



UNIVERSITE SIDI MOHAMED BEN ABDELLAH

FACULTE DES SCIENCES ET TECHNIQUES

DEPARTEMENT DE BIOLOGIE

Projet de Fin d'Etudes

Licence Sciences & Techniques

Sciences Biologiques Appliquées et Santé

(LST- SBAS)

**Etude descriptive et analytique du
taux de confirmation des méningites
bactériennes dans LCR au sein du
CHP de KHENIFRA**

Présenté par : MOUBACHIR Rania

Encadré par : BEKHTI Khadija.....FST FES

BARBACH Mohammed.....CHP KHENIFRA

Soutenu le : 12-06-2019

Devant le jury composé de : Pr.BEKHTI Khadija

Pr. EL ABED Soumya

Stage effectué à : CHP de KHENIFRA

Année universitaire 2018-2019

Du fond du cœur je dédie ce mémoire

À mes parents

Nouzha et Mouhcine, les mots me manquent pour exprimer toute la reconnaissance, la fierté et le profond amour que je vous porte pour les sacrifices que vous aviez consentis pour ma réussite. Vous trouverez ici le témoignage de mon attachement, ma reconnaissance, ma gratitude et mon respect. Puisse Dieu vous accueillir dans son infinie miséricorde et son éternel paradis.

À mes sœurs

Malak et Rihab ; je vous remercie pour le soutien moral et l'encouragement que vous m'avez accordés. Je vous souhaite tout le bonheur que vous méritez.

À tous mes amis

Faila, Fatima, nouhaila, Btissame... et mes collègues de classes ; pour tous les bons moments qu'on a passés ensemble avec mes souhaits d'un avenir plein de joie et de succès.

À mes enseignants

Sans exception, pour leurs efforts déployés afin de m'assurer une formation excellente ;

Et À toutes les personnes qui m'ont soutenu tout au long de mon stage

À tous ceux qui m'ont aidé de près ou de loin.

Rania

Table des matières

Avant-propos	
Remerciements	
Liste des abréviations	
Liste des figures et tableaux	
Introduction	1
Objectifs.....	2

Revue Bibliographique

I. Méningite.....	3
1. Définition.....	3
2.Pathogénie.....	3
3. Signes cliniques	4
3.1. Méningite virale	4
3.2. Méningite bactérienne	5
3.3. Méningite parasitaire	5
3.4. Méningite fongique	6
4. Agents étiologiques	6
4.1. Méningite virale	6
4.2. Méningite fongique	6
4.3. Méningite parasitaire	7
4.3.1. <i>Naegleria fowleri</i>	7
4.3.2. <i>Entamoeba histolytica</i>	7
4.4. Méningite bactérienne	8
✓ <i>Neisseria meningitidis</i>	8
✓ <i>Streptococcus pneumoniae</i>	10

✓ <i>Haemophilus influenzae</i>	12
5. Diagnostic	14
5.1. Diagnostic bactériologique.....	14
5.2. Diagnostic moléculaire	15
II. Traitement	15
1. Famille d’antibiotiques.....	15
2. Résistance au traitement	16
III. Prophylaxie	16

Matériel et méthodes

I. Lieu d’étude	17
II. Etude rétrospective	17
1. Collecte des données	17
2. Paramètres cibles	17
III. Etude Prospective : Examen cyto bactériologique du (LCR)	17
1. Principe	17
2. Prélèvement	17
3. Aspect macroscopique	18
4. Paramètres biologiques	19
4.1. Mesure de protéinorachie	19
4.2. Mesure de glycorachie	19
4.3. Mesure des leucocytes	19
4.4. Examen après coloration de Gram	20
4.5. Mise en évidence des antigènes solubles	20
5. Examen bactériologique	20

5.1. Milieu de culture	20
5.2. Ensemencement et incubation	20
5.3. Identification	21
6. Antibiogramme	21

Résultats

I .Etude rétrospective	23
1. Répartition des méningites	23
• selon le genre	23
• selon les services hospitaliers	23
2. Aspect macroscopique du LCR	24
3. Culture bactérienne.....	24
4. Profil microbiologique des méningites	24
5. Calcul du taux de confirmation	25
II. Etude prospective	25
1. Caractéristiques cliniques	25
2. Paramètres biologiques	25
3. Profil microbiologique	25
3.1. Coloration de Gram	25
3.2. Culture	25
3.3. Tests biochimiques	26
3.4. Sérotypage.....	26
4. Antibiogramme	26

Discussion

Conclusion	29
Références bibliographiques	30

Avant-propos

Ce projet de fin d'études est réalisé dans le cadre de l'obtention de la Licence sciences biologiques appliquées et santé (SBAS) de la FST FES. Le stage s'est déroulé du 01 avril 2019 au 20 mai 2019, au sein du service d'analyse médicale du centre hospitalier provincial de KHENIFRA sous la direction de

Mr BARBACH responsable du service bactériologique et sous l'encadrement du PR.BEKHTI KHADIJA enseignante à la faculté des sciences et techniques Fès-Sais.

Le sujet porte sur : « l'étude descriptive et analytique du taux de confirmation des méningites bactériennes au sein du CHP de KHENIFRA ».

Présentation du CHP de KHENIFRA

Le CHP de khenifra (Figure 1) est doté d'une capacité de 175 lits, l'établissement compte une unité médico-chirurgicale, un pôle Mère-enfant, un service de chirurgie, des pôles d'hospitalisation (urgences, traumatologie, consultations ambulatoires), un service de radiologie–échographie, un service d'autopsie, une morgue, un laboratoire central et une pharmacie. Le centre hospitalier répond aux besoins d'une population d'environ 370.00 personnes.



Figure 1 : photo prise du CHP de KHENIFRA

Le centre d'analyse est conçu comme un pôle d'activité hospitalière comportant plusieurs spécialités :
-Hématologie –Hémostase / Immuno-analyse –sérologie/ Biochimie / Et l'unité de Bactériologie lieu de notre stage.

Remerciements

A notre encadrante

Madame BEKHTI Khadija, professeur de microbiologie médicale à la faculté des sciences et techniques de Fès, Laboratoire de Biotechnologie Microbienne

Je tiens à vous exprimer toute ma reconnaissance pour l'honneur que vous m'avez fait en acceptant de m'encadrer.

Vous m'avez consacré votre temps précieux et votre aimable sollicitude sans réserve. Que votre compétence, votre sérieux, votre rigueur au travail, votre professionnalisme, et votre sens critique soient pour nous le meilleur exemple à suivre.

Vous êtes le professeur qui a réussi à m'inspirer, à me donner confiance en moi et en l'avenir, mais aussi qui a réussi à me donner l'envie d'apprendre.

Un grand Merci pour tout ce que vous avez fait !

A notre encadrant Monsieur BARBACH Mohammed responsable du secteur de bactériologie au CHP de KHENIFRA

Vous avez manifesté à notre égard une grande disponibilité et vous m'avez accueillie avec bienveillance et sympathie.

Votre culture, votre compétence professionnelle incontestable ainsi que vos qualités humaines vous valent l'admiration et le respect de tous.

Vos conseils et vos orientations m'ont été très précieux, j'espère être digne de votre confiance

A notre juge de mémoire

Je vous remercie vivement de l'honneur que vous me faites en siégeant dans ce jury. Votre jugement sera d'une grande valeur dans l'appréciation de ce travail.

Je remercie également ...

Toute l'équipe du laboratoire du C.H.P de khénifra qui m'a beaucoup soutenue à l'élaboration de ce rapport, j'ai aussi apprécié leur disponibilité et leur patience.

Un grand merci à Mme Siham , médecin dans la délégation de santé , et toute l'équipe pour tout l'aide qui m'ont généreusement prodiguée dans l'élaboration de ce travail ; Mes remerciements s'adressent également à tous ceux qui ont contribué de près ou de loin à l'élaboration de ce modeste travail ainsi qu'au bon déroulement du stage et dont les noms ne figurent pas dans ce document.

Liste des abréviations

LCR : liquide céphalo-rachidien

HI : *Heamophilus influenzae*

HIB : *Heamophilus influenzae* de type b

ATB : Antibiotique

MEAP : Méningo-encéphalite amibienne primitive

ORL : oto-rhino-laryngologie

API : analytical profile index

LPS : lipo-polysaccharide

OMS : organisation mondiale de la santé

BK : bacille de Koch

CRP : Protéine C-Réactive

NFS : numération formule sanguine

PL : ponction lombaire

PCR : polymerase chain reaction

Liste des figures et tableaux

Figure 1 : photo prise du CHP de KHENIFRA

Figure 2 : méninges du cerveau

Figure 3 : anatomie des méninges

Figure 4 : physiopathologie de la pénétration des germes dans le LCR

Figures 5 et 6 : différents symptômes cliniques de la méningite

Figure 7 : purpura

Figure 8 : *Naegleria fowleri* après coloration de Giemsa

Figure 9 : *Entamoeba histolytica* sous forme trophozoite

Figure 10 : méningocoques groupés

Figure 11 : colonies de *N.meningitidis* sur gélose chocolat

Figure 12 : pneumocoques sous microscope

Figure 13 : photographie au microscope de *Streptococcus pneumoniae*

Figure 14 : colonies de pneumocoques sur gélose au sang

Figure 15 : HI sous microscope

Figure 16 : HI après coloration de gram

Figure 17 : colonies de HI sur gélose chocolat

Figure 18 : registre de données des prélèvements du LCR

Figure 19 : les trois tubes recueillant le LCR à analyser

Figure 20 : technique de la ponction lombaire

Figure 21 et 22 : protocole d'identification par les antigènes solubles

Figure 23 : API des *Enterobacteriaceae*

Figure 24 : protocole d'identification par LAPI

Figure 25 : cartouches contenant les disques d'ATB

Figure 26 : distributeur des disques

Figure 27 : pourcentage des méningites suspectées selon l'âge

Figure 28 : répartition des méningites suspectées selon les services hospitaliers

Figure 29 : pourcentage du LCR selon l'aspect

Figure 30 : colonies du méningocoque

Figure 31 : test d'oxydase

Figure 32 : test de catalase positif

Figure 33 : test d'agglutination d'antigènes solubles indiquant la souche de *Neisseria* responsable de l'infection

Tableau 1 : résistance naturelle des germes aux ATB

Tableau 2 : signification des différents aspects du LCR

Tableau 3 : profil microbiologique des méningites

Tableau 4 : profil de sensibilité de *Neisseriaméningitidis* sérotype ACY W135

Introduction

La méningite est une maladie redoutable qui apparaît soudainement, c'est une urgence médicale qui peut tuer en quelques heures comme elle peut laisser des séquelles permanentes gravissimes à savoir la surdité, épilepsie, la paralysie cérébrale ou le retard mental [1]. La méningite frappe tous les âges mais plus particulièrement les nourrissons, les enfants et les jeunes. Souvent cette maladie peut être d'origine bactérienne, virale fongique ou parasitaire [2]. Ce pendant ce sont les infections bactériennes à *Neisseria meningitidis*, *Streptococcus pneumoniae* ou *Haemophilus influenzae* de type b qui dominant à 90% [3]. On estime que plus de 1,2 millions de cas de méningite bactérienne se reproduisent chaque année dans le monde [4].

La morbidité et mortalité des méningites bactériennes aiguës chez l'enfant de moins de 5 ans présentent une incidence médiane de 34 cas pour 100 000 enfants-années. Cette incidence varie de 143,6 en Afrique à 16,6 pour 100 000 enfants-années en Amérique [5]. La même étude a montré que le taux de létalité médiane est de 14,4%, variant de 31,3% en Afrique à 3,7% en Asie du Sud-Est. Avec le développement de la vaccination et avec les diverses recommandations de bonnes pratiques médicales concernant essentiellement l'antibiothérapie adoptées ces dernières années, de nettes modifications du profil bactériologique des méningites bactériennes de l'enfant ont été observées dans plusieurs pays du monde [6]. En effet, la vaccination obligatoire contre *Haemophilus influenzae* a fait chuter l'infection par ce germe [7] de même que la méningite à *Streptococcus pneumoniae* responsable des infections invasives chez l'enfant [8] a vu son nombre diminué notamment chez les enfants de moins de 2 ans [9].

Au Maroc et selon le ministère de santé, 988 cas de méningites sont enregistrés en 2016, soit une incidence cumulée de 2,9 pour 100.000 habitants contre 4,10 enregistré en 2015. Parmi l'ensemble de ces cas 652 sont des méningococciques. Malgré cette diminution la méningite au Maroc reste mortelle. En effet le taux de mortalité est passé de 10,13% en 2015 à de 11,13 en 2016.

Au niveau de la **région Béni-mellal khénifra**, en 2016, l'incidence des méningites a été de l'ordre 3.4 cas /100000. Parmi ces méningites 1.9 cas/100000 sont considérés méningococciques [12].

Le Maroc est sensible à la gravité de la méningite un programme national de lutte contre cette maladie a été mis en place en 1989 dont la stratégie a été axée principalement sur la surveillance et des circulaires ministérielles ont été élaborées pour organiser celle-ci [11]. Il en résulte que la suspicion

de méningite est une urgence médicale et demande un diagnostic. Ce dernier se base sur l'examen cyto-bactériologique du liquide céphalo-rachidien comportant un examen biologique un examen bactériologique et un antibiogramme.

A l'échelle de chaque CHP, un taux de confirmation annuel est calculé, il représente le pourcentage de culture positive par rapport à l'ensemble des prélèvements. Celui de Khenifra est de l'ordre de 9% ce qui ne reflète pas le nombre de méningites enregistrées dans la région (Beni Mellal-Khénifra) selon le ministère de la santé.

Ce travail pour but d'apporter une réponse à cette baisse du taux de confirmation. Pour ce faire deux axes vont être explorés :

Axe 1. Décrire le profil des méningites bactériennes pendant l'année 2018, et calculer le taux de confirmation pendant cette année selon une étude rétrospective.

Axe 2. Identifier les facteurs liés à la baisse du taux de confirmation de ces méningites bactériennes selon une étude prospective.

Revue Bibliographique

I. Méningite

1. Définition

La méningite est une pathologie inflammatoire des tissus entourant le système nerveux central (Figure 2), elle est le plus souvent liée à une infection [13].

C'est une inflammation des méninges, les membranes qui enveloppent le système nerveux central (cerveau et moelle épinière). Les méninges sont formées de 3 feuillets (Figure 3) :

La **dure mère**,

L'**arachnoïde**,

La **pie mère**.

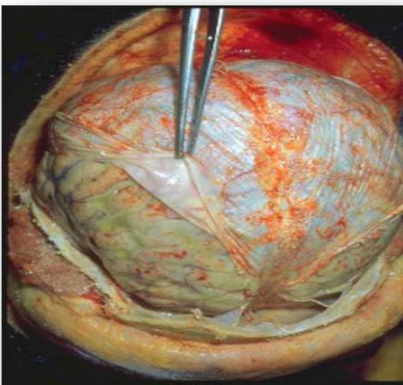


Figure 2 : méninges du cerveau

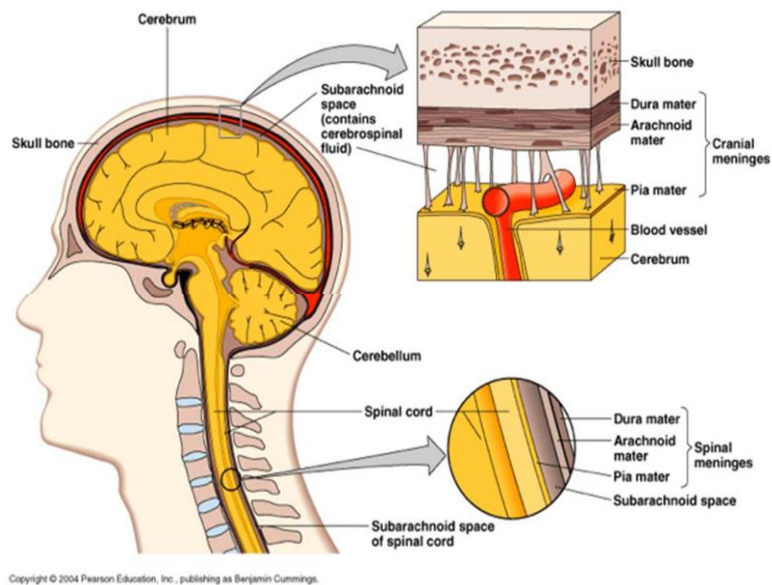


Figure 3 : anatomie des méninges

2. Pathogénie

L'envahissement des bactéries vers les espaces méningés et le LCR (liquide céphalo-rachidien) s'effectue quasi exclusivement par voie hématogène. La porte d'entrée peut être due à une colonisation bactérienne, les bactéries constituent un foyer infectieux qui touche la sphère ORL (oto-rhino-laryngologie), au-delà elles passent par le sang, et la bactériémie s'élève. Ces bactéries vont franchir la barrière hémato-méningée (Figure 4) [14].

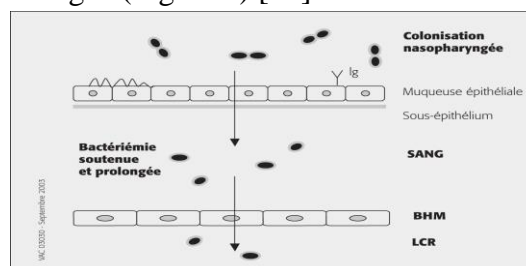


Figure 4 : physiopathologie de la pénétration des germes dans le LCR

Dans le LCR, les germes vont pulluler rapidement car aucun moyen humoral de défense anti-infectieuse n'y préexiste. Ils vont y induire la méningite en y provoquant un intense processus inflammatoire, décalé de quelques heures, et pour lequel entrent en jeu à la fois des promoteurs bactériens et des éléments de réponse de l'hôte : La réponse de l'hôte consiste dans la production de cytokines par des cellules à activité macrophagique in situ (Interleukine1, 4,...).

La réaction inflammatoire elle-même se marque par l'afflux de polynucléaires, l'exsudation d'albumine et secondairement par l'augmentation de la teneur en eau du cerveau lui-même (la perméabilité de la barrière augmente). L'augmentation de la teneur en eau du cerveau produit l'œdème cérébral.

3. Les signes cliniques

Les signes et symptômes de la méningite débutent classiquement de façon soudaine, avec de la fièvre ainsi qu'une irritation méningée se manifestant par des céphalées, une raideur à la nuque, des nausées et des vomissements (Figure 5 et 6). Chez les jeunes enfants, le tableau est moins spécifique, avec malaise, irritabilité, anorexie et diarrhée.

Jusqu'à un tiers des enfants présenteront des convulsions dans les 48 premières heures d'une méningite bactérienne. Des pétéchies et du purpura peuvent être présents. Les manifestations cliniques de la méningite virale sont semblables à celles de la méningite bactérienne, mais l'état général est moins atteint et les symptômes sont souvent moins intenses. Selon l'agent viral en cause, les cas peuvent présenter des symptômes respiratoires et gastro-intestinaux ainsi qu'une éruption cutanée.



Figures 5 et 6 : différents symptômes cliniques de la méningite

Méningite virale

Les différents symptômes de la méningite virale varient entre : Mauvaise alimentation, vomissement diarrhées, raideur de la nuque, cri aigu, fontanelle bombante, convulsion, léthargie.

La méningite virale n'entraîne généralement pas de complications. Néanmoins, il peut y avoir

des manifestations transitoires, telles que parésie, spasmes musculaires, insomnie et changement de comportement.

Méningite bactérienne

Enfant de plus d'un an et adulte

- Fièvre, céphalées intenses, photophobie, raideur de la nuque.
- Signes de Brudzinski et de Kernig : le patient allongé fléchit involontairement les genoux quand on lui fléchit le cou ou quand on lui lève les jambes à la verticale, genoux en extension.
- Purpura pétéchial ou ecchymotique (souvent lié à une infection à méningocoque)
- Dans les formes sévères : coma, convulsions, signes de focalisation, purpura fulminants (Figure 7).



Figure 7 : purpura

Enfant de moins d'un an

Les signes classiques sont en règle absents.

- Irritabilité, fièvre ou hypothermie, altération de l'état général, refus de s'alimenter/téter ou vomissements.
- Les autres signes peuvent être : convulsions, apnées, troubles de la conscience, bombement de la fontanelle (en dehors des cris) ; occasionnellement : raideur de la nuque et éruption purpurique.

Complications

Des convulsions persistantes, de l'œdème cérébral avec hypertension intracrânienne, peuvent survenir au début de la maladie. À plus long terme, des séquelles neurologiques peuvent apparaître; la complication la plus fréquente est la surdité neurosensorielle. Peuvent aussi survenir : ataxie, parésie, hydrocéphalie, épilepsie, diabète insipide... La mortalité est de 4 à 8 %, même avec un traitement approprié [15].

Méningite parasitaire

Rare mais elle peut intervenir en causant la MEAP qui entraîne l'apparition brutale de maux de têtes, fièvre modérée, de nausées parfois associée à une irritation de la gorge et une rhinite. Le tout

pouvant s'accompagner de léthargie, raideur de la nuque, , diverses atteintes oculaires (mydriase, sensibilité à la pression), une hyperthermie (39 à 41 °C), des vomissements et crises épileptiformes puis un coma irréversible suivi de la mort de la personne atteinte par dépression respiratoire après moins d'une ou deux semaines suivant l'apparition des symptômes.

Méningite fongique

Une méningite d'origine fongique survient sur terrain immunodéprimé Les symptômes sont généralement identiques à ceux qui sont imputables aux autres causes. Dans tous les cas, l'infection se traite à l'aide de médicaments antifongiques.

Parce que les signes et les symptômes ne permettent pas de différencier une méningite virale d'une méningite bactérienne. Parce que le devenir est très différent dans les méningites virales et bactériennes (respectivement excellent et grave) un diagnostic précis est obligatoire et nécessite une PONCTION LOMBAIRE.

4. Agents étiologiques

4.1. Méningite d'origine virale : sont généralement bénignes chez les patients ne souffrant pas d'un déficit immunitaire, le rétablissement étant le plus souvent spontané : le malade guérit sans séquelles au bout de quelques jours. Elles sont souvent liées aux *entérovirus* (groupe de virus) surtout chez les enfants, mais elles peuvent également être déclenchées par d'autres pathologies comme l'herpès, la varicelle, la rougeole... La méningite virale peut être causée par de nombreux virus différents les uns des autres [16].

4.2. Méningite d'origine fongique : dues à des *champignons*, elles apparaissent souvent chez des patients au système immunitaire déficient (malades du sida par exemple) chez lesquels les cellules de défense de l'organisme ne remplissent pas leur rôle. Elles sont moins fréquentes mais très sévères. Le principal champignon à l'origine de méningites est *Cryptococcus neoformans*, c'est un champignon microscopique très répandu dans la terre, il ne touche normalement que les personnes dont le système immunitaire est affaibli. D'autres champignons peuvent causer la méningite: *Candida albicans*, on la trouve dans la bouche, le tube digestif et le vagin des personnes en bonne santé, habituellement sans poser le moindre problème. Il peut cependant causer une infection fongique appelée muguet et, dans de rares cas, une forme dangereuse de méningite. Cette maladie a tendance à survenir chez les bébés prématurés dont le poids est très bas à la naissance ou chez les personnes dont le système immunitaire est affaibli par le SIDA, une chimiothérapie anticancéreuse, une transplantation d'organe ... *Histoplasma* est également un champignon microscopique, présent dans la terre et capable de causer la méningite et d'autres maladies chez les personnes dont le système immunitaire est affaibli.

4.3. Méningite d'origine parasitaire : La méningite amibienne est rare et peut être fatale. Elle est causée par *Naegleria fowleri* (Figure 8), un parasite unicellulaire, qui est retrouvée dans les lacs d'eau douce et les rivières. *Entamoeba histolytica* (Figure 9) peut être aussi l'origine d'une méningite. Les amibes peuvent pénétrer dans le cerveau par le nez lorsque les personnes nagent dans de l'eau contaminée. La méningo-encéphalite amibienne primitive peut progresser rapidement et passer d'altérations de l'odorat ou du goût, de céphalées, de raideur de la nuque, de nausées et de vomissements à une confusion et au décès.

Pour rechercher la présence éventuelle d'amibes, les médecins réalisent une ponction lombaire afin d'obtenir un échantillon de liquide céphalorachidien et, parfois, de prélever un petit morceau de tissu cérébral (biopsie) afin de l'examiner et de l'analyser.



Figure 8 : *Naegleria fowleri* après coloration de Giemsa

4.3.1. *Naegleria fowleri*

L'espèce *Naegleria fowleri* est une amibe libre (non parasite) vivant dans les lacs, marais, piscines mal entretenues et la terre humide. Elle peut provoquer une méningo-encéphalite amibienne primitive c'est pourquoi elle est parfois surnommée la "**mangeuse de cerveau**". Le trophozoïte du *Naegleria fowleri* pénètre dans l'encéphale à partir des fosses nasales en traversant l'épithélium olfactif, provoquant une réaction inflammatoire.



Figure 9 : *Entamoeba histolytica* sous forme trophozoïte

4.3.2 *Entamoeba histolytica*

Une seule amibe est pathogène pour l'homme : *E. histolytica*, qui existe sous trois formes : - une forme kystique : le kyste, éliminé dans les selles, qui est fa forme de résistance et de dissémination, - deux formes végétatives ou trophozoïtes : trophozoïte non hématophage non pathogène (*Entamoeba histolytica minuta*) qui traduit l'amibiase-infection et trophozoïte hématophage pathogène (*histolytica*) responsable de l'amibiase-maladie. L'amibiase cérébrale ou encéphalique, transmise par voie hématogène à partir du lobe droit du foie, à symptomatologie d'abcès du cerveau.

4.4. Méningite d'origine bactérienne

Les méningites d'origine bactérienne sont graves car elles évoluent rapidement et sont associées à un important risque de mortalité. Les espèces responsables de méningites aiguës sont

variables selon l'âge. Chez *le nouveau-né* et jusqu'à six mois, les bactéries redoutées sont les *streptocoques du groupe B*, *Escherichia coli* et *Listeria monocytogenes*. Chez le *jeune enfant, jusqu'à 5 ans*, les trois principales espèces en cause sont *Haemophilus influenzae*, *Neisseria meningitidis* (méningocoque) et *Streptococcus pneumoniae* (pneumocoque). *Après 5 ans*, les deux espèces bactériennes les plus fréquemment rencontrées sont *Neisseria meningitidis* et *Streptococcus pneumoniae*.

- **Méningite à méningocoque : *Neisseria meningitidis***

Par leur contagiosité élevée, les méningocoques (Figure 10) peuvent être à l'origine d'épidémies de méningites cérébrospinales et de sepsis dans le monde entier.

On a recensé au moins 12 sérogroupes de *N. meningitidis* :

A, B, C, D, X, Y, Z, W135, 29E, H, I, K, L, chacun étant divisé en sérotypes, sous-types et clones. Près de 90% des infections sont provoquées par les sérotypes (A, B, C et W135) qui sont connus également pour provoquer des épidémies. *N. meningitidis* appartient au genre *Neisseria* (2 espèces, *N meningitidis* et *N gonorrhoeae* [2]).

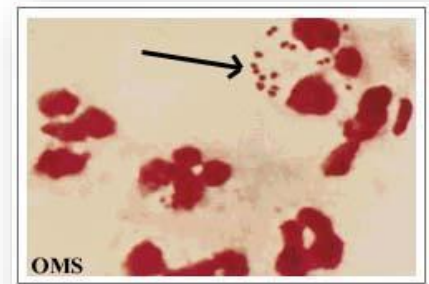


Figure 10 : méningocoques groupés

- **Mode de transmission**

Le plus souvent par l'intermédiaire de gouttelettes provenant des voies aériennes supérieures, générées en particulier lors de la toux, des éternuements, de la parole d'un sujet infecté. La période d'incubation est en moyenne de quatre jours mais elle peut être comprise entre 2 et 10 jours.

- **Habitat**

L'homme est le réservoir unique des méningocoques, la bactérie se localise au niveau du rhinopharynx, c'est la porte d'entrée du germe dans l'organisme. De nombreux sujets sont porteurs sains et jouent un rôle capital dans l'épidémiologie de la maladie.

- **Epidémiologie et pouvoir pathogène**

Chez certains sujets, notamment les sujets jeunes vivant en collectivité, le méningocoque se multiplie et provoque une rhino-pharyngite contagieuse, épidémique ou sporadique. Celle-ci survient surtout en période hivernale et printanière. Dans un pourcentage très faible des cas (1 %), il peut passer dans le courant sanguin, entraîner une bactériémie (méningococcémie) avec fièvre et rash hémorragique

(pétéchies, purpura). **La méningite** est la complication la plus fréquente de la méningococcémie. Elle apparaît brutalement et entraîne des céphalées, des vomissements et une raideur de la nuque, et, non traité évolue vers le coma en quelques heures.

- **Etude bactériologique**

Microscope

Les méningocoques apparaissent comme des cocci réniformes, immobiles, à Gram négatif, habituellement groupés en diplocoques (grains de café). Dans les produits pathologiques (culot de centrifugation du liquide céphalo-rachidien), ils sont souvent peu nombreux et situés à l'intérieur ou à l'extérieur des polynucléaires (méningite habituellement purulente, avec LCR eau de riz).

Culture



Figure 11 : colonies de *N. Méningitidis* sur gélose chocolat

Le méningocoque est un germe moins fragile que le gonocoque. Les échantillons de produit pathologique susceptibles de contenir des méningocoques doivent cependant être ensemencés le plus rapidement possible sur un milieu de culture approprié. Il faut éviter les grands écarts de température lors du transport au laboratoire. Le méningocoque ne pousse pas ou mal sur les milieux de culture usuels et à 22°C (différence avec les *Neisseria* commensales). Il pousse bien sur gélose au sang cuit (gélose chocolat) incubée à 36 °C, en atmosphère enrichie de 5 % de CO₂ (le procédé de la bougie permet d'obtenir une concentration en CO₂ de 3 à 10 %). L'humidité favorise la croissance. Les cultures sont positives en 18 heures et donnent des colonies grisâtres, opaques, à surface lisse et humide (Figure 11). Les formes capsulées forment des colonies mucoïdes.

Caractères biochimiques

Le méningocoque est un aérobie strict, oxydase positif, capable d'utiliser le glucose et le maltose (attaque par voie oxydative). Le méningocoque possède une alpha-glutamyl-transférase.

Structure chimique et antigénique

La paroi du méningocoque, et des *Neisseria* en général, a une structure voisine de celle des bacilles à Gram négatif. Elle contient un lipo-polysaccharide (LPS) ou endotoxine qui a un pouvoir létal par

injection intraveineuse ou intrapéritonéale à dose élevée et un pouvoir dermo-nécrotique par injection intradermique. Des polysaccharides capsulaires permettent de classer par agglutination les méningocoques en groupes sérologiques : A, B, C, D, XYZ, 29E et W135. Chaque fois qu'il y a une **épidémie**, il s'agit de méningocoques des groupes **A** et **C**, les groupes **B** se rencontrant plus fréquemment dans les cas sporadiques ou chez les porteurs sains.

- **Méningite à pneumocoque : *Streptococcus pneumoniae***

Les infections à pneumocoque comprennent l'ensemble des **Infections invasives (méningite, pneumonie bactériémie)** et non invasives (pneumonie, otite, sinusite et bronchite) liées à la bactérie *Streptococcus pneumoniae* dont il existe

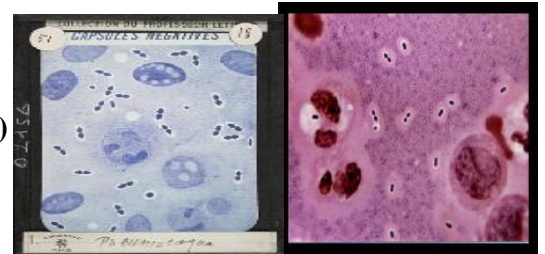


Figure12 : pneumocoques sous microscope plus de 90 sérotypes mais la plupart des maladies graves ne sont dues qu'à un nombre limité de ceux-ci. La méningite à pneumocoque concerne toutes les classes d'âge, mais la gravité des infections est plus élevée aux extrêmes de la vie. Elle est associée à une mortalité élevée en particulier chez le nourrisson et la personne âgée.

- **Mode de transmission**

Le *S. pneumoniae* se transmet par contact direct avec les sécrétions respiratoires des malades et des porteurs sains. C'est une transmission interhumaine, par voie aérienne.

- **Habitat**

Il ne survit pas dans le milieu extérieur. Il fait partie de la flore bactérienne normale qui colonise le tractus respiratoire supérieur de l'homme. C'est l'hôte normal (commensal) du rhino-pharynx.

- **Pouvoir pathogène naturel**

A l'occasion d'une baisse de l'immunité générale ou locale, provoquée par des anomalies du tractus respiratoire, des intoxications (alcool), des troubles circulatoires, la malnutrition, la splénectomie, etc..., le pneumocoque peut se multiplier activement dans l'arbre respiratoire. Il va provoquer :

-Des affections suppuratives loco-régionales : bronchites, trachéobronchites, sinusites, otites, conjonctivites, qui sont des infections non graves rencontrées souvent chez les enfants.

-Des affections à distance : ce sont des infections de pronostics graves, à savoir, péricardites, méningites, péritonites, arthrites la pneumonie bactériémique.

- **Etude bactériologique**

Microscope

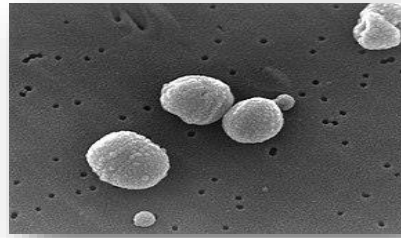


Figure 13 : photographie au microscope de *Streptococcus pneumoniae*

Les pneumocoques apparaissent comme des cocci à Gram positif, en flamme de bougie (Figure 12), encapsulés, alpha hémolytique groupés par paire (diplocoque) (Figure 13), parfois en courtes chaînettes.

Culture



Figure 14 : colonies de pneumocoques sur gélose au sang

La culture du pneumocoque est aussi difficile que celle des streptocoques. Sur gélose au sang en anaérobiose ou sous CO₂, le pneumocoque donne des colonies lisses, transparentes, en goutte de rosée, entourées d'une zone d'hémolyse partielle (alpha) (Figure 14). Par repiquages successifs, les colonies deviennent rugueuses et correspondent à des pneumocoques ayant perdu leur capsule.

Caractères biochimiques

Comme tous les streptocoques, le pneumocoque est un germe à métabolisme anaérobie mais aérobie tolérant. Il n'a pas de catalase, ni d'oxydase. Il entraîne une fermentation lactique de nombreux sucres. L'adjonction de tensio-actifs (bile, sels biliaires) à une culture de pneumocoque en bouillon entraîne la lyse des capsules du pneumocoque et l'éclaircissement immédiat du bouillon (phénomène de **NEUFELD**). A l'inverse des streptocoques, le pneumocoque est sensible à un sel de cuivre, l'éthyl-hydrocupréine (optochine). Cette propriété est utilisée pour l'identification du pneumocoque au laboratoire.

Construction chimique et antigénique

Le pneumocoque est caractérisé par la présence d'une capsule de nature polysaccharidique, dont il existe 84 types immunologiques (types de capsules). En contact avec un anticorps spécifique, le polysaccharide forme un complexe antigène-anticorps qui se traduit, à l'examen microscopique, par le

phénomène du gonflement de la capsule. Ce phénomène permet le typage sérologique des pneumocoques et a un grand intérêt épidémiologique. La capsule du pneumocoque joue un rôle capital dans le pouvoir pathogène du germe en empêchant la phagocytose. Ils produisent au cours de leur développement des substances toxiques. Parmi ces dernières, la **streptolysine O** a la capacité de détruire les globules rouges.

- **Méningite à *Haemophilus influenzae* de type b (Hib)**

Haemophilus influenzae type b (Hib)

est un coccobacille à Gram négatif (Figure 15)

qui n'est nocif que pour l'homme. Les manifestations les plus importantes de

l'infection à Hib à savoir pneumopathies, méningites et autres pathologies invasives, s'observent principalement chez les enfants âgés de moins de 2 ans, en particulier chez les nourrissons. Selon les estimations de l'OMS de 2006, Hib provoquerait au moins 3 millions de cas de maladie grave et près de 386000 décès par an. Bien que ces cas se produisent partout dans le monde, le poids des pathologies à Hib pèse plus lourdement sur les pays pauvres.

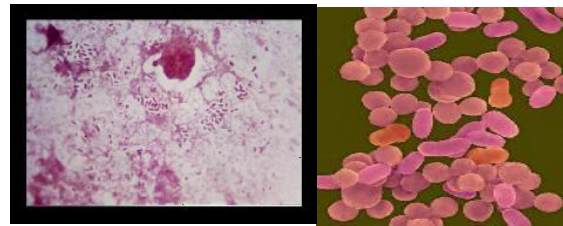


Figure 15 : HI sous microscope

- **Mode de transmission**

Les germes se transmettent par voie aérienne La transmission des souches capsulées est assurée par les gouttelettes de salive dispersées lors de la respiration et les sécrétions du nez et de la bouche.

- **Habitat**

Découvert en 1892 par PFEIFFER qui pensait avoir trouvé l'agent de la grippe, *H.influenzae* est un commensal de l'arbre respiratoire supérieur, au moins sous sa forme non capsulée. La forme capsulée de type b, la plus pathogène, pourrait être parasite strict de l'espèce humaine et transmise par voie respiratoire

- **Pouvoir pathogène**

Chez le jeune enfant

H.influenzae provoque des rhinopharyngites qui peuvent se sinusites et d'otites (*H.influenzae* est l'agent le plus fréquent des otites moyennes, immédiatement suivi par le pneumocoque). Par voie

hématogène, il peut atteindre les méninges et provoquer une méningite (enfant de moins de 3 ans). Occasionnellement il peut être responsable de laryngite et de laryngo-trachéite et d'épiglottite.

Chez les sujets à moyens de défense diminués :

Il peut être responsable de bronchites (chez les bronchitiques chroniques), de pneumonies, d'arthrites (plus rarement d'endocardites)

- **Etude bactériologique**

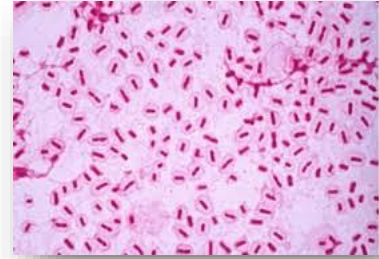


Figure 16 : HI après coloration de gram

Microscope

Dans les produits pathologiques, *H. influenzae* se présente sous la forme de tout petits bacilles à Gram négatif .(Figure 16), d'aspect coccobacillaire, groupés en amas, en courtes chaînettes. Les souches virulentes sont capsulées (comme pour le pneumocoque).

Culture

H. influenzae exige pour sa croissance les facteurs X et V qui sont présents dans la gélose au sang cuit (gélose chocolat) ou dans la gélose ordinaire additionnée d'extrait globulaire



Les colonies apparaissent en 24-48 heures.(Figure 17). Figure 17 : colonies de HI sur gélose chocolat

Caractères biochimiques

L'étude des caractères biochimiques n'a pas d'intérêt pour le diagnostic mais un intérêt épidémiologique pour différencier les biotypes. Celui-ci repose sur l'exigence en facteurs X et V, et sur la mise en évidence des caractères antigéniques. Il possède une catalase et il fermente le glucose, le désoxyribose et le xylose avec une acidification sans production de gaz.

Structure antigénique

Lorsque *H. influenzae* est capsulé, la capsule est de nature polysaccharidique. Il existe, en fonction de la structure antigénique de la capsule, 6 types : a, b, c, d, e et f. Comme pour *S. pneumoniae*, le sérotypage de *H. influenzae* à l'aide d'immuns sérums spécifiques se fait par le phénomène du gonflement de la capsule (agglutination). Le type b est de loin le plus pathogène.

- D'autres bactéries pathogènes peuvent être à l'origine de méningite comme *Mycobactérium tuberculosis* (bacille de Koch, BK), *E. coli*, *Salmonella enterica*, *Listeria monocytogenes*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus* et *Streptococcus agalactiae*.

5. Diagnostic

Une fois le diagnostic de méningite envisagé sur les arguments cliniques, il ne peut être prouvé que par l'examen du LCR. Les autres examens biologiques comme, la numération formule sanguine (NFS), et les dosages de la CRP... sont des examens complémentaires qui peuvent contribuer à l'approche diagnostique. Le diagnostic de confirmation de la méningite est avant tout un diagnostic bactériologique.

5.1. Diagnostic bactériologique

« [Guide de la lutte contre les méningites bactériennes](#)

[communautaires, MS, Maroc, 2010](#) »

Prélever le LCR

Le prélèvement du LCR se fait habituellement par ponction lombaire, avec des conditions d'asepsie rigoureuses. C'est un acte médical qui doit être réalisé par un médecin expérimenté qui sera recueilli dans 3 tubes et ensuite adressé aux laboratoires de microbiologie et de biochimie.

Noter l'aspect du LCR

Si trouble, clair, purulent, hématique, hémorragique, ictérique ..

Mesurer la protéinorachie et la glycorachie

Le diagnostic positif d'une méningite repose sur la numération des leucocytes et sur la protéinorachie qui sont anormalement élevées. La glycorachie peut être basse ou normale.

Réaliser l'examen cytologique du LCR

Dénombrer les éléments cellulaires (leucocytes, hématies) dans une cellule quadrillée. En cas de leucocytes élevés, une formule leucocytaire est réalisée ainsi qu'une coloration de Gram sur culot de centrifugation. Selon leur valeur, ces paramètres peuvent orienter le diagnostic étiologique entre méningite virale et méningite bactérienne.

Tous ces paramètres ne permettent qu'une orientation étiologique. Seule la **coloration de Gram**, si elle visualise des bactéries permettra d'affirmer que la méningite est bactérienne et de plus permettra de s'orienter vers l'espèce bactérienne en cause.

Mettre en évidence les antigènes soluble

En cas de cytologie anormale ou en cas de présence de germes au Gram, la présence d'antigènes solubles correspondants aux polysaccharides capsulaires des bactéries peut être mise en évidence par un réactif au latex.

Mettre en culture le LCR (Plus de détails dans la partie matériel et méthodes)

5.2. Diagnostic moléculaire [« Guide de la lutte contre les méningites bactériennes communautaires, MS, Maroc, 2010 »](#)

Il est actuellement possible de rechercher les gènes spécifiques de certaines bactéries (*N. meningitidis*, *S. pneumoniae* et *H. influenzae*) ou de virus (entérovirus) à l'aide de la technique de PCR (Polymérase Chain Réaction) directement dans le LCR. Cette technique rapide et spécifique est utile en cas de négativité de la bactériologie standard pour orienter le traitement curatif et la prophylaxie des sujets contact.

La PCR associée aux techniques conventionnelles permet, lorsqu'elle est disponible, un gain diagnostique remarquable d'autant plus qu'elle permet le diagnostic des méningites virales à Entérovirus.

II. Traitement

1. Famille des antibiotiques

*Effet bactéricides

Les pénicillines : (Pénicilline A(Amoxicilline, Ampicilline), Pénicilline G, Pénicilline V, ..) : ils sont utilisés dans le traitement des méningites. Ils inhibent la synthèse de la paroi bactérienne.

Les céphalosporines : (Cefixime, Cefotaxime, Ceftriaxone, Cefuroxime,..) Ils inhibent également la synthèse de la paroi bactériennes.

Les quinolones : (Ciprofloxacin, Levofloxacin,), empêchent la réplication d'ADN.

*Effet bactériostatique

Les aminosides : (Streptomycine, Amikacine, Gentamicine), ils inhibent la synthèse protéique des bactéries.

Les macrolides : (Azitromycine, Érythromycine, spiramycine) : ils inhibent la synthèse protéique.

Les tétracyclines : (Doxyciline, Tétracycline) : Ils inhibent la synthèse protéique

Les sulfamides : (Sulfazalazine, Sulfaméthoxazole) : Ils inhibent la synthèse de l'acide folique.

2 .Résistance au traitement

Tableau 1 : résistance naturelle des germes aux ATB

N.méningitidis	Thriméthoprim, glycopeptides, lincosamides, colistine, polymyxine B
S.pneumoniae	Quinolones de 1 ^{ère} génération, colistine, aztreonam, péfloxacin
H.influenza	Macrolides, lincosamides

III. Prophylaxie

Premièrement, le traitement antibiotique est essentiel, il doit être combiné à un traitement symptomatique. Il a pour but de stériliser, le plus rapidement possible, le foyer infectieux afin de réduire le risque de mortalité et des séquelles neurologiques et sensorielles.

Deuxièmement, la vaccination. La prévention par la vaccination permet de compléter l'antibioprophylaxie instaurée pour la protection des sujets ayant eu des contacts proches et répétés avec un malade (famille ou collectivité). Elle a comme objectif principal d'éviter la recirculation de la souche pathogène parmi ces contacts. En effet, quatre antigènes polysaccharidiques spécifiques sont actuellement disponibles, relevant des sérogroupes A, C, Y, W135. Ils sont distribués sous forme lyophilisée, et sont injectés par voie intramusculaire ou sous-cutanée.

Matériel et méthodes

L'étude se veut rétrospective et prospective

I. Lieu d'étude

Le travail concerne les examens du liquide céphalo-rachidien effectués au sein du laboratoire de bactériologie de l'hôpital CHP de KHENIFRA.

II. Etude rétrospective

Il s'agit d'une étude descriptive analytique du taux de confirmation des méningites bactériennes au niveau du CHP de KHENIFRA pendant l'année 2018, l'étude concerne le registre du laboratoire (Figure 18) où sont colligés les fiches de l'ensemble des prélèvements de patients hospitalisés et externes.

1 .collecte des données

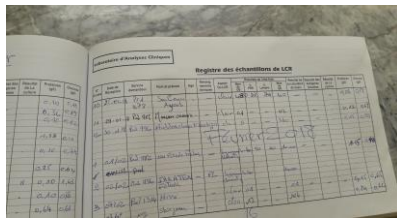


Figure 18 : registre de données des prélèvements du LCR

Les patients hospitalisés aux différents services (chirurgie pédiatrie, réanimation, urgence....) les patients externes pris en charge en consultation de méningites à l'hôpital de jour.

2 .Paramètres cibles

Plusieurs paramètres cibles ont été entamés dans cette étude rétrospective à savoir : le genre, le service hospitalier, l'aspect du LCR, la culture bactériologique puis le profil microbiologique des méningites.

II. Etude prospective :

L'étude prospective se base sur la pratique de l'examen cyto bactériologique du liquide céphalo-rachidien (LCR).

1. Principe

L'examen cyto bactériologique du LCR permet de délayer le diagnostic biologique des méningites d'origine bactérienne. Il consiste à réaliser un examen du LCR qui permet l'estimation de la réaction d'identification des bactéries infectantes et l'étude de leur sensibilité aux antibiotiques.

2. Prélèvement

Le prélèvement du LCR est réalisé par un médecin par une ponction lombaire dans les conditions d'asepsie (Figure 20). Le LCR est recueilli dans des tubes stériles sans délai (moins de 30 min). La quantité prélevée est de 3 ml environ répartis entre 3 tubes stériles (Figure 19), servant respectivement à l'examen biochimique, microbiologique et cytologique. Le prélèvement est immédiatement acheminé au laboratoire en évitant les variations thermiques préjudiciables au méningocoque en particulier (fragilité) et en raison de la rapidité de la lyse des polynucléaires.

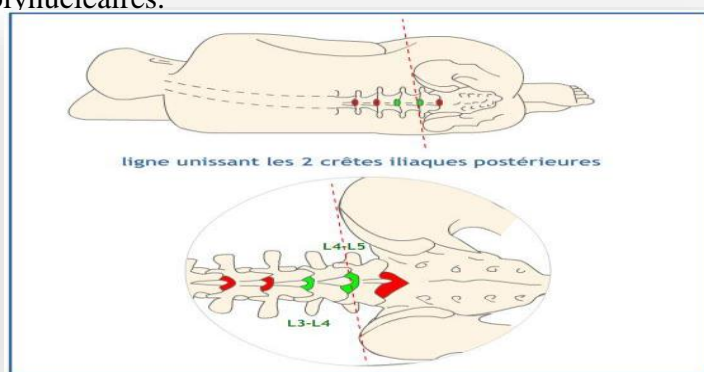
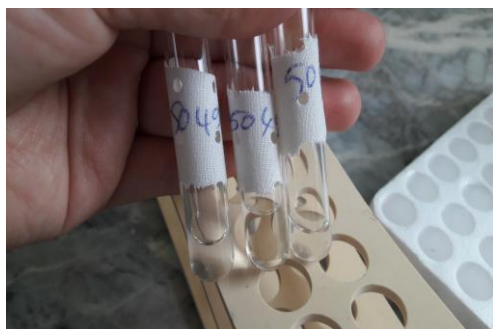


Figure 19: les trois tubes recueillant le LCR à analyser Figure 20 : technique de la ponction lombaire

3. Aspect macroscopique

L'aspect macroscopique du LCR est un élément d'orientation très important (Tableau 2). Un LCR normal est clair, limpide (eau de roche).

Les aspects pathologiques du LCR, correspondent à des modifications chimiques et /ou cellulaires :

- ❖ **Le LCR est d'aspect trouble** par l'augmentation des polynucléaires. En fonction de l'intensité de cette augmentation on peut distinguer différents degrés : de légèrement trouble à purulent (+++ pus), eau de riz
- ❖ **Le LCR est hémétique voire hémorragique** : Pour différencier une hémorragie méningée d'une brèche vasculaire locale, centrifuger le LCR et noter l'aspect du surnageant :
 - Si le surnageant est limpide et incolore et le culot hémétique avec un coagulum empêchant la remise en suspension des hématies : il s'agirait d'une brèche vasculaire locale lors de la ponction.

- Si le surnageant est limpide mais coloré (xanthochromique), et le culot hématique non coagulé, avec des hématies facilement remises en suspension : il s'agit probablement d'une hémorragie méningée.

Tableau 2 : signification des différents aspects du LCR

Aspect	Désignation	Signification
Limpide	Clair	Normal (stérile) <hr/> Pathologique : Méningite virale, bactérienne décapitée, tuberculeuse, méningite au début, parasitaire.
Rosé ou rouge	Hémorragique ou hématique	Hémorragie sub-arachnoïdienne récente ou atteinte accidentelle d'un vaisseau lors de la ponction (brèche vasculaire locale)
Jaune et transparent	xanthochromique	Ictère grave , hémorragie méningée ancienne, compression médullaire
Trouble, purulent, eau de riz	Purulent	Méningite bactérienne

4. Paramètres biologiques

4.1 .Mesure de protéinorachie

Les valeurs normales sont comprises entre 0,1 et 0,45 g/L

NB : En période néonatale et jusqu'à l'âge de 2 mois, les valeurs sont plus élevées pouvant atteindre 1,50 g/L à 1,80g/L.

En cas de méningite bactérienne : valeur > 1 g/L, une hyperprotéinorachie.

- Protocole

La concentration du LCR en protéines est dosée par un automate (Beckman coulter)

4.2 .Mesure de glycorachie

Elle doit être déterminée simultanément à la glycémie.

Valeur normale = 2/3 glycémie

En cas de méningite bactérienne (purulente ou tuberculeuse) : hypo glycorachie.

- Protocole

La procédure opératoire du dosage du glucose dans LCR est aussi réalisée par le même automate de biochimie utilise pour la protéinorachie.

4.3 .Mesure des leucocytes

Le **LCR normal** : 3 à 5 éléments / mm³

Dès que le nombre d'éléments est supérieur à **10/ mm³**, la formule leucocytaire est effectuée.

- Centrifuger le LCR 20 min à 2000 tr/min ;
- Préparer l'étalement sur lame à partir du culot de centrifugation remis en suspension :
- Colorer 1 frottis au bleu de Méthylène 5 min (ou au May Grünwald Giemsa) ;
- Dénombrer la proportion des **polynucléaires** par rapport aux lymphocytes sur une centaine de leucocytes pour établir la formule leucocytaire.

4.4 .Examen direct après coloration de Gram

Cet examen est très important car il permet un diagnostic étiologique présomptif rapide quand il est réalisé par un technicien expérimenté. Il est généralement positif à partir de **10⁴ à 10⁵ UFC/mL**. Préparer un frottis avec une goutte du culot de centrifugation du LCR, sécher à l'air, fixer à la chaleur douce et colorer au Gram. Le frottis est ensuite examiné au microscope.

4.5 .Mise en évidence des antigènes solubles

En présence d'une cytologie anormale ou en cas de présence de germes au Gram, la présence d'antigènes solubles correspondants aux **polysaccharides capsulaires des bactéries** peut être mise en évidence par un réactif au latex. (Figure 21 et 22)

On peut détecter par cette technique les bactéries suivantes :

***Neisseria meningitidis* (A, B, C, W135) ;**

***S. pneumoniae*,**

***H. influenzae type b* ;**

les streptocoques du groupe B ; et *Escherichia coli* sérotype K1

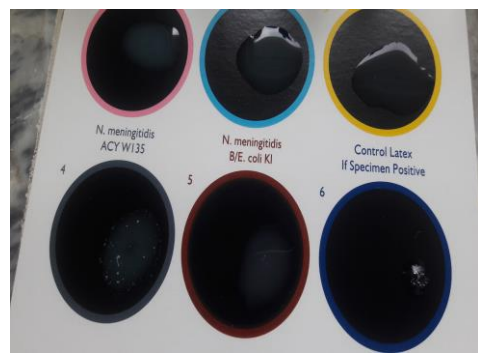


Figure 21 et 22 : protocole d'identification par les antigènes solubles

5. Examen bactériologique

5.1. Milieu de culture

Vue l'exigence des germes tels que *N.méningitidis*, les milieux utilisés sont des géloses enrichies comme la gélose chocolat utilisé au niveau du laboratoire.

5.2. Ensemencement

L'ensemencement par stries serrées, sur la totalité de la boîte de pétri. L'incubation se fait à 35 pendant 24 H, dans une atmosphère enrichie en CO₂ (jarre à CO₂) pour les anaérobies stricts tels que *N.méningitidis* et dans une étuve à 37 pour les autres germes.

5.3. Identification

L'identification phénotypique repose sur des caractères d'orientation (morphologie à la coloration de Gram, oxydase et catalase positive, pousse sur gélose ordinaire), puis sur des caractères différenciant *N.meningitidis* des autres *Neisseria* (acidification du glucose et du maltose).

Au niveau du CHP de KHENIFRA l'identification est réalisée par ensemencement d'une galerie biochimique adaptée



Figure 23 : LAPI des *Enterobacteriaceae*

Chaque galerie est composée microtubules. Chaque'un d'eux contient un substrat différent sur lequel on ajoutera une suspension bactériennes pour que les microorganismes puissent réagir. (Figure 24)

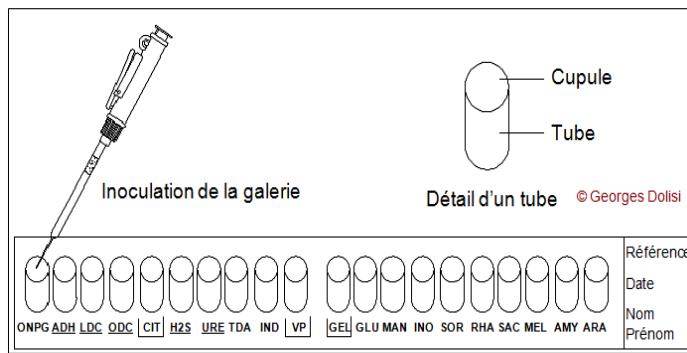


Figure 24 : protocole d'identification par LAPI

La lecture est réalisée après 24 h d'incubation, et c'est le développement de la coloration qui traduit la présence de l'enzyme métabolisée, du coup ça indique le nom du microorganisme après utilisation du code de LAPI.

6. Antibiogramme

Un antibiogramme est une technique de laboratoire visant à tester la sensibilité d'une bactérie à différents antibiotiques.

- protocole

Sur une gélose de Mueller Hinton, on ensemence avec une culture pure de la souche bactérienne. A l'aide d'un écouvillon, on passe sur le bord de la boîte puis on ensemence en stries toutes la surface du milieu, on dépose des disques imprégnés des antibiotiques (Figure 25 et 26), et on incube à 37°C.



Figure 25 : cartouches contenant les disques d'ATB



Figure 26 : distributeur des disques

Après 24 h, les disques s'entourent de zones d'inhibition circulaire (halo clair), signifiant l'absence de la croissance, c-à-dire la sensibilité au ATB étudié.

Résultats

I. Etude rétrospective

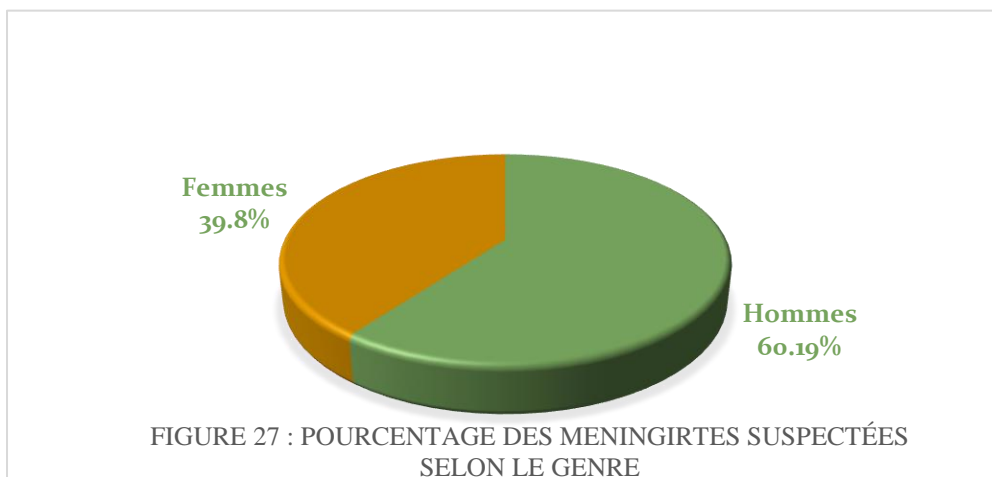
Cette étude analytique rétrospective a porté sur l'année 2018, elle est fondée sur le recueil des données à partir des ponctions lombaires des patients colligées par le laboratoire de bactériologie de CHP Khenifra .Le recensement des données de registre a révélé qu'en 2018, 103 prélèvements ont été envoyés au laboratoire de bactériologie pour suspicion de méningite.

1. Répartition des méningites

- selon le genre

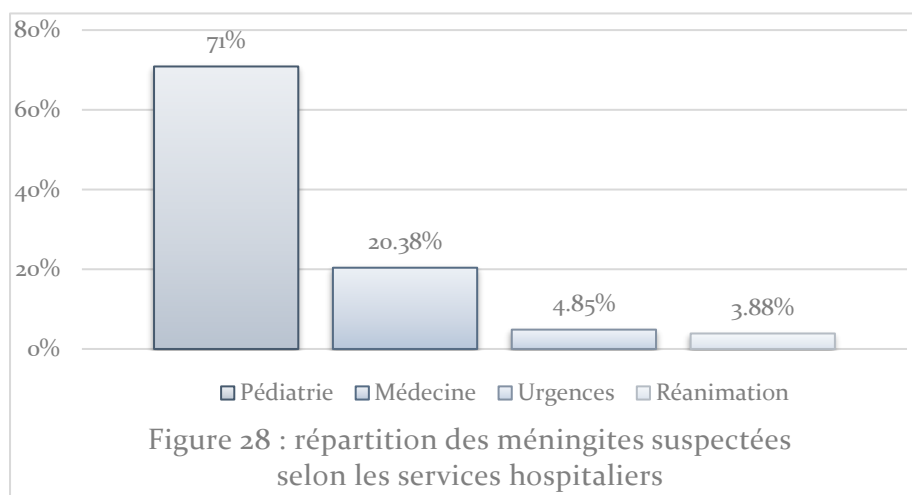
Sur les 103 prélèvements collectés (figure 27), le sexe masculin représente 60.19% (62 cas) et le sexe féminin 39.8% (41 cas).

Le sexe ratio H/F = 1.5 en faveur des hommes



- Selon les services hospitaliers

D'après la répartition des cas de méningites suspectées selon les différents services (figures 28). On constate par ordre décroissant que le service pédiatrique est le plus représenté avec un pourcentage de 70.87% (73 cas) suivi par le service de médecine avec un pourcentage de 20.38% (21 cas), le service d'urgences 4.85%(5cas), et finalement le service de réanimation 3.88% (4 cas) .

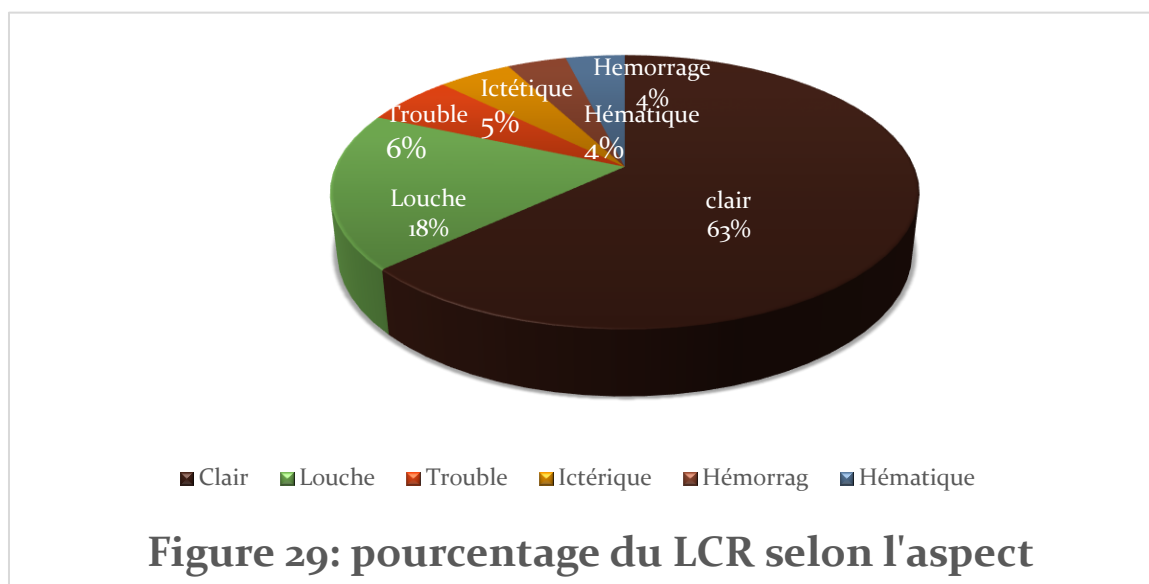


Dans cette étude, l'âge des patients n'a pas été exploité car il n'a été mentionné sur la feuille de prescription, mais d'après les résultats de la répartition de la série d'étude selon les services il apparaît que les enfants sont les plus touchés par la méningite.

2. Aspect macroscopique du LCR

Pour l'aspect du LCR (figure 29) a montré que 63.11% des cas ont un aspect clair (65 prélèvements) ,18.45% un aspect louche (purulent) (19 prélèvements), 5.83% un aspect trouble (6 prélèvements), 4.85% un aspect ictérique (5 prélèvements)et finalement, 3.88% un aspect hémorragique /hématisés (4 prélèvements).

De ce résultat découle que 38 LCR sont suspects.



3. Culture bactérienne

Au cours de l'année 2018, le nombre des bactéries isolées est de l'ordre de trois (pneumocoques) .Un nombre qui apparaît faible par rapport aux cas de méningites bactériennes probables d'après l'aspect de LCR.

4. Profil microbiologique des méningites

D'après le tableau 3 on constate que sur les 38 cas de méningites suspectes 6 sont considérées d'origine virale et 32 sont suspectes d'origine bactérienne. Le résultat de la culture bactérienne était positif pour trois prélèvements et le germe isolé est un pneumocoque.

Tableau 3 : profil microbiologique des méningites

Cas de Méningite bactérienne probable	32
Méningite Méningococcique confirmée	0
Méningite à HI	0
Méningite à pneumocoque	3
Méningite tuberculeuse	0
Considérées virales	6

5. Calcul du taux de confirmation

Sur les 103 prélèvements effectués en 2018 et d après la cytologie positive (++ de neutrophiles) , on retient 32 cas de méningites bactériennes probables dont lesquels il y a eu trois culture positive (Tableau 3) ce qui donne un taux de confirmation de méningites pour l'année 2018 au niveau de CHP Khenifra de 9,3%.

II. Etude prospective

Durant cette étude (2 mois de stage), 29 prélèvements ont été traités dont 62.06% (18 cas) étaient des prélèvements chez les enfants.

1. Caractéristiques cliniques

Les signes cliniques dominants étaient la fièvre (80%), les vomissements, la raideur de la nuque, les céphalées et parfois le purpura.

L'observation macroscopique du LCR a révélé une prédominance de l'aspect clair 62.06%, (18 cas) suivi de l'aspect trouble 20.68%, louche 10.34%, puis hémorragique et ictérique 6.92%.

11 prélèvements sont donc suspects .

2. Paramètres biologiques

- Le nombre de globules blancs par mm³ de LCR était entre 02 et 7000. Les PNN ont occupé un pourcentage variant entre 14 et 96%, avec une moyenne de 55 %.
- La glucorachie était avec une minimale de 0.35g/l et une maximale de 0.93g/l .
- La protéinorachie a varié entre 0.12 g/l et 1.91g/l.

3. Profil microbiologique

3.1. Coloration de Gram

Sur les cas de LCR à aspect non clair, le Gram était positif pour un seul cas. Il s'agit d'un diplocoque à Gram négatif qui peut nous orienter vers un méningocoque.

3.2. Culture bactériologique

La confirmation a été en premier faite par la culture sur gélose au chocolat +Co₂ et des colonies grisâtres et mucoïdes sont apparues après 24 h d'incubation (figure 30).



Figure 30 : colonies du méningocoque

3.3. Tests biochimiques

Les colonies isolées (figure 30) sont oxydase et catalase positives (figure 31, figure 32)



Figure 31 :test d'oxydase



Figure 32 : test de catalase positif

3.4. Sérotypage

l'identification de la souche isolée par serotypage a révélé l'espèce **Nisseria.méningitidis** sérotype **ACY W135** (figure 33)



Figure 33 : test d'agglutination d'antigènes solubles indiquant la souche de *Neisseria* responsable de l'infection .

4. Antibiogramme

Nisseria.méningitidis sérotype ACY W135 isolée du LCR est sensible d'après les résultats du tableau 4 à la Penicilline G, Amoxicilline + Acide Clavulanique, Céftriaxone, Ciprofloxacine, Gentamicine 10µg , chloramphénicol et Rifampicine , et résistante à la Streptomycine.

Tableau 4 : profil de sensibilité de *Neisseria méningitidis sérotype ACY W135*

Royaume du Maroc

Date : 01/04/2019

Ministère de la santé

Délégation provinciale de Khénifra

CHP Khénifra-LABM

Nom et prénom : xxxxxxxx

Service : PED

Bactérie isolée : *Neisseria meningitidis*

N° d'ordre:

N° d'entrée ou Réf. :3922

Renseignements cliniques :.....

Antibiogramme							
Antibiotique	S	I	R	Antibiotique	S	I	R
Penicilline G	√			Acide nalidixique			
Oxacilline				Norfloxacine			
Ampicilline				Ciprofloxacine	√		
Amoxicilline				Levofloxacine			
Amoxicilline + Acide Clavulanique	√			Amikacine			
Pipéracilline				Gentamicine 10µg	√		
Pipéracilline +Tazobactam				Gentamicine 500µg			
Ticarcilline				Erythromycine			
Ticarcilline + Acide Clavulanique				Clindamycine			
Céfaclor				Streptomycine			√
Céfoxitine				Teicoplanine			
Céfuroxime				Triméthoprim			
Céftriaxone	√			Triméthoprim + Sulfaméthoxazole			
Céftazidime				Chloroamphénicol	√		
Céfepime				Rifampicine	√		
Aztréonam				Colistine			
Imipénème				Nitrofurane			
Ertapénème				Acide fusidique			

Discussion

Le résultat obtenu dans cette étude rétrospective a confirmé le taux de confirmation qui reste toujours faible en 2018 (9.3%) par rapport aux autres CHP de la région. En effet le taux de confirmation Beni Mellal est de 52.9%, celui de FKIH BEN SALEH est de 30.7% et celui de Khouribga est de 18% (ministère de la santé).

La baisse de ce taux peut être due principalement à la fragilité des bactéries et notamment le méningocoque. Or, ce germe est fréquemment rencontré dans les infections méningitiques au Maroc [19], mais c'est le moins isolé à l'hôpital de Khenifra. Durant notre étude prospective on a relevé plusieurs constats défavorable pour l'isolement bactérien et notamment le méningocoque qui demande une rapidité dans le traitement et des précautions dans le prélèvement et l'acheminement vu la grande fragilité de ce germe qui ne survit pas dans le milieu extérieur [20]. A noter que :

- ✓ Au cours de l'acheminement du prélèvement du service au laboratoire, le LCR peut subir des variations de température en passant de 37°C (température du site d'infection le corps humain) à une température ambiante de la salle voir voir très basse en cas de climatisation. Le méningocoque risque donc l'éclatement dans n'importe quel moment.
- ✓ Les tubes des prélèvements LCR restent un moment et ne subissent pas un traitement de diagnostic bactériologique immédiat (absence de culture rapide). Ce retard favorise aussi l'autolyse de la bactérie par une autolysine qui reste active même à basse température d'où la nécessité de la culture rapide.
- ✓ Les boîtes de pétri ne sont pas mis dans l'étuve avant l'ensemencement, elles sont directement inoculées sans obtenir les 37°C favorables à la bactérie.
- ✓ Une autre voie possible, c'est l'antibiothérapie avant le prélèvement (traitement décapité) qui fait chuter le taux de positivité des cultures bactérienne. A noté que normalement aucun antibiotique ne doit être donné avant un prélèvement et une identification mais parfois le patient avant d'effectuer la ponction se trouvait sous traitement par exemple ceftriaxone (exp : infection urinaire) ou tout simplement une méningite bactérienne partiellement traitée(en raison de l'administration d'amoxicilline, de la prédominance des neutrophiles dans le LCR et de la glycorachie inférieure à 50 % de la glycémie et une protéinorachie beaucoup plus faible et c'est le cas ici .

- ✓ La prédominance des neutrophiles dans le LCR n'est pas rare au début d'une méningite virale. Ainsi, une pléocytose neutrophile s'observe dans le cas de méningite entérovirale ce qui explique les cultures négatives, ce qui nécessite de faire une 2^{ème} PL de 6 à 12 h après la première qui va démontrer le passage rapide de la cytologie de LCR à prédominance neutrophile à une prédominance lymphocyte ,très significative d'une infection virale

Toutes ces hypothèses peuvent expliquer la faille trouvée au niveau du taux de confirmation des méningites bactériennes au niveau du CHP khenifra.

Conclusion

La méningite est redoutable, c'est une urgence médicale qui demande un examen cytobactériologique du liquide céphalo-rachidien (LCR) et un traitement immédiat. En terme de surveillance épidémiologique, au niveau de chaque région, chaque centre hospitalier calcule un taux de confirmation annuel des méningites bactériennes. Celui de Khénifra est de l'ordre de 9% ce qui ne reflète pas le nombre de méningites enregistrées dans la région (Beni Mellal-Khénifra) selon le ministère de la santé.

Et pour apporter une réponse à cette baisse, on a effectué deux études rétrospective et prospective.

Les résultats de l'étude rétrospective courant l'année 2018 ont montré que 103 cas sont enregistrés, le sex-ratio est de 1.5 en faveur des hommes, la tranche d'âge la plus touchée sont les enfants. Des 38 cas de méningites suspects selon la cytologie, 32 cas sont des méningites bactériennes probables. La culture est positive pour trois cas pneumococciques et le taux de confirmation des méningites est de 9.3%.

Les résultats de l'étude prospective ont pour but de trouver les facteurs susceptibles d'influencer ce taux. Sur les 29 cas reçus, 11 sont suspects d'origines bactériens, la culture est positive pour un seul cas qui se révèle un méningocoque à *Neisseria meningitidis*.

Les hypothèses expliquant cette faille, incluent la fragilité des germes, l'antibiothérapie préalable, la méningite entérovirale qui fausse l'orientation dès le début, d'où l'intérêt d'adapter des mesures préventives nécessaires pour réduire les lacunes induisant à baisser le pourcentage des cultures positives, afin d'augmenter la qualité d'isolement des germes.

Résumé

La méningite est redoutable, c'est une urgence médicale qui demande un examen cyto bactériologique du liquide céphalo-rachidien (LCR) et un traitement immédiat. Le Maroc surveille l'évolution épidémiologique de cette infection et exige le calcul du taux de confirmation annuel des méningites de chaque centre Hospitalier provinciale (CHP). Celui de Khénifra est de 9% ce qui ne reflète pas le nombre de méningites enregistrées dans la région (Beni Mellal-Khénifra) selon le ministère de la santé.

Le but du travail est d'apporter une réponse à cette baisse du taux de confirmation à travers deux études rétrospective et prospective. Les résultats de l'étude rétrospective incluant l'année 2018 ont montré que durant l'année 103 cas suspects sont enregistrés, le sex-ratio est de 1.5 en faveur des hommes, les enfants représentent la tranche d'âge la plus touchée. Des 38 cas de méningites probables selon la turbidité du LCR, 32 cas sont des méningites bactériennes. La culture est positive pour trois cas pneumococciques et le taux de confirmation des méningites est de 9.3%.

Les résultats de l'étude prospective ont pour but de déceler les failles possibles dans le traitement du LCR. Sur les 29 cas reçus, 11 sont suspects d'origines bactériens, la culture est positive pour un seul cas qui se révèle un méningocoque à *Neisseria meningitidis*. Les constats défavorables révélés de cette étude mettent le point sur la rapidité et les conditions liées à la température depuis le prélèvement jusqu'au traitement et culture et sur la sensibilisation de la population pour éviter les infections décapitées.

Mots clés : CHP Khenifra, taux de confirmation, méningites bactérienne, étude analytique.

Références bibliographiques

- [1] des Portes V. Quel suivi à long terme pour quels patients ? Séquelles des méningites bactériennes chez l'enfant et chez l'adulte : incidence, types, modes d'évaluation. Médecine et maladies infectieuses 39 (2009)572–580.
- [2] OMS (organisation mondiale de la santé)
http://origin.who.int/hac/crises/tcd/chad_guide_tehnique_meningite.pdf consulté le 05/04/2019
- [3] Guide de la lutte contre les méningites bactériennes communautaires, MS, Maroc, 2010.
- [4] WHO and CDC. Laboratory Methods for the Diagnosis of Meningitis, Neisseria meningitidis, Streptococcus pneumoniae, and Haemophilus influenza. (accessed on 27 January 2017) [online] <https://www.cdc.gov/meningitis/lab-manual/full-manual.pdf> . consulté le 06/04/2019.
- [5] Luksic, I, Mulic, R, Falconer, R, Orban, M, Sidhu, S & Rudan, I 2013, 'Estimating global and regional morbidity from acute bacterial meningitis in children: assessment of the evidence' Croatian Medical Journal, vol 54, no. 6, pp. 510-518
- [6] C. Levy, E. Bingen, Y. Aujard, M. Boucherat, D. Floret, D. Gendrel, R. Cohen, et le Groupe des pédiatres et microbiologistes de l'Observatoire National des Méningites, Observatoire national des méningites bactériennes de l'enfant en France : résultats de 7 années d'étude 2008 ; Archives de pédiatrie, Volume 15 (S3)
- [7] M. Guillot, P. Eckart, M. Amiour, C. El-Hachem, C. Paris, H. Dabernat, Méningite bactérienne à Haemophilus influenzae : le risque résiduel ; à propos d'un cas. Arch Pédiatr 2001 ; 8 : 1082-5 .
- [8] Katherine L O'Brien, Lara J Wolfson, James P Watt, Emily Henkle, Maria Deloria-Knoll, Natalie McCall, Ellen Lee, Kim Mulholland, Orin S Levine, Thomas Cherian, for the Hib and Pneumococcal Global Burden of Disease Study Team. Burden of disease caused by Streptococcus pneumoniae in children younger than 5 years: global estimates. Lancet 2009; 374: 893–902.
- [9] C. Levy, E. Varon, M.-K. Taha, S. Béchet, S. Bonacorsi, R. Cohen, E. Bingen Évolution des méningites bactériennes de l'enfant en France sous l'effet des vaccinations, Archives de Pédiatrie, Volume 21, Issue 7, July 2014, Pages 736-744.
- [10] (OMS, méningites à méningocoques, Aide mémoire N°141 oms février 2015.(consulté le 01 Mai 2019) [en ligne] <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs141/fr/>.

- [11] Surveillance épidémiologique des méningites de 2007 à 2012, Préfecture de Rabat, Maroc) <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0398762014005434> consulté le 01/05/2019
- [12] Bulletin d'Epidémiologie et de Santé Publique | Volume 40| N° 74 ,2éme semestre octobre 2017).
- [13] Comprendre la méningite , « Fondation recherche médicale ,FRM <https://www.frm.org/> consulté le 13/04/2019.
- [14] Campus de Pédiatrie - Collège National des Pédiatres Universitaires (CNPU) <http://campus.cerimes.fr/pediatrie/> consulté le 15/04/2019
- [15] Méningite bactérienne ou virale , chapitre 6 –syndromes cliniques <http://publications.msss.gouv.qc.ca/msss/fichiers/guide-garderie/chap6-meningites.pdf> consulté le 16/04/2019.
- [16] Révision médicale :Dr Jesus Cardenas,directeur médical de DOCTISSIMO,08 Décembre 2016. <http://www.doctissimo.fr/equipe/auteurs/dr-jesus-cardenas> consulté le 13/04/2019.
- [17] Techniques de laboratoire pour le diagnostic de méningites à Neisseria meningitidis, Streptococcus pneumoniae et Haemophilus influenzae / sous la direction de: Tanja Popovic, Gloria Ajello et Richard Facklam
-
- [18] http://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/66673/WHO_CDS_CSR_EDC consulté le 11/05/2019
- [19] Profil épidémiologique et facteurs pronostiques des méningites <http://fulltext.bdsp.ehesp.fr/Ensp-Maroc/Memoires/Csspms/Esp/2017/10104.pdf> consulté le 26/05/2019.
- [20] Fiche Technique Santé-Sécurité : Agents Pathogènes – Neisseria meningitidis canada.ca <https://www.canada.ca/fr/sante-publique/services/biosecurite-biosurete-laboratoire/fiches-techniques-sante-securite-agents-pathogenes-evaluation-risques/neisseria-meningitidis.html> consulté le 30/05/2019.