

MINISTRE DES ENSEIGNEMENTS  
SECONDAIRE, SUPERIEUR ET DE LA  
RECHERCHE SCIENTIFIQUE

REPUBLIQUE DU MALI

Un Peuple – Un But – Une Foi

UNIVERSITE DE BAMAKO

\*\*\*\*\*

Faculté de Médecine de Pharmacie et d'Odonto- Stomatologie

Année Universitaire 2007- 2008

Thèse N° 19 / P

**ETUDE BACTERIOLOGIQUE DES MENINGITES A  
NEISSERIA MENINGITIDIS EN MILIEU  
PEDIATRIQUE AU CENTRE HOSPITALIER-  
UNIVERSITAIRE GABRIEL TOURE DE 2002 A 2006.**

**THESE**

Présentée et soutenue publiquement le \_\_\_/\_\_\_/2008

Devant la Faculté de Médecine de Pharmacie et d'Odonto- Stomatologie

Par Mr CISSE Boubacar Ousmane

Pour obtenir le Grade de

Docteur en Pharmacie (Diplôme d'Etat)

**JURY**

Président : Professeur Amadou Diallo

Membre : Docteur Nouhoum Koné

Codirecteur de thèse : Docteur Souleymane Diallo

Directeur de thèse : Professeur Flabou Bougoudogo

**ADMINISTRATION**

DOYEN : ANATOLE TOUNKARA - PROFESSEUR  
1<sup>er</sup> ASSESSEUR : DRISSA DIALLO - MAITRE DE CONFERENCES  
2<sup>ème</sup> ASSESSEUR : SEKOU SIDIBE - MAITRE DE CONFERENCES  
SECRETAIRE PRINCIPAL : YENIMEGUE ALBERT DEMBELE - PROFESSEUR  
AGENT COMPTABLE : MADAME COULIBALY FATOUMATA TALL - CONTROLEUR DES FINANCES

**LES PROFESSEURS HONORAIRES**

Mr Alou BA	Ophthalmologie
Mr Bocar SALL	Orthopédie Traumatologie - Secourisme
Mr Souleymane SANGARE	Pneumo-phthisiologie
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	O.R.L.
Mme SY Assitan SOW	Gynéco-Obstétrique
Mr Salif DIAKITE	Gynéco-Obstétrique
Mr Abdoulaye DIALLO	Anesthésie - Réanimation
Mr Djibril SANGARE	Chirurgie Générale, <b>Chef de D.E.R</b>
Mr Abdel Kader TRAORE Dit DIOP	Chirurgie Générale

**2. MAITRES DE CONFERENCES**

Mr Abdoulaye DIALLO	Ophthalmologie
Mr Gangaly DIALLO	Chirurgie Viscérale
Mr. Mamadou TRAORE	Gynéco-Obstétrique
Mr Filifing SISSOKO	Chirurgie Générale
Mr Sékou SIDIBE	Orthopédie. Traumatologie
Mr Abdoulaye DIALLO	Anesthésie - Réanimation
Mr Tiéman COULIBALY	Orthopédie Traumatologie
Mme TRAORE J. THOMAS	Ophthalmologie
Mr Mamadou L. DIOMBANA	Stomatologie
Mme DIALLO Fatimata S. DIABATE	Gynéco-Obstétrique
Mr Nouhoum ONGOIBA	Anatomie & Chirurgie Générale
Mr Sadio YENA	Chirurgie Thoracique
Mr Youssouf COULIBALY	Anesthésie - Réanimation

### 3. MAITRES ASSISTANTS

Mr Issa DIARRA  
Mr Samba Karim TIMBO  
Mme TOGOLA Fanta KONIPO  
Mr Zimogo Zié SANOGO  
Mme Diénéba DOUMBIA  
Mr Zanafon OUATTARA  
Mr Adama SANGARE  
Mr Sanoussi BAMANI  
Mr Doulaye SACKO  
Mr Ibrahim ALWATA  
Mr Lamine TRAORE  
Mr Mady MACALOU  
Mr Aly TEMBELY  
Mr Niani MOUNKORO  
Mr Tiemoko D. COULIBALY  
Mr Souleymane TOGORA  
Mr Mohamed KEITA  
Mr Bouraïma MAIGA  
Mr Youssouf SOW  
Mr Djibo Mahamane DIANGO  
Mr Moustapha TOURE  
Mr Mamadou DIARRA  
Mr Boubacary GUINDO  
Mr Moussa Abdoulaye OUATTARA  
Mr Birama TOGOLA  
Mr Bréhima COULIBALY  
Mr Adama Konoba KOITA  
Mr Adégné TOGO  
Mr Lassana KANTE  
Mr Mamby KEITA  
Mr Hamady TRAORE  
Mme KEITA Fatoumata SYLLA  
Mr Drissa KANIKOMO  
Mme Kadiatou SINGARE  
Mr Nouhoum DIANI  
Mr Aladji Seydou DEMBELE  
Mr Ibrahima TEGUETE  
Mr Youssouf TRAORE  
Mr Lamine Mamadou DIAKITE

Gynéco-Obstétrique  
ORL  
ORL  
Chirurgie Générale  
Anesthésie/Réanimation  
Urologie  
Orthopédie - Traumatologie  
Ophtalmologie  
Ophtalmologie  
Orthopédie - Traumatologie  
Ophtalmologie  
Orthopédie/Traumatologie  
Urologie  
Gynécologie/Obstétrique  
Odontologie  
Odontologie  
ORL  
Gynéco/Obstétrique  
Chirurgie Générale  
Anesthésie-réanimation  
Gynécologie  
Ophtalmologie  
ORL  
Chirurgie Générale  
Chirurgie Générale  
Chirurgie Générale  
Chirurgie Générale  
Chirurgie Générale  
Chirurgie Générale  
Chirurgie Pédiatrique  
Odonto-Stomatologie  
Ophtalmologie  
Neuro Chirurgie  
Oto-Rhino-Laryngologie  
Anesthésie-Réanimation  
Anesthésie-Réanimation  
Gynécologie/Obstétrique  
Gynécologie/Obstétrique  
Urologie

### D.E.R. DE SCIENCES FONDAMENTALES

#### 1. PROFESSEURS

Mr Daouda DIALLO  
Mr Amadou DIALLO  
Mr Moussa HARAMA  
Mr Ogobara DOUMBO  
Mr Yénimégué Albert DEMBELE  
Mr Anatole TOUNKARA  
Mr Bakary M. CISSE  
Mr Abdourahamane S. MAIGA  
Mr Adama DIARRA  
Mr Mamadou KONE

Chimie Générale & Minérale  
Biologie  
Chimie Organique  
Parasitologie – Mycologie  
Chimie Organique  
Immunologie  
Biochimie  
Parasitologie  
Physiologie  
Physiologie

#### 2. MAITRES DE CONFERENCES

Mr Amadou TOURE  
Mr Flabou BOUGOUDOGO  
Mr Amagana DOLO  
Mr Mahamadou CISSE  
Mr Sékou F.M. TRAORE  
Mr Abdoulaye DABO  
Mr Ibrahim I. MAIGA

Histoembryologie  
Bactériologie-Virologie  
Parasitologie **Chef de D.E.R.**  
Biologie  
Entomologie médicale  
Malacologie, Biologie Animale  
Bactériologie – Virologie

### 3. MAITRES ASSISTANTS

Mr Lassana DOUMBIA  
Mr Mounirou BABY  
Mr Mahamadou A. THERA  
Mr Moussa Issa DIARRA  
Mr Kaourou DOUCOURE  
Mr Bouréma KOURIBA  
Mr Souleymane DIALLO  
Mr Cheik Bougadari TRAORE  
Mr Guimogo DOLO  
Mr Mouctar DIALLO  
Mr Abdoulaye TOURE  
Mr Boubacar TRAORE  
Mr Djibril SANGARE  
Mr Mahamadou DIAKITE  
Mr Bakarou KAMATE  
Mr Bakary MAIGA

Chimie Organique  
Hématologie  
Parasitologie - Mycologie  
Biophysique  
Biologie  
Immunologie  
Bactériologie-Virologie  
Anatomie-Pathologie  
Entomologie Moléculaire Médicale  
Biologie Parasitologie  
Entomologie Moléculaire Médicale  
Parasitologie Mycologie  
Entomologie Moléculaire Médicale  
Immunologie - Génétique  
Anatomie Pathologie  
Immunologie

### 4. ASSISTANTS

Mr Mangara M. BAGAYOGO  
Mr Bokary Y. SACKO  
Mr Mamadou BA  
Mr Moussa FANE  
Mr Blaise DACKOUCO

Entomologie Moléculaire Médicale  
Biochimie  
Biologie, Parasitologie Entomologie Médicale  
Parasitologie Entomologie  
Chimie Analytique

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

### 1. PROFESSEURS

Mr Mamadou K. TOURE  
Mr Mahamane MAIGA  
Mr Baba KOUMARE  
Mr Moussa TRAORE  
Mr Issa TRAORE  
Mr Hamar A. TRAORE  
Mr Dapa Aly DIALLO  
Mr Moussa Y. MAIGA  
Mr Somita KEITA  
Mr Boubakar DIALLO  
Mr Toumani SIDIBE

Cardiologie  
Néphrologie  
Psychiatrie, **Chef de DER**  
Neurologie  
Radiologie  
Médecine Interne  
Hématologie  
Gastro-entérologie - Hépatologie  
Dermato-Léprologie  
Cardiologie  
Pédiatrie

### 2. MAITRES DE CONFERENCES

Mr Bah KEITA  
Mr Abdel Kader TRAORE  
Mr Siaka SIDIBE  
Mr Mamadou DEMBELE  
Mr Mamady KANE  
Mr Saharé FONGORO  
Mr Bakoroba COULIBALY  
Mr Bou DIAKITE  
Mr Bougouzié SANOGO  
Mme SIDIBE Assa TRAORE  
Mr Adama D. KEITA  
Mr Sounkalo DAO

Pneumo-Phtisiologie  
Médecine Interne  
Radiologie  
Médecine Interne  
Radiologie  
Néphrologie  
Psychiatrie  
Psychiatrie  
Gastro-entérologie  
Endocrinologie  
Radiologie  
Maladies Infectieuses

### 3. MAITRES ASSISTANTS

Mme TRAORE Mariam SYLLA  
Mme Habibatou DIAWARA  
Mr Daouda K. MINTA  
Mr Kassoum SANOGO

Pédiatrie  
Dermatologie  
Maladies Infectieuses  
Cardiologie.

Mr Seydou DIAKITE  
Mr Arouna TOGORA  
Mme KAYA Assétou SOUCKO  
Mr Boubacar TOGO  
Mr Mahamadou TOURE  
Mr Idrissa A. CISSE  
Mr Mamadou B. DIARRA  
Mr Anselme KONATE  
Mr Moussa T. DIARRA  
Mr Souleymane DIALLO  
Mr Souleymane COULIBALY  
Mr Cheick Oumar GUINTO  
Mr Mahamadoun GUINDO  
Mr Ousmane FAYE  
Mr Yacouba TOLOBA  
Mme Fatoumata DICKO  
Mr Boubacar DIALLO  
Mr Youssoufa Mamoudou MAIGA  
Mr Modibo SISSOKO  
Mr Ilo Bella DIALLO  
Mr Mahamadou DIALLO

Cardiologie  
Psychiatrie  
Médecine Interne  
Pédiatrie  
Radiologie  
Dermatologie  
Cardiologie  
Hépatogastro-Entérologie  
Hépatogastro-Entérologie  
Pneumologie  
Psychologie  
Neurologie  
Radiologie  
Dermatologie  
Pneumo-Phtisiologie  
Pédiatrie  
Médecine Interne  
Neurologie  
Psychiatrie  
Cardiologie  
Radiologie

## D.E.R. DES SCIENCES PHARMACEUTIQUES

### 1. PROFESSEURS

Mr Gaoussou KANOUTE  
Mr Ousmane DOUMBIA  
Mr Elimane MARIKO

Chimie analytique, **Chef de D.E.R.**  
Pharmacie Chimique  
Pharmacologie

### 2. MAITRES DE CONFERENCES

Mr Drissa DIALLO  
Mr Alou KEITA  
Mr Benoît Yaranga KOUMARE  
Mr Ababacar I. MAIGA

Matières Médicales  
Galénique  
Chimie Analytique  
Toxicologie

### 3. MAITRES ASSISTANTS

Mme Rokia SANOGO  
Mr Yaya KANE  
Mr Saïbou MAIGA  
Mr Ousmane KOITA  
Mr Yaya COULIBALY  
Mr Abdoulaye DJIMDE  
Mr Sékou BAH  
Loséni BENGALY

Pharmacognosie  
Galénique  
Législation  
Parasitologie Moléculaire  
Législation  
Microbiologie-Immunologie  
Pharmacologie  
Pharmacie Hospitalière

## D.E.R. DE SANTE PUBLIQUE

### 1. PROFESSEUR

Mr Sanoussi KONATE

Santé Publique, **Chef de D.E.R.**

### 2. MAITRES DE CONFERENCES

Mr Moussa A. MAIGA  
Mr Jean TESTA  
Mr Mamadou Sounalo TRAORE

Santé Publique  
Santé Publique  
Santé Publique

### **3. MAITRES ASSISTANTS**

Mr Adama DIAWARA  
Mr Hamadou SANGHO  
Mr Massambou SACKO  
Mr Alassane A. DICKO  
Mr Hammadoun Aly SANGO  
Mr Seydou DOUMBIA  
Mr Samba DIOP  
Mr Akory AG IKNANE  
Mr Ousmane LY

Santé Publique  
Santé Publique  
Santé Publique  
Santé Publique  
Santé Publique  
Epidémiologie  
Anthropologie Médicale  
Santé Publique  
Santé Publique

### **4. ASSISTANTS**

Mr Oumar THIERO  
Mr Seydou DIARRA

Biostatistique  
Anthropologie Médicale

### **CHARGES DE COURS & ENSEIGNANTS VACATAIRES**

Mr N'Golo DIARRA  
Mr Bouba DIARRA  
Mr Salikou SANOGO  
Mr Boubacar KANTE  
Mr Souléymanne GUINDO  
Mme DEMBELE Sira DIARRA  
Mr Modibo DIARRA  
Mme MAIGA Fatoumata SOKONA  
Mr Mahamadou TRAORE  
Mr Yaya COULIBALY  
Mr Lassine SIDIBE

Botanique  
Bactériologie  
Physique  
Galénique  
Gestion  
Mathématiques  
Nutrition  
Hygiène du Milieu  
Génétique  
Législation  
Chimie Organique

### **ENSEIGNANTS EN MISSION**

Pr. Doudou BA  
Pr. Babacar FAYE  
Pr. Mounirou CISS  
Pr. Amadou Papa DIOP  
Pr. Lamine GAYE

Bromatologie  
Pharmacodynamie  
Hydrologie  
Biochimie  
Physiologie



Je dédie ce travail

A DIEU

Le Tout Puissant, le Miséricordieux, le Clément de m'avoir donné la force et le courage de venir à bout de ce travail. Que sa Miséricorde soit sur tous.

A son Prophète Mohamed paix et salut sur Lui.

A mon cher père Ousmane Dédéou Cissé

Très cher papa qui m'appris à être humaniste et à accepter les gens tels qu'ils sont, vous nous avez toujours montré le chemin du travail bien fait, de l'honneur, du respect de soi même et d'autrui. Votre rigueur dans l'éducation a toujours guidé nos pas. Votre sagesse vos critiques et votre culture d'une famille unie resteront à jamais dans notre mémoire. Que l'Eternel vous garde encore longtemps auprès de nous, vos enfants et que vous puissiez profiter du fruit de nos efforts qui sont en réalité les vôtres. Trouvez dans ce modeste travail la récompense de vos nombreux sacrifices.

A ma mère Löbel Touré

Pour votre amour, vos encouragements constants ainsi que vos prières et bénédictions. Ce travail est le modeste témoignage de toute mon affection et de profond respect. Que Dieu le tout puissant vous garde encore très longtemps auprès de nous.

Amen!

A ma tante Nia Traoré

Très chère tante, qui m'a prouvé qu'une mère n'est pas seulement celle qui met au monde un enfant, je ne cesserai jamais de vous remercier pour votre sagesse, votre honnêteté et votre grande générosité. Ce travail est également le fruit de votre encouragement et de vos nombreuses prières et bénédictions. Votre dévouement et votre soutien efficace de tous les jours ont permis d'atteindre notre objectif. Puisse ce modeste travail vous donner un début de satisfaction de vos vœux les plus sincères.

Que Dieu nous prête une longue vie pour que vous puissiez partager avec nous le fruit de ce travail.

A mon tonton, père et directeur d'école à la retraite Lamine Diarra pour son soutien incalculable.

A ma fiancée, tu as été une source d'inspiration pour moi et je considère cela comme une chance énorme, merci pour ton soutien et à toute ta famille.

A tous, ceux qui ont cultivé en moi le sens profond du travail afin de rendre le travail plus libre et conscient.

A tous les enfants malades du monde entier

Que le Tout Puissant, le Miséricordieux vous donne la santé. Amen !



## REMERCIEMENTS

Je remercie le Tout Puissant ALLAH de m avoir donné la chance de réaliser ce travail.

Je remercie tous ceux ou celles qui ont cru en moi, qui m'ont aidé de près ou de loin qu'ils soient vivants ou morts.

Mes remerciements vont également :

\* A mes grands parents

Particulièrement à Mahamane Saye, Aldiana

Vous avez toujours fait preuve de bonne volonté et d'une grande affection dont un petit fils peut vouloir. Vos bénédictions ne m'ont jamais fait défaut. Trouvez ici l'expression de mes meilleurs souvenirs et de ma reconnaissance à votre égard.

Que la terre soit légère pour ceux qui ne sont plus parmi nous. Que leur âme repose en paix. Amen !

\* A mon cousin, grand frère et maître ; Hamadoun Garba Cissé, gynécologie obstétrique à la clinique Lac télé.

\* A mes frères et sœurs

A ma grande sœur pour sa disponibilité entière qu'Allah guide nos pas afin de pouvoir réaliser nos rêves.

Je ne saurai oublier ce lien d'amitié de fraternité et de grande complicité qui nous unit.

Le fait de vous avoir a été une source d'inspiration pour moi et je considère cela comme une chance énorme. Votre soutien inconditionnel m'a accompagné tout au long de ce travail. Je ne peux rassurer que je serai toujours là pour vous. Je vous souhaite plein succès dans tout ce que vous entreprendrez, et courage pour le reste du trajet si épineux. Je suis fier de vous. Que Dieu consolide cette cohésion entre nous.

**\* A mes cousins et cousines**

Feu Ousmane Touré que la terre lui soit légère, Badou Ouologuem, Ali, Mahamane, Kadidia, Mah, Fatouma, Nia et à toutes leurs familles.

Vous qui n'aviez toujours supporté et soutenu, sachez que ce travail est également le vôtre et veuillez recevoir toute ma reconnaissance.

**\* A mes amis les plus chers**

Oumar Dicko, Gounon Saye, Rubin Sagara, Koniba Bamba

Comme on a l'habitude de le dire: c'est dans les moments difficiles qu'on reconnaît ses amis. Sachez qu'en aucun instant je n'ai regretté votre compagnie. Merci pour votre affection et pour votre sincère fidélité.

Que Dieu renforce d'avantage ce lien si sacré qui nous unit.

**\* A mes camarades de promotion de la FMPOS**

Ensemble on a su regrouper nos forces afin de s'aider mutuellement pour franchir les différents obstacles de vie estudiantine.

Je vous dis encore merci pour votre courage et votre persévérance et surtout pour vos soutiens dans les peines partagées.

**\* A mes aînés du laboratoire de l'HGT**

Drs Aliou Touré, Mariam Samaké, Ténin Samaké, Nia Kadidia Samaké, Cheick Fanta Mady Diabaté, Modibo Sadessi, Makandjan Dembélé, Hamadoun Cissé dit Alphady, Samba A Sangaré, Modibo Konaté ...

Vous avez tous contribué à la belle réalisation de ce travail et merci sincèrement pour tout.

**\* A tout le personnel du CHU Gabriel Touré principalement celui du laboratoire**  
merci pour vos encouragements et votre soutien inconditionnel.

**\* A l'équipe du CVD-Baltimor**



*HOMMAGES  
AUX MEMBRES  
DU JURY*

**A NOTRE MAITRE ET PRESIDENT DU JURY**

**Professeur Amadou DIALLO ;**

**Professeur de Biologie à la Faculté de Médecine, de Pharmacie et d'Odonto-Stomatologie ;**

**Vice Recteur de l'Université de Bamako.**

Cher maître vous nous faites un grand honneur en acceptant de présider ce jury de thèse malgré vos multiples occupations. Votre simplicité et votre modestie font de vous un homme admirable. Dès nos premiers pas dans cette Faculté nous avons été impressionnés par votre sens élevé de la personnalité humaine. Votre disponibilité, votre rigueur dans le travail et vos qualités d'homme de science, de culture, de chercheur font de vous un exemple à suivre.

Veillez accepter cher Maître, nos sentiments d'estime et de profond respect.

**A NOTRE MAÎTRE ET JUGE**

**DOCTEUR NOUHOUM KONE**

**Médecin en santé publique ;**

**Membre de l'équipe régionale de plaidoyer sur le modèle AIM sur le  
VIH/Sida dans la région de Ségou ;**

**Directeur du Centre National d'immunisation (CNI)**

Honorable Maître, c'est un grand plaisir et un honneur pour nous de vous compter parmi les membres de ce jury.

Votre disponibilité et votre grande simplicité ont toujours un grand apport pour la nouvelle génération.

Veillez accepter cher Maître, nos sentiments d'estime et de profond respect.

**A NOTRE MAITRE ET CO- DIRECTEUR DE THESE**

**Docteur Souleymane DIALLO ;**

**Pharmacien Biologiste, Colonel des forces armées du Mali**

**Chef de service du laboratoire d'Analyses Médicales de l'Hôpital Gabriel  
TOURE**

**Maître Assistant en Bactériologie et Virologie à la Faculté de Médecine, de  
Pharmacie et d'Odonto- Stomatologie.**

Cher Maître, nous ne cesserons jamais de vous remercier pour la confiance que vous avez placée en nous pour effectuer ce travail. Les mots me manquent pour vous exprimer combien cela fut un plaisir de travailler avec vous. Je peux d'ailleurs affirmer que j'ai fait mes premières initiations dans le monde de la microbiologie à vos côtés. Votre simplicité, votre compétence et surtout votre rigueur scientifique sont des atouts qui nous ont fasciné et dont nous avons bénéficié tout au long de notre formation. Vous n'avez ménagé aucun effort pour la belle réalisation de ce travail qui, également, est le vôtre.

Cher Maître, trouvez ici l'expression de notre profonde gratitude et de nos sincères reconnaissances.

**A NOTRE MAITRE ET DIRECTEUR DE THESE**

**Professeur Flabou BOUGOUDOGO ;**

**Maître de conférence agrégé en Bactériologie et Virologie à la Faculté de Médecine, de Pharmacie et d'Odonto- Stomatologie ;**

**Directeur Général de l'Institut National de la Recherche en Santé Publique**

**Responsable des cours de bactériologie et virologie à la Faculté de**

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

**Chevalier de l'Ordre du Mérite de la Santé**

Cher Maître, vous nous avez fait honneur en acceptant la réalisation de cette thèse dans le service de laboratoire d'Analyses Médicales de l'Hôpital Gabriel TOURE. En plus de statut de chercheur confirmé et aguerri, nous avons vite apprécié vos immenses qualités humaines et scientifiques. Vos remarques et suggestions ont sans doute contribué à l'amélioration de ce travail.

Votre simplicité et votre disponibilité font de vous un maître respecté et admiré de tous.

Soyez assuré, cher maître, de notre sincère admiration et de notre profonde gratitude. Nous vous réitérons tous nos remerciements.

## ABREVIATIONS ET SIGLES

BD: Becton Dickinson

BGN: Bacille Gram Négatif

BGP: Bacille Gram Positif

CGPpr : Cocci Gram Positif en paire

CGPch : Cocci Gram Positif en chaînettes

CNI : Centre National d'immunisation

CoccoBGN : Cocco Bacille Gram Négatif

CRO- 30 : Céftriaxone 30 $\mu$ g

CVD : « Center for Vaccine Development » = Centre pour les Vaccins en Développement

DCGN : Diplocoque Gram Négatif

HGT : Hôpital Gabriel Touré

INRSP : Institut National de Recherche en Santé Publique

LCR : Liquide Céphalo- Rachidien

MCS : Méningite Cérébro- Spinale

OXA-5 : Oxacilline 5 $\mu$ g

P-10 : Pénicilline G 10 $\mu$ g

SIBI : Suspicion d'Infection Bactérienne Invasive

SNC : Staphylocoque Négative Coagulase

VCN : Vancomycine

## PLAN

INTRODUCTION.....	1
Objectif général.....	3
Objectifs spécifiques.....	3
GENERALITES SUR NEISSERIA MENINGITIDIS.....	4
Caractères bactériologiques de <u>Neisseria meningitidis</u> .....	7
Physiopathologie de <u>Neisseria meningitidis</u> .....	16
METHODOLOGIE.....	24
Etude.....	24
Protocole de technique du LCR.....	26
Protocole de technique de l'hémoculture.....	32
RESULTATS.....	52
COMMENTAIRES ET DISCUSSION.....	76
CONCLUSION.....	82
RESUME.....	87

SOMMAIRE	PAGES
INTRODUCTION.....	1
1. GENERALITES SUR NEISSERIA MENINGITIDIS.....	4
1.1. Définition.....	4
1.2. Historique.....	4
1.3. Epidémiologie.....	5
1.4. Caractères bactériologiques.....	7
1.4.1. Morphologie.....	7
1.4.2. Habitat.....	8
1.4.3. Vitalité.....	8
1.4.4. Caractères cultureux.....	9
1.4.4.1. Conditions de culture.....	9
1.4.4.2. Aspect des cultures.....	9
1.4.5. Caractères biochimiques.....	11
1.4.6. Caractères antigéniques.....	11
1.5. Diagnostic biologique.....	13
1.5.1. L'examen macroscopique.....	14
1.5.2. L'examen microscopique.....	14
1.5.3. La recherche d'antigènes solubles.....	14
1.5.4. La culture.....	15
1.5.5. Identification de <u>Neisseria meningitidis</u> .....	15
1.5.6. L'étude de la sensibilité aux antibiotiques.....	15
1.6. Pouvoir pathogène.....	16
1.6.1 Physiopathologie.....	16
1.6.2. Formes cliniques.....	17
1.6.3. Séquelles.....	18
1.7. Traitement.....	19
1.7.1. Traitement curatif.....	19
1.7.2. Chimio prophylaxie.....	20

1.7.3. La Vaccination.....	22
2. METHODOLOGIE.....	24
2.1. Le Cadre d'étude.....	24
2.2. Type d'étude.....	25
2.3. Durée de l'étude.....	26
2.4. Critères d'inclusion et de non inclusion.....	26
2.4.1. Critères d'inclusion.....	26
2.4.2. Critères de non- inclusion.....	26
2.5. Prélèvement.....	28
2.6. Protocole et méthode de travail des cultures du LCR et des autres liquides biologiques.....	26
2.7. Examen macroscopique.....	28
2.8. Cultures.....	29
2.9. Examen microscopique.....	29
2.9.1. Cytologie.....	29
2.9.2. Cytologie qualitative.....	30
2.10. Examen direct.....	30
2.11. Recherche des antigènes solubles.....	30
2.12. Identification biochimique.....	31
2.13. Protocole de techniques des hémocultures positives.....	32
2.14. Techniques utilisées pour l'identification des bactéries.....	38
2.14.1. Coloration de Gram.....	38
2.14.2. Tests biochimiques et métaboliques.....	41
2.14.2.1. Oxydase.....	41
2.14.2.2. Tests immunologiques.....	42
2.15. Test de Sensibilité des antibiotiques : Méthode de diffusion des disques d'antibiotiques selon Kirby- Bauer.....	43
2.16. Conservation des cultures pures.....	48
2.17. Le suivi des appareils.....	50

2.17.1. Relevé des températures quotidiennes.....	50
2.17.2. Le suivi du niveau d'eau de l'incubateur.....	50
2.17.3. Le nettoyage des filtres.....	50
2.17.4. Le contrôle de la turbidité de l'étalon de solution utilisé sur l'appareil Mc Ferland.....	51
2.17.5. Le contrôle de la qualité des réactifs et des milieux de culture.....	51
3. RESULTATS.....	52
3.1. Résultats globaux	
3.2. Présentation des résultats sociodémographiques.....	52
3.3. Fréquence des germes isolés.....	53
3.4. Fréquence des séro- groupes et séro- types des souches de <u>Neisseria meningitidis</u> .....	54
3.5. Profil antibiotique des souches de <u>Neisseria meningitidis</u> isolées.....	72
4. COMMENTAIRES ET DISCUSSIONS.....	76
5. CONCLUSION.....	82
6. RESUME.....	87

# INTRODUCTION

## INTRODUCTION :

Les méningites bactériennes sont des infections des membranes (méninges) et du liquide céphalo- rachidien (LCR) qui entourent le cerveau et la moelle épinière ; elles sont une cause majeure de décès et d'incapacités dans le monde. Passée la période périnatale, 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 type 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 200 000 sont fatals. Le taux de létalité est fonction de l'âge et la bactérie en cause, oscillant classiquement de 3% à 19% dans les pays développés. Une létalité plus élevée (37% à 60%) a été rapportée dans les pays en développement. Des séquelles, incluant surdité, retard mental et autres séquelles neurologiques, intéressent jusqu'à 54% des survivants. [31]

Des formes épidémiques à *Neisseria meningitidis* et des formes endémiques à *Haemophilus influenzae type b* et à *Streptococcus pneumoniae*, ont touché 300.000 personnes en 1996, dans la ceinture de la méningite avec une mortalité de 10%.

La méningite à *Neisseria meningitidis* ou Méningite Cérébro- Spinale (MCS) est la plus meurtrière survenant selon un mode endémo- épidémique dont les recrudescences ont lieu en Afrique sud saharienne dans la deuxième moitié de la saison sèche. Elles surviennent selon une périodicité variant de 5 à 10 ans dans une aire géographique bien connue du 16<sup>ème</sup> degré au 8<sup>ème</sup> degré latitude nord.

La réactivité immunologique du polyside capsulaire de la bactérie permet de classer *Neisseria meningitidis* en sérogroupes. Douze sérogroupes ont été identifiés, mais les trois sérogroupes A, B et C sont responsables de plus de 90% des cas de méningocoecie. [31]

Le Mali a connu 7 épidémies dont la plus récente est celle de 1997 avec 11.228 cas et 1.126 décès. [3]

La prévention et le contrôle des épidémies de Méningite Cérébro- Spinale reposent sur :

- . La détection et la prise en charge rapide de la maladie
- . La vaccination de masse de la population avec le vaccin polysidique.

La méthode actuelle utilise des taux d'incidence basés sur la population générale afin de déterminer si la maladie a atteint un niveau d'alerte, un niveau d'épidémie ou un niveau de flambée épidémique :

- . Le niveau d'alerte est de 5cas/100.000/semaine
- . Le niveau d'épidémie est de 10 cas/100,000/semaine
- . et le niveau de flambée épidémique : 15 cas/100.000. /semaine [15]

Au regard de ce qui précède, la prévention et le contrôle constituent un maillon important dans le système de santé d'un pays. Le laboratoire de bactériologie du Centre pour le Développement des Vaccins ou (CVD) au CHU Gabriel Touré participe au diagnostic des Suspensions d'Infections Bactériennes Invasives (SIBI) et intervient comme laboratoire de réseau. C'est pour mener à bien ces missions que le présent travail se fixe les objectifs suivants :



**OBJECTIF GENERAL :**

Assurer l'étude bactériologique des méningites à *Neisseria meningitidis* en milieu pédiatrique du Centre Hospitalier- Universitaire Gabriel TOURE de 2002 à 2006.

**OBJECTIFS SPECIFIQUES :**

1. Déterminer les caractéristiques socio- démographiques des patients atteints de méningite au service de pédiatrie de l'hôpital Gabriel TOURE.
2. Déterminer la fréquence des espèces bactériennes responsables de méningites.
3. Identifier les séro- groupes et séro- types des souches de *Neisseria meningitidis* isolées.
4. Déterminer le profil antibiotypique des souches de *Neisseria meningitidis*.



GENERALITES

## 1. GENERALITES SUR NEISSERIA MENINGITIDIS

La méningite est une inflammation c'est-à-dire une infection des leptoméniges (arachnoïdes pie-mère) quelque soit la nature du germe responsable. [3]

Les méningites purulentes sont généralement dues à des bactéries dont les plus fréquentes sont :

- *Streptococcus pneumoniae*
- *Neisseria meningitidis*
- *Haemophilus influenzae type b*

### 1.1. Définition

*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.

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

- genre *Neisseria*
- genre *Kingella*

Le genre *Neisseria* comprend plusieurs espèces dont 2 sont pathogènes strictes pour l'homme : il s'agit de *Neisseria meningitidis* ou méningocoque et de *Neisseria gonorrhoeae* ou le gonocoque.

Les autres espèces (*Neisseria mucosa*, *Neisseria polysacchara* ...) certaines aient été isolées d'infections sérieuses. [3]

### 1.2. Historique

En 1887 Weichselbaum découvre le méningocoque à partir de liquides céphalorachidiens de malades atteints de méningite et prouve en 1903 son rôle pathogène dans les méningites cérébro-spinales.

A la même époque, Osler montre le passage sanguin du même germe. [11]

### 1.3. Epidémiologie

Le méningocoque se comporte habituellement comme un Saprophyte du rhinopharynx de l'homme. Il se transmet par l'intermédiaire des gouttelettes de salive.

Le portage dans le rhinopharynx, n'entraîne aucun signe clinique d'infection. Ce portage des bactéries est transitoire et n'excède en moyenne plus de deux semaines. Il peut atteindre presque 100% de la population lors d'une épidémie.

La méningite à méningocoque, communément désignée sous le nom de méningite cérébro-spinale (MCS) est la seule méningite bactérienne susceptible de provoquer des épidémies. Les plus grandes surviennent principalement dans la zone semi aride de l'Afrique sub-saharienne, surtout dans les zones recevant entre 300mm et 1100mm de pluie annuelle.

Ces épidémies surviennent en moyenne tous les dix ans et persistent trois à six ans. Cette remarquable périodicité des épidémies s'explique de plusieurs manières :

- la sécheresse, les vents de sables irritent les muqueuses rhino-pharyngées qui perdent leur capacité de défense contre l'infection.
- la fraîcheur des nuits oblige les humains à s'entasser à l'intérieur des tentes, des cases entraînant une promiscuité qui favorise la transmission
- La diminution de l'immunité. [20]

En Afrique, les épidémies de MCS surviennent classiquement dans une zone géographique relativement limitée dénommée en 1963 par Lapeysonnie « ceinture de la méningite » et révisée par la suite par Greenwood en 1987. Elle s'étend de l'Ethiopie à l'est au Sénégal à l'ouest.

Dans cette zone, une augmentation du nombre de cas est observé tous les ans pendant les mois chauds de l'année (mars avril le plus souvent) alors que de grandes épidémies sont observées avec une périodicité irrégulière. Les pays inclus dans la ceinture de la méningite sont les suivants : Bénin, Burkina Faso,

Cameroun, Ethiopie, Gambie, Ghana, Mali, Niger, Nigeria, Sénégal, Soudan, Tchad.

Dès la fin des années 1980, d'autres pays africains en dehors de la ceinture classique de Lapeysonnie ont été touchés par les épidémies de MCS ; ce sont : le Burundi, la République centrafricaine, le Kenya, l'Ouganda, le Rwanda, la Tanzanie, et le Zambie.

Ainsi en 1997, 66685 cas de MCS ont été rapportés en Afrique touchant essentiellement le Burkina Faso (22305 cas) le Ghana (19055 cas) le Mali (11226) le Niger (4910) et le Togo (3256).

En 1996, plus de 150 000 cas avaient été recensés touchant surtout le Nigeria le Burkina Faso le Niger et le Mali.

En Afrique centrale, le Kenya a été touché en 1989, la Tanzanie en 1990, 1992 le Burundi et le Rwanda en 1992.

Les différentes épidémies africaines survenues depuis 1988 sont dues à l'introduction à partir de l'Asie via la Mecque d'une nouvelle souche de *Neisseria meningitidis* séro-groupe A correspondant au clone III-1.

Toujours, à partir de la Mecque, nous avons assisté à la dissémination du séro-groupe W 135 ; ce séro-groupe est à l'origine de l'épidémie survenue chez des pèlerins en 2000 et a été retrouvé dans d'autres pays dans le monde.

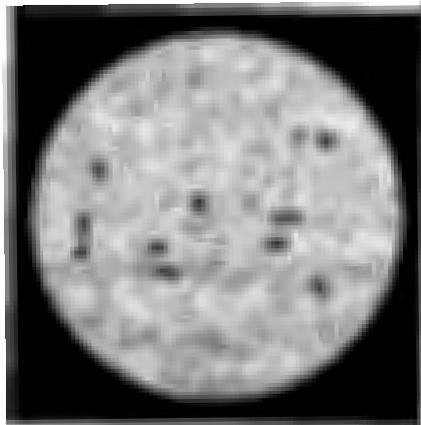
Bien que l'Afrique soit le continent le plus touché par les épidémies de MCS, les autres régions du monde ne sont pas épargnées, ainsi en Europe, en Amérique centrale et du sud, en Asie de nombreux pays sont atteints.

## 1.4. Caractères bactériologiques

### 1.4.1. Morphologie

Vue au microscope optique après coloration de Gram

Cocci à Gram négatif aérobies stricts



Examen direct: La présence de bactéries est recherchée soit par coloration de bleu de méthylène soit après coloration de Gram. L'élément pathogène est l'observation de germes intracellulaires au sein de polynucléaires.

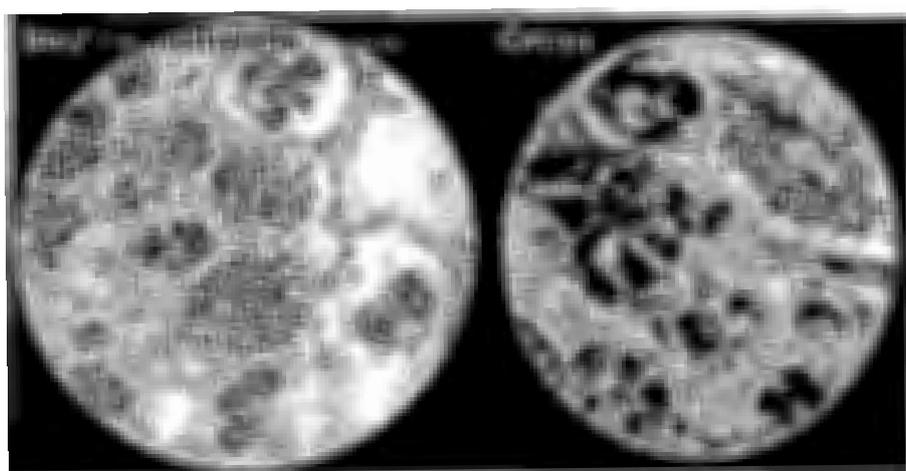


figure 1 : Vue au microscope optique après coloration

A la coloration de Gram, il s'agit de diplocoques à Gram négatif en forme de grain de café, le plus souvent associé à de nombreux polynucléaires dans les formes aiguës.

La culture est indispensable sur des milieux riches et sélectifs (vancomycine par exemple). Le délai de croissance est en moyenne de 2 à 4 jours.

Le méningocoque ou *Neisseria meningitidis* se présente sous forme de cocci immobiles à Gram négatif en diplocoques accolés par leur face plane (aspect de grain de café), intracellulaire en majorité.

Après coloration au Gram, le méningocoque se présente sous forme de diplocoques Gram (-) encapsulés. Chaque coque mesure environ 0.8 $\mu$  de diamètre. Les deux faces en regard sont aplaties. Ces diplocoques apparaissent colorés en rouge sur le fond bleu de la préparation constitué par les polynucléaires lorsqu'on a coloré un LCR purulent, ils sont alors en position intracellulaire ou extracellulaire lorsque le polynucléaire a éclaté.

Dans les cultures âgées, on trouve des éléments arrondis ; grands et petits isolés ; par deux ou en petits amas

#### **1.4.2. Habitat**

Le méningocoque est une bactérie strictement humaine. Le rhinopharynx constitue son habitat principal et sa porte d'entrée.

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. [21]

La transmission est directe et se fait par voie aérienne à des distances courtes (moins d'un mètre). La promiscuité et le sous développement en sont les facteurs favorables.

*Neisseria meningitidis* est un parasite strict de l'homme (bactérie sténoxène) ; on le retrouve chez le malade ; le convalescent et le porteur sain (à l'état commensal sur la muqueuse rhinopharyngée). On ne le rencontre ni dans la nature ni chez l'animal

#### **1.4.3. Vitalité**

Ce germe est fragile ; en effet il est sensible aux agents physiques (froid températures excessives dessiccation et lumière) et chimiques ; en conséquence les prélèvements doivent être transportés à l'abri de la lumière et de la température ambiante au laboratoire où ils doivent être immédiatement

examinés car il s'agit d'une urgence ou conservés à l'étuve mais jamais au frigidaire. [20]

#### 1.4.4. Caractères cultureux

Les méningocoques se développent aisément sur les milieux solides ou semi-solides contenant du sang, du sérum et se multiplient plus rapidement entre 35 et 37°C et en atmosphère contenant 5 à 10 pour cent de CO<sub>2</sub>. Ils sont facilement isolés des produits pathologiques lorsque les échantillons fraîchement prélevés sont ensemencés sur des géloses au chocolat (au sang cuit) mis à incuber 18 à 24 heures dans une jarre anaérobie ou dans un dispositif plus complexe des conditions de cultures satisfaisantes. [26]

*Neisseria meningitidis* est une bactérie aérobie strict exigeant pour sa culture des milieux enrichis : Muller Hinton ou gélose chocolat.

Les jeunes colonies sont petites, rondes, lisses, humides, luisantes et bombées à bord net après 24 heures d'incubation. Certaines colonies sont coalescentes.

En vieillissant les colonies deviennent gris opaques.

##### 1.4.4.1. Conditions de culture [19]

Température optimum : 36 °C, pH optimum : 7

Atmosphère enrichie à 10% de CO<sub>2</sub> ;

Milieux enrichis : gélose chocolat + supplément vitaminique, milieu de Muller Hinton

Humidité

##### 1.4.4.2. Aspect des cultures

- pousse mal sur milieux liquides, préfère les milieux solides
- sur gélose chocolat : les colonies ont environ 1mm de diamètre au bout de 24 heures d'étuve à 37°C elles sont arrondies, grisâtres, à bords réguliers, ont une surface lisse et brillante.
- sur milieu de Mueller Hinton, les colonies sont lisses et transparentes
- ne pousse pas sur gélose ordinaire

Les méningocoques ont la forme d'une coque ovoïde mesurant de 0,8 µm de diamètre. Ils forment des diplocoques ressemblant à deux grains de café au nombre de 2 à 8 dans un leucocyte.

Si *Neisseria meningitidis* se trouve à l'état pur dans le produit biologique, par exemple LCR ou sang, on a intérêt à utiliser un milieu non sélectif du type gélose au chocolat (gélose au sang cuit) que l'on incubera dans une atmosphère humidifiée en présence de 8 à 10% de CO<sub>2</sub> température optimale 37° C et le pH 7, le méningocoque n'est pas exigeant en CO<sub>2</sub> mais ce gaz facilite sa croissance. Dans un nombre important de cas, l'isolement du méningocoque se fera grâce à une hémoculture incubée dans les conditions d'aérobiose. C'est parfois le seul moyen, en particulier dans les formes graves, d'isoler l'agent causal. Cette méthode a été rendue plus sensible par l'emploi de glucose marqué. [23]

En bouillon ascite le méningocoque se développe lentement. Il donne un trouble léger vers le deuxième et le troisième jour.

Sur gélose ascite le microbe se développe plus rapidement.

Sur gélose au sang : les colonies sont blanchâtres et assez épaisses. De meilleurs résultats ont été trouvés avec les milieux suivants :

- Milieu de Mueller Hinton
- Milieu au sang cuit (gélose chocolat)

Le méningocoque est un germe très sensible à la dessiccation, à la chaleur au froid et la lumière. Il résiste par contre à la lyophilisation qui devient le seul moyen de conservation. [26]

#### 1.4.5. Caractères biochimiques

Comme toutes les bactéries du genre *Neisseria*, le méningocoque possède un cytochrome oxydase et une catalase et ne pousse qu'en aérobiose. Le méningocoque produit une acidification à partir du glucose et du maltose lorsqu'il est ensemencé sur un milieu convenable et ceci toujours de façon oxydative. Certains peuvent ne pas acidifier le glucose et / ou le maltose, posant alors de problèmes de diagnostic bactériologique. (10). Il réduit parfois les nitrites (68% des souches) mais pas les nitrates. La gamma-glutamyl transférase est positive avec les *Neisseria meningitidis*. [26]

#### 1.4.6. Caractères antigéniques : [20]

Le méningocoque possède de nombreux antigènes dont les plus importants pour son identification sont :

- le polysaccharide capsulaire : ses propriétés antigéniques permettent de subdiviser l'espèce en 12 sérogroupes : A, B, C, X, Y, Z, W135, 29 E, H, I, K, L. Les 3 premiers sérogroupes sont responsables de 90% de méningites à méningocoque ; le séro groupe A est le plus épidémiogène, il est responsable de grandes épidémies de MCS observées en Afrique en Asie et en Amérique du Sud, le séro groupe B est moins épidémiogène, on l'a néanmoins trouvé dans les épidémies en Europe et en Amérique du Sud, le séro groupe C a également été dans les épidémies en Afrique et en Amérique du Sud.

Les autres sérogroupes se trouvent à l'état de portage rhinopharyngé.

- les protéines de la membrane externe (PME) : elles sont au nombre de 5 ou 6 permettent de subdiviser les sérogroupes en sérotypes (PME de classe 2 et 3) et en séro- sous types (PME de classe 1) ; ceci permet d'établir pour chaque souche une formule antigénique définissant le séro groupe, le sérotype et le séro- sous-type. Exemple : *Neisseria meningitidis* A : 4 : P 1.9/III-1.

- l'endotoxine associée à la paroi, elle est responsable des états de choc observés au cours des infections méningococciques graves.

La paroi est l'élément intéressant dans la structure du méningocoque. Elle présente trois constituants majeurs d'intérêt diagnostique, épidémiologique et prophylactique.

Ces trois constituants sont :

- les polysides capsulaires
- les protéines de la membrane externe
- les lipopolysaccharide (L.P.S)

La nature du polysaccharide capsulaire permet de distinguer 12 sérogroupes.

Les plus fréquents sont A, B, C, W-135, X et Y

Les autres 29 E, Z, H, I, K, L sont les plus rarement isolés

Le séro groupe A est le principal responsable des épidémies africaines et brésiliennes.

Le séro groupe B est le plus répandu en Europe.

La structure du polysaccharide capsulaire du séro groupe B identique à celle de *Escherichia coli*. Le K, qui est le principal agent causal de la méningite néonatal en Afrique.

Le séro groupe C est à l'origine de poussée épidémique en Amérique, en Europe et en Afrique.

Les sérogroupes de *Neisseria meningitidis* sont subdivisés en sérotypes et sous sérotypes.

Ceux-ci correspondent à des spécificités antigéniques portées par 5 classes de protéines de la membrane externe.

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

Les LPS entrent dans la composition d'une endotoxine.

La capacité de la bactérie à libérer de l'endotoxine peut être en relation avec la gravité de l'affection méningococcique.

### 1.5. Diagnostic biologique [20]

Le diagnostic de la méningite est une urgence. Il s'agit d'un diagnostic direct par la mise en évidence du germe dans le LCR obtenu par ponction lombaire réalisée par le clinicien ou l'infirmier dans les conditions strictes d'asepsie. Le LCR est recueilli dans un tube stérile bouché et adressé au laboratoire le plus rapidement possible pour éviter la lyse des bactéries.

Si le prélèvement ne peut arriver au laboratoire dans l'heure qui suit la collecte, il doit être ensemencé dans le milieu de transport Trans-Isolate et acheminé au laboratoire dans une boîte à température ambiante (jamais dans la glace) et à l'abri de la lumière pour éviter la destruction des bactéries. Le prélèvement sera accompagné d'un bulletin de demande d'analyse comportant l'identification du malade (nom, âge, sexe, profession, adresse), du service demandeur et un résumé des renseignements cliniques, la date et la nature de l'examen demandé.

Une fois le prélèvement reçu au laboratoire, il doit être immédiatement examiné car il s'agit d'une urgence.

Si l'examen est différé, le LCR ou le milieu de transport ensemencé doit être conservé à l'étuve mais jamais au frigidaire pour éviter la lyse du méningocoque.

Le diagnostic direct comporte :

- L'examen macroscopique
- l'examen microscopique
- L'agglutination au latex
- la mise en culture, l'identification et l'étude de la sensibilité aux antibiotiques ;

### **1.5.1. L'examen macroscopique**

Il s'agit d'apprécier l'aspect du LCR à l'œil nu. Ainsi le LCR normal est clair et limpide comme l'eau de roche, en cas de méningite purulente, il est louche ou trouble.

NB : Le LCR peut être clair au début de la méningite, ou après un traitement antibiotique précoce (méningite décapitée) ou dans le cas d'une septicémie à méningocoque.

### **1.5.2. L'examen microscopique**

Il comprend plusieurs étapes :

- la numération des éléments à la cellule de Malassez ou de Nageotte

Le LCR normal contient moins de 2 à 3 leucocytes par  $\text{mm}^3$ , le LCR en cas de méningite peut en contenir  $1000/\text{mm}^3$  et même plus.

- La formule leucocytaire : elle est faite sur le culot de centrifugation d'environ 1ml de LCR à 2000tours/min pendant 5mn, le surnageant est conservé pour la recherche des antigènes solubles par agglutination au latex. A partir du culot de centrifugation, on réalise un frottis sur lame qui, après séchage et fixation sera coloré au May Grunwald Giemsa ou au bleu de méthylène.

La formule leucocytaire montre 90 à 95 pour cent de polynucléaires neutrophiles et 5 à 10% de lymphocytes.

- L'examen après coloration de Gram : comme dans le cas de la formule leucocytaire, on réalise à partir du culot de centrifugation, un frottis sur lame qui après séchage et fixation sera coloré par la méthode de Gram. L'examen de ce frottis coloré au microscope montre la présence de diplocoques Gram (-) intra ou extracellulaire.

### **1.5.3. La recherche d'antigènes solubles**

Au cours des infections à méningocoque ; le polysaccharide capsulaire peut passer en solution dans les liquides de l'organisme. Il peut ainsi être mis en évidence par agglutination sur lame, pour cela il suffit de mélanger sur une lame de verre une goutte de surnageant de LCR et une goutte de réactif constitué par

des particules de latex sensibilisé avec des anticorps antipolysaccharides capsulaires. Un test positif se traduit par l'apparition immédiate de gros agglutinants sur la lame ; il permet d'identifier le séro-groupe de méningocoque en cause.

#### **1.5.4. La culture**

Une à deux gouttes de LCR total estensemencée sur gélose chocolat enrichie de supplément vitaminique et sur gélose Mueller Hinton coulées en boîtes de pétri ou en tubes à essai. Les milieux ainsiensemencés sont mis à incuber à l'étuve 36-37° C dans une atmosphère à 10 % de CO<sub>2</sub>. Au bout de 24 à 48 heures apparaissent sur les milieux de culture des colonies caractéristiques de méningocoque. Ces colonies sont soumises à une identification basée sur les caractères morphologiques (aspect des colonies, morphologie au Gram) biochimiques (oxydase glucose maltose fructose...) et antigéniques (identification du séro-groupe). Dans les laboratoires spécialisés, l'identification du sérotype et séro- sous type peut être réalisée.

#### **1.5.5. Identification de *Neisseria meningitidis***

Pour identifier les colonies qui morphologiquement ressemblent à *Neisseria meningitidis*. On obtient de bons résultats avec des cultures de 18-24 heures. Toujours vérifier la pureté de la culture par une coloration de Gram. Au Gram les méningocoques se présentent comme des diplocoques négatifs ressemblant à des grains de café. Faire si nécessaire des repiquages pour obtenir une culture pure. La recherche de l'oxydase se fait à partir des colonies obtenues sur gélose au sang par le test de Kovac, on procède ensuite au sérogroupage pour finir, par confirmer les résultats par l'utilisation des glucides.

#### **1.5.6. L'étude de la sensibilité aux antibiotiques**

L'étude est réalisée par la méthode des disques. Depuis 1995 on a noté, en France l'émergence de souches de sensibilité diminuée à la pénicilline G caractérisées par des CMI de 0.125 à 1mg/l ;( souches sensibles : CMI inférieure ou égale à 0.125mg, souches résistantes : CMI supérieure à 1mg/l souches

intermédiaires : CMI comprises entre 0.125 à 1mg/l). L'identification des souches de sensibilité diminuée est facilitée par l'utilisation d'un disque d'oxacilline chargé à 5mcg pour un diamètre critique de 18mm. Une mutation des « penicillin Binding Proteins » en est la cause. Cette sensibilité diminuée à la pénicilline G n'a pas encore de conséquence au plan clinique.

Des souches résistantes au chloramphénicol ont été également signalées en Asie et en Afrique.

## **1.6. Pouvoir pathogène**

### **1.6.1. Physiopathologie [12]**

Les méningocoques pénètrent dans l'organisme humain par voie aérienne et colonisent le nasopharynx, chez certains sujets ils traversent la barrière muqueuse par la voie intracellulaire et accèdent ainsi à la circulation générale, où 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 reste inconnu.

La virulence des germes pathogènes (habituellement en cause dans les méningites) est liée à leur polysaccharide 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 espèces sous arachnoïdiens. C'est la paroi bactérienne elle-même qui déclenche la réponse de l'hôte.

- Le méningocoque est un parasite strict de l'homme et la contamination est interhumaine ; son habitat est le rhinopharynx où il vit à l'état de portage. Sa présence à ce niveau peut être asymptomatique (porteur sain) ou au contraire se manifester par une banale rhinopharyngite. Cependant dans certains cas, et pour des raisons qu'on ignore, il manifeste son pouvoir pathogène en provoquant les

deux manifestations suivantes d'ailleurs souvent associées : la méningite et la septicémie.

- La méningite à méningocoque ou méningite cérébrospinale (MCS)

C'est la plus fréquente des méningites purulentes dont elle représente le type même ; elle est caractérisée par un début brutal, avec céphalées intenses, fièvre, nausées, vomissements, photophobie et raideur de la nuque.

Il peut s'y ajouter des signes neurologiques, tels que prostrations, délire, coma et/ou convulsions.

A la ponction lombaire, le LCR est hypertendu et coule en jet, on note à la biochimie une hyperglycorachie : supérieure à 0.80g/l (normal : inférieur à 0.60g/l) une hypoglycorachie : inférieure à 0.40g/l (normal 0.65- 0.70g/l)

Chez le nourrisson, les signes sont souvent atypiques et peuvent être difficiles à reconnaître. Le début n'est pas toujours rapide, de même la raideur de la nuque peut manquer ; le bombement de la fontanelle doit être recherché.

- La méningococcémie aigue : le syndrome septicémique est le plus souvent d'apparition brutale et revêt une forme aigue suraiguë avec un délai de quelques heures entre le début et le tableau de purpura fulminans extensif mettant en jeu une fois sur deux le pronostic vital.

### **1.6.2. Formes cliniques : [21]**

Les infections à méningocoques revêtent des aspects très divers, de la simple rhinopharyngite ou purpura fulminans. Tous les degrés de gravité sont possibles entre ces 2 extrêmes.

Le plus souvent, le syndrome méningé franc associé à un syndrome infectieux brutal et sévère, est rapidement évocateur et impose une ponction lombaire, et le LCR recueilli est le plus souvent louche ou purulent.

L'invasion est brutale avec une fièvre de 39- 40° C accompagnée de frissons, de céphalées, de vomissements et d'algies diffuses. A ce stade certains signes sont à rechercher.

Chez l'adulte

Signe de Kernig (malade en position de chien de fusil)

Signe de Brudzinski (raideur de la nuque)

Chez le nourrisson

Bombement de la fontanelle

Plafonnement des yeux

Une nuque molle

Mais quelque soit l'aspect clinique, seule la ponction lombaire permet d'authentifier le diagnostic.

La phase d'état est caractérisée par un syndrome méningé franc. Il existe des rachialgies et des contractures musculaires douloureuses.

On peut également noter parfois des troubles neuropsychiques plus ou moins marqués (sommolence, torpeur pouvant aller jusqu'au coma, agitation ou délire).

Le syndrome infectieux est caractérisé par une fièvre élevée avec tachycardie souvent modérée.

### 1.6.3. Séquelles : [24]

L'infection par le *Neisseria meningitidis* a un pronostic plus favorable que celle due à *Haemophilus influenzae b* ou à *Streptococcus pneumoniae*.

La surdité est la plus fréquente des séquelles sévères de méningite bactérienne. Elle est trouvée chez 10% des survivants. Le mécanisme physiopathologique de la surdité a été discuté pendant longtemps. Avant les antibiotiques il était admis qu'elle était due à une labyrinthite. [33]

Les études post mortem de patients décédés de méningite ont d'ailleurs toujours montré une labyrinthite suppurée. Les données cliniques plus récentes ont confirmé que l'atteinte de la cochlée est la lésion primordiale de la surdité post méningitique.

Une épilepsie ou des crises convulsives surviennent chez 7% des patients en relation étroite avec la survenue de complications neurologiques à la phase aigüe de la maladie ;

D'autres séquelles ayant un ralentissement sur les activités sociales la performance scolaire et le comportement sont également fréquents (25% des survivants).

Les épanchements sous duraux sont fréquents au cours des méningites bactériennes. Ils surviennent dans 1.5 à 4.5 % des cas.

## **1.7. Traitement**

### **1.7.1. Traitement curatif**

Le traitement repose sur l'antibiothérapie. La pénétration des antibiotiques dans le LCR dépend :

- la dose et des voies d'administration du médicament
- des caractéristiques physiques et de la quantité de médicament libre dans le sang, de l'état de la barrière hémato-encéphalique.

Cette barrière sépare les méninges et le cerveau du compartiment intra vasculaire et joue un rôle régulateur à l'interface, en permettant le transfert de diverses substances par un système de transport actif et par un ou plusieurs des mécanismes suivants :

Diffusion passive

Sécrétion dans le LCR

L'inflammation méningée facilite la pénétration des antibiotiques dans le LCR par ces mécanismes.

Le choix de l'antibiotique dépend d'un certain nombre de facteurs qui sont :

- l'analyse du LCR
- l'âge du malade
- l'évolution antérieure de la méningite
- le germe en cause
- l'antibiogramme (en fonction du spectre de l'antibiotique, sa cinétique, sa pénétration dans le LCR et ses effets secondaires).

Actuellement les disques recommandés pour l'antibiogramme de *Neisseria meningitidis* sont :

- les Bêta lactamines tels que : la pénicilline G et l'ampicilline sont régulièrement actives

-in vitro les céphalosporines notamment celles dites de 3<sup>ème</sup> génération comme le cefotaxime et la ceftriaxone sont plus efficaces. Elles ont une concentration minimale inhibitrice de 10 à 100 fois plus basse que celle de la pénicilline G et l'ampicilline.

- le chloramphénicol dont la diffusion méningée est très bonne peut également être une alternative thérapeutique. Il est d'ailleurs utilisé en traitement de première intention en Afrique pendant les épidémies.

Le traitement par l'un de ces antibiotiques est poursuivi jusqu'à l'apyrexie et la normalisation du liquide céphalorachidien (LCR). Ce traitement peut être généralement suffisant entre 10 à 14 jours.

### 1.7.2. Chimio prophylaxie

La chimio prophylaxie s'adresse aux individus susceptibles de développer une méningococcie grave, qui vivent au contact des malades ou dans les collectivités à haut risque. Elle vise à détruire le méningocoque au niveau des muqueuses rhinopharyngées.

Elle fait appel à plusieurs antibiotiques actifs sur le méningocoque.

La prévention de l'infection méningococcie chez les individus ayant été en contact direct avec un malade repose sur l'administration systématique de Spiromycine et la surveillance médicale des sujets contacts.

Le choix de la Spiromycine est justifié par sa bonne diffusion dans le tissu pharyngé, son spectre, du faible nombre de souche résistantes et de l'absence d'effets secondaires.

Cet antibiotique est administré par voie buccale pendant 5 jours à la dose quotidienne de 50 mg /kg chez l'enfant et de 2 g chez l'adulte.

Le sulfamide est abandonné actuellement à cause de ses résistances.

*Neisseria meningitidis* demeure très sensible aux antibiotiques. Les  $\beta$ -lactamines sont régulièrement actives et on n'a décrit jusqu'à présent qu'une

seule souche de méningocoque résistante à la pénicilline G et à l'ampicilline, du fait de la production d'une  $\beta$ -lactamase. Toutefois, les pénicillines sont moins efficaces *in vitro* que les céphalosporines, notamment celles dites de troisième génération. En effet, sur la plupart des souches, la pénicilline G et l'ampicilline ont des concentrations minimales inhibitrices (CMH) proches de 0,1 mg/l, alors que le céfotaxime, la ceftriaxone la cefménoxime ou le latamoxef agissent à des concentrations 10 à 100 fois plus basses. *Neisseria meningitidis* est également sensible au chloramphénicol et 90 % des souches sont inhibées par 1mg/l ou moins d'antibiotique. La minocycline, la rifampicine et la spiramycine sont habituellement actives sur les méningocoques. En revanche, les sulfamides, qui ont été les premiers antibiotiques utilisés dans la prophylaxie de la méningite cérébro-spinale sont actuellement inactifs sur la majorité des souches isolées en France.

Le traitement anti-infectieux d'une septicémie ou d'une méningite à méningocoque doit être institué le plus rapidement possible, car la précocité du traitement conditionne le pronostic de la maladie. Il est souvent associé, notamment en cas de purpura fulminans, à une réanimation médicale. La pénicilline G et l'ampicilline sont les antibiotiques de choix. Leur utilisation préférentielle est justifiée par leur habituelle efficacité *in vitro* sur *Neisseria meningitidis* et par leur assez bonne diffusion méningée. Ils doivent être utilisés impérativement par voie veineuse et à doses élevées : 300 000 unités/kg/jour pour la pénicilline G 200 à 400 mg/kg/jour pour l'ampicilline chez l'enfant. En cas d'allergie aux  $\beta$ -lactamines, le chloramphénicol, dont la diffusion méningée est très bonne, peut être une alternative thérapeutique. Cet antibiotique doit être donné également par voie veineuse, à la dose journalière de 50 à 75 mg/kg/jour. Dans ces conditions, un traitement par l'un de ces antibiotiques pendant 10 à 14 jours est généralement suffisant.

En France la prévention de l'infection méningococcique chez les individus ayant été en contact direct avec un malade repose sur l'administration systématique de

spiramycine et sur la surveillance médicale des sujets contact. Le choix de la spiramycine est justifié par sa bonne diffusion dans le tissu pharyngé et son absence de diffusion méningée (évitant de décapiter une méningite débutante). Cet antibiotique est administré par voie buccale pendant 5 jours à la dose quotidienne de 50 mg /kg .toutefois, l'émergence de souches résistantes à la spiramycine à été signalée à partir de 1983 en France, et ce fait impose donc une surveillance régulière, par les autorités sanitaires du pays, de l'évolution de l'activité in vitro de cet antibiotique sur les souches isolées. En revanche, l'éviction scolaire des frères et sœurs d'un malade, la désinfection des locaux d'habitation du malade ou la recherche de porteurs sains ne présente aucun intérêt. La prévention d'une épidémie de méningococcie peut être assurée par vaccination de la population avec des polysides purifiés extraits des capsules de méningocoques appartenant aux sérogroupes A et C et d'autre part A, C, W135 et Y, sont commercialisés. Ces vaccins ont été largement utilisés en Afrique et au Brésil pour enrayer des épidémies de méningites cérébro-spinales, et le vaccin tétravalent est employé pour la vaccination systématique des recrues de l'armée américaine. En revanche, le polysaccharide capsulaire du méningocoque B est peu immunogène et on ne dispose pas encore d'un vaccin efficace contre ce germe. [5]

### **1.7.3. La vaccination**

La prophylaxie de la méningite cérébro spinale reste basée sur une vaccination de circonstance déclenchée sous la menace épidémique détectée grâce à une surveillance épidémiologique efficace.

La protection du vaccin apparaît au 5<sup>ème</sup> et 7<sup>ème</sup> jour après injection. Elle est spécifique du groupe et dure environ 3 ans. [21]

Le premier vaccin était celui des polysaccharides dirigés contre le méningocoque C qui avait une bonne réponse chez les grands enfants et les adolescents.

Un vaccin utilisant le polysaccharide A a été développé peu de temps après ceux dirigés contre les antigènes du groupe C. Des essais ont été faits en Finlande et en Egypte chez les enfants et jeunes adultes et ont montré une efficacité de 80 à 90 % contre le développement de la maladie.

Aucun essai n'a révélé l'efficacité du vaccin polysaccharidique du groupe C chez le nourrisson. Mais des études immunologiques ont prouvées qu'une bonne réponse pouvait être obtenue chez le nourrisson après une dose unique, et que les injections de rappel n'auront pas d'effet important. [14]

Avec le vaccin polysaccharide du groupe A, la protection est limitée dans le temps et il y a une absence d'immunité de la population après immunisation.

Ces deux particularités ont conduit au développement de vaccins bivalent et tétravalent associant respectivement les polysides capsulaires des méningocoques des sérogroupes A et C d'une part et d'autre part A, C, W-135 et Y. [14]

Ces vaccins sont largement utilisés pour enrayer les épidémies de méningites cérébro spinales en Afrique.

Mais le vaccin tétravalent est employé pour la vaccination systématique des recrues de l'armée américaine.



METHODOLOGIE

## 2. METHODOLOGIE

### 2.1. Cadre d'étude

Notre étude a été réalisée dans le laboratoire de l'Hôpital Gabriel TOURE situé dans le centre commercial de Bamako. En 1959, l'ancien Dispensaire Central de Bamako a été érigé en hôpital. Il sera baptisé «Hôpital Gabriel TOURE» en hommage au sacrifice d'un jeune Stageaire Soudanais mort lors d'une épidémie de peste, maladie qu'il contracta au cours de son stage en 1934. L'Hôpital Gabriel TOURE a été érigé en Etablissement public à caractère Administratif (EPA) en 1992, doté de la personnalité morale et de l'autonomie de gestion. L'Hôpital Gabriel TOURE est l'un des onze (11) établissements publics à caractère Hospitalier (EPH) institués par la loi n° 94-009 du 22 mars 1994 modifiée par la loi n°02-048 du 12 juillet 2002 portant création du Centre Hospitalier Universitaire (CHU). Il comprend une salle d'hématologie, une salle de biochimie, une salle pour les prélèvements et la parasitologie, une salle de stérilisation équipée d'autoclaves et de fours, une salle de garde, un bureau du chef de service. En Février 2002 une partie du laboratoire a été aménagée pour les activités de bactériologie et équipée en conséquence avec :

- 2 hottes à flux laminaire avec incinérateur électrique pour la stérilisation des anses ;
- 3 automates d'hémocultures Bactec 9050 ;
- 1 incubateur à CO<sub>2</sub> pour les bactéries aéro- anaérobies ;
- 1 incubateur sans CO<sub>2</sub> pour les bactéries aérobies, les antibiogrammes et les galeries d'identification API 20 E ;
- 1 centrifugeuse ;
- 1 congélateur de - 80° C pour la conservation des souches bactériennes ;
- 1 congélateur de - 20° C pour la conservation des disques d'antibiotiques, des disques d'identification (Optochine, Bacitracine) des facteurs de croissance des *Haemophilus* ; des réactifs de sérogroupage des *Salmonella*
- 2 réfrigérateurs pour la conservation des milieux de culture et des réactifs ;

- 1 micro- ordinateur avec un système de communication Internet ;
- 1 microscope Olympus CX31;
- 1 néphélomètre Mc Ferland pour la mesure de turbidité en vue des antibiogrammes conformément à la méthode de Kirby Bauer ;

Des petits matériels divers, des consommables et un ravitaillement régulier en milieux de culture et réactifs permettent de réaliser des activités de bactériologie.

Le personnel comprend :

- un pharmacien biologiste ;
- trois pharmaciens ;
- des internes ;
- des assistants de biologie.
- des techniciens supérieurs.
- des techniciens de laboratoire, repartis entre les différentes sections de biologie; dont deux de la section de bactériologie ont bénéficié d'un stage de formation à Baltimore (USA)
- Un personnel de surface.

Les activités de bactériologie dans le cadre de la recherche sont supervisées par un Professeur de bactériologie- virologie responsable de l'Institut Nationale Recherche pour la Santé Publique (INRSP).

## 2.2. Type d'étude

Il s'agit d'une étude rétrospective sur cinq ans, basée sur l'étude bactériologique de laboratoire des cas de maladies bactériennes invasives chez les patients hospitalisés dans le service de pédiatrie.

Après avoir obtenu un consentement éclairé, une hémoculture est réalisée chez chacun des enfants inclus.

Dans certains cas et selon le contexte clinique un examen cyto bactériologique du liquide céphalo- rachidien ou de liquides stériles d'autres sites (lominaire, pleural, articulaire, tissulaire et osseux) est réalisé.

### **2.3. Durée de l'étude**

L'étude a été réalisée sur une période de 5 ans : de février 2002 à décembre 2006, couvrant les cinq ans, toutes les saisons y comprises : sèche fraîche, saison sèche chaude, saison pluvieuse.

### **2.4. Critères d'inclusion et de non inclusion**

#### **2.4.1. Critères d'inclusion**

Cette étude porte sur des enfants prélevés au niveau du site de prélèvement de CVD à la pédiatrie et répondant aux critères suivants :

- Etre âgé de moins de 18 ans,
- Etre hospitalisé dans le service de pédiatrie de l'HGT,
- Avoir une température corporelle  $\geq 39^{\circ}$  C à l'admission et/ou avoir une "Suspicion d'Infection Bactérienne Invasive" (SIBI) ;
- Le consentement éclairé des parents est obligatoire pour tous les enfants inclus dans l'étude et en plus l'assentiment des enfants de 13 à 18 ans est sollicité;

#### **2.4. 2. Critères de non- inclusion**

Ne prennent pas part à cette étude :

- Le nouveau- né malade n'ayant jamais quitté l'HGT depuis sa naissance ;
- L'enfant âgé de 13 à 18 ans incapable ou refusant de donner tout assentiment pas à cause de la gravité de sa maladie ;
- L'incapacité ou refus du parent ou de l'accompagnateur du patient à donner un consentement

### **2.5. Prélèvement**

Le liquide pathologique est le LCR. Dès les premiers signes cliniques de la maladie, le LCR est prélevé par ponction lombaire entre L4 et L5.

Le prélèvement doit se faire dans des conditions d'asepsie afin d'éviter toute contamination par des germes nosocomiaux.

Le LCR doit être apporté rapidement au laboratoire afin d'être examiné. Il doit être protégé du froid ou de la chaleur, car le méningocoque est un germe fragile.

## 2.6. Protocole et méthode de travail des cultures du LCR et des autres liquides biologiques

Les procédures suivantes sont suivies pour le traitement et l'examen cytotbactériologique du liquide céphalo-rachidien.

Les prélèvements sont reçus au laboratoire dans des tubes stériles et sont immédiatement identifiés puis enregistrés dans le registre de laboratoire.

Le reste du travail se fera sous une hotte à flux laminaire.

Les tests sur le LCR sont réalisés dans l'ordre suivant :

1. Nous identifions les boîtes de gélose ainsi que la lame pour le frottis ;
2. Nous déposons sur les géloses au sang de cheval et ou chocolat 2 à 3 gouttes de LCR puis les boîtes de gélose sont refermées. Nous laissons imbiber la gélose par le LCR pendant quelques minutes ;
3. Une goutte de LCR est déposée sur une lame propre en vue de confectionner un frottis;
4. Après avoir laissé sécher le frottis, il est fixé par "chauffage" de la lame à l'incinérateur de la hotte pendant 5 secondes au maximum ;
5. Nous remplissons l'hémocytomètre de LCR qui est ensuite laissé au repos pour le comptage cellulaire ;
6. Nous revenons pour ensemercer les 2 à 3 gouttes de LCR préalablement déposées sur la gélose au sang de cheval ou de mouton et la gélose chocolat. Les boîtes sont ensuite mises dans l'incubateur à CO<sub>2</sub> en les renversant ;
7. Nous réalisons les tests d'agglutination avec le sérum latex Pastorex meningitis kit ou le sérum Latex meningitidis Kit 5 selon la disponibilité.
8. Nous procédons à la coloration de Gram ;

Les autres liquides biologiques (liquide pleural, liquide péricardique, liquide articulaire) sont traités comme le LCR.

9. Le reste du prélèvement de LCR est gardé pendant 5 jours à la température ambiante du laboratoire.

Les résultats suivants doivent être notifiés au service de pédiatrie dans les deux heures qui suivent la réception du prélèvement au laboratoire, il s'agit :

- du résultat de la coloration de Gram ;
- du résultat du comptage cellulaire ;
- du résultat des tests d'agglutination.

Nous préparons "une fiche de travail LCR" pour y enregistrer le nom du patient, le numéro de dossier et la date du prélèvement. Tous les résultats des tests sont enregistrés sur cette fiche de travail.

Le pronostic vital de la méningite dépend de la précocité du diagnostic.

### **2.7. Examen macroscopique**

L'examen macroscopique indique l'aspect du LCR.

Le LCR normal est incolore, limpide comme « l'eau de roche ». Le liquide pathologique peut être :

- Clair
- Trouble
- Xanthochromique
- Hématique
- Ou autres

L'aspect trouble est lié à une hyperleucocytose.

L'aspect hématique est dû à une hémorragie méningée ou à une ponction traumatique.

L'aspect xanthochromique s'observe à la suite d'une hémorragie méningée évoluant depuis quelques temps ou au cours de certaines affections du névraxe.

Dans tous les cas une culture systématique s'impose.

## 2.8. Cultures

Elles doivent être effectuées en premier sur le liquide non centrifugé. Dans le cas où aucune orientation diagnostique n'est connue, il faut utiliser des milieux enrichis, standards qui permettent la croissance de n'importe quelle espèce bactérienne. Il n'est pas utile d'employer des milieux sélectifs car généralement le LCR n'est infecté que par une seule souche microbienne.

Les milieux sontensemencés avec du LCR non centrifugé puis incubés à 37° C en aérobiose et/ou anaérobiose. L'incubation sous CO<sub>2</sub> est indispensable pour la primoculture des *Neisseria*. [13].

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

*Neisseria meningitidis* est un germe aérobie strict, exigeant pour sa culture des milieux riches. On utilise le plus souvent la gélose au sang cuit et le milieu gono- méningocoque. Sa croissance est favorisée par du CO<sub>2</sub> avec une température optimale de 37° C et de pH optimal égal à 7. Le milieu est rendu sélectif en ajoutant de la vancomycine (VCN). Après 18- 24 heures d'incubation, les colonies apparaissent rondes, lisses, bombées et translucides.

## 2.9. Examen microscopique

### 2.9.1. Cytologie

C'est la numération des éléments à l'aide de la cellule de Malassez ou de Nageotte ou toutes autres cellules appropriées.

Elle se fait par unité de volume en l'occurrence dans un millimètre cube.

Une augmentation du nombre des leucocytes et / ou des hématies est un signe d'infection. La valeur normale de ces éléments dans le LCR ne dépasse pas un à deux éléments.

### 2.9.2. 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 (MGG) ou au bleu de méthylène. Ceci nous permet de déterminer la formule leucocytaire. Dans les méningites purulentes, la formule leucocytaire est à 90 à 95 % des polynucléaires neutrophiles pour 0 à 10 % de monocytes.

### 2.10. Examen direct

Il est réalisé avec le culot de centrifugation. Le frottis est coloré au Gram.

Ceci nous permet d'apporter la certitude en objectivant des diplocoques en grain de café intra ou extracellulaire Gram négatif et de nombreux polynucléaires plus ou moins altérés.

Le liquide est rapidement ensemencé car les germes sont fragiles.

### 2.11. Recherche des antigènes solubles

La détection d'antigènes solubles bactériens dans le LCR, mais également dans les urines et le sérum, a été largement utilisée pour établir un diagnostic étiologique précoce. Actuellement, cette recherche n'est conseillée que comme appoint pour aider le bactériologiste à orienter son diagnostic. En effet, à cause notamment de réactions antigéniques croisées et d'une sensibilité non contrôlée, il n'est pas recommandé d'établir un diagnostic et un traitement sur le seul argument de la présence d'antigènes solubles. Par contre, ce résultat conjugué à celui d'un examen direct de qualité peut permettre au biologiste de donner un bon diagnostic d'orientation. Il peut également aider le diagnostic d'une méningite décapitée.

Il est possible de rechercher dans les liquides biologiques les antigènes solubles de *Streptococcus agalactiae*, *Streptococcus pneumoniae*, *Haemophilus influenzae* (sérotipe b) *Neisseria meningitidis* (sérogroupes A, B, C, W135, Y). Signalons que l'antigène polysaccharidique spécifique du séro groupe B de *Neisseria meningitidis* possède des déterminants communs avec l'antigène

polysaccharidique d'*Escherichia coli* K1, responsable de méningite néonatale. Les antigènes solubles sont recherchés par agglutination passive, par co-agglutination ou par ELISA. [13]

Concernant *Neisseria meningitidis* c'est l'agglutination des particules de latex sensibilisés par des anticorps anti- méningococciques. En fonction des kits commercialisés, les sérogroupes A, B, C, X, Y, W135 peuvent être ainsi identifiés. C'est une technique sensible. Elle est réalisée en quelques minutes soit la quantité minimale d'antigènes. Elle a été évaluée à 50ng. La méthode peut être prise en défaut lors de méningite au début.

L'intérêt de cette technique au latex de diagnostic rapide est triple :

- pallier l'insuffisance du diagnostic direct (germes rares)
- permettre le diagnostic des méningites « décapitées » par un traitement antibiotique intempestif (un traitement précoce peut rendre un résultat négatif).
- assurer une surveillance épidémiologique dans les zones à risque épidémique dépourvues de laboratoires. [10]

**2.12. Identification biochimique :** méthode de la galerie API- NH (Rapide-NH).

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

La galerie API-NH comporte 10 microtubes 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 les changements de coloration.

L'ensemble des résultats est mentionné sous forme de code qui, comparé aux logiciels d'identification correspondants.

#### Examen chimique :

Ils consistent à déterminer la protéinorachie, la glycorachie, et la chloruro-rachie. Le microbiologiste a besoin de connaître assez rapidement le résultat de ces dosages pour orienter son diagnostic et le choix des examens restant à faire. L'inflammation des méninges entraîne des modifications de la barrière hémoméningée et il en résulte un passage plus important des substances plasmatiques dans le LCR : ainsi la protéinorachie est augmentée. La glycorachie est souvent modifiée, car la présence des bactéries entraîne une consommation de glucose (dans la grande majorité des cas de méningites purulentes, le glucose n'est présent dans le LCR qu'à l'état de traces). L'interprétation d'une glycorachie doit tenir compte d'une éventuelle hyperglycémie. Les chlorures sont également dosés car l'hyperchloruro-rachie est habituelle dans les méningites tuberculeuses. [13]

### 2.13. Protocole de techniques des hémocultures positives

#### Présentation de la méthode

L'appareil "Bactec 9050 de chez Becton Dickinson Microbiology Systems, Sparks, Md." et d'autres automates d'hémoculture comme le "BacT- ALERT 3D Combination de chez bio- Mérieux", utilisent des méthodes de détection des flacons positifs basées sur différentes mesures du CO<sub>2</sub>. Les microorganismes présents dans les bouteilles Bactec libèrent du CO<sub>2</sub> qui réagit avec un colorant présent dans le capteur de l'appareil. Ceci module la quantité de lumière qui est absorbée par un composant fluorescent du capteur. Les détecteurs photosensibles de l'instrument mesurent l'intensité de la fluorescence, laquelle correspond à la quantité de CO<sub>2</sub> libérée par les microorganismes. La mesure est ensuite interprétée par le système en fonction des paramètres de positivités pré-programmés. [5]

Le système "BacT- ALERT 3D Combination" fonctionne grâce à une technologie colorimétrique développée par bio- Mérieux, la croissance des microorganismes dans chaque flacon est constamment surveillée par un

réflectomètre très sensible. Tout changement de statut des flacons est enregistré par un signal sonore et visuel comme pour le Bactec. [7]

La capacité de l'automate Bactec 9050 est de 50 flacons. Celle de "BacT-ALERT 3D Combination" est de 120 flacons. Chez chacun de ces fabricants il existe d'autres automates de grande capacité.

Un volume de 2-5 ml de sang est prélevé sur le patient et injecté directement dans chaque flacon d'hémoculture qui est saisi dès que possible dans l'appareil pour garantir son efficacité. Il s'agit d'une innovation par rapport à l'hémoculture classique qui demande un volume de 10 ml de sang.

Le Bactec 9050 fonctionne par un système d'agitation continue des flacons versus intermittent des Bactec des séries de grande capacité (Bactec 9120 et Bactec 9240). [2]

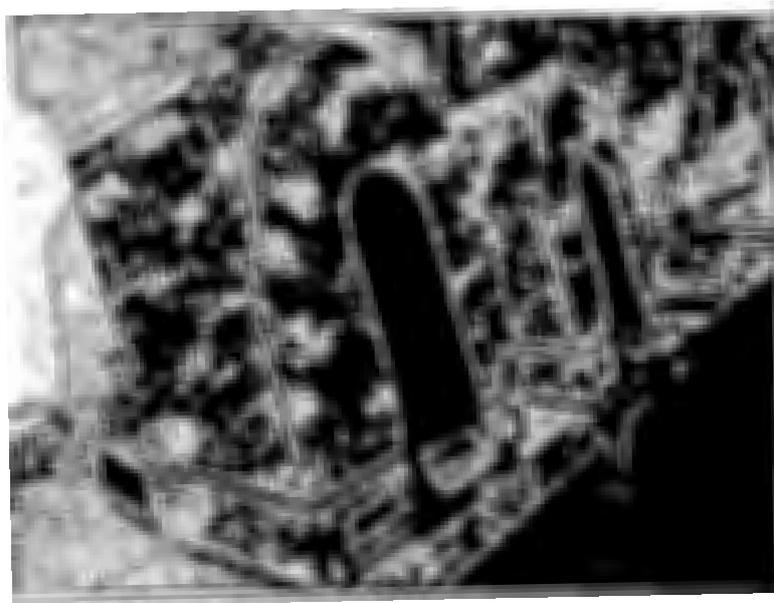


figure 2 : Bactec 9050

Il existe 5 types de flacons Bactec :

- BD Bactec TM PLUS /F
- BD Bactec TM LYTIC/10 Anaerobic/F
- BD Bactec TM PEDS PLUS /F
- BD Bactec TM MYCOSIS- IC/F
- BD Bactec TM MYCO/F LYTIC



figure 3 : Le flacon BD Bactec<sup>TM</sup> PEDS PLUS /F

Le flacon BD Bactec<sup>TM</sup> PEDS PLUS /F a été utilisé pour sa conception à la détection des germes pathogènes courants chez les enfants, ceci exclut d'autres pathogènes dont la détection est assurée par les autres types de flacons Bactec.

Les procédures suivantes sont suivies lorsque le Bactec 9050 indique que l'hémoculture est positive :

1. la bouteille du Bactec 9050 est retirée de l'appareil. Sa capsule en plastique est désinfectée avec de l'alcool, ensuite une aiguille de subculture est insérée à travers la capsule et immédiatement après nous préparons une coloration de

Gram ainsi qu'une subculture de l'échantillon de sang en utilisant les milieux suivants selon le cas :

- a. Milieu de gélose au sang de cheval ou de mouton ;
- b. Milieu de gélose Mac Conkey ;
- c. Milieu de gélose chocolat ;

Sont écrits sur chaque boîte le numéro du Bactec, les initiales du patient ainsi que la date ;

2. Reporter tous les résultats sur la fiche de travail ;

3. Procéder à la lecture de la coloration de Gram :

a. Si aucun microorganisme n'est détecté sur la lame de coloration, remettre la bouteille dans le Bactec 9050. Ceci devrait être fait le plus tôt possible dans les 3 heures qui suivent la sortie du flacon. Dans les 3 heures, le flacon de Bactec doit être subcultivé sur la boîte de gélose au sang, la boîte de gélose Mac Conkey et la boîte de gélose chocolat. Les boîtes et la bouteille sont incubées et observées pendant une durée de 5 jours (à compter de l'incubation de la bouteille). La bouteille est encore subcultivée si au bout de ces 5 jours aucun microorganisme n'a toujours pas été identifié ;

b. si des microorganismes sont détectés, ne plus remettre la bouteille dans le Bactec 9050. Reporter sur la fiche de travail les résultats de la coloration de Gram (par exemple : CGPgr, CGPpr, CGPch, BGP, BGN, CoccoBGN, DCGN, Levures...);

4. le service de pédiatrie est informé d'un résultat positif de la coloration de Gram ;

5. si des cocci Gram positif en paires ou en chaînettes sont observés, placer un disque de bacitracine (A) et un disque d'optochine (P) sur la gélose au sang de la subculture ;

6. les boîtes contenant les subcultures sont placées dans l'incubateur à CO<sub>2</sub>.

La coloration de Gram est positive, la bouteille est incubée avec les Boîtes.

7. lorsqu'une croissance est observée, reporter sur la fiche de travail les références des boîtes dans lesquelles des colonies ont été observées. Faire une coloration de Gram sur ces colonies et reporter les résultats sur la fiche de travail. S'il existe plusieurs genres de colonies, l'aspect de chaque colonie bactérienne est aussi reporté ;

8. si des cocci Gram-positifs sont observés, se référer à l'organigramme de travail comme suit :

- Enregistrer les résultats des tests des disques d'optochine et de bacitracine ainsi que le test de la catalase ;

- si le microorganisme est catalase- positif et ressemble au *Staphylocoque* (cocci Gram-positif en grappes), faire un test de coagulase.

Si le microorganisme est coagulase- positive, il faudrait l'enregistrer comme étant *Staphylococcus aureus*. Si le microorganisme est coagulase négatif après 24 heures, il faudrait l'enregistrer comme étant *Staphylococcus* à coagulase négative ; - Si le microorganisme est catalase- négatif, bêta- hémolytique, et bacitracine- positif (inhibé par la bacitracine), enregistrer le micro- organisme comme étant *Streptococcus* Groupe A

- Si le test à la bacitracine ou à la catalase est flou, faire un PYR test. Si le PYR test est positif, enregistrer le micro-organisme comme étant *Streptococcus* groupe A ;

- Si le microorganisme est catalase négatif, bêta- hémolytique, et bacitracine négatif, faire les tests d'agglutination des streptocoques des groupes A et B. Enregistrer le microorganisme comme étant *Streptococcus* bêta- hémolytique de groupe A, de groupe B ou non groupable ;

- Si le micro- organisme est catalase négative, optochine positif (inhibé par le disque d'optochine) et diplocoque Gram-positif, l'enregistrer comme étant *Streptococcus pneumoniae*. Si le test d'optochine est négatif ou non concluant, faire un test de «bile solubility». Si ce test de solubilité par la bile est positif, enregistrer le micro-organisme comme étant *Streptococcus pneumoniae* ;

Si le microorganisme ressemble au *Streptococcus* (catalase négative, cocci Gram-positif en chaînette), mais négatif au test du disque d'optochine et négatif au test de solubilité par la bile, effectuer le PYR test.

Si le résultat du PYR test est positif, enregistrer le micro- organisme comme étant *Enterococcus species*. Si le résultat du PYR test est négatif, enregistrer le micro-organisme comme étant *Streptococcus* alpha ou gamma hémolytique selon la réaction d'hémolyse ;

9. Si le microorganisme est un bacille Gram-positif, aucun test additionnel n'est effectué, enregistrer seulement « Bacille Gram- Positif » ;

10. Si des bactéries Gram-négatif sont observées, la référence est faite à l'organigramme ainsi qu'il suit :

- Si le micro- organisme pousse sur la gélose au sang et la gélose Mac Conkey faire un test d'oxydase et inoculer une galerie API 20 E. Les Enterobacteriaceae (tels que *Escherichia*, *Salmonella*, *Shigella*) sont oxydase- négatifs ; les *Vibrio* et les *Pseudomonas* sont oxydase positive. Si les microorganismes isolés sont identifiés comme étant *Salmonella*, *Shigella* ou *Vibrio*, confirmer le résultat par un test de sérotypage. Enregistrer le résultat de ces différents tests ;

- si le microorganisme ne pousse que sur la gélose au sang de cheval ou de mouton et sur la gélose chocolat mais ne pousse pas sur la gélose Mac Conkey et est diplocoque Gram-négatif, *Neisseria meningitidis* pourrait être suspecté. Il faudra faire un test d'oxydase. Si l'identification préliminaire indique *Neisseria meningitidis*, le confirmer par un test de sérotypage ;

- si le micro- organisme ne pousse que sur la gélose au sang de cheval ou de mouton et sur la gélose chocolat mais pas sur la gélose Mac Conkey et se présente comme de petits bacilles Gram-négatif, nous pouvons suspecter *Haemophilus influenzae*. Faire un test d'oxydase et un test des facteurs X et V. Si l'identification indique *Haemophilus influenzae*, le confirmer par un test de sérotypage ;

11. Procéder à un antibiogramme par la méthode de diffusion des disques d'antibiotiques selon Kirby- Bauer ;

12. Enregistrer le résultat dans le registre de laboratoire et informer le médecin du patient de l'identification finale.

## **2.14. Techniques utilisées pour l'identification des bactéries**

### **2.14.1. Coloration de Gram**

Principe :

La coloration de Gram est la coloration la plus importante dans le laboratoire de microbiologie. Les bactéries peuvent être divisées en micro-organismes Gram positif et en micro-organismes Gram négatif. Les bactéries Gram positif retiennent la coloration violette du Violet de Gentiane (ou du Cristal Violet) et auront une teinte bleue au microscope.

Les bactéries Gram négatif peuvent être décolorées, leur enlevant ainsi la coloration violette du Violet de Gentiane avec une solution d'alcool acétone. Les bactéries sont ensuite colorées en rouge avec la safranine (ou la fuschine basique).

C'est parce que la coloration de Gram est très importante, qu'elle doit être accomplie avec le plus grand soin.

Matériels et réactifs utilisés :

- Microscope binoculaire avec objectifs 10 et 100
- Huile à immersion

Coffret de colorants de Gram contenant : (Violet de gentiane ou cristal violet, Solution de lugol, Solution de décolorant alcool acétone, Safranine ou fuschine basique)

- Lames porte- objet
- Portoir de lame
- Crayon de papier
- Papier buvard
- Flacon d'eau distillée

- Bac de coloration

Procédure de la coloration :

1. Utiliser une lame propre sur laquelle sont écrits le nom du patient et l'identification du spécimen avec un crayon de papier. Ne pas utiliser de stylo à bille ;
  2. Etaler l'échantillon en un frottis mince sur la lame de verre afin de permettre au frottis de sécher à l'air libre. Ne pas surtout chauffer la lame pour faire sécher rapidement le frottis ;
  3. Lorsque la lame est complètement séchée, la tenir contre l'incinérateur jusqu'à ce qu'elle soit tiède sans être brûlante au toucher ;
  4. Recouvrir le frottis de lame avec le Violet de gentiane pendant 30 à 40 secondes ;
  5. Verser le surplus de la solution de Violet de gentiane et rincer la lame avec un jet d'eau faible et ensuite égoutter l'excès d'eau. Utiliser un faible jet d'eau pour laver la lame, si non le spécimen se détache de la lame ;
  6. Recouvrir le frottis avec la solution Iode- iodure (Solution de Lugol) pendant 30 à 40 secondes ;
  7. Verser la solution de Lugol de la lame et la rincer avec un faible jet d'eau. Egoutter l'excès d'eau ;
  8. Goutte à goutte la solution de décolorant alcool- acétone est versée sur la lame de manière à recouvrir entièrement le frottis ;
  9. Immédiatement après, rincer la lame avec un faible jet d'eau. L'excès d'eau est égoutté ;
- Note : si la solution alcool- acétone reste trop longtemps sur la lame, les micro-organismes Gram positif pourraient apparaître comme Gram-négatif.
10. Recouvrir le frottis avec la solution de safranine (ou la fuschine basique) pendant 60 secondes (2 fois plus longtemps que les autres étapes) ;

11. Verser la safranine qui une minute plus tard est rincée en tenant la lame sous un faible jet d'eau, l'excès d'eau est égoutté. Prudemment, sécher la lame avec du papier buvard. Ne pas surtout froter la lame pour la faire sécher.

Interprétation :

La clé dans l'interprétation de la coloration de Gram est d'identifier la morphologie des micro-organismes (exemple : cocci, bacilles) ainsi que leur relation les uns par rapport aux autres (exemple : cellules isolées, en paires, en chaînettes et en grappes). La reconnaissance de ces caractéristiques peut aider à l'interprétation de la coloration de Gram.

Par exemple

Cocci Gram-positif en grappes = *Staphylocoques*

Note : Aucun cocci Gram négatif en grappes n'existe, ainsi les cellules qui apparaissent Gram négatif sont probablement des cocci Gram-positif qui ont été décolorés trop longtemps.

Cocci Gram-positif en chaînettes = Streptocoques.

Note : Il n'existe pas de cocci Gram- négatif en chaînettes.

Cocci Gram-positif en paires = *Streptococcus pneumoniae* ou *Enterococcus*

Note : Ces cocci sont allongés et attachés par leur bout.

Bacilles Gram- positif : égale plusieurs micro-organismes

Note : Il existe plusieurs bacilles à Gram positif comprenant *Corynebacterium*, *Lactobacillus*, *Propionibacterium*.

Cocci Gram-négatif en paires = *Neisseria*

Note : Les cocci Gram-négatif les plus connus sont arrangés en pair (diplocoques) et attachés par leur côté. Ils ressemblent à des grains de café.

Bacilles Gram-négatif = Plusieurs micro-organismes

Note : Il existe plusieurs bacilles Gram-négatif comprenant *Haemophilus*, *Escherichia*, *Salmonella*, *Shigella*, *Pseudomonas*, *Vibrio*.

## 2.14.2. Tests biochimiques et métaboliques

### 2.14.2.1. Oxydase

Principe :

Le test d'oxydase est un examen rapide, utilisé pour identifier les bactéries Gram-négatifs. Cet examen est utilisé comme un indicateur redox qui passe d'une teinte incolore (quand c'est réduit) à une couleur violet- foncée (quand c'est oxydé). Les bactéries qui possèdent le cytochrome C sont capables d'éliminer des électrons (oxyde) de cet indicateur redox, cause pour laquelle la couleur change.

Matériels et réactifs utilisés :

Papier buvard

Anse

Réactif d'oxydase : Phénylène- diamine

Procédure :

Mettre une goutte de réactif d'oxydase (exemple : un composé de phénylène- diamine) sur un papier buvard.

Sur une gélose au sang est prélevée une colonie bactérienne et la mettre sur le papier buvard imbibé de réactif d'oxydase.

Interprétation :

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

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

Ne pas lire le test après 30 secondes à cause des faux- positifs qui peuvent se développer.

Le test d'oxydase est très important pour l'identification des bactéries Gram-négatif. Les bactéries oxydase positives les plus connues sont *Neisseria*, *Haemophilus*, *Pseudomonas*, *Vibrio*. Les bactéries oxydase négatives les plus connues sont les Enterobacteriaceae, une grande famille de bactéries qui inclut, *Klebsiella*, *Escherichia*, *Salmonella*, *Shigella*.

### 2.14.2.2. Tests immunologiques : Tests d'agglutination Slidex méningite Kit

#### Principe

Les réactifs Slidex méningite, constitués de particules de latex sensibilisées par des antisérums spécifiques, permettent, par une technique d'agglutination rapide sur carte, de détecter l'antigène correspondant dans le LCR.

Matériels :

Le coffret contient :

(Réactif R1 : Latex *Haemophilus influenzae* type b, Réactif R2 : Latex *Streptococcus pneumoniae*, Réactif R3 : Latex *Neisseria meningitidis* groupe A, Réactif R4 : Latex *Neisseria meningitidis* groupe B/ *Escherichia coli* K1  
Réactif R5 : Latex *Neisseria meningitidis* groupe C, Réactif R6 : Contrôle Positif, extrait antigénique de : *Haemophilus influenzae* type b)

Cartes jetables

Bâtonnets jetables

#### Mode opératoire

Chauffer systématiquement les LCR à 100° C pendant 5 minutes

Centrifuger 10 minutes à 2000 tours/ minutes, et récupérer le surnageant.

Le surnageant constitue l'extrait à tester.

- Méthodologie :

- 1- Amener les réactifs à une température ambiante comprise entre 18 et 25° C.
- 2- Bien remettre en suspension les réactifs latex. Chasser les gouttes des réactifs retenues dans le compte- goutte.
- 3- Déposer sur une carte, dans les emplacements prévus à cet effet, une goutte de chacun des latex.
- 4- A chacune des gouttes, ajouter 30 µl de surnageant de l'échantillon à tester.
- 5- Mélanger le contenu de chaque cercle, en utilisant toute la surface, à l'aide d'un bâtonnet (utiliser une extrémité propre de bâtonnet pour chaque cercle).

6- Imprimer à la carte un léger mouvement de rotation pendant 2 minutes maximum et lire sous éclairage normal sans utiliser de loupe.

7- Lecture :

Une réaction négative se traduit par une suspension homogène.

Une réaction positive se traduit par l'apparition d'une agglutination en moins de 2 minutes.

8- Interprétation des résultats :

Une réaction positive avec l'un des réactifs latex témoigne de la présence dans le liquide biologique de l'antigène correspondant.

Une réaction positive avec le latex R<sub>4</sub> (*Neisseria meningitidis* groupe B/*Escherichia coli* K1), chez un nouveau-né ou un prématuré, traduit dans la majorité des cas la présence de *Escherichia coli* K1, chez un sujet plus âgé, elle traduit plus probablement la présence de *Neisseria meningitidis* B.

En cas d'apparition d'une agglutination en moins de 2 minutes avec deux réactifs latex ou plus, la réaction est ininterprétable.

### **3.15. Test de Sensibilité des antibiotiques : Méthode de diffusion des disques d'antibiotiques selon Kirby- Bauer**

Ce procédé définit l'utilisation de la méthode de diffusion des disques d'antibiotiques in vitro selon Kirby- Bauer. Pour tester la sensibilité, d'importants isolats en clinique. Les résultats de cet examen peuvent aider les médecins dans la sélection de l'antibiotique approprié pour la thérapie.

**Principe :**

La méthode de diffusion des disques selon Kirby- Bauer est basée sur l'observation qu'il y a une corrélation entre la concentration minimale inhibitrice (CMI) et le diamètre de la zone d'inhibition de croissance bactérienne autour d'un disque d'antibiotique. La taille de la zone d'inhibition de croissance est déterminée par la sensibilité du micro-organisme à l'antibiotique, la concentration du disque d'antibiotique, le taux de diffusion de l'antibiotique du disque et le taux de croissance du micro-organisme. En standardisant les

conditions du test (exemple : préparation d'un seul antibiotique contenu dans le disque, milieu de culture spécial, atmosphère et durée d'incubation) et avec une concentration du micro-organisme du test, la zone d'inhibition mesurée sera corrélée avec la sensibilité du micro-organisme à l'antibiotique (exemple : plus la zone est grande, plus l'organisme est sensible).

Le test doit être exécuté exactement comme décrit sinon les résultats ne seront pas précis.

Matériels et réactifs utilisés :

- Gélose de Mueller- Hinton additionnée de 5% de sang de cheval (MHA- B)
- Milieu de culture pour *Haemophilus* (HTM)
- Solution saline stérile à 0,85 %
- Standard 0,5 de Mc Farland
- Disques antibiotiques pour test de sensibilité
- Ecouvillons en coton stériles
- Pipettes à sérum
- Pincettes à disques et/ ou applicateur de disque
- Conditions de stockage nécessaires :

1. Milieux de culture (MHA- B et HTM) : A conserver au réfrigérateur, ils doivent être réchauffés à la température de la salle avant leur utilisation. Les boîtes non- stockées dans des sacs en plastique se déshydrateront et ne pourront pas être utilisées convenablement ;

2. Solution saline stérile : A conserver au réfrigérateur ;

3. Standard 0.5 de Mc Farland : A conserver au noir dans un récipient. Ne pas utiliser de tube rayé. Le diamètre du tube doit être le même que celui des tubes de solution saline utilisés pour la préparation des tests d'inoculum ;

4. Disques d'antibiotiques : Congeler les disques à  $-20^{\circ}$  C ou à une température plus basse pour de longue conservation ;

5. Dès qu'une boîte est ouverte pour usage, elle peut être conservée au réfrigérateur dans une capsule bleue de 50 ml ensemble avec le dessiccateur.

Procédure du test :

1. Les boîtes de gélose doivent être réchauffées à la température de la salle avant qu'elles ne soient inoculées. Aucun excès d'humidité ne doit se trouver sur la surface de la gélose. La surface peut être humide mais de gouttelette d'humidité ne devraient pas être présentes au moment d'inoculer la gélose avec le micro-organisme ;
2. La gélose HTM (gélose spéciale) est utilisée pour les tests *Haemophilus*. La gélose MHA-B (Mueller Hinton au sang) est utilisée pour tous les autres tests ;
3. Enlever du réfrigérateur les disques pour le test de sensibilité afin de leur permettre de se réchauffer à la température de la salle. Au paravent ils auront été enlevés du récipient de conservation. Il ne faut pas exposer les disques froids à l'air de la salle parce que la condensation de l'humidité sur les disques froids conduirait à une détérioration rapide des antibiotiques. Vérifier les dates d'expiration sur les boîtes d'antibiotiques.

Ne pas utiliser de disques périmés ;

4. Sélectionner au moins 4 à 5 colonies bien isolées de même morphologie sur la gélose au sang. Toucher le sommet de chaque colonie avec une anse et nous les transférons dans un tube de solution saline. Ajuster l'inoculum de la solution saline à une turbidité égale à un standard de 0.5 de l'échelle de Mac Farland en utilisant le turbidimètre. Cette étape est très importante. La boîte de gélose est immédiatement inoculée avec l'inoculum ajusté ;
5. Plonger un écouvillon stérile dans la suspension ajustée. Il est tourné plusieurs fois sur la paroi intérieure du tube au-dessous du niveau du liquide pour enlever l'excès de l'inoculum. Inoculer la surface entière de la boîte de gélose en faisant tourner la boîte d'approximativement d'un angle de 60 ° et ensemençer de nouveau. Faire tourner la boîte et l'ensemencement est répété jusqu'à trois fois pour s'assurer d'une distribution régulière de l'inoculum. A l'étape finale, le bord de la gélose est tamponné ;

6. Inoculer une boîte pour *Haemophilus influenzae* ; pour *Streptococcus pneumoniae*, *Staphylococcus aureus* ; deux boîtes de gélose sont inoculées pour les autres bacilles Gram négatifs ;

7. Laisser l'excès d'humidité s'absorber par la gélose pendant 5 à 10 minutes avant d'appliquer les disques d'antibiotiques. Placer les disques d'antibiotique sur la boîte en utilisant des pinces stériles. Le disque est pressé sur la surface de la gélose avec des pinces stériles pour s'assurer du contact complet avec la surface de la gélose. Ne plus enlever le disque une fois qu'il est arrivé au contact avec la surface de la gélose parce que l'antibiotique diffuse dans la gélose presque immédiatement.

Utiliser souvent des applicateurs de disques d'antibiotiques ;

8. Les disques d'antibiotiques suivants seront testés:

a. pour *Streptococcus pneumoniae* : Oxacilline 1 µg (pour le test de Pénicilline 10 UI), Céftriaxone 30 µg, Erythromycine 15 µg, Chloramphénicol 30 µg ;

b. pour *Staphylococcus aureus* : Pénicilline 10 UI, Oxacilline 1 µg, Céftriaxone 30 µg ;

c. pour *Haemophilus influenzae* : Ampicilline 10 µg, Céftriaxone 30 µg, Chloramphénicol 30 µg ;

d. pour les autres bacilles Gram négatif

I. boîte de gélose N°1- Ampicilline 10 µg, Céftriaxone 30 µg, Chloramphénicol 30 µg.

II. boîte de gélose N°2- Gentamicine 15 µg, Cotrimoxazole 25 µg, Ciprofloxacine 5 µg.

9. Laisser les boîtes pendant 15 minutes après que les disques aient été déposés avant l'incubation proprement dite.

Les espèces *Streptococcus* et *Haemophilus* sont placées dans l'incubateur à CO<sub>2</sub> tous les autres micro-organismes devraient être placés dans un incubateur en aérobose.

Interprétation :

1. Tous les tests de sensibilité sont lus après 20 à 24 heures d'incubation. Si les examens sont lus plutôt ou après 24 heures, les résultats pourraient ne pas être précis ;

2. Mesurer les diamètres de la zone d'inhibition complète du disque, au millimètre près, en utilisant une règle posée sur la face postérieure de la boîte. Les résultats d'Oxacilline de *Staphylococcus* sont interprétés en tenant la boîte face à la lumière afin que toute croissance puisse être mise en évidence. Toute croissance discernable dans la zone d'inhibition est indicatrice de la résistance à la vancomycine ou à l'Oxacilline. Fréquemment ces colonies seront très petites ; alors il faudrait examiner les boîtes avec soins.

3. La limite est l'aire dans laquelle une croissance évidente est visible à l'œil nu, excepté la trace de la ligne de croissance à la lisière de la zone d'inhibition.

a. la croissance de larges colonies à l'intérieur d'une zone d'inhibition claire devrait indiquer un mélange de croissance. Si tel est le cas alors la sensibilité est mixée, reprendre le test. Si les colonies persistent dans la zone, il faut les considérer comme significatives ;

b. avec le Cotrimoxazole, les micro-organismes se développent au travers de plusieurs générations avant d'être inhibés. Nous ne tiendrons pas compte de la faible croissance, nous devons lire seulement les limites de la croissance en abondance ;

c. Se référer à la « carte de référence » pour l'interprétation des tests ;

d. Les tests du disque de Pénicilline pour *Streptococcus pneumoniae* ne sont pas exacts. C'est la raison pour laquelle le disque d'Oxacilline 1 µg est utilisé. Ne pas reporter les résultats comme oxacilline mais plutôt les reporter comme pénicilline.

Compte-rendu :

1. Reporter les résultats dès que l'identification du micro-organisme est complète ;

2. Si le profil de sensibilité est atypique pour le micro- organisme identifié, l'identification et le test de sensibilité devraient être repris. Si les résultats restent atypiques, ils pourraient être discutés avec le superviseur du laboratoire ou le directeur avant de les reporter ;

3. Quelques résultats avec les tests des disques de diffusion pourraient être irréalisables. Les microorganismes fastidieux ou lents en croissance ne pourraient pas être testés par la méthode. En plus, des combinaisons de micro-organismes et d'antibiotiques ne peuvent pas être testés de façon fiable avec la méthode de diffusion des disques. Les guides suivants seraient utilisés pour ces micro-organismes

a. Reporter comme résistants tous les tests de *Salmonella* et *Shigella* avec des aminoglycosides et les Céphalosporines de première et seconde générations

b. Si le *Staphylococcus* est résistant à l'Oxacilline, reporter Pénicilline et Céftriaxone comme résistants sans tenir compte de ce que le test du disque indique.

#### **2.16. Conservation des cultures pures [22]**

Les laboratoires de bactériologie ont le désir et le souci de conserver les cultures des différentes espèces bactériennes isolées. Ces cultures servent de souches de référence. Elles sont fréquemment utilisées pour l'enseignement, le contrôle ou pour la recherche. L'intérêt de se référer à des souches standard est devenu si évident que des organisations nationales ou internationales se sont créées à cet effet. Leur but est le maintien en cultures pures des microorganismes tels que les levures, les champignons inférieurs, les bactéries, les rickettsies et les virus. L'une des plus célèbres est « l'American Type Culture Collection » (ATCC) située à Rock ville aux Etats-Unis. En Angleterre, la plus connue est la «National Collection of Type Cultures» (NCTC). En France, la plus importante est celle de l'Institut Pasteur de Paris. Lorsqu'une nouvelle espèce est isolée, il est recommandé de l'envoyer dans plusieurs de ces collections internationales pour la faire connaître.

Deux possibilités sont offertes aux collectionneurs pour maintenir les souches en survie et leur conserver toutes leurs propriétés. On peut simplement les cultiver sur des milieux adaptés et les transférer périodiquement sur des milieux neufs. Il est nécessaire de bien connaître le milieu le plus convenable, la température la plus favorable et la durée limite de stockage. Les précautions élémentaires suivantes sont prises pour assurer cette conservation :

- La dessiccation du milieu est évitée en bouchant soigneusement l'orifice des tubes de culture ou mieux en les scellant au chalumeau.
- La culture est conservée à l'abri de la lumière ou à la température du laboratoire ou dans les meilleures conditions, au réfrigérateur (+ 4 °C).
- Le milieu de culture est dans le cas le plus général une gélose nutritive inclinée,ensemencée en plusieurs points ou une gélose nutritive en culot,ensemencée par piqûre centrale.

Ainsi peut-on procéder avec les bactéries à croissance rapide comme le sont les *Entérobactéries*, les *Staphylocoques*, etc. Pour de nombreux autres germes, on aura recours à des milieux particuliers : sérum coagulé pour les *Corynébactéries*, gélose pomme de terre pour les *Brucellae*, gélose sans peptone pour les *Bacillus*, etc.

Les souches isolées dans notre cas d'étude sont conservées par congélation.

Deux paramètres importants parmi d'autres conditionnent sa mise en œuvre : le choix de la température et surtout la vitesse d'abaissement à la température choisie.

Pour conserver dans les meilleures conditions les structures cellulaires, il convient de les congeler à la température la plus basse et d'y parvenir dans les délais les plus brefs.

Les souches sont conservées dans un congélateur de -90 à - 65 °C.

Chaque souche porte une étiquette d'identification.

E B T / D

N° B-P

N° D et G I

I P /E<sub>2</sub>

E = Etage du congélateur ; B = Bloc ; T = Tiroir ; D = Date

N° B-P : numéro de la boîte et position de la souche

N° D et G I : numéro de dossier du patient et germe isolé

I P /E<sub>2</sub> : initiale du patient /Etude 2

Pour l'assurance de qualité, les procédures suivantes sont suivies :

- l'identification des spécimens ;
- l'enregistrement dans les registres de travail ;
- la saisie des résultats ;
- le contrôle de qualité consistant en :

## **2.17. Le suivi des appareils**

### **2.17.1. Relevé des températures quotidiennes**

On procède à un relevé quotidien des températures pour les appareils suivants :

- Congélateur de conservation des souches, température de - 90 °C à - 65 °C.
- Congélateur de conservation des disques d'antibiotiques et des facteurs d'identification, température de - 30 °C à - 20 °C
- Réfrigérateurs de conservation des réactifs et des milieux de cultures, température de 2,8 à 8 °C.
- Automates d'hémoculture Bactec 9050.

### **2.17.2. Le suivi du niveau d'eau de l'incubateur**

De l'eau distillée est utilisée en vue du ravitaillement en eau de l'incubateur.

### **2.17.3. Le nettoyage des filtres**

Les filtres situés sur les côtés latéraux des Bactec sont nettoyés régulièrement.

#### 2.17.4. Le contrôle de la turbidité de l'étalon de solution utilisé sur l'appareil Mc Ferland

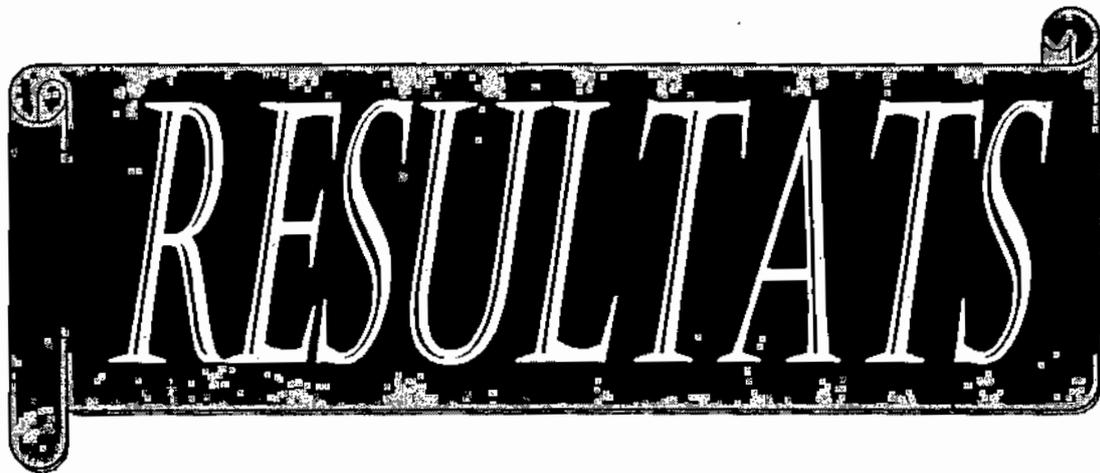
#### 2.17.5. Le contrôle de la qualité des réactifs et des milieux de culture

Les réactifs et les milieux de culture sont contrôlés en utilisant les souches de référence suivantes :

- *Streptococcus pneumoniae* ATCC 49619 ;
- *Haemophilus para-influenzae* ATCC 7901 ;
- *Haemophilus influenzae type b* ATCC 49247 ;
- *Streptococcus* groupe B ATCC 12386 ;
- *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 ;
- *Streptococcus* groupe A ATCC 19615 ;
- *Escherichia coli* ATCC 25922

Les milieux et les réactifs utilisés sont :

1. Des milieux de culture : gélose au sang de mouton et ou gélose au sang de cheval, gélose Mac Conkey, gélose Mueller Hinton, gélose chocolat, gélose trypticase soja.
2. Des réactifs permettant la réalisation des techniques suivantes :  
Coloration de Gram, test de catalase, test de coagulase, test d'oxydase.
3. Les réactifs permettant la révélation de la galerie API 20 E sont : TDA, INDOL, VP.
4. Les disques de facteurs X, V et X+V, les disques d'optochine, les disques de bacitracine.



RESULTATS

### 3. RESULTATS

#### 3.1. Résultats globaux

De 2002 à 2006 nous avons effectué 13965 prélèvements d'hémocultures dont 3016 sont positifs soit 21,60 %. Pendant la même période 5469 prélèvements de LCR ont été analysés dont 1784 sont positifs soit 32,62 %.

- Le nombre total de souches isolées *Neisseria meningitidis* est de 56.

L'analyse de nos résultats donne :

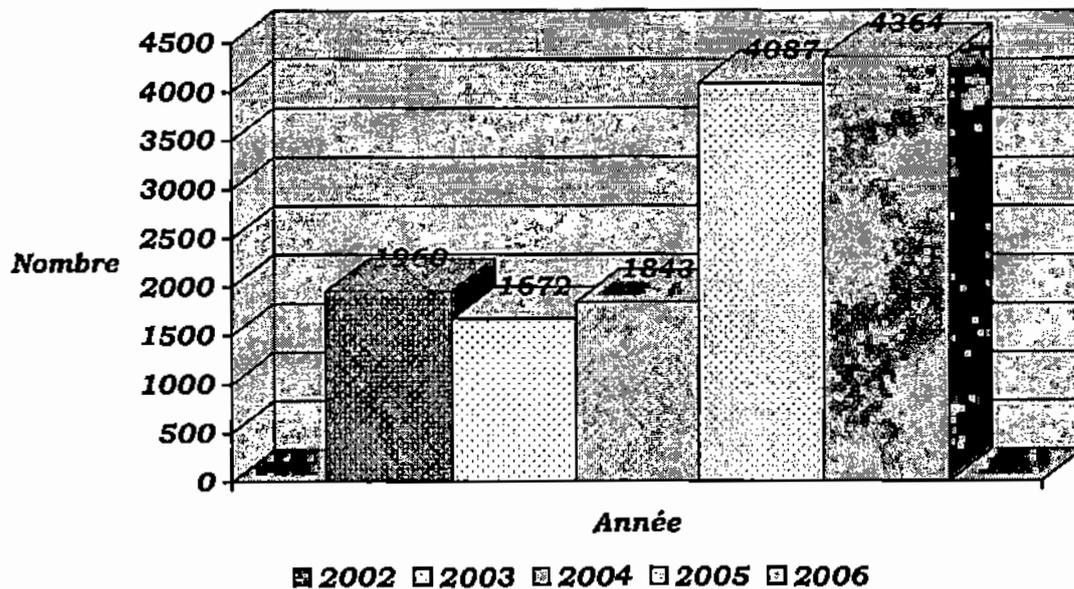
### 3.2. Présentation des résultats sociodémographiques

#### **TABLEAU I :**

**Total des prélèvements effectués à l'HGT chez les enfants de moins de 18 ans de 2002 à 2006**

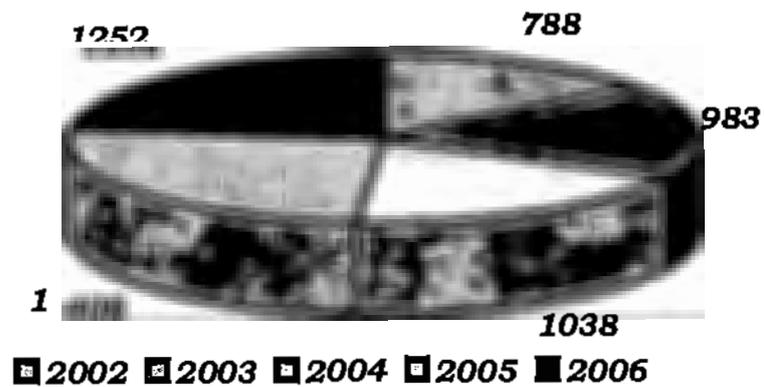
Année	Nombre	%	LCR	%
2002	1978	14,17	788	14,41
2003	1672	11,20	983	17,97
2004	1843	13,20	1038	18,98
2005	4087	29,30	1408	25,75
2006	4375	31,33	1252	22,89
<b>Total</b>	<b>13965</b>	<b>100%</b>	<b>5469</b>	<b>100%</b>

Il a été effectué 13965 hémocultures et 5469 LCR



**figure 4 :** Représentation graphique des prélèvements d'hémocultures par année.

En 2006 il a été effectué plus de prélèvements soit 4364



**figure 5 :** Représentation graphique des prélèvements de LCR par année  
On a reçu plus de prélèvements en 2005

**TABLEAU II : Résultat des Hémocultures effectuées à l'HGT chez les enfants de moins de 18 ans de 2002 à 2006**

Types de prélèvements et cultures	Résultats cultures	Nombre	Pourcentage
Hémocultures	Cultures avec germes	2131	15.26
	Bactec positif Cultures avec contaminants	846	6.06
	Cultures négatives	39	0.28
Total		3016	
	Bactec négatif Cultures négatives	10949	78.4
Total		13965	100,00

Les cultures avec germes représentent 15,26 %

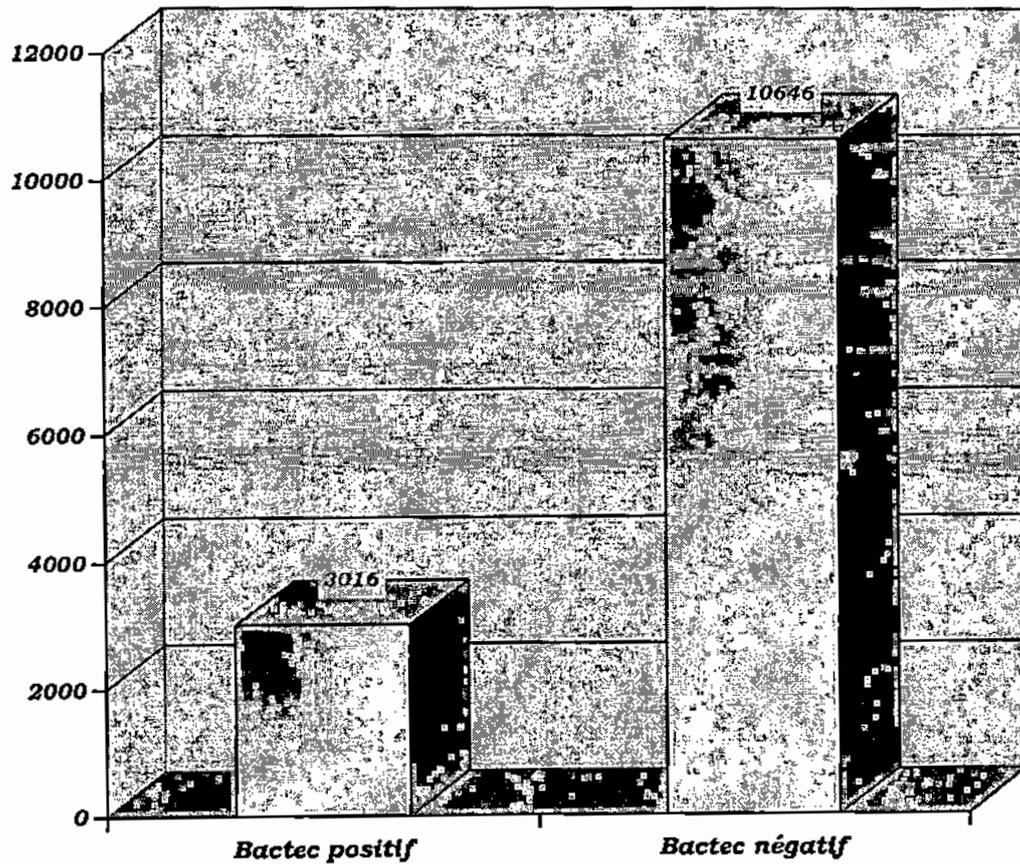
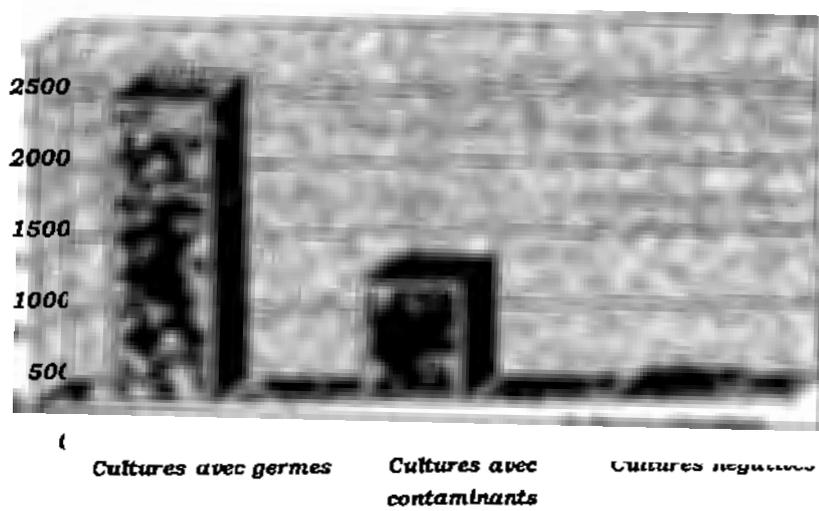


figure 6 : Représentation graphique en fonction des résultats des hémocultures



**figure 7 : Représentation graphique du résultat de la culture du Bactec positif**

**TABLEAU III: Résultats des LCR effectués à l'HGT chez les enfants de moins de 18 ans de 2002 à 2006**

Types de prélèvements et cultures	Résultats par			
	isolement	Nombre	Pourcentage	
LCR en culture sur gélose	Cultures positives	Cultures avec germes	931	17,02
		Cultures avec contaminants	853	15,60
	Total		1784	
	Cultures négatives	négative	3685	67,38
Total			5469	100,00

Le nombre de cultures avec germes est de 931 soit 17,02 %

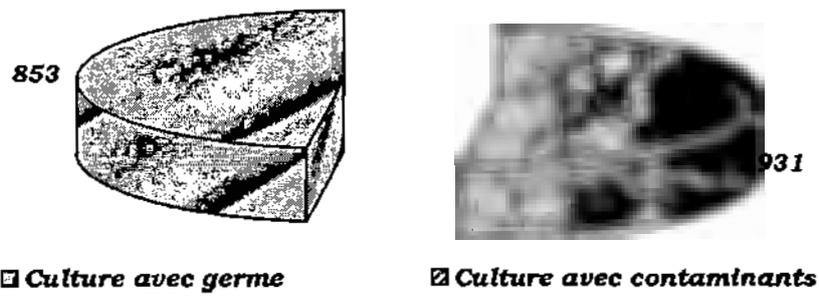


figure 9 : Représentation graphique des cultures positives des LCR

**TABLEAU IV- a : Répartition des *Neisseria meningitidis* selon la résidence et l'âge des communes I, II, III et IV**

N° Ordre	Age	sexe	Date	Résidence
1	17Mois	M	28/03/2002	C I
2	36Mois	M	20/03/2004	C I
3	36Mois	F	14/12/2004	C I
4	60Mois	M	07/02/2004	C I
5	72Mois	M	09/04/2006	C I
6	72Mois	F	30/04/2003	C I
7	84Mois	M	09/03/2002	C I
8	168Mois	M	28/03/2003	C I
9	4Mois	M	09/03/2002	C II
10	16Mois	F	19/10/2002	C II
11	17Mois	F	15/03/2003	C II
12	24Mois	M	27/03/2002	C II
13	24Mois	M	27/04/2002	C II
14	24Mois	F	09/04/2004	C II
15	60Mois	M	09/03/2002	C II
16	72Mois	M	28/03/2003	C II
17	84Mois	F	10/02/2003	C II
18	144Mois	M	23/11/2002	C II
19	144Mois	M	23/03/2003	C II
20	168Mois	F	31/03/2003	C II
21	180Mois	F	17/03/2003	C II
22	4Mois	F	01/08/2005	C III
23	18Mois	M	26/03/2003	C III
24	19Mois	M	09/04/2004	C III
25	1Mois	F	02/05/2003	C IV
26	10Mois	M	20/06/2003	C IV
27	24Mois	F	12/05/2002	C IV
28	48Mois	F	05/12/2005	C VI
29	60Mois	M	15/04/2003	C IV
30	60Mois	M	20/04/2003	C IV
31	132Mois	M	26/03/2006	C IV
32	132Mois	M	17/04/2006	C IV

**TABLEAU IV- b : Répartition des *Neisseria meningitidis* selon la résidence et l'âge des communes V, VI et autres (Koulikoro et Kati)**

N°	Age	sexe	Date	Résidence
33	24Mois	M	28/04/2006	C V
34	36Mois	M	09/04/2006	C V
35	36Mois	F	10/05/2002	C V
36	42Mois	M	02/04/2006	C V
37	48Mois	F	23/03/2004	C V
38	60Mois	M	26/03/2006	C V
39	60Mois	M	30/04/2003	C V
40	72Mois	M	30/08/2004	C V
41	84Mois	M	30/04/2004	C V
42	108Mois	M	14/06/2003	C V
43	144Mois	M	02/02/2004	C V
44	4Mois	F	09/04/2006	C VI
45	6Mois	M	11/04/2003	C VI
46	19Mois	F	01/03/2003	C VI
47	24Mois	M	24/06/2003	C VI
48	48Mois	M	26/05/2002	C VI
49	60Mois	M	12/04/2003	C VI
50	60Mois	M	29/04/2003	C VI
51	72Mois	F	12/04/2004	C VI
52	96Mois	M	09/03/2006	C VI
53	168Mois	M	23/04/2003	C VI
54	3Mois	M	29/03/2002	Kati
55	1Mois	F	02/12/2002	Koulikoro
56	60Mois	M	14/04/2003	Koulikoro

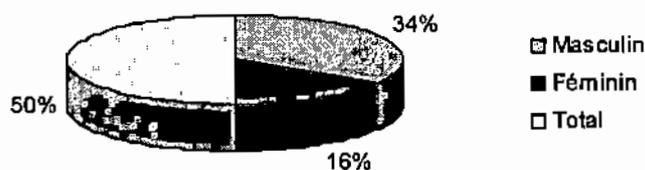
**TABLEAU V: Répartition des cas de *Neisseria meningitidis* selon la résidence et l'année.**

Résidences	C I	C II	C III	C IV	C V	C VI	Kati	Autres
2002	02	06	00	01	01	01	01	01
2003	02	06	01	04	02	06	00	01
2004	03	01	01	00	04	01	00	00
2005	00	00	01	00	00	01	00	00
2006	01	00	00	02	04	02	00	00
Total	08	13	03	07	11	11	01	02

La commune II est la plus touchée suivie des communes V et VI.

**TABLEAU VI** : Répartition des cas de *Neisseria meningitidis* selon le sexe

Sexe	Effectifs	%
Masculin	38	67,86
Féminin	18	32,14
Total	56	100

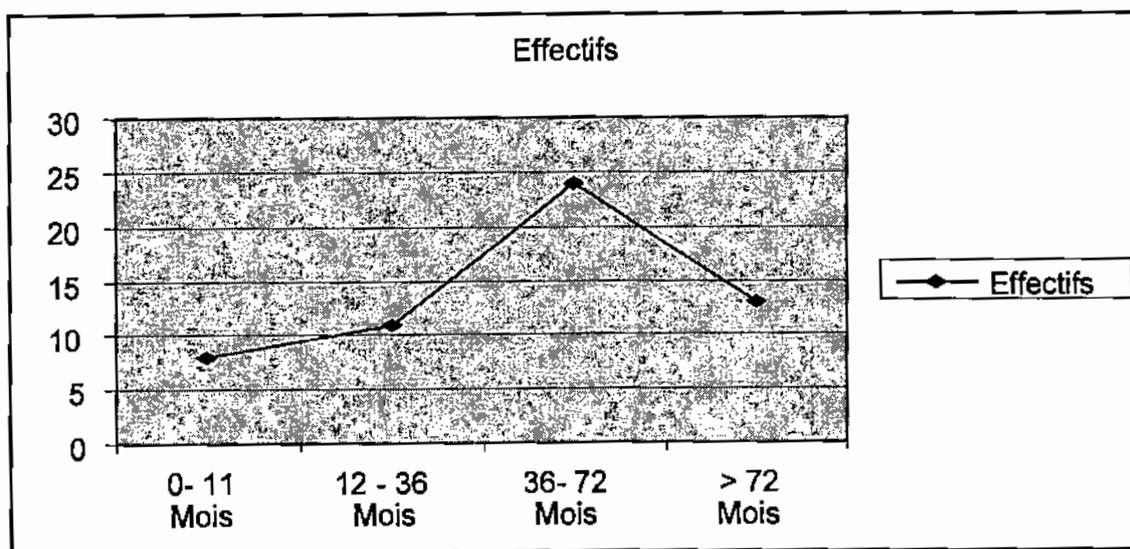


**Figure 10** : Répartition des cas de *Neisseria meningitidis* selon le sexe

Le sexe ratio est en faveur du sexe masculin soit 67,86 %

**TABLEAU VII** : Répartition des cas de *Neisseria meningitidis* selon les tranches d'âges

Tranches d'âges en mois	0- 11	12- 35	36- 72	> 72
Effectifs	08	11	24	13



**Figure 11** : Répartition des cas de *Neisseria meningitidis* selon les tranches d'âges

La tranche d'âges des petits enfants des 36- 72 mois est la plus touchée.

**TABLEAU VIII : Répartition selon les mois des cas de *Neisseria meningitidis***

MOIS \ ANNEES	Jan.	Fév.	Mars	Avril	Mai	Juin	Juill.	Août	Sept	Oct.	Nov.	Déc.
2002	0	0	6	1	3	0	0	0	0	1	1	1
2003	0	1	8	9	1	3	0	0	0	0	0	0
2004	0	2	2	4	0	0	0	1	0	0	0	1
2005	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1
2006	0	0	3	6	0	0	0	0	0	0	0	0
Total	0	3	19	20	4	3	0	2	1	1	1	3

On observe une prédominance des méningites à méningocoque pendant les mois de Mars et d'Avril.

### 3.3. Fréquence des germes isolés

**TABLEAU IX : Résultats des hémocultures de 2002 à 2006**

DESIGNATIONS	ANNEES					Total	%
	2002	2003	2004	2005	2006		
Total	1978	1672	1843	4097	4375	13965	100
Résultats négatifs	1471	1182	1328	3329	3639	10949	78,40
Résultats positifs	507	490	515	768	736	3016	21,60
<i>Nature des germes isolés</i>							
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	78	100	115	178	221	692	4,96
<i>Haemophilus influenzae type b</i>	12	99	122	148	96	477	3,42
<i>Salmonella spp</i>	60	48	39	28	52	227	1,63
<i>Salmonella Typhi</i>	56	20	13	50	25	164	1,17
<i>Staphylococcus aureus</i>	23	29	27	49	38	166	1,19
<i>Escherichia coli</i>	17	08	17	28	23	93	0,67
<i>Salmonella Paratyphi B</i>	16	11	06	46	45	124	0,89
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	03	03	05	04	04	19	0,14
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	03	06	02	02	05	18	0,13
<i>Neisseria meningitidis groupe W135</i>	02	08	02	00	00	12	0,08
<i>Streptococcus non hémolytique</i>	03	06	01	00	00	10	0,07
<i>Neisseria meningitidis groupe A</i>	01	04	01	02	09	20	0,14
<i>Streptococcus β hémolytique groupe A</i>	03	02	03	02	03	13	0,09
<i>Enterococcus spp</i>	01	01	05	03	03	13	0,09
<i>Streptococcus β hémolytique groupe B</i>	04	01	01	00	00	06	0,04
<i>Morganella morganii</i>	01	02	02	02	00	07	0,05
<i>Citrobacter species</i>	02	01	01	00	01	05	0,03
<i>Citrobacter freundii</i>	01	00	02	02	02	07	0,05
<i>Haemophilus parainfluenzae</i>	01	01	01	00	00	03	0,02
<i>Salmonella arizonae</i>	01	01	01	00	00	03	0,02
<i>Salmonella Paratyphi A</i>	01	01	01	02	02	07	0,05
<i>Pseudomonas putida</i>	00	01	01	00	01	03	0,02
<i>Salmonella Paratyphi C</i>	01	00	01	02	01	05	0,03
<i>Enterobacter cloacae</i>	01	01	00	04	04	10	0,07
<i>Flavobacterium meningosepticum</i>	00	00	01	01	00	02	0,014
<i>Proteus mirabilis</i>	00	00	00	01	00	01	0,007
<i>Acinetobacter baumannii</i>	00	00	00	01	00	01	0,007
<i>Acinetobacter calcovar</i>	00	00	00	02	01	03	0,02
<i>Serratia liquefaciens</i>	00	00	00	00	01	01	0,007
<i>Flavobacter odoratum</i>	00	00	00	00	02	02	0,014
<i>Aeromonas spp</i>	00	00	00	00	01	01	0,007
<i>Klebsiella oxytoca</i>	00	00	00	01	01	02	0,014
<i>Shigella spp</i>	00	00	00	01	01	02	0,014
<i>Streptococcus spp</i>	00	00	00	02	02	04	0,03
<i>Contaminants</i>							
<i>Staphylococcus non aureus (SNA)</i>	143	119	123	156	143	684	4,89
<i>Bacilles Gram Positif (BGP)</i>	54	16	18	40	30	158	1,13
<i>Levures</i>	01	01	01	01	00	04	0,03

**TABLEAU X : Fréquence d'isolement de l'ensemble des germes des LCR**

DESIGNATIONS	ANNÉES					Total	%
	2002	2003	2004	2005	2006		
Total	788	981	1038	1408	1252	5469	100
Résultats négatifs	385	485	522	1195	1098	3685	67,38
Résultats positifs	403	496	516	213	154	1784	32,62
Nature des germes							
<i>Haemophilus influenzae</i> type b	52	75	87	108	54	376	6,88
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	45	68	77	71	83	344	6,29
<i>Salmonella spp</i>	15	14	06	00	01	36	0,65
<b><i>Neisseria meningitidis</i> groupe A</b>	<b>11</b>	<b>16</b>	<b>09</b>	<b>01</b>	<b>09</b>	<b>46</b>	<b>0,84</b>
<i>Escherichia coli</i>	04	05	05	02	01	17	0,31
<b><i>Neisseria meningitidis</i> groupe W135</b>	<b>02</b>	<b>04</b>	<b>01</b>	<b>01</b>	<b>00</b>	<b>08</b>	<b>0,15</b>
<i>Salmonella Typhi</i>	03	01	04	01	01	10	0,18
<i>Proteus mirabilis</i>	01	04	03	01	00	09	0,16
<b><i>Neisseria spp</i></b>	<b>00</b>	<b>02</b>	<b>00</b>	<b>00</b>	<b>00</b>	<b>02</b>	<b>0,04</b>
<i>Streptococcus β hémolytique groupe A</i>	01	02	04	01	01	09	0,16
<i>Staphylococcus aureus</i>	03	02	02	04	01	12	0,22
<i>Haemophilus parainfluenzae</i>	05	01	01	00	00	07	0,13
<b><i>Streptococcus β hémolytique groupe B</i></b>	<b>01</b>	<b>01</b>	<b>03</b>	<b>00</b>	<b>00</b>	<b>05</b>	<b>0,09</b>
<i>Salmonella Paratyphi B</i>	01	01	03	05	01	11	0,20
<i>Enterococcus spp</i>	01	02	01	01	00	05	0,09
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	01	01	02	00	00	04	0,07
<i>Pseudomonas putida</i>	02	01	01	00	00	04	0,07
<i>Morexella specie</i>	01	01	01	00	00	03	0,05
<i>Klebsiella arizonae</i>	01	01	01	00	00	03	0,05
<i>Acinetobacter calcovar</i>	00	01	02	00	00	03	0,05
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	00	01	01	00	00	02	0,04
<i>Enterobacter agglomerans</i>	00	01	01	00	00	02	0,04
<i>Citrobacter freundii</i>	00	01	01	00	01	03	0,05
<i>Morganella morganii</i>	00	01	01	00	00	02	0,04
<i>Salmonella Paratyphi A</i>	00	01	00	00	00	01	0,02
<i>Enterobacter cloacae</i>	00	00	01	01	00	02	0,04
<i>Enterobacter sakasaki</i>	00	00	01	00	00	01	0,02
<i>Flavobacter meningosepticum</i>	00	00	00	01	00	01	0,02
Contaminants							
<i>Staphylococcus non aureus</i> (SNA)	235	248	252	09	00	744	13,60
Bacilles Gram Positif (BGP)	28	34	36	03	01	102	1,86
Levures	01	02	04	00	00	07	0,13

Parmi les bactéries responsables de méningite, *Neisseria meningitidis* représente la 3<sup>ème</sup> bactérie par sa fréquence.

### 3.4. Fréquence des séro- groupes et séro- types des souches de *Neisseria meningitidis*

**TABLEAU XI : Fréquence d'isolement des séro- groupes de *Neisseria meningitidis* du LCR 2002 à 2006**

Groupes						
Années	N grp A	N grp B	N grp C	N grp W135	N spp	Total
2002	11	00	00	02	00	13
2003	16	00	00	04	02	22
2004	09	00	00	01	00	10
2005	01	00	00	01	00	2
2006	09	00	00	00	00	9
Total	46	00	00	08	02	56

Pendant la période de l'étude de 2002 à 2006 il a été isolé 56 souches de *Neisseria meningitidis* des LCR.

**TABLEAU XII : Fréquence d'isolement des sérogroupes de *Neisseria meningitidis* des hémocultures 2002 à 2006**

Sérogroupe par Année	N grp A	N grp B	N grp C	N grp W135	N spp	Total
2002	01	00	00	02	00	03
2003	04	00	00	06	00	10
2004	04	00	00	02	00	06
2005	02	00	00	02	00	04
2006	09	00	00	00	00	09
<b>Total</b>	<b>20</b>	<b>00</b>	<b>00</b>	<b>12</b>	<b>00</b>	<b>32</b>

Pendant la période de l'étude de 2002 à 2006 il a été isolé 32 souches de *Neisseria meningitidis* des hémocultures

**TABLEAU XIII : Répartition des germes reçus dans le cadre du réseau selon les pays au cours de l'année 2005**

GROUPE				
Pays	A	W135	TYPES	SOUS TYPES
Mali	0	5	2A	P1.2
Burkina-Faso	73	0	21	P1.9
Bénin	0	2	-	-

Nos souches W135 sont de type 2A et de sous type P1.2 ; celles du Burkina Faso sont du groupe A de type 21 et de sous type P1.9

3.5. Profil antibiotique des souches de *Neisseria meningitidis* isolées

TABLEAU XIV : Sensibilité des Souches de *Neisseria meningitidis* testées à l'ampicilline

ATB Souches	Ampicilline						
	Effectif	S	%	I	%	R	%
A	39	39	100	0	0	0	0
C	0	0	0	0	0	0	0
W135	7	7	100	0	0	0	0
<i>Neisseria</i> spp	1	1	0	0	0	0	0

L'ensemble des différentes souches de *Neisseria meningitidis* reste sensible à l'ampicilline

**TABLEAU XV : Sensibilité des Souches de *Neisseria meningitidis* testées au chloramphénicol**

ATB Souches	Chloramphénicol						
	Effectif	S	%	I	%	R	%
A	39	39	100	0	0	0	0
C	0	0	0	0	0	0	0
W135	7	7	100	0	0	0	0
<i>Neisseria</i> spp	1	1	100	0	0	0	0

L'ensemble de différentes souches de *Neisseria meningitidis* reste sensible au chloramphénicol

**TABLEAU XVI : Sensibilité des Souches de *Neisseria meningitidis* testées au cotrimoxazole**

ATB Souches	Effectif	Cotrimoxazole					
		S	%	I	%	R	%
A	34	0	0	0	0	34	100
C	0	0	0	0	0	0	0
W135	7	1	14,29	0		6	85,71
<i>Neisseria</i> SPP	1	0	0	0	0	1	100

Les *Neisseria meningitidis* restent résistants au Cotrimoxazole

**TABLEAU XVIII : Sensibilité des Souches de *Neisseria meningitidis* testées à la céftriaxone**

ATB Souches	Céftriaxone						
	Effectif	S	%	I	%	R	%
A	39	39	100	0	0	0	0
C	0	0	0	0	0	0	0
W135	7	7	100	0	0	0	0
<i>Neisseria</i> spp	1	1	100	0	0	0	0

L'ensemble des différentes souches de *Neisseria meningitidis* reste sensible à la céftriaxone



*COMMENTAIRES*  
*DISCUSSIONS*

#### 4. Commentaires et Discussions

##### Du point de vue de la méthodologie

L'étude prospective de diagnostic de laboratoire des infections invasives en cours concerne les prélèvements apportés de la pédiatrie sur lesquels des examens bactériologiques sont faits.

Ce faisant, le laboratoire de bactériologie CVD participe au réseau des laboratoires chargés de la surveillance épidémiologique en exécutant les bilans biologiques des cas cliniques de méningites.

Les prélèvements à analyser sont le sang, le liquide céphalo-rachidien et les autres liquides biologiques prélevés chez des enfants en cas de suspicion d'infections bactériennes invasives (SIBI) comme les méningites, les pneumonies, les septicémies, les otites, les épiglottites et les autres.

Les sangs sont prélevés dans des bouillons nutritifs mis en incubation dans l'appareil Bactec 9050 BD conçu pour la détermination rapide des bactéries, des champignons et d'autres microorganismes pouvant être présents dans les hémocultures cliniques. La surveillance de ces hémocultures est programmée volontairement sur une durée de 5 jours, alors que les hémocultures classiques vont de 7 à 10 jours.

L'intervention de l'utilisateur et les manipulations des bouteilles qui consistent à faire la coloration de Gram en fonction de la turbidité observée sur les hémocultures dans la méthode classique, sont minimisées dans la méthode du Bactec. En effet cette dernière est basée sur l'incubation, l'agitation de toutes les cultures et un signal immédiat des positifs (par un affichage sur l'écran à cristaux liquides une alarme sonore) concoure à diminuer le risque d'erreur humaine. [2]

Un examen préliminaire est fait sur le liquide céphalo-rachidien, les hémocultures et les autres liquides biologiques dont le résultat est porté immédiatement à la connaissance des prescripteurs de la pédiatrie.

Dans le traitement du LCR, des techniques complémentaires comme les tests d'agglutinations latex, la cytologie (notamment le comptage des globules blancs et des globules rouges) aident aux résultats préliminaires. Il n'a pas été pratiqué d'examen chimique du LCR (glycorachie, protéinorachie, chlorurorachie).

Les résultats préliminaires et définitifs sont saisis dans un logiciel GDH (pour « Global Digital Health » ou développement global de la santé) en plus de la saisie dans le registre de travail. Ce logiciel met en réseaux les services de consultation de la pédiatrie, le bureau CVD de la pédiatrie et le laboratoire. Il existe un transfert informatique des données via internet entre l'hôpital, le centre serveur au siège de CVD au CNAM et le CVD à l'université de Baltimore (Maryland-USA).

#### **Du point de vue des résultats**

Il nous a paru important de rechercher *Neisseria meningitidis* dans les suspicions d'infections bactériennes invasives chez les enfants de notre service de pédiatrie. Dans notre étude de 2002 à 2006 nous avons étudié 13965 prélèvements d'hémocultures soit une moyenne annuelle de 2793. SAMAKE M, [26] en 2003 a travaillé sur 2198 prélèvements d'hémocultures. Dans la même période 2002- 2006, 5469 examens cyto-bactériologiques du LCR ont été effectués soit une moyenne annuelle de 1093 contre 945 retrouvés chez SAMAKE T [27].

Les germes habituellement responsables de méningites ou de septicémies sont prioritairement *Streptococcus pneumoniae*, *Haemophilus influenzae* type b, qui se trouvent comme chef de fil. [30]

De l'ensemble de ces prélèvements il a été isolé 56 souches de *Neisseria meningitidis*.

Après *Streptococcus pneumoniae*, *Haemophilus influenzae* type b, les *Salmonella*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Neisseria meningitidis* représente la 6<sup>ème</sup> bactérie en cause des hémocultures positives.

La fréquence des infections à *Neisseria meningitidis* (soit 56) a été de 1,02 % dont 0,73 % pour le sérotype A et 0,25 % pour le sérotype W135 et 0,04 pour le sérotype spp. En plus des hémocultures effectuées il a été demandé 5469 LCR pour compléter le diagnostic.

Pendant la période d'étude la surveillance a concerné 5469 prélèvements de LCR sur lesquels 931 sont positifs soit un taux de 17,02% avec des germes pathogènes.

#### **Du point de vue socio- démographique**

Le profil de nos patients est le suivant :

- Le sexe ratio est en faveur du sexe masculin soit 67,86 %

KOROTOU MOU T. avait montré une différence peu significative entre les deux sexes avec 56,84% de sexe masculin et 43,16% de sexe féminin. [18]

C'est la constatation faite par KEYLEM T. en 1984 à Dakar. [16] SIDIBE D. en 1990 à Bamako. [28]

KOUMARE B. et al ont trouvé qu'en 1981- 1991, 60% des patients étaient de sexe masculin et 40% du sexe féminin. [19] C'était le même constat fait par KONATE M. en 1992. [17]

- Les communes II, V et VI sont les plus touchées

- La tranche d'âges des petits enfants des 36- 72 mois est la plus touchée

#### **Du point de vue épidémiologique**

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

D'après SIDIBE D. en 1990, le méningocoque prédomine avec un pic au mois d'Avril. En dehors de mars, les trois autres espèces coexistaient ensemble. En période de pluie, le méningocoque est absent. [28]

SOKONA H. en 1989, le taux de positivité était significativement différent d'un mois à l'autre. Le taux le plus élevé s'observait en Décembre, Janvier, Février, Mars, Avril, Mai avec deux pics en Mars et Mai, et le taux le plus bas en Juin, Juillet, Août. [29]

KONATE M. a observé lors de ses études en 1992 que le méningocoque prédominait pendant les mois de Mars et Avril. [17]

APLOGAN A. et al ont constaté qu'au Togo en 1997, il y a eu une épidémie de méningite bactérienne. Cette épidémie avait eu deux pics : le premier au mois de Janvier et le second en Mars. [1]

BESANCENOT J.P et al. Ont 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 quelque fois Mai, aussi bien que pour la méningite sporadique que pour la méningite épidermique avec le sommet en Février, Mars. Ils ont analysé et confirmé que 14 à 34,5 % de la variabilité temporaire de la méningite était due à l'harmattan et à une faible humidité absolue dans les régions du Nord du pays. [6]

WANG W. a fait une analyse sur 32 ans (1959- 1990) dans la cité de Changde en Chine et a trouvé qu'en 28 ans sur 32, le pic se produisait au mois de Mars. En 26 ans, 95% des périodes épidémiques commençaient d'Octobre à Juin de la suivante année. Cet auteur avait conclu que le taux d'incidence de la méningite cérébro - spinale était fonction de la variabilité saisonnière. [32] Une étude été faite en Israël par BLOCK C. et al de 1951 à 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 MCS étaient significativement corrélées avec l'humidité relative. Les taux d'incidence variaient d'une région à l'autre et étaient faibles dans les petites villes. [8]

Partant de la méthode actuelle qui utilise des taux d'incidence basés sur la population générale afin de déterminer si la maladie a atteint un niveau d'alerte, un niveau d'épidémie ou un niveau de flambée épidémique c'est-à-dire :

- . Le niveau d'alerte est de 5cas/100.000/semaine
- . Le niveau d'épidémie est de 10 cas/100.000/semaine
- . Et le niveau de flambée épidémique : 15cas/100.000/semaine

Pendant la période de surveillance de 2002 à 2006 nous n'avons donc pas atteint le niveau épidémique

### **Du point de vue thérapeutique**

Les antibiotiques utilisés dans le traitement de la méningite sont choisis en fonction de leur bonne diffusion dans le LCR. Dans les épidémies africaines on avait recours au chloramphénicol huileux à dose unique répétée 48 heures plus tard si l'état du malade ne s'améliore pas. Cet antibiotique n'est plus utilisé il a été remplacé par la ceftriaxone.

En laboratoire le test de sensibilité donne.:

Sensible pour un diamètre supérieur à 26 mm, des cas intermédiaires entre 20 et 25 mm et résistant pour un diamètre inférieur à 19 mm.

D'autres antibiotiques tels que l'ampicilline et les céphalosporines de 3<sup>ème</sup> génération sont utilisés.

Depuis 1995, on a noté, l'émergence de souches de sensibilité diminuée à la pénicilline G. L'identification des souches de sensibilité diminuée est facilitée par l'utilisation d'un disque d'oxacilline chargé à 5 µg pour un diamètre de 18mm. Une mutation des « Penicillin Binding Proteins » en est la cause. Cette sensibilité diminuée à la pénicilline G n'a pas encore de conséquence au plan clinique. Des souches résistantes au chloramphénicol ont été également signalées en Asie et en Afrique. L'utilisation des quatre antibiotiques a été faite conformément au protocole d'étude de CVD mais pourrait s'élargir à d'autres antibiotiques dans d'autres études dans le but d'élargir la marge de prescription pour le clinicien. Le choix des quatre antibiotiques se justifie par des critères épidémiologiques (utilisations courantes en milieu pédiatrique) et économique (coût moindre). La sensibilité aux antibiotiques testés (ampicilline 10µg ou oxacilline 1µg, cotrimoxazole 25µg, chloramphénicol 30µg, ceftriaxone 30µg) montre une possibilité d'utilisation correcte et judicieuse de la ceftriaxone. Le profil antibiotique fourni par le laboratoire permet un suivi régulier de l'émergence des souches résistantes.

L'ensemble des différentes souches de *Neisseria meningitidis* restent sensibles à l'ampicilline au chloramphénicol à la ceftriaxone et résistants au Cotrimoxazole. L'OMS recommande l'utilisation de la ceftriaxone ou de la cefotaxime.

Le test en laboratoire pour ce dernier ceftriaxone donne, sensible pour un diamètre supérieur à 34 mm.

#### **Du point de vue de la prophylaxie**

La prévention et le contrôle des épidémies de méningites reposent actuellement sur une détection rapide de la maladie d'où le rôle important du laboratoire et sur la vaccination de masse de la population avec des vaccins polysidiques.

Ces interventions sont massives, coûteuses et perturbatrices car elles détournent des ressources déjà maigres qui pourraient être utilisées pour le contrôle d'autres maladies.

# CONCLUSION

## 5. Conclusion

Le laboratoire de bactériologie du CVD au CHU Gabriel Touré assure le diagnostic bactériologique des méningites et intervient comme laboratoire du réseau de la Surveillance Intégrée de la Maladie et la Riposte. Les différents prélèvements du seul service pédiatrique de Bamako au Mali, examinés au laboratoire ont permis le suivi des cas de méningites à *Neisseria meningitidis*. De 2002 à 2006 aucune épidémie n'a été signalée dans le pays, mais des cas sporadiques ont permis d'isoler 56 souches dont les séro- groupes dominants ont été : séro- groupe A (40 souches) et séro- groupe W135 (14 souches).

Le profil antibiotypique en laboratoire a montré une bonne sensibilité de ces souches au chloramphénicol et aux céphalosporines de 3<sup>ème</sup> génération (ceftriaxone).

Il s'agit d'une bonne surveillance de laboratoire.

# REFERENCES

REFERENCES:

1. **APLOGAN A, BATCHASSI E, YAKOUA Y, et al** – « An epidemic of meningococcal meningitis in the region of savanes in Togo in 1997. Research and control strategies ». *Sante*. 1997: 384-80
2. **BECTON, DICKINSON and Company**. BACTEC 9050 Manuel d'utilisation. MA-0103. Révision : E Réf 445845. Septembre 2004.
3. **BERTAND** Couture- Bactériologie médicale. Mont-Royal, Québec. Decarie 3<sup>ème</sup> édition, 1997 : 52-65
4. **BERCHE P, GAILLARD J.L, SIMON M**. Bactériologie générale 176-88, 208- 20, 304- 11.
5. **BERCHE P**. Les staphylocoques. In : **BERCHE P, GAILLARD J.L et SIMONET M**. eds. Bactériologie: Les bactéries des infections humaines. Paris: Flammarion, 1998: 267-77
6. **BESANCENOT J.P, BOKO M, OKE P.C**. « Weather conditions and cerebrospinal meningitis in Benin gulf of Guinea, West Africa. *European journal of Epidemiology* » 1997; 7: 807- 15
7. **Bio Mériex B.V**. Bactériologie Mars 2003. Réf. 247003
8. **BLOCK C, ROITMAN M, BOGOKOWSKY B, MEIZLIN S, SLATER P.E** « Forty years of meningococcal disease in Israël: 195- 1990. *Clinical inf. Dis* » 1993; 17 : 126- 32
9. **CISSE H**. Evaluation du rôle de *Staphylococcus aureus* dans les infections bactériennes invasives en milieu pédiatrique à partir des liquides biologiques examinés au laboratoire de l'Hôpital Gabriel Touré.
10. **DENIS F, MOUNIER M**. Le Diagnostic rapide des méningites cérébro-spinales. Techniques, résultats, limites, et perspectives. *Med. Mal. Inf.*, 1984 ; 14: 19- 26.
11. **FERRON A**. Bactériologie Médicale à l'usage des étudiants en médecine. 10<sup>ème</sup> Edition 1979 : 19

**12. FRIEDLAND I.R, GEORGE H, Mc CRACKEN J.R.**

Physiopathologie des méningites bactériennes. Annales Nestlé, 1997 : 101

**13. FAUCHERE J.L, SIMONET M.** Examens cytbactériologiques au cours des méningites.

**14. GENTILINI M, DUFLO B.** Médecine Tropicale 5<sup>ème</sup> édition, 1993 : 335-37

**15. <http://www.meningvax.org/francais/fr-control-epidemics.htm>** Projet Vaccins Méningite. PATH. 2003- 2006.

**16. KEYLEM T.** Méningite cérébrospinale en Haute Volta. Thèse Médecine Dakar, 1984, N°2.

**17. KONATE M.** Epidémiologie moléculaire de la méningite à méningocoque au Mali. Parti III : Dynamique du portage rhinopharyngé dans la collectivité autour d'un patient. Thèse Pharmacie, Bamako, 1992, N°19

**18. KOROTOUMOU T.** Etude bactériologique des méningites purulentes au laboratoire de référence de L'INRSP de 1996-1999 Typage de souches de *Neisseria meningitidis*. Thèse Pharmacie, Bamako, 1992, N° 8Ip

**19. KOUMARE B. ACHTMAN M. BOUGOUDOGO F. CISSE M. DOUMBIA T et KEITA M.M.** Aspects bactériologiques des méningites purulentes dans le District de Bamako. Bull Soc Path Ex. 1993 : 13 : 140- 41

**20. KOUMARE B.** ORGANISATION MONDIALE DE LA SANTE 1999 OMS/ICP/EMC/WAB

**21. LECAMUS J.L, TOUZE J.E, PICQ J.J, AUBRY P.** Les infections à méningocoque. EMC, Maladies infectieuses, 1989 Tome 2 8013A10

**22. LECLERC H.** Microbiologie générale. 2<sup>e</sup> édition, 1983 : 897.

**23. LEON LE MINOR, MICHEL VERON.** Bactériologie Médicale 2<sup>ème</sup> Edition Paris, 1989 : 396- 795

**24. MICHAEL J, TARLOW, WINTER A.J, COMIS S.D, OSBORNE M.P.** Séquelles des méningites bactériennes. Annales Nestlé, 1997, 121- 30.

- 25. Organisation Mondiale de la Santé. La méningite méningococcique.**  
Tous les communiqués de presse. Aide mémoire n°105 révisé de décembre 1998
- 26. SAMAKE M.** Pratique de l'hémoculture au laboratoire d'analyses médicales de l'Hôpital Gabriel Touré, Aspects méthodologiques. Thèse Pharm, Bamako, 2003, N° 99 f.
- 27. SAMAKE T.** Pratique de l'examen cyto bactériologique du liquide céphalorachidien au laboratoire d'analyses médicales de l'Hôpital Gabriel Touré, Aspects méthodologiques. Thèse Pharm, Bamako, 2003, N° 109 f
- 28. SIDIBE D.** Epidémiologie moléculaire des méningites à méningocoques au Mali (partie II) ; Thèse pharmacie, Bamako, 1990, N° 15
- 29. SOKONA H.** – Etude épidémiologique et bactériologique des méningites purulentes dans le District de Bamako (à propos de 360 prélèvements).Thèse Pharmacie, Bamako, 1989, N° 11
- 30. SOW S.O, DIALLO S, CAMPBELL J.D, TAPIA M D, KEITA T, KEITA M.M and al.** « Burden of invasive disease caused by *Haemophilus influenzae* type b in Bamako, Mali impetus for routine infant immunization with conjugate vaccine. *Pediatr Infect Dis Journal* » 2005; vol 24, Nr 6: 533- 37
- 31. TANJA POPOVIC, GLORIA AJELLO ET RICHARD FACKLAM**  
« Centers for Disease control and prevention, Atlanta »,  
Technique de laboratoire pour le Diagnostic des méningites à *Neisseria meningitidis*, *Streptococcus pneumoniae*, et *Haemophilus influenzae* 1 : 1
- 32. WANG W.** « A study on seasonal variation of epidemic cerebrospinal meningitis with circular distribution method. *Chinese Journal of epidemiology* », 1994; 15: 186- 88.
- 33. WENGER .D, SCHUCHAT A.** Prévention des méningites bactériennes. *Annales Nestlé*, 1997 : 131- 43

## FICHE SIGNALÉTIQUE

Nom : CISSE

Prénom : Boubacar Ousmane

Titre de la thèse : Etude bactériologique des méningites à *Neisseria meningitidis* en milieu pédiatrique au Centre Hospitalo- Universitaire Gabriel  
TOURE de 2002 à 2006

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'Odonto- Stomatologie

Secteur d'intérêt : Bactériologie, Santé publique, Infectiologie, Pédiatrie.

### RESUME

Il s'agit d'une étude rétrospective portant sur la surveillance de laboratoire des méningites à *Neisseria meningitidis* en milieu pédiatrique au CHU Gabriel Touré de 2002 à 2006.

Elle vise à assurer le diagnostic biologique de la méningite à *Neisseria meningitidis*

Les résultats obtenus ont été les suivants :

- ✓ Nombre total d'hémocultures : 13965
- ✓ Nombre de flacons Bactec positifs 3016
- ✓ Nombre de germes isolés des hémocultures : 2131 soit 70,65 % des flacons positifs et 15,26 % de l'ensemble des prélèvements d'hémocultures.
- ✓ Nombre total de LCR : 5469 soit 28,14 % des prélèvements du laboratoire de bactériologie.
- ✓ Nombre de cultures de LCR positives 931 soit 17,02 %
- ✓ Nombre de germes isolés des LCR 1784 soit 32,62 %
- ✓ Nombre de souches de *Neisseria meningitidis* : 56 cas

Toutes les souches restent sensibles à l'ampicilline, au chloramphénicol, à la ceftriaxone et résistantes au cotrimoxazole

Mots clés : Surveillance, méningite, *Neisseria meningitidis*, Pédiatrie.

## FICHE SIGNALÉTIQUE

**Name:** CISSE  
**First name:** Boubacar Ousmane  
**Title of the thesis:** Five years of laboratory survey *Neisseria meningitidis* in the University Hospital Pediatric Gabriel Touré from 2002- 2006.  
**Academic year:** 2007- 2008  
**City of sustenance:** Bamako  
**Contry origin:** Mali  
**Place of deposit:** Library of Medecin, Pharmacy and Odonto- stomatology Faculty  
**Sectors of interests:** Microbiology, Public health, Infectious, Pediatric.

### Summary

It is about a retrospective study relating to the monitoring of laboratory of meningitis with *Neisseria meningitidis* in paediatric medium with the University Hospital Gabriel Touré from 2002 to 2006.

It aims at ensuring the biological diagnosis of meningitis *Neisseria meningitidis*

The results obtained were as follows

- Total number of blood hemocultures: 1965
- Total number of blood cultures in Bactec positif: 3016
- Number of isolated micro- organismes of hemocultures 2131 that's 70, 65 % of the positive bottles and 15, 26 % of the total hemocultures
- Total number of CSF: 5469 28, 14 % of the specimens of the laboratory
- Number of cultures of positives CSF: 931 (17, 02 %)
- Number of isolated micro- organismes of CSF: 1784 (32, 62)
- Number of isolation of *Neisseria meningitidis*: 56 cases of *Neisseria meningitidis*.

**Key words:** Supervising, meningitis, *Neisseria meningitidis*, podiatry.

### 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 instruits dans les préceptes de mon art et de leur témoigner ma reconnaissance en restant fidèle à leur engagement ;
- 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 ma 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