

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
Université A. MIRA - Béjaia

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie
Département de Microbiologie
Spécialité : Microbiologie Fondamentale



Réf :

Mémoire de Fin de Cycle
En vue de l'obtention du diplôme

MASTER

Thème

**Isolement de Bactéries présentes dans le Liquide
Cérébro-spinal dans le cas d'atteintes neurologiques
tumorales et autres**

Présenté par :

Mehelleb Dalila & Madaoui Menad

Soutenu le : 26 Juin 2018

Devant le jury composé de :

P ^r . Tliba.S	Professeur	Co-encadreur
M. Djoudi.F	MCA	Président
M ^{me} . Yahiaoui.H	MAA	promotrice
M ^{me} . Saidani	MAA	Examinatrice

Année universitaire : 2017 / 2018

À nos chers Papi..

Dédicaces

Je tiens à remercier ma Mère qui nous a soutenus du mieux qu'elle pouvait et nous a toujours encouragés et poussés à aller de l'avant. Je remercie Padre d'avoir cru en moi et en mes efforts. Je remercie les Ars Yani & Lamia d'avoir été là pour moi, leurs encouragements et leur soutien ont été des plus précieux. Je remercie également Lounes et moche-sœur pour tous les efforts et le soutien qu'ils ont fournis. Enfin, je tiens à remercier Tata Wahiba pour nous avoir encouragés et toujours soutenus avec son sourire radieux. Je remercie mes très chers amis Day, SP, Niinouche, Manous, Thabichoute et Pato. Spécialement Nary qui nous a épaulés et soutenus en tout temps toute heure : Merci beaucoup a mé.

Menad

A Mes parents pour leur soutien au quotidien.
Ma sœur Sonia et Yasmina.
Ma famille envers qui je suis infiniment reconnaissante.

Narimane : je te remercie particulièrement d'avoir été là et de m'avoir soutenue.

Mes chers amis Menad, Niina, Maya, Adib et Thiziri pour m'avoir encouragée et aidée: merci d'avoir été là.

Dalila

Remerciements

Nous remercions Le président, M.Djoudi, de présider le jury.

Merci à M^{me}Nouri d'être notre examinatrice.

Merci à M^{me}Yahiaoui d'être notre promotrice.

Nous remercions du fond du cœur le chef de département de Microbiologie M.Djoudi pour ses valeureux conseils ainsi que pour son temps et sa générosité. Nous sommes très reconnaissants envers M^{me}.Gharout qui nous a considérés comme ses propres étudiants et a su nous guider, nous conseiller de la meilleure façon qu'il soit. Nous remercions M^{me} Yahiaoui, notre chère promotrice pour le temps qu'elle nous a consacré ainsi que pour ses conseils ; sans oublier M.Touati pour ses conseils et son orientation.

Nous tenons également à remercier le staff du C.H.U Khelil Amrane, les neurochirurgiens, sans qui cette étude n'aurait jamais pu voir le jour. En premier lieu, notre co-promoteur le P^r Tliba ainsi que son équipe : M.Ghidouche, le D^r Izirouel, le D^r Kechfoud, le D^r Himeur, le D^r Djoulane, le D^r Takbou ainsi que le D^r Bellahcene ; sans oublier les membres du staff du laboratoire central, Le chef de service D^r Boutaleb qui nous a ouvert les portes du laboratoire pour un stage pratique afin d'améliorer nos connaissances auprès de M^{me} Tabet, M^{me} Drancy, M^{lle} Zenadi et D^r Kara Slimane. Ces derniers nous ont conseillés, orientés et soutenus du début jusqu'à la fin de l'étude, aussi, nous leur adressons nos remerciements les plus sincères.

Nous tenons à rendre hommage à nos Grands-Pères respectifs ainsi qu'à ma défunte Grand-mère, partis trop tôt, laissant un immense vide dans nos cœurs. Sachez que vous serez toujours dans nos mémoires et nos cœurs. Nous ferons de notre mieux pour que vous soyez toujours fiers de nous.

Table des Matières

Liste des tableaux

Liste des figures

Glossaire

Liste des abréviations

Introduction 1

Synthèse bibliographique

I. Généralités sur les tumeurs cérébrales..... 3

II. Le Liquide Cérébro-Spinal..... 4

II.1. Définition..... 4

II.2. Composition et rôle 5

Matériel et méthodes

I. Type d'étude 6

II. Échantillons Biologiques..... 6

III. Procédure de collecte 6

III.1. Ponction Lombar 6

III.2. Prélèvement per-opération 7

IV. Analyse du LCS 8

IV.1. Examen macroscopique 9

IV.2. Examen cytbactériologique 9

V. Identification..... 10

VI. Tests additionnels 11

VII. Détermination de la sensibilité aux antibiotiques..... 13

Résultats et Discussion

I. Caractérisation de la population étudiée 16

I.1. Analyse microbiologique 17

I.2. Biochimie & Cytologie 20

II. Caractérisation phénotypique des souches bactériennes isolées..... 21

II.1. Tests préliminaires..... 21

II.2. Caractérisation biochimique des souches bactériennes 24

III. Profil de sensibilité aux antibiotiques des souches bactériennes..... 28

Conclusion & Perspectives 30

Références Bibliographiques

Annexes

Liste des tableaux

Tableau I	Galerie biochimique (caractère recherché et interprétation).....	Error! Bookmark not defined.
Tableau II	Résultats obtenus des échantillons de LCS.....	18
Tableau III	Biochimie et cytologie des cultures positives de LCS.....	20
Tableau IV	Valeurs de la glycorachie et de la protéinorachie.....	21
Tableau V	Tests préliminaires de l'identification des souches bactériennes.....	22
Tableau VI	Résultats de la galerie biochimique.....	24
Tableau VII	Phénotypes probables et tests additionnels.....	25
Tableau VIII	Phénotype probable, tests à l'optochine et cultures à 37 et 45°C.....	26
Tableau IX	Phénotype probable.....	27
Tableau X	Profils de sensibilité des LCS 03, 05, A, D, H, M et V.....	28
Tableau XI	Profil de sensibilité du LCS 16.....	29
Tableau XII	Profil de sensibilité du LCS V.....	29

Liste des figures

Figure N°01	Circulation du LCS.....	04
Figure N°02	Technique d'une ponction lombaire.....	07
Figure N°03	Procédure de collecte de LCS en per-opération.....	07
Figure N°04	Exemple d'une galerie biochimique API20E.....	11
Figure N°05	Prédominance des tumeurs cérébrales selon le sexe.....	16
Figure N°06	Prédominance des tumeurs cérébrales par tranches d'âge.....	17

Glossaire

Anévrisme : Dilatation localisée d'un segment d'une artère ou perte du parallélisme des parois d'un vaisseau sanguin (anévrisme "Dictionnaire médical de l'Académie de Médecine," 2016).

Astrocytome : Tumeur maligne du SNC développée à partir des astrocytes (Astrocytome "Dictionnaire médical de l'Académie de Médecine," 2016).

Glioblastome : Tumeur cérébrale à haut degré de malignité, se formant à partir des cellules gliales (Glioblastome "Dictionnaire médical de l'Académie de Médecine," 2016).

Hydrocéphalie : Il s'agit d'une augmentation du volume du liquide cébrospinal d'origine congénitale ou acquise (tumorale, infectieuse, vasculaire ou traumatisme crânien). Causant ainsi une hypertension intracrânienne (Ménigiome "Dictionnaire médical de l'Académie de Médecine," 2016).

Kyste colloïde : Aussi appelé KC3V (Kyste Colloïde du troisième ventricule), c'est une tumeur bénigne rare, le plus souvent développée au niveau du troisième ventricule (Taous and Rouimi, 2015).

Médulloblastome : Tumeur maligne de la région postérieure de l'encéphale (Medulloblastome, Larousse, 2006).

Ménigiome : Il s'agit d'une tumeur généralement bénigne, développée à partir des cellules méningothéliales (Rojas-Marroquín et al., 2015).

Méningite : Inflammation des méninges et du LCS. Peut-être de Nature Bactérienne avec un LCS purulent (Infection à méningocoque, pneumocoque ou *Hæmophilus Influenzæ*), Ou un LCS à l'aspect clair (***Mycobacterium*, *Listeria monocytogenes* ou les rickettsies**)(méningite, Larousse, 2006).

Méningo-encéphalite : Inflammation simultanée des méninges et de l'encéphale (Méningo-encéphalite, Larousse, 2006).

Méningocèle : C'est une des formes du Spina-bifida. Il s'agit d'une malformation congénitale de la colonne vertébrale, plus précisément une fermeture anormale ou incomplète du tube neural lors de la grossesse (Méningocèle, Larousse, 2006).

Glossaire

Mono neuropathie : Il s'agit d'une affection du système nerveux périphérique, qui est formé de nerfs et ganglions. Le terme « mono » indique que l'affection est limitée à un seul tronc (Neuropathie "Dictionnaire médical de l'Académie de Médecine," 2016; Neuropathie, Larousse, 2006).

Neurinome : Aussi appelé Schwannome, est une tumeur bénigne (rarement maligne) et encapsulée du système nerveux périphérique, se développe à partir des cellules de Schwann qui recouvrent les gaines nerveuses. Il peut atteindre n'importe quelle partie du corps mais avec une prédilection pour le cou et la tête (cellules du système nerveux périphérique) (**Dickey et James Gerald, 2017**).

Spina bifida : Malformation congénitale de la colonne vertébrale (définie par l'absence de soudure des arcs postérieurs et de l'apophyse épineuse d'une ou plusieurs vertèbres). Elle est généralement localisée dans la région lombosacrée, plus rarement dorsale et exceptionnellement cervicale (Spina-bifida, Larousse, 2006).

Liste des abréviations

AK : Amikacine.

BHIB : Brain Heart Iron Bouillon.

CAZ : Ceftazidime.

CIP : Ciprofloxacine.

CN : Gentamicine.

CNS : Système Nerveux Central.

CPT : Ceftaroline.

CTX : Cefotaxime.

DVP : Dérivation ventriculo-péritonéale.

E : Erythromycine.

FC : Acide Fusidique.

FOX : Cefoxitine.

HPN : Hydrocéphalie à Pression Normale.

IMI : Imipénem.

LCS : Liquide Cérébro-spinal.

LT: Liquide Tumoral.

MGG: May-Grünwald Giemsa

MH : Mueller-Hinton

MRP : Méropénem.

PC : Plexus choroïde.

PCR : Polymerase Chain Reaction (réaction de polymérisation en chaîne)

PEIC : Processus Expansif Intracrânien.

PEIC de la FCP : Processus Expansif Intracrânien de la Fausse Cérébrale Postérieure.

PL : Ponction lombaire.

PN : Polynucléaire.

PNN : Polynucléaire neutrophile.

RD : Rifampicine.

SXT : Sulfaméthoxazole + Triméthoprim.

TOB : Tobramycine.

VCS : Ventriculocisternostomie.

Introduction

Le cancer, incontestablement la maladie du 21^{ème} siècle est considéré comme un problème de santé publique. **(OMS, 2003)**

Les facteurs de risque d'apparition des tumeurs font l'objet de nombreuses recherches. D'après l'étude de Higginson en 1968 **(Higginson, 1968)**, une grande partie des cancers est d'origine environnementale comme l'indique l'étude menée sur les pesticides qui agissent sur la progression des tumeurs cérébrales **(Ouar et al., 2017)** ; suggérant ainsi que le facteur est non-infectieux. Cependant, le rôle des agents infectieux tel que les bactéries, virus, champignons et parasites (voir **Annexe N°01**) n'est pas des moindres comme l'attestent les récentes recherches ayant associé une infection bactérienne à un développement de cancer conséquent dans divers localisations du corps **(Caygill et Gatenby, 2012)**.

Deux tiers des causes infectieuses du cancer sont de nature virale : Le papillomavirus humain lié au carcinome ano-génital et du nasopharynx ; le virus Epstein-Barr lié au lymphome de Burkitt ; mais aussi, les virus de l'hépatite B & C sont eux associés au carcinome hépatique (zur Hausen, 2009). Concernant les tumeurs cérébrales, il a été souligné que les protéines virales du cytomégalovirus étaient présentes dans différents types de tumeurs cérébrales, à savoir les glioblastomes multiformes et les médulloblastomes **(Cobbs et al., 2002)**.

Il est également suggéré dans la littérature qu'il existe un lien entre certains parasites (Douves, parasites intracellulaires et vers plats) et le développement de divers types de cancers (Jung et al., 2016). Parmi eux, le parasite intracellulaire *Toxoplasma gondii* est capable de moduler un microenvironnement au niveau du système nerveux central de l'hôte infecté, créant ainsi les conditions favorables au développement de tumeurs **(Cong et al., 2015; Thirugnanam et al., 2013)**.

L'un des agents infectieux bactériens le plus important est *Helicobacter pylori*. Celui-ci a pris place comme agent causal associé à la formation des carcinomes et des lymphomes gastriques. **(Marshall and Adams, 2008)**

Le rôle de nombreux agents infectieux est donc sous-estimé en raison de manque de données et de résultats expérimentaux à ce sujet. Dans le cas des tumeurs cérébrales, aucune infection n'a été approuvée comme étant directement oncogène, bien qu'un certain nombre de virus et de parasites soient associés à la malignité (**Alibek et al., 2013**).

Au vu de l'implication de ces microorganismes dans le développement de tumeurs telles que celles déjà citées, notre étude s'intéresse à la présence potentielle de bactéries lors d'une atteinte neurologique notamment des tumeurs cérébrales. Nous notons qu'aucune étude n'a été faite sur cette thématique jusqu'à présent dans le monde, notamment en Algérie. Cependant, quelques articles ont émis hypothèses et suggestions concernant une possible relation entre bactéries et tumeurs cérébrales.

Une étude menée au niveau du C.H.U de Bejaïa a relevé des statistiques supérieures à la moyenne mondiale concernant le taux d'incidence des tumeurs cérébrales qui est de 11/100 000 (**Ghidouche et al., 2014**).

Dans le cadre de notre étude, l'approche choisie est l'analyse microbiologique du liquide cérébro-spinal (LCS), car ce liquide répond aux conditions de réalisation de cette étude. Étant donné que le LCS circule dans la totalité du CNS et couvre une large interface de contact (environ 2297cm²) avec le cerveau selon (**Elias et Schwartz, 1969**) et les tissus tumoraux malins en plus de sa capacité à véhiculer les cellules tumorales (Pan et al., 2015). De plus, lors des échanges effectués entre le LCS et le sang, le passage de microorganismes pourrait être favorisé par la perturbation de la barrière hémato-encéphalique causée par les pathologies neurologiques comprenant les tumeurs et les infections cérébrales (**Rosenberg, 2012**).

Synthèse bibliographique

I. Généralités sur les tumeurs cérébrales

Les tumeurs sont le résultat de divisions spontanées et incontrôlées de cellules échappant au cycle cellulaire interne (**De Vleeschouwer et Bergers, 2017**).

En temps normal, les cellules suivent un schéma de division cellulaire bien précis ; de sorte que les nouvelles cellules remplacent les précédentes car elles ont atteint l'âge limite ou sont endommagées. Ce que l'on appelle tumeur est en fin de compte un amas de cellules anormales, endommagées ou dites vieilles qui ont persisté et se divisent de façon continue, et ce, à cause d'un dysfonctionnement au niveau des gènes responsables de leur croissance ou de leur division (**National Cancer Institute, 2015; Vogelstein et al., 2013**).

Les tumeurs intracrâniennes sont dites primitives lorsqu'elles naissent à partir des cellules du cerveau. Cependant, il existe deux types : bénigne et maligne. La première n'est pas très dangereuse, peut être volumineuse, mais une fois traitée, le patient, en général, ne récidive pas, contrairement à la seconde qui, en plus d'être agressive, peut former des masses ou des tissus qui adhèrent et envahissent les zones du cerveau avoisinantes ; Cela occasionne la formation de croissance ou de masses appelées tumeur (**National Cancer Institute, 2015**).

Les tumeurs cérébrales secondaires ou métastatiques sont des tumeurs préexistantes issues d'autres organes du corps dont les cellules se sont propagées jusqu'au cerveau.

La plupart des tumeurs cérébrales, près de la moitié, sont d'ailleurs des métastases (**Gavrilovic et Posner, 2005**).

Il existe plus d'une centaine de types de tumeurs et leur nom est généralement tiré en fonction de l'organe ou du tissu où elles se sont formées. En guise d'exemple, une tumeur atteignant les astrocytes sera appelée astrocytome ; Une tumeur atteignant les cellules gliales sera donc nommée un glioblastome (**National Cancer Institute, 2015**).

II. Le Liquide Cérébro-Spinal

II.1. Définition

Le liquide cérébro-spinal est un fluide biologique principalement synthétisé au niveau des plexus choroïdes, mais il s'agit aussi d'un ultrafiltrat de sang artériel cérébral étant donné que les plexus choroïdes appartiennent à la barrière hématoencéphalique et communiquent avec ces artères (Klein, 2009).

D'autres sites extra choroïdiens contribuent également à la synthèse de ce dernier comme le fluide interstitiel cérébral, l'épendyme ventriculaire, les capillaires sous piaux ainsi que le parenchyme cérébral (Sakka et al., 2011).

Le liquide cérébro-spinal est contenu dans les quatre ventricules cérébraux et dans l'espace sous-arachnoïdien crânien et spinale (canal central de la moelle spinale ou épinière) (Brown et al., 2004). Sa circulation dans le cerveau est représentée dans la **Figure N°01**.

Le volume moyen du LCS est d'environ 150ml chez l'adulte et est réparti comme suit : 125ml distribué dans l'espace sous-arachnoïdien crânien et spinal et 25ml dans les ventricules. Le LCS est renouvelé jusqu'à quatre fois par jour (Sakka et al., 2011).

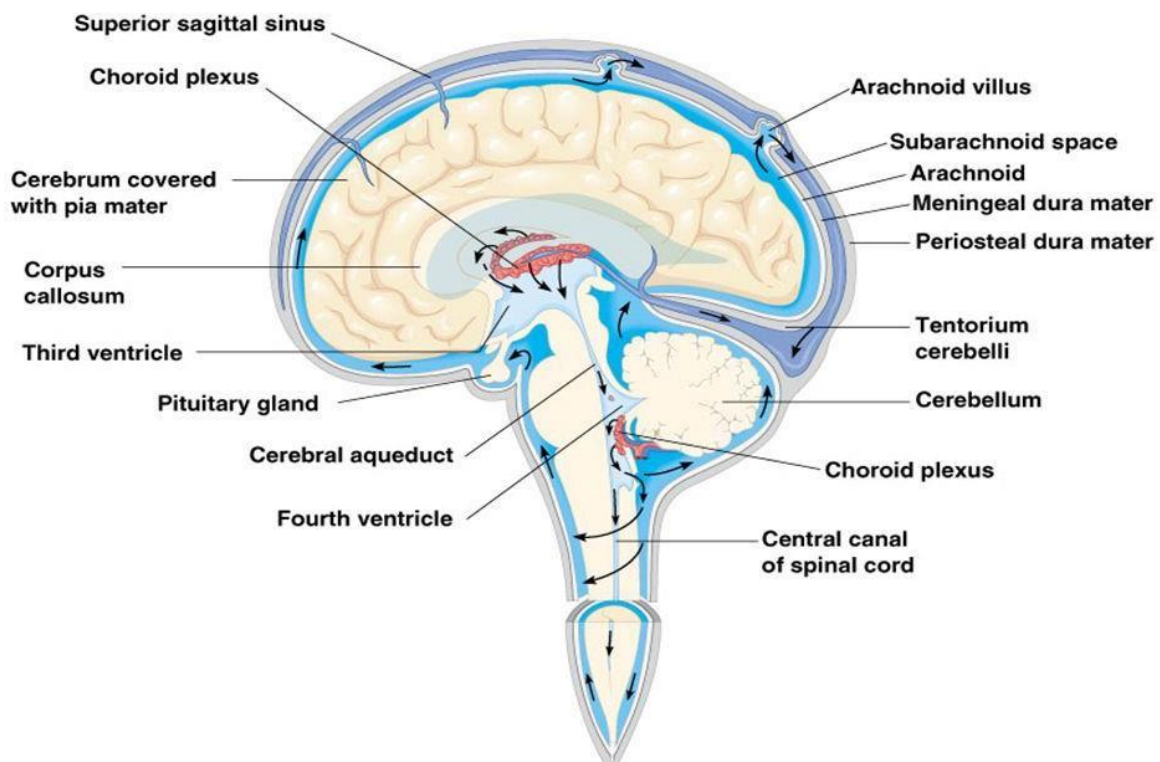


Figure N°01 Circulation du LCS.

II.2. Composition et rôle

La composition du LCS est similaire à celle du plasma sanguin. Il est composé principalement d'ions (K^+ , Na^+ , Ca^{2+} , Cl^- et Mg^{2+}) et de glucose (**Brown et al., 2004**).

Cependant, la différence majeure réside dans la concentration des protéines, du glucose et du potassium avec un taux nettement inférieur, hormis le chlore et le magnésium, leur concentration est supérieure (**Davson et al., 1987**).

Le LCS étant omniprésent dans le cerveau et dans la moelle épinière, il permet, par un effet mécanique, de protéger le parenchyme cérébral et la moelle spinale. Suivant le principe d'Archimède, ces derniers perdent jusqu'à 60% de leur poids relatif, leur permettant ainsi de mieux le supporter, de diminuer la tension des racines nerveuses. De plus, la libre circulation de ce dernier annule tous les gradients de pression potentiels au niveau intracérébral (**Broadbelt and Stoodley, 2007**).

Le LCS joue un rôle de transporteur de protéines et de vitamines via les plexus choroïdes provenant du sang (**Serot et al., 2003**).

Il joue également un rôle dans l'homéostasie cérébrale, qui est un processus physiologique permettant de garder les constantes du milieu de l'organisme dans les limites normales. En guise d'exemple : même lorsque la concentration du potassium augmente au niveau du plasma, celle au niveau du LCS n'augmente que de très peu (**Johanson et al., 1974**).

Le LCS a aussi un effet vidange, permettant ainsi d'éliminer des catabolites de cellules épithéliales, de CO_2 , de lactates, les excès d'ions et de neurotransmetteurs (**Davson et al., 1962**).

Il est donc le parfait témoin lors des désordres cérébraux (**Klein, 2009**).

Matériel et méthodes

Type d'étude

Notre étude s'est étalée sur une période comprise entre janvier et mai 2018, au niveau du laboratoire central du C.H.U Khelil Amrane de Bejaia ainsi qu'au grand laboratoire de Microbiologie de la faculté. Il s'agit d'une étude prospective expérimentale et observatrice qui vise à rechercher des microorganismes dans le liquide cébrospinal en contact avec une tumeur cérébrale.

I. Échantillons Biologiques

Nous avons mené cette étude sur des échantillons de LCS prélevés sur 36 patients dont 17 présentant des tumeurs cérébrales et 19 atteints d'autres pathologies neurologiques non tumoral, hospitalisés au service de neurochirurgie et programmés pour une chirurgie.

L'intervention chirurgicale nous a permis de recueillir un échantillon de LCS. Les échantillons obtenus sont représentés en **Annexe N°02**.

II. Procédure de collecte

La réalisation de cette étude a nécessité la collecte d'échantillons de LCS ; le prélèvement étant un acte médical, il est réalisé par des neurochirurgiens.

III.1. Ponction Lombar

La ponction se fait au niveau du dos entre les vertèbres lombaires L4 et L5 à l'aide d'une aiguille atraumatique laissant ainsi couler le LCS directement dans un tube stérile (Bianchi et *al.*, 2013; Chevallier et *al.*, 2008). La **Figure N°02** illustre la procédure suivie pour réaliser une ponction lombar.

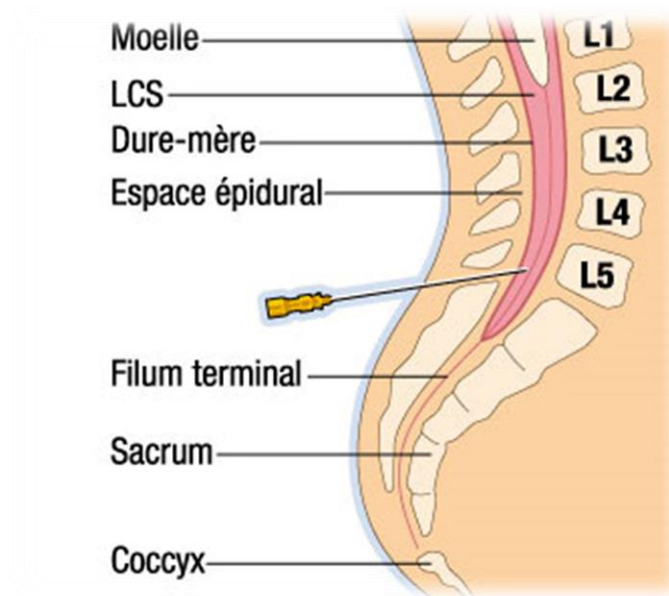


Figure N°02 Technique d'une ponction lombaire.

III.2. Prélèvement per-opération

Le prélèvement per-opération étant un acte plus délicat à réaliser car il se fait durant l'intervention chirurgicale et n'est réalisable uniquement lorsque la tumeur cérébrale est en contact avec le LCS (Espaces sous-arachnoïdien et ventricules). Il est prélevé à l'aide d'une seringue stérile munie d'une intranule. La procédure est illustrée sur la **Figure N°03** (photographie originale) ®.

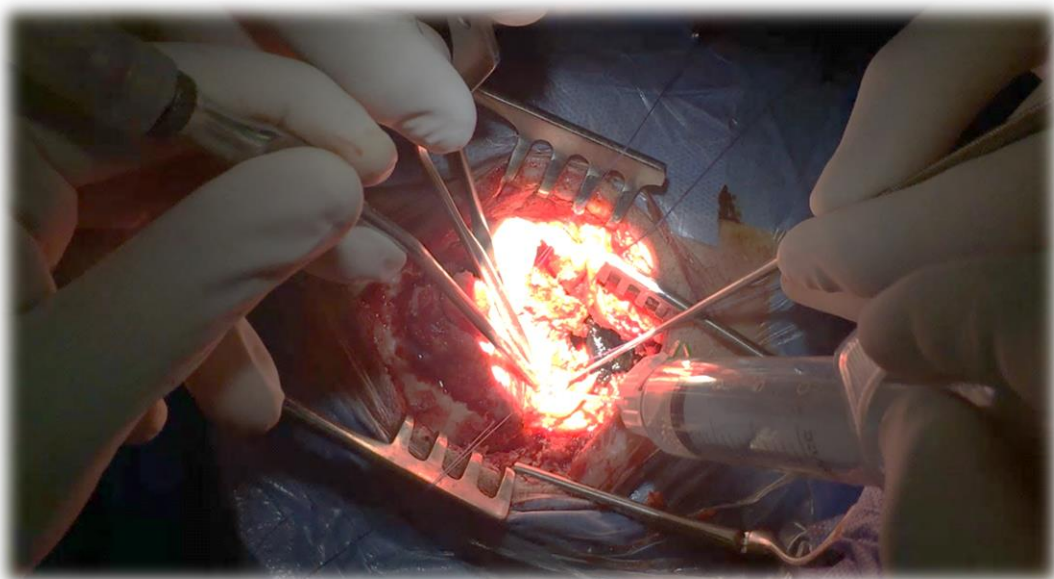


Figure N°03 Procédure de collecte de LCS en per-opération.

III. Analyse du LCS

Les échantillons aussitôt prélevés sont directement acheminés au laboratoire du C.H.U en raison de la sensibilité des bactéries aux baisses de températures ainsi que la lyse rapide des polynucléaires (PN) (Mariani-Kurkdjian et al., 2016). Ces échantillons doivent donc être immédiatement analysés.

Nous avons référé et adapté notre analyse à la démarche suivie par le laboratoire et le protocole décrit par (Mariani-Kurkdjian et al., 2016).

III.2. Analyse Biochimique

Cette partie de l'analyse comprend le dosage de la glycorachie et de la protéinorachie. La glycorachie est mesurée simultanément à la glycémie et doit représenter deux tiers de cette dernière.

Lors d'une atteinte du système nerveux, le cas d'une méningite par exemple, on observe une hyperprotéinorachie et une hypoglycorachie.

Cette analyse a été effectuée dans le laboratoire de biochimie du C.H.U par des biochimistes.

Tableau 1 Représentant les valeurs normales et lors d'une infection neurologique de la glycorachie et de la protéinorachie

Paramètre	Taux normal	Infection neurologique
Glycorachie	2/3 de la Glycémie	Hypoglycorachie
Protéinorachie	0.10 – 0.45g/l	1–5g/l (Hyperprotéinorachie)

IV.1. Examen macroscopique

L'observation directe du LCS consiste à préciser la couleur et l'aspect du liquide ; chacun de ces critères nous renseignent sur la pathologie en cause :

- Clair (eau de roche) : LCS normal ou méningo-encéphalite.
- Trouble / purulent (eau de riz) : méningite bactérienne.
- Jaune citrin / hémorragique : méningite / hémorragie méningée ou parfois due à une ponction traumatique (Bianchi et al., 2013).

IV.2. Examen cyto bactériologique

❖ Examen microscopique

La numération des éléments présents dans l'échantillon biologique se fait sur une cellule de Malassez. Cette étape permet de faire une analyse quantitative et qualitative du contenu cytologique du LCS. Elle permet de compter le nombre de leucocytes et d'estimer les hématies en nombre d'éléments/mm³.

Pour ce faire, nous avons prélevé une goutte du liquide que nous avons déposée entre la cellule de Malassez et une lamelle. La lecture se fait sous microscope optique à grossissement 10×40. La numération leucocytaire se lit comme suit :

- Normale, doit être < 05 éléments/mm³.
- Pour une méningite, doit être > 20 éléments/mm³ (Bianchi et al., 2013).

La formule leucocytaire est établie par coloration au May-Grünwald Giemsa après centrifugation ; nous renseignant sur le type de prédominance, soit polynucléaire notamment les PNN ou lymphocytaire. La coloration au MGG des PNN est illustrée dans l'**Annexe N°03** (Mariani-Kurkdjian et al., 2016).

❖ Analyse Bactériologique

Après avoir noté l'aspect macroscopique, effectué l'analyse biochimique et procédé à l'examen microscopique, nous avonsensemencé quelques gouttes de LCS dans 05ml de bouillon d'enrichissement BHIB et incubé pendant 24H, allant jusqu'à 05 jours à 37°C.

L'isolement se fait sur gélose Columbia au sang cuit dont la cuisson permet de libérer les facteurs de croissance contenus dans le sang. **Annexe N°04.**

Les boîtes sont mises dans une jarre à anaérobiose, puis incubées à 37°C /24h, l'incubation pouvant aller jusqu'à cinq jours.

IV. Identification

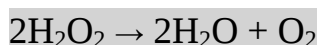
En premier lieu, nous avons soumis les cultures obtenues aux tests de base : la coloration de Gram, le test de la catalase ainsi que le test d'oxydase.

❖ Coloration de Gram

La réaction à la coloration est liée à la structure de la paroi cellulaire. Les bactéries à Gram positif possèdent une membrane cytoplasmique entourée d'une épaisse couche de peptidoglycane et apparaissent violettes lors de l'observation. Tandis que les bactéries à Gram négatif ont une fine couche de peptidoglycane, doublée d'une membrane externe et apparaissent en rose (Nicklin, 2000).

❖ Test de la catalase

Ce test a pour but de détecter la présence de l'enzyme catalase qui catalyse la dégradation du peroxyde d'hydrogène selon la réaction suivante :



Déposer une colonie isolée dans une goutte d' H_2O_2 sur une lame. L'observation d'une effervescence indique que le test est positif (Reiner et al, 2010).

❖ Test de l'oxydase

Ce test permet de mettre en évidence la cytochrome-oxydase. Sur un disque d'oxydase imbibé d'une goutte d'eau distillée stérile, déposer une colonie isolée. L'apparition d'une coloration violette indique que le test est positif. Cette réaction est illustrée en **Annexe N°05** (Shields et Cathcart, 2010).

❖ Galerie API

Afin d'identification des bactéries isolées, nous avons utilisé des galeries API adaptées aux souches selon l'orientation obtenue par les résultats de la coloration de Gram et du test de catalase principalement :

Pour les bactéries à Gram positif : API 20 Staph et API 20 Strep selon la catalase.

Pour les bactéries à Gram négatif : API 20E.

Ces galeries sont des versions miniaturisées et standardisées des techniques biochimiques conventionnelles permettant l'identification des bactéries. Composées de 20 micro tubes contenant les substances sous forme déshydratées nécessitant une incubation de 24h à 37°C. les réactions sont observées grâce à des virages de couleurs spontanés ou par addition de réactifs spécifiques au test. Cela est représenté dans la **Figure N°04**.



Figure N°04 Exemple d'une galerie biochimique API20E.

La lecture se fait à l'aide du tableau de lecture du catalogue et l'identification est réalisée à l'aide d'un logiciel.

V. Tests additionnels

Nous avons effectué ces tests afin de compléter l'identification des souches bactériennes obtenues.

❖ Test de la coagulase

Ce test est utilisé pour la mise en évidence de la production de l'enzyme coagulase chez les souches des staphylocoques notamment *Staphylococcus aureus*, considéré comme étant l'élément caractérisant leur pathogénicité.

Dans un tube à hémolyse contenant 0,3ml de plasma, on ensemence, à l'aide d'une pipette Pasteur, une à deux colonies bien isolées que l'on incube à 37°C. La première lecture se fait après quatre heures d'incubation. Si le plasma sanguin est liquide, on prolonge l'incubation jusqu'à vingt-quatre heures.

Le test est considéré positif si le plasma est coagulé avant 24h (Stojanović et al., 2008). Les résultats obtenus sont illustrés dans l'Annexe N°06.

❖ Recherche de la DNase

Ce test permet de déterminer la capacité de certaines bactéries dont *Staphylococcus aureus* à hydrolyser l'ADN et de l'utiliser comme source de carbone pour sa croissance.

Sur une gélose contenant de l'ADN, on ensemence par une strie de 03 à 05mm de diamètre à l'aide d'une anse de platine. L'incubation des boîtes se fait à 37°C pendant 24H.

La lecture se fait en vaporisant du HCl sur la boîte, qui est un acide ayant la propriété de précipiter l'ADN.

La formation d'un halo clair autour de la strie indique que la souche a hydrolysé l'ADN, elle est donc DNase positive.

Si le milieu reste opaque autour de la strie, la souche est donc DNase négative (Deoxyribonuclease (DNase) Test: Principle, Procedure and Results , 2014). Les résultats sont illustrés dans l'Annexe N°07.

❖ Test de la température 37°C et 45°C

La biculture à 37°C et à 45°C permet de différencier les Entérocoques des Streptocoques de sorte que les Streptocoques, au vu de leur fragilité, ne poussent pas à 45°C contrairement aux Entérocoques. (P^r Bouvet)

❖ Test de sensibilité au disque d'optochine et bacitracine

Ce test est réalisé sur un milieu enrichi adapté aux Streptocoques, gélose Mueller-Hinton additionné de sang frais. On ensemence par des stries serrées une suspension bactérienne sur la totalité de la gélose où l'on dépose par la suite un disque imprégné d'optochine et de bacitracine. On incube à 37°C durant 24H.

La lecture se fait en mesurant le diamètre de la zone d'inhibition :

Si la souche ensemencée est sensible à l'optochine (ce qui correspond à un diamètre >12mm), on suspecte fortement l'espèce *Streptococcus pneumoniae*.

Si la souche est sensible à la bacitracine (avec un diamètre >12mm), on suspecte *Streptococcus* du groupe A (**Optochin Sensitivity Test: Principle, Procedure, Expected Results and Quality Control, 2013**).

VI. Détermination de la sensibilité aux antibiotiques

Nous avons testé la sensibilité des souches isolées aux antibiotiques en réalisant un antibiogramme sur gélose Mueller-Hinton (MH) selon les recommandations de l'EUCAST 2018.

L'inoculum est préparé à partir d'une culture jeune de 24h sur gélose nutritive (GN), les colonies prélevées sont mises en suspension dans de l'eau physiologique stérile. La turbidité de la suspension bactérienne doit être comparée au témoin 0,5 de McFarland. Ce qui correspond à une concentration de 10^8 UFC/ml.

L'inoculation du milieu MH se fait à l'aide d'un écouvillon stérile sur la totalité de la gélose, les disques d'antibiotiques à tester sont ensuite disposés sur la gélose. Les boîtes sont incubées à 37°C durant 24h.

La mesure des diamètres des zones d'inhibition de chaque disque ainsi que leur interprétation s'effectuent en références aux tableaux des concentrations critiques élaborés par l'EUCAST 2018 (<http://www.eucast.org>, 2018).

Résultats et Discussion

Sur un ensemble de 36 échantillons, nous avons obtenus :

- Neuf cultures positives.

Parmi les neuf cultures positives :

- Trois sont de nature tumorale.
- Six sont de nature non tumorale.

Caractérisation de la population étudiée

Afin d'évaluer la prédominance des tumeurs cérébrales en fonction des tranches d'âge et du sexe des patients, nous avons réalisé des représentations graphiques à partir des 19 échantillons de LCS tumoral présents sur la fiche technique des prélèvements en **Annexe N°01**.

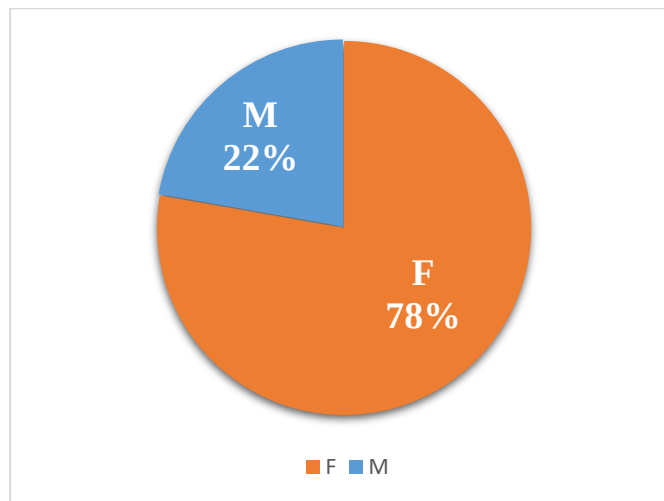


Figure N°05 Prédominance des tumeurs cérébrales selon le sexe.

Nous avons observé une prédominance des tumeurs cérébrales chez les femmes avec un taux de 78% contre 22% chez les hommes.

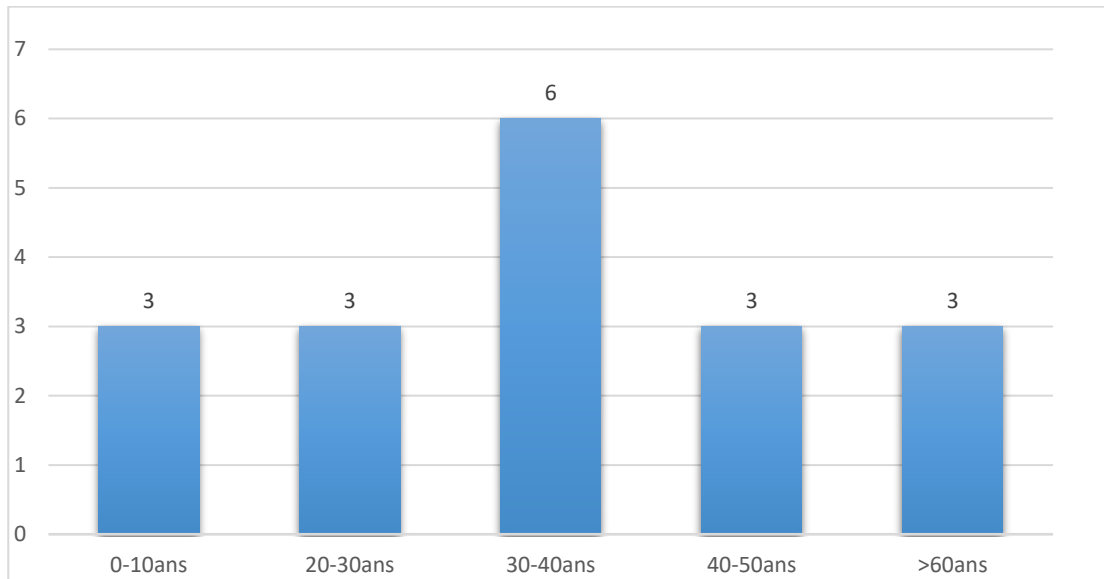


Figure N°06 Prédominance des tumeurs cérébrales par tranches d'âge.

D'après l'histogramme obtenu, nous avons remarqué que les tumeurs cérébrales sont plus fréquentes chez les 30-40ans.

I.1. Analyse microbiologique

Afin de déterminer la présence de microorganismes, notamment de bactéries, dans le LCS chez des sujets atteints de pathologies neurologiques, plus précisément les tumeurs cérébrales. Les échantillons obtenus ont été soumis à une batterie de tests décrite précédemment. Les résultats obtenus sont représentés dans le **Tableau II** (Les LCS ayant un code à chiffre représentent les LCS tumorales et ceux ayant code à lettre représentent les non tumorales). Les cultures obtenues sont illustrées dans l'**Annexe N°08**. Les LCS avec un code à chiffre désignent les LCS tumoral ceux avec un code à lettre désignent un LCS non tumoral.

Tableau II Résultats obtenus des échantillons de LCS.

Code	Date	Âge	Sexe	Culture
LCS 03	20.02.2018	72ans	M	C. Positive
LCS 05	25.02.2018	21ans	F	CP
LCS A	04.03.2018	04 ans	M	CP
LCS D	14.03.2018	06 mois	M	CP
LCS H	21.03.2018	03 mois	M	CP
LCS M	05.04.2018	02 mois	M	CP
LCS Q	15.04.2018	17 mois	F	CP
LCS 16	29.04.2018	04 ans	F	CP
LCS V	03.04.2018	05 mois	M	CP
LCS 01	06.02.2018	42 ans	F	C. Négative
LCS 02	15.02.2018	42 ans	F	CN
LCS 04	21.02.2018	65 ans	M	CN
LCS 06	12.03.2018	20 ans	F	CN
LCS 07	14.03.2018	40 ans	F	CN
LCS B	10.03.2018	40 ans	M	CN
LCS C	12.03.2018	02 ans	F	CN
LCS G	25.03.2018	14 ans	M	CN
LCS 08	26.03.2018	70 ans	F	CN
LCS I	27.03.2018	06 mois	F	CN
LCS 09	27.03.2018	A	F	CN
LCS J	04.04.2018	03 ans	M	CN

Code	Date	Âge	Sexe	Culture
LCS K	04.04.2018	31 ans	M	CN
LCS 10	04.04.2018	30 ans	M	CN
LCS L	10.04.2018	A	M	CN
LCS N	05.04.2018	52 ans	F	CN
LCS 11	09.04.2018	A	F	CN
LCS 12	10.04.2018	32 ans	F	CN
LCS O	10.04.2018	03 mois	M	CN
LCS 13	11.04.2018	29 ans	F	CN
LCS P	12.04.2018	15 mois	M	CN
LCS R	15.04.2018	19 ans	M	CN
LCS 14	18.04.2018	36 ans	F	CN
LCS T	19.04.2018	04 ans	F	CN
LCS 15	24.04.2018	25 ans	F	CN
LCS U	29.04.2018	54 ans	F	CN
LT 1	26.04.2018	03 ans	F	CN

Des 36 cultures lancées, nous avons obtenu 09 cultures positives. Cela représente 25% de l'effectif étudié (09/36).

Parmi ces 09 cultures, 03 sont de nature tumorale, ce qui représente un taux de 33,33% des cultures positives ; 06 de nature non tumorale provenant de pathologies différentes représentant 66,66% des cultures positives.

Bien que le LCS soit un fluide supposé être exempt de bactéries, il a été démontré qu'il n'est pas à l'abri d'infections bactériennes. (Lu et al., 2000)

Il est à noter que la suite des analyses concerne uniquement les cultures positives.

I.2. Biochimie & Cytologie

Cette partie de l'analyse comprend le dosage de la glycorachie et de la protéinorachie ainsi que l'examen cytologique des cultures positives qui est retranscrit dans le **Tableau III**

Tableau III Biochimie et cytologie des cultures positives de LCS.

Code	Glycorachie	Protéinorachie	Cytologie	Aspect
LCS 3	IND	IND	10(3PNN)	Hématique
LCS 5	0.52	0.70	12	Trouble
LCS A	IND	IND	<05	Clair
LCS D	0.11	2.40	800(90%PNN)	Trouble
LCS H	0.41	0.90	<05	Clair
LCS M	0.16	1.90	<05	Clair
LCS Q	0.69	0.15	<05	Clair
LCS 16	0.20	3.30	1500(75%PN)	Hématique
LCS V	0.48	0.30	<05	Clair

Cette analyse a été effectuée dans le laboratoire de biochimie du C.H.U par des biochimistes.

La glycorachie est mesurée simultanément à la glycémie et doit représenter deux tiers de cette dernière.

Lors d'une atteinte du système nerveux, le cas d'une méningite par exemple, on observe une hyperprotéinorachie et une hypoglycorachie (Mariani-Kurkdjian et al., 2016).

Tableau IV Valeurs de la glycorachie et de la protéinorachie.

Paramètre	Taux normal	Infection neurologique
Glycorachie	2/3 de la Glycémie	Hypoglycorachie
Protéinorachie	0.10 – 0.45g/l	01 – 05g/l (Hyperprotéinorachie)

II. Caractérisation phénotypique des souches bactériennes isolées

II.1. Tests préliminaires

L'aspect des colonies observé, la coloration de Gram, le test d'oxydase ainsi que la réaction de la catalase sont tous représentés dans le **Tableau V**.

Tableau V Tests préliminaires de l'identification des souches bactériennes.

Codes	Gram	Aspect des colonies	Catalase	Oxydase	Aspect sous microscope
LCS 03.1 LCS H LCS M	+	Grandes colonies Blanches Rondes Lisses Brillantes	+	-	Cocci G ⁺ Agencement En grappe de raisin
LCS 03.2 LCS A LCS D	+	Petites colonies Blanches Rondes Lisses Brillantes	+	-	Cocci G ⁺ Agencement en diplocoques + Amas
LCS 05	+	Petites colonies Blanches Rondes Lisses Brillantes	+	-	Cocci G ⁺ Agencement en tétrades

Codes	Gram	Aspect des colonies	Catalase	Oxydase	Aspect sous microscope
LCS Q	+	Très fines colonies Grisâtre	-	-	Cocci G+ Agencement en chaînettes
LCS 16	-	Petites colonies Blanchâtres Muqueuses	+	-	Coccobacilles G-
LCS V	-	Hyper muqueuses	+	+	Petits Bacilles G-

Le LCS 03 a donné deux germes distincts, ce qui nous arrondis les résultats positifs à 10. Parmi eux, nous avons donc eu 08 G^+ et 02 G^- . Seul le LCSQ était catalase négative, tous les autres prélèvements sont catalase positive. Pour le test de l'oxydase, tous les prélèvements sont négatifs sauf le LCSV, il est oxydase positive.

L'aspect des colonies est illustré en **Annexe N°08**.

L'aspect des colorations de Gram est illustré en **Annexe N°09**.

II.2. Caractérisation biochimique des souches bactériennes

Nous avons soumis les souches bactériennes à une galerie biochimique ainsi qu'à des tests additionnels afin de pousser l'identification jusqu'au genre bactérien. Les résultats obtenus sont représentés dans le **Tableau VI**.

Tableau VI Résultats de la galerie biochimique.

Souches	TSI	Citrate de Simmons	VP	RM	Nitrate réductase	Mannitol mobilité	Urée	Indole	Gaz	TDA	H ₂ S
ATCC E. coli	+	-	-	+	+	+	-	+	+	-	-
LCS 03.1	-	-	-	+	-	+/-	-	-	-	-	-
LCS 03.2	+	-	-	+	-	+/-	-	-	-	-	-
LCS 05	Glu-/ Lac+	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-
LCS 16	-	-	-	-	+	-/+	-	-	-	-	-
LCS A	Glu-/ Lac+	-	-	+	+	+/-	-	-	-	-	-
LCS D	Glu-/ Lac+	-	-	+	+	+/-	+	-	-	-	-
LCS H	Glu-/ Lac+	-	-	-	+	-	+	-	-	-	-
LCS M	Glu-/ Lac+	-	-	+	+	-	+	-	-	-	-
LCS Q	+	+	-	+	+	+	-	-	-	-	-
LCS V	+	-	-	-	+	+	+	-	-	-	-

La galerie biochimique utilisée ne comporte pas tous les tests clés nécessaires pour permettre l'identification jusqu'au genre bactérien. Afin d'y remédier, nous avons utilisé les galeries biochimiques API20E, API20Staph ainsi que API20Strep. Les résultats obtenus sont représentés respectivement dans les **Tableaux N°VII, VIII et IX**.

Galerie Biochimique G⁺

Les phénotypes probables obtenus sur les galeries biochimiques API20Staph ainsi que les résultats des tests additionnels de la coagulase et de la DNase pour les souches LCS 03.1, 03.2, 05, A, D, H et M sont représentés dans le **Tableau VII**.

Tableau VII Phénotypes probables et tests additionnels.

Code	GLU	FRU	MNE	MAL	LAC	TRE	MAN	XLT	MEL	NIT	VP	RAF	XYL	SAC	MDG	NAG	ADH	URE	Coagulase	DNase	Identification probable
LCS 03.1	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	-	-	+	-	+	+	-	-	-	<i>S.aureus</i>
LCS 03.2	+	+	-	+	+	-	-	-	-	+	-	-	-	+	-	-	+	+	-	-	<i>S. epidermidis</i>
LCS 05	+	+	-	+	+	+	-	-	-	+	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	<i>S.hominis</i>
LCS A	+	+	+	-	-	-	+	-	-	+	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	<i>S. capitis</i>
LCS D	+	+	+	+	-	+	-	-	-	+	-	-	-	+	-	-	+	+	-	+	<i>S. hominis</i>
LCS H	+	+	+	+	-	+	+	-	-	+	-	-	-	+	-	+	+	+	-	-	<i>S.aureus</i>
LCS M	+	+	+	+	-	+	+	-	-	+	-	-	-	+	-	+	+	+	-	+	<i>S.aureus</i>

Selon l'étude menée par Jin et *al* en 2018, lors des cultures positives de LCS, les résultats tendent à une prédominance de bactérie à Gram positif dont les staphylocoques à coagulase négatives (Jin et al., 2018). Ce qui correspond aux résultats que nous avons obtenus :

Parmi les neuf cultures positives, l'identification que nous avons effectuée est en faveur du genre *Staphylococcus* à coagulase négative.

Parmi les sept Staphylocoques que l'on a isolés, 03 d'entre eux sont probablement *Staphylococcus aureus*, 02 sont identifiés comme étant probablement *Staphylococcus hominis*, un *Staphylococcus capitis* et enfin un *Staphylococcus epidermidis*.

À partir du LCS 03, nous avons isolé deux germes qui sont probablement un *Staphylococcus aureus* et l'autre en faveur de *Staphylococcus epidermidis*.

Selon une étude, il est à noter que même si *Staphylococcus epidermidis* est un germe commensal de la peau avec un pouvoir pathogène assez limité, il reste néanmoins un agent incriminé dans les infections suite à une dérivation du LCS (**Price, 1984; Key, Rothrock et Falk, 1995**).

Le phénotype probable obtenu sur la galerie biochimique API20Strep, les tests additionnels à l'optochine ainsi que les cultures à températures différentes 37 et 45°C pour le LCS Q sont représentés sur le **Tableau VIII**.

Tableau VIII Phénotype probable, tests à l'optochine et cultures à 37 et 45°C.

Code	Phénotype probable	Test OPT/Bacitracine	Culture à 45°C	Culture à 37°C
LCS Q	<i>Streptococcus spp</i>	R/S	-	+

Il est à noter que la culture du LCS Q a été des plus délicates car même après 48H sur une gélose au sang cuit, très peu de colonies ont pu pousser ; ce qui n'a probablement pas suffi à obtenir un inoculum conforme au standard exigé par la galerie API20Strep qui est de 4 de M^cFarland. Les tests obtenus sont presque tous négatifs sauf pour l'esculine. En se basant sur ces quelques tests, l'identification est orientée vers le genre *Streptococcus spp*.

Selon une étude moléculaire menée par Lu et *al* en 2000, la présence d'un streptocoque dans un échantillon de LCS n'est pas forcément traduite par une culture positive. Cependant, une PCR effectuée avec des amorces spécifiques pour le genre *Streptococcus* s'est avérée positive (Lu et al., 2000). Ce qui pourrait expliquer la difficulté rencontrée lors du ré-isolément de cette souche.

Galerie biochimique G⁻

Le phénotype probable obtenu sur la galerie biochimique API20E est représenté sur le **Tableau IX**.

Tableau IX Phénotype probable du LCSV.

Code	Phénotype probable
LCS V	<i>Aeromonas hydrophila</i>

En se basant sur la galerie API20E, l'identification nous oriente probablement vers *Aeromonas hydrophila* isolée à partir d'un LCS non tumoral. Ceci est en accord avec ce qui a été décrit par (Seetha et al., 2004) qui ont démontré que ce germe pouvait engendrer des méningites.

Selon une étude plus récente, il a été décrit pour la première fois que *Aeromonas hydrophila* était en cause de l'infection de la moelle spinale (Lee et al., 2013).

Concernant l'identification du LCS 16, nous nous sommes basés sur les tests préliminaires ainsi que sur les résultats obtenus de la galerie biochimique classique. Cette dernière était inerte (tous les tests étaient négatifs). Ce qui nous porte à croire qu'il s'agirait de *Stenotrophomonas maltophilia* ou *Acinetobacter spp.*

III. Profil de sensibilité aux antibiotiques des souches bactériennes

Les antibiogrammes ont été réalisés selon les recommandations de l'EUCAST 2018 afin de déterminer les profils de sensibilité aux antibiotiques. Concernant l'antibiotique CAZ, nous avons utilisé les recommandations du Comité de la société française de microbiologie (CA-SFM, 2013). Les profils sont donc représentés dans le **Tableau X**.

Tableau X Profils de sensibilité des LCS 03, 05, A, D, H, M et V.

Code	Souche	TOB 10µg	FC 10µg	E 15µg	CN 10µg	RD 05µg	FOX 10µg	CPT 05µg
LCS 03.1	<i>S.aureus</i>	24 S	31 S	06 R	26 S	36 S	32 S	16 R
LCS 03.2	<i>S.epidermidis</i>	26 S	15 R	10 R	27 S	40 S	34 S	26 S
LCS 05	<i>S.hominis</i>	25 S	29 S	25 S	26 S	35 S	29 S	22 S
LCS A	<i>S.capitis</i>	26 S	30 S	30 S	29 S	40 S	33 S	29 S
LCS D	<i>S.hominis</i>	06 R	06 R	23 S	06 R	16 R	14 R	08 R
LCS M	<i>S.aureus</i>	18 S	26 S	23 S	19 S	29 S	27 S	14 R
LCS H	<i>S.aureus</i>	19 S	25 S	22 S	19 S	29 S	26 S	13 R

Nous remarquons que la souche obtenue du LCS D, probablement *Staphylococcus hominis* est résistante à la céfoxitine, à la céftaroline, aux aminoglycosides (Tobramycine et Gentamicine) ainsi qu'à la rifampicine et l'acide fusidique. Elle reste néanmoins sensible à l'érythromycine.

Les souches présumées *Staphylococcus aureus* sont visiblement sensibles à la céftaroline (Céphalosporine de 3^{ème} génération).

Tableau XI Profil de sensibilité du LCS 16.

Code	Souche	MRP 10µg	IMI 10 µg	SXT 25µg	CN 10µg	AK 30µg	CIP 05µg	TOB 10µg
LCS 16	<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	28 S	19 I	16 S	19 S	22 S	28 S	19 S

La souche est sensible à tous les antibiotiques testés excepté l'imipénème ; sa sensibilité étant intermédiaire.

Tableau XII Profil de sensibilité du LCS V.

Code	Souche	CIP 05µg	CAZ 30µg
LCS V	<i>Aeromonas hydrophila</i>	31 S	06 R

Nous remarquons que la souche est totalement résistante à la ceftazidime mais sensible à la ciprofloxacine.

Conclusion & Perspectives

Durant cette étude, nous avons analysé des échantillons de LCS provenant de différentes pathologies neurologiques, principalement des tumeurs cérébrales. Notre but étant de mettre en évidence la présence de bactéries, bien que ce soit un fluide supposé être stérile (Lu et al., 2000).

À ce jour, trop peu d'études se sont penchées sur le sujet, associant une tumeur cérébrale aux infections bactériennes. Sachant que certaines espèces bactériennes ont déjà été suspectées d'être localisées dans les tissus carcinomateux (**Alibek et al., 2013**).

La procédure usuelle adoptée au laboratoire demeure la culture bactérienne. Cependant, la culture de certains germes fastidieux pouvant se retrouver dans le LCS risque de donner des cultures faussement-négatives, alors que la détection de l'ADN de ces dernières n'échappe pas à la PCR. (**Khater and Elabd, 2016**)

Il faut dire qu'un prélèvement de LCS lors d'une tumeur cérébrale n'est pas systématique ; la ponction lombaire dans ce cas n'est réalisée qu'en cas de fièvre ou lors d'une infection de la plaie post-opératoire car cette procédure est un acte invasif, délicat et comprend beaucoup de contre-indications. Concernant nos prélèvements en per-opération, ils ont été effectués uniquement dans le cadre de cette étude. Les échantillons que nous avons donc réussi à obtenir pour la réalisation de cette expérimentation est le fruit d'une collaboration avec les neurochirurgiens du C.H.U Khelil Amrane qui ont su inclure l'étape de prélèvement de LCS lors de leurs interventions chirurgicales, exceptionnellement, afin de nous permettre d'aboutir à ce travail.

L'importance de l'incidence des tumeurs cérébrales en Algérie, nous pousse à croire qu'il existe un ou plusieurs facteurs de risque non négligeables encore inconnus. Cette démarche ouvre donc un large champ de possibilités de recherche. Celle que nous avons choisie d'engager nous a permis d'aboutir à des résultats intéressants mais nécessitant des techniques plus élaborées, comme la biologie moléculaire.

Références Bibliographiques

1. **Alibek, K., Kakpenova, A., Baiken, Y.,** 2013. Role of infectious agents in the carcinogenesis of brain and head and neck cancers. *Infect. Agent. Cancer* 8, 7. <https://doi.org/10.1186/1750-9378-8-7>
2. **Bianchi, V., Duployez, N., Anbassi, S.E.,** 2013. Bactériologie - virologie. De Boeck Supérieur.
3. **Bouvet, A.,** n.d. STREPTOCOQUES - ENTÉROCOQUES [WWW Document]. URL <http://www.microbes-edu.org/etudiant/streptocoques.html> (accessed 7.19.18).
4. **Broadbent, Stoodley,** 2007. CSF pathways: a review: *British Journal of Neurosurgery*: Vol 21, No 5 [WWW Document]. URL <https://www.tandfonline.com/doi/full/10.1080/02688690701447420> (accessed 6.14.18).
5. **BROWN, P.D., DAVIES, S.L., SPEAKE, T., MILLAR, I.D.,** 2004. Molecular Mechanisms of Cerebrospinal Fluid Production. *Neuroscience* 129, 957–970. <https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2004.07.003>
6. **Caygill, C.P.J., Gatenby, P.A.C.,** 2012. Epidemiology of the Association Between Bacterial Infections and Cancer, in: *Bacteria and Cancer*. Springer, Dordrecht, pp. 1–24. https://doi.org/10.1007/978-94-007-2585-0_1
7. **Chevallier, S., Monti, M., Michel, P., Vollenweider, P.,** 2008. [Lumbar puncture]. *Rev. Med. Suisse* 4, 2312–2314, 2316–2318.
8. **Cobbs, C.S., Harkins, L., Samanta, M., Gillespie, G.Y., Bharara, S., King, P.H., Nabors, L.B., Cobbs, C.G., Britt, W.J.,** 2002. Human cytomegalovirus infection and expression in human malignant glioma. *Cancer Res.* 62, 3347–3350.
9. **Cong, W., Liu, G.-H., Meng, Q.-F., Dong, W., Qin, S.-Y., Zhang, F.-K., Zhang, X.-Y., Wang, X.-Y., Qian, A.-D., Zhu, X.-Q.,** 2015. Toxoplasma gondii infection in cancer patients: prevalence, risk factors, genotypes and association with clinical diagnosis. *Cancer Lett.* 359, 307–313. <https://doi.org/10.1016/j.canlet.2015.01.036>
10. **Davson, H., Kleeman, C.R., Levin, E.,** 1962. Quantitative studies of the passage of different substances out of the cerebro-spinal fluid. *J. Physiol.* 161, 126.
11. **Davson H, Welch K, Segal MB,** 1987. The physiology and pathophysiology of the cerebrospinal fluid. Churchill Livingstone; Edinburgh.

Références Bibliographiques

12. **De Vleeschouwer, S., Bergers, G.**, 2017. Glioblastoma: To Target the Tumor Cell or the Microenvironment?, in: De Vleeschouwer, S. (Ed.), Glioblastoma. Codon Publications, Brisbane (AU).
13. Deoxyribonuclease (DNase) Test: Principle, Procedure and results -, 2014.
14. **Dickey, I.D., James Gerald, floyd**, 2017. Neurilemmoma: Background, Etiology, Epidemiology.
15. Dictionnaire médical de l'Académie de Médecine, n.d.
16. **E.H Price**, 1984. Staphylococcus epidermidis infections of cerebrospinal fluid shunts.
17. **Elias, H., Schwartz, D.**, 1969. Surface areas of the cerebral cortex of mammals determined by stereological methods [WWW Document]. URL (accessed 6.14.18).
18. **Gavrilovic, I.T., Posner, J.B.**, 2005. **Brain metastases: epidemiology and pathophysiology. J. Neurooncol.** 75, 5–14. <https://doi.org/10.1007/s11060-004-8093-6>
19. **Ghidouche, A., Ait Ali, D., Kheireddine, L., Takbou, I., Khechfoud, H., Hannou, L., Himeur, H., Ait Bachir, M., Tliba, S.**, 2014. Étude épidémiologique des tumeurs cérébrales : cas du CHU de Bejaia. Neurochirurgie, SNCLF - Réunion annuelle de Paris, 7-10 décembre 2014 (Le Beffroi de Montrouge) 60, 350. <https://doi.org/10.1016/j.neuchi.2014.10.078>
20. **Higginson, J.**, 1968. The theoretical possibilities of cancer prevention in man. Proc. R. Soc. Med. 61, 723–726.
21. **Jin, Y., Liu, X., Gao, L., Guo, X., Wang, Q., Bao, X., Deng, K., Yao, Y., Feng, M., Lian, W., Wang, R., Yang, Q., Wang, Y., Xing, B.**, 2018. Risk Factors and Microbiology of Meningitis and/or Bacteremia After Transsphenoidal Surgery for Pituitary Adenoma. World Neurosurg. 110, e851–e863. <https://doi.org/10.1016/j.wneu.2017.11.125>
22. **J.Nicklin**, 2000. microbiologie, BERTI. ed, l'essentiel en.
23. Johanson, C.E., Reed, D.J., Woodbury, D.M., 1974. Active transport of sodium and potassium by the choroid plexus of the rat. J. Physiol. 241, 359–372.
24. **Jung, B.-K., Song, H., Kim, M.-J., Cho, J., Shin, E.-H., Chai, J.-Y.**, 2016. High Toxoplasma gondii Seropositivity among Brain Tumor Patients in Korea. Korean J. Parasitol. 54, 201–204. <https://doi.org/10.3347/kjp.2016.54.2.201>

Références Bibliographiques

25. **Key, C.B., Rothrock, S.G., Falk, J.L.**, 1995. Cerebrospinal fluid shunt complications: an emergency medicine perspective. *Pediatr. Emerg. Care* 11, 265–273.
26. **Khater, W.S., Elabd, S.H.**, 2016. Identification of Common Bacterial Pathogens Causing Meningitis in Culture-Negative Cerebrospinal Fluid Samples Using Real-Time Polymerase Chain Reaction. *Int. J. Microbiol.* 2016. <https://doi.org/10.1155/2016/4197187>
27. **KLEIN, O.**, 2009. HYDROCEPHALIE MESURE DU DEBIT EXTERIORISE DU LIQUIDE CEREBROSPINAL CHEZ L'ADULTE HYDROCEPHALE PORTEUR D'UNE DERIVATION VENTRICULAIRE EXTERNE (DVE) RELATIONS PRESSION ET RESISTANCE EN FONCTION DU DEBIT DES SYSTEMES DE DVE. UNIVERSITE HENRI POINCARÉ, NANCY 1.
28. <http://www.larousse.fr/archives/medical/page/933> (accessed 5.21.18).
29. **Lee, J.-S., Choi, S.-M., Kim, K.-W.**, 2013. Triparesis caused by gas-containing extensive epidural abscess secondary to *Aeromonas hydrophila* infection of a thoracic vertebroplasty: a case report. *Spine J. Off. J. North Am. Spine Soc.* 13, e9–e14. <https://doi.org/10.1016/j.spinee.2013.03.045>
30. **Lu, J.-J., Perng, C.-L., Lee, S.-Y., Wan, C.-C.**, 2000. Use of PCR with Universal Primers and Restriction Endonuclease Digestions for Detection and Identification of Common Bacterial Pathogens in Cerebrospinal Fluid. *J. Clin. Microbiol.* 38, 2076–2080.
31. **Mariani-Kurkdjian, P., Bonacorsi, S., Bingen, E.**, 2016. Chapitre 14 - Diagnostic bactériologique et suivi biologique des méningites bactériennes, in: *Bactériologie Médicale (3e Édition)*. Content Repository Only!, Paris, pp. 141–147. <https://doi.org/10.1016/B978-2-294-74616-1.00014-5>
32. **Marshall, B., Adams, P.C.**, 2008. *Helicobacter pylori*: A Nobel pursuit? *Can. J. Gastroenterol.* 22, 895–896.
33. National Cancer Institute, 2015. What Is Cancer? [WWW Document]. Natl. Cancer Inst. URL <https://www.cancer.gov/about-cancer/understanding/what-is-cancer> (accessed 5.18.18).
34. OMS | La fréquence des cancers pourrait augmenter de 50 % dans le monde, avec 15 millions de nouveaux cas par an en 2020 [WWW Document], n.d. . WHO. URL <http://www.who.int/mediacentre/news/releases/2003/pr27/fr/> (accessed 7.19.18).

Références Bibliographiques

35. Optochin Sensitivity Test: Principle, Procedure, expected results and quality control -, 2013.
36. **Ouar, K., Rezgui, L., Ghidouche, A.** (Encadreur), 2017. Impact des pesticides sur la progression des glioblastomes dans des modèles animaux.
37. **Pan, W., Gu, W., Nagpal, S., Gephart, M.H., Quake, S.R.**, 2015. Brain Tumor Mutations Detected in Cerebral Spinal Fluid. Clin. Chem. 61, 514–522. <https://doi.org/10.1373/clinchem.2014.235457>
38. **Reiner, Karen.**, 2010. Catalase Test Protocol [WWW Document]. URL <http://www.asmscience.org/content/education/protocol/protocol.3226> (accessed 6.10.18).
39. **Rojas-Marroquín, A., Palencia, H.N., Curán, A., Ramírez, L.A.**, 2015. Giant Intracranial and Extracranial Meningioma of the Falx Cerebri: Surgical Management and Case Report. Open J. Mod. Neurosurg. 05, 88. <https://doi.org/10.4236/ojmn.2015.53015>
40. **Rosenberg, G.A.**, 2012. Neurological diseases in relation to the blood–brain barrier. J. Cereb. Blood Flow Metab. 32, 1139–1151. <https://doi.org/10.1038/jcbfm.2011.197>
41. **Sakka, L., Coll, G., Chazal, J.**, 2011. Anatomy and physiology of cerebrospinal fluid. Eur. Ann. Otorhinolaryngol. Head Neck Dis. 128, 309–316. <https://doi.org/10.1016/j.anorl.2011.03.002>
42. **Seetha, K.S., Jose, B.T., Jasthi, A.**, 2004. Meningitis due to *Aeromonas hydrophila*. Indian J. Med. Microbiol. 22, 191–192.
43. **Serot, J.-M., Béné, M.-C., Faure, G.C.**, 2003. Choroid plexus, aging of the brain, and Alzheimer's disease. Front. Biosci. J. Virtual Libr. 8, s515-521.
44. **Shields, P., Cathcart, L.**, 2010. Oxidase Test Protocol [WWW Document]. URL <http://www.asmscience.org/content/education/protocol/protocol.3229> (accessed 6.10.18).
45. **Stojanović, P., Kocić, B., Randelović, G., Cirić, V.**, 2008. [Coagulase-negative *Staphylococcus* isolated from bloodculture--causes or contaminants?]. Med. Pregl. 61, 263–269.
46. **Taous, A., Rouimi, A.**, 2015. Kyste colloïde obstructif du troisième ventricule. Pan Afr. Med. J. 20. <https://doi.org/10.11604/pamj.2015.20.217.6264>

Références Bibliographiques

47. The European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing. Breakpoint tables for interpretation of MICs and zone diameters. Version 8.1, 2018. <http://www.eucast.org>. [WWW Document], 2018. URL http://www.eucast.org/clinical_breakpoints/ (accessed 6.16.18).
48. **Thirugnanam, S., Rout, N., Gnanasekar, M.**, 2013. Possible role of *Toxoplasma gondii* in brain cancer through modulation of host microRNAs. *Infect. Agent. Cancer* 8, 8. <https://doi.org/10.1186/1750-9378-8-8>
49. **Vogelstein, B., Papadopoulos, N., Velculescu, V.E., Zhou, S., Diaz, L.A., Kinzler, K.W.**, 2013. Cancer genome landscapes. *Science* 339, 1546–1558. <https://doi.org/10.1126/science.1235122>
50. **Zur Hausen, H.**, 2009. The Search for Infectious Causes of Human Cancers: Where and Why (Nobel Lecture). *Angew. Chem. Int. Ed.* 48, 5798–5808. <https://doi.org/10.1002/anie.200901917>

Annexe N°01 Fiche Technique des Prélèvements.

Code	Date	Age	Sexe	Technique de prélèvement	Volume	Nature	Pathologie
LCS 01	06.02.2018	42 ans	F	PL	15cc	Tumorale	Méningiome
LCS 02	15.02.2018	42ans	F	PL	20cc	Tumorale	Méningiome
LCS 03	20.02.2018	72ans	M	PEIC	05cc	Tumorale	IND
LCS 04	21.02.2018	65ans	M	PEIC	05cc	Tumorale	Glioblastome
LCS 05	25.02.2018	21ans	F	PEIC de la FCP	05cc	Tumorale	IND
LCS A	04.03.2018	48mois	M	VCS	07cc	Non Tumorale	IND
LCS B	10.03.2018	40ans	M	PL	01cc	Non Tumorale	IND
LCS 06	12.03.2018	20ans	F	PEIC de la FCP	02cc	Tumorale	IND
LCS C	12.03.2018	02ans	F	PL	02cc	Non Tumorale	Méningite
LCS 07	14.03.2018	40ans	F	PEIC	02cc	Tumorale	IND
LCS D	14.03.2018	06mois	M	Per-op	03cc	Non Tumorale	Hydrocéphalie
LCS H	21.03.2018	03mois	M	Per-op	01cc	Non Tumorale	Hydrocéphalie
LCS G	25.03.2018	14ans	M	Per-op	01cc	Non Tumorale	Hydrocéphalie

Annexe

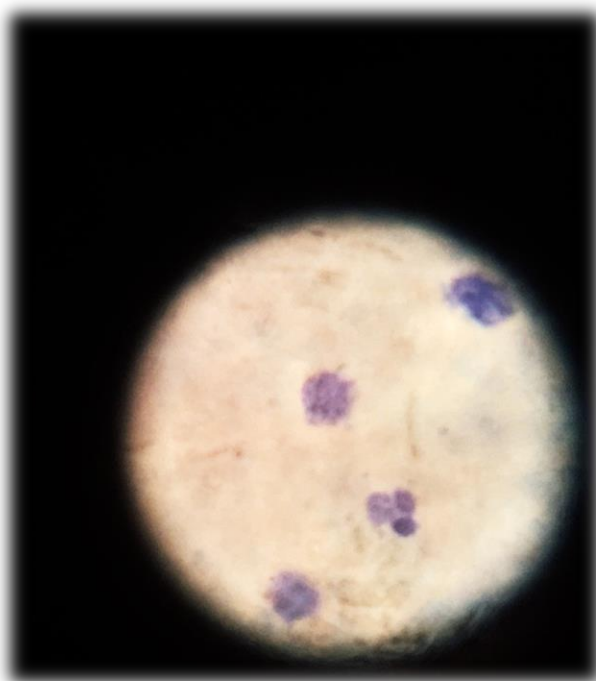
Code	Date	Age	Sexe	Technique de prélèvement	Volume	Nature	Pathologie
LCS 08	26.03.2018	70ans	F	PEIC de la FCP	03cc	Tumorale	IND
LCS I	27.03.2018	06mois	F	DVP	04cc	Non Tumorale	IND
LCS 09	27.03.2018	A	F	PL	03cc	Tumorale	Adénome
LCS J	04.04.2018	03ans	M	Per-op	01cc	Non Tumorale	Hydrocéphalie
LCS K	04.04.2018	31ans	M	Per-op	03cc	Non Tumorale	Anévrysme intracrânien
LCS 10	04.04.2018	30ans	M	PL	01cc	Tumorale	Kyste colloïde
LCS M	05.04.2018	02mois	M	DVP	02cc	Non Tumorale	Spina bifida
LCS N	05.04.2018	52ans	F	PL	10cc	Non Tumorale	IND
LCS 11	09.04.2018	A	F	PEIC	03cc	Tumorale	IND
LCS L	10.04.2018	A	M	PL	02cc	Non Tumorale	Mono neuropathie du membre inférieur
LCS 12	10.04.2018	32ans	F	PEIC	04cc	Tumorale	Neurinome de l'acoustique
LCS O	10.04.2018	03mois	M	PL	02cc	Non Tumorale	Hydrocéphalie
LCS 13	11.04.2018	29ans	F	PEIC	10cc	Tumorale	Kyste arachnoïdien tumoral

Annexe

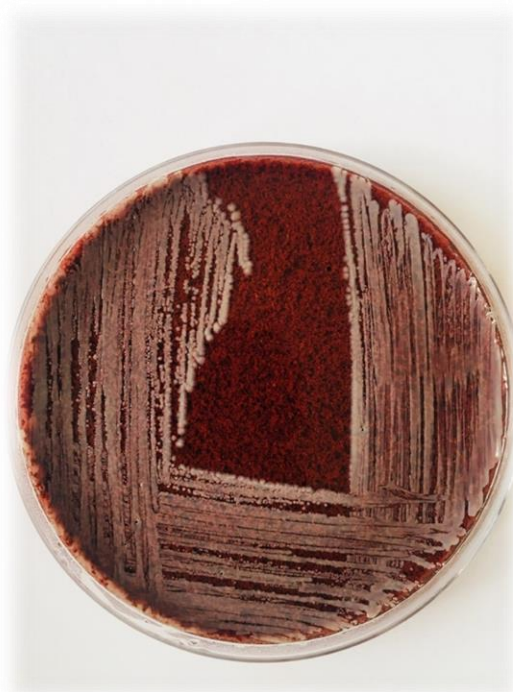
Code	Date	Age	Sexe	Technique de prélèvement	Volume	Nature	Pathologie
LCS P	12.04.2018	15mois	M	DVP	03cc	Non Tumorale	Hydrocéphalie
LCS Q	15.04.2018	17mois	F	PL	03cc	Non Tumorale	Convulsion
LCS R	15.04.2018	19ans	M	PL	02cc	Non Tumorale	IND
LCS 14	18.04.2018	36ans	F	PEIC de la FCP	04cc	Tumorale	IND
LCS T	19.04.2018	04ans	F	Per-op	01cc	Non Tumorale	Méningocel
LCS 15	24.04.2018	25ans	F	PEIC	04cc	Tumorale	Neurinome
LT 01	26.04.2018	03ans	F	PEIC	10cc	Tumorale	Astrocytome
LCS 16	29.04.2018	04ans	F	PL	08cc	Tumorale	
LCS U	29.04.2018	54ans	F	HPN	02cc	Non Tumorale	Hydrocéphalie
LCS V	03.05.2018	05mois	M	PL	02cc	Non Tumorale	Hydrocéphalie
LCS 17	14.05.2018	07ans	M	PEIC de la FCP	01cc	Tumorale	IND

Annexe

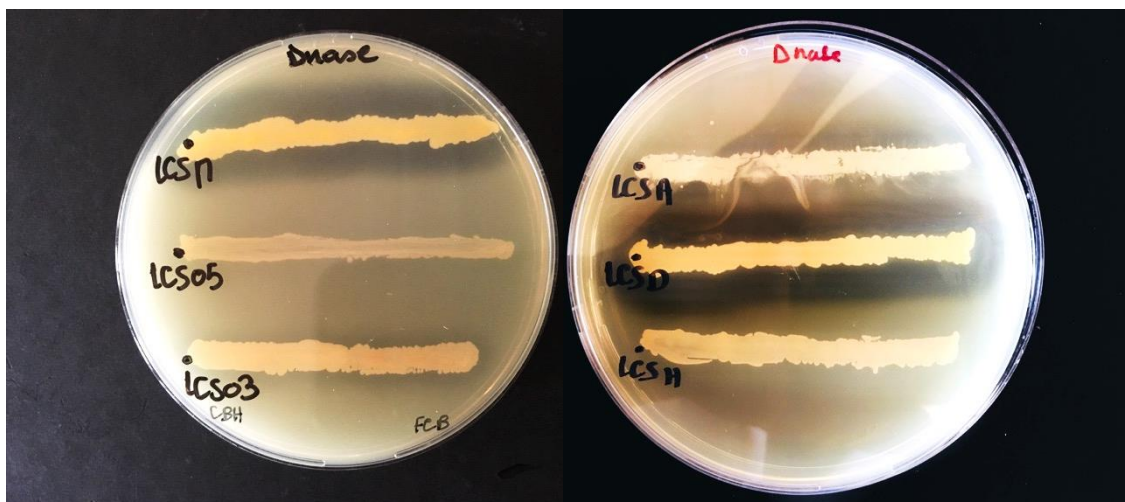
Annexe N°02 Coloration au MGG de PNN saint et PNN altéré. (Photographie originale) ®



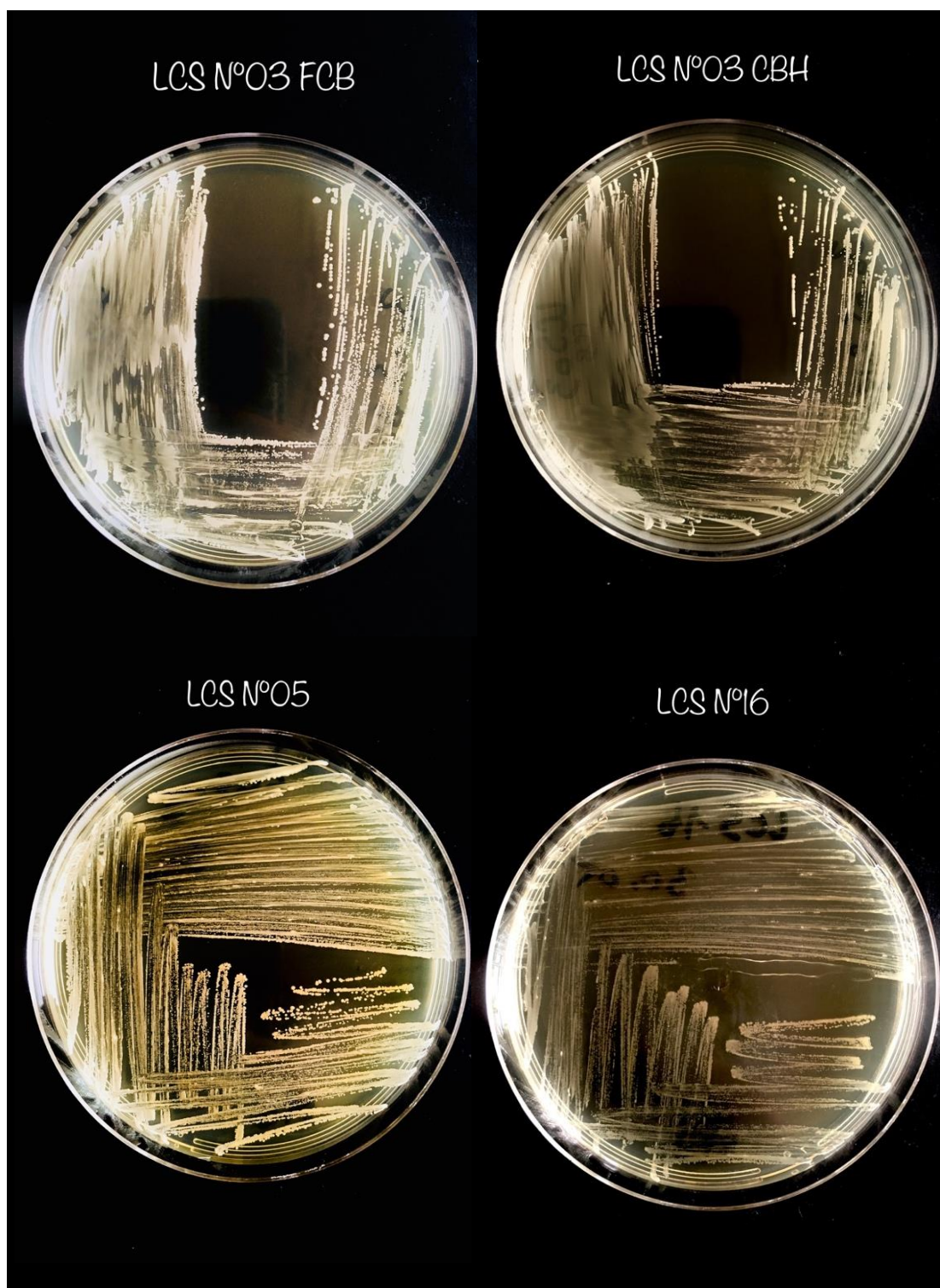
Annexe N°03 Culture bactérienne sur gélose Columbia au sang cuit. (Photographie originale) ®

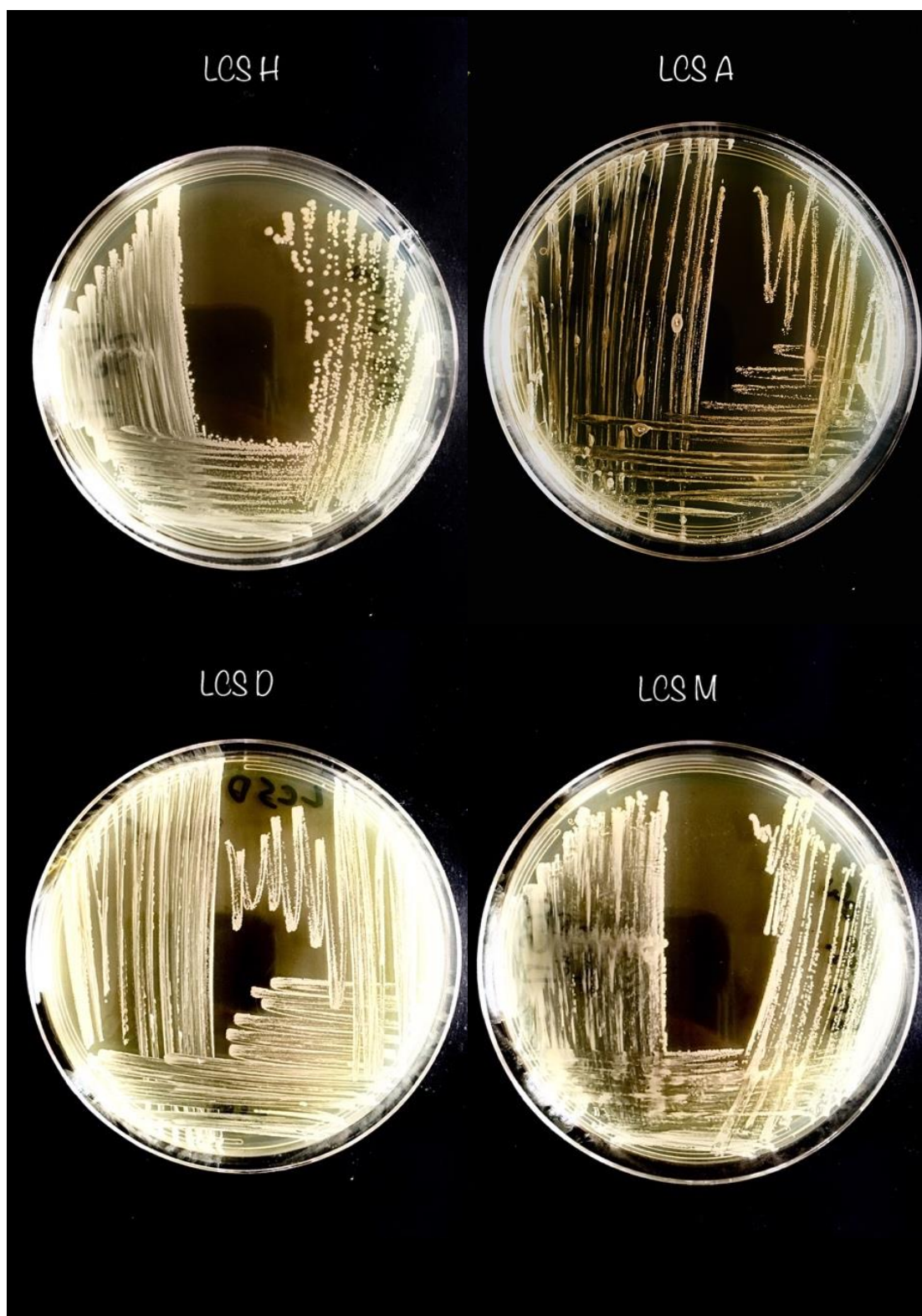


Annexe N°04 Photographie originale illustrant le test de la DNase ®



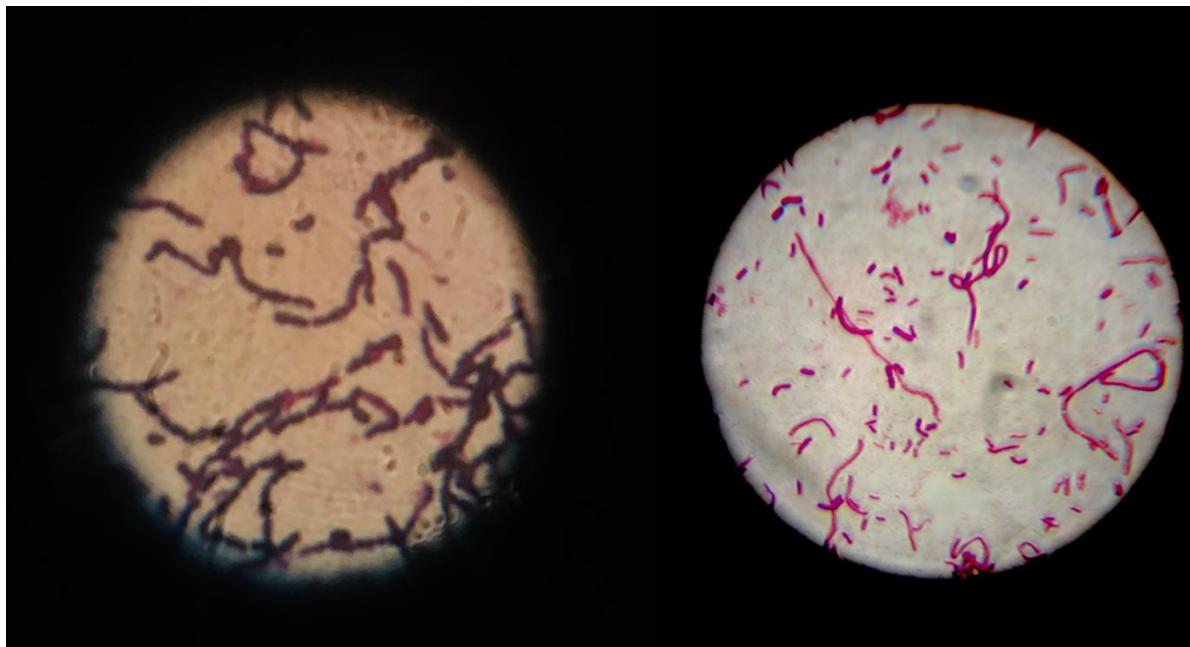
Annexe N°05 Photographies originales des cultures bactériennes obtenues ®







*Annexe N°06 Aspect de la coloration de Gram au microscope optique grossissement 10x100
(Photographies originales) ®*



RÉSUMÉ

Objectif : Notre étude s'intéresse à la présence potentielle de bactéries lors d'une atteinte neurologique notamment les tumeurs cérébrales.

Méthodes : L'analyse cytot bactériologique du Liquide Cérébro-Spinal a été effectuée au niveau du laboratoire central du C.H.U Khelil Amrane de Bejaïa provenant du service de Neurochirurgie, prélevé chez des patients atteints de pathologies neurologiques notamment, des tumeurs cérébrales. Les souches isolées ont été identifiées par des tests préliminaires ainsi que des galeries biochimiques. Leurs profils de résistance ont été établis.

Résultats : Les résultats indiquent que sur 36 échantillons de LCS dont 17 tumorales, 09 cultures ont été positives. Parmi elles, trois étaient de natures tumorales et 06 de pathologies neurologiques différentes. Soixante-dix-sept pourcent (77%) des cultures positives concernaient des Gram positifs.

Conclusion : Cette étude reste une première démarche prospective, observatrice et expérimentale dans le but de mettre en évidence la présence de bactérie dans le LCS tumoral.

Mots-clés : Liquide Cérébro-Spinal- Tumeurs Cérébrales- Bactéries Gram positif- Pathologies neurologiques- Neurochirurgie.

ABSTRACT

Background: Our study was designed to investigate the potential presence of bacteria in cases of neurological damage, including brain tumors.

Method: Cytobacteriological analyses of cerebro-spinal fluid was performed at the central laboratory Khelil Amrane hospital in Bejaia from the neurosurgery department. The samples were collected from patients with neurological diseases including brain tumors. The isolated strains were identified with preliminary tests and biochemical galleries and their resistance profiles have been established.

Results: Results from 36 samples of CSF consisting of 17 tumors, of which 09 cultures were positive. Among them, three of the positive were tumoral in nature and 06 from different neurological pathologies. Seventy-seven percent (77%) of positive cultures were Gram-positive.

Conclusion: This study remains a first prospective, experimental approach to highlight the presence of bacteria in CSF tumors.

Keywords: Cerebrospinal fluid- Brain tumors- Gram-positive bacteria- Neurological diseases- Neurosurgery.