

INTERET ET LIMITE DES TESTS AU LATEX COMME MOYEN DE DIAGNOSTIC DES LIQUIDES BIOLOGIQUES A ABIDJAN

G. AKOUA-KOFFI*, H. FAYE-KETTE ACHI, F. SYLLA-KOKO, A. KACOU-N'DOUBA,
Y.B. ACHO, L. AVOAKA-CISSE, S.A. BOUZID, A.A. KOUASSI, M. DOSSO

RESUME

A partir de 313 prélèvements de L.C.R., urine, sérum et liquide pleural, les auteurs montrent l'apport appréciable de la recherche d'antigènes solubles par agglutination de latex dans le diagnostic étiologique de ces liquides biologiques, particulièrement au cours des méningites, des infections pulmonaires et néonatales.

Cependant, la positivité du test étant liée à la composition des kits disponibles, ce sont *S. pneumoniae* (62,26 %), *H. influenzae b* (25,47 %), *S. agalactiae* (6,60 %) et *N. meningitidis c* (5,66 %) qui sont retrouvés dans des proportions variables d'un liquide biologique à l'autre.

La vulgarisation de cette méthode diagnostique doit être préconisée compte tenu de sa rapidité et de sa spécificité afin de pallier l'insuffisance de la bactériologie classique dans les cas d'infection décapitée.

Mots clés : *Liquides biologiques - latex - antigènes - solubles - méningites bactériennes - pneumopathies - Infections néonatales.*

INTEREST AND LIMITS OF LATEX TESTS AS MEANS OF BIOLOGICAL LIQUIDS DIAGNOSIS IN ABIDJAN

SUMMARY

From 313 samples of cephalo-rachidian liquid, urine, serum and pleural liquid, the authors show how appreciable is the contribution in research of soluble antigens by agglutination of latex in etiologic diagnosis of those biological liquids ; especially during meningitis or pulmonary and neonatal infections.

However, as the test positivity is bound by the available kits compound, so *S. pneumoniae* (62,26 %), *H. influenzae b* (25,47 %), *S. agalactiae* (6,60 %) and *N. meningitidis C.* (5,66 %) were found with variable

percentages from one biological liquid to another.

The popularization of this diagnostic method is to be recommended because of its speed and specificity in order to prevent compensation for classic bacteriology failures in decapited infection cases.

Key-words : *biological liquid - latex - soluble antigens - bacterial meningitis - pneumopathy - neonatal infections.*

INTRODUCTION

L'immunodétection décrite par Vincent et Bellot en 1909 trouve en bactériologie un domaine d'application très important, notamment la recherche d'antigènes bactériens solubles ou extractibles dans les produits pathologiques.

En effet, dans le cas d'infections décapitées, de bactéries non ou difficilement cultivables, le diagnostic bactériologique direct classique (examen direct et culture) devient insuffisant et le sérodiagnostic, tardif et souvent rétrospectif, n'existe que pour un petit nombre d'espèces bactériennes ; le recours aux techniques immunologiques permet de porter un diagnostic fiable, rapide par rapport à la culture qui reste la technique de référence pour l'identification et l'antibiogramme (souche pure).

Des nombreuses techniques développées depuis Ouchterlony, les réactions d'agglutination avec les particules de latex sensibilisées par des immuns-sérums sont les plus utilisées surtout dans les méningites comme l'attestent de nombreux travaux (1, 4, 5, 6, 7).

Dans ce travail, nous rapportons la contribution du test au latex dans le diagnostic étiologique de liquides biologiques qui nous sont adressés.

MATERIEL ET METHODE

A - Matériel

Ce travail porte sur 313 échantillons provenant des trois C.H.U d'Abidjan et adressés au laboratoire de Bactério-

* Laboratoire de Bactériologie-Virologie - Faculté de Médecine - Institut Pasteur de Cocody - 01 BP V 166 Abidjan (Côte d'Ivoire)
Chef de service : Pr M. DOSSO

logie-Virologie de l'Institut Pasteur de Cocody pour la recherche d'antigènes solubles.

Ces prélèvements sont constitués de :

- liquide céphalorachidien (L.C.R.) 100
- urines 100
- sérums 100
- liquide Pleural 13

tirés au hasard d'un ensemble de prélèvements traités de 1987 à 199.

B - Réactifs utilisés

Ce sont des kits commercialisés prêts à l'emploi, Slidex méningite Kit (Biomérieux) et Pastorex meningitidis (Diagnostics Pasteur) qui permettent la détection d'antigènes polysaccharidiques de six espèces bactériennes.

Les particules de latex sont sensibilisées par des immunosérums spécifiques :

- anti-*S pneumoniae* détectant les 83 sérotypes pneumococciques connus (seuil de sensibilité de détection = 100 ng/ml),
- anti-*H influenzae b* (seuil de détection = 25 ng/ml),
- anti-*N meningitidis* groupe A (seuil de détection = 50 ng/ml),
- anti-*N meningitidis* groupe C (seuil de détection = 50 ng/ml),
- anti-*N meningitidis* groupe B (seuil de détection = 25 ng/ml),
- anti-*S agalactiae* (seuil de détection = 25 ng/ml).

C - Méthodologie

1.- Examen cyto bactériologique

Il a été effectué selon les méthodes classiques : état frais, coloration de Gram, culture.

2.- Recherche d'antigènes solubles

Par une réaction d'agglutination sur plaque (papier ou verre) en mélangeant une goutte de chacun des réactifs avec une goutte de surnageant de l'échantillon traité suivant le protocole fourni par le fabricant du réactif.

Le test est positif s'il apparaît en moins de 3 mn une agglutination visible à l'œil nu.

RESULTATS ET COMMENTAIRES

1 - Répartition des antigènes solubles positifs et négatifs

1.1 - Selon le service

	AgS +	AgS-
Pédiatrie	92 (87,62 %)	159
Néonatalogie	8	10
Maladies infectieuses	1	16
Neuro-chirurgie	0	4
Autres*	4	19

(Autres : Gynécologie, Médecine, Réanimation... non déterminés).

La positivité du latex est liée au service ($P < 0,05$).

Il existe cependant un biais lié à la grande demande d'analyses effectuée par le service de Pédiatrie.

1.2 - Selon l'âge des malades

	AgS+	AgS-
< J30	8	10
J31- 15 ans	92	165
> 15 ans	5	3

Les différences observées sont significatives ($P < 0,05$).

La positivité des AgS est liée à la tranche d'âge.

La tranche d'âge de J31 -15 ans donne plus de résultats positifs que les autres mais cette positivité est liée au biais introduit par le recrutement pédiatrique qui demande le plus cette analyse.

1.3.- Selon le diagnostic clinique soupçonné ou posé

	AgS+	AgS-
Méningite (M)	21	35
Septicémie (S)	1	4
Infections pulmonaires (I.P.)	61	97
Infections néonatales (I.N.N.)	8	10
Autres causes (A.C.)	14	62

Les autres causes sont représentées par les catégories diagnostiques suivantes :

	AgS+	AgS-
Hyperthermie (n = 22)	7	15
Chorio-amnionite (n = 8)	1	7
Suppuration (n = 6)	2	4
Bilan (n = 6)	0	6
Hydrocéphalie (n = 7)	0	7
Convulsions (n = 8)	0	8
Coma (n = 4)	1	3
Polysérite (n = 1)	0	1
Myosite (n = 1)	0	1
Syndrome pyramidal	0	1
Hématurie (n = 1)	1	0
Non déterminée (n = 11)	2	9

La positivité des antigènes est liée au diagnostic clinique ($p < 0,05$). Les méningites, les infections pulmonaires et les infections néonatales donnent des réactions positives compte tenu de la composition des kits qui ciblent les bactéries des méningites parmi lesquelles *S. pneumoniae* et *H. influenzae b* fréquemment retrouvés dans les infections pulmonaires (2, 3). Les autres causes de demandes n'occasionnent pas de latex positif du fait de la diversité des diagnostics.

I.4.- Selon le prélèvement

	AgS+	AgS-
L.C.R.	21	79
Sérum	22	78
Urines	56	44
Liquide pleural	6	7

Selon le prélèvement, les urines (dans les infections pulmonaires) et le L.C.R (dans les méningites) donnent de meilleurs résultats.

Le taux de positivité des L.C.R est relativement diminué par le contrôle post thérapeutique. Nous avons obtenu 16 négatifs sur 18 L.C.R. de contrôle.

Dans le cas spécifique des contrôles, le test au latex se révèle une méthode utile car rapide et permet d'éviter les ponctions de contrôles lombaires et pleurales par la détection des Ag solubles dans les urines et le sérum.

Les 21 % de L.C.R positifs sont loin des grandes séries de

DENIS et M'BOUP qui trouvent respectivement 83,93 % et 85,6 % de positivité au latex à Dakar (4, 5).

II- REPARTITION DES BACTERIES TROUVEES PAR LE LATEX

II.1. En fonction du diagnostic clinique posé

Tableau n°1 : Répartition des antigènes en fonction du diagnostic clinique

	M	S	I.P	I.N.N	A.C
H. influenzae b (H.I.B.)	10	0	17	1	0
S. Pneumoniae (S.P.)	8	1	40	3	13
S. agalactiae (S.B.)	1	0	1	4	1
N. meningitidis c (N.M.C.)	2	0	4	0	0

La répartition des bactéries trouvées par le latex en fonction du diagnostic donne une nette prédominance des *H. influenzae b* dans les méningites (47,61 %) et de *S. pneumoniae* dans les infections pulmonaires (64,51 %).

Nos chiffres sont inférieurs à ceux de la littérature, notamment ceux de Denis : *H. influenzae* 92,8 %, *S. pneumoniae* 82 % et *N. meningitidis* 77 % dans les méningites (4) et M'BOUP 85,6 % d'antigènes pneumococciques (5) confirmant la place de *S. pneumoniae* et *H. influenzae* dans nos régions.

- On note l'absence des sérogroupes A et B de *N meningitidis* mais on ne peut conclure compte tenu de la taille de l'échantillon et du biais introduit par le recrutement (Maladies infectieuses, 17 prélèvements seulement).

- La présence de *S. pneumoniae* en néonatalogie pose problème. Il pourrait s'agir de souillure des prélèvements.

II.2.- En fonction du liquide biologique

Tableau n° 2: Répartition des antigènes en fonction du prélèvement

	L.C.R	Sérum	Urine	Liquide pleural
H. influenzae b (H.I.B.)	10	11	4	2
S. pneumoniae (S.P.)	8	9	44	2
S. agalactiae (S.B.)	1	0	6	0
N. meningitidis c (N.M.C.)	2	2	2	0

- Les urines sont performantes avec les Ag pneumococques et de Streptococcus du groupe B.

- *H. influenzae* prédomine dans le L.C.R et le sérum.

La répartition des différentes bactéries dans les produits biologiques montre la même répartition que dans les différentes pathologies.

- *H. influenzae* est fréquente dans le L.C.R. (47,61 %), compte tenu de sa fréquence élevée dans les méningites, première étiologie des méningites du nourrisson d'après SYLLA avec 82,99 % de cas de méningites à *H. influenzae b* (7). Le portage pharyngé suivi de la bactériémie peuvent expliquer la fréquence élevée des antigènes *Hæmophilus b* sériques.

- *S. pneumoniae* et Streptococcus B sont retrouvées avec une fréquence élevée (78,57 % et 10,71 %) dans les urines. Est-ce une meilleure filtration glomérulaire d'antigènes streptococciques ?

- La présence de Streptococcus B dans les urines de nouveaux-né témoigne d'une infection néonatale précoce à cette bactérie et nous avons obtenu 50 % de positifs dans les infections néonatales.

II.3 - En fonction du service

Tableau n° 3 : Répartition des antigènes par rapport au service

	H.I.B.	S.P.	S.B.	N.M.C.
Pédiatrie	27	59	1	6
Néonatalogie	1	3	4	0
Maladies Infectieuses	0	1	0	0
Neurochirurgie	0	0	0	0
Autres	0	2	2	0

On note une nette prédominance de *S. pneumoniae* (89,39 %) et de *H. influenzae b* (96,42 %) en Pédiatrie confirmant la place de ces bactéries dans les infections du nourrisson malgré le biais du recrutement.

Le nombre très faible de prélèvement des Maladies Infectieuses ne nous permet pas d'apprécier réellement ces chiffres.

III - ANTIGENES SOLUBLES ET ASPECTS CYTOBACTERIOLOGIQUES

L'examen cyto bactériologique a été effectué pour 213 échantillons sur 313.

III.1 - Antigènes solubles et cytologique (polynucléaires)

	AgS+	AgS-
Polynucléaires +	32	33
Polynucléaires-	10	68
Polynucléaires non déterminés (nd)	41	29

La positivité des Ag solubles peut être corrélée à la présence des polynucléaires ($p < 0,05$). Mais l'absence de polynucléaires ne signifie pas absence d'antigènes.

III.2 - Antigènes solubles et coloration de Gram

	AgS +	AgS-
Présence bactéries	14	12
Absence bactéries	22	89
Gram non fait	47	29

Les bactéries retrouvées au Gram sont des bacilles Gram négatif et des cocci Gram positif.

Les différences observées sont significatives ($p < 0,05$). Dans le cas des 22 Ag+ sans présence de germes au Gram nous pensons qu'il pourrait s'agir d'infection décapitée par un traitement antérieur.

III.3 - Antigènes solubles et culture

	AgS+	AgS-
Culture+	7	8
Culture-	29	94
Culture non faite	47	28

Sept cultures positives et 29 cultures négatives donnent 1 latex positif.

III.4 - Concordance latex et culture

Tableau n° 4 : Etude de la concordance latex-culture

	Culture+ N = 15	Culture- N = 123
Latex + (n = 36)	7	29
Latex n = 102	8	94

Le latex est plus sensible que la culture car il permet de corriger 29 diagnostics négatifs à la culture ($p < 0,05$).

On remarque une bonne corrélation entre la présence de polynucléaires et la positivité de l'antigène soluble ($p < 0,05$) mais l'absence de polynucléaires tout comme l'absence de bactéries à la coloration de gram ne signifie pas que la recherche d'antigènes solubles sera négative.

10 prélèvements sans signes d'infection (polynucléaires) et 22 prélèvements (absence de bactéries au gram) ont donné une recherche d'Ag(+). S'agit-il d'infections décapitées ou infection au début ?

IV - COMPARAISON LATEX-CULTURE SELON LE LIQUIDE BIOLOGIQUE

**Tableau n° 5: Résultats comparatifs
latex-culture selon le liquide biologique**

	Diagnostic	Nb	Culture+	Latex+
L.C.R.	Méningite	56	5 (5,38 %)	21 (37,5 %)
Urines	Infections pulmonaires	61	1 (1,63 %)	35 (57,38 %)
	Infections néonatales	8	2 (25 %)	7 (87,5 %)
Liquide pleural	Pleurésie	13	2 (15,38 %)	6 (46,15 %)
Sérum	Infections pulmonaires	87	Non fait	21

Les résultats du latex sont supérieurs à ceux de la culture, notamment pour le L.C.R., les urines et les liquides pleuraux.

Nos résultats bactériologiques (10,87 %) sont très inférieurs à ceux de la littérature qui varient de 63,8 à 100 % (6).

V - COMPARAISON LATEX-CULTURE SELON L'ESPECE BACTERIENNE

**Tableau n° 6 : Résultats comparatifs latex-culture
en fonction de l'espèce bactérienne**

Diagnostic	Germe	Culture+	Latex +
Méningites	H. influenzae b	1	10
	S. pneumoniae	2	8
	N. meningitidis C	0	2
	S. agalactiae	0	1
	C. neoformans	1	0
	S. aureus	1	0
Infections Pulmonaires	S. pneumoniae	1	40
	H. influenzae b	1	17
	N. meningitidis C	0	4
	S. agalactiae	0	1
	Streptococcus non A, B, C, D, F, G	2	0
Infections néonatales	S. agalactiae	0	4
	S. pneumoniae	0	3
	H. influenzae	0	1
	K pneumoniae	1	0
Autres	K. pneumoniae	2	0
	K. oxytoca	1	0
	S. aureus	1	0
	S. mutans	1	0

Selon l'espèce bactérienne, les bactéries du kit sont rarement obtenues en cultures. Cela peut être lié à la fragilité de ces bactéries et au délai d'arrivée des prélèvements au laboratoire souvent retardé ou à l'utilisation abusive de l'antibiothérapie. D'où l'intérêt de la recherche des antigènes solubles dans les prélèvements.

Mais cette recherche d'antigènes solubles est limitée pour les autres prélèvements où le test au latex a été pris à défaut compte tenu de la non existence de kits commercialisés pour les antigènes des autres bactéries isolées en cultures.

Actuellement, la sensibilité du réactif, sa spécificité, son coût (par rapport à sa fiabilité et à sa rapidité) ne sont plus des facteurs limitant l'utilisation du test au Latex. La limite majeure est constituée par le nombre restreint de bactéries contenues dans les kits disponibles pour répondre efficacement aux sollicitations des cliniciens pour des pathologies infectieuses aussi spécifiques que variées.

CONCLUSION

Les tests au latex appliqués aux liquides biologiques, en particulier le L.C.R., le sérum, l'urine et le liquide pleural permettent de porter un diagnostic étiologique rapide et de suivre les malades quant à l'efficacité thérapeutique. L'apport de cette méthode d'immuno-détection pour le dia-

gnostic des méningites bactériennes, des infections pulmonaires et néonatales est indéniable.

Malgré le nombre restreint de germes diagnostiqués, la prescription de cette analyse rapide, très utile doit être vulgarisée notamment dans les zones d'endémie méningitique. Elle peut être réalisée même au niveau des bases de secteur et contribuer aux soins de santé primaires.

BIBLIOGRAPHIE

- 1- DE LUMLEY L., DENIS F., BOULESTEIX J., BOUQUIER J.J., BONIFACE C.
Evaluation de la recherche des antigènes solubles dans le liquide céphalo-rachidien de 31 cas de méningites purulentes de l'enfant
Arch. Fr. Pédiatr., 1985 ; 42 : 5214.
- 2 - DENIS F.
Techniques de diagnostic en pathologie infectieuse : recherche des antigènes solubles bactériens directement dans les produits pathologiques. Technique, résultats, limites et perspectives.
Ann. Biol. Clin., 1985, 43 : 397-406.
- 3 - DENIS F., MONNIER M., LAVAUD A.
Diagnostic bactériologique rapide par mise en évidence d'antigènes bactériens directement dans les produits pathologiques.
Feuillets de Biologie, 1986-Vol. XXVI- n°147.
- 4 - DENIS F., SOULNIER M., CADOZ M., ROGER D'ALBERT Y., CHIRON J.P., MBOUP S., PRINCE-DAVID M., DIOP MAR I.
Diagnostic étiologique rapide des méningites purulentes grâce à des Kit-méningites au latex. Résultats comparatifs avec les techniques classiques

- portant sur plus de 1 300 méningites purulentes.
Médéc. et Mal. Infect. : 1981,11,11 bis : 617-621.
- 5 - MBOUP M., DENIS F., PRINCE-DAVID M., SAULNIER M., TERROT C., CHIRON J.P., CADOZ M., DIOP MAR I.
Diagnostic rapide des méningites à Pneumocoque. Etude comparative d'un test au latex, de la contre-immunoelectrophorèse et de la bactériologie classique.
Rev. Inst. Past. de Lyon, 1982, t. 15, n° 3: 349-352.
 - 6 - RIVERDY M.E., LE FRANCAIS N., MOULIN A., PLOTON C. et FLEURETTE J
Diagnostic rapide des méningites bactériennes par réaction d'agglutination de particules de latex sensibilisées.
Lyon Med. 1983, 250, 13, 7-11.
 - 7.- SYLLA-KOKO F., FAYE-KETTE ACHI Y.H., KACOU A.,TIMITE-KONAN A.M. BA P., AISSI H., BANGO-KOUASSI E.et DOSSO M.
Hæmophilus influenzae : sérotypes biotypes et antibiotypes des souches isolées à Abidjan.
Soc. Med. Côte d'Ivoire, Séance d'Avril 1989, Abidjan.