,32% suivi par *Entérobacter sakazakii* dans 16,66 %, alors que *S.pneumoniae*, *Neisseria meningitidis*, *S.aureus*, *Entérobacter*, *Acinetobacter baumannii et streptococcus spp* représentent un taux de 8,33 % pour chacune.

L'existence de *S.pneumoniae* et de *N.meningitidis* a été signalé dans notre étude, ces deux bactéries ont été identifiées comme les principales causes de la méningite bactérienne d'après plusieurs publications dans le monde, pour cela on dit que ces résultats sont déjà attendus. Mais leur existence par un taux faible en comparaison avec d'autres publications peut être expliqué par la culture difficile de ces deux bactéries alors que les autres bactéries dominantes ne sont pas très exigeantes et aussi le protocole suivi pour isoler ces bactéries n'était pas bien adéquat ce qui a abouté à avoir des cultures négatives qui peuvent être l'origine de cette classification selon l'étiologie, contrairement aux autres études qui peuvent être utilisées un protocole bien approprié, en plus de ça la taille d'échantillon n'était pas élevé

pour que ça soit représentatif donc on ne peut pas déclarer que ces bactéries sont les plus couramment impliqués dans la méningite bactérienne en comparaison aux autres. Et d'un autre côté la majorité de ces bactéries sont due à des infections nosocomiales ce qui peut expliqué la prédominance des *pseudomenas aeroginosa et Entérobacter sakazakii*.

En ce qui concerne *H.influenzae* aucun cas n'a été identifié ce résultat peut-être expliqué par l'introduction du vaccin contre *Hib* dans les programmes de vaccination de routine des enfants dans notre pays ce qui abouté à une baisse significative de l'implication de cette bactérie dans les cas des méningites donc on a bien éliminé la bactérie et on arrive plus à l'isoler.

Et selon l'étude de **Modi.S et al, (2013),** les auteurs ont trouvé les résultats suivants : *Streptococcus pneumoniae* dans 60 %, suivi par *Neisseria meningitidis* dans 11% et *Haemophilus influenzae* avec 9,5% des cas. Alors que les autres agents pathogènes moins isolés souvent, *Escherichia coli* (4%), *Klebsiella spp* (3%) et *Proteus spp* (3%) *Pseudomonas Spp* (2%). *Acinetobacter spp* (1%), *Staphylococcus aureus* (3,50%) et d'autres *Streptococcus* (3%) **(45).**et dans l'étude de **Manning.L et al, (2014),** ont trouvé que parmi les 58 cas avec culture positive, 53 % était *H. influenzae*, 39% était *S. pneumoniae* et *Cryptococcus gattii* dans 5,17% alors que *Staphylococcus aureus* a été isolé dans 1.72% des cas **(74).** Alors que **Gudina. E.K et al, (2016),** ont montré que *Streptococcus pneumoniae* et *Neisseria meningitidis* sont les plus fréquentes bactéries isolées (respectivement dans 6 cas et 7 cas parmi les 14 cas identifie) **(66).** Pour *E. sakazakii* a été identifie dans notre étude comme un agent de MB, et selon **Chavez-Bueno.Set al, (2005),** *E. sakazakii* peut être une cause d'une méningite en particulier chez les nouveau-nés **(85).**

La notion de co-infection a été observée dans notre étude chez deux patients, ces deux patients ayant des MB nosocomial post chirurgical ce qui aboutait à l'introduction directe de plusieurs germes donc l'infection initial a été polymicrobien, cette constatation est faite aussi par **Benali.A, (2014),** dans une étude de méningite bactérienne nosocomiale **(89)**.

Conclusion

Conclusion :

La méningite bactérienne représente par leur fréquence et leur gravité un problème majeur de santé publique, le diagnostic d'une méningite suspecté bactérien repose sur un examen cytobactériologique et biochimique de LCR.

L'analyse du LCR par différentes méthodologies nous a permis de montre que sur 613 cas de méningite suspectés, 104 cas sont cytologie positifs et dont 9 ont été confirmées bactériennes. Elle touche le sexe masculin plus que le féminin avec un sexe-ratio de 1.6, et la tranche d'âge de moins de 15 ans représente 95,1% des patients dont 61,76% sont moins de deux ans.

Sur le plan biologique l'analyse cytologique et biochimique de LCR chez les cas confirmés bactériens montre une cellularité importante avec une prédominance de PNN et s'associe généralement avec une glycorachie basse et une protéinorachie élevée dans la majorité des cas.

Sur le plan bactériologique une large distribution des bactéries a été signalée, *Entérobacter sakazakii*, *pseudomenas spp* et *pseudomenas aeruginosa* a été identifié dans deux fois pour chacune alors que *S.pneumoniae*, *Neisseria meningitidis*, *S.aureus*, *Entérobacter* et *Acinetobacter baumannii, streptococcus spp* est identifié dans un seul cas pour chaque bactérie,

La taille de notre échantillon n'était pas élevée pour que ça soit représentatif et le protocol suivi n'était pas bien adéquat pour dire que ces bactéries sont les plus couramment impliquées dans la méningite bactérienne.

Annexe 1 :

	Aspect de LCR	Examen Microscopique			Examen biochimiq		La culture	Service et Age	TRT
		Cytologie/ *mm3*	Formule leucocytaire	Gram	Glyco-rachie	Protéino-rachie			
1	Jaune citron	170 éléments	60 % lymphocyte 35% Polynucléaire nom Altéré 05% PN Altéré		G = 0,52	A =2,85		UMC 2mois	
2	Trouble purulent	>10000 éléments	50% PNA 50% PNNA + présence des germes	Cocci gram+ en amas	G =0,2	A=3 ,28	**S.pneumoniae**	UMC 14mois	
3	Clair	26 éléments	95 % lym 05% PNNA		G=0,6	A=0,29		UMC 1anné	
4	Opalx-ent	460 éléments	70 % lym 25% PNNA 05% PNA		G= 0,6	A=0,52A		UMC 2ans	
5	Opalex-ent	190 éléments	40% lym 60% PN		G=0,51	A=0,49		UMC 4mois	
6	Clair	792 éléments	60% lym 35%PNA 05% PNNA		G=0,4			NN 15 Jour	S/T
7	Clair	32 éléments	100 % PN		G=0,48			UMC 2mois	
8	Xantho-mérique	140 éléments	70% Lym 20% PNNA 10% PNA		G=0,41	A=1,41		NN 9jour	S/T
9	Clair	170 éléments	60% Lym 30% PNNA 10% PNA		G=0 ,31	A=1,54		Ped 2ans	S/T
10	Clair	89 éléments	20% PNNA 80% Lym		G=0,59	A=0,42		UMC	
11	Xantho	13 éléments	100% Lym		G=0,19	A=2		INF 10ans	S /T

12	Clair	320 éléments	70% lym 2O%PNA 10% PNNA		G= 0,56	A= 0,28		UMC 2ans	
13	Clair	112 éléments	80 % PNNA 20% Lym		G=0,53	O,73		UMC 5mois	
14	Clair	49 éléments	50% Lym 45% PNA 05%PNNA		G=0,53	A=0,95		UMC 33ans	
15	Clair	170 éléments	65% Lym 30% PNA / 05% PNNA		G=0,51	A=O ,74		UMC 6ans	
16	Clair	93 éléments	75% Lym 25% PNNA		G=0,45	A=2 ,34		UMC 1année	
17	Clair	20 éléments	100 %Lym					Ped 1anné	**S/T**
18	Clair	85 éléments	80% Lym 15% PNNA / 05%PNA		G=0 ,60	A=0,30		UMC 7ans	
19	Clair	580 éléments	90% Lym 10% PNNA + QLQ GR		G=0,55	A=0,30		UMC 9mois	
20	Hemati_ Que		Interprétable				**-S .aurus -Pseudomenas .aeruginosa - Enterobacter**	CCI 1Année	**S/T**
21	Hemati _que	50 éléments	100 %Lym + Nb GR					UMC 5ans	
22	Clair	45 éléments	100% Lym		G=0,45	A=0,80		UMC 2,5ans	
23	Hématiq	15 éléments	100% Lym					UMC	
24	Clair	39 éléments	80% Lym 20% PNNA		G=0 ,53	A= 0,31		UMC 3mois	
25	Clair	32 éléments	80% PN 20% Lym		G=0,51	A= 0,36		UMC 1anné	

26	Trouble	800 éléments	40% PNNA /20%PNA 40% Lym	Bacile a gram -	G=0 ,01	A=2	***Acinetobacter Baumanii***	NN 12jour	**S/T**
27	Opales-ent	184 éléments	45% PNNA /05% PNA 50% Lym		G= 0,45	A=0,3		UMC 7mois	
28	Xantho	25 éléments	100% lym					CCI 2ans	**S/T**
29	Héma-tique	240 éléments	80%lym 15%PNNA /05%PNA + Nbr GR					UMC 4ans	
30	Clair	177 éléments	90% Lym 10%PNNA		G=0,71	A=0,32		UMC 6ans	
31	Hemati_ Que	88 éléments	60%PNNA 40% Lym +Nb GR					NN 8jour	**S/T**
32	Clair	40 éléments	50%PN 50%Lym		G=0,44	A=0,21		UMC 3ans	
33	Clair	140 éléments	60%Lym 40%PNNA		G=0,51	A=0,44		UMC 39ans	
34	Clair	144 éléments	70%Lym 30%PNNA		G=0,77	A=0.83		UMC 8ans	
35	Xantho	33 éléments	75%Lym 25%PNNA		G=0,63	A=0,71		Ped 6mois	**S/T**
36	Clair	440 éléments	80%PNNA 20%Lym		G=0,69	A=0,35		UMC 5ans	
37	Clair	145 éléments	60%PN 40%Lym		G=0,61	A=0.38		UMC 4ans	
38	Purulant	>10000 éléments	90%PN 10%Lym	Diploco-que gram -	G=0,OO	A=0,30	***Meningocoque Y/W135***	UMC 20anné	**S/T**
39	Xantho	100 éléments	20%PNA/05%PNNA 75%Lym		G=0,45			ME 1année	**S/T**

40	Xantho	500 éléments	100%PN	Présence de germe (baciles) gram-	G=0,00		-**Pseudomenas aeruginosa** -**Enterobacter sakazaki**	CCI 7mois	**S/T**
41	Clair	210 éléments	60%Lym 35%PNNA/05%PNA		G=0,60	A=0.39		UMC 3ans	
42	Clair	64 éléments	80%PN 20%Lym		G=0,39	A=0,90		UMC 12ans	
43	Clair	32 éléments	90%Lym 10% PN		G=0,5	A=0.41		Ped 2mois	**S/T**
44	Trouble	1250 éléments	55%PNA/45%PNNA	Presence d Baciles gram -	G=0,2	A=2,53	**Enterobacter sakazakii**	UMC 21anné	**S/T**
45	Trouble	324 éléments						UMC 4mois	
46	Xantho	95 éléments	50 %Lym 45% PNNA/05%PNA		G=0,26			NN 11jour	**S/T**
47	Xantho cromi-que	42 éléments	40% Lym 55% PNNA /5% PNA +NB GR		?			NN 11jour	**S/T**
48	Clair	147 éléments	100%Lym		G=0,45	A=0,93		UMC 40anné	
49	xantho	58 éléments	90% lym 10% PN		G=0,25			CCI 45jour	**S/T**
50	Clair	170 éléments	60% Lym 40% PNNA		G= 0,74	A=1,02		UMC 6mois	
51	Clair	120 éléments	60% Lym 40% PNNA		G=0,52	A=0,34		UMC 1.5ans	
52	Trouble	2030 élément	50% PNNA 50% PNA		G=0,01	A= 0,3	**Streptococcus SPP**	CCI 4mois	**S/T**
53	Opale-sent	843 éléments	80%Lym 10%PNNA /10%PNA		G= 0,56	A=0.29		UMC 8ans	

54	Xantho	47 éléments	95 % PNNA /05%PNA +NB GR					NN 10jour	**S/T**
55	Xantho	250 éléments	100% PN		G=0.28	A=2,4	**Pseudomenas aeruginosa**	CCI 9 mois	
56	Xantho	68 éléments	90%PN 10%Lym		G=0,28			UMC 9mois	
57	Clair	200 éléments	55 % Lym 45% PN		G=0,41			UMC 4ans	
58	Opale-sent	824 éléments	90 %PNNA 10% PNA		G=0,36			CCI 2mois	**S/T**
59	Hématiq	20 éléments	100% PN					CCI 1.5ans	**S/T**
60	Xantho	30 éléments	90%Lym 10%PN		G=0,52	A=0.41		CCI 9mois	**S/T**
61	Xantho	760 éléments	60%Lym 40%PN		G=0,06			UMC 2ans	
62	Trouble	224 éléments	70%PN 30%Lym		G=0,46			UMC 5ans	
63	Clair	80 éléments	70% Lym 30%PNNA		G=0,48	A=0.79		UMC 18mois	
64	Héma-tique	80 éléments	NB GR					UMC 18mois	
65	Opale-xent	46 éléments			G=0,56	A=0.64		Ped 6mois	**S/T**
66	Clair	67 éléments	90%Lym 10% PN +QQ GR		G=0,47	A=0,75		Ped 3ans	**S/T**
67	Clair	70 éléments	100%Lym		G=0,49	A=0,31		ME 1 ,5 an	**S/T**
68	Xantho	230 éléments	50%Lym 50% PN		G=0,43			CCI 1Année	**S/T**

69	Xantho	230 éléments	50%Lym 50%PNNA					Ped 14mois	**S/T**
70	Trouble	1480 élément	50%PNNA 50%Lym		G=0,48	A=2,01		Ped 1année	**S/T**
71	Opale- xent	780 éléments	60%Lym 35%PNNA/05%PNA		G=0,5	A=0,49		UMC 9ans	
72	Clair	80 éléments	90% Lym 10%PN		G=0,41	A=0.61		UMC 6mois	
73	trouble	1700 élément	60%PNNA 40%PNA	Présence d baciles gram -	G=0,5		**Pseudomenas aeruginosa.**	CCI 7mois	**S/T**
74	Opale- xent	80 éléments	70%Lym 30%PN + QQGR		G=0,45	A=0,72		ME 2ans	**S/T**
75	Clair	633 éléments	68%Lym 32% PNNA		G=0,41	A=0,91		UMC 2ans	
76	Clair	52 éléments	100%Lym		G=0,5	A=0,38		ME 2ans	**S/T**
77	Clair	302 éléments	60%LYm 20%PNNA/20%PNA		G=0,4	A=1,01		ME 3ans	**S/T**
78	Clair	80 éléments	60% Lym 40% PN		G=0,48	A=0,59		UMC 7mois	
79	Clair	150 éléments	80%Lym 15%PNNA /05%PNA		G=0,52	A=0,32		Ped 1année	**S/T**
80	Hémati- que	50 éléments	100% PNNA + NB GR					Ped 1année	**S/T**
81	Clair	80 éléments	60% PN 40%Lym		G=0,13	2,48		CCI 6mois	**S/T**
82	Clair	15 éléments	70% Lym 30% PNNA + QQGR					UMC 7ans	
83	Clair	24 élements	100%Lym		G=0,48			ME 2ans	**S/T**

84	Opaleser	190 éléments	100% de LYM +NB GR		G=0,15	A=2,23		INF 5ans	**S/T**
85	Xantho	38 éléments	100 % PN		G= 0,56	A=3,23		CCI 4ans	**S/T**
86	Opalent	60 éléments	50% PN 50% Lym					UMC 3ans	
87	Clair	132 éléments	70% Lym 30%PN		G=0,52	A=0,42		UMC 7ans	
88	Clair	37 éléments	100% PN		G=0,39	A=2.63		NN 27jour	**S/T**
89	Opalent	1000 élément	45 % PN 55% Lym		G=0,52	A=0,40		UMC 8mois	
90	Clair	118 éléments	60 % LYM 40% PN		G=0,28	A=2,73		CCI 3mois	**S/T**
91	Clair	280 éléments	100% Lym		G=0,45			UMC 3ans	
92	Clair	136 éléments	90% LYM 10% PN		G=0,45	A=0,50		UMC 5ans	
93	Clair	160 éléments	85 % Lym 10%PN					UMC 4ans	
94	Clair	108 éléments	55 % Lym 45% PN		G=0,32	A=1,39		NN 16j	**S/T**
95	Clair	75 éléments	85% Lym 15% PN		G=0,42	A=0,52		UMC 17mois	
96	OPalent	750 éléments	80% PN 20% LYM		G=0,02	A=0,24		INF 5ans	**S/T**
97	Clair	193 éléments	60%Lym 40%PN		G=0,33	A=0,68		ME 18mois	**S/T**
98	Clair	3600 élément	65% Lym 35% PN		G=0,52	A=1,70		UMC 18ans	

99	Trouble	200 éléments	70% LYM 30% PN					UMC 6ans	
100	Trouble	642 éléments	80%PN 20%LYM		G=0,46			UMC 6ans	
101	Hématiq	22 éléments	NB GR					UMC 10ans	
102	Xantho	512 éléments	60%Lym 4O%PN		G=0,46	A=1,01		UMC 8ans	
103	Clair	70 éléments	60%LYm 40%PN					UMC 14ans	
104	Clair	1142 élément	80% LYM 20% PN		G=0,43			UMC 4mois	

Annex: 02

Test échantillons appariés entres les déférentes variables.

Test échantillons appariés

		Différences appariées					t	ddl	Sig. (bilatérale)
		Moyenne	Ecart-type	Erreur standard moyenne	Intervalle de confiance 95% de la différence Inférieure	Supérieure			
Paire 1	Elm - Glu	610,01552	1748,18525	213,57482	183,59963	1036,43141	2,856	66	,006
Paire 2	Elm - Pro	609,48716	1747,95403	213,54657	183,12768	1035,84665	2,854	66	,006
Paire 3	Cul - Glu	-,35761	,41432	,05062	-,45867	-,25655	-7,065	66	,000
Paire 4	Cul - Pro	-,88597	,80216	,09800	-1,08163	-,69031	-9,041	66	,000

Recommandations

- Disponibiliser touts les matériels nécessaire au diagnostic de la méningite bactérienne en particulièrement l'incubateur à CO_2.
- D'assurer dans notre service de bactériologie un stock des réactifs et des produits nécessaire.
- Essayer d'assurer un minimum de technique de biologie moléculaire avec une formation du personnel des laboratoires au diagnostic moléculaire des MBs.
- Optimiser le rendement de l'examen direct et la culture en bactériologie.
- D'assurer le transport rapide de LCR au laboratoire.
- D'éviter l'administration abusive des antibiotiques aux patients avant la ponction lombaire.

Les références bibliographiques:

1 : Domo Nuoh.R, Mensah Nyarko.K, Nortey.P, et al.(2016). Review of meningitis surveillance data, upper West Region, Ghana 2009-2013. The Pan African Medical Journal. 25 , p1-5.

2: Mengistu.A, Gaeseb.J, Uaaka.G.(2013). Antimicrobial sensitivity patterns of cerebrospinal fluid (CSF) isolates in Namibia: implications for empirical antibiotic treatment of meningitis, Journal of Pharmaceutical Policy and Practice ,1-10.

3 : Ceyhanas.M, Gürlerbs.N, et al. (2014). Meningitis caused by Neisseria Meningitidis,Hemophilus Influenzae Type B and Streptococcus Pneumoniae during 2005– 2012 in Turkey. Hum Vaccin Immunother. 10(9): 2706–2712.

4:Van de Beek.D, Brouwer.M, Hasbun.R .(2016). Community-acquired bacterial meningitis . Nat Rev Dis Primers.vol,2, p1-20.

5 : Kasanmoentalib ES, Brouwer MC, Van de Beek D.(2013). Update on bacterial meningitis: epidemiology, trials and genetic association studies. Curr Opin Neurol. 26(3): 282-8.

6 : Koedel.U, Klein.M , Pfister. HW.(2010). New understandings on the pathophysiology of bacterial meningitis. Curr Opin Infect Dis. 23(3):217-23.

7 : Matthijs C. Brouwer, Allan R. Tunkel, Diederik van de Beek. (2010). Epidemiology, Diagnosis, and Antimicrobial Treatment of Acute Bacterial Meningitis. Clin Microbiol Rev, 23(3) ; 467–492.

8 : Amin.M,Ghaderpanah.M, Navidifar.T.(2016). Detection of Haemophilus influenzae type b, Streptococcus agalactiae, Streptococcus pneumoniae and Neisseria meningitidis in CSF specimens of children suspicious of Meningitis in Ahvaz, Iran. Journal of Medical Sciences, (32) 501-506.

Les références bibliographiques

9: D Liechti.F, Grandgirard.D,Stephen , Leib.S, et al. (2015).Bacterial meningitis: insights into pathogenesis and evaluation of new treatment options: a perspective from experimental studies. Future Microbiol, Vol. 10, No. 7, Pages 1195-1213.

10: Bouchet.A, Cuilleret.J.(1991). Anatomie topographique, descriptive etfonctionnelle. 3eme édition, paris, p 57.

11 *:* Sakka.L, Coll.G , Chazal.J, et al. (2011). Anatomie et physiologie du liquide cérébrospinal, Annales françaises d'oto-rhino-laryngologie et de pathologie cervico-faciale 128 ;(6), 359-366.

12 : Baastin R, Frottier J.(1970). Méningites purulentes, Encyclopédie médicochirurgicale neurologie, Paris; 17160A p 1-13.

13 : koedel.U .(2009). toll-like receptors in bacterial meningitis. Curr Top Microbiol Immunol. 336:15-40.

14**: D. Hasboun . (2012).** Neuroanatomie Morphologie. Université Pierre et Marie Curie, p14-15.

15 : J tortora.G, Derrickson.B.(2016). Manuel d'anatomie et de physiologie humaines. 2eme édition, paris ,France.P 280.

16 : Bingen.E, Bourillon.A, Clavaud.R, et al.(1996).Méningites Bactériennes Stratégies de traitement et de prévention. 75013 Paris, p 9-15.

17 : Malpaux.B, legros.C, et al. (2008). Role of cerebrospinal fluid in carrying melatonin to its central target sites. france ,p455-460.

18: Rosenstein NE, Perkins BA, Stephens DS,et al.(2001). Meningococcal disease. N Engl J Med 344:1378–1388.

19: Kelly S, Doran , Fulde.M, et al .(2016). Host–pathogen interactions in bacterial meningitis. Acta Neuropathol 131:185–209.

Les références bibliographiques

20 : Gerber.J , Nau.R. (2010). Mechanisms of injury in bacterial meningitis. Curr Opin Neurol. 23(3): 312-318.

21: Orihuela CJ, Mahdavi J, Thornton J, et al.(2009). Laminin receptor initiates bacterial contact with the blood brain barrier in experimental meningitis models. J Clin Invest; 119(6):1638–1646.

22 : Sebastiaan G, Heckenberg. B, Matthijs C, et al. (2014). Bacterial meningitis. Handbook of Clinical Neurology, Vol. 121.1363-1374.

23: Barichello.T, Glauco .D, Fagundes, et al. (2013). Pathophysiology of neonatal acute bacterial meningitis . Journal of Medical Microbiology , 62, p1781–1789.

24 : Barichello.T ,Jaqueline. S, Generoso L,et al.(2016). Role of Microglial Activation in the Pathophysiology of Bacterial Meningitism, Mol Neurobiol. 53(3):1770-1781.

25 : Van de beek D, James M .(2010). Nosocomial bacterial meningitis. New Engl J med. 362:146-154.

26 : Grandgirard D, Leib SL.(2010). Meningitis in neonates: bench to bedside. Clin Perinatol 37(3):655–676.

27 : Carriere .G.P.(2008). item 96 : meningites infectieuses et meningoencephalites chez l'enfant (et chez l'adulte*).p 5.

28: Grandgirard D, Gaumann R, Coulibaly B et al. (2013). The causative pathogen determines the inflammatory profile in cerebrospinal fluid and outcome in patients with bacterial meningitis. Mediators Inflamm, 312-476.

29: Meli. D.N, Leib. S.L, Christen.S, et al. (2002). Pathogenèse de la méningite bactérienne: comment éviter les séquelles neurologiques tardives? Forum Med Suisse No 43. p1016-1020.

30: Organisation Mondiale de la Santé. Techniques de Laboratoire pour le diagnostic des Méningites à *Neisseria meningitidis, Streptococcus pneumoniae* et *Haemophilus influenzae.* WHO/CDS/CSR/EDC/99.7.

31 : Université PARIS-VI Pierre et Marie Curie Faculté de Médecine PitiéSalpêtrière .2003. ln: Bactériologie *DCEM1 2002-2003,* service de Bactériologie, p 29-88.

32 : Freney.J, Renaud.F , Leclercq.R et Riegel.P.(2007). Précis de bactériologie clinique (2e édition), France.846-1407.

33: Adehossie.I , et al . (2016). Pilly Trop Maladies infectieuses tropicales. Le collége des universitaire et Maladies infectieuses tropicales.p334-335.

34: libbey.J.(2002).les bactéries ,champignons et parasites transmissibles de la mère à l'enfant .France ,p 99-128.

35: Aubard .T, Manciet .C, BAUDET JH. (1996). Listériose materno-foetal. Revue Française de Gynécologie Obstétrique, vol. 91, 404-412.

36: Eyquem.A ,alouf.J, montagnier.L .(2000). Traité de microbiologie clinique : deuxièmes Mise à Jour et compléments,Piccin Nuova Libraria S.P.A. Padoue ,Italie. p25-28.

37 : Delarras.C.(2010). Surveillance sanitaire et microbiologique des eaux : réglementation – Micro-organisme – prélèvements –Analyses. (2e édition), paris .p136-137.

38 : Howard.A, O'Donoghue.M et al.(2012). Acinetobacter baumannii An emerging opportunistic pathogen. Virulence. 1;3(3):243-250.

39 : Peleg AY, Seifert H, Paterson DL.(2008). *Acinetobacter baumannii* : emergence of a successful pathogen. Clin. Microbiol. Rev, 21 (3), 538-582.

40: larpent .J-P.(2010).monographies de microbiologie staphylococcus aureus. Paris. p4-6.

41: Alzahrani.H, Winter.J, Boocock.D,(2015). Characterization of outer membrane vesicles from a neonatal meningitic strain of *Cronobacter sakazakii.* FEMS Microbiology Letters, 362 (12),1-7.

42 : Grouzard.V, Rigal.J, Soutton.M .(2016). Guide clinique et thérapeutique. Médecins Sans Frontiéres, édition 2016.p175-176.

43:Dubos.F. (2009). Stratégie de prise en charge (diagnostic, surveillance, suivi) d'une méningite présumée bactérienne de l'enfant. Médecine et maladies infectieuses 39 ; 615–628.

44 : Ben Hamouda.H, Ben Haj khalifa.A, Hamza.M.A,et al.(2013). Clinical outcome and prognosis of neonatal bacterial meningitis, Archives de Pédiatrie, 20 , 938-944.

45: Modi.S, Anand.A.K.(2013). Phenotypic Characterization and Antibiogram of CSF Isolates in Acute Bacterial Meningitis. Journal of Clinical and Diagnostic Research. Vol-7(12), 2704-2708.

46: Bijlsma.MW, Brouwer.MC, Kasanmoentalib.ES,et al.*(2015).* Community-acquired bacterial meningitis in adults in the Netherlands, 2006–14: a prospective cohort study. Lancet Infect Dis, 16 (3): 339-47.

47 : Organisation Mondiale de la Santé. (2010). Guide de la lutte contre les méningites bactériennes communautaires, MS, Maroc.

48 : Mariani-Kurkdjian.P , Bingen.E.(2001) .Chapitre16: Diagnostic bactériologique et suivi biologique des méningites bactériennes, p159-166.

49 : Akiki .C, Lamarre .N, Boulos. E.(1991). methode d'analyse du liquide cephalo-rachidien et surveillance des meningites purulentes. médecine d'afrique noire : 38 (10). 674-678.

50: Seehusen,DA, Reeves MM.Fomin D.(2003). Cerebrospinal Fluid Analysis.Am Fam Physician .68 (6),1103-1108.

51: 17 e confirence de consensus en thérapeutique Antiè Infectieuse :pris en charge des méningites bacteriennes aigues communautaires (à l'exclusion du nouveau né). (2008). ASIEM-6rue Albert de Lapparnt – 75007. Paris,13-18.

52: Raji,K.(2010). Thèse pour l'obtention du doctorat en medecine. Epidemiologie des Meningites a Marrakech. Universite Cadi Ayyad faculte de Medecine et de Pharmacie Marrakech .

53 : Lin.W-L , Chi.H, Huang.F et al .(2014). Analysis of clinical outcomes in pediatric bacterial meningitis focusing on patients without cerebrospinal fluid pleocytosis. Journal of Microbiology, Immunology and Infection, 1-6.

54: CArbonnelle E.(2009).Rapport des examens biologiques dans le diagnostic positif ,la determination de l'étiologie et le suivi d'une méningite suspectée bacterienne. medcine et maladie infectieuse .02.017.

55 :Zarrouk V ,vassor I,berf F,et al.(2007). Evolution of the manegement of postoperative aseptic meningitis .Clin Infect Dis ;44:1555-9.

56: Vinchon. M, Dhellemmes P. (2006).cerebrospinal fluid shunt infection: risk factors and long-term follow-up. Childs Nerv Syst ;22, 692-697.

57 : Fitch,M, van de Beek,D.(2007). Emergency diagnosis and treatment of adult meningitis**.** Lancet Infect Dis.7(3):191-200.

58 :Delarras.C .(2014). Pratique de microbiologie de laboratoire : recherche de bactéries et de levures-moisissures. Paris .p 114.

59 : Denis.F, ploy.MC, Martin.C et al.(2007). Bacteriologie Medical techniques usuelles. (2e édition), France. p22.

60 : Jawetz.E, Melinck.JL, Adelberg.EA .(1973).Microbiologie medical .Paris, p 183.

61 : Barbe G. Babolat M., Boeufgras J.M,et al. (1994) Evaluation of API NH, a new 2-hour system for identification of *Neisseria* and *Haemophilus* species and *Moraxella catarrhalis* in a routine clinical laboratory. J. Clin. Microbiol., 32, 1, 187-189.

62: Sampo. E. (2013), mémoire pour l'obtention de diplôme du DEA, Impact de la PCR en temps réel dans le diagnostic précoce des méningites bactériennes aiguës au Burkina Faso. Université de Ouagadougou.

63: E. Varon. (2009) . Epidemiology of acute bacterial meningitis in adult patients in France. Médecine et maladies infectieuses .39 ; 432- 444.

64 :Elmakrini,N.(2014). Thèse pour l'obtention du doctorat en medecine, Méningites infectieuses communautaires Profil microbiologique et épidémiologique A l'Hôpital Militaire Moulay Ismaïl de Meknès De 2011 à 2013. Universite sidi Mohammed ben Abdellah Faculte de Medecine et de pharmacie Fes.

65 : Agier .L, Martiny .N, Thiongane .O.(2016). Towards understanding the epidemiology of *Neisseria Meningitidis* in the African meningitis belt: a multi-disciplinary overview. International Journal of Infectious Diseases, p2-35.

66*:* Gudina.EK, Tesfaye.M, Adane.Aet al. (2016). Challenges of bacterial meningitis case management in low income settings: an experience from Ethiopia.Tropical Medicine and International Health.1-9.

67 : Amenzoui.N ,Chtioui .I ,Bouskraoui.M.(2015). Observatoire national des méningites bactériennes confirmées au Maroc. 3ème Congrés National SOMIPEV Marrakech, du 27, 28 et 29 Mars 2015, p 6-7.

68 : Abdelkader.NA, Mahmoud.WA, Sally M S.(2014). Serum procalcitonin in Egyptian patients with acute meningitis and a negative direct cerebrospinal fluid examination, Journal of Infection and Public Health ,**7**, 106-113.

69 : F. G. Youssef, H. El-Sakka, A. Azab et al. (2004). Etiology, antimicrobial susceptibility profiles, and mortality associated with bacterial meningitis among children in Egypt, *Annals of Epidemiology*, 14 (1), 44–48.

70: Kamoun.F, Bibi Dowlut.M, Ben Ameur.S ,et al.(2015). Neonatal purulent meningitis in southern Tunisia: Epidemiology, bacteriology, risk factors and Prognosis.p1-8.

71 : Shawky Khater.W , Hamed Elabd.S.(2016), Identification of Common Bacterial Pathogens Causing Meningitis in Culture-Negative Cerebrospinal Fluid Samples Using Real-Time Polymerase Chain Reaction, International Journal of Microbiology,1-5.

72: Yoshikawa TT. (1997). Perspective: aging and infectious diseases: past, present, and future. J Infect Dis; 176: 1053-7.

73: Maimait .N, Isa .ZM, Rahimi.A,et al.(2012). Incidence of bacterial meningitis in South East Asia region. BMC Public Health. 12(2):A30.

74: Manning.L et al.(2014). Accuracy of cerebrospinal leucocyte count, protein and culture for the diagnosis of acute bacterial meningitis: a comparative study using Bayesian latent class analysis .Tropical Medicine and International Health vol-19(12) ,1520–1524.

75: Gounder.P, Zulz.T, Desai.S.(2015). Epidemiology of bacterial meningitis in the North American Arctic, 2000 – 2010, Journal of Infection, 1-9.

76 : Putz.K, Hayani.K, Arthur Zar.F.(2013). Meningitis. Prim Care Clin Office Pract 40.p707–726.

77: Ghotaslou.R, Farajnia.S, Yeganeh.Fet al. (2012). Detection of Acute Childhood Meningitis by PCR, Culture and Agglutination Tests in Tabriz, Iran. Acta Medica Iranica, 50(3): 192-196.

78 : Faye-Ketté H, Doukou ES, Boni C et al. (2003). Agents des méningites purulentes communautaires de l'enfant: tendance épidémiologique à Abidjan, Côte d'Ivoire, de 1995 à l'an 2000. Bull Soc Pathol Exot 96 (4) 313-316.

79: **Yadhav .K.(2014).**Study of Bacterial Meningitis in Children Below 5 Years with Comparative Evaluation of Gram Staining, Culture and Bacterial Antigen Detection. Journal of Clinical and Diagnostic Research, Vol-8(4):1-6.

80: Tai FR, Elola A, Traoré A et al.(2004).Méningites à Haemophilus et immunité naturelle anti-Haemophilus influenzae (HI b) chez l'enfant au Burkina Faso. Le Mali médical , 29 (3-4):44-47.

81 : Mezghani Maalej.S,. Kassis.M, Mahjoubi Rhimi.F.(2006). Bacteriology of community acquired meningitis in Sfax, Tunisia (1993-2001). Médecine et maladies infectieuses 36 .105–110.

82: Greenlee ,J.E. (1990). Approach to diagnosis of meningitis. Cerebrospinal fluid evaluation. Infect Dis Clin North Am.4(4),583-98.

83: Pusponegoro,HD.(1998). Epidemiologic study of bacterial meningitis in Jakarta and Tangerang : Preliminary report. Pediatr Infect Dis J .17(9) ,176–8.

84 : Roca.B, Tornador.N ,Tornador.E.(2008). Presentation and outcome of tuberculous meningitis in adults in the province of Castellon, Spain: a retrospective study. Epidemiol. Infect. 136, 1455–1462.

85 : Chavez-Bueno.S, McCracken.GH,(2005). Bacterial Meningitis in Children. Pediatr Clin N Am 52 .795– 810.

86 : Brivet.FG , Ducuing.S, Jacobs.Fet al.(2005). Accuracy of clinical presentation for differentiating bacterial from viral meningitis in adults: a multivariate approach. Intensive Care Med .31,1654–1660.

87: Ray.P, Badarou-Acossi.G, Viallon.A et al. (2007). Accuracy of the cerebrospinal fluid results to differentiate bacterial from non bacterial meningitis, in case of negative gram-stained smear. American Journal of Emergency Medicine, 25, 179–184.

88 : Yogev R. (2002). Meningitis. Pediatr Infect Dis Philadelphia, 630- 650.

89 : Benali.A, (2014), Thèse pour l'obtention du doctorat En Science Médical Maladies Infectieuse. Méningite Bactérienne Nosocomiale : Epidémiologique, Diagnostique et Thérapeutique. Université Mouloud Mammeri Tizi-Ouzou, Faculté de Médecine.