

Ministère de l'Éducation Nationale

□□□□□□□□

Université de Bamako

□□□□□

République du Mali

Un Peuple – Un But – Une Foi

□□□□□□□□

**Faculté de Médecine, de Pharmacie et
d'Odonto - Stomatologie.**

Année Universitaire 2005 - 2006

N°: ———

Thème

**Evaluation d'un milieu de transport du LCR pour la
Confirmation des méningites bactériennes.**

**Thèse présentée et soutenue publiquement le 15/07/2006 devant la
Faculté de Médecine, de Pharmacie et d'odontostomatologie par :**

Mr Sétié COULIBALY

**Pour obtenir le grade de : Docteur en Pharmacie
(Diplôme d'Etat)**

JURY:

Président:

Pr. Moussa HARAMA

Membre :

Dr. Kandioura TOURE

Co - directeur de thèse :

Dr. Seydou DIARRA

Directeur de thèse :

Pr. Flabou BOUGOUDOGO

FACULTE DE MEDECINE, DE PHARMACIE ET D'ODONTO-STOMATOLOGIE
ANNEE UNIVERSITAIRE 2005- 2006.

DOYEN : ANATOLE TOUNKARA - PROFESSEUR

1^{er} ASSESSEUR : DRISSA DIALLO - MAITRE DE CONFERENCES AGREGÉ

2^{ème} ASSESSEUR : SEKOU SIDIBE - MAITRE DE CONFERENCES

SECRETAIRE PRINCIPAL : **YENIMEGUE ALBERT DEMBELE** - **PROFESSEUR**

AGENT COMPTABLE : **MADAME COULIBALY FATOUMATA TALL** - **CONTROLEUR
DES FINANCES**

LES PROFESSEURS HONORAIRES

Mr Alou BA	Ophtalmologie
Mr Bocar SALL	Orthopédie Traumatologie-Secourisme
Mr Souleymane SANGARE	Pneumo- phtisiologie
Mr Yaya FOFANA	Hématologie
Mr Mamadou L TRAORE	Chirurgie Générale
Mr Balla COULIBALY	Pédiatrie
Mr Mamadou KOUMARE	Pharmacognosie
Mr Mohamed TOURE	Pédiatrie
Mr Ali Nouhoum DIALLO	Médecine Interne
Mr Aly GUINDO	Gastro-Entérologie

LISTE DU PERSONNEL ENSEIGNANT PAR D.E. R & PAR GRADE

D.E.R.CHIRURGIE ET SPECIALITES CHIRURGICALES

1. PROFESSEURS

Mr Abdel Karim KOUMARE	Chirurgie Générale
Mr Sambou SOUMARE	Chirurgie Générale
Mr Abdou Alassane TOURE	Orthopédie–Traumatologie, Chef de D.E.R

Mr Kalilou OUTTARA	Urologie
Mr Amadou DOLO	Gynéco-Obstétrique
Mr Alhousseini Ag MOHAMED	O.R.L.
Mme SY Aïda SOW	Gynéco-Obstétrique
Mr Salif DIAKITE	Gynéco-Obstétrique
Mr Abdoulaye DIALLO	Anesthésie- Réanimation

2. MAITRES DE CONFERENCES AGREGES

Mr Abdoulaye DIALLO	Ophtalmologie
Mr Djibril SANGARE	Chirurgie Générale
Mr Abdel Kader TRAORE Dit DIOP	Chirurgie Générale
Mr Gangaly DIALLO	Chirurgie viscérale
Mr Mamadou TRAORE	Gynéco-Obstétrique

3. MAITRES DE CONFERENCES

Mr Filifing SISSOKO	Chirurgie Générale
Mr Sékou SIDIBE	Orthopédie – Traumatologie
Mr Abdoulaye DIALLO	Anesthésie - Réanimation
Mr Tiéman COULIBALY	Orthopédie – Traumatologie
Mme TRAORE J. THOMAS	Ophtalmologie
Mr Mamadou L. DIOBANA	Stomatologie

4. MAITRES ASSISTANTS

Mme DIALLO Fatimata S. DIABATE	Gynéco-Obstétrique
Mr Sadio YENA	Chirurgie Générale et Traumatologie
Mr Issa DIARRA	Gynéco-obstétrique
Mr Youssouf COULIBALY	Anesthésie -Réanimation
Mr Samba Karim TIMBO	ORL

Mme TOGOLA Fanta KONIPO	ORL
Mr Zimogo Zié SANOGO	Chirurgie Générale

5. ASSISTANTS CHEFS DE CLINIQUE

Mme Diénéba DOUMBIA	Anesthésie-Réanimation
Mr Nouhoum ONGOIBA	Anatomie & Chirurgie Générale
Mr Zanafon OUATTARA	Urologie
Mr Adama SANGARE	Orthopédie-Traumatologie
Mr Sanoussi BAMANI	Ophthalmologie
Mr Doulaye SACKO	Ophthalmologie
Mr Ibrahim ALWATA	Orthopédie- Traumatologie
Mr Lamine TRAORE	Ophthalmologie
Mr Mady MAKALOU	Orthopédie-Traumatologie
Mr Aly TEMBELY	Urologie
Mr Niani MOUNKORO	Gynécologie-Obstétrique
Mr Tiemoko D. COULIBALY	Odontologie
Mr Souleymane TOGORA	Odontologie
Mr Mohamed KEITA	ORL

D.E.R DES SCIENCES FONDAMENTALES

1. PROFESSEURS

Mr Daouda DIALLO	Chimie Générale & Minérale
Mr Siné BAYO	Anatomie-Pathologie-Histoemryologie
Mr Amadou DIALLO	Biologie
Mr Moussa ARAMA	Chimie Organique
Mr Ogobara DOUMBO	Parasitologie- Mycologie
Mr Yénimégué Albert DEMBELE	Chimie Organique

Mr Anatole TOUNKARA	Immunologie Chef de D.E.R
Mr Bakary M. CISSE	Biochimie
Mr Abdourahamane S. MAIGA	Parasitologie
Mr Adama DIARRA	Physiologie
Mr Massa SANOGO	Chimie Analytique

2. MAITRES DE CONFERENCES AGREGES

Mr Amadou TOURE	Histoembryologie
Mr Flabou BOUGOUDOGO	Bactériologie-Virologie
Mr Amagana DOLO	Parasitologie

3. MAITRES DE CONFERNCES

Mr Mamadou KONE	Physiologie
Mr Mamadou CISSE	Biologie
Mr Sékou F.M. TRAORE	Entomologie médicale
MR Abdoulaye DABO	Malacologie-Biologie animale
Mr Ibrahim I. MAIGA	Bactériologie - Virologie

4. MAITRES ASSISTANTS

Mr Abdourahamane TOUNKARA	Biochimie
Mr Moussa Issa DIARRA	Biophysique
Mr Kaourou DOUCOURE	Biologie
Mr Bouréma KOURIBA	Immunologie
Mr Souleymane DIALLO	Bactériologie-Virologie
Mr Cheik Bougadari TRAORE	Anatomie-Pathologie
Mr Lassana DOUMBIA	Chimie Organique
Mr Mounirou BABY	Hématologie

Mr Mahamadou A. THERA

Parasitologie

5. ASSISTANTS

Mr Mangara M. BAGAYOGO

Entomologie Moléculaire Médicale

Mr Guimogo DOLO

Entomologie Moléculaire Médicale

Mr Abdoulaye TOURE

Entomologie moléculaire médicale

Mr Djibril SANGARE

Entomologie Moléculaire Médicale

Mr Mouctar DIALLO

Biologie parasitologie

Mr Boubacar TRAORE

Immunologie

Mr Bokary Y. SACKO

Biochimie

D.E.R. DE MEDECINE ET SPECIALITES MEDICALES

1. PROFESSEURS

Mr Abdoulaye Ag RHALY

Médecine Interne

Mr Mamadou K. TOURE

Cardiologie

Mr Mahamane MAIGA

Néphrologie

Mr Baba KOUMARE

Psychiatrie **Chef de D.E.R**

Mr Moussa TRAORE

Neurologie

Mr Issa TRAORE

Radiologie

Mr Mamadou M. KEITA

Pédiatrie

Mr Hamar A. TRAORE

Médecine Interne

Mr Dapa Aly DIALLO

Hématologie

Mr Moussa Y. MAIGA

Gastro-Entérologie- Hépatologie

Mr Somita KEITA

Dermato-Léprologie

2. MAITRES DE CONFERENCES AGREGES

Mr Toumani SIDIBE

Pédiatrie

Mr Bah KEITA

Pneumo-ptisiologie

Mr Boubacar DIALLO	Cardiologie
Mr Abdel Kader TRAORE	Médecine Interne
Mr Siaka SIDIBE	Radiologie
Mr Mamadou DEMBELE	Médecine Interne

3. MAITRES DE CONFERENCES

Mr Mamady KANE	Radiologie
Mr Saharé FONGORO	Néphrologie
Mr Bakoroba COULIBALY	Psychiatrie
Mr Bou DIABATE	Psychiatrie
Mr Bougouzié SANOGO	Gastro-entérologie

4. MAITRES ASSISTANTS

Mme Tatiana KEITA	Pédiatrie
Mme TRAORE Mariam SYLLA	Pédiatrie
Mr Adama D. KEITA	Radiologie
Mme SIDIBE Assa TRAORE	Endocrinologie
Mme Habibatou DIAWARA	Dermatologie
Mr Daouda K. MINTA	Maladies Infectieuses

5. ASSISTANTS CHEFS DE CLINIQUE

Mr Kassoum SANOGO	Cardiologie
Mr Seydou DIAKITE	Cardiologie
Mr Mahamadou B. CISSE	Pédiatrie
Mr Arouna TOGORA	Psychiatrie
Mme DIARRA Assétou SOUCKO	Médecine Interne
Mr Boubacar TOGO	Pédiatrie

Mr Mahamadou TOURE	Radiologie
Mr Idrissa A CISSE	Dermatologie
Mr Mamadou B DIARRA	Cardiologie
Mr Anselme KONATE	Hépatogastro-entérologie
Mr Moussa T. DIARRA	Hépatogastro-entérologie
Mr Souleymane DIALLO	Pneumologie
Mr Souleymane COULIBALY	Psychologie
Mr Soungalo DAO	Maladies Infectieuses
Mr Cheick Oumar GUINTO	Néphrologie

D.E.R. DES SCIENCES PHARMACEUTIQUES

1. PROFESSEURS

Mr Boubacar Sidiki CISSE	Toxicologie
Mr Gaoussou KANOUTE	Chimie analytique, Chef de D.E.R

2. MAITRES DE CONFERENCES AGREGES

Mr Ousmane DOUMBIA	Pharmacie Chimique
Mr Drissa DIALLO	Matières Médicales

3. MAITRES DE CONFERENCES

Mr Boulkassoum HAIDARA	Législation
Mr Elimane MARIKO	Pharmacologie
Mr Alou KEITA	Galénique

4. MAITRES ASSISTANTS

Mr Benoît KOUMARE	Chimie Analytique
Mr Ababacar I. MAIGA	Toxicologie

Mr Yaya KANE Galénique
Mme Rokia SANOGO Pharmacognosie

5. ASSISTANTS

Mr Saïbou MAIGA Législation
Mr Ousmane KOITA Parasitologie Moléculaire

D.E.R . DE SANTE PUBLIQUE

1. PROFESSEUR

Mr Sidi Yaya SIMAGA Santé Publique, **Chef de D.E.R**
Mr Sanoussi KONATE Santé Publique

2. MAITRE CONFERENCES AGREGE

Mr Moussa A MAIGA Santé Publique

3. MAITRES ASSISTANTS

Mr Bocar G.TOURE Santé Publique
Mr Adama DIAWARA Santé Publique
Mr Hamadoun SANGHO Santé Publique
Mr Massambou SACKO Santé Publique
Mr Alassane A. DICKO Santé Publique

5. ASSISTANTS

Mr Samba DIOP Anthropologie Médicale
Mr Seydou DOUMBIA Epidémiologie
Mr Oumar THIERO Biostatistique

CHARGES DE COURS & ENSEIGNANTS VACATAIRES

Mr N'Golo DIARRA	Botanique
Mr Bouba DIARRA	Bactériologie
Mr Salikou SANOGO	Physique
Mr Boubacar KANTE	Galénique
Mr souleymane GUINDO	Gestion
Mme DEMBELE Sira DIARRA	Mathématiques
Mr Modibo DIARRA	Nutrition
Mme MAIGA Fatoumata SOKONA	Hygiène du Milieu
Mr Mahamadou TRAORE	Génétique
Mr Yaya COULIBALY	Législation
Mr Lassine SIDIBE	Chimie Organique

ENSEIGNANTS EN MISSION

Pr. Doudou BA	Bromatologie
Pr. Babacar FAYE	Pharmacodynamie
Pr. Eric PICHARD	Pathologie Infectieuse
Pr. Mounirou CISSE	Hydrologie
Pr. Amadou Papa DIOP	Biochimie.

D E D I C A C E S

D E D I C A C E S

Je dédis cette thèse :

✚ **A Dieu** le Tout Puissant et Miséricordieux de m'avoir donné l'énergie nécessaire pour franchir les différentes étapes jusqu'aujourd'hui. Je le prie de me guider dans mes futurs projets.

✚ **A la mémoire de mon Père Diamako Coulibaly**

La mort vous a arraché très tôt à notre affection

Puisse votre courage et vos qualités humaines nous servir d'exemples dans la vie. Recevez l'expression de toute ma reconnaissance et de toutes mes affections, que votre âme repose en paix.

✚ **A ma mère Sorofing dite Sanata Coulibaly**

Cette assertion a été toujours la votre : le bonheur des enfants exige qu'ils naissent de parents unis et communs et vous vous en êtes tenue depuis. Tant de sacrifice et de patience mériteraient sans doute une certaine compensation, ne serait-ce que la paix de l'esprit.

Votre souci permanent d'une meilleure éducation de vos enfants et votre amour sans borne pour les études ont fait de moi ce que je suis aujourd'hui.

Aussi, qu'Allah vous donne longue vie.

✚ **A ma tante Tara dite Badjo Dembé**

L'amour et l'attention particuliers avec lesquels tu m'as traité depuis mon enfance resteront gravés dans ma mémoire. Je prie Dieu pour que tu puisses rester encore longtemps en vie auprès de moi.

✚ **A mon Grand frère Issa Coulibaly**

Vous avez toujours répondu présent au moment où j'avais besoin de vos aides matérielles ou morales. Vous avez été une source de courage pour moi tout au long de mes études. Aucune expression ne sera assez forte pour votre égard.

Ce travail est le votre, une fierté pour vous. Qu'il vous apporte toute la satisfaction attendue.

Acceptez ici l'expression de ma reconnaissance pour votre dévouement.

✚ A mon Cousin Nouhoum Coulibaly et son épouse Astan Magassa

Pour votre affection et votre amour, pour tout ce que vous avez fait à mon endroit et continuez de faire, pour l'aide et le soutien que vous avez apportés à la Maman. Les mots adéquats me manquent pour vous témoigner ma reconnaissance.

Trouvez dans ce travail l'expression de mon profond attachement.

✚ A ma belle femme Assétou dite Assou Diallo

Chère dame, les mots me manquent pour t'exprimer mes sentiments. Ton amour, ta bonté et ton affection nous ont toujours accompagné depuis notre arrivé à Bamako. Ce travail t'honore et est le fruit de tes sages conseils.

Puisse Allah vous donner longue vie avec votre famille pour goûter au labeur de cette œuvre. Amen !

✚ A mon logeur Mamadou Issa Coulibaly et son épouse Sia Kanta

Je vous remercie pour l'éducation dont j'ai bénéficié auprès de vous ainsi que des conditions adéquates.

Le jour est venu pour que je vous exprime ma profonde gratitude et ma reconnaissance.

✚ A mes amis (Adama Denou, Sékou Coulibaly)

Mes chers, aucun mot ne peut traduire ce qui nous unit et ce que nous avons vécu ensemble pendant les sept années à la Faculté de Médecine de Pharmacie et d'Odontostomatologie; vous êtes ma famille et rien n'est plus important que l'amitié et pour nous, c'est la vraie.

Recevez à travers ce modeste travail qui est du reste le votre tous mes sentiments de fraternité.

✚ A ma logeuse Djénéba Sogodogo dite Yaboye

Merci pour votre très grande contribution, votre soutien, et vos conseils qui m'ont été d'une très grande utilité, ce travail est également le vôtre. Puisse, Dieu vous accompagner dans tout ce que vous faites, qu'Il protège votre famille et vos enfants ! Merci pour tout. C'est vous qui m'avez hébergé durant neuf ans. Que le tout puissant vous récompense pour ce geste mille fois salutaire.

✚ Au Dr Doumbia Mariam Diallo

Votre apport au cours de ma formation de pharmacien a été inestimable. Vos qualités humaines m'ont comblé. Ce travail est le vôtre.

✚ A mes Oncles et Tantes

Merci pour les conseils et l'assistance dont j'ai toujours bénéficié de votre part.

✚ A mes Frères et Sœurs, Cousins et Cousines

Que j'invite au travail qui, seul libère l'être humain et le rend indépendant des autres ; à l'entente et à la concorde pour consolider l'unité familiale et renforcer les liens fraternels.

REMERCIEMENTS

Remerciements

✚ A mes ami(e) s

N'Golo dit Bakary Coulibaly, Baba Coulibaly, Boubacar Konaté, Sékou Coulibaly, Abdourhamane Cheyboune Maïga, Soungalo Coulibaly, Salimata Tangara, Soyez remerciés pour votre sincère amitié et pour les moments autant difficiles qu'agréables passés ensemble.

✚ A Mr Sy

Vous avez toujours été pour moi un refuge, vos conseils et votre soutien ne m'ont jamais fait défaut tout au long de mes études de pharmacie. Veuillez trouver ici le témoignage de ma profonde reconnaissance.

✚ A Nagazanga Dembélé

Vous m'avez émerveillé par votre sympathie. Ce travail est le tien.

✚ A tout le personnel de l'INRSP ;

Au Pr. Flabou Bougoudogo, aux Dr Seydou Diarra, Dr Sékou Traoré, Dr Malick Traoré, Dr Adam, à Mr Yossi, Mr Thiéwary Doumbia, Mr Boubacar Traoré, Mme Maïga, Mme Samaké Christiane, Mme Touré Salimata, Dia Maris etc.

Pour vos abords faciles et agréables, pour m'avoir permis de vous consulter à chaque fois que nous en avons besoin. Pour tous les conseils reçus et pour l'aide matérielle dans la réalisation de ce travail. Veuillez trouver ici mes sincères remerciements.

✚ A mes camarades de l'école fondamentale et du lycée

Je vous remercie infiniment de m'avoir assisté pendant ces moments inoubliables de ma vie.

✚ **A tout le personnel de la Pharmacie Benkadi de Boukassoumbougou** pour leur franche collaboration.

✚ A tout le personnel de la pharmacie Sodiya de Kalaban-Coura

Pour l'accueil, la générosité et le respect confraternel.

✚ A mes anciens camarades de chambre

Bakary koné ; Moussa G Dembélé ; Papa O Traoré ; Tambo ; Balla ; Yacouba dit Goboni ; Drissa Wattara. Vous avez été plus que des amis, mais de frères. Merci de vos conseils et écoutes.

✚ **Aux familles de :**

Danzéli Coulibaly à Titibougou ; Karim Coulibaly à Moribabougou ; Mamadou Doumbia à Kalaban-Coura ; Dr Bina Coulibaly à Kalaban-Coura ; Ali Diarra et Singor Traoré à Boukassoumbougou ; Bambino Diarra à Nafandji ; Issa Tangara à Guarantiguibougou ; Malick Coulibaly à Kalaban-Coura ; Adama Dembélé à Sangarébourg ; Ben Diallo à ATT-bougou ; Sounko Konaré à Kouloubléni ; Sounko Konaré et Salif Kanté à Konatébourgou ; Karamoko Coulibaly à Korofina Nord.

✚ **Aux jeunes Dr de la promotion : Dr Patomo Dominique Arama, Dr Oumar Sidibé, Dr Sékou Coulibaly** pour vos remarques et suggestions. Ce travail est le fruit de la conjugaison de nos efforts. Recevez ici l'expression de ma profonde gratitude.

✚ **A mes camarades thésards : Tiemoko Kanté, Souleymane Sanogo, Lamine Labasse Keïta.**

Je n'oublierai pas les moments merveilleux que nous avons passés ensemble à l'INRSP, je vous remercie de votre franche collaboration.

✚ **A mes cadets internes: Ibrahim Guindo, Araba Coulibaly, Maï Kanté.** Toutes mes reconnaissances pour le respect que vous avez manifesté à mon égard.

✚ **A tous les étudiants** (es) de la Faculté de Médecine de Pharmacie et d'Odonto-Stomatologie et particulièrement à notre promotion en souvenir des dures années de labeur passées ensemble.

✚ **A toutes les personnes** qui de près ou de loin auraient participé à ce long travail et que nous aurions omis de citer le nom, acceptez nos remerciements et excuses.

HOMMAGE AUX MEMBRES DU JURY

A notre Maître et président du jury

Professeur Moussa HARAMA

Professeur de chimie organique à la FMPOS,

Honorable maître ; permettez nous de vous remercier pour ce grand honneur que vous nous faites en acceptant de présider ce jury. Nous avons beaucoup apprécié la simplicité et la sympathie avec laquelle vous avez accepté de juger ce travail.

Permettez-nous cher maître de vous exprimer toute notre reconnaissance et notre sincère respect.

A notre Maître et juge
Docteur Kandioura TOURE
Chef de service de la section surveillance épidémiologique à la Direction
Nationale de la Santé (DNS),

Honorable maître ; nous sommes ravis de votre participation à ce jury pour juger de la qualité de notre travail.

Votre esprit critique, votre rigueur dans la démarche scientifique ont permis d'améliorer cette œuvre

Permettez-nous cher maître de vous exprimer toute notre gratitude.

**A notre Co-directeur
Docteur Seydou Diarra**

**Chef de service de Bactériologie de L'Institut National de Recherche en Santé
Publique,**

Honorable maître, c'est un privilège pour nous que vous siégez dans ce jury. Notre séjour dans votre service nous a permis d'apprécier en vous vos imminentes qualités humaines et scientifiques. Votre rigueur dans la démarche scientifique, votre amour pour le travail bien fait et votre ponctualité font de vous un maître exemplaire.

Veillez accepter cher maître, le témoignage de notre profond respect et de notre sincère gratitude.

A notre Maître et directeur de thèse
Professeur Flabou Bougoudogo
Professeur agrégé en Bactériologie et en Virologie,
Responsable de l'enseignement de Bactériologie et de Virologie à la FMPOS,
Directeur de L'Institut National de Recherche en Santé Publique.

Honorable maître ; nous ne saurions jamais trouver assez de mots pour témoigner notre reconnaissance, non seulement pour l'intérêt que vous portez à ce travail, mais aussi, la spontanéité avec laquelle vous avez accepté de le diriger.

Veillez accepter cher maître, le témoignage de notre profond respect et de notre sincère gratitude et soyez assuré de notre perpétuel dévouement.

SOMMAIRE

Sommaire

Liste des abréviations.

I- Introduction	1
II-Objectifs	3
III-Généralités	4
1-Définitions	4
2-Historique	6
3-Données épidémiologiques	7
4-Physiopathologie des méningites purulentes	9
5-Germes, formes cliniques, diagnostics biologiques	10
5-2- formes cliniques	14
5-3-Diagnostics biologiques	15
5-3-1 Modalité de recueil du LCR	15
5-3-2-Milieu de transport du LCR.....	17
5-3-3-Examen biologique du LCR.....	18
5-3-4-cytologie et examen microscopique.....	18
5-3-5-Biochimie.....	19
5-3-5-Diagnostic immunologique.....	19
6-Le traitement	21
6-1-Méningite à pneumocoque	21
6-2-Méningite à méningocoque.....	21
6-3-Méningite à <i>haemophilus influenzae</i> de type b	21
6-4-Purpura fulminans	21
7- La prévention	22
7-1-Prévention de la transmission	22:

7-2-Vaccination -----	22
7-3-Chinioprophylaxie -----	23
IV -Méthodologie -----	24
1-Cadre d'étude -----	24
2- Lieu d'étude -----	24
3-Période de l'étude -----	25
4-Etapes de l'étude -----	25
4-1-Phase 1-----	26
4-2-Phase 2 -----	27
4-2-2-Taille de échantillon-----	27
4-2-3-Critères d'inclusion et de non inclusion des LCR dans l'étude -----	28
4-2-4-Les Procédures Techniques de LCR au niveau des sites-----	29
4-2-5-Transports des échantillons-----	29
4-2-6-Méthodes de laboratoire -----	29
4-2-6-1-Aspect macroscopique -----	29
4-2-6-2-Cytologie -----	30
4-2-6-3-Coloration de Gram -----	30
4-2-6-4- Recherche d'antigènes solubles -----	31
4-2-6-4-1- Principe-----	31
4-2-6-4-2- COMPOSITION DU TEST -----	31
4-2-6-4-3- MODE OPERATOIRE -----	31
4-2-6-4-4- Lecture des résultats -----	32
4-2-6-4-5- LIMITES DU TEST -----	32
4-2-6-5-Culture dans les deux T-I -----	33
4-2-6-5-1-Composition des T-I -----	33
4-2-6-5-2- Technique d'inoculation des deux T-I -----	35
4-2-6-5-3-Isolements -----	35
4-2-6-5-4-Identification -----	35
4-2-6-5-5- L'oxydase -----	36
4-2-6-5-6- La catalase -----	37
4-2-6-5-7-Test à l'optochin -----	37
4-2-6-5-8-Facteurs X et V de Croissance des <i>Haemophilus</i> -----	37

4-2-6-5-9-Conservation des souches et du LCR -----	38
4-2-7-Contrôle de qualité -----	38
4-2-8-Collecte des données -----	38
4-2-9-Analyse des données -----	38
V- Résultats -----	39
1-Les résultats de la phase 1-----	39
2- Résultats de la phase 2-----	40
VI- Commentaires et discussions -----	46
VII -Conclusions -----	49
VIII -Recommandations -----	50
IX -Bibliographies -----	52
X- Annexe	

ABREVIATIONS

Liste des Abréviations

C3G	: Céphalosporines de troisièmes générations
CDC	: Center for Disease control.
CFU/ml	: Unité formant colonie par millilitre
CHU	: Centre Hospitalier Universitaire
CMI	: Concentration Minimale d'Inhibitrice
CO₂	: Dioxyde de carbone
CPS	: La capsule Polysaccharides
CSREF	: Centre de Santé de Référence
CVD	: Centre pour le Développement des Vaccins.
DDRB	: Département de Diagnostic et de Recherche Biomédicale
g	: Gramme
g/l	: Gramme par litre
Hib	: Haemophilus influenzae b
IDSR	: Integrated Disease Surveillance and Response
IL1	: Interleukine 1
IM	: Intramusculaire
INRSP	: Institut National de recherche en Santé Publique
LCR	: Liquide Céphalo-Rachidien
LPS	: Lipopolysaccharides
mg/Kg/j	: Microgramme par kilogramme par jour
ml	: Millilitre
mm³	: Millimètre cube

Mn	: <i>Neisseria meningitidis</i>
MnA	: <i>Neisseria meningitidis A</i>
MnB	: <i>Neisseria meningitidis B</i>
MnC	: <i>Neisseria meningitidis C</i>
MOPS	: [3-(N-morpholino) acide propane-sulfonique]
MT-I	: Trans-Isolate Modifié
NAD	: Nicotinamide Adenine Dinucléotide
OMS	: Organisation Mondiale de la Santé
ORL	: Oto-Rhino-Laryngologie
PCR	: Polymerase Chain Reaction
PEV	: Programme Elargi de Vaccination
PL	: Ponction lombaire
PNUD	: Programme des Nations Unies pour le Développement
SC	: Sous cutané
t/mn	: Tour par minute
T-I	: Trans Isolate
TNF	: Tumoral Nécrose Factor
TSA	: Tryptic Soy Agar
TSB	: Tryptic Soy Agar Broth
USA	: United State of America
VCN	: Vancomycine-Colistine-Nystatine
µg	: Microgramme
µl	: Micro litre

INTRODUCTION

I- Introduction

Les méningites purulentes se définissent comme étant des inflammations aiguës ou chroniques des méninges cérébrales ou médullaires par des bactéries pyogènes [1].

Selon l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS), pendant les 20 dernières années, environ 800 000 cas de méningite ont été déclarés au niveau de la ceinture méningitique de Lapeysonnie [29].

Des flambées épidémiques locales imputables au méningocoque du groupe C ont été signalées en 1993 aux Etats-Unis d'Amérique, en 1997 en Espagne et en Nouvelle Zélande [30].

Au Mali, l'épidémie la plus récente a été signalée en 1996 [21].

Trois espèces bactériennes (*Neisseria meningitidis*, *Streptococcus pneumoniae*, *Haemophilus influenzae de type b*) sont responsables de plus de 80% des cas de méningites purulentes [18,31].

Ces pathogènes sont responsables d'infections invasives comme les septicémies, les pneumonies, les méningites, les otites et autres avec une morbidité et une mortalité importantes chez l'enfant en Afrique. En effet, l'enfant de moins de 5 ans et les nourrissons sont les plus touchés avec une mortalité supérieure à 30% [44]. L'hématome sous-dural et la surdité qui en résultent, sont des complications redoutables [23].

La méningite constitue donc une urgence médicale par les séquelles qu'elle laisse, et par le taux de résistance aux antibiotiques dans nos pays.

Le pronostic dépend de la précocité du diagnostic et de l'instauration d'une antibiothérapie efficace [10].

Le laboratoire joue un rôle très important dans la confirmation des cas de méningite ou cas d'épidémie et au cours de la surveillance épidémique. Cette confirmation nécessite une culture de la bactérie responsable, l'identification des sérogroupes et souvent des génotypes.

Les conditions de travail dans les districts sanitaires ne permettent pas une confirmation au niveau local dans notre pays, d'où la nécessité de transporter les LCR jusqu'au centre national de référence.

Le milieu de transport actuel couramment utilisé est le Trans Isolate (T-I). Il peut être utilisé comme milieu de culture, de conservation et de transport ; permet la culture primaire de *Neisseria meningitidis*, *Streptococcus pneumoniae* et d'*Haemophilus influenzae de type b* à partir de prélèvements de LCR et de sang.

L'inconvénient de ce milieu est qu'il coûte cher et n'est fabriqué présentement que par 3 laboratoires dans le monde (Atlanta, USA ; Oslo, Norvège ; Johannesburg, Afrique du Sud).

Le nouveau milieu est le Trans Isolate modifié (MT-I) qui a été mis au point par le Centers for Disease Control and Prevention (CDC), et semble s'apparenter au T-I pour la survie des souches isolées dans le laboratoire. Il pourrait renforcer les capacités diagnostiques des laboratoires de la surveillance épidémiologique.

Ce milieu est moins cher, peut être fabriqué localement, mais l'inconvénient est qu'il ne contient pas de facteurs X et V pour *Haemophilus influenzae de type b*.

OBJECTIFS

II- Objectifs

1- Objectif Général:

Évaluer un nouveau milieu (MT-I) de transport du LCR, pour la confirmation biologique des cas suspects de méningite.

2-Objectifs spécifiques :

a- Comparer la croissance des souches de référence sur les 2 milieux T-I et MT-I dans les conditions de laboratoire.

b- Comparer les proportions de cultures positives des LCR inoculés en double sur T-I et MT-I dans les conditions du terrain.

GENERALITES

III- Généralités

1-Définition : [5]

Les méningites bactériennes sont dues à des bactéries pyogènes, principalement trois germes : *Haemophilus influenzae*, méningocoque et pneumocoque. D'autres germes peuvent être rencontrés comme : staphylocoque, streptocoque, germe de la tuberculose, etc.

Le terme issu du grec meninx, les méninges sont des membranes constituées de trois enveloppes recouvrant le système nerveux central (cerveau, moelle épinière) dans lesquelles circule le liquide céphalo-rachidien.

Ce sont de l'extérieur vers l'intérieur :

- La dure-mère ou parenchyméninge, épaisse et fibreuse dont le rôle est de protéger l'encéphale qui comprend le cerveau, le cervelet et le tronc cérébral.
- L'arachnoïde fait partie des méninges molles ou leptoméninges
- La pie-mère appelée leptoméninge est constituée d'une membrane très fine qui adhère à la surface du système nerveux directement.

L'espace sous-arachnoïdien contient le liquide céphalo-rachidien.

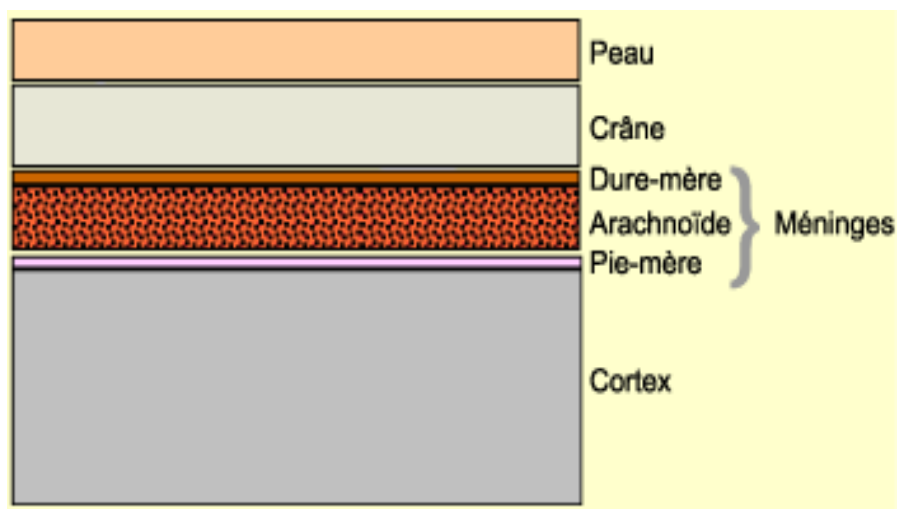


Figure 1: Coupe transversale des méninges [5].

2-Historique : [17,41]

Neisseria meningitidis fut identifié comme agent causal de méningite bactérienne par Weichselbaum en 1887. Mais la méningite à méningocoque avait été décrite cliniquement en 1805 par Vieusseux lors d'une épidémie survenue aux environs de Genève, en Suisse.

En 1890, Pfeiffer découvre l' *Haemophilus influenzae b*. Il est l'agent non pas de la grippe comme l'avait cru Pfeiffer mais de méningites, d'infections diverses ; il est aussi à l'origine des complications de la grippe.

En 1903, la méningite cérébro-spinale est rattachée au méningocoque isolé par Weichselbaum.

En 1906, Flexner fabrique le sérum anti-meningococcique et Doppler l'administre par voie intrathécale en 1908 ; après les débuts prometteurs de la sérothérapie polyvalente. Les échecs se multiplient d'année en année.

En 1907, ce sont les premiers essais d'utilisation de vaccin à germes entiers tués.

En 1935, Domack découvre le sulfamide, premier antibactérien, qui a transformé le pronostic vital en réduisant le pourcentage des séquelles liées aux méningites.

En 1938, Flemming découvre la pénicilline laquelle fut introduite en thérapeutique en 1940.

Dès 1948-1949, le chloramphénicol s'est révélé comme un des antibiotiques les plus actifs, remarquable par son excellent pouvoir de diffusion dans les espaces sous - arachnoïdiens.

En 1963, c'est l'année marquant l'apparition des phénomènes de sulfamido-resistance.

En 1968, c'est l'avènement des vaccins anti-meningococcique polysaccharidiques A et C.

En 1974, c'est l'année où fut entreprise la première campagne de vaccination de masse au Brésil.

Après de nombreux échecs et tâtonnement, la vaccination a bénéficié durant la dernière décennie de progrès décisifs avec les vaccins polysaccharidiques mono ou polyvalents. L'apport du vaccin tétravalent sera sans doute plus bénéfique. Ces dernières années, les céphalosporines de troisième génération (Cefotaxime et Ceftriaxone) ont transformé considérablement le pronostic vital et réduit les séquelles chez les nourrissons et les jeunes enfants.

3-Données épidémiologiques : [17, 27,45]

En Afrique Noire, il semble, d'après les travaux de Dackey et de Lapeysonnie, que la méningite cérébro-spinale ait été identifiée par Marchoux au Sénégal ; cependant, l'affection existait bien avant. La première vague d'épidémie décrite avec précision prit naissance en 1905 probablement au Soudan (anglo-égyptien) et se répandit vers l'ouest, touchant la grande majorité de l'Afrique Occidentale comprise entre le huitième et le sixième parallèle Nord.

En 1906 et 1907, il y a eu une grande épidémie en Haute-Volta (Burkina) et en Côte d'Ivoire.

En 1921, une épidémie partant du Nigeria, atteignit le Nord de la Côte d'Ivoire puis le Niger.

En 1927, une autre épidémie débute à l'extrême Sud du Soudan anglo-égyptien et intéresse tout le territoire soudanais en 1930.

En 1931, l'épidémie atteignit son maximum dans les Etats de l'Ouest Africain : du Niger au Sénégal en traversant la Haute-Volta (Burkina), le Nord du Nigeria, le Nord du Ghana, le Mali et le Nord de la Guinée. Officiellement, 22 403 personnes furent recensées avec 8105 décès.

En 1945, des dizaines de milliers de malades sont dénombrés dans la même zone : la Côte d'Ivoire, le Soudan français (Mali) et le Sénégal ont été les plus touchés.

Comme on peut le constater, l'Afrique a toujours connu des périodes épidémiques d'ampleur variable. Ces poussées épidémiques s'observent en général en Afrique tropicale et singulièrement en Afrique soudano-sahélienne, où la méningite sévit avec une activité particulière dans une zone qui s'étend de la façade atlantique à la corne de l'Afrique et qui a été décrite par Lapeysonnie en 1963.

En 1944 et 1974, soit une période de 30 ans, plus d'un million de cas de méningites cérébro-spinales ont été enregistrés. Cela apparaît comme la résultante de l'existence d'un fond endémique permanent, sur lequel se greffe des poussées épidémiques d'une périodicité de 8 à 15 ans environs.

Ces poussées épidémiques touchent non seulement les agglomérations rurales mais également les grandes agglomérations urbaines. On peut se rappeler les épidémies de Bamako (1981), de Ouagadougou (1981), de N'Djamena (1988).

Les grandes épidémies africaines sont associées aux sérogroupes A et C en Asie, la méningococcie est habituellement due au séro groupe A. En dehors de l'Afrique, seule la Mongolie a signalé une grande épidémie ces dernières années (1994-1995).

Tout porte à croire que le séro groupe W135 est associé à des flambées d'une ampleur considérable en 2000 et 2001, plusieurs centaines de personnes effectuant le pèlerinage du Hadj en Arabie saoudite ont été infectées par *N.meningitidis* W135 en 2002, le W135 est apparu au Burkina Faso, frappant 13 000 personnes, dont 1500 décès.

La méningococcie frappe lourdement l'Afrique subsaharienne, connue pour être la « ceinture de la méningite », une zone s'étendant du Sénégal à l'ouest, jusqu'à l'Ethiopie à l'Est, dont la population totale estimée est de 300 millions d'habitants. Cette zone d'hyperendemie est caractérisée par un climat et des habitudes sociales particulières. Au cours de la saison sèche, entre décembre et juin, à cause des vents chargés de poussières et des infections des voies respiratoires supérieures contractées à cause des nuits froides, l'immunité locale du pharynx est diminuée, augmentant ainsi le risque de méningite. Par ailleurs, la transmission de *N.meningitidis* est favorisée par un habitat familial surpeuplé et les grands déplacements de la population engendrés par les pèlerinages et les marchés traditionnels régionaux. Cette conjonction de facteurs explique les grandes épidémies qui se produisent au cours de cette saison dans la ceinture de la

méningite. Du fait de l'immunité collective (qui fait que la transmission est bloquée lorsqu'un pourcentage critique de la population a été vacciné), ces épidémies se produisent sur un mode cyclique. *N.meningitidis* A, C et W135 constituent aujourd'hui les principaux sérogroupes impliqués dans l'activité de la méningite à méningocoques en Afrique.

En 1996, l'Afrique a été frappée par la flambée de méningite épidémique la plus importante jamais enregistrée, avec plus de 250 000 cas et 25 000 décès. Entre cette épidémie et 2002, 223 000 nouveaux cas de méningites à méningocoques ont été notifiés à l'Organisation Mondiale de la Santé.

Les pays les plus touchés ont été le Burkina Faso, le Tchad, l'Ethiopie et le Niger ; en 2002, les flambées survenues au Burkina Faso, en Ethiopie et au Niger ont été responsables de près de 65% du total des cas notifiés sur le continent Africain .De plus, la ceinture de la méningite semble s'étendre vers le sud.

En 2002, la région des Grands Lacs a été touchée par des flambées survenues dans des villages et des camps de réfugiés et ayant provoqué plus de 2 200 cas, dont 200 décès.

En 2003-2004, cinq pays (Mali, Ghana, Côte d'Ivoire, Burkina Faso, Niger) ont notifié 11805 cas dont 1530 décès (létalité : 12,9%). La létalité fut inférieure à 10% dans les trois autres pays touchés.

Entre le 29 mars et le 8 juin 2005, l'Inde a recensé 405 cas de méningite meningococcique, dont 48 décès. Le National Institut of Communicable Diseases en Inde a confirmé que le serogroupe A était en cause.

4-Physiopathologie des méningites purulentes :

La survenue d'une méningite suppose que l'agent pathogène soit capable d'envahir l'espace sous arachnoïdien et d'y produire une inflammation. Ceci suppose que les bactéries responsables de la méningite sont capables de franchir la barrière hémato-méningée.

Une fois entrée dans le LCR, la bactérie rencontre peu d'obstacles à son développement. En effet, les éléments responsables de la bactéricide sérique font défaut dans le LCR.

La concentration en immunoglobulines y est très basse par comparaison au sang. Ce déficit en anticorps et en complément contribue au faible pouvoir bactéricide du LCR.

Les mécanismes en causes dans ce processus sont méconnus, cependant deux éléments semblent acquis : les bactéries meningitogènes doivent être capables d'induire des bactériémies intenses et prolongées. Une interaction étroite aux cellules endothéliales des capillaires neuro-meningées est indispensable. Les éléments ultérieurs, qui font suite à l'effraction des bactéries dans le liquide céphalo-rachidien (LCR) et qui sont responsables de la survenue d'une inflammation, sont mieux connus et en rapport avec une production de cytokine (TNF et IL1 surtout). Cette production de cytokine précède l'apparition de l'exsudat inflammatoire.

L'afflux de polynucléaires dans le LCR est la première conséquence de la libération de cytokines [17].

La deuxième grande conséquence de la production des cytokines est une augmentation de la perméabilité de la barrière hémato-encéphalique (QUAGLIARELLO et COLL. 1986).

L'ensemble des événements survenant au cours d'une méningite bactérienne résulte d'une part de l'afflux des polynucléaires, et d'autre part de l'altération de la barrière hémato-encéphalique (TUNKEL et SCHELD, 1993).

5-Germes, formes cliniques, diagnostics biologiques :

5-1- Germes :

a) Méningocoque : [13,17, 27].

Neisseria meningitidis est un diplocoque gram négatif en grain de café extra et surtout intra cellulaire. On recense 12 sous-types ou sérogroupes de *Neisseria meningitidis* (A,B ,C,X,Y,Z,W135 ,29E,H,J,I et L), dont quatre sont connus pour provoquer des épidémies(*N. meningitidis* A,B,C et W135).

La méningite à méningocoque est plus grave aux ages extrêmes. Aujourd'hui, l'émergence du W135 est une réalité, c'est un serogroupe du *Neisseria meningitidis*. Il est fréquemment incriminé comme étant associé à plusieurs épidémies de méningocoque A dans le monde et de plus en plus en Afrique. En effet, au Burkina Faso, sur les 12 587 cas de méningite dont 1 447 décès rapportés à l'OMS en mai

2002, le méningocoque W135 avait une part prépondérante. Sa létalité est de 12,26%.

La pathogénicité, l'immunogénicité et le potentiel épidémique varient d'un séro groupe à l'autre et c'est pourquoi leur identification est capitale pour enrayer une éventuelle épidémie.

Le méningocoque est un germe spécifique de l'homme, saprophyte du rhinopharynx. Selon l'Organisation Mondiale de la Santé 10 à 25% de la population sont porteurs de *N. meningitidis*, sans provoquer la maladie ; dans de rares cas, elle vient au bout des défenses naturelles de l'organisme et cause la méningite. Ce taux de portage peut être beaucoup plus important en cas d'épidémies.

La transmission bactérienne s'opère de personne à personne par les gouttelettes de sécrétions respiratoires ou pharyngées, un contact étroit et prolongé (baiser, éternuement et toux, vie en collectivité, mise en commun des couverts ou des verres, etc, favorise la propagation de la maladie. La période d'incubation se situe entre 2 et 10 jours, mais est généralement inférieure à 4 jours.

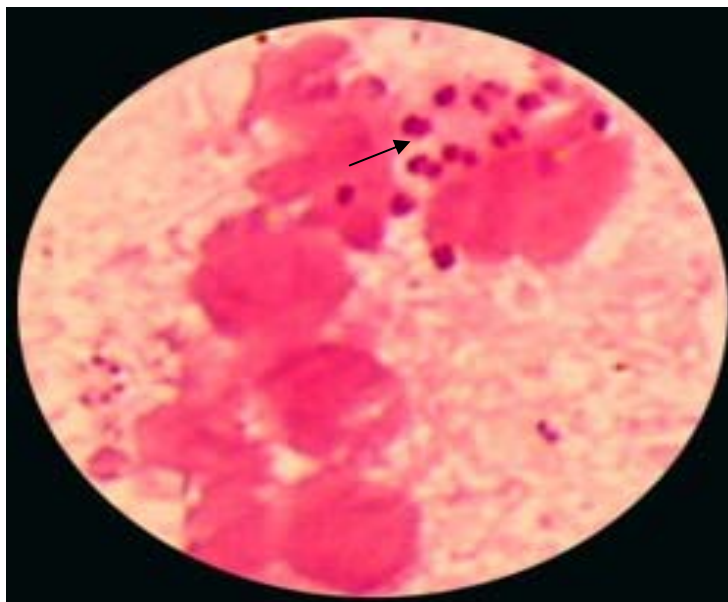


Figure 2 : coloration de Gram de Neisseria meningitidis [26].

b) Pneumocoque : [17]

Découvert par Pasteur dès 1881, les pneumocoques sont des diplocoques gram positif en flamme de bougie colonisant le rhino-pharynx de l'homme et des animaux.

L'infection des méninges se fait par voie septicémique à partir d'un foyer pneumococcique ORL ou d'une brèche ostéoméningée de la base du crâne qui sera systématiquement recherchée en cas de méningites récidivantes à pneumocoque.

L'enfant de moins de 2 ans et les personnes de plus de 60 ans sont les plus touchés. L'immunité naturelle contre le pneumocoque est acquise seulement vers l'âge de cinq ans, mais la susceptibilité aux infections de ce type (Otites, pneumonie, méningite etc.) est maximale avant l'âge de deux ans.

Les complications, surtout ORL, sont courantes. La morbidité y est plus élevée : 40-50%.

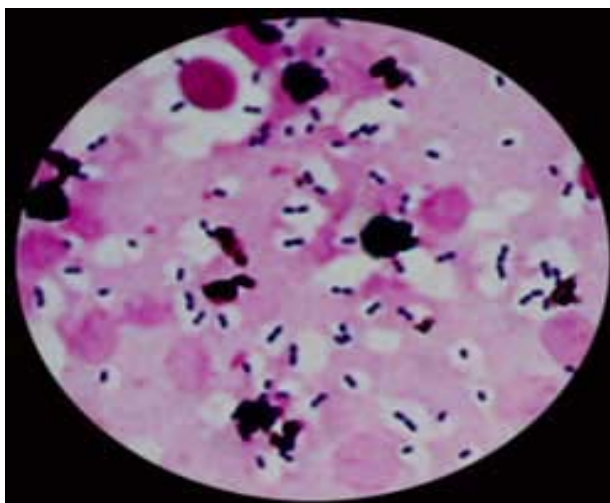


Figure 3 : coloration de Gram de *Streptococcus pneumoniae* [8].

C) *Haemophilus influenzae b* [17]

Petits bacilles ou coccobacilles de Gram négatif, contaminant les méninges par bactériémie à partir d'un foyer ORL, pulmonaire.

L'Hib a été découvert en 1890, par le bactériologiste Allemand **Pfeiffer**. Avant les années 1990, c'était la principale forme de méningite bactérienne chez les enfants de moins de cinq ans et les nourrissons, avec une mortalité supérieure à 30%, mais l'usage répandu du vaccin Hib a considérablement réduit sa portée.

L'effondrement de la glycorachie dans le LCR, l'apparition d'une surdité, de séquelles neurologiques et l'hématome sous-dural sont des complications redoutables.

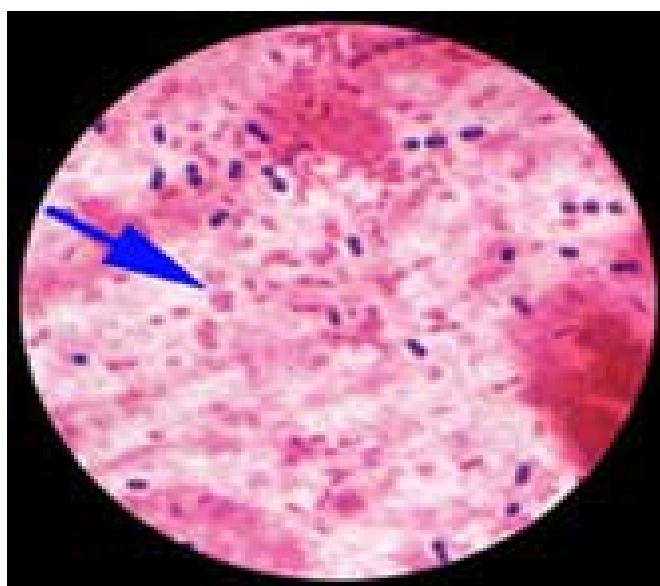


Figure 4 : Coloration de Gram d' *Haemophilus influenzae* [10].

5-2- formes cliniques : [12, 14, 34,35]

- Période de début :

Chez le grand enfant et l'adulte, le début est brutal après une incubation généralement silencieuse, de deux à quatre jours. La température s'élève à 39-40°C, tandis que surviennent des frissons, des céphalées et des vomissements.

Le début peut encore être plus subi, marqué par l'installation d'un coma.

A l'inverse, les symptômes s'installent parfois plus progressivement, au cours des premières heures, la nuque est un peu raide, et douloureuse ; il existe une ébauche de signe de Kernig.

A la ponction lombaire, le LCR est hypertendu, opalescent, louche et parfois clair .Il contient des polynucléaires plus ou moins altérés ; seule la culture du liquide, sur milieux solides enrichis, assure avec certitude l'isolement et l'identification du méningocoque.

Chez le nourrisson, le début est souvent insidieux, lent et marqué par une discrète somnolence, avec des troubles digestifs prédominants (anorexie, vomissements), la tension de la fontanelle est ici le signe capital. Il faut avoir la ponction lombaire facile au moindre doute à cet âge.

- Période d'état :

Elle survient vers le deuxième jour d'incubation, elle comprend un syndrome méningé et un syndrome infectieux.

⇒ **Le syndrome méningé :**

Il est évident à ce stade. Il se caractérise par des signes principaux qui sont : céphalées, vomissements, constipation dont l'ensemble porte le nom de trépied **méningitique**. Si les vomissements et la constipation sont inconstants, les

céphalées sont intenses et constantes. Il faut noter que l'hyperesthésie cutanée rend difficile l'examen clinique qui retrouve la raideur de la nuque, les signes de Kernig et de Brudzinski.

- le signe de Brudzinski : se caractérise par la douleur et la raideur majorées par le maintien des jambes en extension.
- le signe de Kernig : se caractérise du fait que la tête se rejette en arrière et les céphalées augmentent, si on ramène les jambes, laissées en extension, sur le tronc. Ces deux signes sont intéressants pour le diagnostic des formes frustes.

⇒ **Le syndrome infectieux :**

Il se traduit par une fièvre élevée, un pouls rapide, un faciès vultueux. Dans le sang, on note une hyperleucocytose avec polynucléose neutrophile.

- Evolution :

-Evolution favorable :

Elle est spectaculaire, sous l'influence d'une antibiothérapie adaptée, précoce et bien menée ; on assiste à une guérison spectaculaire, la fièvre et les céphalées disparaissent en 48 heures, le LCR quant à lui redevient limpide en 3 ou 4 jours.

-Complications :

Elles surviennent lorsque la prise en charge n'est pas adéquate et précoce. Les complications peuvent apparaître sous forme de : paralysies oculaires, atteintes auditives, visuelles, troubles du caractère ou retard scolaire ultérieur.

Les rechutes et les septicémies à méningocoques sont moins exceptionnelles.

5-3-Diagnostic biologique :

Le diagnostic des méningites purulentes est un diagnostic d'urgence. Il est important de pouvoir affirmer rapidement la nature bactérienne de la méningite et de disposer sans retard d'indication sur l'étiologie afin de mettre en œuvre rapidement l'antibiothérapie la mieux adaptée [11].

5-3-1 Modalité de recueil du LCR : [16]

Le produit pathologique est le LCR. Dès les premiers signes cliniques de la maladie, le LCR est prélevé par ponction lombaire entre le 4^{ème} et le 5^{ème} vertèbre lombaire (L4 et L5).

Le prélèvement doit être fait par un personnel qualifié et dans les conditions d'asepsie afin d'éviter la contamination par les germes banals.

Au moment du prélèvement, il est nécessaire de s'assurer que le patient est calme, assis ou en décubitus latéral, le dos en arc de manière à ce que la tête touche les genoux.

Le matériel nécessaire pour la ponction lombaire doit comprendre :

- désinfectant cutané
- compresse et pansement adhésif
- aiguille à ponction lombaire pour adultes et pour enfant
- seringue et aiguille
- tube à hémolyse stérile avec capuchon pour recueillir le LCR

Ensuite le LCR doit être transporté dès que possible au laboratoire pour être examiné. Il ne doit pas être réfrigéré, il faut éviter l'exposition à une chaleur excessive ou à la lumière solaire.

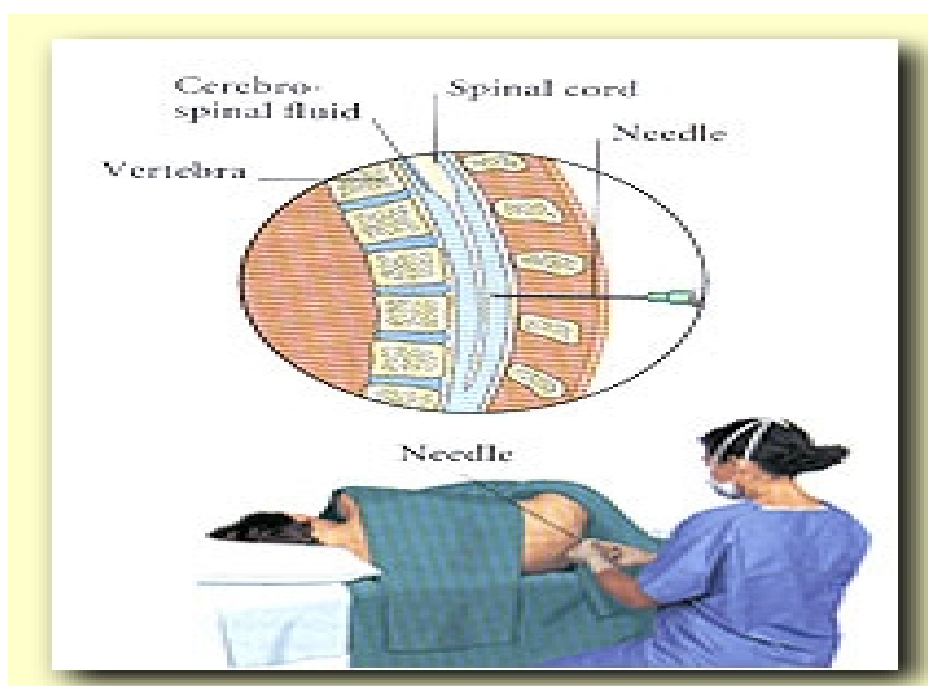


Figure 5 : mode de Ponction lombaire [36].

5-3-2-Milieu de transport du LCR [28, 33]

Milieu Trans Isolate : c'est un milieu utilisé pour le transport du LCR de la périphérie vers les laboratoires nationaux de référence et constitue un outil essentiel dans la confirmation biologique de la méningite bactérienne. Ce milieu disphasique permet la culture primaire de *Neisseria meningitidis*, *Streptococcus pneumoniae* et *Haemophilus influenzae* à partir de prélèvements du liquide céphalorachidien (LCR). Il peut être utilisé comme milieu de culture, de conservation et de transport.

Malheureusement, le milieu T-I est complexe et coûteux (2-3 dollars US) et n'est fabriqué présentement que par 3 laboratoires dans le monde (Atlanta, USA; Oslo, Norvège; Johannesburg, Afrique du Sud). L'affrètement international entraîne souvent les retards dans la livraison. En conséquence, la surveillance épidémiologique de la méningite peut souvent souffrir de l'approvisionnement en milieu T-I. La mise au point d'un milieu alternatif T-I à moindre coût (0,47 dollar US) pouvant être fabriqué localement pourrait renforcer les capacités diagnostiques des laboratoires de la surveillance dans la ceinture de la méningite en Afrique. Un milieu de transport T-I modifié (MT-I) a été mis au point par le Centers for Disease Control and Prevention (CDC), et semble s'apparenter au T-I pour la survie des souches isolées dans le laboratoire.



Figure 6 : Milieu Trans-Isolate (T-I) [33].

5-3-3-Examen biologique du LCR

Il est réalisé dans un contexte d'urgence.

L'aspect macroscopique du liquide dès réception permet de préciser si le liquide est clair (eau de roche), trouble (eau de riz), hémorragique, xanthochromique.

5-3-4-cytologie et examen microscopique [11, 17,21]

L'examen cytologique doit être réalisé rapidement puisque l'on considère que les polynucléaires neutrophiles sont lysés à 32% en 1 heure et 50% en 2 heures.

La coloration de Gram, étape essentielle et rapide, est réalisée sur une préparation obtenue de préférence par cyto centrifugation. Celle-ci augmentera les performances de l'examen de 100 à 1000 fois. Ces performances dépendent de la densité bactérienne, elle-même variable selon l'espèce en cause, la durée d'évolution de la méningite, l'existence d'une antibiothérapie préalable. On estime entre 60 et 90% le nombre d'examens directs positifs au Gram en l'absence de traitement. Ce chiffre passe à 40 voire 60% chez les patients ayant reçu des antibiotiques. Du fait de la plus grande densité bactérienne, le pourcentage d'examens directs positifs au Gram serait le plus important pour *S.pneumoniae* et *H.influenzae*, plus faible pour *N.meningitidis*, et surtout pour *L. monocytogènes*. L'examen direct permet de préciser la présence ou l'absence de bactéries, leur aspect (cocci ou bacilles, Gram positif ou négatif), la présence d'une capsule, intra ou extra leucocytaire. Néanmoins, cette caractérisation peut s'avérer difficile, soit du fait du faible nombre

de bactéries, soit en raison de leur aspect polymorphe. Les résultats seront immédiatement transmis au clinicien. Par ailleurs, au cours des méningites purulentes authentiques, lorsque la ponction lombaire est réalisée précocement, il arrive que l'examen direct soit positif alors que la cytologie est encore normale ou très faible. Mais, il s'agit de cas rares, puisque entre 0 et 0,07% seulement des LCR ayant moins de 10 leucocytes/mm³ présente à la fois une coloration de Gram et une culture positive. L'examen direct et la mise en culture doivent être systématiques quelle que soit la cytologie.

Le choix des milieux de culture doit permettre le développement de bactéries exigeantes. Il fautensemencer systématiquement une gélose au sang et une gélose au sang cuit enrichi d'un supplément vitaminique, incubée en atmosphère à 5 % de CO₂. Actuellement, le recours à des inoculations de flacons gérés par des automates d'hémoculture a permis un gain de 24 à 48 heures. La culture permet la réalisation de l'antibiogramme, la détermination des CMI et une éventuelle recherche d'enzyme de résistance (β- lactamase). L'antibiogramme s'effectue par la méthode des disques (méthode de Chabber).

5-3-5-Biochimie

Une glycorachie inférieure à 50% de la glycémie ou inférieure à 0,4g/l, même si elle est normale dans 9% des méningites purulentes, et une protéinorachie comprise entre 1 et 5 g/l sont quasi pathognomoniques d'une méningite purulente [15].

5-3-6-Diagnostic immunologique

L'intérêt d'une recherche d'antigènes solubles est diversement évalué. Réalisée par la technique d'agglutination de latex sensibilisé, elle peut confirmer le diagnostic lorsque le Gram est douteux, elle apporte peu en terme de gain diagnostic lorsque le résultat du Gram est négatif [15].

Tableau I : Orientations diagnostiques et thérapeutiques en fonction des résultats de la ponction lombaire [2].

Aspect du liquide	Cellules	Glycorachie Protéïnorachie	Examen Direct	Diagnostic présumé	Traitement en urgence
Sang	formule sanguine	Sanguine	Négatif	hémorragie méningée	neurochirurgie
Clair	<500/mm ³ Lymphocytes	Normale <1g/l	Négatif	méningite virale	aciclovir (si encéphalite)
Clair	<500/mm ³ Lymphocytes	abaissée<0,4 >1g/l	Négatif	tuberculose cryptocoque	traitement antituberculeux fungizone
Troubles	>500/mm ³ Polynucléaires	abaissée<0,4 >>1g/l	Coques G+ Coques G- Bacille	pneumocoque méningocoque Listeria	C3G ± vanco Amoxicilline Amoxicilline C3G C3G

			G+ Bacille G- Négatif	Haemophilus Bactérie	
* 0,4 : rapport glycorachie/glycémie					

6-Le traitement : [9, 14, 32,36]

-Antibiothérapie :

L'ampicilline ou l'amoxicilline restent le traitement de référence de la méningite cérébro-spinale de l'adulte. En revanche, les céphalosporines de troisième génération sont maintenant recommandées dans le traitement de première intention des méningites du petit enfant.

La durée du traitement varie en fonction du germe.

Le traitement consiste en l'administration d'une céphalosporine de troisième génération injectable : Cefotaxime (voir Ceftriaxone).

6-1-Méningite à pneumocoque :

Cefotaxime à la dose 300 mg/Kg/j en association avec Vancomycine à la posologie de 60 mg/Kg/j pendant les deux premiers jours.

Le traitement est ensuite à adapter en fonction des résultats de l'antibiogramme. Si le pneumocoque est de sensibilité normale à la pénicilline, le traitement est poursuivi par céfotaxime à une posologie plus faible de 200 mg/Kg/j, la Vancomycine est arrêtée. Si l'antibiogramme trouve un pneumocoque de sensibilité anormale à la pénicilline, la bi antibiothérapie est poursuivie. L'efficacité du traitement est contrôlée systématiquement par une ponction lombaire dans les 48 heures.

6-2-Méningite à méningocoque :

La Cefotaxime (200 mg/Kg/j) ou Ceftriaxone (100 mg/Kg/j) est efficace.

La durée du traitement est de 7 jours.

Le chloramphénicol huileux : 3g en une seule dose en IM chez adulte , 100 mg/kg pour les enfants.

La durée du traitement est de 2 jours.

6-3-Méningite à *haemophilus influenzae* de type b :

Céphalosporines de troisième génération administrées en monothérapie.

6-4-Purpura fulminans :

Ceftriaxone, 50 à 100 mg/Kg/j(ne pas dépasser 1 g chez l'enfant, 1 à 2 g chez l'adulte).

Céfotaxime par voie intraveineuse ou intramusculaire, 50 mg/Kg sans dépasser 1 g chez l'enfant, 1 g chez l'adulte).

A défaut, amoxicilline par voie intraveineuse ou intramusculaire, 20 à 50 mg/Kg sans dépasser 1 g.

7- La prévention :

7-1-Prévention de la transmission : [19]

La transmission de *Neisseria meningitidis* se fait de personne à personne, à partir d'un porteur nasopharyngé plus souvent que d'un malade, par contact avec des gouttelettes ou des sécrétions orales infectées. La prévalence du portage nasopharyngé est variable et n'est pas corrélée avec le risque d'épidémie. La contagiosité disparaît rapidement chez les malades traités par antibiotiques. Comme le méningocoque est relativement sensible aux changements de température et à la dessiccation, ce germe n'est pas transmis par l'intermédiaire d'équipements ou de matériels.

Par conséquent :

* ni l'isolement du malade, ni la désinfection de la chambre, de la literie, des vêtements ne sont nécessaires ;

* la détection des porteurs par culture de prélèvements nasopharyngés n'est pas recommandée. Les études de portage ne sont utiles ni pour prédire une épidémie, ni pour guider une décision de prophylaxie.

7-2-Vaccination : [6,19]

Quatre antigènes polysaccharidiques spécifiques sont actuellement disponibles, relevant des serogroupes A, C, Y et W135. Ils sont distribués sous forme lyophilisée, et sont injectés par voie IM ou SC. Il existe un vaccin bivalent A-C et un vaccin quadrivalent A-C-Y-W135 contenant 50 mg de chaque antigène. Malgré les progrès réalisés pour développer des vaccins contre le méningocoque B, aucun n'est encore distribué aujourd'hui.

Les vaccins méningococques qui sont des polysaccharides capsulaires induisent une réponse immunitaire thymo-indépendante, variable avec l'âge. Chez les adultes et les enfants de plus de 4 ans, une dose unique induit en une dizaine de jours une ascension rapide des anticorps et une protection dans plus de 80 % des cas. La protection dure au moins un an, souvent plusieurs années. La réponse est plus faible chez les nourrissons et les jeunes enfants.

Cependant, le vaccin du serogroupe A est plus immunogénique que d'autres polysaccharides et peut induire même chez les nourrissons de 3 mois un taux d'anticorps appréciable.

Les vaccins polysaccharidiques méningococques ne sont pas utilisés en routine au cours de la première enfance à cause de leur efficacité insuffisante à cet âge. Dans certains pays les recrues militaires sont systématiquement vaccinées avec le vaccin A-C dès leur incorporation.

Dans quelques pays, la vaccination est appliquée à l'entourage proche d'un cas sporadique pour prévenir d'éventuels cas secondaires. La vaccination contre le méningocoque est très efficace pour enrayer les épidémies dues aux sérogroupes A et C. Quand une campagne de masse est rapidement réalisée, l'épidémie peut être arrêtée en deux ou trois semaines.

7-3-Chimioprophylaxie :

Elle s'applique à l'entourage proche du patient atteint de méningite à *Neisseria meningitidis*, D'ailleurs, dès l'identification de l'origine meningococque, une déclaration obligatoire de la maladie doit être adressée aux services départementaux afin d'instaurer rapidement un traitement prophylactique à l'ensemble des sujets contactés. Ce traitement repose sur la Rifampicine. Cet antibiotique est actif sur le *Neisseria meningitidis* et sur *Haemophilus influenzae*.

En cas de méningite à *Neisseria meningitidis* :

Dose enfant (pendant 2 jours)

- enfant <1 mois : 5mg/kg 2 fois par jour ;
- de 1mois à 15 ans : 10mg/kg 2fois par jour ;

En cas de méningite à *Haemophilus influenzae* :

Dose enfant (pendant 1 jour)

- enfant <1mois :10mg /kg ;
- nourrisson et enfant : 20mg/kg

En cas de contre-indication, la Spiramycine peut être utilisée [3].

METHODOLOGIE

IV Méthodologie

1-Cadre d'étude :

Il s'agit d'une évaluation d'un nouveau milieu (MT-I) de transport du LCR, pour la confirmation biologique des cas suspects de méningite dans le district de Bamako. Le travail a été effectué dans le service de bactériologie de l'INRSP.

2- Lieu d'étude :

L'Institut National de Recherche en Santé Publique :

Le laboratoire de référence du Réseau National de lutte contre les maladies infectieuses épidémiques et endémiques, fait parti de l'INRSP qui est un service public spécialisé dans le développement des recherches biomédicales en médecine traditionnelle et en santé communautaire. Son site est à Bamako.

L'INRSP entretient des relations étroites avec des laboratoires Africains et Occidentaux. Il reçoit souvent de ces laboratoires des échantillons pour analyse (étude de confirmation ou d'identification). Il arrive que pour les mêmes raisons, l'INRSP aussi adresse à ces laboratoires des échantillons de produits pathologiques.

Des échanges scientifiques ont souvent lieu entre les chercheurs des différents instituts.

Il reçoit aussi des échantillons médicaux en provenance des différentes localités du Mali à des fins d'analyse.

L'INRSP comprend cinq départements et une agence comptable.

Ces départements sont :

- Département santé communautaire,
- Département médecine traditionnelle,
- Département formation,
- Département administration et formation,
- Département de Diagnostic et de Recherche Biomédicale (DDR) qui se

compose de laboratoires de :

- . Immuno-sérologie
- . Bactériologie
- . Hématologie
- . Biochimie
- . Parasitologie
- . Cytogénétique
- . Anato-pathologie.

Le service de bactériologie-virologie a servi de cadre de travail à notre étude. Il comprend :

- ❖ Une section de bactériologie générale où sont réalisées les analyses sur les prélèvements de pus, d'urines, de sang (hémoculture) et les échantillons alimentaires ;
- ❖ Une section de recherche sur la tuberculose ;
- ❖ Une section de stérilisation et de préparation du matériels de travail (milieux de culture et colorants) ;
- ❖ Une section de recherche sur la méningite dotée d'équipements adéquats.

3-Période de l'étude :

Notre étude s'est déroulée du novembre 2003 jusqu'en décembre 2004.

4-Etapes de l'étude :

L'étude comprend quatre phases :

Phase 1 : elle consistait à comparer la multiplication et la survie de *N.meningitidis* dans les milieux T-I et M T-I dans les conditions de laboratoire.

Phase 2: elle consistait à comparer la croissance des bactéries dans les milieux T-I et MT-I inoculés par le LCR dans les conditions du laboratoire de référence (INRSP; Bamako).

Phase 3: celle-ci consistait à comparer la croissance des bactéries dans les milieux T-I et MT-I inoculés par le LCR dans les conditions du terrain (périphérie)

Phase 4: elle concernait le transfert de technologie (préparation du milieu MT-I à l'INRSP)

Notre étude a concerné les phases 1 et 2.

Par suite d'absence d'épidémie à la période d'étude, les phases 3 et 4 n'ont pas été exécutées dans notre étude.

4-1-Phase 1 :

4-1-1-Souches de référence et les dilutions :

La phase 1 a été faite au CDC, Atlanta, en utilisant quatre souches de référence dont deux *N.meningitidis* A (**M7060**, **M7126**) et deux W135 (**M6266**, **M7034**) prises dans leur collection. Des suspensions à 0,5 Mac Farland ($1 \times 5 \cdot 10^8$ cfu) ont été préparées à partir de ces souches en vue de valider le comptage des colonies sur les boîtes de gélose au sang (30 – 300 cfu / boîte). Chaque suspension a été diluée pour avoir $1,5 \times 10^3$; $1,5 \times 10^2$; $1,5 \times 10^1$; $1,5 \times 1$ unité formant les colonies par millilitre (Cfu/ml).

4-1-2-Dénombrement des colonies dans les boîtes :

A partir de chaque dilution, trois boîtes de gélose au sang ont étéensemencées à raison de 100 μ l par boîte. Le nombre moyen d'unité formant colonies a été déterminé après 18 heures à 24 heures d'incubation à 37°C sous CO₂.

4-1-3-Inoculation des flacons de T-I et MT-I :

Pour chacune des dilutions à $1,5 \times 10^3$; $1,5 \times 10^2$; $1,5 \times 10^1$ cfu / ml trois flacons de T-I et de MT-I ont été inoculés à raison de 500 μ l / flacon.

Les flacons ont été incubés avec capsule débloquée au quart à différentes températures : 25°C sans CO₂, 37°C sous CO₂, 37°C sans CO₂ et 42°C sans CO₂, pendant 24 heures, 48 heures et 72 heures.

A partir de chaque flacon de T-I et MT-I, l'isolement a été fait sur la gélose sang en faisant l'ensemencement par la méthode des quadrants et à raison de 10µl de la culture par boîte. La croissance ou la survie des souches de *N.meningitidis* dans les T-I était déterminé chaque jour par la croissance des colonies de méningocoque sur la gélose au sang.

Le nombre de quadrants avec croissance bactérienne sur la gélose au sang a été estimé de la façon suivante :

4+ = (croissance de *N. meningitidis* dans chacun des 4 cadrans)

3+ = (croissance de *N.meningitidis* dans 3 cadrans sur 4)

2+ = (croissance de *N. meningitidis* dans 2 cadrans sur 4)

1 = (croissance de *N. meningitidis* dans seulement 1 cadran sur 4).

4-2-Phase 2 :

4-2-1-Sites de l'étude :

Sept sites étaient concernés par la phase 2 : deux Hôpitaux (service de pédiatrie de l'Hôpital Gabriel Touré, l'Hôpital Mère Enfant) et cinq Centres de Santé de Référence des communes du district de Bamako (CSRef commune I, II, IV, V et VI). Ces sites ont été choisis selon les critères suivants : disponibilité du personnel impliqué dans la surveillance de la méningite, réflexe à pouvoir faire une ponction lombaire devant les cas suspects de méningite cérébrospinale, existence d'un laboratoire capable de faire l'analyse du LCR (coloration de Gram, cytologie).

4-2-2-Taille de l'échantillon :(Tableau II)

La taille de l'échantillon a été calculée au CDC d'Atlanta en utilisant un modèle de non-infériorité dans lequel la différence entre les deux milieux était définie au départ. Sur une base des données, il a été estimé que le T-I ainsi que le MT-I donnerait un taux d'isolement positif des bactéries de 35% avec un seuil de tolérance acceptable des taux à 15%.

En conséquence, l'hypothèse nulle avec le modèle de non-infériorité est que la

Taux de Culture positive en T-I	Taux de Culture positive en MT-I	Différence Acceptable avec les taux de culture positive	Taille des Echantillons
----------------------------------------	-----------------------------------------	----------------------------------------------------------------	--------------------------------

différence entre les taux d'isolement des bactéries pour les deux milieux de transport est supérieure ou égale à 15%. Une culture de bactéries positives dans 35% des échantillons en T-I, et de moins de 20% des échantillons dans le nouveau milieu de transport était recherchée.

Une taille d'échantillon de 124 prélèvements de LCR était nécessaire pour établir que la différence des taux de culture positive entre T-I et MT-I n'est pas supérieure à une différence de 15%.

Tableau II: Estimation de la taille des échantillons

0.17	0.17	0.15	81
0.17	0.17	0.10	179
0.20	0.20	0.15	90
0.20	0.20	0.10	201
0.25	0.25	0.15	104
0.25	0.25	0.10	233
0.30	0.30	0.15	115
0.30	0.30	0.10	260

0.35	0.35	0.15	124
0.35	0.35	0.10	280
0.40	0.40	0.15	131
0.40	0.40	0.10	295
0.45	0.45	0.15	134
0.45	0.45	0.10	304
0.50	0.50	0.15	136
0.50	0.50	0.10	307

4-2-3-Critères d'inclusion et de non inclusion des LCR dans l'étude :

➤ Critères d'inclusion des LCR dans l'étude :

▪ Sont inclus tous les LCR :

-dont le volume avant inoculation des T-I et MT-I est supérieur ou égal à 2 ml,

- dont le nombre des leucocytes est supérieur ou égal à 100/mm³,

-Reçus en tube dans un délai de moins de 24 heures à partir de la date de prélèvement.

➤ Critères de non inclusion dans l'étude :

▪ Sont non inclus tous les LCR :

-Provenant des sites non retenus dans l'étude,

-Provenant des sites retenus mais ne répondant à l'un des caractères d'inclusion,

-Patients ayant reçu un traitement antibiotique avant la ponction lombaire.

4-2-4-Les Procédures Techniques de LCR au niveau des sites :

✦ **au niveau des Hôpitaux :** aucune analyse préliminaire n'a été faite, tous les LCR étaient envoyés en tube avec la fiche IDSR à l'INRSP.

✦ **au niveau des CSRef:** les analyses préliminaires consistaient à :

- Faire l'examen macroscopique du LCR,
- Faire la coloration de Gram,
- Faire l'inoculation des deux T-I pour les LCR répondant aux critères d'inclusion.
- Faire l'enregistrement des résultats sur la fiche de résultat du laboratoire.

4-2-5-Transports des échantillons :

Les prélèvements étiquetés avec un numéro d'identification ont été transportés à l'INRSP à la température ambiante, dans des tubes ou dans des flacons T-I et MT-I, accompagnés de la fiche IDSR, et de la fiche de résultat des CSRef.

4-2-6-Méthodes de laboratoire (INRSP) :

Tous les LCR ont été traités selon la méthode de routine du laboratoire (aspect macroscopique, cytologie, coloration de Gram, latex, culture et identification). Ceux des 2 hôpitaux et ceux non inoculés par les CSRef mais répondant aux critères d'inclusion, étaient retenus pour l'étude et inoculés dans le T-I et MT-I.

4-2-6-1-Aspect macroscopique :

On apprécie à l'œil nu l'aspect du LCR qui peut être :

- Normal : dans ce cas, il est limpide et incolore comme l'eau de roche,
- Hématique : dans ce cas, il est rouge dû à la présence des globules rouges.
- Xanthochromique : à la suite de compression médullaire ou d'hémorragie méningée ancienne.
- Trouble : dû à une hyperleucocytose (de l'aspect moins trouble, opalescent à l'aspect franchement purulent).

4-2-6-2-Cytologie :

Elle consiste dans un premier temps à dénombrer par millimètre cube (mm³) de LCR homogénéisé, les hématies et les leucocytes à l'aide de la cellule de Malassez :

- humecter la surface des deux plateaux ;
- déposer, en exerçant une pression ferme avec les doigts sur une lamelle spéciale optiquement plane.
- le LCR non centrifugé est remué pour mettre en suspension les éléments cellulaires, on prélève un certain volume à la pipette 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 x 40.

Lorsque les éléments cellulaires sont nombreux, le décompte se fait sur quelques bandes puis on fait la moyenne des leucocytes et des hématies. Cette moyenne est multipliée par 10 pour avoir le nombre de leucocytes et des hématies par mm³.

Lorsqu'il y a peu d'éléments, le décompte est fait sur toute la cellule et le chiffre obtenu est rendu comme tel en nombre par mm³.

4-2-6-3-Coloration de Gram :

Elle consiste à réaliser des frottis du culot de centrifugation sur lame neuve dégraissée.

Ces frottis sont colorés au Gram et observés au microscope à l'objectif x 100 à immersion, afin d'apprécier la morphologie des germes.

Neisseria meningitidis : se présente sous forme de diplocoque à Gram négatif en grains de café intra ou extracellulaires.

Streptococcus pneumoniae : se présente comme des diplocoques à Gram positif lancéolés parfois associés en courtes chaînettes.

Haemophilus influenzae : se présente sous forme de petits bacilles ou des coccobacilles à Gram négatif polymorphes.

4-2-6-4- Recherche d'antigènes solubles :

Nous avons utilisé le Pastorex® Meningitis qui permet un diagnostic précoce des principaux germes responsables de la majorité des méningites purulentes à savoir le

MnA, MnB, MnC, MnY/W135, *Streptococcus pneumoniae*, *Haemophilus influenzae* de type b et *Streptococcus B*.

4-2-6-4-1- Principe :

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

4-2-6-4-2- Composition du test:

Le Pastorex Meningitis est un kit complet pour 25 tests. Il est composé de:

- cartes d'agglutination jetable,
- 50 lames,
- bâtonnets mélangeurs jetables,
- réactif 1(**R1**) : *N.meningitidis B/E.coli K1* latex,
- réactif 2(**R2**) : *N.meningitidis B/E.coli K1* négative control,
- réactif 3(**R3**) : *H influenzae*,
- réactif 4(**R4**) : *S.pneumoniae*,
- réactif 5(**R5**) : *Streptococcus B*,
- réactif 6(**R6**) : *N.meningitidis A*
- réactif 7(**R7**) : *N.meningitidis C*
- réactif 8(**R8**) : *N.meningitidis Y/W135*,
- réactif 9(**R9**) : Control polyvalent négatif,
- réactif 10(**R10**) : Control polyvalent positif,
- réactif 11(**R11**) : Diluent.

4-2-6-4-3- Mode opératoire :

- * Dans le cas d'un LCR très trouble ou présentant une contamination par des globules rouges, on le centrifuge durant 5 minutes à 2000t/mn et on recueille le surnageant.
- * Nous avons chauffé l'échantillon 3 minutes à 100°C (incubateur sec ou bain-marie) puis centrifugé.
- * Après, nous avons déposé une goutte (40 à 50 µl) de surnageant dans chaque cercle de la carte jetable.
- * Les réactifs latex ont été bien homogénéisés.

- * Une goutte de chaque réactif latex a été déposée dans chaque cercle de la carte jetable (maintenir le flacon en position verticale).
- * Nous avons mélangé les latex à l'échantillon au moyen d'un bâtonnet en changeant de bâtonnet pour chaque latex.
- * Et enfin, un léger mouvement de rotation a été donné à la carte avant l'observation d'une éventuelle agglutination en moins de 10 minutes.

4-2-6-4-4- Lecture des résultats : La lecture se fait à l'œil nu et sous un bon éclairage.

Réaction négative : la suspension reste homogène et légèrement opalescente (absence d'agrégats).

Réaction positive : apparition d'une agglutination franche (ou d'une agrégation) des particules de latex en moins de 10 minutes.

L'intensité d'agglutination et le temps d'apparition sont fonction de la concentration en antigènes de l'échantillon testé.

4-2-6-4-5- Limites du test :

La technique immunologique au latex permet dans de nombreux cas un diagnostic présomptif du germe en cause. Cependant, la concentration en antigène de l'échantillon peut être inférieure au seuil de détection de ces latex et donner un résultat négatif. Il est utile, dans ce cas, de répéter le prélèvement ultérieurement. En conséquence, cette technique ne saurait remplacer la culture qui, seule permet la réalisation d'un antibiogramme.

Le diagnostic final, comme pour tout diagnostic biologique, ne peut être pris sur le résultat d'un seul test mais sur un ensemble de données cliniques et de résultats biochimiques, cytologiques et immunologiques.

4-2-6-5-Culture dans les deux T-I :

4-2-6-5-1-Composition des T-I :

Le milieu Trans-Isolate est un milieu disphasique qui permet la culture primaire de *Neisseria meningitidis*, *Streptococcus pneumoniae* et *Haemophilus influenzae* à partir de prélèvements du liquide céphalorachidien (LCR). Il peut être utilisé comme milieu de culture, de conservation et de transport. Le volume total de la phase solide et de la phase liquide est environ égal à la moitié du volume du flacon quelque soit le flacon.

Produis	T-I	MT-I
Charbons actifs	2g	2g
Amidon soluble	3g	3g
Gélatine	8g	8g
Agar	2g	2g
Tampon 0,1M MOPS [3-(N-morpholino) acide propane-sulfonique]	présence	absence
bouillon trypticase-soja (TSB)	12g	12g
supplément d'enrichissement (Iso Vitalex ou Vitox par exemple)	Présence (10ml)	absence
Eau déionisée	absence	présence

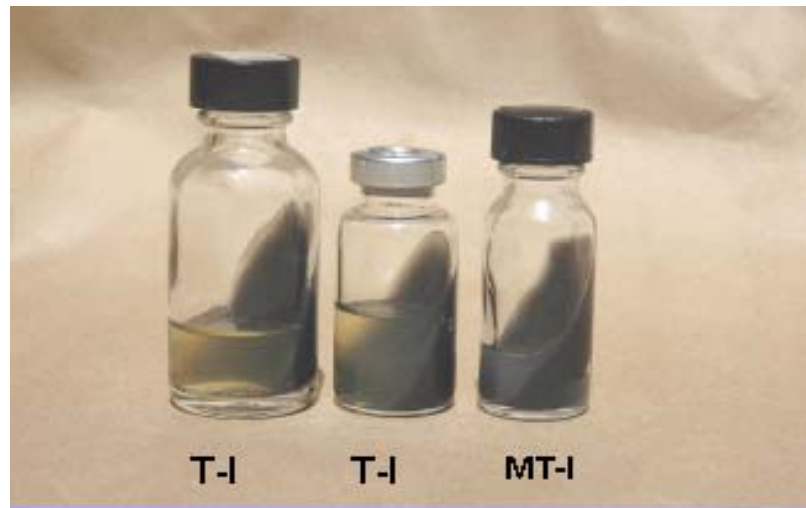


Figure 7 : Milieu Trans-Isolate (T-I) et Trans-Isolate Modifié (MT-I)

4-2-6-5-2- Technique d'inoculation des deux T-I :

Les inoculations ont été faites au niveau des **CSRef ou à l'INRSP**.

Après un jet de pièce pour chaque LCR, les deux T-I ont été inoculés en commençant par le T-I qui a la même couleur que celle vue au dessus de la pièce. Ce jet de pièce avait pour but d'éviter les erreurs de pipetages et donner la chance à chaque T-I d'être inoculé en première intension.

L'inoculation a été faite de la façon suivante :

On ouvre le tube de LCR à côté de la flamme et on tire 0,5 ml avec une micro-seringue, puis on inocule chaque flacon T-I et MT-I.

Après étiquetage avec le même numéro d'identification, tous les T-I ont été incubés à 37°C avec la capsule débloquée et examinés toutes les 24 heures jusqu'à l'obtention d'une croissance bactérienne dans un délai de 72 heures.

4-2-6-5-3-Isolements :

- Après 24 ou 72 heures d'incubation des T-I et MT-I, nous avons utilisé pour chaque T-I une gélose au sang et une gélose chocolat, régénérées à étuve pendant environ 30 minutes.

- les étiquettes correspondantes ont été collées sur les 4 boîtes.

Tous les milieux ainsiensemencés sont incubés entre 36 et 37°C en atmosphère humide et enrichie de CO₂ (10%) pendant 24 à 48 heures.

Le CO₂ permet un démarrage rapide de la croissance des germes.

Après l'incubation, les colonies ont été examinées sur ces milieux gélosés.

Les colonies suspectes de méningocoque sont petites et grises sur la gélose chocolat ; Les colonies suspectes de pneumocoque sont petites en goutte de rosée, muqueuse et entourée d'une zone verdâtre d'hémolyse alpha sur la gélose au sang. Les colonies suspectes de *Haemophilus influenzae* sont grandes, plates, opaques, incolores à grises sur la gélose chocolat mais ne poussent pas sur la gélose au sang.

4-2-6-5-4-Identification :

D'une manière générale, l'identification du germe se fait comme suite :

Pour *Neisseria meningitidis*

- observation de l'aspect des colonies apparues ;
- recherche de l'oxydase ;
- coloration de Gram d'un frottis réalisé à partir des colonies ;

- détermination du sérotype avec les anti-sérums spécifiques.

Pour *Streptococcus pneumoniae*

- observation de l'aspect des colonies apparues ;
- recherche de la catalase ;
- coloration de Gram d'un frottis réalisé à partir des colonies ;
- Test à l'optochin ;
- confirmation au latex sensibilisé.

Pour *Haemophilus influenzae* de type b

- observation de l'aspect des colonies apparues ;
- recherche de l'oxydase ;
- coloration de Gram d'un frottis réalisé à partir des colonies ;
- exigence en facteurs X et V ;
- confirmation au latex sensibilisé.

4-2-6-5-5- L'oxydase :

Le test d'oxydase est un test utilisé comme un indicateur redox qui passe d'une teinte incolore (quand c'est réduit) à une couleur violet foncée (quand c'est oxydé). Il consiste à mettre :

- une goutte de réactif d'oxydase (phénylène-diamine) sur un papier buvard,
- ensuite écraser sur la goutte une colonie bactérienne prélevée sur une gélose au sang.

Interprétation :

Réaction positive : développement d'une couleur violette dans un intervalle de 10 à 30 secondes.

Réaction négative : aucune couleur ne se développe au bout de 30 secondes.

Structure de la phénylène-diamine :



4-2-6-5-6- La catalase :

La catalase a été mise en évidence en mélangeant les colonies bactériennes avec une goutte à 3% de peroxyde d'hydrogène (H₂O₂), sur une lame de verre propre.

Interprétation :

Réaction positive : formation de bulles d'oxygène en 10 secondes.

Réaction négative : aucune formation de bulles en 10 secondes.

Les globules du sang contenus dans la gélose au sang contiennent de la catalase et donneront une fausse réaction positive.

4-2-6-5-7-Test à l'optochin :

Le test à l'optochin est une procédure simple utilisée pour l'identification de *Streptococcus pneumoniae*.

Il consiste à :

Ensemencer en stries serrées une gélose au sang.

On place le disque d'optochin au milieu de la gélose.

Après 24 heures d'incubation, nous avons examiné la gélose au sang pour voir l'inhibition de la croissance bactérienne autour du disque d'optochin.

Interprétation :

Réaction positive : La zone d'inhibition autour du disque d'optochin est supérieure ou égale à 15mm.

Réaction négative : la zone d'inhibition autour du disque d'optochin est inférieure à 15mm.

4-2-6-5-8-Etude de l'exigence en facteurs X et V des *Haemophilus* :

Principe : c'est un test simple pour l'identification de l'espèce commune des *Haemophilus*. Il permet de déterminer leurs exigences pour les facteurs X (**Hémine**) et V (**NAD**).

Procédure :

▶ On prend une colonie isolée sur la gélose chocolat et puis on ensemence toute la surface de la gélose trypticase de soja (**TSA**).

▶ On place immédiatement des disques X, V et XV distants les uns des autres sur la gélose.

▶ On incube la boîte de gélose dans la jarre sous CO₂.

▶ On enregistre la croissance ou l'absence de croissance autour de chaque disque.

Interprétation :

Haemophilus influenzae de type *b* donne une croissance autour du disque XV mais pas autour des disques X ou V.

4-2-6-5-9-Conservation des souches et du LCR :

Après vérification de la pureté de la culture, nous avons conservé nos souches sur bouillon glycérimé.

Cette méthode consiste à recueillir la totalité de la culture pure de 24 heures avec un écouvillon stérile, Ensuite déposer la culture dans un cryotube contenant environ 1ml de bouillon tryptone soja avec 15 à 20% de glycérine et faire tourner l'écouvillon pour relarguer les bactéries. Les cryotubes sont gardés dans un congélateur à -80°C. Pour les LCR, la conservation a été faite à -20°C.

4-2-7-Contrôle de qualité : les souches de méningocoques et le reste des LCR ont été envoyés pour le contrôle de qualité par PCR, au CDC d'Atlanta.

Les résultats des CSRef (Aspect macroscopique, Gram) étaient comparés à ceux du laboratoire de référence.

4-2-8-Collecte des données :

Les données ont été collectées sur une fiche de résultat (**annexe**), les informations sur les patients étaient collectées sur la fiche IDSR (**annexe**) accompagnant le prélèvement et comportant : la date de collecte de l'échantillon, la date d'hospitalisation du malade, l'âge du malade, le sexe, la date du début de la maladie, le centre de santé ou établissement sanitaire, et la date d'inoculation du milieu de transport. Les résultats des CSRef étaient enregistrés sur une fiche de résultat (**annexe**).

4-2-9-Analyse des données :

Les données ont été saisies et analysées à l'aide du logiciel Epi info version 6.04dfr.

RESULTATS

V- Résultats

1-Les résultats de la phase 1

Tableau III : Comparaison de la croissance des souches de référence de *N. meningitidis* dans le T I et le MT-I.

Heures	Température	T-I				MT-I			
		10 ³	10 ²	10 ¹	1	10 ³	10 ²	10 ¹	1
24 Heures	37°C avec CO ₂	4+	4+	3+	-	4+	4+	3+	-
	37°C sans CO ₂	4+	4+	3+	-	4+	4+	3+	-
	25°C sans CO ₂	4+	3+	1+	-	3+	2+	0	-
	42°C sans CO ₂	0	0	0	-	0	0	0	-
48 Heures	37°C avec CO ₂	4+	4+	4+	-	4+	4+	3+	-
	37°C sans CO ₂	4+	4+	4+	-	4+	4+	4+	-
	25°C sans CO ₂	4+	4+	3+	-	4+	4+	2+	-
	42°C sans CO ₂	0	0	0	-	0	0	0	-
72 Heures	37°C avec CO ₂	4+	4+	4+	-	4+	4+	3+	-
	37°C sans CO ₂	4+	4+	4+	-	4+	4+	4+	-
	25°C sans CO ₂	4+	4+	4+	-	4+	4+	2+	-
	42°C sans CO ₂	0	0	0	-	0	0	0	-

Après 24, 48 et 72 heures, la croissance est obtenue dans le T-I et le MT-I à toutes les températures d'incubation sous CO₂ et sans CO₂ sauf à 42°C.

A 37°C sous CO₂ et sans CO₂ dans le T-I comme dans le MT-I la croissance est obtenue après 24 heures dans les 4 cadrans de la gélose au sang pour les dilutions à 10³ et 10² CFU/ml et dans 3 cadrans pour la dilution à 10¹ CFU/ml.

Après 48 et 72 heures sous CO₂ ou sans CO₂, la croissance est observée pour les deux T-I dans quatre cadrans pour les dilutions à 10³ et 10² CFU/ml à 37°C.

Pour la dilution à 10^1 CFU /ml, la croissance est observée pour le MT-I dans un à deux cadrans de moins par rapport au T-I.

2- Résultats de la phase 2.

Tableau IV: Répartition des L C R selon la provenance

Provenance	Nombre	%
Hôpital Gabriel Touré (service de pédiatrie)	97	77,6
Hôpital Mère Enfant	1	0,80
C. S. Ref. Commune I	1	0,80
C. S. Ref. Commune II	12	9,6
C. S. Ref. Commune IV	0	0
C. S. Ref. Commune V	12	9,6
C. S. Ref. Commune VI	2	1,6
Total	125	100

Sur 125 LCR reçus, 97 soit 77,6% proviennent de l'Hôpital Gabriel Touré

Tableau V : Répartition des LCR en fonction de l'aspect macroscopique

Aspect	Nombre	%
Clair	78	62,4
Trouble	32	25,6
Hématique	12	9,6
Xanthochromique	3	2,4
Total	125	100

Les LCR troubles représentent 25 ,6% des prélèvements.

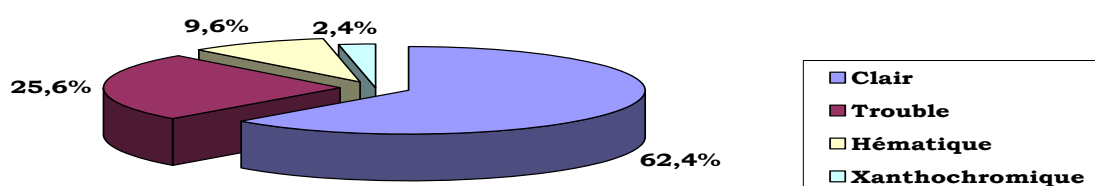


Tableau VI : Répartition des LCR selon le délai de transport à l'INRSP

Délai	Nombre	%
≥ 24 heures	27	21,6
≤24 heures	98	78,4
Total	125	100

Pour 78,4% des LCR, le délai de transport est inférieur à 24 heures.

Tableau VII : Répartition des LCR selon le volume

Volume	Nombre	%
≤ 2ml	23	18,4
> 2ml	102	81,6
Total	125	100

Le volume est supérieur à 2 ml pour 81,6% des LCR.

Tableau VIII: Répartition des LCR selon le nombre de leucocytes

Leucocytes	Nombre	%
$\geq 100/\text{mm}^3$	30	24
$\leq 100/\text{mm}^3$	95	76
Total	125	100

Dans 24% des LCR le nombre de leucocytes est supérieur à 100.

Tableau IX : La répartition des LCR en fonction des résultats de la coloration de Gram

Gram	Nombre	%
Diplocoques Gram positif	6	4,8
Diplocoques Gram négatif	4	3,2
Bacilles Gram négatif	5	4
Pas de germes	110	88,0
Total	125	100

Des diplocoques Gram négatif sont trouvés dans 3,2% des LCR.

Tableau X : Répartition des LCR selon l'inclusion dans l'étude

Inclus	Nombre	%
Oui	14	11,2
Non	111	88,8
Total	125	100

Sur les 125 LCR, 14 soit 11,2% sont inclus dans l'étude.

Tableau XI : Résultats du latex et de la culture par la méthode de routine

Résultat	Latex	Méthode de routine
Positif	12	8
Négatif	2	6
Total	14	14

Sur les 14 LCR, 12 sont positifs au latex contre 8 par la méthode de routine

Tableau XII : Résultat de la culture dans le T-I et MT-I

Résultat	T-I	MT-I
Positif	8	5
Négatif	6	9
Total	14	14

Le T-I a donné 8 cultures positives contre 5 dans le MT-I.

Tableau XIII : Comparaison des résultats de la culture du LCR dans le T-I et MT-I selon les espèces bactériennes identifiées.

Espèces bactériennes	Latex	T-I	MT-I	Culture routine
<i>N. meningitidis A</i>	2	1	1	1
<i>N. meningitidis X</i>	0	1	1	1
<i>N. meningitidis Y/W135</i>	1	0	0	0
<i>S. pneumoniae</i>	5	3	3	3
<i>H. influenzae b</i>	4	3	0	3
Total	12	8	5	8

Avec le latex 12 espèces bactériennes sont identifiées par le latex : 3 méningocoques, 5 pneumocoques et 4 *Haemophilus influenzae b*. Parmi ces espèces, la croissance est obtenue à la fois dans le T-I, le MT-I et la culture de routine pour 2 méningocoques et 3 pneumocoques. Contrairement au T-I et la culture de routine, aucune croissance d'*Haemophilus influenzae b* n'est obtenue dans le MT-I.

COMMENTAIRES&DISCUSSIONS

VI-COMMENTAIRES ET DISCUSSIONS

L'étude a été menée pendant la saison épidémique 2003 – 2004, période où le Mali n'a pas connu d'épidémie de méningite à méningocoque. En se référant au rapport d'activité du laboratoire national de référence, on note pour cette période : 1 476 de cas méningites notifiés à la section surveillance épidémiologique, 877 LCR analysés pour la confirmation et 23 souches de méningocoque identifiées parmi lesquelles 5 seulement proviennent du District de Bamako. C'est pour cela que dans notre étude très peu de souches de méningocoque ont été identifiées.

Phase I :

L'étude dans les conditions de laboratoire montre que la croissance de *Neisseria meningitidis* est identique dans le T-I et le MT-I. Après 24 heures à 37°C sous CO₂ et sans CO₂ pour les deux milieux, la croissance est obtenue dans 4 cadrans de la gélose au sang aux dilutions à 10³ et 10² cfu/ml et dans 3 cadrans à la dilution à 10¹ cfu / ml. Les mêmes résultats sont obtenus après 48 et 72 heures aux dilutions à 10³ et 10² cfu/ml à 37°C sous CO₂, sans CO₂ et à 25°C. Mais avec la dilution à 10¹ cfu / ml la croissance obtenue pour le MT-I diffère d'un à deux cadrans de moins après 24 heures à 25°C, 48 heures à 37°C et 25°C et après 72 heures à 37°C et à 25°C. Cette différence peut être due à des erreurs de manipulation.

Phase II :

A la phase II, nous avons reçu 125 LCR dont la majorité (77,6%) provenait du service de pédiatrie de l'hôpital Gabriel Touré. L'accessibilité géographique de l'hôpital fait que ce service reçoit beaucoup d'enfants soit en consultation directe ou référés par les Centres de Santé de référence du District de Bamako. A l'examen macroscopique la plupart de ces LCR (62,4%) étaient clairs. Ceci peut s'expliquer par le fait que la pratique de la ponction lombaire est très courante dans les

hôpitaux pour faire la différence entre la méningite et les autres pathologies. Les bactéries fréquemment responsables de la méningite sont très fragiles et leur survie dans le LCR peut dépendre du délai de transport de l'échantillon au laboratoire. Dans notre étude 78,4% des LCR ont été transportés dans un délai de moins de 24 heures. D'autre part pour satisfaire les besoins de la culture, de l'inoculation des T-I, de la cytologie et de la coloration de Gram, 81,6% de ces LCR avaient un volume supérieur à 2 ml.

L'analyse cytologique a montré que seulement 24,0% des LCR avaient un nombre de leucocytes supérieur 100 / mm³. Même si les autres critères d'inclusion sont largement satisfaisants, nous pensons que la proportion des LCR a nombre de leucocytes > 100/ mm³ est faible. C'est ainsi que sur l'ensemble des LCR, seulement 14 soit 11,2% ont répondu aux critères d'inclusion.

Dans notre étude le latex a été utilisé à côté de la culture pour réduire le délai de réponse par rapport aux T-I et permettre une prise en charge rapide des patients.

La culture a détecté moins de résultats positifs que le latex. Le même constat a été fait dans d'autres études [4]. Sur les 14 LCR, 8 étaient positifs à la culture contre 12 au latex. Comparativement à la culture, le même résultat a été obtenu avec le T-I. Mais avec le MT-I nous n'avons obtenu que 5 résultats positifs.

Au latex 12 espèces bactériennes ont été identifiées : 3 *Neisseria meningitidis* (2 groupe A, 1 Y /W135) ; 5 *Streptococcus pneumoniae* et 4 *Haemophilus influenzae b*.

Dans le T-I comme par la culture de routine, la croissance a été obtenue pour les espèces suivantes : 2 *Neisseria meningitidis* (1 du group A, 1 du groupe X), 3 *Streptococcus pneumoniae* et 3 *Haemophilus influenzae b*.

Bien que nous ne disposions pas de résultats, nous pensons que les écarts de résultats (manque de croissance bactérienne) entre la culture ou le T-I et le latex peuvent être dus aux traitements antibiotiques avant la ponction lombaire.

Pour le méningocoque X, ce sérotype n'est pas couvert par le Pastorex® méningitis.

Excepté l' *H. influenzae b*, le MT-I a donné le même résultat que le T-I et la culture de routine pour toutes espèces bactériennes identifiées. Le manque dans le milieu MT-I de facteurs X et V nécessaire à la croissance de l' *H. influenzae b* pourrait expliquer ce résultat.

Nous ne connaissons pas encore d'études menées sur la croissance des souches cliniques sur ce nouveau milieu MT-I.

Cependant les résultats de la culture de routine montrent que le *Streptococcus pneumoniae* (5 sur 12) occupe la première place parmi les espèces bactériennes identifiées suivi de *Haemophilus influenzae b* (4 sur 12).

Ces résultats concordent avec ceux de MIGLIANI à Antananarivo (Madagascar) qui a trouvé durant la période 1998-2000 que *Streptococcus pneumoniae* occupe la première place avec 34% des isollements suivi d' *Haemophilus influenzae b* 32% et *Neisseria meningitidis* 7%**[25]**.

Au cours de la saison épidémique 2004, 117 cas ont été confirmés au Burkina Faso et 143 au Togo. Au Burkina Faso, *Streptococcus pneumoniae* a occupé 45% des isollements suivis de *Neisseria meningitidis* 42% et d'*Haemophilus influenzae b* 13% ;au Togo *Neisseria meningitidis* 46%, *Streptococcus pneumoniae* 36% et *Haemophilus influenzae b* 17%. Au Burkina et au Togo, *Neisseria meningitidis* A représentent respectivement 55% et 83% des cas de *Neisseria meningitidis* et NmW135 respectivement 31% et 8% **[45]**.

Ramata Mariko **[24]** et Korotoumou Traoré **[42]** trouvent également en 2005 que *Neisseria meningitidis* occupe la dernière place des étiologies de méningite à Bamako en période non endémique.

Contrairement Saacou, à Niamey (Niger), avait eu 699 méningocoques, 56 Pneumocoques, 29 *Haemophilus influenzae b* durant la période 1999-2001, mais en 2000-2001 seulement, il avait eu 162 méningocoques A, 7 méningocoques W135, 65 Pneumocoques et 31 *Haemophilus influenzae b* **[37]**.

Sidibé, en 1990 avait eu 38,78% méningocoques de 30,17% Pneumocoques 26,72% d' *Haemophilus influenzae b* **[39]**.

Konaté, en 1992 avait montré que le méningocoque était en tête avec 37,25% suivi par pneumocoques (33,24%) et *Haemophilus influenzae b* (29,41%) **[20]**.

Traoré avait eu 69,84% de méningocoques, 16,44% de pneumocoques et 13,20% d'*Haemophilus* durant la période allant de 1996 à 1999**[42]**.

CONCLUSION

VII- Conclusion

Le MT-I est plus abordable que le T-I et plus facile à fabriquer dans le laboratoire.

La croissance du *N. meningitidis* est identique dans le T-I et le MT-I après 24 heures d'incubation à 37°C sous CO₂ et sans CO₂.

Après 48 heures à 72 heures d'incubation la croissance est également identique dans le T-I et MT-I pour les dilutions 10³ et 10² CFU/ ml et souvent pour 10¹ CFU/ ml.

La croissance est obtenue dans les deux milieux T-I et MT-I pour toutes les souches de méningocoque et de pneumocoque identifiées dans l'étude.

Le T-I comme le MT-I permet la culture d'autres sérogroupes de méningocoque non couvert le Pastorex.

L' *Haemophilus influenzae b* pousse dans le T-I et pas dans le MT-I qui manque de facteur de croissance X et V.

Ce résultat préliminaire nous encourage à continuer cette évaluation sur un échantillonnage plus important.

RECOMMANDATIONS

VIII -Recommandations

Au terme de notre étude, nous avons formulé quelques recommandations :

1-Au Ministère de la santé :

- Doter l'INRSP des moyens suffisants pour finaliser la validation des milieux de transports du LCR.

2-A l'INRSP :

- Rendre disponible le matériel de prélèvement et de transport des LCR au niveau des hôpitaux et des structures sanitaires de la ville de Bamako et de l'intérieur du pays.
- Renforcer la coopération avec les partenaires.
- Sensibiliser le personnel médical, surtout périphérique (agents de CSCOM) pour une référence précoce des cas et sur l'importance des infections O.R.L., broncho-pulmonaire et oculaire du nourrisson ;
- Renforcer des séances de formation du personnel des centres de santé et de référence, pour l'identification des germes.
- Poursuivre l'étude afin d'obtenir des résultats satisfaisants.

RESUME

Fiche signalétique

Nom : Coulibaly

Prénom : Sétie

Email : csetie@yahoo.fr

Titre de la thèse : Evaluation d'un milieu de transport du LCR pour la confirmation des méningites bactériennes.

Année universitaire : 2005-2006

Ville de soutenance : Bamako

Pays d'origine : Mali

Lieu de dépôt : Bibliothèque de la faculté de Médecine, de Pharmacie et d'Odontostomatologie.

Résumé

Le but de cette étude était d'évaluer un nouveau milieu (MT-I) de transport du LCR, pour la confirmation biologique des cas suspects de méningite.

L'étude a consisté en deux phases. La première phase qui a consisté à comparer la multiplication et la survie des souches de référence de *N. meningitidis* A et W135 dans les T-I et MT-I dans les conditions de laboratoire a donné les résultats suivants : après 24 heures d'incubation à 37°C sous CO₂ et sans CO₂, la croissance du *N. meningitidis* est identique dans les deux milieux T-I et MT-I. Après 48 heures à 72 heures d'incubation la croissance est également identique dans le T-I et MT-I pour les dilutions 10³ et 10² CFU/ ml et souvent pour 10¹ CFU/ ml.

Dans la seconde phase la croissance des souches cliniques (*N. meningitidis*, *Streptococcus pneumoniae* et *Haemophilus influenzae* b) excepté *Haemophilus influenzae* b est identique dans le T-I et MT-I inoculés en double par le LCR à l'Institut National de Recherche en Santé Publique.

Mots clés : Méningite, LCR, Transport, T-I, MT-I.

REFERENCES

IX -REFERENCES

1-ABOU H. Méningite purulente du nourrisson : Aspect clinique, bactériologique et évolutif des méningites purulentes du nourrisson et de l'enfant dans le service de Pédiatrie IV de l'hôpital Gabriel Touré. Thèse Med, Bamako, 2000, N°52.

2-AGBEKOU J., ALEKI A. ET GUEVART E. Détection et contrôle des épidémie de méningite à méningocoque (MCS)
<http://documentation.ledamed.org/IMG/html/doc-10951.html> **(10-01-2006).**

3- AUBRY P. Méningites cérébro-spinales à méningocoque.
Ann. Pédiatr, 2003 ; p 1-6.

4-AURELE D. Place de *Haemophilus influenzae b* dans les méningites bactériennes pédiatriques : bilan des années 2002 – 2004 au service de bactériologie de l'INRSP, thèse de pharmacie Bamako 2005, n°64.

5- BENTHAM J. et COLL. Anatomie des niveaux d'organisation du cerveau.
http://www.lecerveau.mcgill.ca/flash/i/i_01_cr/_01_cr_ana/i_01_cr_ana.html **(08-05-2004).**

6-BERNARD I. Les méningites bactériennes. Progrès dans le développement de vaccins. Global Programme for Vaccines and innunization WHO.GPV VRD.20 av. Appia. Genève.

7-BOUKENEM Y. Activité antibactérienne comparée de quatre antibiotiques de la famille des beta-lactamines sur 100 Souches de Neisseria meningitidis sérogroupes A isolées au Mali. Thèse pharm. Bamako, 1997.

8-BOUVET A. Cours de Bactériologie Générale.

Centre National de Référence des Streptocoques, Hôtel Dieu, Université paris VI.

<http://www.microbes-edu.org/etudiant/etudiants.html> **(16-06-06)**.

9-CARLI P., RIOU B. Urgences médicochirurgicales de l'adulte 2 ; Paris : Arnette, 1992 ; 1338.

10-DABERNA H. Infections à Haemophilus

<http://www.chu-rouen.fr/ssf/pathol/haemophilusinfection.html>

Pr. h.Daberna (faculté de Médecine Toulouse-purpan), Novembre 2002**(20-12-2005)**.

11-DENIS F. et COLL. Apport des données microbiologiques dans le diagnostic étiologique bactérien des méningites purulentes-Méd.Mal.Infect.1996 ; 26 :1060-7.

12-DIA A. Attitude des agents de la santé face à la gestion des épidémies : cas de l'épidémie de méningite cérébro-spinale au Mali en 1996.Thèse de Médecine, FMPOS Bamako ; 2000, N°20.

13-DISEASE OUT BREAKS REPORTED 17MAY 2002

MENINGOCOCCAL DISEASE IN BURKINA FASO UPDATE 6.

<http://www.who-int/emc-documents/meningitis> **(10-03-2006)**.

14-FATTORUSSO V., RITTER. Vademécum clinique : du diagnostic au traitement ; 15, Paris, Masson : pp1785.

15-GENDREL D. Apport des données biochimiques dans le diagnostic des méningites purulentes communautaires, *Méd. Mal Infect.* 1996 ; 26 :1068-72.

16-GLORIA W., JAMES C., PEGGY S., ARTHUR L., CLAIRE V. CATHERINE J.

Trans Isolate Medium: a new medium for primary culturing and Transport of *Neisseria meningitidis*, *Streptococcus pneumoniae*, and *Haemophilus influenzae*.
<http://www.ptolemy.ca/> (20-06-2006).

17- GOÏTA L. Les méningites purulentes de l'enfant
Fréquence, Aspects clinique, Etiologique, Thérapeutique et Evolutif à la pédiatrie du
CHU Gabriel Touré en 2002 .Thèse Med .Bamako 2003, N°77.

18-KAGOI G. Méningite purulente de l'enfant à Yaoundé (Cameroun)
Recherche des complications par l'échographie.
Ann. Pédiatrique 1991, 38,2 :110-114.

19-KANE AHAMADAL M. Aspect épidémiologiques et bactériologiques des
méningites purulentes au Mali de 1979 à 1999. Thèse pharm. Bamako 2003, N°59.

20-KONATE M. Epidémiologie moléculaire de la méningite à méningocoque
au Mali (partie II). Dynamique de portage rhinopharyngé dans la collectivité au
tour d'un patient .Thèse pharm. Bamako, 1992, N°13.

21-KONE O. Approche épidémio-endémique des méningites purulentes observées
en Pédiatrie de l'HGT de 1994 à 1998. Thèse Med, Bamako, 1999.

22-MADANIOU A. aspect épidémiologique et bactériologique des méningites
purulentes au Mali de 1979 à 1999. Thèse pharmacie, Bamako 2003.

23-MARIANI E., KURKDJAN P. et COLL. Infection à Haemophilus en Pédiatrie. Encyclopédie Medico-chirurgicale (Elsevier, Paris), Pédiatrie, 4-260-a10, Maladies infectieuses, 8-017-F-15 1998 ,6p.

24-MARIKO R. Caractères bactériologiques et place de Streptococcus pneumoniae dans les infections bactériennes invasives chez les enfants hospitalisés dans le service de pédiatrie de l'Hôpital Gabriel Touré. Thèse pharm., Bamako, 2005.

25-MIGLIANI R., CLOUZEAU J., DECOUVRER JW., RAOBYAONA H., RAVELOMANANA N. et Rou J. Les méningites bactériennes de l'enfant à Antananarivo, Madagascar, Med. Trop 2001 61 :27-54.

26-MORAND P. ET COLL. Cours de bactériologie Médicale
<http://www.microbes-edu.org/etudiant/neisseria.html> **(15-03-2006).**

27-OMS : Aide mémoire N°141 ; Mai 2003
<http://www.who.int/mediacentre/factsheets/2003/fs141/fr>**(14-01-2005).**

28-OMS : Emergence de la méningococcie W135
Rapport d'une consultation de l'OMS Genève, 17-18 septembre 2001-Organisation Mondiale de la Santé, département maladies transmissibles, surveillance et action. WHO/CDS/CSR/GAR/2002.1.

29-OMS : Guide sur la lutte contre la méningite à méningocoque en Afrique, Brazzaville, Février 1995,40p.

30-OMS : La méningite méningococcique. Tous les communiqués de presse. Aide mémoire N°105 révisé de décembre 1998.

31-OMS : Lutte contre les épidémies de méningite à méningocoque.
Guide pratique, édition fondation Mérieux 1995 ; 72p.

32-OMS : Rapport sur la santé dans le monde en 2003.

<http://www.who.int/country/mli/fr> (15-03-2004).

33-OMS : techniques de laboratoire pour le diagnostic des méningites à *Neisseria meningitidis*, *Streptococcus pneumoniae* et d'*Haemophilus influenzae b* en 2000.

34-PICHARD E. Maladies infectieuses, 4, Angers, FMPOS ; 1999 :337.

35- PNUD

Rapport sur la situation sociale et économique du Mali. PNUD Mars 2003.

36- RAULT P. Méningites

Mis en ligne en février 2002

Mis à jour en octobre 2004

<http://www.adrenaline112.org/urgencies/Durge/Dpedia/meningite.html> (15-03-2006).

37-SAACOU D. Surveillance des méningites bactériennes à Niamey (Niger) entre 1999 et 2001. *Med trop* 2001 ; 61(3) :271.

38-SAMAKE T.

Pratique de l'examen cyto-bactériologique, du liquide céphalo-rachidien au laboratoire d'analyses Médicales de l'Hôpital Gabriel Touré : Aspect Méthodologiques.

Thèse pharm. Bamako 2003, N°7.

39-SIDIBE D. Epidémiologie moléculaire des méningites à méningocoques au Mali (partie III). Thèse pharm., Bamako, 1990 N°15.

40-SYNDROME MENINGES DE L'ADULTE.

http://umvf.cochin.univ-paris5.fr/IMG/pdf/syndrome_meninge_adulte.pdf (15-03-2004).

41-TCHOUNKOUÉ FRED WILLIAN T. Etude de la méningite Cérébro-spinale au Lazaret des Roches service des contagieux
Bilan de cinq années d'observation 1999-2003
Thèse Med. Bamako 2003, N° 91.

42-TRAORE K. Etude bactérienne des méningites purulentes au laboratoire de bactériologie de l'INRSP de 1996-1999, typage des souches de *Neisseria meningitidis* Thèse pharmacie 2000 N°33 :P.2.

43- YOROTE SORY I. les méningites purulentes à l'Hôpital National du Point G.
Thèse : Med. ; Bamako 1995-1996 N°23, p.3 à 16.

44-http://www.Afro.who.int/hib/manuel/afro-hib_mbp-fr.pdf **(15-03-2004).**

45-http://www.phac-aspc.gc.ca/bid-bmi/dsd-dsm/nb-ab/2005/nb2605_f.html **(01-06-06).**

ANNEXES

Nom de patient :

Fiche de Laboratoire : LCR Reçu à l'INRSP

Remplir une fiche pour chaque LCR venant 1) des Centres de Santé de Références de Bamako,

2) de l'Hôpital Gabriel Touré, et 3) de l'Hôpital Mère Enfant

ID1 . **Coller le numéro d'identification ici** →

2. Date et heure de réception: RDATE __ __ / __ __ / __ __ RHR __ __ : __ __ (24 h)
jour mois année

3. Venant de : VEN 1-6 Centre de Santé (numéro ? ____) 7 Hôpital Gabriel Touré 8
Hôpital Mère Enfant

Reçus à l'INRSP ? :

4. LCR en tube RLCR 1 Oui 0 Non RLCRB Si oui, est-il en bonne condition ? 1 Oui
0 Non

5. T-I inoculé RTI 1 Oui 0 Non RTIB Si oui, est-il en bonne condition ? 1
Oui 0 Non

6. MT-I inoculé RMTI 1 Oui 0 Non RMTIB Si oui, est-il en bonne condition ? 1 Oui
0 Non

7. Lame colorée RLAM 1 Oui 0 Non

8. Fiche IDSR RIDS 1 Oui 0 Non

9. Fiche de labo CS Ref RFIC 1 Oui 0 Non

10. Etiquettes RETI 1 Oui 0 Non

Evaluation de LCR à inclure dans l'étude

11. Volume avant inoculation est >= 2 ml: VOL 1 Oui 0 Non

12. Comptage des leucocytes en cellules/mm³ : __ __ __ LEUMM

13. Date et heure de prélèvement: DATPRE __ __ / __ __ / __ __ **HRPRE** __ __ : __ __ (24 h)
jour mois année

Cocher ici si non-disponible (13) →

NONDIS

14. LCR reçu en tube seulement sans T-I inoculés : **LCRNOTI** 1 Oui 0 Non

15. Heure de prélèvement est < 24h d'arrivée à l'INRSP: **HR24** 1 Oui 0 Non
9 Non disponible

16. Date de prélèvement est la même date de réception à l'INRSP : **MEMDAT** 1
Oui 0 Non 9 Non disponible

17. Volume avant inoculation de T-I est plus ou égale à 2 ml : **VOLCR**
1 Oui 0 Non

18. Comptage des leucocytes est plus ou égale à 100/mm³ : **COMPCR**
1 Oui 0 Non

19. Inclure l'échantillon dans l'étude : **INCLU** 1 Oui 0 Non

***Pour les T-Is reçus déjà inoculés, si la réponse aux questions 17 – 18 est OUI, inclure dans l'étude. Pour LCR reçus seulement en tube, si la réponse est OUI aux questions 15 ou 16, et OUI aux questions 17 et 18 inclure dans l'étude. ***

20. Si T-Is inoculés, quelle structure les a inoculé ? : **QUIIN** 1 Centre de Santé de Référence 0 INRSP

21. Si inoculer à l'INRSP, lequel a été le premier ? : **INPREM** 1 T-I/**jaune** 0
MT-I/**bleu**

Evaluation du LCR

22. **Aspect** : ASP 1 Clair 2 Trouble 3 Sanglant
4 Xanthochromique

23. **Résultat du Gram fait à l'INRSP**: GRAM

1 Cocci (seuls ou en chaînette) à Gram-positif

2 Diplocoque à Gram-positif 6 Autres (à préciser) _____

3 Diplocoque à Gram-négatif 7 Pas de germe

4 Bacille à Gram-positif 9 Pas fait

5 Bacille à Gram-négatif

24. **Nombre de leucocyte/champ sur la Gram**: LEUGR _____

25. **Résultat du test d'agglutination sur particules de latex** : LATEX

1 *N. meningitidis* A 4 *N. meningitidis* W-135/Y 7 Streptococcus B

2 *N. meningitidis* B 5 *S. pneumoniae* 8 Pas d'agglutination

3 *N. meningitidis* C 6 *H. influenzae* b 9 Pas fait

26. Le reste de LCR est congelé en cryotube ? CRYO 1 Oui 0 Non Nombre d'aliqots : CRYON _____

27. Nom du technicien (écrire en majuscules) : **TECH** : -----

Nom de patient:

Fiche de Laboratoire : Tous LCR Reçus aux Centres de Santé de Référence

Remplir une fiche pour chaque LCR du même patient

ID2. Coller le numéro d'identification ici et sur la fiche

IDSR →

2. Date et heure de réception de tube de LCR: CSDAT __ __/ __ __/ __ __
CSHR__ : __ (24 h) jour mois année

3. Centre de Santé: CSREF C1 C2 C3 C4 C5 C6

Evaluation du LCR (coller le même numéro d'identification sur le tube de LCR)

4. Volume en ml : VOLCS 1 supérieure ou égale à 2 ml 2 moins de 2 ml

5. Aspect : ASPCS 1 Clair 2 Trouble 3 Sanglant 4

Xanthochromique

6. *Résultat du gram : (choisir une seule réponse)*

GRAMCS

1 *Cocci (seuls ou en chaînette) à Gram-positif*

2 *Diplocoque à Gram-positif*

3 *Diplocoque à Gram-négatif*

6 *Autres (à préciser) _____*

4 *Bacille à Gram-positif*

7 *Pas de germe*

5 *Bacille à Gram-négatif*

9 *Pas fait*

7. Nombre de leucocytes/champ au Gram: _____ **LEUCS**

* Avant d'inoculer les flacons vérifier que tous les 2 critères sont remplis pour inoculer les flacons*

1) Volume de LCR est supérieure ou égale à 2 ml

2) Nombre de leucocytes/champ est supérieure ou égale à 10

8. a. LCR est inoculé dans les deux flacons ? : **INOCS** 1[] **Oui** 0[] **Non**

8. b. Si oui, quel flacon est inoculé le premier: INCSP 1[] **Flacon** jaune/trait rouge
0[] **Flacon** bleu/trait bleu

Coller sur chaque flacon de T-I le même numéro d'identification.

9. Nom du technicien : TECHCS **Date d'envoi du LCR à l'INRSP : __ __/ __ __/ __ __**

(écrire en majuscules)

DATENV

jour mois année Envoyer dans une pochette tous les flacons inoculés, le tube, la lame colorée, les deux fiches, et les étiquettes restantes immédiatement à l'INRSP. Vérifier que tous les flacons, tubes, et fiches portent le même numéro d'identification.

*** Maintenir tous à la température ambiante.

*** Dévisser les bouchons des flacons si le transport des échantillons du même malade ne peut pas être fait immédiatement.

*** Fermer à fond le bouchon du tube de LCR et les capsules des flacons avant le transport.

Nom de patient :

Coller le numéro d'identification ici →

Culture Bactérienne dans les Deux Milieux

28. T-I (jaune/trait rouge) :

Croissance bactérienne

(jour/mois/année)

D'ensemencement sur la gélose)

^aTBACD1 / __ __ / _ : TBAC

1 Oui 0 No 9 Contaminé

^bTBACD2 / __ __ : TBAC2

1 Oui 0 No 9 Contaminé

^cTBACD3 / __ __ : TBAC3

1 Oui 0 No 9 Contaminé

30. T-I (jaune/trait rouge):

Résultat de Gram TBACGR

1 Cocci (seuls ou en chaînette) à Gram-positif

2 Diplocoque à Gram-positif

3 Diplocoque à Gram-négatif

4 Bacille à Gram-positif

5 Bacille à Gram-négatif

6 Autres (à préciser) -----

7 Pas de germe

29. MT-I (bleu/trait bleu):

Croissance bactérienne

(jour/mois/année)

D'ensemencementsur la gélose)

^aMBACD1 / __ __ : MBAC1

1 Oui 0 Non 9 Contaminé

^bMBACD2 / __ __ : MBAC2

1 Oui 0 Non 9 Contaminé

^cMBACD3 / __ __ : MBAC3

1 Oui 0 Non 9 Contaminé

31. MT-I (bleu/trait bleu) :

Résultat de Gram MBACGR

9 Pas fait

32. T-I (jaune/trait rouge):

Test de l'oxydase TOXY

1 Positif

0 Négatif

9 Pas fait

34. T-I (jaune/trait rouge):

Identification finale TIDFIN

1 *Neisseria meningitidis*

11 Séro groupe A

12 Séro groupe C

13 Séro groupe W135

14 Non-groupables

15 Autres séro groupe (à préciser) _____

2 *Haemophilus influenzae*

3 *Streptococcus pneumoniae*

4 Autres (à préciser) _____

5 Contaminé

9 Pas de croissance

33. MT-I (bleu/trait bleu):

Test de l'oxydase MOXY

1 Positif

0 Négatif

9 Pas fait

35. MT-I (bleu/trait bleu):

Identification finale MIDFIN

1 *Neisseria meningitidis*

11 Séro groupe A

12 Séro groupe C

13 Séro groupe W135

14 Non-groupables

15 Autres séro groupe (à préciser) _____

2 *Haemophilus influenzae*

3 *Streptococcus pneumoniae*

4 Autres (à préciser) _____

5 Contaminé

9 Pas de croissance

36. Date de résultat final de T-I :

TDAFIN ___ ___ / ___ ___ / ___ ___

(jour/mois/année)

37. Date de résultat final de MT-I :

MDAFIN ___ ___ / ___ ___ / ___ ___

(jour/mois/ année)

Culture LCR en tube sur les Géloses Routines

38. Identification finale de la gélose routine IDFIN

1 *Neisseria meningitidis*

2 *Haemophilus influenzae*

11 Séro groupe A

3 *Streptococcus pneumoniae*

12 Séro groupe C

4 Autres (à préciser) _____

13 Séro groupe W135

5 Contaminé

14 Non-groupables

9 Pas de croissance

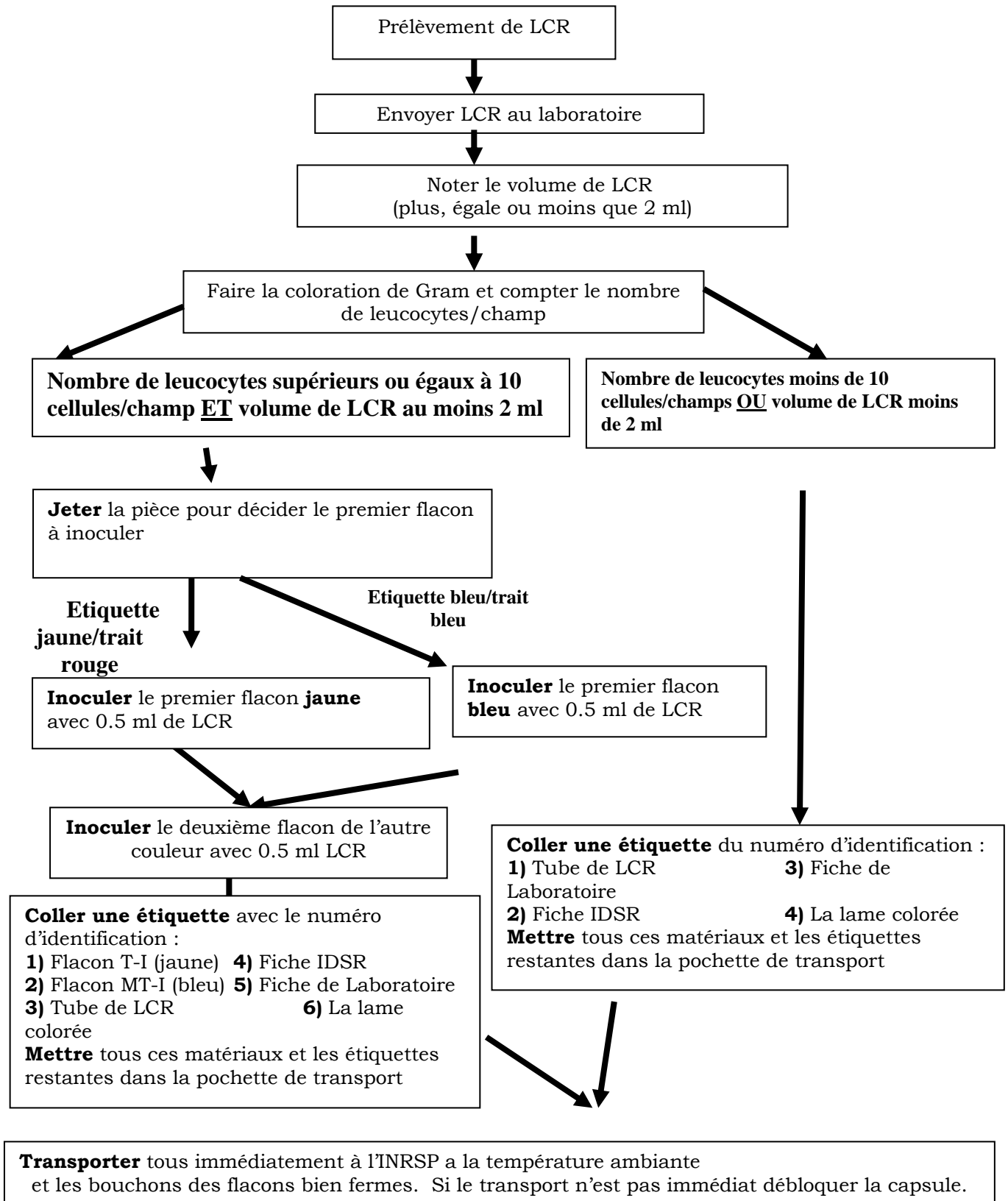
15 Autres séro groupe (à préciser) _____

39. Date de résultat final de la culture de LCR en tube **sur la gélose** :

IDFIND __ __/__ __/__ __

(jour/mois/année)

Organigramme pour la Manipulation de LCR : Laboratoire de CS Référence



LE SERMENT DE GALIEN

Je jure en présence des maîtres de la Faculté, des conseillers de l'ordre des pharmaciens et de mes collègues :

- d'honorer ceux qui m'ont instruit dans les préceptes de mon art et de leur témoigner ma reconnaissance en restant fidèle à leur enseignement ;
- d'exercer dans l'intérêt de la santé publique, ma profession avec conscience et de respecter non seulement la législation en vigueur mais aussi les règles de l'honneur, de la probité et du désintéressement ;
- de ne jamais oublier ma responsabilité et mes devoirs envers le malade et sa dignité humaine ;

En aucun cas, je ne consentirai à utiliser mes connaissances et mon état pour corrompre les mœurs et favoriser les actes criminels.

Que les hommes m'accordent leur estime si je suis fidèle à mes promesses.

Que je sois couvert d'opprobre et méprisé de mes confrères si j'y manque.

Je le jure.