

EVALUATION DES TESTS DE DIAGNOSTIC DES MÉNINGITES CÉRÉBROSPINALES BACTÉRIENNES À BANGUI, CENTRAFRIQUE.

WS NAMBEI*, E GBANGBANGAI E***, EP GAMBA**, Z DALENGAT-VOGBIA*,
E LANGO-YAYA*, R NANA* & SENZONGO O**

RESUME

Objectif : l'objectif de cette étude était d'évaluer la performance des différents tests de diagnostic de méningites bactériennes à Bangui, Centrafrique.

Matériels et méthodes : Le LCR des patients suspectés de méningites avait été collecté de janvier à décembre 2012. La cytologie, la coloration de Gram, la culture, le test d'agglutination au latex avaient été réalisées en comparant avec la RT-PCR. Les amorces et les sondes spécifiques de *S. pneumoniae*, de *N. meningitidis* et de *H. influenzae* avaient été utilisées. Le disque d'antibiotique Bioassay® avait été utilisé pour réaliser l'antibiogramme. La performance de chaque test avait été évaluée en déterminant la sensibilité et la spécificité. Le test de Chi2 de Mc Nemar avait été utilisé.

Résultats : Au total, 71 LCR ont été sélectionnés et analysés. La sensibilité et la spécificité des différents tests obtenues étaient respectivement de : 85% et 58% pour l'aspect du LCR, 84% et 63% pour la cytologie, 42% et 94% pour la coloration de Gram, 6% et 97% pour la culture et 83% et 94% pour le test d'agglutination au Latex.

Conclusion : Nous avons montré que le latex avait une performance élevée pour le diagnostic de *S. pneumoniae*, de *N. meningitidis* et de *H. influenzae*. Cette étude avait montré aussi l'intérêt de la cytologie et de la coloration de Gram dans le diagnostic des cas de méningite en pratique clinique de routine.

Mots-clés : PCR-RT, méningites bactériennes, test d'agglutination, coloration de Gram, culture, Centrafrique

ABSTRACT

EVALUATION OF THE TESTS OF DIAGNOSIS OF THE BACTERIAL CEREBROSPINAL MENINGITIS IN BANGUI, CENTRAL AFRICAN REPUBLIC.

Objective: The aim of this study was to evaluate the diagnostic accuracy of tests meningitis diagnosis in Bangui, Central African Republic.

Materials and Methods: Cerebrospinal fluids (CSF) from patients with suspected meningitis in Bangui were collected from January to December 2012 and tested with cells counts, Gram stain, culture and latex compared with RT-PCR. Specific primers and probes *S. pneumoniae*, *N. meningitidis* and *H. influenzae* was used. An antibiotic detection disk bioassay was used to test for the presence of antibiotic activity in CSF. The diagnostic accuracy of tests was determined by the sensitivity and the specificity of each test compared with real-time PCR reference standard. The Chi-square test of Mc Nemar's was used for this study.

Results: A total, 71 CSF specimens were collected and analyzed. Compared to real-time PCR, the sensitivity and specificity were respectively: 85% and 58% for the CSF aspect, 84% and 63% for cells counts, 42% and 94% for Gram stain, 6% and 97% for culture and 83% and 94% for latex.

Conclusion: Our finding showed the Latex test was highly accurate in diagnosing meningitis caused by *S. pneumoniae*, *N. meningitidis* and *H. influenzae*. Cells counts and Gram stain, which is inexpensive and commonly available, should be encouraged in all clinical settings.

Keywords: RT-PCR, bacterial meningitis, latex, Gram stain, culture, Central African Republic.

(*) Unité d'Immunologie-moléculaire, de Bactériologie et de Biochimie, Laboratoire National de Biologie Clinique et de Santé Publique B.P. 1426, Tél : 236 75 50 90 75, mail : wilfrid.nambei@gmail.com

(**) Unité d'Information et de Gestion des données, Laboratoire National de Biologie Clinique et de Santé Publique

(***) Service de Maladies Infectieuses du Service de Santé des Armées, Bangui

Auteur correspondant : WS NAMBEI ; Unité d'Immunologie-moléculaire, de Bactériologie et de Biochimie, Laboratoire National de Biologie Clinique et de Santé Publique B.P. 1426, Tél : 236 75 50 90 75, mail : wilfrid.nambei@gmail.com

INTRODUCTION

Les germes bactériens pathogènes comme le *S. pneumoniae*, le *N. meningitidis* et l'*H. influenzae* provoquent souvent des méningites cérébrospinales sévères avec une morbidité et une mortalité très élevées malgré des avancées significatives dans la gestion des cas [1]. Le diagnostic clinique précoce et une antibiothérapie appropriée permettent de minimiser les séquelles. La culture du Liquide Céphalo Rachidien (LCR) est considérée comme test de référence pour le diagnostic des méningites bactériennes car l'identification des germes est importante pour tester leur susceptibilité aux antibiotiques. Or, le rendu des résultats de la culture du LCR exige un jour au moins, c'est ce qui limite sa sensibilité. Cette sensibilité qui varie en général entre 70% à 90% [2, 3] est aussi influencée par certains facteurs dont une antibiothérapie ambulatoire et/ou inadaptée, les caractéristiques

du patient, la mauvaise définition des cas, la pratique du laboratoire et l'espèce bactérienne en cause. En effet, l'antibiothérapie avant la ponction lombaire est une situation commune qui contribue à rendre la culture stérile [1, 2, 4, 6]. La méthode de coloration de Gram est une technique rapide, moins coûteuse et disponible [1] avec une sensibilité variant entre 60% à 90% [1, 5, 8] bien qu'il paraît difficile d'évaluer sa performance réelle. La PCR à temps réel (PCR RT) et le latex ont été proposés comme tests rapides et fiables pour le diagnostic des méningites bactériennes [1, 9, 10] et la technique d'amplification de l'ADN bactérien facilite le diagnostic surtout dans le cas des cultures négatives [10]. C'est dans ce contexte que nous nous proposons d'évaluer la performance des tests diagnostiques de *Streptococcus pneumoniae*, du *Neisseriameningitidis* et d'*Haemophilus influenzae* agents de la méningite bactérienne cérébrospinale chez les patients à Bangui, en déterminant leurs sensibilités et leurs spécificités respectives.

MATÉRIELS ET MÉTHODES

Type, période d'étude et collecte des échantillons
Il s'agissait d'une étude descriptive à visée évaluative de la performance de tests de diagnostics des méningites bactériennes qui portait sur 71 LCR issus de 621 prélèvements de LCR provenant des 6 hôpitaux et 8 centres de santé de Bangui, capitale de la République Centrafricaine du 1er janvier au 31 décembre 2012.

Critères d'inclusion des patients: les patients des deux sexes dont la ponction lombaire avait été réalisée selon les directives nationales avec : - une fièvre $\geq 38^{\circ}\text{C}$, - une altération de l'état de conscience et de fois la raideur de la nuque, - un volume de LCR suffisant.

Critères de choix du LCR : Les 71 LCR éligibles étaient ceux dont le prélèvement : (i) était effectué immédiatement dans l'heure qui a suivi l'arrivée du patient au niveau du centre hospitalier en dehors de toute antibiothérapie préalable puis acheminé et analysé aussi rapidement au laboratoire dans l'heure qui a suivi le prélèvement, (ii) non hémorragique, (iii) comportait une protéinorachie $> 1\text{g/l}$, une glycorachie $< 2,2\text{ mmol/l}$, nombre de leucocytes > 1000 cellules avec une prédominance des polynucléaires (iv) comportait simultanément les informations sur l'aspect du LCR, la cytologie, la coloration de GRAM, le LATEX et la PCR et ayant un volume suffisant pour la réalisation des tests.

ANALYSES DE LABORATOIRE

Les tests de laboratoire prenaient en compte la numération des leucocytes en utilisant la cellule de Mallassez. Le dosage de glucose et des protéines était réalisé en utilisant la méthode enzymatique. La colo-

ration de Gram était réalisée systématiquement sur tous les échantillons de LCR reçus. La culture était réalisée sur le milieu chocolat poly vitex pour les échantillons de LCR avec un nombre de leucocyte $> 1000 \times 10^6$ cellules/ml, un taux de Polynucléaire prédominant (PN 50%) ou avec des taux anormaux des paramètres biochimiques (une glycorachie $< 2,2\text{ mmol/l}$ ou une protéinorachie $> 0,65\text{g/l}$). Les principaux caractères bactériologiques d'identification des bactéries ont été les suivants : (i) *Neisseriameningitidis* : c'est un diplocoque Gram (-) aéro-anaérobie facultatif qui pousse en milieu enrichi en présence de CO_2 et dont les colonies sont grisâtres à bord régulier ; (ii) *Streptococcus pneumoniae* : c'est un diplocoque Gram (+) ovalaire qui pousse en aérobie et anaérobie dont les colonies sont transparentes et en fines gouttelettes. L'hémolyse est de type α ; (iii) *Haemophilus influenzae* : c'est un coccobacille Gram (-) aéro-anaérobie facultatif dont les colonies sur gélose au chocolat sont grandes, opaques, plates incolores à grises. Les tests suivants ont été utilisés: (i) le test à l'oxydase de Kovac et les immuns sérums anti-A, anti-B, anti-C, anti-Y et anti-W135 pour le sérogroupage selon le protocole du fabricant pour identifier *Neisseriameningitidis* et ses différents sérogroupes. Une réaction positive se traduit par une agglutination d'un des immuns sérums; (ii) le test de sensibilité à l'optochine pour identifier *Streptococcus pneumoniae*. Une réaction positive se traduit par une zone d'inhibition au tour du disque à l'optochine de 14 mm. (iii) Les immunsérums anti-Hib pour identifier *Haemophilus influenzae* de type b. une réaction positive se traduit par une agglutination. La PCR à temps réel était réalisée sur les échantillons de LCR dont la coloration de Gram et la culture étaient négatives et dont le volume varie entre 0,5 à 1 ml. Les échantillons de LCR à culture positive étaient également analysés par RT-PCR.

PCR À TEMPS RÉEL

L'ADN avait été extrait de l'échantillon du LCR avec le QIAGEN DNA Mini kit (QIAGEN Inc., Valencia, CA). Afin de faciliter la lyse complète des bactéries Gram+, 200 μl du LCR avaient été ajoutés à 100 μl de tampon Tris-EDTA contenant 0,04g/ml de lysozyme et 75 U/ml de mutanolysin (Sigma, St Louis MO). Le mélange réactionnel était incubé pendant 1h à 37°C dans un bain d'eau. Les autres étapes sont celles décrites dans le protocole du fabricant QIAGEN DNA Mini kit [12]. L'ADN a été élué avec 100 μl de tampon d'éluion QIAGEN et conservé à -20°C . Les gènes *lytA* de *S. pneumoniae*[12], *ctrA* de *N. meningitidis* [13] et *hpd3* de *H. influenzae*[14] avaient été utilisés et les résultats positifs étaient indiqués par une amplification avec une augmentation exponentielle lors de la réaction de séparation en fluorescence. Les amorces et les sondes sont décrites dans le tableau

1. Le TaqMan® Universal PCR Master Mix (Applied-Biosystem, Foster City, CA) avait été utilisé selon le protocole du fabricant pour la réalisation de l'essai à 25 µl du volume réactionnel dont 2 µl d'échantillon du DNA. Le contrôle négatif (No-template control), les contrôles positifs *S. pneumoniae*, *N. meningitidis* et *H. influenzae*, l'eau d'extraction (contrôle négatif) ont été utilisés. L'ADN avait été amplifié avec la PCR à temps réel 7500 ABI (Applied Biosystems) avec les programmes de température suivants : 50°C pendant 2 mn, 95°C pendant 10 mn suivi de 50 cycles de 95°C pendant 15 s et 60°C pendant 1 mn. Les données d'amplification ont été analysées par l'instrument software d'ABI (Applied Biosystem). Sont considérés comme positifs tous les spécimens dont la valeur seuil (Cycle threshold) est ≤ 35 cycles. Les spécimens dont la valeur seuil est > 40 cycles sont considérés comme négatif et ceux dont les valeurs sont comprises entre 36 - 40 cycles sont équivoques, dans ce cas l'ADN avait été dilué au 1:4 et au 1:10 dans le but de diluer tout inhibiteur de PCR qui pourrait être présent. Si tous les résultats sont ≤ 35 cycles, l'échantillon était considéré positif. Répéter avec l'ADN non dilué et dilué, si vous n'êtes toujours pas sûr du résultat. Si le Ct est ≥ 36 cycles, le résultat est alors considéré négatif.

Tableau I : Amorces et sondes pour PCR à Temps Réel.

Oligonucléotide	Séquence	Conc. Finale (nM)
ctrAforward	5'-TGT GTT CCG CTA TAC GCC ATT-3'	300
ctrA reverse	5'-GCC ATA TTC ACA CGA TAT ACC-3'	900
ctrA probes	5'-FAM-AAC CTT GAG CAA «T»CC ATT TAT CCT GAC GTT CT-3'-SpC6; «T» BHQ1	100
lytAforward	5'-ACG CAA TCT AGC AGA TGA AGC A-3'	200
lytA reverse	5'-TCG TGC GTT TTA ATT CCA GCT-3'	200
lytA probes	5'-FAM-TGC CGA AAA CGC «T»TG ATA CAG GGA G-3'- «T» BHQ; 3' SpC6	200
sodCforward	5'-GCA CAC TTA GGT GAT TTA CCT GCA T-3'	300
sodC reverse	5'-CCA CCC GTG TGG ATC ATA ATA GA-3'	600
sodC probes	5'-FAM-CAT GAT GGC ACA GCA ACA AAT CCT GTT T-3'-BHQ1	100
hpd3 forward	5'-GGT TAA ATA TGC CGA TGG TGT TG-3'	200
hpd3 reverse	5'-TGC ATC TTT ACG CAC GGT GTA-3'	200
hpd3 probes	5'-FAM-TGC CGA AAA CGC «T»TG ATA CAG GGA G-3'- «T» BHQ; 3' SpC6	200

ctrA = gène *N. meningitidis*, sodC = gène *N. meningitidis*, lytA = gène *S. pneumoniae*, hpd3 = gène *H. influenzae* protein.

CONSIDÉRATION ÉTHIQUE

Pour cette étude, la clairance éthique et l'autorisation du Ministère de la Santé Publique étaient requises N° 006/MSPPLCS/DIRCAB/DGSP/ DLNBCSP du 18 janvier 2012.

TEST STATISTIQUE ET ANALYSE DES DONNÉES

Les données ont été saisies sur Excel 2010 et importées sur le logiciel Epi info version 3.5.2 version 2010. Le test de Kappa de Cohen avait été utilisé pour évaluer la concordance entre les tests réalisés. Le test de Chi² de Mac Nèmar pour les mesures appariées dans un tableau de contingence 2x2 avait été utilisé. Afin d'évaluer la performance de chaque test, nous avons déterminé la sensibilité, Se = Vrai Positif / (Vrai Positif + Faux Négatif) et la spécificité, Sp = Vrai Négatif / (Vrai Négatif + Faux Positif). Ainsi, pour l'analyse des données, nous avons considéré tour à tour : (i) l'aspect du LCR, la cytologie et la coloration de Gram ; (ii) l'aspect, la cytologie, la coloration de Gram et le latex ; (iii) l'aspect, la cytologie, la coloration de Gram, le test d'agglutination au latex, la culture et la PCR à temps réel considéré ici comme test de référence. Pour l'analyse de la sensibilité et de la spécificité, un résultat positif était défini par la présence de *S. pneumoniae*, *N. meningitidis* et *H. influenzae* dans le LCR. Pour la culture, un résultat positif était défini par l'isolation d'un des trois germes bactériens. Une coloration de Gram positive était défini par la mise en évidence d'un diplocoque suggérant un *S. pneumoniae* et une coloration de Gram négative par la mise en évidence d'un diplocoque suggérant *N. meningitidis* ou un bacille Gram- suggérant un *H. influenzae*. Un résultat positif de la PCR à temps réel avait été défini par la détection d'un des trois pathogènes. Par ailleurs, tous les échantillons indéterminés étaient considérés comme négatifs pour l'ensemble d'analyse. Un résultat positif au latex était défini par la détection d'un des trois germes bactériens pathogènes.

RÉSULTATS

Caractéristiques de la population d'étude

Sur 621 échantillon de LCR reçus, 83 (13,36%) avaient été analysés au latex avec 35 cas positifs, 54 (8,7%) de culture avaient été réalisées avec 2 cas positifs, 71 (11,4%) PCR avaient été réalisés avec 33 cas positifs, 621 (100%) colorations de Gram et Cytologie avaient été effectuées avec respectivement 26 et 73 cas positifs. L'âge moyen des patients étaient de 7,37±11,01 ans avec une médiane de 3 ans. Les garçons représentaient 55,4%. Les germes bactériens pathogènes *S. pneumoniae*, *N. meningitidis* A et *H. influenzae* B ont été isolées fréquemment par les différents tests. Le nombre de leucocytes $< 10 \times 10^6$ cellules/l, entre 10–50 $\times 10^6$ cellules/l et $>$ à 50 $\times 10^6$ cellules/l avaient été comptés comme l'indique le tableau II.

Tableau II : Caractéristiques démographique et de laboratoire de la population d'étude

Paramètres	Echantillon global	Echantillon PCR	p-value
Prélèvements de LCR examinés	621 (100%)	71 (100%)	
Age moyen (an) ± DS	7, 37 ± 11,01	7, 26 ± 10,98	
Age médian (ans)	3	3	
Age en catégorie (ans)			< 0,005
0-4	396 (63,8)	44 (62,0)	
*5-14	140 (22,5)	16 (22,5)	
15-69	85 (13,7)	11 (15,5)	
Genre			0,069
masculin	344 (55,4)	39 (54,9)	
féminin	277 (44,6)	32 (45,1)	
Aspect du LCR			< 0,036
Purulent/opalescent	66 (10,7)	37 (52,1)	
Hématique/Xanthochromat.	76 (12,2)	7 (9,9)	
Clair	479 (77,1)	27 (38,0)	
Cytologie (nbre de leucocytes/µl)			< 0,0001
>50	73 (11,8)	42 (59,2)	
*10-50	50 (8,1)	27 (38,0)	
<10	498 (80,2)	2 (2,8)	
Coloration de GRAM			< 0,0001
Bacille gram (-)	2 (0,3)	1 (1,40)	
Cocci gram (+)	11 (1,8)	8 (11,30)	
Diplocoque gram (+)	9 (1,4)	4 (5,60)	
Diplocoque gram (-)	4 (0,6)	3 (4,20)	
Résultat négatif	595 (95,8)	55 (77,50)	
Examen sur LATEX			
Haemophilus influenzae B	3 (0,5)	3 (4,20)	
Neisseriae meningitidis A	7 (1,1)	2 (2,80)	
Neisseriae meningitidis B	1 (0,2)	1 (1,40)	
Neisseriae meningitidis W135	1 (0,2)	1 (1,40)	
Polyagglutination Nm A/HIB	1 (0,2)	1 (1,40)	
Polyagglutination Nm A/Strepto	5 (0,8)	4 (5,60)	
Streptococcus pneumoniae	17 (2,7)	12 (16,90)	
Résultat négatif	53 (8,5)	36 (50,70)	
LATEX non effectué	530 (85,3)	8 (11,30)	
Culture			0,0003
Streptococcus pneumoniae	2 (0,30)	2 (2,80)	
Résultat négatif	52 (8,40)	46 (64,80)	
Culture non effectuée	567 (91,30)	23 (32,40)	
RT- PCR			
Haemophilus influenzae B	4 (5,6)		
Neisseriae meningitidis A	2 (2,8)		
Streptococcus pneumoniae	27 (38,0)		
Résultat négatif	38 (53,5)		
non effectuée	550 (88,6)		

Concordance entre l'aspect du LCR, la cytologie, le Gram et le latex réalisés

L'aspect purulent du LCR et la forte présence des globules blancs corroboraient fortement (Kc = 0,96 et 0,83) avec 93% et 89% des cas de méningites diagnostiqués au LATEX. Leurs performances spécifiques étaient limitées car détectant seulement 61% et 69% des cas négatifs objectivés au LATEX ; ce qui équivalait à 39% et 31% de faux positifs. Par ailleurs, la technique de coloration de GRAM avait une faible sensibilité 52% des cas positifs et concordait moyennement (Kc = 0,53) ce qui correspondait à 48% de faux négatifs. Ainsi, l'aspect du LCR et la cytologie présentaient des VPN de 92% et 89%, et de des VPP de 64% et 69%. A l'inverse, la coloration de GRAM avait une VPP très élevée de 93% confirmés au LATEX ; et une VPN de 73% comme l'indique le tableau III.

Tableau III. Analyse de la concordance entre aspect du LCR, la cytologie, la coloration de Gram et le test au latex.

Autres examens réalisés	LATEX		Total	VPP (%)	VPN (%)	Kc (IC95%)
	Positif (Se)	Négatif (Sp)				
Aspect du LCR						
Purulent	25 (92,6)	14	39	64,1		0,960 (0,793-0,998)
Clair	2	22 (61,1)	24		91,7	
Cytologie (cellules/µl)						
>50	24 (88,9)	11	42	68,6		0,831 (0,760-0,980)
≤50	3	25 (69,4)	28		89,3	
Coloration de GRAM						
positive	14 (51,9)	1	15	93,3		0,529 (0,350-0,708)
négative	13	35 (97,2)	48		72,9	

Kc = Kappa de Cohen, Se (sensibilité), Sp (spécificité), VPP (valeur prédictive positive), VPN (valeur prédictive négative), IC = Intervalle de confiance.

Sensibilité et spécificité de l'aspect du LCR, de la cytologie, de la coloration de Gram, du latex, de la culture et de la RT-PCR comme test de référence.

Au plus, 85% des cas de méningites diagnostiqués par la RT-PCR étaient déjà sensiblement détectés par l'aspect du LCR, la cytologie et le LATEX ; ce qui laissait 15% de faux négatifs. Tandis que la coloration de GRAM avait une faible sensibilité ne permettant de révéler que 42% des 33 cas positifs à la RT-PCR ; versus 38% de faux négatifs. Concernant les VPN, seulement 65,5% des 55 résultats de LCR négatifs après coloration de GRAM l'étaient aussi après PCR. Les trois autres tests réalisés avaient des VPN variant de 81% à 86% comme le montre le tableau IV.

Tableau IV : Performance de l'aspect du LCR, de la cytologie, de la coloration de Gram, de la culture, du latex et de la PCR comme test de référence.

Autres examens réalisés	RT-PCR		Total	VPP (%)	VPN (%)	Chi-2 McNemar (p-value)
	Positif (Se)	Négatif (Sp)				
Aspect du LCR						
Purulent	28 (84,8)	16	44	63,6		12,04 (<0,000)
Clair	5	22 (57,9)	27		81,5	
Cytologie (cellules/µl)						
> 50	28 (84,8)	14	42	66,7		14,89 (<0,000)
<= 50	5	24 (63,2)	29		82,8	
Coloration de GRAM						
positive	14 (42,4)	2	16	87,5		12,01 (<0,000)
négative	19	36 (94,7)	55		65,5	
LATEX						
positif	25 (83,3)	2	27	92,6		34,96 (<0,000)
négatif	5	31 (93,9)	36		86,1	
Culture						
positif	1 (5,9)	1	2	50,0		
négatif	16	30 (96,8)	46		65,2	0,09 (> 0,05)

Se (sensibilité), Sp (spécificité), VPP (valeur prédictive positive), VPN (valeur prédictive négative)

DISCUSSION

Pour le diagnostic des méningites cérébrospinales bactériennes la sensibilité et la spécificité de la PCR à temps réel décrits étaient respectivement de 100% et de 97% selon nombreux auteurs [16, 17, 18]. Au cours de notre étude, la performance du test d'agglutination au latex par rapport à la PCR à temps réel était élevée pour le diagnostic de *S. pneumoniae*, *N. meningitidis* et *H. influenzae* avec une sensibilité et une spécificité estimée globalement à 83% et à 94%. Ces résultats se rapprochent de ceux obtenus par certains auteurs [18] qui ont montré une sensibilité et une spécificité au latex de 83% et 100%. Cependant, nos résultats diffèrent de certains travaux où les auteurs avaient montré une sensibilité et une spécificité de 61% et 68% [17]. Ces résultats plaident en faveur de l'utilisation de cette technique en pratique

clinique de routine surtout qu'il a l'avantage de donner un résultat positif même si les bactéries présentes dans le LCR étaient mortes [11].

Par ailleurs, la présence des inhibiteurs de la PCR peut compromettre leur sensibilité [15]. Au cours de cette étude, la culture avait une sensibilité très faible de 6%. Cette très faible sensibilité obtenue se rapproche de celle obtenue par certains auteurs [18] qui ont montré également la même sensibilité, mais qui sont contradictoires avec ceux obtenus par de nombreux auteurs [2, 4, 16] qui ont montré des sensibilités allant de 46% à 82%. Cette très faible sensibilité résulterait vraisemblablement d'une antibiothérapie préalable, d'un retard dans le délai d'analyse au laboratoire des échantillons de LCR reçu. Ces résultats corroborent avec ceux des travaux antérieurs qui avaient montré qu'une antibiothérapie préalable chez un sujet majoritairement le risque d'une culture négative et d'une PCR à temps réel positive [10] suggérant ainsi que la PCR était mieux indiquée comme méthode de diagnostic chez ces types de patients. Cette observation suggère que la spécificité de la PCR à temps réel pourrait être biaisée par la faible sensibilité de la culture surtout en présence d'une antibiothérapie préalable. Ainsi, l'aspect purulent du LCR, la cytologie qui avait montré une sensibilité similaire de 85% et une spécificité respective de 58% et 63% de même un VPN respectivement de 92% et 89% et un VPP respectivement de 64% et 69% constitueraient un support important pour le diagnostic des méningites bactériennes en pratique clinique de routine.

Au cours de cette étude, la sensibilité et la spécificité de la coloration de Gram étaient respectivement de 43% et 94%. Ces résultats sont contraires à ceux obtenus dans des travaux antérieurs où les auteurs ont montré une sensibilité à la coloration de Gram de 90% [7, 16]. Toutefois, la coloration de Gram en association avec la cytologie restent une technique rapide, peu coûteuse ne nécessitant pas beaucoup d'apprentissage [1] avec une bonne sensibilité en dehors de toute antibiothérapie préalable en pratique clinique de routine et dans un contexte de rareté de ressources en Afrique. Cependant, leurs performances ainsi l'interprétation des résultats dépendent de la compétence du technicien. Par ailleurs, la faible sensibilité de la culture obtenue au cours de ces travaux, technique pourtant considérée comme test de référence par de nombreux travaux [1] constitue une limite à cette étude.

CONCLUSION :

Malgré les avancées technologiques pour fournir des tests de diagnostics de plus en plus sensibles, il existe aucune méthode directe permettant d'évaluer leur performance. En utilisant plusieurs approches analytiques, nous avons montré que le latex avait une performance élevée pour le diagnostic de *S.*

pneumoniae, de *N. meningitidis* et de *H. influenzae* et qu'il est bien indiqué pour être utilisé avec la PCR-RT dans des situations où une antibiothérapie était administrée avant la ponction lombaire. Cette étude avait montré aussi que la cytologie et la coloration de Gram garde leur intérêt dans le diagnostic des cas de méningite en pratique clinique de routine.

Remerciements : Les auteurs remercient le bureau OMS/RCA, l'équipe de CDC/OID/NCIRD/DBD/MVPDB Atlanta pour leur appui technique et financier qui dans le cadre du projet SURVAC ayant permis la réalisation de ce travail.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

1. Brouwer MC, Tunked AR, Van de Beek D. Epidemiology, diagnosis and antimicrobial treatment of acute bacterial meningitis. *ClinMicrobiol.* 2010; 23:467-492.
2. Bryan JP, de Silva HR, Travers A, Rocha H, Scheld WM. Etiology and mortality of bacterial meningitis in northern Brazil. *Rev Infect Dis.* 1990; 12:128-135.
3. Anderson J, Backer V, Volfsgaard P, Skinhoj P, Wandall JH. Acute meningococcal meningitis: analysis of feature of the diseases according to the age of 225 patients. Copenhagen Meningitis Study Group. *J infects.* 1997; 34:227-235.
4. Dalton HP, Allison MJ. Modification of laboratory results by partial treatment of bacterial meningitis. *Am J ClinPathol.* 1968; 49:410-413.
5. Nigrovic LE, Malley R, Macias CG et al., Effect of antibiotic pretreatment on cerebrospinal fluid profiles of children with bacterial meningitis. *Pediatrics.* 2008; 122: 726-730.
6. Geiseler PJ, Nelson KE, Levin S, Reddi KT, Moses VK. Community-acquired purulent meningitis: a review of 1,316 cases during the antibiotic era, 1954-1976. *Rev Infect Dis.* 1980; 2:725-745.
7. Van de Beek D, de Gans J, Spanjaard L, Weisfelt M, reitsma JB, Vermeulen M. Clinical feature and prognostic factors in adults with bacterial meningitis. *N Engl J Med.* 2004; 351: 1849-1859.
8. Karandanis D, Shulman JA. Recent survey of infectious meningitis in adults: review of laboratory findings in bacterial, tuberculous and aseptic meningitis. *South Med J.* 1976; 69: 449-457.
9. Bryant PA, Li HY, Zaia A, Griffith J et al., Prospective study of a real-time PCR that is highly sensitive, specific and clinical useful for diagnosis of meningococcal diseases in children. *J ClinMicrobiol.* 2004; 42: 2919-2925.
10. Sacchi CT, Fukasawa LO, Goncalves MG, et al., Incorporation of real-time PCR into routine public health surveillance of culture negative bacterial meningitis in Sao Paulo Brazil. *PLoS One.* 2011; 6: 20675.
11. Hadgu A, Dendukuri N, Hilden J. Evaluation of nucleic acid amplification tests in the absence of perfect gold-standard test- a review of the statistical and epidemiological issues. *Epidemiology.* 2005; 16:604-612.
12. CarvalhoMda G, Tondella MI, McCaustland K et al., Evaluation and improvement of real-time PCR assay targeting *lytA*, *ply* and *psaA* genes for detection of pneumococcal DNA. *J ClinMicrobiol.* 2007; 45:2460-2466.
13. Mothershed EA, sacchi CT, Whitney AM et al., Use of real-time PCR to resolve slide agglutination discrepancies in serogroup identification of *Neisseria meningitidis*. *J Clin-Microbiol.* 2004; 42:320-328.
14. Wang X, Hatcher C, Mair R et al., 106th ASM general meeting Pennsylvania: Philadelphia. 2009. Protein D gene as a target for detection of *Haemophilus influenzae*.
15. DeBiasi RL, Tyler KL. Polymerase chain reaction in the diagnosis and management of central nervous system infection. *Arch Neurol.* 1999. 56:1215-1219.
16. Wu HM, Cordeiro SM, Harcourt B et al., Accuracy of real-time PCR, Gram stain and culture for *Streptococcus pneumoniae*, *Neisseria meningitidis* and *Haemophilus influenzae meningitis* diagnosis. *BMC Infect Dis.* 2013; 13:26.
17. Rebelo MC, Boente RF, Matos Jde, Hofer CB, Barroso DE. Assessment of a two-step nucleic acid amplification assay for detection of *N. meningitidis* followed by capsular genogrouping. *Mem Inst Oswaldo.* 2006; 101(7): 809-13.
18. Das BK, Gurubacharya RL, Mohapatra TM, Mishra OP. bacterial antigen detection test in meningitis. *Indian J Pediatr.* 2003; 70(10): 799-801.