

MINISTRE DES ENSEIGNEMENTS SECONDAIRE,  
SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

REPUBLIQUE DU MALI  
UN PEUPLE - UN BUT - UNE FOI

\*\*\*\*\*

UNIVERSITE DE BAMAKO



**FACULTE DE MEDECINE, DE PHARMACIE ET D'ODONTO-STOMATOLOGIE (FMPOS)**

*Année universitaire 2007-2008*

N° .....

TITRE

---

**Etude clonale des souches de *Neisseria meningitidis*  
de 2005 à 2007 au Mali**

---

**THESE**

Présentée et soutenue publiquement le 10 /Juillet/ 2008 devant la Faculté de Médecine, de Pharmacie et d'Odonto-Stomatologie de l'Université de Bamako

**PAR MME ARABA COULIBALY  
POUR OBTENIR LE GRADE DE DOCTEUR EN PHARMACIE (DIPLOME D'ÉTAT)**

---

JURY

Président : Professeur Elimane MARIKO  
Membre : Docteur Kandioura TOURE  
Co-directeur : Mr Seydou DIARRA  
Directeur : Professeur Flabou BOUGOUDOGO

---

**FACULTE DE MEDECINE, DE PHARMACIE ET D'ODONTO-STOMATOLOGIE**  
**ANNEE UNIVERSITAIRE 2007-2008**

**ADMINISTRATION**

DOYEN: **Anatole TOUNKARA** - Professeur

1er ASSESSEUR: **Drissa DIALLO** - MAITRE DE CONFERENCES

2ème ASSESSEUR: **Sékou SIDIBE** - MAITRE DE CONFERENCES

SECRETAIRE PRINCIPAL: **Yénimégue Albert DEMBELE** -Professeur

AGENT COMPTABLE: **Mme 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 DEMBELE	Chirurgie Générale
Mr Mamadou KOUMARE	Pharmacognosie
Mr Ali Nouhoum DIALLO	Médecine interne
Mr Aly GUINDO	Gastro-entérologie
Mr Mamadou M KEITA	Pédiatrie
Mr Siné BAYO	Anatomie-Pathologie-Histoembryologie
Mr Sidi Yaya SIMAGA	Santé Publique
Mr Abdoulaye Ag RHALY	Médecine interne
Mr Boukassoum HAÏDARA	Législation
Mr Boubacar Sidiki CISSE	Toxicologie
Mr Massa SANOGO	Chimie Analytique

**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
Mr Kalilou OUATTARA	Urologie
Mr Amadou DOLO	Gynéco Obstétrique
Mr Alhousseini Ag MOHAMED	ORL
Mme SY Assitan SOW	Gynéco-Obstétrique
Mr Salif DIAKITE	Gynéco-Obstétrique
Mr Abdoulaye DIALLO	Anesthésie-Réanimation
Mr Djibril Sangaré	Chirurgie Générale, <b>Chef de D.E.R</b>
Mr Abdel Kader Traoré Dit DIOP	Chirurgie Générale

**2. MAITRES DE CONFERENCES**

Mr Abdoulaye DIALLO	Ophtalmologie
Mr Gangaly DIALLO	Chirurgie Viscérale
Mr Mamadou TRAORE	Gynéco-Obstétrique
Mr Filifing SISSOKO	Chirurgie Générale

Mr Sekou SIDIBE	Orthopédie-Traumatologie
Mr Abdoulaye DIALLO	Anesthésie-Réanimation
Mr Tieman COULIBALY	Orthopédie-Traumatologie
Mme TRAORE J THOMAS	Ophtalmologie
Mr Mamadou L. DIOMBANA	Stomatologie
Mme DIALLO Fatimata S. DIABATE	Gynéco-Obstétrique
Mr Nouhoum ONGOÏBA	Anatomie & Chirurgie Générale
Mr Sadio YENA	Chirurgie Thoracique
Mr Youssouf COULIBALY	Anesthésie-Réanimation

### 3. MAÎTRES ASSISTANTS

Mr Issa DIARRA	Gynéco-Obstétrique
Mr Samba Karim TIMBO	ORL
Mme TOGOLA Fanta KONIPO	ORL
Mr Zimogo Zié SANOGO	Chirurgie Générale
Mme Djénéba DOUMBIA	Anesthésie / Réanimation
Mr Zanafon OUATTARA	Urologie
Mr Adama SANGARE	Orthopédie- Traumatologie
Mr Sanoussi BAMANI	Ophtalmologie
Mr Doulaye SACKO	Ophtalmologie
Mr Ibrahim ALWATA	Orthopédie - Traumatologie
Mr Lamine TRAORE	Ophtalmologie
Mr Mady MAKALOU	Orthopédie/ Traumatologie
Mr Aly TEMBELY	Urologie
Mr Niani MOUNKORO	Gynécologie/ Obstétrique
Mr Tiémoko D. COULIBALY	Odontologie
Mr Souleymane TOGORA	Odontologie
Mr Mohamed KEITA	ORL
Mr Bouraïma MAIGA	Gynécologie/ Obstétrique
Mr Youssouf SOW	Chirurgie Générale
Mr Djibo Mahamane DIANGO	Anesthésie-réanimation
Mr Moustapha TOURE	Gynécologie

### 4 ASSISTANTS

Mr Mamadou DIARRA	Ophtalmologie
Mr Boubacar GUINDO	ORL

## D.E.R. DE SCIENCES FONDAMENTALES

### 1. PROFESSEURS

Mr Daouda DIALLO	Chimie Générale & Minérale
Mr Amadou DIALLO	Biologie
Mr Moussa HARAMA	Chimie Organique
Mr Ogobara DOUMBO	Parasitologie-Mycologie
Mr Yénimégué Albert DEMBELE	Chimie Organique
Mr Anatole TOUNKARA	Immunologie
Mr Bakary M. CISSE	Biochimie
Mr Abdourahamane S. MAÏGA	Parasitologie
Mr Adama DIARRA	Physiologie
Mr Mamadou KONE	Physiologie

## 2. MAÎTRES DE CONFERENCES

Mr Amadou TOURE	Histoembryologie
Mr Flabou BOUGOUDOOGO	Bactériologie – Virologie
Mr Amagana DOLO	Parasitologie <b>Chef de D.E.R.</b>
Mr Mahamadou CISSE	Biologie
Mr Sékou F. M. TRAORE	Entomologie médicale
Mr Abdoulaye DABO	Malacologie – Biologie Animale
Mr Ibrahim I. MAÏGA	Bactériologie – Virologie

## 3. MAÎTRES ASSISTANTS

Mr Lassana DOUMBIA	Chimie Organique
Mr Mounirou BABY	Hématologie
Mr Mahamadou A THERA	Parasitologie-Mycologie
Mr Moussa Issa DIARRA	Biophysique
Mr Kaourou DOUCOURE	Biologie
Mr Bouréma KOURIBA	Immunologie
Mr Souleymane DIALLO	Bactériologie/ Virologie
Mr Cheick Bougadari TRAORE	Anatomie pathologie
Mr Gimogo DOLO	Entomologie Moléculaire Médicale
Mr Mouctar DIALLO	Biologie Parasitologie
Mr Abdoulaye TOURE	Entomologie-Moléculaire Médicale
Mr Boubacar TRAORE	Parasitologie Mycologie
Mr Djbril SANGARE	Entomologie-Moléculaire Médicale

## 4. ASSISTANTS

Mr Mangara M. BAGAYOKO	Entomologie-Moléculaire Médicale
Mr Bocary Y SACKO	Biochimie
Mr Mamadou BA	Biologie Parasitologie Entomologie Médicale
Mr Moussa FANE	Parasitologie Entomologie
Mr Blaise DACKOOU	Chimie analytique

## D.E.R. DE MEDECINE ET SPECIALITES MEDICALES

### 1. PROFESSEURS

Mr Mamadou K. TOURE	Cardiologie
Mr Mahamane MAÏGA	Néphrologie
Mr Baba KOUMARE	Psychiatrie- <b>Chef de D.E.R.</b>
Mr Moussa TRAORE	Neurologie
Mr Issa TRAORE	Radiologie
Mr Hamar A. TRAORE	Médecine Interne
Mr Dapa Aly DIALLO	Hématologie
Mr Moussa Y. MAIGA	Gastro-entérologie-Hépatologie
Mr Somita KEITA	Dermato-Léprologie
Mr Boubacar DIALLO	Cardiologie
Mr Toumani SIDIBE	Pédiatrie

### 2. MAÎTRES DE CONFERENCES

Mr Bah KEITA	Pneumo-Phtisiologie
Mr Abdel Kader TRAORE	Médecine Interne
Mr Siaka SIDIBE	Radiologie
Mr Mamadou DEMBELE	Médecine Interne

Mr Mamady KANE	Radiologie
Mr Saharé FONGORO	Néphrologie
Mr Bakoroba COULIBALY	Psychiatrie
Mr Bou DIAKITE	Psychiatrie
Mr Bougouzié SANOGO	Gastro-entérologie
Mme SIDIBE Assa TRAORE	Endocrinologie
Mr Adama D KEITA	Radiologie
Mr Sounkalo DAO	Maladies infectieuses

### 3. MAITRES ASSISTANTS

Mme TRAORE Mariam SYLLA	Pédiatrie
Mme Habibatou DIAWARA	Dermatologie
Mr Daouda K Minta	Maladies Infectieuses
Mr Kassoum SANOGO	Cardiologie
Mr Seydou DIAKITE	Cardiologie
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 Cheick Oumar GUINTO	Neurologie

### 4. ASSISTANTS

Mr Mahamadou GUINDO	Radiologie
---------------------	------------

## D.E.R. DES SCIENCES PHARMACEUTIQUES

### 1. PROFESSEURS

Mr Gaoussou KANOUTE	Chimie Analytique <b>Chef de D.E.R</b>
Mr Ousmane DOUMBIA	Pharmacie Chimique
Mr Elimane MARIKO	Pharmacologie

### 2. MAITRES DE CONFERENCES

Mr Drissa DIALLO	Matières Médicales
Mr Alou KEITA	Galénique
Mr Benoît Yaranga KOUMARE	Chimie analytique
Mr Ababacar I. MAÏGA	Toxicologie

### 3. MAÎTRES ASSISTANTS

Mne Rokia SANOGO	Pharmacognosie
Mr Yaya KANE	Galénique
Mr Saibou MAIGA	Législation
Mr Ousmane KOITA	Parasitologie Moléculaire
Mr Yaya COULIBALY	Législation

**D.E.R. SANTE PUBLIQUE****1. PROFESSEUR**

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

**2. MAÎTRE DE CONFERENCES**

Mr Moussa A. MAÏGA Santé Publique  
 Mr Jean TESTA Santé Publique  
 Mr Mamadou Souncalo TRAORE Santé Publique

**3. MAÎTRES ASSISTANTS**

Mr Adama DIAWARA Santé Publique  
 Mr Hamadoun Aly SANGHO Santé Publique  
 Mr Massambou SACKO Santé Publique  
 Mr Alassane A. DICKO Santé Publique  
 Mr Hammadoun Aly SANGO Santé Publique  
 Mr Seydou DOUMBIA Epidémiologie  
 Mr Samba DIOP Anthropologie Médicale  
 Mr Akory AG IKNANE Santé Publique

**4. ASSISTANTS**

Mr Oumar THIERO Biostatistique  
 Mr Seydou DIARRA Anthropologie Médicale

**CHARGES DE COURS & ENSEIGNANTS VACATAIRES**

Mr N'Golo DIARRA Botanique  
 Mr Boubou DIARRA Bactériologie  
 Mr Salikou SANOGO Physique  
 Mr Boubacar KANTE Galénique  
 Mr Souleymane GUINDO Gestion  
 Mme DEMBELE Sira DIARRA Mathématiques  
 Mr Modibo DIARRA Nutrition  
 Mme MAÏGA 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. Mounirou CISS Hydrologie  
 Pr. Amadou Papa DIOP Biochimie  
 Pr. Lamine GAYE Physiologie

*Dédicace*

*Je dédie la présente thèse de Pharmacie à mon cher père Zan COULIBALY Inspecteur du Trésor conseiller à la Cour Suprême et à ma chère mère Hawa TRAORE Enseignante Directrice de l'école Missira « J », qui n'ont ménagé aucun effort pour ma réussite durant toute ma vie scolaire*

*Qu'ils trouvent ici l'expression de ma profonde gratitude.*

## REMERCIEMENT

Je remercie le tout d'abord Dieu le tout puissant et le prophète Mohamed (paix et salut sur lui) de m'avoir donné la chance de décrocher ma thèse de pharmacie.

J'adresse mes sincères remerciements à l'ensemble du corps professoral de la faculté de Médecine de Pharmacie et d'Odontostomatologie (FMPOS), particulièrement ceux du département Pharmacie, qui m'ont prodigué leur savoir, leur expérience pour assurer ma formation durant mes six années universitaires.

-A mon mari Falaye Keita Docteur en pharmacie pour son sens de l'écoute et de la compréhension.

Mes remerciements vont à tous mes frères et sœurs pour m'avoir encouragée tout au long de ma vie scolaire, ce sont

-l'aînée Aissata dite La vieille informaticienne de son état qui est une grande sœur exemplaire toujours prête à se sacrifier pour ses petits frères et sœurs. Je salue aussi, ma petite nièce Kadidia Sissouma.

-Ma grande sœur Dadji Coulibaly dite Alima Scio-Anthropologue qui représente pour moi une copine, une confidente et est toujours prête à m'écouter et m'aider.

- Mon petit frère Abdrahamane dit Dra : analyste Quantitativiste qui a toujours su supporter mes caprices.

-Ma petite sœur Mariam Coulibaly dite Mamou future Microbiologiste, tu représente une sœur exemplaire pour moi, toujours prête me servir.

- Ma petite sœur Assétou Sabou dite Mama Hôtelière et futur juriste. Merci une fois de plus pour ton sens de l'écoute, ta compréhension et ta gentillesse.

-Aux benjamins de la famille Alassane et Hawa élèves, Candidats au baccalauréat série SET Je vous souhaite bonne chance pour l'examen, plein de succès. Je vous encourage à suivre nos pas.

-Je remercie la famille Traoré à l'hippodrome et mes cousins Dramane, Sidi Yaya et Ousmane Traoré ainsi que Daouda Sacko dit binkè.

-Je remercie aussi à mes grands parents paternels, mon regretté grand père Feu Kagnoumè et ma grand-mère Gouantio Coulibaly à Kati.

Mes Grands parents maternels Soumaïla Traoré et Mariam Djiré à San. Je vous souhaite longue vie et merci une fois de plus pour vos précieuses bénédictions.

Je remercie la famille Bah à Médina coura particulièrement Bah Binta Diarra et mon amie Sira Diakité présentement aux Etats Unis.



Par la même occasion je remercie la promotion 2005 de la Faculté de Médecine de Pharmacie et d'Odontostomatologie, singulièrement mes amis à commencer par Awa Coulibaly toujours prête à me protéger ; Aminata Tounkara, Awa Traoré, Ténin Ouloguem, Aminata Dembélé Adam N'diaye et Kyria Koné, Nouhoum Sacko, Ibrahim Guindo, Issouf Ouloguem, et Modibo Konaté ; et ceux de la promotion.

Aux filles de la chambre 209 Fatoumata Berthé, Fatoumata Tangara, Assa Coulibaly, Sira Dabo, Nènè Koumaré, Mariam Dagnogo, Safiatou Samaké, Catherine Traoré, Mariam Bougoudogo, Coumba Bougoudogo pour leur esprit de Famille.

Par ailleurs, je remercie le personnel de l'INRSP plus précisément ceux du laboratoire de Bactériologie qui ont été pour moi des tontons, tantis, frères et sœurs et amis. Il s'agit : Tièwary Doumbia (responsable du labo méningite), Boubacar Traoré, Amadou Yossi, Madame Touré Fanta Coulibaly, Madame Maïga Aïchata Maïga, Coulibaly Albertine Niasse, Wadia Karambé, Malick Traoré Djibril Dembélé, Souleymane Coulibaly, Samaké Christiane Dembélé, Touré Salimata Bengaly, Traoré Awa Samaké, Adam Ganaba.

Je remercie mes camarades du labo Maïmouna Kanté, Ichiaka Traoré dit Iso, Souleymane Ongoïba Tièmoko Kanté, Lamine Keïta, Kadidiatou Kassibo.

Je remercie mes maris et professeur Moussa Harama (professeur de chimie organique à la FMPOS et Amadou A Traoré (professeur de physique au LBAD).

Enfin, je remercie tout ce qui de près ou de loin directement ou indirectement ont contribué à la réalisation de cette thèse qu'ils trouvent ici l'expression, de mes sincères remerciements et gratitude.

Mes hommages aux camarades de promotion qui nous ont quitté en année de thèse que la terre vous soit légère.

***Au Président de Jury Professeur Elimane Mariko, Colonel de l'armée malienne en service au ministère de la défense nationale du Mali.***

Votre enthousiasme, votre humanisme et votre qualité d'homme de culture sont parmi tant d'autres qualités. En acceptant de présider cette thèse vous nous faites un grand honneur.

Veillez donc accepter tous nos remerciements et soyez rassurés de notre profonde gratitude.

***Monsieur Kandioura TOURE docteur en médecine, épidémiologiste, chef de section de surveillance épidémiologique au DPLM /DNS, Mali.***

Votre rigueur scientifique, votre bonne foi et votre disponibilité nous a fortement impressionné au cours de notre collaboration.

En acceptant de juger ce travail vous nous faites un grand honneur.

Veillez accepter ici le témoignage de notre reconnaissance et de notre très haute estime.

***Monsieur Seydou Diarra, chef du service de bactériologie et de virologie à l'INRSP.***

Votre rigueur scientifique, votre souci constant du travail bien fait sont parmi tant d'autres qualités que nous avons découvertes lors de cette collaboration.

Cher maître ce travail est le votre.

Nous ne saurons trouver de mots aimables pour vous exprimer notre estime.

Veillez accepter notre cher maître l'expression de notre haute considération et de notre profonde reconnaissance.

***Le professeur Flabou Bougoudogo, directeur général de l'INRSP, chargé du cours de bactériologie et de virologie membre du comité d'éthique à la FMPOS.***

Je garde en vous l'image d'un homme modeste, discret, intègre dont la rigueur, la disponibilité malgré vos multiples préoccupations et la compétence sont à l'origine de ce travail.

En dirigeant ce travail, vous me faites un très grand honneur.

Veillez accepter ici le témoignage de toute ma reconnaissance et de mon profond respect.

## Liste des Abréviations

**AEC** = 3 amino-9-éthyle carbazole

**Ac** = Anticorps

**Ag** = Antigène

**API-NH** = Appareil pour identification des *Neisseria* et *Haemophilus*

**CO<sub>2</sub>** = Dioxyde de carbone

**° C** = Degré Celsius

**D/S** = District sanitaire

**ELISA** = Enzyme Linked Immunofluorescent Assay

**H** = Heure

**H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>** = Eau oxygénée

**Hib** = *Haemophilus influenzae b*

**Ig\*** = Immunoglobine marquée

**INRSP** = Institut National de Recherche en santé publique

**IV** = Intraveineuse

**IVD** = intraveineuse directe

**Kg** = Kilogramme

**LCR** = Liquide céphalo-rachidien

**L4** = 4 vertèbres lombaires

**L5** = 5 vertèbres lombaires

**LPS** = Lipo polysaccharide

**MCS** = Méningite cérébro-spinale

**MDSC** = MULTI DISEASE SURVEILLANCE CENTRE

**MEE** = Multi locus Enzyme Electrophorèse

**MLST** = Multi Locus séquence Typing

**MH2** = Mueller Hinton 2

**mm** = millimètre

**Nbr** = nombre

**Nm** = *Neisseria meningitidis*

**Nm A** = *Neisseria meningitidis A*

**Nm W135/Y** = *Neisseria meningitidis W135/Y*

**Nm W135** = *Neisseria meningitidis W135*

**Nm Y** = *Neisseria meningitidis Y*

**Nm X** = *Neisseria meningitidis X*

**NAD** = Acide désoxyribonucléique

**PBS** = Phosphate buffered saline

**PH** = potential d'hydrogène

**PRP** = Polyribosyl ribitol phosphate

**PFGE** = Pulsed-Field Gel Electrophoresis

**QSP** = Quantité suffisante pour

**SDS-PAGE** = Dodecyl sulfate de sodium-Polyacrylamide gel electrophoresis

**SFM** = Société française de microbiologie

**UI** = Unité internationale

**VCN** = Vancomycine-Colistine-Nystatine

**S p** = *Streptococcus pneumoniae*

**Strep** = Streptocoque B

**A p** = Autres pathogènes

**\*** = Sérotype déterminé par PCR

**\*\*** = Sérosous type déterminé par séquence producteur de PCR

**NG** = non sérotypable

**NT** = non sérotypable

**NST** = non séro sous typable

**ST** = séquence type

**UA** = non défini

**A\*** = sérotype déterminé par PCR

## TABLE DES MATIERES

I - INTRODUCTION .....	viii
OBJECTIFS .....	2
- OBJECTIF GENERAL .....	2
- OBJECTIFS SPECIFIQUES .....	2
II - GENERALITES .....	3
A - DEFINITION DE LA MENINGITE PURULENTE [8] .....	3
B - LES PRINCIPAUX AGENTS BACTERIENS DE LA MENINGITE .....	3
B - 1 - <i>STREPTOCOCCUS PNEUMONIAE</i> .....	3
B - 1 - 1 - HISTORIQUE [6] .....	3
B - 1 - 2 - DEFINITION [4] .....	3
B - 1 - 3 - HABITAT [4].....	4
B - 1 - 4 - EPIDEMIOLOGIE [14].....	4
B - 1 - 5 - CARACTERES BACTERIOLOGIQUES .....	4
B - 1 - 5 - 1 - MORPHOLOGIE [1] .....	4
B - 1 - 5 - 2 - CARACTERES CULTURAUX .....	5
B - 1 - 5 - 3 - CARACTERES BIOCHIMIQUES [4] .....	6
B - 1 - 5 - 4 - CARACTERES ANTIGENIQUES [42].....	6
B - 1 - 5 - 5 - POUVOIR PATHOGENE .....	7
B - 1 - 5 - 6 - TRAITEMENT ET PREVENTION .....	7
B - 1 - 5 - 7 - DIAGNOSTIC BACTERIOLOGIQUE [4] .....	8
B - 2 - <i>HAEMOPHILUS INFLUENZAE B</i> .....	8
B - 2 - 1 - HISTORIQUE [9] .....	8
B - 2 - 2 - DEFINITION [8] .....	9
B - 2 - 3 - HABITAT [4].....	9
B - 2 - 4 - EPIDEMIOLOGIE [14].....	9
B - 2 - 5 - CARACTERES BACTERIOLOGIQUES .....	9
B - 2 - 5 - 1 - MORPHOLOGIE [1] .....	9
B - 2 - 5 - 2 - CARACTERES CULTURAUX [10].....	10
B - 2 - 5 - 3 - CARACTERES BIOCHIMIQUES [4] .....	11
B - 2 - 5 - 4 - CARACTERES ANTIGENIQUES [1].....	11
B - 2 - 5 - 5 - POUVOIR PATHOGENE [1].....	11
B - 2 - 5 - 6 - TRAITEMENT ET PREVENTION.....	12
B - 2 - 5 - 7 - DIAGNOSTIC BACTERIOLOGIQUE [10] .....	12
B - 3 - <i>Neisseria meningitidis</i> .....	13
B - 3 - 1 - HISTORIQUE [2] .....	13
B - 3 - 2 - DEFINITION .....	13
B - 3 - 3 - HABITAT .....	13
B - 3 - 4 - EPIDEMIOLOGIE [11].....	13
B - 3 - 5 - 2 - CARACTERES CULTURAUX .....	15
B - 3 - 5 - 3 - CARACTERES BIOCHIMIQUES [4] .....	16
B - 3 - 5 - 4 - STRUCTURE ANTIGENIQUE [4].....	17
B - 3 - 5 - 5 - POUVOIR PATHOGENE .....	19
B - 3 - 5 - 6 - TRAITEMENT ET PREVENTION .....	20
B - 3 - 5 - 7 - DIAGNOSTIC BACTERIOLOGIQUE .....	21
B - 3 - 5 - 7 - 1 - PRELEVEMENT .....	22
B - 3 - 5 - 7 - 2 - Transport .....	24
B - 3 - 5 - 7 - 4 - Analyse du LCR.....	25

<b>B - 3 - 5 - 7 - 4 - 5 - Recherche des antigènes solubles</b> .....	27
<b>B - 3 - 5 - 7 - 4 - 6 - Culture [4]</b> .....	27
<b>B - 3 - 5 - 7 - 4 - 8 - Typage des souches</b> .....	28
B - 3 - 5 - 7 - 9 - Détermination des sérogroupes .....	28
B - 3 - 5 - 7 - 10 - Sérotypage .....	28
B - 3 - 5 - 7 - 11 - Séro-sous typage [4] .....	29
B - 3 - 5 - 7 - 12 - Clones [40] .....	29
B - 3 - 5 - 7 - 13 - Séquence type (ST) .....	30
B - 3 - 5 - 7 - 14 - Méthode de typage .....	31
<b>B - 3 - 5 - 7 - 14 - 1 - Electrophorèse</b> .....	31
<b>B - 3 - 5 - 7 - 14 - 1 - 2 - Dot blot</b> .....	31
<b>B - 3 - 5 - 7 - 14 - 3 - Multi Locus Séquence Typing " (MLST) "</b> .....	31
B - 3 - 5 - 8 - Diagnostic moléculaire par amplification génétique (PCR) .....	32
<b>III - METHODOLOGIE</b> .....	33
3 - 1 - LIEU ET TYPE D'ETUDE .....	33
3 - 2 - ECHANTILLONNAGE .....	35
3 - 3 - PRELEVEMENT ET TRANSPORT DES LCR .....	35
3 - 4 - ANALYSE DES LCR .....	35
3 - 4 - 1 - EXAMEN MACROSCOPIQUE .....	35
3 - 4 - 2 - EXAMEN MICROSCOPIQUE .....	35
3 - 5 - RECHERCHES D'ANTIGENES SOLUBLES .....	36
3 - 6 - CULTURE .....	37
3 - 6 - 1 - CAS DU PRELEVEMENT DANS LE TUBE .....	37
3 - 6 - 2 - CAS DU LCR INOCULE DANS LE TRANS-ISOLATE (T-I) .....	37
3 - 7 - IDENTIFICATION .....	38
3 - 8 - CONSERVATION DES SOUCHES .....	38
3 - 9 - ANTIBIOGRAMME .....	39
3 - 10 - CONTROLE DE QUALITE .....	40
3 - 11 - MATERIELS UTILISES .....	40
<b>IV - RESULTATS</b> .....	42
4 - 1 - CARACTERISTIQUES SOCIO DEMOGRAPHIQUE DES CAS DE MENINGITES CONFIRMES AU LABORATOIRE DE 2005 A 2007 .....	42
4 - 2 - NATURE DES GERMES ISOLES .....	48
4 - 3 - FREQUENCE DES ESPECES BACTERIENNES .....	57
4 - 4 - RESULTAT DU TYPAGE DES SOUCHES DE NEISSERIA MENINGITIDIS DE 2005 A 2007 AU MALI. ....	63
<b>V - COMMENTAIRES ET DISCUSSION</b> .....	68
5 - 1 - CARACTERISTIQUES SOCIO DEMOGRAPHIQUES DES CAS DE MENINGITES CONFIRMES AU LABORATOIRE DE 2005 A 2007 .....	68
5 - 2 - NATURE DES GERMES ISOLES .....	69
5 - 3 - FREQUENCE DES ESPECES BACTERIENNES .....	70
5-4- TYPAGE DES SOUCHES DE NEISSERIA MENINGITIDIS .....	73
<b>VI - CONCLUSION</b> .....	77
<b>VII - RECOMMANDATION</b> .....	78
<b>VIII - REFERENCES</b> .....	79
FICHE DE SIGNALÉTIQUE .....	84

## INDEX DES TABLEAUX

Tableau I : Quelques complexes clonaux et leurs caractéristiques sérologiques les plus fréquentes et leurs origines géographiques .....	30
Tableau II : Répartition des LCR par année.....	42
Tableau III : Répartition de LCR par année selon la qualité du prélèvement.....	43
Tableau IV : Répartition des patients par tranche d'âge. ....	44
Tableau V : Répartition des patients selon le sexe.....	45
Tableau VI : Répartition des LCR par Région administrative du Mali et le District de Bamako de 2005 à 2007. ....	46
Tableau VII : Répartition des LCR par Région administrative du Mali et le District de Bamako de 2005 à 2007. ....	47
Tableau VIII : Répartition des germes par année.....	48
Tableau IX : Espèces bactériens identifiés de 2005 à 2007 par Régions administratives et le District de Bamako.....	49
Tableau X : Répartition des germes isolés de 2005 à 2007 par district Sanitaire des régions et le district de Bamako.....	50
Tableau XI : Répartition des sérogroupes de <i>Neisseria meningitidis</i> dans le District de Bamako et dans les Régions du Mali. ....	57
Tableau XII : Espèces bactériens identifiés selon les mois de l'année de 2005 à 2007.....	59
Tableau XIII : Répartition des espèces bactériennes identifiées par tranche d'âge. ....	61
Tableau XIV : Répartition des espèces bactériennes identifiées par sexe des patients.....	62
Tableau XV : Résultat des ségroupes, des sérotypes, sous type et des séquences types de <i>Neisseria meningitidis</i> pour 2005.....	63
Tableau XVI : Résultat des ségroupes, des sérotypes, sous type et des séquences types de <i>Neisseria meningitidis</i> pour 2006.....	64
Tableau XVII : Résultat des ségroupes, des sérotypes, sous type et des séquences types de <i>Neisseria meningitidis</i> pour 2007.....	66

## INDEX DES FIGURES

Figure 1 : Coloration de Gram de <i>Streptococcus pneumoniae</i> .....	5
Figure 2 (13) : Culture de <i>Streptococcus pneumoniae</i> sur gélose au sang .....	6
Figure 3 : Coloration de Gram de <i>Haemophilus influenzae b</i> .....	10
Figure 4 (13) : Culture de <i>Haemophilus influenzae b</i> .....	11
Figure 5 : Coloration de Gram de <i>Neisseria meningitidis</i> .....	15
Figure 6 (13) : Culture de <i>Neisseria meningitidis</i> .....	16
Figure 7 : Structure de <i>Neisseria meningitidis</i> .....	17
Figure 8 (13) : Matériel nécessaire au recueil du LCR .....	23
Figure 9 (13) : Mode de ponction lombaire .....	23
Figure 10 (13) : Trans-isolate.....	38
Figure 11: Exemple d'antibiogramme.....	40
Figure 12 : Répartition des germes : <i>Neisseria meningitidis A</i> est le plus représenté avec 41%. ....	48
Figure 13 : Répartition des germes identifiés : <i>Neisseria meningitidis</i> est le plus représenté avec 47%. ....	49
Figure 14 : Répartition des germes isolés identifiés en provenance de l'ensemble des districts de notre pays : <i>Neisseria meningitidis A</i> était le germe le plus fréquent avec 87% des cas identifiés. ....	58



## I - INTRODUCTION

Les méningites bactériennes sont des infections des membranes (méninges) et du liquide céphalo-rachidien qui entourent le cerveau et la moelle épinière ; elles sont la cause majeure de décès et d'incapacités dans le monde.

Trois bactéries dont la transmission se fait d'homme à homme par les sécrétions respiratoires sont responsables de la plupart des méningites bactériennes : *Neisseria meningitidis*, *Streptococcus pneumoniae* et *Haemophilus influenzae b*.

L'étiologie des méningites bactériennes varie avec l'âge et la géographie.

Tous les ans, on estime à un million le nombre de cas de méningite survenant dans le monde, dont 200000 sont fatales. Le taux de létalité est fonction de l'âge et de la bactérie en cause, oscillant classiquement de 3% à 19% dans les pays développés. Une létalité plus élevée (37%-60%) a été rapportée dans les pays en développement [13].

Des séquelles incluant surdité, retard mental et autres séquelles neurologiques, intéressent jusqu'à 54% des survivants.

Les infections à *Neisseria meningitidis* se présentent sous deux formes cliniques : la méningite et les septicémies. Les deux peuvent coexister mais la méningite seule est particulièrement fréquente [13].

Les plus grandes épidémies surviennent en Afrique subsaharienne une bande sahélienne qui s'étend du Sénégal à l'Ethiopie appelé "ceinture de la méningite" dite de Lapeyssonnie.

Le Mali faisant partie de la ceinture de la méningite a connu 7 épidémies depuis 1939 dont la plus récente est celle de 1997 avec 11229 cas et 1126 décès [17].

La réactivité immunologique du polysaccharide capsulaire permet de classer *Neisseria meningitidis* en 12 sérogroupes : A, B, C, H, I, K, L, W135, X, Y, Z et 29E.

A, B, C, W135 et Y sont les sérogroupes les plus fréquemment isolés au cours des méningites à méningocoque. Le séro groupe A est la cause la plus fréquente des épidémies en Afrique et en Asie suivi du séro groupe C [43].

Les moyens de lutte se font par l'identification des sérogroupes, la prise en charge rapide des cas positifs et la prévention (la vaccination par les vaccins des sérogroupes qui circulent dans le pays).

Le but de nos travaux est de faire une surveillance épidémiologique des méningites au Mali, de connaître les différents sérogroupes, sérotypes, sous types, complexes et clones susceptibles de provoquer des épidémies au Mali à partir des objectifs suivants :

## **OBJECTIFS**

### **- OBJECTIF GENERAL**

Assurer la surveillance épidémiologique des sérogroupes, les sérotypes, sous-types et séquence type de *Neisseria meningitidis* au Mali.

### **- OBJECTIFS SPECIFIQUES**

- Identifier les germes responsables de méningites purulentes ;
- Déterminer la fréquence de chaque espèce bactérienne ;
- Déterminer les sérogroupes, les sérotypes, sous-types et séquence type de *Neisseria meningitidis* responsables de la méningite au Mali.

## II - GENERALITES

### **A - DEFINITION DE LA MENINGITE PURULENTE [8]**

La méningite est l'infection des leptoméninges (arachnoïde).

Quelque soit la nature du germe responsable, la méningite provoque des modifications d'ordre chimique et cytologique du LCR.

### **B - LES PRINCIPAUX AGENTS BACTERIENS DE LA MENINGITE**

Les méningites bactériennes sont dues à des bactéries pyogènes, principalement trois germes : *Haemophilus influenzae b*, **pneumocoque** et **méningocoque**. D'autres germes peuvent être rencontrés comme : Streptocoque groupe B, *Listeria*, *Mycobacterium tuberculosis*.

#### **B - 1 - STREPTOCOCCUS PNEUMONIAE**

##### **B - 1 - 1 - HISTORIQUE [6]**

En 1881, Pasteur isole dans la salive d'un malade, un microbe en forme huit.

En 1883, Talamon décrit ce microbe comme un diplocoque encapsulé.

En 1884 Frankel rattache ce germe à la pneumonie franche lombaire aigue.

En 1917, les travaux de Dochey et d'Avery ont conduit au diagnostic immunologique des infections à pneumocoque et à l'introduction de la contre immunoélectrophorèse pour la mise en évidence d'exo antigène polysaccharidique.

La sérothérapie qui était introduite par Cooper, à été abandonnée grâce à l'apparition des sulfamides, puis des antibiotiques (antibiotique efficace : cycline, chloramphénicol, pénicilline) et de nouveau vaccins polysaccharidiques.

##### **B - 1 - 2 - DEFINITION [4]**

Les pneumocoques sont des diplocoques Gram positif qui se distinguent des Streptocoques essentiellement par la présence d'une capsule polysaccharidique spécifique de type (Phase S : Smoth).

La perte de la capsule (phase R : rough) leur ôte toute virulence et les rend indistingable des Streptocoques.

*Streptococcus pneumoniae* est l'une des principales causes de méningite purulente chez les âges extrêmes de la vie.

**B - 1 - 3 - HABITAT [4]**

C'est un germe commensal de la bouche et du rhinopharynx .Il n'est pas retrouvé dans le milieu extérieur .Il devient pathogène sous l'influence de certains facteurs tels que le froid.

**B - 1 - 4 - EPIDEMIOLOGIE [14]**

Les pneumocoques sont des germes commensaux des voies respiratoires supérieures de l'homme et de nombreux mammifères.

La fragilité très grande de ces germes explique, d'une part qu'ils ne survivent pas dans le milieu extérieur où on ne les retrouve jamais, et d'autre part que les bactéries soient transmises d'homme à homme par voie aérienne.

Près de 30 à 35% des enfants sont porteurs dans leurs gorges d'un ou de plusieurs sérotypes de pneumocoques capsulés. Ce chiffre diminue avec l'âge pour atteindre 5 à 10% chez les adultes. Dans les communautés vivant en promiscuité, le taux de portage peut atteindre 50 à 60%.

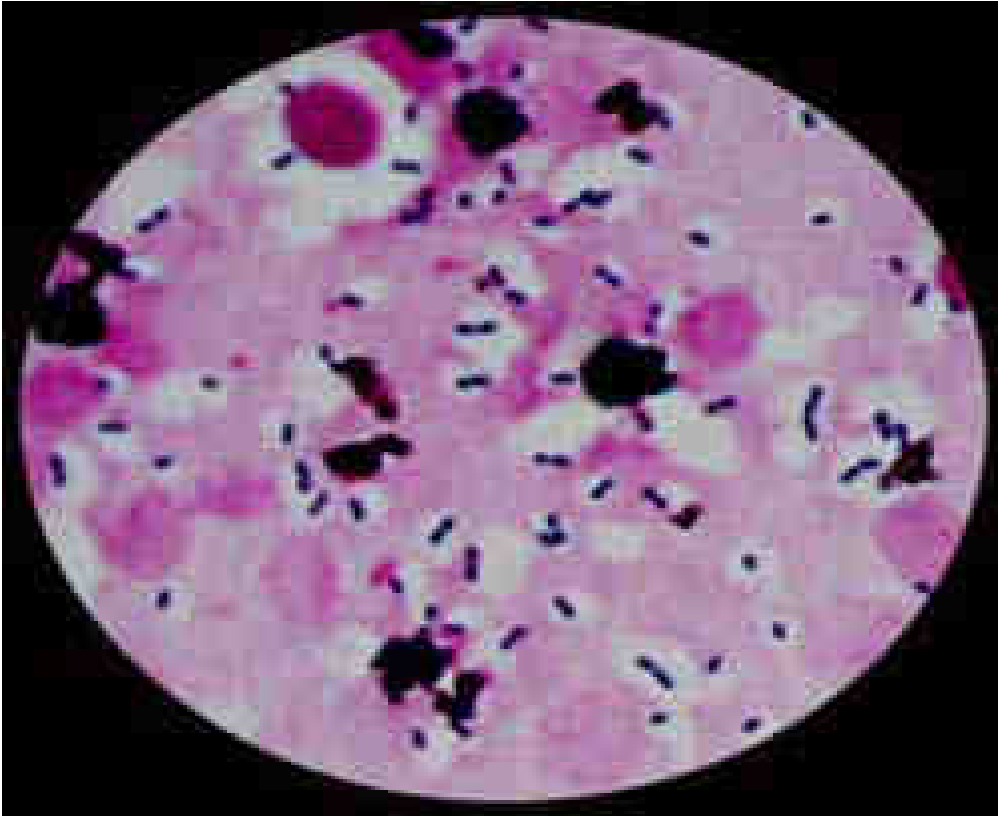
Selon certaines statistiques les pneumocoques seraient responsables de près de 60 à 70% des pneumonies bactériennes avec une mortalité de plusieurs milliers par an surtout chez les jeunes enfants et les vieillards.

L'incidence augmente nettement avec l'âge puisque cette atteinte pulmonaire est trois à quatre fois plus fréquente après quarante ans.

C'est une méningite des âges extrêmes de la vie, nourrisson, jeune enfant et personne âgée.

**B - 1 - 5 - CARACTERES BACTERIOLOGIQUES*****B - 1 - 5 - 1 - MORPHOLOGIE [1]***

Le pneumocoque est un coccus à Gram positif, se groupant en diplocoques ou en courtes chaînettes .Les souches virulentes sont capsulées.



**Figure 1 : Coloration de Gram de *Streptococcus pneumoniae***

***B - 1 - 5 - 2 - CARACTERES CULTURAUX***

*Streptococcus pneumoniae* est aéro-anaérobie facultatif .C'est un germe exigeant pour la culture .Le pH est à 7,2 la température optimale est entre 36 et 37° C .La limite supérieur pour la conservation de la virulence est à 36° C.

Il se développe mal sur milieu ordinaire, et bien sur milieu enrichi au sang, à l'ascite, au sérum.

Sur la gélose au sang, les colonies sont petites, translucides à bord net ayant une tendance à confluer [4].

**Figure 2 (13) : Culture de *Streptococcus pneumoniae* sur gélose au sang**



**B - 1 - 5 - 3 - CARACTERES BIOCHIMIQUES [4]**

Il entraîne une acidification de nombreux sucres .Cette production acide est responsable de l'autolyse. Une faible quantité de glucose (1,5‰) est un bon facteur pour démarrer la culture mais une quantité élevée entraînera l'autolyse (15‰).

**B - 1 - 5 - 4 - CARACTERES ANTIGENIQUES [42]**

La paroi du pneumocoque est constituée de l'intérieur vers l'extérieur par :

- mucopeptide (responsable de la rigidité de la paroi).
- polyside C
- antigène pariétal R (commun à tous les Streptocoques).

Le polysaccharide C détermine la présence dans le sang de la créatine protéine. La couche externe de la paroi est constituée par une protéine spécifique (de type protéine M) tout à fait comparable à celle du Streptocoque, mais n'entraîne pas la production d'anticorps protecteurs. La substance spécifique soluble (SSS) n'existe pas dans les formes S (Smooth) virulentes parce qu'elle constitue le polysaccharide capsulaire. Ce polysaccharide capsulaire est responsable d'une spécificité de type entraînant chez l'homme la fabrication d'anticorps agglutinants, précipitants et protecteurs.

Plus de 90 sérotypes capsulaires sont actuellement connus.

La fréquence d'apparition d'un sérotype peut varier d'une année à l'autre et d'une tranche d'âge à l'autre. Cependant chez les enfants, les types 6a, 6b, 14, 18c, 19f, et 23f sont responsables de la moitié des infections, et chez l'adulte, les types 1, 3, 4, 7f, 8, et 12f. C'est justement pour cette raison que les types de vaccins préparés contiennent 23 polysaccharides capsulaires principaux (responsables de 90% des infections) couvrant tous les sérotypes habituellement trouvés à tous les âges.

Le pneumocoque ne sécrète ni enzyme, ni toxine ; son pouvoir pathogène est essentiellement lié à son pouvoir de multiplication.

#### **B - 1 - 5 - 5 - POUVOIR PATHOGENE**

##### **- Pouvoir pathogène expérimental [4]**

L'inoculation d'une faible quantité d'un bouillon de pneumocoque injecté à la souris, tue l'animal par septicémie.

##### **- Pouvoir pathogène naturel [7]**

*Streptococcus pneumoniae* est la première cause de pneumopathie communautaire, d'otite moyenne, et une cause habituelle de bactériémie de l'enfant et du sujet âgé.

C'est la principale cause de méningite bactérienne du jeune enfant et, dans la plupart des pays, la cause la plus fréquente de méningite chez les personnes âgées.

#### **B - 1 - 5 - 6 - TRAITEMENT ET PREVENTION**

Le traitement et la prévention reposent sur la modification des facteurs comportementaux et environnementaux, l'antibiothérapie, la chimio prophylaxie et la vaccination. La modification des facteurs de risques comportementaux est difficile.

##### **- La prévention [1]**

La prévention par la vaccination est devenue une priorité en raison de la gravité des infections sur les terrains fragilisés et de l'augmentation de la résistance du germe aux  $\beta$  lactamines.

##### **- Traitement [1]**

L'apparition il y a quelques années de souches de sensibilité diminuée à la pénicilline phénomène qui touche actuellement 25 à 30% des souches a complètement modifié le comportement thérapeutique vis à vis du pneumocoque qui était auparavant très sensible à la pénicilline. Cette diminution de la sensibilité à la pénicilline G est due à des modifications des PLP qui, vont entraîner une sensibilité également modifiée pour l'ensemble des antibiotiques de la famille des  $\beta$  lactamines, avec des sensibilités variables pour chaque molécule. La

résistance aux autres antibiotiques augmente également : tétracyclines (25%), cotrimoxazole (37%) avec de plus en plus de souches multi résistantes.

Les pneumocoques restent sensibles aux synergistines, rifampicines, glycopeptides et certaines fluoroquinolones .Comme tous les Streptocoques, les pneumocoques sont résistants aux aminosides.

Un antibiogramme est donc devenu indispensable devant tout échec thérapeutique lors d'une infection à pneumocoque, avec étude des concentrations Minima Inhibitrices (CMI) aux différentes  $\beta$  lactamines en cas de sensibilité diminuée à la pénicilline (en particulier cefotaxime et ceftriaxone).

### **- La posologie [5]**

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

Le traitement est ensuite à adapter en fonction des résultats de l'antibiogramme.

### **B - 1 - 5 - 7 - DIAGNOSTIC BACTERIOLOGIQUE [4]**

Le diagnostic d'une infection à pneumocoque repose sur :

- l'examen microscopique du prélèvement après coloration de Gram qui permet parfois un diagnostic rapide d'orientation grâce à la morphologie assez caractéristique en diplocoque. Ce diagnostic sera confirmé par la culture ;

- la recherche par la méthode immunologique des antigènes bactériens (antigènes solubles) dans les produits pathologiques par l'utilisation du Pastorex qui est plus rapide.

## **B - 2 - HAEMOPHILUS INFLUENZAE B**

### **B - 2 - 1 - HISTORIQUE [9]**

Au cours de la pandémie de grippe 1889-1892, Pfeiffer avait observé et cultivé, dans les crachats des grippés, un petit bacille, *Bacillus influenza* ;e il en fait l'agent étiologique de la »grippe « ou « influenza ».Il a montré la présence indispensable de sang pour la culture de cette bactérie et a inventé la gélose au sang.

En 1917 le nom du genre Haemophilus a été proposé par A. Lwoff.

Jusqu' en 1933, *Haemophilus influenzae* a été découvert comme l'agent étiologique de la grippe qui était resté parfois avec des doutes, la bactérie suspectée d'être responsable de l'influenzae .En 1930 'MISS M. Pittman après avoir mis en évidence l'existence de souches capsulées, propose des types sérologiques et montre la prédominance du type b dans les méningites et autres infections aiguës suppurées.



En 1939, A Lwoff propose le démembrement des « Haemophilae »

#### **B - 2 - 2 - DEFINITION [8]**

*Haemophilus influenzae* est un cocco bacille Gram négatif dont l'homme est le seule hôte naturel .Le genre *Haemophilus* est classé dans la famille des Pasteurellaceae avec les genres Pasteurella et Actinobacillus.

#### **B - 2 - 3 - HABITAT [4]**

C'est un germe commensal des voies respiratoires supérieures et de la cavité buccale .La plupart des enfants sont porteurs de cette bactérie dans leur nasopharynx.

#### **B - 2 - 4 - EPIDEMIOLOGIE [14]**

Les haemophiles sont des parasites stricts des muqueuses de l'homme et de très nombreux vertébrés (poisson) .Ils ne sont jamais rencontrés dans la nature.

L'exigence des haemophiles en NAD peut être expliquée par une longue phase de commensalisme à la surface des muqueuses au cours de l'évolution.

La transmission directe (homme à homme) est facilitée par un taux de portage important dans la population. En effet, il est facile d'isoler l'*Haemophilus influenzae b* en faible quantité dans la gorge de près de 60 à 80% des sujets normaux.

Chez l'enfant de moins de 5 ans, environ 25% des souches isolées sont capsulées, alors que ce pourcentage tombe à moins de 1% chez l'adulte.

Les souches non capsulées d'*Haemophilus influenzae b* sont surtout la cause de poussées de surinfection chez les malades atteints de bronchite chronique.

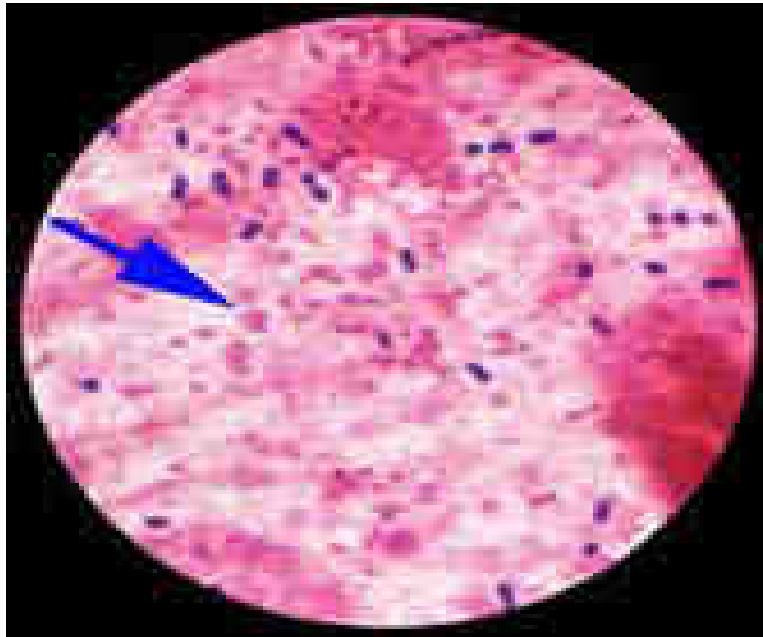
L'incidence des méningites à *Haemophilus influenzae b* reste le plus inchangée, avec un maximum de fréquence entre 6 mois et 3 ans. Ces méningites sont rares chez l'adulte en dehors des malades atteints des déficits immunitaires et des traumatismes crâniens.

#### **B - 2 - 5 - CARACTERES BACTERIOLOGIQUES**

##### **B - 2 - 5 - 1 - MORPHOLOGIE [1]**

*Haemophilus* rassemble des bacilles courts volontiers polymorphes, à Gram négatif, aéro-

anaérobie facultatif. Certaines souches présentent une capsule qui est surtout retrouvée dans le cas des bactéries issues de produits pathologiques.



**Figure 3 : Coloration de Gram d'*Haemophilus influenzae b***

***B - 2 - 5 - 2 - CARACTERES CULTURAUX [10]***

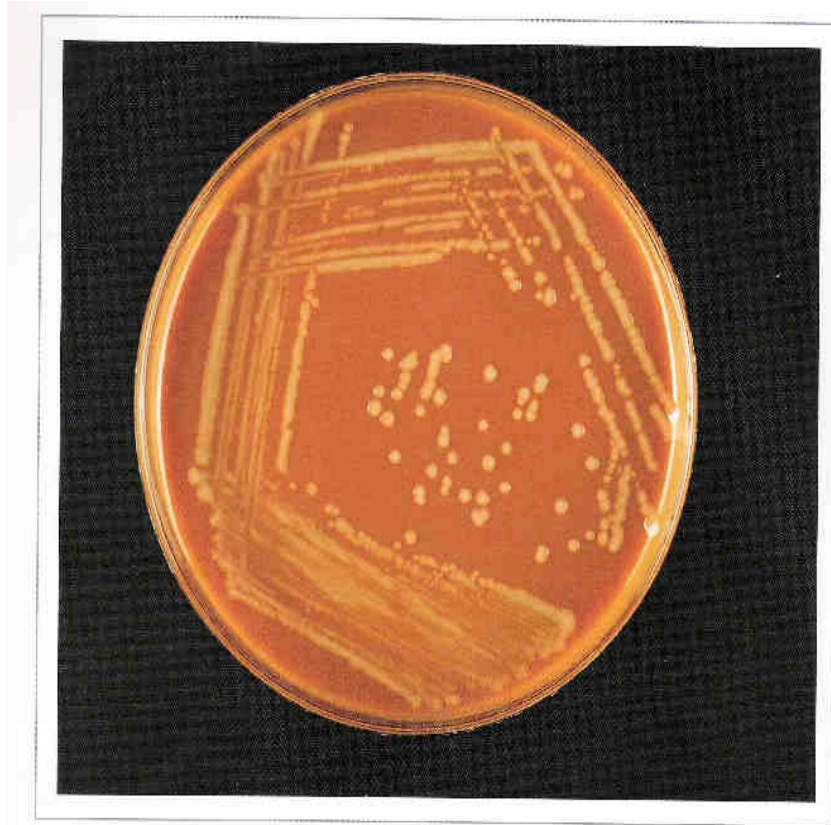
C'est un germe exigeant pour sa culture .Il est aéro anaérobie facultatif.

Sa croissance est favorisée par des milieux enrichis avec du sang contenant les facteurs x (hémines) et V(NAD), d'où le nom d'hémophile. Cette double exigence, permet de distinguer *Haemophilus influenzae b* d'autres espèces. Le sang frais ne convient pas à la culture car il contient des inhibiteurs du NAD.

Sa culture se fait sur la gélose au sang cuit, c'est un germe fragile. Sa croissance est de 35-37° C.

Après 24 heures d'incubation les colonies sont grisâtres, translucides de 0,5-1mm de diamètre, lisse et légèrement convexes.

Les souches capsulées produisent des colonies tendant à confluer dans les zones où la croissance est dense, contrairement aux souches non capsulées.



**Figure 4 (13) : Culture d'*Haemophilus influenzae b***

***B - 2 - 5 - 3 - CARACTERES BIOCHIMIQUES [4]***

*Haemophilus influenzae b* possède une nitrate réductase. Il présente des réactions de catalase et d'oxydases variables. Il utilise les hydrates de carbone par un processus fermentatif.

***B - 2 - 5 - 4 - CARACTERES ANTIGENIQUES [1]***

Ces capsules de nature polysaccharidique sont riches en ribitol phosphate et en N acétyl glucosamine. La diversité de ces structures permet d'avoir six types capsulaires a, b, c, d, e, f. Le type capsulaire b est le plus répandu et est majoritairement retrouvé dans le cas de la méningite.

*Haemophilus influenzae b* sérotype b se retrouve chez sensiblement 1% des nourrissons de 0-6 mois et chez 6% des enfants de 3 à 5 ans. Les porteurs sains d' *Haemophilus influenzae b* sont plus rares chez les adultes [4].

***B - 2 - 5 - 5 - POUVOIR PATHOGENE [1]***

*Haemophilus influenzae b* a reçu son nom d'Influenza, la grippe.

Bien qu'il ne soit pas l'agent pathogène de la grippe, il est souvent rencontré comme agent de surinfection d'une maladie virale déjà installée. *Haemophilus influenzae b* est aussi agent essentiel de surinfection des bronchites aiguës et chroniques.

*Haemophilus influenzae b* est aussi responsable d'infections primaires de la sphère ORL comme les rhinopharyngites, les otites, les conjonctivites et beaucoup plus rarement, mais d'une gravité forte, d'épiglottite. *Haemophilus influenzae b* est aussi responsable de méningite aiguë purulente essentiellement chez le nourrisson et le jeune enfant entre 3 mois et 3 ans. Cette infection est souvent précédée ou associée à une otite moyenne. *Haemophilus influenzae* est aussi un germe pyogène agent de septicémie, ostéomyélite, endocardite, etc....

#### **B - 2 - 5 - 6- TRAITEMENT ET PREVENTION**

##### **- Traitement [1]**

*Haemophilus influenzae b* reste sensible aux principales familles d'antibiotiques : aminopénicillines, céphalosporines, aminosides, chloramphénicol, tétracyclines, rifampicine, quinolones et triméthoprime. Il est en revanche peu sensible aux macrolides.

Dans le cas de la méningite céphalosporine de troisième génération ou plus rarement le chloramphénicol sont employés.

Posologie : cefotaxime (200mg/kg/J) ou ceftriaxone (100mg/kg/J).

##### **- Prévention [1]**

La vaccination à l'aide des antigènes capsulaires purifiés est la seule voie possible de prévention contre les infections graves à *Haemophilus* de type b. La vaccination permet d'obtenir une immunité de type humorale, anti capsule qui va permettre la phagocytose du germe (anticorps opsonisants). La vaccination va ainsi suppléer au manque d'anticorps dont souffre la majorité des enfants entre 3 mois et 3 ans. Au-delà de 3 ans, la population peut être considérée comme protégée contre les infections graves à *Haemophilus influenzae b*.

#### **B - 2 - 5 - 7 - DIAGNOSTIC BACTERIOLOGIQUE [10]**

L'identification rapide de *Haemophilus influenzae b* repose sur la détection des antigènes capsulaires des bactéries dans les produits pathologiques (LCR, sang, urines). Plusieurs méthodes (contre immunoélectrophorèse, agglutination particules de **Pastorex**) permettent un diagnostic rapide en quelques heures ou minutes.

L'isolement de la bactérie se fait par coloration de Gram, culture.

Vérifie si la bactérie est productrice de  $\beta$  lactamase.

## **B - 3 - *Neisseria meningitidis***

### **B - 3 - 1 - HISTORIQUE [2]**

En 1887, Wiechslbaum médecin viennois découvre un diplocoque en grain de café Gram négatif dans le LCR de sujets atteints de méningite

### **B - 3 - 2 - DEFINITION**

*Neisseria meningitidis* ou méningocoque est un diplocoque Gram négatif intracellulaire en majorité en forme de grain de café mesurant 0,8 à 1µm de diamètre. Il est responsable de la méningite cérébro spinale épidémique.

Le méningocoque appartient à la famille des Neisseriaceae qui comprend actuellement 2 genres d'intérêt médical :

- genre *Neisseria*
- genre *Kingella*

Le genre *Neisseria* comporte plusieurs espèces dont deux sont pathogènes pour l'homme : *Neisseria meningitidis* et *Neisseria gonorrhée* ou gonocoque. Les autres espèces sont considérées comme non pathogènes bien que certaines aient été isolées d'infections sérieuses [8].

.

### **B - 3 - 3 - HABITAT**

Le méningocoque est une bactérie strictement humaine. Le rhino-pharynx constitue la porte d'entrée et l'habitat principal.

Les porteurs asymptomatiques et les malades sont les réservoirs de ce germe.

La bactérie peut être présente, mais rarement au niveau d'autres muqueuses notamment génitales.

La transmission est directe et se fait par voie aérienne à moins d'un mètre. La promiscuité et le sous développement en sont les facteurs favorisants.

### **B - 3 - 4 - EPIDEMIOLOGIE [11]**

Les méningocoques se transmettent par contact étroit (moins d'un mètre), direct et prolongé (plus d'une heure), avec sécrétions naso-pharyngées. Les infections méningococciques sont endémiques dans le monde (500 000 cas par an selon l'OMS). L'incidence annuelle des infections à méningocoques avec une recrudescence saisonnière est de 1 à 5 cas pour 100 000

habitants dans les pays industrialisés .Les méningocoques sont les seules espèces bactériennes capables de provoquer des épidémies de méningite.

Douze sérogroupes de *Neisseria meningitidis* sont actuellement décrits :**A, B, C, H, I, K, L, W135, X, Y, Z** et **29<sup>E</sup> (Z')** , mais les sérogroupes **A, B, C, Y et W135** sont à l'origine de 99% des cas d'infection invasive. Lors des épidémies, c'est la même souche qui se répand, la dissémination est dite " clonale ".Le séro groupe **A** est à l'origine d'épidémies touchant des centaines de milliers de personnes dans la ceinture africaine de la méningite " allant de l'Ethiopie jusqu'au Sénégal, région délimitée par des niveaux de précipitations annuelles allant de 300mm au nord jusqu'à 1100mm au sud et dans laquelle les infections surviennent pendant la saison sèche où prédomine également le vent de sable(harmattan).Le séro groupe **A** est aussi présent en Asie. Le séro groupe **B**, qui provoque généralement des cas sporadiques, est prédominant en Europe et en Amérique. Le séro groupe **C** est à l'origine de petites bouffées épidémiques non seulement en Amérique mais aussi en Asie et de cas sporadiques de plus en plus nombreux en Europe.

Depuis mars 2000,un clone de *Neisseria meningitidis* de sérogroupes **W135** a d'abord été identifié chez 326 pèlerins revenant de la Mecque en Arabie Saoudite et leurs contacts et s'est ensuite répandu dans de nombreux pays en Europe(Allemagne, Finlande, Pays-Bas, Royaume-Uni, en Afrique(Maroc) et en Asie (Singapour, Indonésie). Depuis 2001, un clone **W135** apparenté mais distinct de celui qui avait atteint les pèlerins de la Mecque en 2000 est apparu dans des épidémies au Burkina Faso et au Niger. Il sévit désormais dans les épidémies périodiques durant la saison sèche (de novembre à mai) avec le séro groupe **A**, au Burkina Faso, au Niger, au Tchad, et au Nord du Cameroun.

### B - 3 - 5 - Caractères bactériologiques

#### B – 3 - 5 - 1 - Morphologie [1]

*Neisseria meningitidis* se présente sous forme de cocci immobiles à Gram négatif en diplocoques accolés par une face plane (aspect en « grain café »).



**Figure 5 : Coloration de Gram de *Neisseria meningitidis***

**B - 3 - 5 - 2 - CARACTERES CULTURAUX**

*Neisseria meningitidis* est un germe aérobic strict exigeant pour sa culture des milieux enrichis, Muller-Hinton ou gélose au sang cuit ou gélose chocolat avec une atmosphère humidifiée et enrichie de 5-10 % de CO<sub>2</sub>. La température optimale de croissance est de 36°C et PH=7.

Les colonies sont petites, rondes, bombées et luisantes après 24 heures d'incubation (voir photo).



**Figure 6 (13) : Culture de *Neisseria meningitidis***

**B - 3 - 5 - 3 - CARACTERES BIOCHIMIQUES [4]**

*Neisseria meningitidis* possède une oxydase et une catalase. Il attaque par voie oxydative le glucose et le maltose. Il réduit parfois les nitrites (68% des souches) mais pas des nitrates. La gamma-glutamyl transférase ( $\delta$  G T) est positive avec les *Neisseria meningitidis*.

- **L'oxydase**

Le test d'oxydase est un test utilisé comme 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.

La réaction positive : développement d'une couleur violet dans un intervalle de 10 à 30 secondes.

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

- **La catalase**

La catalase a été mise en évidence en mélangeant les colonies bactériennes avec une goutte à 3% de peroxyde d'hydrogène (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>), sur une lame de verre propre.

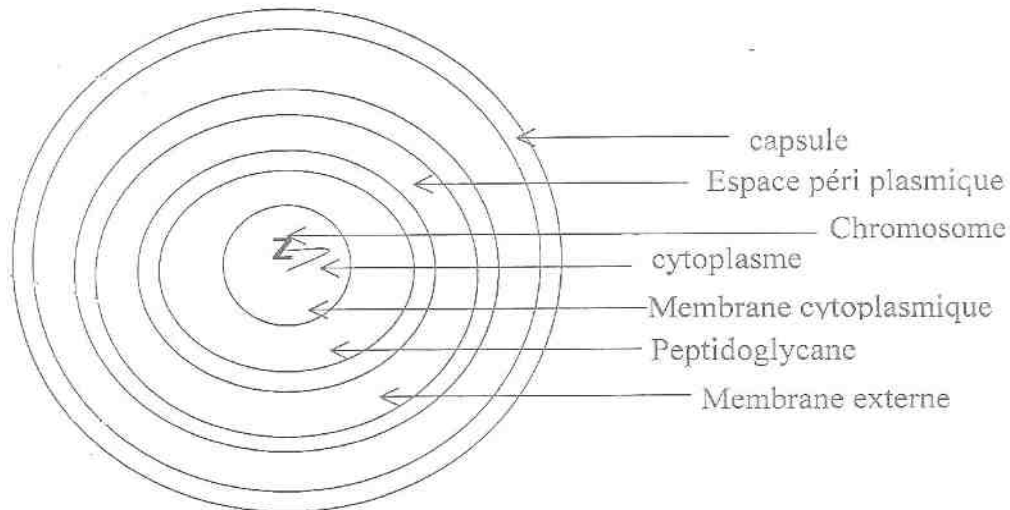
La réaction positive : formation de bulles d'oxygène en 10 secondes.

La 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.

**B - 3 - 5 - 4 - STRUCTURE ANTIGENIQUE [4]**



**Figure 7 : Structure de *Neisseria meningitidis***

La paroi est l'élément intéressant dans la structure du méningocoque. Elle porte des pili qui interviennent dans l'adhésion aux cellules des muqueuses et présente trois constituants majeurs d'intérêt diagnostique, épidémiologique et prophylactique.

Les trois constituants sont :

- Les polysides capsulaires
- Les protéines de la membrane externe
- Les lipopolysaccharides (LPS)

La nature du polysaccharide capsulaire permet de distinguer douze sérogroupes désignés par les lettres ou les sigles A, B, C, X, Y, Z, 29E, W135, H, I, K et L.

Les plus fréquents sont A, B, C, W135, X, Y.

L'étude de ces sérogroupes a permis la mise au point des vaccins anti méningocoques A et C.

La structure du polysaccharide capsulaire du séro groupe B est identique à celle d'*Escherichia coli* K1 qui est le principal agent causal de la méningite néonatale.

Le polysaccharide du groupe B est peu immunogène et ne permet pas le développement d'une immunité protectrice.

Les sérogroupes de *Neisseria meningitidis* ont été subdivisés en sérotype. Ceux-ci correspondent à des spécificités antigéniques portés par 5 classes de protéine de la membrane externe. Ce sont les protéines de classe 1, 2/3, 4 et 5.

- **La protéine classe 1**

Elle est plus large et induit la production d'anticorps spécifiques bactéricides qui sont protecteurs chez un modèle de rat expérimental. Cette protéine est très variable [17].

- **La protéine classe 2/3**

Toutes les souches de méningocoque ont soit la protéine classe 2 soit la protéine classe 3 [17].

- **La protéine classe 4**

Peu d'études ont été effectuées sur cette classe, elle est présente chez toutes les souches en association avec les protéines de classe 2 ou 3. Elle est constante et serait capable de bloquer l'activité bactéricide d'un sérum humain [17].

- **La protéine classe 5**

Contrairement à la protéine de classe 1, elle est modifiable par la chaleur. Ce sont des antigènes responsables des changements de phase entre les différentes souches, mais aussi à l'intérieur d'une même souche [17].

Les protéines classe 2 et 3 s'excluent mutuellement. Ces deux protéines sont responsables de la spécificité du sérotype. Parmi les souches sérotypables, le sérotype 2 est retrouvé dans 60% des groupes B, 80% des groupes C ainsi que dans les groupes Y et W135.

Le sérotype 2 est lui-même hétérogène avec les types 2a, 2b, 2c.

Tous les méningocoques du séro groupe retrouvés jusqu'à présent ont la protéine de classe 3. La plupart des souches du séro groupe A expriment seulement une des deux variantes électrophorétiques connues de cette protéine de classe 3 et appartiennent à un type sérologique diversement appelé sérotype 21 ou 4 selon les auteurs.

Les déterminants antigéniques des protéines de classe 1 sont à la base du séro-sous typage des souches de méningocoque identifiées de P1-1 à P1-10. Les anticorps monoclonaux dirigés contre les protéines de classe 1 ont une activité bactéricide plus élevée que celle des anticorps dirigés contre les protéines de classe 2 ou 3.

Les lipopolysaccharides (LPS) sont des entités différentes des polysides capsulaires. Ils sont formés d'un lipide A et d'une fraction polysidique. Ils sont également antigéniques et définissent des sérotypes.

Ces LPS entrent dans la composition d'une endotoxine. La capacité des germes à libérer de l'endotoxine peut être en relation avec la gravité de l'affection méningococque [43].

B – 3 – 5 – 5 - POUVOIR PATHOGENE

#### ▪ **Physiopathologie [4]**

Les méningocoques pénètrent généralement dans l'organisme humain par voie aérienne et colonisent le nasopharynx. Chez certains sujets, ils traversent la barrière muqueuse par voie inter ou intra cellulaire et accèdent ainsi à la circulation générale, ou ils sont confrontés aux mécanismes de défense de l'hôte.

Si la bactérie persiste suffisamment longtemps dans la circulation générale, elle peut atteindre le LCR via les plexus choroïdes. Pour la plupart des germes le mécanisme exact de ce phénomène reste inconnu.

La virulence des germes pathogènes (habituellement en cause dans les méningites) est liée à leur capsule polysaccharidique et aux constituants de la membrane cellulaire.

La capsule polysaccharidique, qui contribue à la survie bactérienne dans la circulation sanguine n'a pas de rôle direct dans le déclenchement de l'inflammation dans les espaces sous arachnoïdiens. C'est la paroi bactérienne elle-même qui déclenche la réponse de l'hôte.

#### ▪ **Formes cliniques [11]**

Les méningocoques se transmettent par contact étroit (moins d'un mètre), direct et prolongé (plus d'une heure) avec les sécrétions nasopharyngées.

La méningite à méningocoque survient généralement dans la première enfance (maximum d'incidence chez les moins de cinq ans) et chez l'adulte jeune (moins de vingt cinq ans) et associé un syndrome infectieux (fièvre ; maux de tête violents, vomissements) et un syndrome méningé (raideur de la nuque, léthargie, trouble de la conscience, voire coma). Chez le nouveau né et le nourrisson, ces symptômes sont moins marqués : l'accès brutal de fièvre est parfois accompagné de convulsions ou vomissements. L'apparition des taches purpuriques sur la peau, s'étendant progressivement (purpura extensif), est un critère de gravité de l'infection et une menace de choc septique, imposant le traitement antibiotique et l'hospitalisation d'urgence.

- **Séquelles [11]**

Les complications les plus fréquentes de la méningite cérébro-spinale sont des atteintes neurologiques, en particulier la surdité. L'incubation dure généralement 3 à 4 jours mais peut être prolongée jusqu'à une dizaine de jours.

### **B-3-5-6 - TRAITEMENT ET PREVENTION**

- **Le traitement [1]**

Les traitements curatifs utilisent des molécules actives sur les méningocoques et passant la barrière méningée. Les céphalosporines de troisième génération (cefotaxime, ceftriaxone) auxquelles on a recours en traitement probabiliste sont remarquablement efficaces.

On devra sans doute remettre en cause l'usage de la pénicilline G en raison de la progression de souches de *Neisseria meningitidis* à sensibilité diminuée à la pénicilline du fait d'une résistance non enzymatique déjà signalée dans plusieurs parties du monde particulièrement en Espagne, où cette résistance concerne 30 % des isolats. Le cotrimoxazole ou le chloramphénicol restent largement actifs sur le germe et sont utilisés dans les pays en développement. Par contre, les sulfamides ont vu leur sensibilité diminuer.

- **La posologie [5]**

Le cefotaxime (200mg/kg/j) ou ceftriaxone (100mg/kg/j) est efficace. La durée du traitement est de 7 jours.

Le chloramphénicol huileux : 3g en une seule dose en IM chez l'adulte, 100mg/kg pour les enfants. La durée du traitement est de 2 jours.

- **La prévention**

- **Chimio prophylaxie [1]**

L'infection à méningocoque (méningite ou non) est une maladie à déclaration obligatoire. La prophylaxie concerne l'entourage immédiat du malade telle que la famille proche (« sujets contacts ») et n'est étendue qu'en milieu fermé (casernes, lycée) où le risque de contamination est élevé. La chimio prophylaxie repose sur l'administration de rifampicine, durant deux jours, aux sujets contacts. La vaccination repose actuellement sur des vaccins polysaccharidiques monovalents A ou C ou bivalents A+C, voire tétravalents (A ; C ; W135 ; Y) recommandés pour les voyages en zone endémique (Afrique, Amérique Sud) ou en

présence de cas dus à ces sérogroupes en zone non endémique. Les vaccins administrés par voie sous-cutanée ou intradermique sont peu immunogènes avant l'âge de 2 ans. On ne dispose pas encore de vaccin efficace contre le groupe sérologique B.

La rifampicine est utilisée comme suit [5] :

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

#### ▪ **La vaccination [11]**

Le vaccin bivalent contre les sérologies A+C est très bien toléré .Il confère une immunité d'au moins trois ans lorsqu'il est utilisé après l'âge de 2 ans. Il est administré à large échelle en cas d'épidémie dans les pays en développement et est réservé aux cas contacts dans les pays industrialisés .La vaccination méningocoque A+C est, de plus, conseillée pour les individus de moins 30 ans devant séjourner dans les zones endémiques .Il existe également un vaccin tétravalent contre les sérogroupes *A,C,Y, et W135* disponible sur demande à la Direction Nationale de la Santé .Cette vaccination est devenue obligatoire pour les pèlerins se rendant à la Mecque depuis l'épidémie de mars 2000.L'immunité apparaît dès le dixième jour après la vaccination En aucun cas la vaccination ne se substitue à l'antibioprophylaxie ,qui est destinée à une prévention immédiate des cas secondaires .

Des vaccins conjugués, associant des sucres de la capsule bactérienne à une protéine porteuse, et conférant ainsi un pouvoir protecteur plus élevé même chez les enfants de moins de deux ans sont en développement contre les différents sérogroupes. Un premier vaccin conjugué contre le méningocoque C, dont l'efficacité a été démontrée en Grande Bretagne, où ce séro groupe est en voie d'élimination, est actuellement disponible en France.

D'intenses travaux de recherche associant des équipes internationales visent à identifier, sur la base de séquences génomiques, de nouveaux antigènes, qui vaccineraient contre tous les méningocoques invasifs.

#### ***B – 3 – 5 – 7 - DIAGNOSTIC BACTERIOLOGIQUE***

Le pronostic vital de la méningite purulente dépend de la précocité du diagnostic. Il est important de pouvoir affirmer rapidement la nature bactérienne de la méningite et de disposer sans retard d'indications sur l'étiologie afin de mettre en œuvre rapidement l'antibiothérapie la mieux adaptée.

**B-3-5-7-1- PRELEVEMENT**

Dès les premiers signes cliniques de la maladie, le LCR est prélevé.

Le prélèvement doit être fait avant la mise en œuvre d'une antibiothérapie, pour éviter une diminution de la viabilité des agents étiologiques.

- Ponction lombaire :

S'assurer que le patient est calme

Il doit être assis fortement penché en avant ou en décubitus latéral, le dos en arc de manière à ce que la tête touche les genoux.

Désinfecter les mains à l'alcool à 70%.

Nettoyer la peau du patient de long d'une ligne joignant les deux crêtes iliaques en utilisant l'alcool à 70%, puis badigeonner à la teinture d'iode ou à la polyvidone iodée.

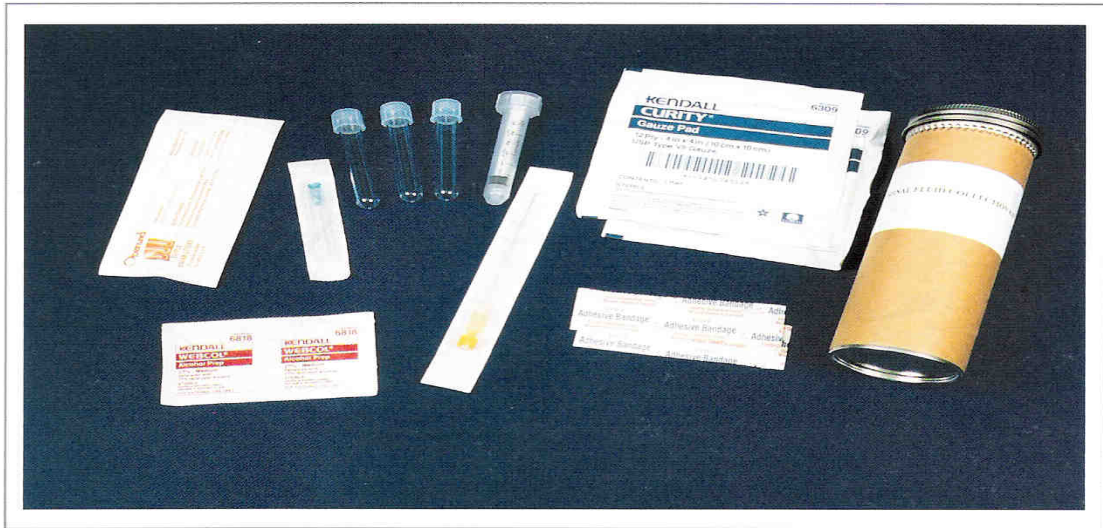
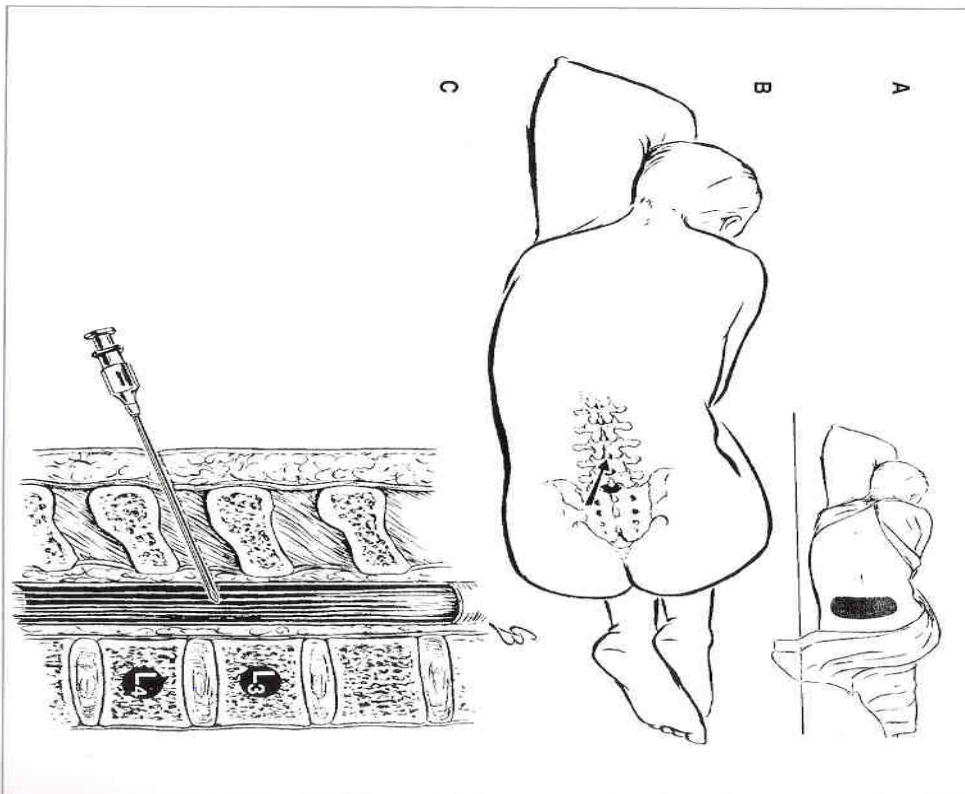
Introduire l'aiguille entre les espaces vertébraux L4-L5 ou L5-SI.

Recueillir 3 à 4ml de LCR dans les tubes stériles munis d'un bouchon à vis.

Le LCR peut être également prélevé par ponction dans la grande citerne (ponction sous occipitale). Enfin le LCR peut être prélevé directement dans les ventricules, soit par voie transfontanellaire chez le nourrisson, soit par biais d'un trou de trépan frontal chez l'enfant ou l'adulte [3].

Le matériel nécessaire pour la ponction lombaire doit comprendre :

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

**Figure 8 (13) : Matériel nécessaire au recueil du LCR****Figure 9 (13) : Mode de ponction lombaire**

**B - 3 - 5 - 7 - 2 - Transport****- Inoculation du Trans-Isolate**

- Retirer le flacon de Trans-Isolate (T-I) du réfrigérateur au moins 30 minutes avant d'inoculer le prélèvement de LCR. Ceci permet de réchauffer le flacon à température ambiante et favorise la prolifération des organismes.
- Avant inoculation, regarder s'il y a une prolifération visible dans le flacon ou le milieu est trouble. En cas de prolifération visible ou turbidité, jeter le flacon car il peut être contaminé.
- Soulever l'opercule situé au milieu de la capsule métallique fermant le flacon de T-I.
- Désinfecter le bouchon du flacon de T-I à l'alcool à 70° C ou à l'iode. Laisser sécher (30 à 60 secondes en général).
- Aspirer 0,5 à 1 ml du tube contenant le LCR, à l'aide d'une seringue et d'une aiguille stérilisée (21G de préférence).
- Injecter le LCR dans le flacon de T-I à travers le bouchon désinfecté et sec.
- Transport et Incubation des flacons de T-I :
  - La procédure à suivre dépendra du temps nécessaire pour que les flacons de T - I arrivent au laboratoire de référence ou la culture et l'isolement seront effectués.
  - Si les flacons de T-I ne peuvent pas arriver au laboratoire de référence en moins de 24 heures :
    - Etiqueter le flacon de T-I avec l'identité du malade, le numéro d'échantillon et la date.
    - Ventiler le flacon de T-I au moyen d'une grosse aiguille cotonnée stérile.
    - Conserver le flacon debout à température ambiante. Eviter la lumière directe, la chaleur excessive et la poussière.



- Avant de transporter le flacon, retirer l'aiguille cotonnée. Ceci évitera des fuites et la contamination pendant le transport.
  - Assurer le transport dans un emballage clos réduisant au minimum les risques de contamination (pochette plastique) et joindre la fiche de notification.
- Si les flacons de T-I peuvent arriver au laboratoire de référence en moins de 24 heures :
    - Etiqueter le flacon de T-I avec l'identité du malade, le numéro d'échantillon et la date.
    - Envoyer les T-I sans ventilation.
    - Assurer le transport dans un emballage clos réduisant au minimum les risques de contamination (pochette plastique), et joindre la fiche de notification.

**- Recommandations additionnelles sur l'utilisation et la ventilation des flacons de T-I**

- La durée d'utilisation du flacon de T-I est d'au moins 1 an après la date de production, pour autant qu'il soit conservé au réfrigérateur.
- Le milieu T-I est détruit par la congélation.
- Les flacons de T-I non utilisés doivent être transportés en maintenant la chaîne du froid.
- Des études ont montré que la ventilation des flacons permettait de limiter à 20-25 % l'absence de prolifération, 2 à 4 semaines après inoculation du flacon avec le LCR (des malades présentant une méningite bactériennes aiguë). Sans la ventilation des tubes, ces pertes ont été bien plus importantes.

**B - 3 - 5 - 7 - 3 - Analyse du LCR**

**- Examen macroscopique**

Noter l'aspect du LCR :

- Clair limpide ; incolore (aspect eau de roche).
- Trouble : dû à une hyper leucocytose (de l'aspect moins trouble, opalescent, à l'aspect franchement purulent).

- Hémorragique : non coagulé dans le tube (hémorragie méningée) ou coagulé (blessure vasculaire).
- Xanthochromique : liquide jaune.

### - Examen microscopique

Si la quantité de LCR ne dépasse pas 1ml, la coloration de Gram et la culture doivent être faites sur le LCR non centrifugé.

#### ▪ Cytologie quantitative

Elle consiste à dénombrer à partir du LCR le nombre de leucocytes et d'hématies par mm<sup>3</sup> dans la cellule de Malassez :

- humecter la surface des deux plateaux de la cellule de Malassez;
- déposer sur la cellule en lui exerçant une pression ferme avec les doigts une lamelle spéciale optiquement plane.
- remué le LCR non centrifugé, prélever un certain volume à la pipette de Pasteur ou de transfert et remplir la cellule.
- laisser au repos quelques minutes, pour que l'élément cellulaire se sédimente,
- placer ensuite la préparation sur la platine du microscope et l'examiner à l'objectifx40.
- Lorsque les éléments cellulaires sont nombreux, faire le décompte sur quelques bandes puis faire la moyenne des leucocytes et des hématies par bande .Cette moyenne est multipliée par 10 pour avoir le nombre de leucocytes et des hématies par mm<sup>3</sup>.
- Lorsqu'il y a peu d'éléments faire le décompte sur toute la cellule et le chiffre obtenu est rendu comme tel en nombre de leucocytes ou d'hématies par mm<sup>3</sup>.

#### ▪ Cytologie qualitative

Elle consiste à déterminer la nature des éléments à partir du culot de centrifugation .On réalise un frottis sur une lame neuve dégraissée qu'on colore au May Grunwald Giemsa (MGG) ou au bleu de méthylène, ceci nous permet de déterminer la formule leucocytaire. Dans les méningites purulentes, la formule leucocytaire est à 90-95% des polynucléaires neutrophiles pour 0 à 5% des lymphocytes.

### - Examen direct après coloration de Gram [4]

Il est réalisé avec le culot de centrifugation .Le frottis fait est coloré au Gram. Ceci nous permet d'apporter la certitude en objectivant des diplocoques en grain de café intra ou extra cellulaire gram négatif et de nombreux polynucléaires plus ou moins altères.

La lecture de la lame est faite à l'objectif 100 avec huile à immersion.

### **B - 3 - 5 - 7 - 4 - 5 - Recherche des antigènes solubles**

#### **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.

### **B - 3 - 5 - 7 - 4 - 6 - Culture [4]**

#### **- Cas du LCR dans le tube**

La culture confirme le résultat de l'examen direct et permet de tester la sensibilité des germes aux antibiotiques.

*Neisseria meningitidis* est un germe aérobic strict, exigeant pour sa culture des milieux riches. On utilise le plus souvent la gélose au sang cuit. Sa croissance est favorisée par 10% de CO<sub>2</sub> avec une température optimale de 37° C et de pH optimal égal à 7. Après 18-24 heures d'incubation, les colonies apparaissent rondes, lisses, bombées et translucides.

#### **- Cas du LCR dans un T-I**

Dès réception du T-I au laboratoire, aérer le T-I avec une aiguille hypodermique bouchée avec du coton hydrophile (pour éviter la contamination).Incuber le flacon T-I à 36, 5° C pendant 24heures, le lendemain tirer une quantité qu'on centrifuge puis utiliser le culot pour faire le Gram (diplocoque Gram négatif); le reste du culot est utilisé pour faire la culture sur gélose chocolat.

### **B - 3 - 5 - 7 - 4 - 7 - Identification biochimique : Méthode de la galerie API-NH**

C'est une méthode enzymatique (ou fermentation de sucre) pour identifier les *Neisseria* et les *Haemophilus* à l'aide de substrats, ainsi que pour rechercher la pénicillinase (chez *Haemophilus* et *Neisseria gonorrhée*).

La galerie API-NH comporte 10 micros tubes contenant des substrats sous forme déshydratée, pour réaliser 13 tests d'identification.

On réalise une suspension bactérienne qui sert à réhydrater les substrats.

La galerie est mise en incubation pendant 2 heures à 35-37° C.

Les résultats sont exprimés en caractère positif ou négatif selon le changement de coloration.

L'identification est obtenue avec l'un des logiciels d'identification ou en recherchant le profil numérique obtenu dans la liste des profils de la notice technique.

### **B - 3 - 5 - 7 - 4 - 8 - Typage des souches**

Actuellement deux systèmes de typage sont utilisés, l'un emploie des méthodes immunologiques et l'autre des méthodes génétiques.

- Les méthodes immunologiques permettent de caractériser les souches de méningocoque d'après leur formule antigéniques (sérogroupe : sérotype : séro-sous-type). Elles sont fondées sur la reconnaissance immunologique de certaines structures de la surface bactérienne par les anticorps. C'est le cas de la capsule pour les sérogroupe et des protéines de la membrane externe (Porines) comme PorB pour le sérotype et porA pour le sous-type. Ces techniques présentent des limites car ne caractérisent que les structures antigéniques de surface qui sont soumises à des variations importantes sélectionnées par la réponse immunitaire de l'hôte. C'est donc le reflet des interactions entre la bactérie et l'hôte infecté plutôt qu'une diversité génétique intrinsèques des bactéries.
- La méthode génétique de référence est la « Multilocus Enzyme Electrophoresis (MLEE) ». Cette technique est basée sur les différences de migration électrophorétique des enzymes codées par les différents allèles d'un gène donné.

### **B - 3 - 5 - 7 - 9 - Détermination des sérogroupe**

Les sérogroupe sont déterminés par la nature des antigènes polysaccharides capsulaires.

Les sérogroupe sont identifiés par agglutination ou par la contre immunoélectrophorèse.

### **B - 3 - 5 - 7 - 10 - Sérotypage**

Les sérotypes correspondent à des spécificités antigéniques et sont basés sur les protéines de la membrane externe et des LPS. Pour les protéines, il s'agit de la classe 2 ou 3. On les détermine par SDS-PAGE ou DOT blot.

Les sérotypes des LPS des méningocoques de sérogroupe A résultent dans la désignation L8, L10 et L11 pour les espèces LPS avec des migrations électrophorétiques et sérologiques distinctives. Il n'y a aucune liaison entre les sérotypes des LPS et l'analyse clonale [4].

#### **B - 3 - 5 - 7 - 11 - Séro-sous typage [4]**

Le déterminant antigénique des protéines de classe 1 est à la base du séro-sous typage des souches de *Neisseria meningitidis*.

La protéine de classe I semble posséder une quantité de variation limitée :

- 7 variations électrophorétiques et 5 variations sérologiques de la protéine de classe 1 furent reconnues au niveau du sérogroupe A.
- 4 des 5 variations sérologiques étaient définies par les Mc Abs élevés contre le méningocoque du sérogroupe B.

#### **B - 3 - 5 - 7 - 12 - Clones [40]**

Définition : un clone est l'ensemble des bactéries provenant de la même cellule ancestrale.

*Neisseria meningitidis* est hautement polymorphe, comme cela est révélé par la MEE (Multi locus enzyme électrophoresis) avec en moyenne plus de 7 allèles par locus enzymatique.

La MEE identifie des variations alléliques des gènes chromosomiques en indexant la migration électrophorétique différentielle des produits de ces gènes, les enzymes.

La diversité génétique de *Neisseria meningitidis* est extensive, ce qui fait de la MEE une méthode de choix pour l'épidémiologie des méningocoques qui permet de les classer en neuf complexes clonaux ou sous-groupes.

**Tableau I : Quelques complexes clonaux et leurs caractéristiques sérologiques les plus fréquentes et leurs origines géographiques**

Complexe clonal	Sérogroupe	Sérotypes	Origine géographique
Sous groupe I	A	4,21 :P1.10	Mondiale
Sous groupe III	A	4,21 :P1X, 9	Mondiale épidémies actuellement en Afrique
Sous groupe V	A	4,21 :P1.7, 10	Chine
Complexe Et-5	B ; (C)	15 :P1.16 15 :P1.3 4 :P1.15	Mondiale
Complexe Et-37	C ; B ;(W135,Y)	2a :P1.2, 5 2a :P1.5, Y	Mondiale
Groupe A4	B et C	2b :P1.2	Amérique Europe Afrique du Sud
Lignée III	B	4 :P1.4	Europe

### **B - 3 - 5 - 7 - 13 - Séquence type (ST)**

Elle est basée sur la caractérisation génotypique du méningocoque. La caractérisation génotypique d'un nombre important de souches de méningocoque par cette technique a permis de montrer que les méningocoques peuvent être regroupés en complexes clonaux à l'intérieur desquels les souches sont très proches. L'analyse d'isolats de patients montre que les souches isolées de patients appartiennent à un nombre très limité de complexe clonaux, alors que les souches isolées de portage appartiennent à plusieurs centaines de complexes clonaux. Ces données démontrent que les souches de *Neisseria meningitidis* qui appartiennent à un petit nombre de complexes clonaux ont un potentiel invasif plus marqué que les autres. Ces souches "invasives" ne sont responsables d'infections que chez une faible proportion des patients qu'elles colonisent.

**B - 3 - 5 - 7 - 14 - Méthode de typage****B - 3 - 5 - 7 - 14 - 1 - Electrophorèse****- Electrophorèse par la technique du SDS-Page [12]**

Le SDS-Page est une méthode d'orientation pour identifier les méningocoques. Il permet de différencier les sérogroupes A et C par la présence ou l'absence de protéine de classe 2 ou 3 de la membrane externe des méningocoques sur gel de polyacrylamide en présence de SDS (Dodécyl sulfate de sodium).

Les protéines sont séparées en fonction de leurs poids moléculaires (PM) et de leurs charges dans un champ créé entre deux électrodes, le pôle négatif (-) et le pôle positif (+).

La migration se fait du pôle négatif au pôle positif.

**- Electrophorèse par champ pulsé sur gel [4]**

L'électrophorèse par champs pulsé sur gel est une nouvelle technique pour typer les bactéries. Elle est une méthode relativement simple et rapide pour comparer les relations entre les souches de *Neisseria meningitidis* A.

Elle est utilisée pour analyser l'ADN de *Neisseria meningitidis* A. L'endonucléase *By*, il est utilisé pour couper les chromosomes d'ADN engendrant 19 fragments analysables.

Cette technique permet de comparer les rapports de clones révélés par le même type pulsé.

Le type pulsé est fermement relié à la souche B54, le sous-groupe III en référence de la Finlande 1975, montrant seulement deux fragments différents.

**B - 3 - 5 - 7 - 14 - 1 - 2 - Dot blot**

C'est une technique immuno blot utilisant des anticorps monoclonaux spécifiques pour identifier les variations antigéniques portées sur membrane de nitrocellulose. Cette technique a été utilisée pour caractériser les souches de méningocoque.

**B - 3 - 5 - 7 - 14 - 3 - Multi Locus Séquence Typing " (MLST) "**

C'est une technique qui est basée sur la comparaison des séquences de gènes codant pour des protéines cytoplasmiques du métabolisme fondamental (enzymes dites "de ménage", LDH par exemple) et donc non soumises à la pression de sélection de l'environnement. Ainsi, le degré d'identité entre deux séquences correspondant au même locus dans deux souches est

inversement proportionnel au nombre d'évènement ayant affecté la séquence originale pour chaque souche, et reflète donc le degré de "proximité génomique" des deux souches.

***B - 3 - 5 - 8 - Diagnostic moléculaire par amplification génétique (PCR)***

Il permet l'identification et la caractérisation de *Neisseria meningitidis* par amplification du gène *crgA*, suivi par celle de *siaD*, codant la biosynthèse de la capsule des sérogroupe B, C, Y et W135 *mynB* codant pour la capsule du sérogroupe A.



### **III - METHODOLOGIE**

#### ***3 - 1 - LIEU ET TYPE D'ETUDE***

##### **LIEU D'ETUDE**

L'Institut National de Recherche en Santé publique (INRSP) du Mali est situé dans le quartier hippodrome sur la route de Koulikoro.

Créé par la loi N° 93-014 du 11 février 1993 comme Etablissement Public à caractère Administratif, l'INRSP est passé de ce statut à celui d'Etablissement Public à caractère Scientifique et Technologique par l'Ordonnance N° 06-007/P – RM du 28 Février 2006.

Les missions de l'INRSP se résument comme suit :

- promouvoir la recherche médicale et pharmaceutique en santé publique notamment dans les domaines des maladies infectieuses, néoplasiques et sociales, de la santé familiale, de l'éducation sanitaire, de l'hygiène du milieu, de la biologie clinique appliquée à la nutrition et aux affections endémo-épidémiques, toxicologie médicale et expérimentale, de la bromatologie, de la génétique, de la socio économie, de la médecine et pharmacopée traditionnelle ;
- participer à la formation technique, au perfectionnement et à la spécialisation dans le domaine de sa compétence ;
- assurer la référence dans le domaine de la biologie clinique ;
- assurer la mise au point et la formulation des médicaments traditionnels améliorés ;
- assurer la protection du patrimoine scientifique relevant de son domaine ;
- promouvoir la coopération nationale et internationale dans le cadre des programmes et d'accords d'assistance mutuelle ;
- gérer les structures de recherche qui lui sont confiées.

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 qui sont :

- Département Santé Communautaire (DSC),

- Département Médecine Traditionnelle (DMT),
- Département Formation (DF),
- Département Administration et Personnel (DAP),
- Département de Diagnostic et de Recherche Biomédicale (DDRB) qui se compose de laboratoires de :
  - Immuno-sérologie
  - Bactériologie
  - Hématologie
  - Biochimie
  - Parasitologie
  - Cytogénétique
  - Anatomico-pathologie.

En outre, l'institut dispose des centres de formation en zone rurale que sont:

- le centre de Sélingué ;
- le centre de Kolokani ;
- le Centre Régional de Médecine traditionnelle de Bandiagara (CRMT) ;
- le centre de Gossi.

Le service de bactériologie virologie qui relève du Département 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 frottis vaginal, de pus (liquide d'ascite, prélèvement urétral, liquide d'épanchement etc...), d'urines, de sang (hémoculture), de coprocultures et les échantillons d'eau ;
- le laboratoire de référence pour la tuberculose ;
- une section de stérilisation et de préparation des matériels de travail (milieux de culture, colorant etc...);
- le laboratoire de référence pour la méningite dotée d'équipements adéquats.

#### **TYPE DE L'ETUDE**

Il s'agit d'une étude transversale qui s'est déroulée de Janvier 2005 à Décembre 2007.

### **3 - 2 – ECHANTILLONNAGE ET POPULATION D'ETUDE**

Tout cas de LCR envoyé à l'INRSP et tous les cas suspects de méningite .

### **3 - 3 - PRELEVEMENT ET TRANSPORT DES LCR**

Le LCR prélevé avant tout traitement antibiotique chez les patients suspects de méningite, est transporté, soit dans un tube stérile ou dans le milieu de transport Trans Isolate. Ceux collectés dans le tube sont transportés à l'abri de la lumière et acheminés au laboratoire dans un délai de moins d'une heure. Pour les Trans Isolates le délai est de moins de sept jours pour arriver à l'INRSP.

Chaque prélèvement est accompagné de fiche d'une notification comportant le nom, prénom, sexe, âge, date de prélèvement et statut vaccinal.

A la réception la qualité des prélèvements est appréciée. Ainsi un prélèvement est dit adéquat si le T-I est non aéré et protégé à l'abri de la lumière ou si le tube de LCR arrive au laboratoire en moins d'une heure et à l'abri de la lumière.

Un prélèvement ne remplissant pas ces conditions est dit non adéquat.

### **3 - 4 - ANALYSE DES LCR**

#### **3 - 4 - 1 – EXAMEN MACROSCOPIQUE**

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

- clair (eau de roche)
- trouble (louche ou purulent)
- xanthochromique
- hématique

#### **3 - 4 - 2 - EXAMEN MICROSCOPIQUE**

- Si la quantité de LCR ne dépasse pas 1ml, la coloration de Gram et la culture sont faites sur le LCR non centrifugé.
- Si la quantité dépasse 1 ml, une partie du LCR est transférée dans un second tube (T2), et le restant (T1) est gardé. On procède comme suit :
  - cytologie : elle consiste au dénombrement des éléments cellulaires par mm<sup>3</sup> à l'aide de la cellule de Malassez.
  - Examen microscopique après coloration de Gram

- T1 est centrifugé le culot est utilisé pour faire le frottis.
- sécher le frottis à l'air dans une enceinte de sécurité. Le frottis est coloré au Gram (sèches et observé à l'immersion du microscope à l'objectif 100) afin d'apprécier la morphologie des germes observés correspondant au type de l'agglutination.

### **3 – 5 - RECHERCHES D'ANTIGENES SOLUBLES**

Nous avons utilisé le **PASTOREX®MENINGITIS**.

#### **- MODE OPERATOIRE**

Dans le cas d'un LCR très trouble ou présentant une contamination par des globules rouges, on le centrifuge durant 5 minutes à 2000/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 micro litre) 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 en maintenant 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 avant observation d'une éventuelle agglutination en moins de 10 minutes.

#### **- LECTURE DES RESULTATS**

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.

## LIMITES DU TEST

La technique immunologique au latex permet dans de nombreux cas un diagnostic présomptif du germe en cause. Cependant, la concentration 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 résultat biochimiques, cytologiques et immunologiques.

## 3 - 6 – Culture

### 3 - 6 - 1 - Cas du prélèvement dans le tube

Le prélèvement est ensemencé directement sur les milieux de culture.

Les milieux sont choisis en fonction du résultat de la coloration de Gram:

- La gélose au sang cuit ou gélose chocolat pour *Haemophilus influenzae b*.
- La gélose au sang pour *Streptococcus pneumoniae*.
- La gélose au sang cuit ou gélose chocolat enrichies avec du poly vitex ou du supplément G pour *Neisseria meningitidis*.

Les boîtes ensemencées sont incubées à 37° C sous du CO<sub>2</sub> en atmosphère humide pendant 24-48 heures.

### 3 - 6 - 2 - CAS DU LCR INOCULÉ DANS LE TRANS-ISOLATE (T-I)

C'est un milieu utilisé pour le transport du LCR de la périphérie vers le laboratoire national de référence et qui constitue un outil essentiel dans la confirmation biologique de la méningite bactérienne. Ce milieu dysphasique (voir figure) permet la culture primaire de *Neisseria meningitidis*, *Streptococcus pneumoniae* et *Haemophilus influenzae b* à partir de prélèvement du liquide céphalo-rachidien (LCR).

Il peut être utilisé comme milieu de culture, de conservation, et de transport.

Dès la réception le flacon T-I est aéré par une aiguille et incubé à 36, 5° C pendant 24 heures.

Après 24 heures d'incubation et quand la phase liquide est trouble, on tire une quantité du

milieu qui est sert à l'isolement, à la coloration de Gram.



**Figure 10 (13) : Trans-isolate**

### ***3 - 7 - IDENTIFICATION***

- L'aspect des colonies sur la boîte de culture,
- Test d'oxydase,
- Coloration de Gram,
- Confirmation de l'identification par l'agglutination au Pastorex ou par les antisérums

### ***3 - 8 - CONSERVATION DES SOUCHES***

Après vérification de la pureté de la culture, les souches sontensemencées dans le bouillon glyciné.

Cette méthode consiste à recueillir la totalité de la culture pure de 24 heures avec un écouvillon stérile ou une anse plastique, ensuite déposer la culture dans un cryotube contenant environ

1ml de bouillon trytone soja avec 15 à 20 % de glycérine et faire tourner l'écouvillon (ou l'anse) pour reléguer les bactéries. Les cryotubes sont conservés dans un congélateur à -70° C.

### **3 - 9 - ANTIBIOGRAMME**

Nous l'avons fait selon la technique de diffusion des disques en milieu gélosé. Le milieu utilisé est la gélose de Mueller Hinton 2 (MH2) selon les recommandations de la Société Française de Microbiologie (SFM).

On peut également utiliser :

- *Streptococcus pneumoniae* gélose de Mueller Hinton 2 (MH2) au sang frais.
- *Neisseria meningitidis* gélose de Mueller Hinton 2 (MH2) au sang cuit.
- *Haemophilus influenzae b* gélose de Mueller Hinton 2 (MH2) au sang cuit.

La procédure est la suivante :

- préparer une suspension bactérienne à partir d'une culture pure de méningocoque en eau physiologique de façon à avoir une suspension bien homogénéisée.
- ensemercer la surface de la gélose Mueller Hinton 2 par inondation ou à l'aide d'un écouvillon avec la suspension bactérienne.
- déposer ensuite à la surface de la gélose des disques d'antibiotiques à concentration connue en raison de 7 disques pour une boîte de gélose de 90 mm de diamètre.

Les boîtes de pétri contenant la culture et les antibiotiques sur MH2 ou gélose au sang cuit sont placées à l'étuve à 37° C en atmosphère humide et enrichie de CO<sub>2</sub> à 10 % pendant 24 heures.

- après 24 heures, on fait une lecture par mesure des diamètres des zones d'inhibition généralement à l'aide d'une règle graduée.

Les disques antibiotiques utilisés sont : Chloramphénicol, Triméthoprime sulfaméthoxazole et Oxacilline.



**Figure 11: Exemple d'antibiogramme**

### *3 - 10 - CONTROLE DE QUALITE*

Les souches de méningocoque conservées sont envoyées dans le Trans-Isolate au Centre de Recherche Pluri pathologique de Ouagadougou pour le contrôle de qualité du sérotype et pour déterminer le sérotype et le sous-type de ces souches. Les mêmes souches sont ensuite envoyées par le MDSC (MULTI DISEASE SURVEILLANCE CENTRE) à l'Institut de Santé Publique d'Oslo en Norvège pour déterminer le sérotype et le séquence type. Dans les deux cas de contrôle de qualité, la concordance des résultats était de 100%.

### *3 - 11 – MATERIELS UTILISES*

- Hotte
- Boîte de pétri
- Pincés métalliques
- Anse à usage unique
- L'écouvillon
- Agitateur
- Pipette de transfert ou de Pasteur
- Micropipette



- Cryotube
- Congélateur a -80° C
- Les disques d'antibiotiques
- Tubes à hémolyse

#### **MILIEUX DE CULTURE**

- Gélose au sang frais
- Gélose au sang cuit
- Mueller Hinton 2
- Trans-Isolate
- Bouillon glycinée (Bouillon cœur cerveau plus 15% de glycérine)
- Eau physiologique

#### **ANALYSE DES RESULTATS**

- Microsoft Word pour le traitement de texte
- Excel pour l'élaboration des graphiques et des tableaux
- SPSS pour l'analyse statistique des données

#### **TEST STATISTIQUE UTILISE**

- Test de Khi deux.
- Seuil de signification fixé à 0,05 :
  - $P < 0,05$  = différence statistique significative
  - $P \geq 0,05$  = pas de différence statistique significative

## IV - RÉSULTATS

### **4 - 1 - CARACTERISTIQUES SOCIO DEMOGRAPHIQUE DES CAS DE MENINGITES CONFIRMES AU LABORATOIRE DE 2005 A 2007**

**Tableau II** : Répartition des LCR par année.

<i>Nombre de LCR / Année</i>	<i>Nombre total de LCR positif</i>	<i>Nombre total de LCR négatif</i>	<i>Nombre total</i>
2005	60 (10,36%)	519 (89,64%)	579 (36,8%)
2006	80 (16,67%)	400 (83,33%)	480 (30,5%)
2007	104 (20,23%)	410 (79,77%)	514 (32,7%)
<b>Total</b>	<b>244 (15,51%)</b>	<b>1329 (84,49%)</b>	<b>1573 (100%)</b>

Sur 1573 LCR analysés 15,51% ont donné un résultat positif à la culture ou au latex.

**Tableau III** : Répartition de LCR par année selon la qualité du prélèvement

<i>Qualité des LCR/ Année</i>	<i>Qualité des prélèvements</i>		<i>Total</i>
	Non adéquat	Adéquat	
2005	31 (5,35%)	548 (94,65%)	579
2006	155 (32,29%)	325 (67,71%)	480
2007	52 (10,12%)	462 (89,88%)	514
<b>Total</b>	<b>238 (15,13%)</b>	<b>1335 (84,87%)</b>	<b>1573</b>

Les prélèvements étaient adéquats à 84,87%. Ce taux varie d'une année à une autre.

**Tableau IV** : Répartition des patients par tranche d'âge.

<i>Patients/Tranche d'âge</i>	<i>Fréquence</i>	<i>Pourcentage (%)</i>
0 à 11 mois	473	30,07
1 à 4 ans	414	26,32
5 à 14 ans	405	25,75
15 ans et plus	281	17,86
<b>Total</b>	<b>1573</b>	<b>100,0</b>

La moyenne d'âge des patients était de 37 ans. L'âge minimum était de 3 jours et la maximum 72 ans.

Les enfants âgés de 0 à 11 mois étaient majoritaires (30,07%).

**Tableau V** : Répartition des patients selon le sexe.

<i>Sexe</i>	<i>Fréquence</i>	<i>Pourcentage</i>
Féminin	641	40,75
Masculin	932	59,25
<b>Total</b>	<b>1573</b>	<b>100,0</b>

Le sexe ratio (M/F) était de 1,45 en faveur du sexe masculin.

**Tableau VI** : Répartition des LCR par Région administrative du Mali et le District de Bamako de 2005 à 2007.

<i>District ou Région</i>	<i>Nombre total</i>	<i>Pourcentage</i>
Bamako	1078	68,53
Kayes	21	1,34
Koulikoro	223	14,18
Ségou	1	0,06
Sikasso	159	10,11
Mopti	76	4,83
Gao	6	0,38
Tombouctou	9	0,57
Kidal	0	0
<b>Total</b>	<b>1573</b>	<b>100</b>

Le plus grand nombre de LCR recensés provenaient du District de Bamako avec 68,53%.

**Tableau VII** : Répartition des LCR par Région administrative du Mali et le District de Bamako de 2005 à 2007.

<i>LCR + ou -/ Région ou District</i>	<i>Nombre de LCR négatifs (-)</i>	<i>Nombre de LCR positif (+)</i>	<i>Nombre total de LCR</i>
Bamako	946	132 (12,26%)	1078
Kayes	10	11 (52,38%)	21
Koulikoro	198	25 (11,21%)	223
Ségou	1	0	1
Sikasso	106	53 (33,33%)	159
Mopti	58	19 (24,68%)	77
Gao	4	2 (33,33%)	6
Tombouctou	6	2 (25%)	8
<b>Total</b>	<b>1329</b>	<b>244 (15,51%)</b>	<b>1573</b>

Sur un total de 1573 prélèvements 15,51% sont positifs aux germes bactériens.

Le grand nombre de cas positif étaient du District de Bamako avec 132 cas.

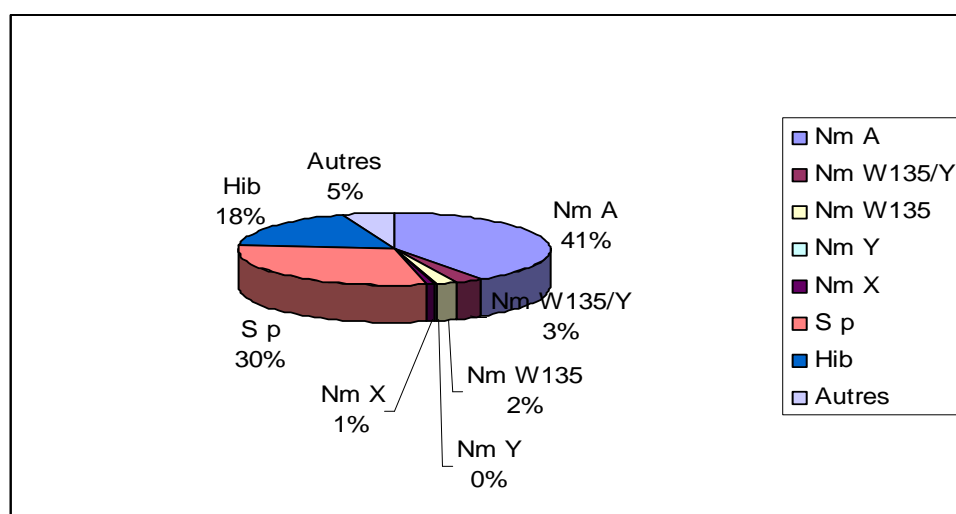
#### 4 - 2 - NATURE DES GERMES ISOLES

**Tableau VIII** : Répartition des germes par année

<i>Germes/</i> <i>Année</i>	<i>Nm A</i>	<i>Nm</i> <i>W135/Y</i>	<i>Nm</i> <i>W135</i>	<i>Nm Y</i>	<i>Nm X</i>	<i>S p</i>	<i>Hib</i>	<i>Autres</i>	<i>Total</i>
2005	6	2	0	0	1	25	21	5	60
2006	32	0	0	0	1	22	18	7	80
2007	61	5	5	1	0	26	5	1	104
<b>Total</b>	<b>99</b>	<b>7</b>	<b>5</b>	<b>1</b>	<b>2</b>	<b>73</b>	<b>44</b>	<b>13</b>	<b>244</b>
	40,57%	2,87%	2,05%	0,41%	0,82%	29,92%	18,03%	5,33%	

Le Nm A était prédominant avec 40,57%.

**Figure 12** : Répartition des germes : *Neisseria meningitidis A* est le plus représenté avec 41%.



Nm A: *Neisseria meningitidis A*

Nm W135: *Neisseria meningitidis W135*

Nm Y: *Neisseria meningitidis Y*

Nm X: *Neisseria meningitidis X*

Hib : *Haemophilus influenzae b*

S p: *Streptococcus pneumoniae*



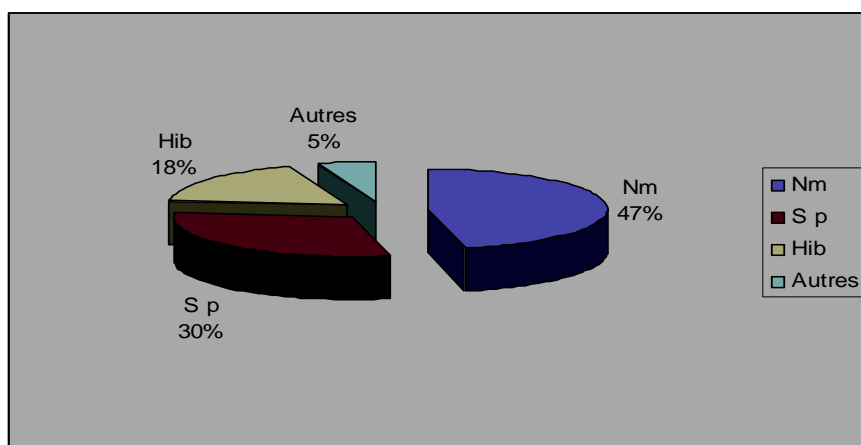
**Tableau IX** : Espèces bactériennes identifiées de 2005 à 2007 par région administrative et le District de Bamako

<i>Germes / District</i>	<i>Neisseria meningitidis</i>	<i>Streptococcus pneumoniae</i>	<i>Haemophilus influenzae b</i>	<i>Autres germes</i>	<i>Total</i>
Bamako	52 (39,39%)	51 (38,64%)	21 (15,91%)	8 (6,06%)	132
Kayes	7 (63,64%)	1 (9,09%)	3 (27,27%)	0	11
Koulikoro	6 (24%)	8 (32%)	9(36%)	2 (8%)	25
Sikasso	36 (67,92%)	8 (15,09%)	7 (13,21%)	2 (3,78%)	53
Mopti	10 (52,63%)	5 (26,32%)	4 (21,05%)	0	19
Gao	1 (50%)	0	0	1 (50%)	2
Tombouctou	2 (100%)	0	0	0	2
<b>Total</b>	<b>114 (46,72%)</b>	<b>73 (29,91%)</b>	<b>44 (18,04%)</b>	<b>13 (5,33%)</b>	<b>244</b>

Le germe bactérien isolé le plus fréquent était *Neisseria meningitidis* qui représente 46,72%.

Autres germes : *Acinetobacter* (4), *Candida albicans* (1), *Bacille pyocyannique* (1), *Enterobacter aeruginosa* (1), *Salmonella* Para typhi B (2), *Escheriria coli* (1), *Streptocoque B* (3).

**Figure 13** : Répartition des germes identifiés : *Neisseria meningitidis* est le plus représenté avec 47%.



**Tableau X** : Répartition des germes isolés de 2005 à 2007 par district sanitaire des régions et le District de Bamako.

**Tableau X-1** : Répartition des germes isolés de 2005 à 2007 dans le District de Bamako

<i>Communes du District</i>	<i>Nm A</i>	<i>Nm W135/Y</i>	<i>Nm Y</i>	<i>Nm X</i>	<i>S p</i>	<i>H i b</i>	<i>Autres</i>	<i>Total</i>
Commune1	6	1	0	0	6	7	1	21
Commune2	27	0	1	0	10	0	1	39
Commune3	1	0	0	0	3	0	1	5
Commune4	4	0	0	0	11	4	2	21
Commune5	5	0	0	0	5	3	0	13
Commune6	5	1	0	1	16	7	2	32
<b>Total</b>	<b>48</b>	<b>2</b>	<b>1</b>	<b>1</b>	<b>51</b>	<b>21</b>	<b>7</b>	<b>131</b>
	<b>36,65%</b>	<b>1,53%</b>	<b>0,76%</b>	<b>0,76%</b>	<b>38,93%</b>	<b>16,03%</b>	<b>5,34%</b>	

Nm était le germe le plus représenté du District de Bamako avec le plus grand nombre de cas en provenance de la commune 2 avec 39 cas.

Nm A:= *Neisseria meningitidis A*

Nm W135= *Neisseria meningitidis W135*

Nm W135/Y= *Neisseria meningitidis W135/Y*

Nm Y= *Neisseria meningitidis Y*

Nm X= *Neisseria meningitidis X*

Hib = *Haemophilus influenzae b*

S p = *Streptococcus pneumoniae*

**Tableau X-2:** Répartition des germes isolés de 2005 à 2007 par district sanitaire dans la région Kayes

<i>District sanitaire</i>	<i>Nm A</i>	<i>Nm W135/Y</i>	<i>S p</i>	<i>H i b</i>	<i>Total</i>
Kayes	1	0	0	1	2
Bafoulabé	2	1	1	0	4
Kéniéba	3	0	0	1	4
Kita	0	0	0	1	1
<b>Total</b>	<b>6</b>	<b>1</b>	<b>1</b>	<b>3</b>	<b>11</b>
	<b>54,55%</b>	<b>9,09%</b>	<b>9,09%</b>	<b>27,27%</b>	<b>100%</b>

Dans la région de Kayes Nm A était la plus prédominante (6 cas sur 11 cas). Kéniéba et Bafoulabé étaient les Districts sanitaires qui ont enregistré le plus de cas de Nm A.

Nm A = *Neisseria meningitidis* A

Nm W135/Y = *Neisseria meningitidis* W135/Y

Hib = *Haemophilus influenzae* b

S p = *Streptococcus pneumoniae*

**Tableau X-3:** Répartition des germes isolés de 2005 à 2007 par district sanitaire dans la région Koulikoro

<i>District sanitaire</i>	<i>Nm A</i>	<i>Nm</i>	<i>S p</i>	<i>Hi b</i>	<i>Autres</i>	<i>Total</i>
	<b>W135</b>					
Koulikoro	1	0	1	1	0	3
Dioïla	2	0	1	1	1	5
Kangaba	0	0	1	1	0	2
Kati	2	1	5	6	1	15
<b>Total</b>	<b>5</b>	<b>1</b>	<b>8</b>	<b>9</b>	<b>2</b>	<b>25</b>
	<b>20%</b>	<b>4%</b>	<b>32%</b>	<b>36%</b>	<b>8%</b>	<b>100%</b>

Dans la région de Koulikoro le germe Hib était prédominant avec 36%.

Nm A= *Neisseria meningitidis A*

Nm W135= *Neisseria meningitidis W135*

Hib = *Haemophilus influenzae b*

S p= *Streptococcus pneumoniae*

**Tableau X-4:** Répartition des germes isolés de 2005 à 2007 par district sanitaire dans la région Sikasso.

<i>District sanitaire</i>	<i>Nm A</i>	<i>Nm W135/Y</i>	<i>S p</i>	<i>H i b</i>	<i>Autres</i>	<i>Total</i>
Sikasso	1	0	0	1	0	2
Bougouni	11	0	3	0	0	14
Kadiolo	2	0	1	3	0	6
Kolondièba	3	0	1	0	1	5
Koutiala	7	0	1	0	0	8
Sélingué	4	0	1	3	1	9
Yanfolila	6	1	1	0	0	8
Yorosso	1	0	0	0	0	1
<b>Total</b>	<b>35</b>	<b>1</b>	<b>8</b>	<b>7</b>	<b>2</b>	<b>53</b>
	<b>66,04%</b>	<b>1,89%</b>	<b>15,09%</b>	<b>13,21%</b>	<b>3,77%</b>	

Dans la région de Sikasso Nm A était le plus dominant; Bougouni (11 cas), Koutiala (7 cas) et Yanfolila (6 cas) sont les districts sanitaires qui ont enregistrés plus de cas.

Nm A= *Neisseria meningitidis A*

Nm W135/Y= *Neisseria meningitidis W135/Y*

Hib = *Haemophilus influenzae b*

S p = *Streptococcus pneumoniae*

**Tableau X-5:** Répartition des germes isolés de 2005 à 2007 par district sanitaire dans la région Mopti.

<i>District sanitaire</i>	<i>Nm A</i>	<i>N m W135</i>	<i>Nm W135/Y</i>	<i>H i b</i>	<i>S p</i>	<i>Total</i>
Mopti	1	1	0	0	0	2
Bandiagara	1	0	0	0	0	1
Bankass	1	2	0	0	0	3
Djenné	0	1	1	1	1	4
Douentza	2	0	0	1	2	5
Koro	0	0	0	2	2	4
<b>Total</b>	<b>5</b>	<b>4</b>	<b>1</b>	<b>4</b>	<b>5</b>	<b>19</b>
	<b>26,32%</b>	<b>21,05%</b>	<b>5,26%</b>	<b>21,05%</b>	<b>26,32%</b>	

Dans la région de Mopti, Nm A et S p étaient les germes les plus dominants. Douentza (5 cas), Koro et Djenné (4 cas pour chacun) sont les districts qui ont enregistré plus de cas.

Nm A= *Neisseria meningitidis* A

Nm W135= *Neisseria meningitidis* W135

Nm W135/Y= *Neisseria meningitidis* W135/Y

Hib= *Haemophilus influenzae* b

S p= *Streptococcus pneumoniae*

**Tableau X-6:** Répartition des germes isolés de 2005 à 2007 par district sanitaire dans la région Tombouctou.

<i>Germes / District sanitaire</i>	<i>Nm W135</i>	<i>Nm W135/Y</i>	<i>Total</i>
Tombouctou	0	1	1
Gourma-Rharous	1	0	1
<b>Total</b>	<b>1</b>	<b>1</b>	<b>2</b>
	<b>50%</b>	<b>50%</b>	<b>100%</b>

Un seul cas de Nm W135 a été identifié à Gourma-Rharous.

Nm W135= *Neisseria meningitidis* W135

Nm W135/Y= *Neisseria meningitidis* W135/Y

**Tableau X-7:** Répartition des germes isolés de 2005 à 2007 par district sanitaire dans la région Gao.

<i>District sanitaire</i>	<i>Nm X</i>	<i>Autres</i>	<i>Total</i>
Gao	1	1	2
<b>Total</b>	<b>1</b>	<b>1</b>	<b>2</b>
	<b>50%)</b>	<b>50%</b>	<b>100%</b>

Un seul cas de *Neisseria meningitidis X* a été identifié à Gao.

Nm X= *Neisseria meningitidis X*



#### 4 - 3 - FREQUENCE DES ESPECES BACTERIENNES

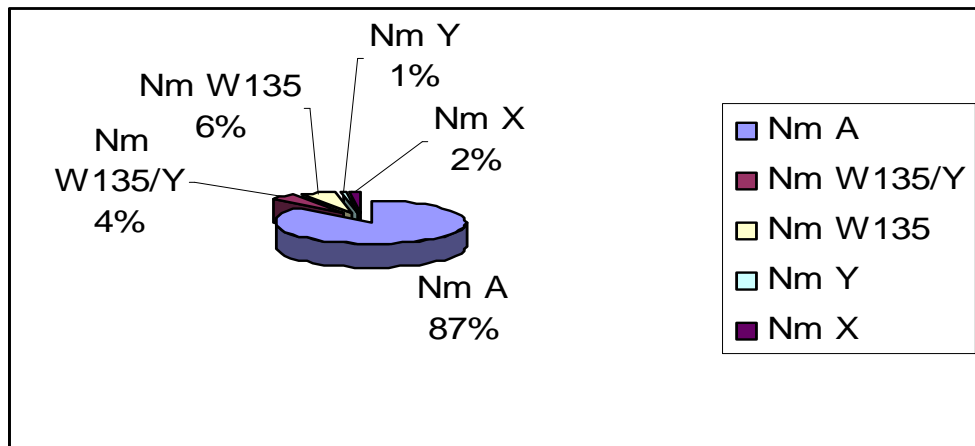
**Tableau XI** : Répartition des sérogroupes de *Neisseria meningitidis* dans le District de Bamako et dans les Régions du Mali.

<i>Germes / Districts</i>	<i>Nm A</i>	<i>Nm W135/Y</i>	<i>Nm W135</i>	<i>Nm Y</i>	<i>Nm X</i>	<i>Total</i>
Bamako	48	2	0	1	1	52
Kayes	6	1	0	0	0	7
Koulikoro	5	0	1	0	0	6
Sikasso	35	1	0	0	0	36
Mopti	5	0	5	0	0	10
Gao	0	0	0	0	1	1
TomboucTou	0	1	1	0	0	2
<b>Total</b>	<b>99 86,84%</b>	<b>5 4,39%</b>	<b>7 6,14%</b>	<b>1 0,88%</b>	<b>2 1,75%</b>	<b>114 100%</b>

*Neisseria meningitidis A* (86,84%) était le séroroupe le plus fréquent dans toutes les régions du Mali suivi du *Neisseria meningitidis W135*.

Les régions les plus touchées sont Bamako et Sikasso.

**Figure 14** : Répartition des germes isolés identifiés en provenance de l'ensemble des districts de notre pays : *Neisseria meningitidis A* était le germe le plus fréquent avec 87% des cas identifiés.



Nm A= *Neisseria meningitidis A*

Nm W135= *Neisseria meningitidis W135*

Nm W135/Y= *Neisseria meningitidis W135/Y*

Nm Y= *Neisseria meningitidis Y*

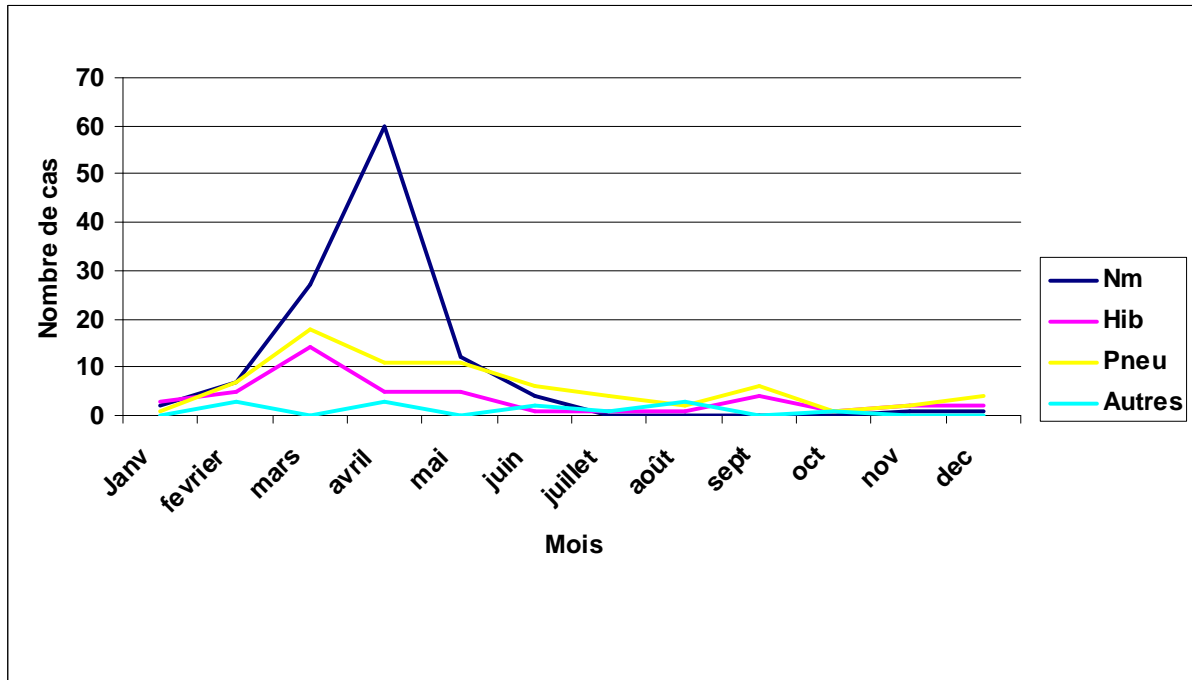
Nm X= *Neisseria meningitidis X*

**Tableau XII** : Espèces bactériens identifiés selon les mois de l'année de 2005 à 2007.

<i>Germes/ Mois</i>	<i>Nm</i>	<i>H i b</i>	<i>S p</i>	<i>Autres</i>	<i>Total</i>
Janvier	2	3	1	0	6
Février	7	5	7	3	22
Mars	27	14	18	0	59
Avril	60	5	11	3	79
Mai	12	5	11	0	28
Juin	4	1	6	2	13
Juillet	0	1	4	1	6
Août	0	1	2	3	6
Septembre	0	4	6	0	10
Octobre	0	1	1	1	3
Novembre	1	2	2	0	5
Décembre	1	2	4	0	7
<b>Total</b>	<b>114</b>	<b>44</b>	<b>73</b>	<b>13</b>	<b>244</b>
	<b>(46,72%)</b>	<b>(18,04%)</b>	<b>(29,91%)</b>	<b>(5,33%)</b>	

Le nombre de cas le plus élevée était observé en Avril, soit 79 cas.

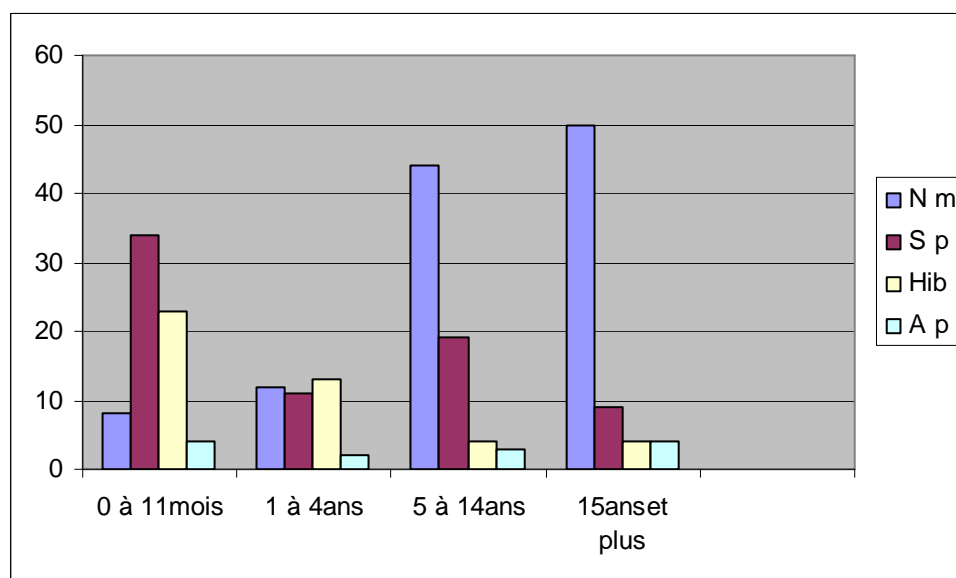
**Figure 15:** Evolution des différentes étiologies bactériennes selon les mois de l'année de 2005 à 2007.



**Tableau XIII** : Répartition des espèces bactériennes identifiées par tranche d'âge.

<i>Germes/ tranches</i> <i>âge</i>	<i>N m</i>	<i>S p</i>	<i>H i b</i>	<i>Autres</i>	<i>Total</i>
0 à 11 mois	8 (11,59%)	34 (49,28%)	23 (33,33%)	4 (5,80%)	69
1 à 4 ans	12 (31,58%)	11 (28,95%)	13 (34,21%)	2 (5,26%)	38
5 à 14 ans	44 (62,86%)	19 (27,14%)	4 (5,71%)	3 (4,29)	70
15 ans et plus	50 (74,63%)	9 (13,43%)	4 (5,97%)	4 (5,97%)	67
<b>Total</b>	<b>114 (46,72%)</b>	<b>73 (29,92%)</b>	<b>44 (18,03%)</b>	<b>13 (5,33%)</b>	<b>244</b>

La différence statistique entre les espèces dans les tranches d'âge est hautement significative avec  $\text{Chi}^2 = 49,57$  et  $P < 10^{-7}$ .

**Figure 16** : Répartition par tranche d'âge .

La tranche la plus atteinte par N m était celle de 15 ans et plus.

**Tableau XIV** : Répartition des espèces bactériennes identifiées par sexe des patients.

<i>Germes/Sexe</i>	<i>N m</i>	<i>S p</i>	<i>H i b</i>	<i>Autres</i>	<i>Total</i>
Masculin	74 (64,9%)	49 (67,1%)	27 (61,4%)	8(61,54%)	158
Féminin	40 (35,1%)	24 (32,9%)	17 (38,6%)	5(38,46%)	86
<b>Total</b>	<b>114</b>	<b>73</b>	<b>44</b>	<b>13</b>	<b>244</b>

La différence entre les germes dans les deux sexes n'est pas statistiquement significative  
 $p=0,937$ .

**4 - 4 - RESULTAT DU TYPAGE DES SOUCHES DE NEISSERIA MENINGITIDIS DE 2005 A 2007 AU MALI.**

**Tableau XV :** Résultat des sérogroupe, des sérotypes, sous type et des séquences types de *Neisseria meningitidis* pour 2005.

<i>Numéro souche</i>	<i>Lieu de résidence patients</i>	<i>Culture</i>	<i>Séro groupe</i>	<i>Séro type</i>	<i>Sous type</i>	<i>ST</i>	<i>Com plexe</i>	<i>PorA</i>	<i>FetA</i>
2572	Bamako	+	W135	2a	P1.5, 2	11	ST-11	ND	ND
2650	Bamako	+	W135	2a	P1.5, 2	11	ST-11	ND	ND
2675	Bamako	+	W135	2a	P1.5, 2	11	ST-11	ND	ND
2803	Bamako	+	W135	2a	P1.5, 2	11	ST-11	ND	ND
2936	Bamako	+	W135	2a	P1.5, 2	11	ST-11	ND	ND

Les souches de *Neisseria meningitidis* W135 était du sérotype 2a, de sous type P1.5, 2, de séquence type 11 et de complexe ST-11.

ND = non déterminé

\*= Sérogroupe déterminé par PCR

\*\*= Sérosous type déterminé par séquence producteur de PCR

NG=non sérogroupable

NT=non sérotypable

NST=non séro sous typable

ST=séquence type

UA=non défini

**Tableau XVI** : Résultat des sérogroupes, des sérotypes, sous type et des séquences types de *Neisseria meningitidis* pour 2006

<i>N° souche</i>	<i>Lieu de résidence patients</i>	<i>Culture</i>	<i>Séro groupe</i>	<i>Séro type</i>	<i>Sous type</i>	<i>ST</i>	<i>Complexe</i>	<i>PorA</i>	<i>FetA</i>
12074	Commune 6	+	Y	NT	P1.5	767	ST-167	P1.5-1,10-8	F3-1
12610	Commune 6	+	Y	NT	P1.5	767	ST-167	P1.5-1,10-8	F3-1
12621	Commune 1	+	Y	NT***	P1.5	192	UA***	P1.18-11,42-1	Pcr-1
12620	Commune 5	+	A	21	P1.20, 9	2859	ST-5	P1.20, 9	F3-1
109	Sélingue	+	A	21	NST***	7	ST-5	P1.20, 9	F3-1
110	Sélingue	+	A	21	P1.20, 9	7	ST-5	P1.20, 9	F3-1
117	Sikasso	-	A*					P1.20, 9**	
216	Koutiala	+	A	21	P1.20, 9	7	ST-5	P1.20, 9	F3-1



\* =Sérogroupe déterminé par PCR

\*\*= Sérosous type déterminé par séquence producteur de PCR

NG=non sérogrouvable

NT=non sérotypable

NST=non séro sous typable

ST=séquence type

UA=non défini

A\*=serogroupe déterminé par PCR

En 2006 sur un total de 8 souches collectées :

- Les souches de la commune 6 étaient de sérogroupe Y, non sérotypées, de sous type P1.5, de séquence type 767, de complexe ST-167.

- Les souches de la commune 1 étaient de sérogroupe Y, non sérotypées, de sous type P1.5, de séquence type 192, de complexe UA\*\*\*, de PorA P1.18-11,42-1 et FeatA Pcr-.

- Les souches de la commune 2 étaient de sérogroupe A, de sérotype 21, de sous type P1.20, 9, de séquence type 2859, de complexe ST-5, de PorA P1.20, 9 et FeatA F3-1.

- Les souches de Selingues étaient de sérogroupe A, de sérotype 21, 1, de sous type P1.20, 9 et l'autre non sérosotypable, de séquence type 7, de complexe ST-5 .

- Le souche de Sikasso de culture négative de sérogroupe A\*, de sérotype de sous type de séquence type et de complexe non connus.

- Les souches de Koutiala étaient de sérogroupe A, de sérotype 21, 1, de sous type P1.20, 9, de séquence type 7, de complexe ST-5.

**Tableau XVII** : Résultats des sérogroupes, des sérotypes, sous type et des séquences types de *Neisseria meningitidis* pour 2007.

<i>N°</i>	<i>Lieu de résidence des patients</i>	<i>Culture</i>	<i>Séro groupe</i>	<i>Séro type</i>	<i>Sous type</i>	<i>ST</i>	<i>Complexe</i>	<i>PorA</i>	<i>FetA</i>
66	Commune2	+	A	21	P1.20, 9	2859	ST-5	P1.20, 9	F3-1
120	Commune2	+	A	21	P1.20, 9	2859	ST-5	P1.20, 9	F3-1
147	Commune2	+	A	21	P1.20, 9	2859	ST-5	P1.20, 9	F3-1
207	Commune 2	+	A	21	P1.20, 9	2859	ST-5	P1.20, 9	F3-1
215	Commune 2	+	A	21	P1.20, 9	2859	ST-5	P1.20, 9	F3-1
219	Commune 2	+	A	21	P1.20, 9	2859	ST-5	P1.20, 9	F3-1
223	Commune 2	+	A	21	P1.20, 9	2859	ST-5	P1.20, 9	F3-1
243	Commune 2	+	A	21	P1.20, 9	2859	ST-5	P1.20, 9	F3-1
292	Commune 2	+	Y	NT	P1.5	767	ST-167	P1.5, 10-8	ND
296	Commune 2	+	A	21	P1.20, 9	2859	ST-5	P1.20, 9	F3-1
297	Commune 2	+	W135	2a	P1.5, 2	11	ST-11	P1.5, 2	F1-1
194	Commune 2	+	A	21	P1.20, 9	2859	ST-5	P1.20, 9	F3-1
222	Commune 2	+	A	21	P1.20, 9	2859	ST-5	P1.20, 9	F3-1
229	Commune 2	+	W135	NT	P1.5, 2	11	ST-11	P1.5, 2	F1-1
75	Mopti	+	W135	NT	P1.5, 2	11	ST-11	P1.5, 2	F1-1
251	Djenné	+	W135	NT	P1.5, 2	11	ST-11	P1.5, 2	F1-1
177	Douentza	+	A	21	P1.20, 9	2859	ST-5	P1.20, 9	F3-1
270	Bankass	+	W135	2a	P1.5, 2	11	ST-11	P1.5, 2	F1-1
210	Sikasso	+	A	21	P1.20, 9	2859	ST-5	P1.20, 9	F3-1
182	Bougouni	+	A	21	P1.20, 9	2859	ST-5	P1.20, 9	F3-1

En 2007 sur un total de 20 souches collectées toutes de culture positive :

-les 14 souches de *Neisseria meningitidis* A sont de sérotype 21, de sous type P1.20, 9, de séquence type 2859, de complexe ST-5.

-Sur les 5 souches de *Neisseria meningitidis* W135, une est de sérotype 2a et les autres non sérotypées, de sous type P1.5, 2, de séquence type 11, de complexe ST-11.

-1 souche de *Neisseria meningitidis* Y, non sérotypée, de sous type P1.5, de séquence type 767, de complexe ST-167.

\*= Séro groupe déterminé par PCR

\*\*= Sérosous type déterminé par séquence producteur de PCR

NG=non sérogroupable

NT=non sérotypable

NST=non séro sous typable

ST=séquence type

UA=non défini

## V - COMMENTAIRES ET DISCUSSION

L'étude a été menée pendant la saison épidémique 2005-2007, période où le Mali n'a pas connu d'épidémie de méningite à meningocoque. C'est pour cette raison que durant notre étude très peu de souches de meningocoque ont été identifiées.

### 5 - 1 - CARACTERISTIQUES SOCIO DEMOGRAPHIQUES DES CAS DE MENINGITES CONFIRMES AU LABORATOIRE DE 2005 A 2007

De 2005 à 2007 sur un total de 1573 LCR examinés à l'INRSP le plus grand nombre de LCR a été traité en 2005 soit 36,8% et le plus faible en 2006, soit 30,5%. (tableau II).

La qualité des LCR varie d'une année à l'autre (tableau III).

En 2005 elle est adéquate à 94,65%, en 2006 adéquate à 67,71%, et en 2007 adéquate à 89,88%.

Le plus grand nombre d'échantillons traités étaient ceux des enfants de 0 à 11 mois avec 29,6% suivi de 0 à 4 ans avec 26,3%, puis de 5 à 14 ans avec 25,7% et la tranche d'âge de 15 ans et plus vient en dernière position avec 17,9% (tableau IV).

L'âge minimum est de 1 mois, moyenne 37 ans et maximum 72 ans.

Le sexe masculin est le plus fréquent avec 59,25% sur le sexe féminin avec 40,75% (tableau V).

Les tableaux VI et VII nous montrent une prédominance des échantillons provenant du District de Bamako. Mais cela peut s'expliquer par le fait qu'il est plus facile pour le District d'envoyer les échantillons à l'INRSP par rapport aux autres régions.

Nos résultats sont différents des résultats de **Mariam Kanté [14]** dont l'étude s'est déroulée en 2001 (plus de 90% provenait de HGT), et celle de **Setier C [5]** de 2003 à 2004 avec 125 prélèvements de LCR dont 77,6% provenaient de l'HGT.

Ces résultats sont différents de ceux obtenus par **Korotoumou T. [4]** dont l'étude s'est déroulée de 1996-1999, avec 1615 prélèvements de LCR dont 955 cas positifs provenant du service Pédiatrie de HGT, suivi du Lazaret des Roches.

**Koumare B. et al [20]** durant la période 1976-1991 dont les LCR provenaient essentiellement du service de Pédiatrie de HGT et du Lazaret. Durant cette période d'étude, ils avaient reçu un total de 2582 LCR avec 1537 cas positifs.

Pendant la période d'étude de Korotoumou et celle de Koumaré et al les adultes étaient admis au Lazaret des Roches, les enfants au service de pédiatrie de HGT.

La majorité des échantillons traités sont venus de Bamako 68,53%, la plus faible est venue de la Région de Ségou soit 0,06%, la Région de Kidal n'a pas envoyé d'échantillon (tableau VI).

## 5 - 2 - NATURE DES GERMES ISOLEES

Nous avons isolé des LCR et étudié les espèces bactériennes suivantes : *Neisseria meningitidis* ; *Streptococcus pneumoniae* ; *Haemophilus influenzae b*.

*Neisseria meningitidis* A est le plus représenté avec 40,57%, avec le plus grand nombre en 2007, soit 61 cas (tableau VIII).

Parmi les différents germes identifiés *Neisseria meningitidis* occupe la première place, soit 46,72% suivie de *Streptococcus pneumoniae* 29,91%, puis *Haemophilus influenzae b*, soit 18,04% et la plus faible 5,33% pour *autres germes*. Le plus grand nombre d'échantillons positifs a été obtenu à Bamako avec 132 cas.

Au cours de la saison épidémique 2004 au Burkina Faso, 117 cas ont été confirmés avec *Streptococcus pneumoniae* (45%), suivi de *Neisseria meningitidis* (42%), et *Haemophilus influenzae b* (13%) [34].

D'autres auteurs ont eu d'autres résultats dans lesquels *Neisseria meningitidis* occupe la première position:

**Korotoumou T. (1996-1999)** avec le méningocoque (69,84%) , suivi du pneumocoque (14,44%) et *Haemophilus influenzae b* (13,20%) [4]. L'étude s'est déroulée pendant une longue période.

D'autres bactéries ont été isolées des LCR au cours de notre étude :

- 4 *Acinetobacter*
- 1 *Candida albicans*
- 1 *Bacille pyocyannique*
- 1 *Enterobacter aeruginosa*
- 2 *Salmonella para typhi B*
- 1 *Escheriria coli*
- 3 *Streptocoque B*

Les tableaux nous montrent les différentes régions qui nous ont envoyé des échantillons avec leurs districts sanitaires et les communes du District de Bamako avec les résultats des germes identifiés (tableau IX).

Le District de Bamako a le plus grand nombre de sérogroupes de *Neisseria meningitidis* 52 cas (tableau XI).

### 5 - 3 - FREQUENCE DES ESPECES BACTERIENNES

Le nombre élevé d'échantillons au mois d'Avril , suivi du mois de Mars puis de Mai s'explique par le fait que ces mois correspondent à des périodes de forte chaleur au Mali (tableauXII).

Notre étude a montré une prédominance des méningites à méningocoque pendant les mois d'Avril et Mars.

*Haemophilus influenzae b* est prédominant au mois de Mai.

*Streptococcus pneumoniae* est plus fréquemment rencontré en Avril et Mars.

**D'après Korotoumou T. [4]** le méningocoque est fréquent pendant les mois d'Avril (86,57%), Mars (81,7%), Février (77,46) et Mai (50%).

*Haemophilus influenzae b* est fréquent aux mois de Novembre (70 ,58%), Octobre (60%), Septembre (55,55%) et Juin (54,54%).

*Streptococcus pneumoniae* est le germe le plus rencontré en Juillet (60,67%), Décembre (60%), Janvier (52,63%) et Août (50%).

**D'après Sokona H. en 1989[18]**, le taux de positivité était significativement différent d'un mois à l'autre. Les taux les plus élevés s'observaient en Décembre, Janvier, Février, Mars, Mai avec deux pics en Mars et Mai, et les taux les plus bas en Juin, Juillet et Août.

*Haemophilus influenzae b* était le germe le plus fréquemment isolé en Octobre, Février, Juillet, Août. En Novembre, Décembre et Janvier ; les germes les plus fréquents étaient *Haemophilus influenzae b* et *Streptococcus pneumoniae*. En Mars c'est le méningocoque qui prédominait. En Avril et Mai, le méningocoque et *Streptococcus pneumoniae* prédominaient.

**A Sidibé D. en 1990[19]**, le méningocoque prédominait avec un pic au mois d'Avril. En dehors du mois de Mars, les trois espèces coexistaient ensemble. En période de pluie, le méningocoque était absent.

**M. Konaté [16]** a observé lors de ses études en 1992 que le méningocoque prédominait pendant les mois de Mars et Avril, et *Haemophilus influenzae b* en Juillet, Août, Septembre et *Streptococcus pneumoniae* en Novembre, Décembre et en Mai.

**APLOGAN A. et al [21]** ont constaté au Togo qu'en 1997 il y avait une épidémie de méningite bactérienne. Cette épidémie avait deux pics : le premier au mois de Janvier et le second en Mars.

**BESANCENOT J.P et al [22]** on fait une étude au Bénin durant une période de 28 ans sur la méningite cérébro-spinale. Ils ont trouvé que le territoire béninois était touché de Novembre à Mars, Avril ou quelques fois en Mai, aussi bien pour la méningite sporadique que pour la méningite épidémique avec le sommet en Février et Mars. Ils ont analysé et confirmé que 14% à 34, 5% de la variabilité temporaire de la méningite était due à l'harmattan (vent chaud du Nord) et à une faible humidité absolue dans les régions du Nord du pays.

**WANG W. [23]** a fait une analyse sur 32 ans (1959-1990) dans la cité Changde en Chine et a trouvé qu'en 28 ans sur 32, le plus grand pic se produisait au mois de Mars. En 26 ans, 95% de la période épidémique commençait d'Octobre à Juin de l'année suivante. Cet auteur avait conclu que le taux d'incidence de la méningite cérébro-spinale était fonction de la variabilité saisonnière.

Une étude a été faite en Israël par **BLOCK.C. Et al** de 1951-1990. Elle a conclu que la principale période de maladie était de Janvier à Avril avec un second pic inhabituel en juillet dû à la température d'été. Les fréquences mensuelles de la méningite cérébro-spinale étaient significativement corrélées avec l'humidité relative. Le taux d'incidence variait d'une région à l'autre et était faible dans les petites villes [24].

**Koumaré B. et al [20]** a signalé également la présence du méningocoque en Mars, Avril et Mai ; *Haemophilus influenzae b* en Juillet, Août, Septembre et Octobre ; et la coexistence de *Haemophilus influenzae b* et *Streptococcus pneumoniae* en Novembre, Décembre et Janvier. Les trois espèces sont rencontrées presque à la même fréquence aux mois de Juin et Février.

La fréquence la plus souvent élevée du méningocoque du Mali peut s'expliquer par son appartenance à la ceinture de la méningite de **Lapeyssonnie [35]**.

Avec nos résultats, nous constatons que la méningite à méningocoque est une affection de tous les âges (tableau XIII). Cela a été confirmé par plusieurs auteurs.

La tranche d'âge 0 à 11 mois, *Streptococcus pneumoniae* est le germe le plus fréquent avec 49,28%. Cependant nous rencontrons *Haemophilus influenzae b* (33,33%) et *Neisseria meningitidis* (11,59%).

La tranche d'âge 1 à 4 ans : *Streptococcus pneumoniae* est le plus fréquent.

La tranche d'âge 5 à 14 ans et 15 ans et plus, *Neisseria meningitidis* est le plus fréquent ; *Haemophilus influenzae b* est pratiquement absent.

L'étude faite par **Korotoumou T.** a confirmé que le méningocoque est une affection de tous les âges [4].

D'après l'étude de **Mariam Kanté**, dans la tranche d'âge 0-11 mois, le pneumocoque est le germe le plus fréquent avec (45,65%) suivi de *Haemophilus influenzae b* (39,13%) et le méningocoque (10,86%).

Dans les tranches d'âge de 1-15 ans, le pneumocoque est le plus fréquent (52,22%) , suivi de *Haemophilus influenzae b* (44,84%).



A partir de 15 ans et plus *Haemophilus influenzae b* et le pneumocoque sont pratiquement absents [14].

**Sokona H.** en 1986 a soutenu que le pneumocoque était le germe le plus fréquent chez les sujets âgés avec 60-70% des cas [18].

Des études faites par **Keylem T [26]** en 1984 à Dakar ont montré que plus de 80% de cas de l'épidémie à méningocoque (groupe C) se rencontrent chez les sujets de moins de 20 ans.

**Koumaré B. et al [20]** a signalé qu'à Bamako, *Streptococcus pneumoniae* était le plus fréquent aux âges extrêmes de la vie (72% entre 1 et 28 jours, 73% à 30 et 68 ans), *Haemophilus influenzae b* se trouve entre 1-11 mois (58,5%) et *Neisseria meningitidis* se situe autour de 7 à 14 ans et 25 à 29 ans (75-88%).

Nos résultats montrent une différence significative entre les deux sexes avec une prédominance du sexe masculin sur le sexe féminin (tableau XIV).

Chez le sexe masculin et féminin *Neisseria meningitidis* est le germe le plus représenté avec 46,72%.

**Mariam Kanté [14]** a montré une différence peu significative entre les deux, le sexe masculin 65,79% et le sexe féminin 34,21%.

**Korotoumou T. [4]** avait trouvé aussi une différence peu significative entre les deux sexes avec 56,84% de sexe masculin et 43,16% de sexe féminin. C'est la même constatation faite par **Keylem T.** en 1984[26] à Dakar et **Sidibé D.** en 1990 [19] à Bamako.

**Koumare B. et al [20]** ont trouvé qu'en 1988-1991, 60% des patients étaient masculins et 40% féminins. C'est la même idée évoquée par Konaté M. en 1992 [16].

#### **5-4- TYPAGE DES SOUCHES DE NEISSERIA MENINGITIDIS**

L'intérêt du typage des souches de *Neisseria meningitidis* est surtout épidémique. Le risque d'épidémie et la gravité de l'infection à méningocoque sont fonction de la nature de la souche qui circule c'est-à-dire du sérotype, du sous type, de la séquence type, du

complexe et du clone. Les épidémies sont souvent dues à l'un des ces sérogroupes : **A, B, C, W135** et **Y**.

Dans la ceinture de la méningite comprenant le Mali, le séro groupe A est souvent en cause puis quelque fois le séro groupe C.

Deux vagues épidémiques se sont succédées au Mali : la première de 1967 à 1974, la deuxième vague de 1981 à 1983. L'analyse des souches avait identifié le clone I-1 pour la première et le clone IV-1 pour la deuxième. Vers les années 1994, on a assisté à une troisième vague le clone III-1 qui était inconnue au Mali [20].

Dans le séro groupe A, certains clones sont plus virulents que d'autres. Ainsi le clone III-1 le serait plus que le clone IV-1 [16].

Le typage des souches du séro groupe **A, W135, Y** dans notre pays et dans la sous-région est donc un moyen de surveillance épidémique de la méningite cérébro- spinale. L'INRSP qui anime le réseau des laboratoires de lutte contre les épidémies à le devoir de pratiquer une identification complète des méningocoques isolés au Mali.

Plusieurs méthodes peuvent être utilisées pour le typage des souches de *Neisseria meningitidis* :

-l'étude des variations électrophorétiques des iso enzymes et des protéines de membrane externe permettent de déterminer des électrophorétypes (Ets).

-la méthode appelée « Multi locus enzyme électrophoresis (MLEE) » a été utilisée pour étudier la propagation des clones hyper virulents de méningocoques [36].

-Maiden et al [28] ont décrit des « séquences types » (ST) en utilisant la méthode du « Multi locus séquence Typing » (MLST).

-**Pool Man** et **Abdilahi** en 1988 [29] ont décrit et proposé la technique ELISA sur les cellules bactériennes totales (whole cell enzyme linked immuno sorbent Assay).

-l'électrophorèse en champ pulsé ou « Pulsed-Field gel electrophoresis » (PFGE) [37].

-Dot blot décrit par Caugant D.A en 1998 [33] est une méthode plus simple [4].

Au laboratoire de l'INRSP, seules ont été utilisées l'électrophorèse des protéines de membrane externe [32], la technique d'ELISA [17] et celle du Dot blot [4]. Pour notre étude c'est le Dot blot qui a été utilisé, les seules contraintes de cette méthode sont l'obtention des anticorps monoclonaux spécifiques des protéines de la membrane externe des méningocoques et la possibilité de disposer de membrane de nitrocellulose et de souches de référence. Pour

notre étude, ne disposant pas des souches de référence, nos souches ont été envoyées au laboratoire d'Oslo (Norvège) en transitant par le centre pluri pathologique de Ouagadougou. Cette technique du Dot blot est souvent utilisée pour identifier les protéines de surface de *Neisseria meningitidis*.

Ainsi **Gomez et al [38]** l'ont utilisée pour étudier l'antigénicité et les réactions croisées de la protéine de surface de 37 Kda (Fbp) du méningocoque.

Par cette méthode du Dot blot nous avons montré que de 2005 à 2007 sur 33 souches de méningocoque ont été obtenues:

-4 souches du sérotype Y, non sérotypées, sous-type P1.5 de complexe ST-167.

Ce complexe a été trouvé au Niger.

-10 souches du sérotype W135, sérotype 2a, sous-type P1.5, 2. Ce profil antigénique correspond au complexe ST-11. Mais 3 souches de W135 sont non sérotypées.

Le complexe ST-11 qui circule au Mali est la même trouvée au Tchad, au Soudan, au Kenya et en Ouganda la même année.

-19 souches du sérotype A de sérotype 21 et sous-type P1.20, 9. Ce profil antigénique correspond au complexe ST-5 et le clone III-1. Mais 1 des sérotypes A est non sérotypé.

Le ST-7 du complexe ST-5 a été trouvé au Burkina Faso, au Niger et au Togo. Elle est responsable de l'épidémie de 2006 au Niger.

Le ST- 2859 du complexe ST-5 a été isolé à Bamako ; cette souche est responsable de l'épidémie de méningite de 2003 au Burkina Faso.

L'étude de **Korotoumou T. [4]** de 1996 à 1999 par le Dot blot avait montré que toutes les souches de *Neisseria meningitidis* isolées sont du sérotype A, sérotype 21 et sous-sérotype P1.21, 9. L'étude de **Koumaré B. et al de 1994 à 1995[17]** avait trouvé les mêmes résultats.

**Riou et al. [39]** ont étudié 44 souches de méningocoques isolées dans quatre pays africains en 1995. Il s'agissait du clone III-1 qui a émergé d'une façon prévisible au Niger, au Tchad, au Cameroun et au Burkina Faso. Quelques souches de méningocoque de formule antigénique Y : 2a :P1.2, 5 caractérisant l'électrophorétype ET-37 avaient été isolées en même temps que

le clone III-1 dans tous ces pays à l'exception du Niger. Les techniques de sérotypage utilisées au cours de cette étude étaient l'ELISA et la MLEE.

**Nicolas et al. [31]** ont montré par PFGE que l'épidémie du Tchad en 1988, de la République Centre Africaine et du Burundi en 1992, de la République Démocratique du Congo en 1994 et du Niger en 1996, étaient toutes dues au clone III-1 de *Neisseria meningitidis* de formule antigénique A :4 :P1,9.

**Nicolas et al. [33]** ont montré que l'épidémie de 1998 au Sénégal était due à *Neisseria meningitidis* du clone III-1.

Depuis Février 2000, des bouffées épidémiques de méningites dues au séro groupe W135 :2a :P1 ; 2,5 (complexe ET-37) séquence type [ST-11] dont le point de départ est l'Arabie Saoudite sur des pèlerins venant de la Mecque, se développent dans le monde [41].

Le clone III-1 de séro groupe A, a provoqué plusieurs vagues épidémiques, la première en 1960 en Chine, Russie, Scandinavie et au Brésil, la seconde a commencé en Chine et a atteint le Népal, l'Inde et l'Arabie Saoudite en 1987. Ce clone était inconnu en Afrique ; il a été probablement emporté par des pèlerins en 1987. Depuis 1988 nous avons assisté à une vague épidémique secouant la plupart des pays de la ceinture de la méningite et certains pays d'Afrique centrale et de l'Est.

La souche de méningocoque A responsable de l'épidémie du Mali depuis 1994 est le clone III-1 ; elle circule jusqu'à présent.

Les souches du clone III-1 sont résistantes aux sulfamides et au triméthoprimé et provoquent des épidémies qui durent et donnent l'impression de revenir tous les ans ou tous les 2 ou 3 ans. Compte tenu de la particularité, elles doivent être surveillées de près au Mali et dans la sous région.

L'émergence du séro groupe **W135/Y** en tant qu'un nouveau clone épidémique, échappant à la vaccination **A+C**, en Afrique fut détectée en 2001 au Burkina et au Niger et fut confirmée au Burkina en 2002 où 84% des isolats étaient du séro groupe **W135** [11].

## VI - CONCLUSION

De 2005 à 2007 sur un total de 1573 LCR reçus à l'INRSP, 244 sont positifs, soit 15,51%.

Sur les 244 LCR positifs on a :

- Pour *Neisseria meningitidis* 114 cas, soit 46,72%,
- *Streptococcus pneumoniae* 73 cas, soit 29,91%,
- *Haemophilus influenzae b* 44 cas, soit 18,04%,
- Autres germes 13 cas, soit 5,33%.

Sur les 114 de *Neisseria meningitidis* :

- 99 (86,84%) sont du sérogroupe A,
- 5 (4,39%) du sérogroupe W135/Y,
- 7 (6,14%) du sérogroupe W135,
- 2 (1,75%) du sérogroupe X,
- 1(0,88%) du sérogroupe Y.

Ce travail nous a permis de connaître les différents sérogroupe, sérotypes, et séro sous types qui provoquent des infections à méningocoque au Mali.

Le sérotypage des souches de *Neisseria meningitidis* par la technique du Dot-blot a montré sur 33 souches trois sérogroupe:

- 19 souches du sérogroupe A de sérotype 21 et sous-type P1.20, 9. Ce profil antigénique correspond au complexe ST-5 et le clone III-1 a été identifié au Mali depuis 1994 et dans la sous région et continue d'émerger. Mais 1 des sérogroupe A est non sérotypé.
- 10 souches du sérogroupe W135, sérotype 2a, sous-type P1.5, 2. Ce profil antigénique correspond au complexe ST-11 qui est au Mali depuis 2003 et dans la sous région. Mais 3 souches de W135 sont non sérotypées.
- 4 souches du sérogroupe Y, non sérotypées, sous-type P1.5 de complexe ST-167 qui est au Mali depuis 2003.

La fréquence élevée du *Neisseria meningitidis* A au Mali renforce le choix et la validation du vaccin conjugué A dans notre pays.

## **VII - RECOMMANDATION**

### **A l'OMS**

- Mettre à la disposition de la population en quantité suffisante le vaccin conjugué A lors des campagnes de vaccination.
- Assumer un approvisionnement suffisant et régulier du matériel et des réactifs pour l'identification des cas de méningite.

### **Du Ministère de la Santé**

- Assurer une bonne formation des agents de laboratoire pour garantir un bon prélèvement et la manipulation correcte des LCR.

### **A la Direction Nationale de la Santé**

- Redynamiser le système d'acheminement du LCR à l'INRSP dans tous les cas suspects, le plus rapidement possible.
- Observer plus de rigueur dans la prise en charge pour un traitement efficace des malades.
- Assurer la prévention par des mesures éducatives et vaccinales des méningites dans tout le pays.
- Faire une surveillance stricte et particulière des pèlerins avant leur départ et à leur retour de la Mecque.
- Mettre à la disposition des agents de santé le flacon Trans-isolate (T-I) et les former sur son mode d'utilisation.

### **A l'INRSP**

- Continuer le sérotypage des souches de méningocoque.
- Publier les résultats obtenus dans les revues scientifiques.
- Augmenter le nombre du personnel qualifié pour le traitement des échantillons de LCR dans le laboratoire de bactériologie.

## VIII - REFERENCES

1 - **Bactériologie-Médicale** (collection azay).

Sous la direction de Jean-Pierre Flandrois.P 115, 117, 118, 164, 165, 229, 230, 231,232.

2 - **Djènèba Théra** : Etude épidémiologique et bactériologique des méningites à méningocoques dans le District de Bamako (1979-1989).Thèse en Pharmacie 2 ,3.

3 - **Bactériofiches** : Techniques en bactériologie clinique.P 54.

4 - **Korotoumou Traoré** : Etude bactériologiques des méningites purulentes au laboratoire de référence de l'INRSP de 1996 à 1999 .Typage des souches de *Neisseria meningitidis*. Thèse en Pharmacie 2000, Numéro 33.

5 - **Setier Coulibaly** : Evaluation d'un milieu de transport du LCR pour la confirmation des méningites bactériennes. Thèse en Pharmacie 2006.P

6 - **Mouton Y. et Brion M.** –Infection à pneumocoque.EMC, Paris, Maladies infectieuses, Tome 2,8012A-10 ; 5-1979.

7 - **Schuchat A. ; Wengerj.D.**-Epidémiologie des méningites bactériennes. Annales Nestlé 1997.38-384-402.

8 - **Bertrand Couture** Bactériologie médicale. Mont Royal, Québec Decarie troisième édition, 1997.P 52-65.

9 - **Avril J-L., Dabernat H., Denis F., Monteil H.**Bactériologie clinique. Paris Ellipses 1992,deuxième édition P 79-80.

10 - **Mariani-Kurkdjan P. et Bingen E.**-Infection à Haemophilus en Pédiatrie.EMC (Esevier Paris), Pédiatrie, 4 –260-A-10 ; Maladies infectieuses 8-017F-15 ,1998.P 6.

11 - <http://WWW.pastuer.fr/actu/presse/documentation/méningite.html>.



- 12 - **Lecamus J.L., Touze J.E., PICQ J.J., AU BRY P.** –Les infections à méningocoque. EMC, Maladies infectieuses, 8 013 A 10, Tome 2 :1989.P 9.
- 13 - **OMS** : Technique de laboratoire pour le diagnostic des méningites à *Neisseria meningitidis*, *Streptococcus pneumoniae* et *Haemophilus influenzae b*.P 1, 73, 74, 76, 77, 78,79.
- 14 - **Mariam Kanté** : Surveillance de la méningite au laboratoire de bactériologie de l'INRSP. Résultat de l'année 2001 dans le District de Bamako. Thèse en Pharmacie numéro 50,2003.P2, 8,12.
- 15 - **Kane Chamade Madaniou** : Aspect épidémiologiques et bactériologiques des méningites purulentes au Mali de 1979 à 1999.N°59 Pharmacie 2003 .P8, 9.
- 16 - **Mama Kanouté** : Epidémiologie moléculaire de la méningite à méningocoque au Mali.- Partie (III) : Dynamique du portage rhinopharyngé dans la collectivité autour d'un patient.BKO N°19 Pharmacie1992.
- 17 - **Koumaré B., Bougoudogo F., Diarra L., Dembélé P., Cisse M. Et Boulais C.**:*Neisseria meningitidis* du séro groupe A clone III-1 responsable de la récente épidémie de méningite survenue au Mali. Mali médical Tome XI Numéro 1-2 ; Année 1996.P 34,35.
- 18 - **Sokona H.** –Etude épidémiologique et bactériologique des méningites purulentes dans le District de BKO (à propos de 360 prélèvements).BKO 11P89.
- 19 - **Sidibé D.**-Epidémiologie moléculaire des méningites à méningocoques au Mali (Partie II).BKO 15P90.
- 20 - **Koumare B.,Bougoudigo F.,Cisse M.,Doumbia T. et Keita M.M.**  
Aspects bactériologiques des méningites purulentes dans le District de Bamako. Bull. Soc.1993, P 83-136-140.
- 21 - **Aplogan A.,Batchassi E.,Yakoua Y. et al.**-An epidemic of meningoccal meningitidis in the region of savanes in Togo in 1997.Research and control strategies 1997.P 384-90.

- 22 - **Besancecnot J.P., Boko M., Oke P.C.**-Weather conditions and cerebrospinal meningitides in Benin(Gulf of Guinea, West Africa).European Journal of Epidemiology,1997,7-807-815.
- 23 - **Wang W.** –A study on seasonal variation of epidemic cerebrospinal meningitidis with circular distribution method. Chinese journal of epidemiology, 1994.P 186-8.
- 24 - **Block C., Roitman M., Bogokowsky B., Meizlin S., Slater P.E.** –Forty years of meningococcal disease in Israel:1951-1990.Clinical inf.Dis 1993,P 17-32-126.
- 25 - **Hussey G., Schadf H., Hanslo D. et al.**Epidemiology of pos neonatal bacterial meningitis in Cap Town children.  
South African Medical Journal 1997.P 51-56.
- 26 - **Keyelem T.** (épouse Ouedrago).Méningite cérébrospinale en Haute Volta.  
These Medecine Dakar, 1984, Numero 2.
- 27 - **Achtman M.**-Molocular epidemiology of epidemic bacterial meningitis.  
Reviews in Medical Microbiology, 1990, P 1-29-38.
- 28 - **Maiden M.J., Bygraves J.A., Feil E. et al.**  
Multolocus sequence typing: a portable approach to the identification of clones within population of pathogenic microorganisms.Natl.Acad.Sci.USA 1998.P 3140-3145.
- 29 - **Poolman J.T., Abdihahi A.** –Outer membrane protein serotyping of *Neisseria meningitidis* Eur.J.Clin.Microbiol.Infect.Dis.1988, P 7-291-292.
- 30 - **Bigraves J.A; Maiden M.J.** –Analysis of the clonal relation ships between strains of *Neisseria meningitides* bay pulsed-field gel electrophoresis.J.Gen.Microbiol.1992, P 138-523-531.
- 31 - **Nicolas P., Parzy D., Martet G.** –Pulsed-Field Gel Electrophoresis.

Analysis of clonal relationships among *Neisseria meningitidis* strains from different outbreaks. *European Journal of Clinical Microbiology and Infectious Diseases*; 1997, P 16-541-544.

32 - **Koumare B., Achmam M., Bougoudogo F., Cisse M. Et Wang J.E.**

Epidémiologie moléculaire de la méningite à méningocoque au Mali : isolement d'un nouveau variant (P1.y) de la protéine de classe 1.

*Bulletin Who*, 1996; 74(4):375-379.

33 - **Nicolas P., Raphenon G., Guibourdenche M., Decousset L., Stor R. and Gaye B.A.** The 1998 Senegal epidemic of meningitis was due to the clonal expansion of A:4:P1.9, clone III-1, sequence type 5 *Neisseria meningitidis* strains. *J. Clin. Microbiol.* 2000, P 198-200.

34 - **Aurèle D.** -Place *Haemophilus influenzae b* dans les méningites bactériennes pédiatriques : bilan des années 2003-2004 au service bactériologie de l'INRSP. BKO 49P05.

35 - **Lapeysonnie L.** -Les méningites cérébro-spinales en Afrique. *Bull Who* ; 1963, P 3-114.

36 - **Wang J.F., Caugant D.A., Li X. et al.** -Clonal and antigenic analysis of serogroup A *Neisseria meningitidis* with particular reference to epidemiological features of epidemic meningitis in the People's Republic of China. *Inf. Immu.* 1992, P 60-52-67-52-82.

37 - **Bigraives J.A., Maiden M.J.** -Analysis of the clonal relationships between strains of *Neisseria meningitidis* by pulsed-field gel electrophoresis. *J. Gen. Microbiol.* 1992.

38 - **Gomez J.A., Agra C., Ferron L., Powell N., Pintor M., Criado M.T., Ferreiros C.M.** - Antigenicity, cross-reactivity and surface exposure of the *Neisseria meningitidis* 37 Kda protein (FbP). *Vaccine* 1996. P13406-1340-6.

39 - **L., Riou J.Y., Djibo S., Sangaré Lombart J.P., Ragot P., Chippaux J.P., Guibourdenche M.** -A predictable comeback: the second pandemic of infections caused by *Neisseria meningitidis* serogroup A subgroup III in Africa, 1995. *Bull Who* 1996, P 74-181-187.

40 - **Caugant D.A.** -Epidémiologie moléculaire de *Neisseria meningitidis*. L'analyse des clones. *Annales de l'Institut Pasteur/actualités* 1994, P 130-137.

41 - <http://www.pasteur.mg/raptrois/spmen.html>.

42 - **Etienne J., PICQJ.J.**-Structure antigénique, marqueurs épidémiologiques et facteurs de virulence du méningocoque.Med.Mal.Inf. 1984,19-26.

43 - Anderson B.M., Solbergo-Endotoxin liberation and invasivity of *Neisseria meningitides*- J- Infect-Dis., 1984, P 247-254.

44 - Irga L., Friedland I.R., George H. MC Cracken J.R.

Physiopathologie des méningites bactérienne.Annales Nestlé, 1997, P 55-101-111.

45 - Zogoi Berved.Aspects Epidémiologiques de la méningite a *Streptococcus pneumoniae* au Mali.P- 1-3.

**IX - ANNEXES*****FICHE DE SIGNALÉTIQUE***

**Nom :** COULIBALY  
**Prénom :** Araba  
**Titre :** Evolution des clones des souches de *Neisseria meningitidis* de 2005 à 2007 au Mali.  
**Année universitaire :** 2007-2008  
**Ville de soutenance :** Bamako  
**Pays d'origine :** Mali  
**Lieu de dépôt :** Bibliothèque de la Faculté de Médecine de Pharmacie et d'Odon-  
 stomatologie (FMPOS)

**Résumé :**

Le but de ce travail était de connaître les différents sérogroupes, sérotypes, séquence types et complexe clonaux responsables des cas de méningites au Mali. De Janvier 2005 à Décembre 2007, sur un total de 1573 LCR reçus à l'INRSP, 244 sont positifs, soit 15,51%.

Sur les 244 positifs on a :

- *Neisseria meningitidis* 114 cas, soit 46,72%,
- *Streptococcus pneumoniae* 73 cas, soit 29,91%,
- *Haemophilus influenzae b* 44 cas, soit 18,04%,
- Autres germes 13 cas, soit 5,33%.

Durant notre étude nous avons isolé 33 souches *Neisseria meningitidis*. Le sérotypage des souches de *Neisseria meningitidis* par la technique du Dot-blot a montré trois sérogroupes :  
**Le séro groupe A** : 21 :P1.20, 9 de clone III-1 a été identifié au Mali depuis 1994 et dans la sous-région. Il continue d'émerger.

**Le séro groupe W135** : 2a :P1.2 de complexe ST11 est au Mali depuis 2003 et dans la sous région. Un W135 est non sérotypé.

**Le séro groupe Y** : NT : P1.5 est au Mali depuis 2003.

**Mots clés :** *Neisseria meningitidis*, *Streptococcus pneumoniae*, *Haemophilus influenzae b*, séro groupe, sérotype, Séquence type, LCR

## SERMENT DE GALIEN

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

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 !