

**REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE  
MINISTRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA  
RECHERCHE SCIENTIFIQUE  
UNIVERSITE SAAD DAHLEB BLIDA 1  
FACULTE DES SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE  
DEPARTEMENT DE BIOLOGIE ET PHYSIOLOGIE CELLULAIRE**



**MEMOIRE DE FIN D'ETUDE**

**PRESENTE POUR L'OBTENTION DU DIPLOME DE MASTER EN  
SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE  
Option : Biologie Moléculaire et cellulaire**

**Réalisé au laboratoire de microbiologie**

**Par**

**LARFI IKRAM & BOUCHIREB KHAOULA**

**Master domicilié au Laboratoire de Biotechnologie, Environnement et Santé, Blida**

**THEME**

**Etiologies des méningites et des méningo-encéphalites  
communautaires: Apport de la PCR multiplex**

Soutenu le 10/07/2019

Devant le jury composé de :

<b>M<sup>me</sup> AISSANI-EL FERTAS R.</b>	<b>MCB, USDB</b>	<b>Présidente</b>
<b>M<sup>me</sup> MOKRANE A.</b>	<b>MAB, USDB</b>	<b>Examinatrice</b>
<b>M<sup>me</sup> MEKLAT A.</b>	<b>MCA, USDB</b>	<b>Promotrice</b>
<b>M<sup>me</sup> BENSERSA D.</b>	<b>MA, Hôpital central de l'armée</b>	<b>Co-promotrice</b>

**Promotion 2018/2019**

*D'abord nous remercions **DIEU** le tout puissant de nous avoir donné le courage et la volonté afin qu'on puisse réaliser ce travail, ainsi que pour dépasser toutes les difficultés.*

*Nos remerciements s'adressent également à notre promotrice **Madame MEKLAT Atika** Maître de conférences A (USDB) pour avoir accepté de diriger ce travail, pour son expérience et ses conseils tout au long de ce travail.*

*Nous voudrions exprimer nos remerciements ainsi que notre profonde gratitude à notre co-promotrice Madame **BENSERESA Doria** qui a permis la mise en œuvre de ce projet et a accepté de diriger et de suivre ce travail. Son soutien, sa disponibilité, sa patience, sa clairvoyance, et ces compétences nous ont été d'une aide inestimable.*

*Nous tenons aussi à remercier les membres de jury, pour l'honneur qu'ils nous ont fait d'avoir acceptés de lire et de juger ce travail*

*Nos remerciements vont, plus particulièrement à **M<sup>me</sup> LOUNASI.L** Maître Assistante B (USDB), et aussi à **M<sup>me</sup> AISSANI EL-FERTAS.R** Maître conférences B (USDB), d'avoir accepté d'examiner ce travail. Nous sommes infiniment sensibles à l'honneur que vous nous faites en acceptant de siéger parmi notre jury de mémoire. Vous avez en permanence suscité notre admiration par votre ardeur et votre amour à exercer votre profession. Veuillez trouver ici, chère Maître, le témoignage de notre haute considération, de notre profonde reconnaissance et de notre sincère respect.*

*C'est pour nous un réel plaisir de remercier toutes les personnes qui nous ont, de près ou de loin, d'une manière ou d'une autre, permis, par leur collaboration, leur soutien et leur avis judicieux, de mener à bien ce travail.*

*Je dédie ce travail*

- *A mes très cher et respectueux parents.*
- *A ma chère sœur.*
- *A mon petit frère.*
- *A mon cher oncle.*
- *A toute mes amies.*

*IKRAM*

*Je dédie ce travail*

- *A mes chers parents.*
- *A mes sœurs.*
- *A mon frère.*
- *A toute mes amies.*

*KHAWLA*

Les méningites et les méningo-encéphalites restent des infections au pronostic redoutable (mortalité et séquelles) constituant une urgence diagnostic et thérapeutique d'où l'intérêt de l'instauration des techniques de biologie moléculaire dont la PCR.

Le but de notre étude est d'identifier les principales étiologies des méningites et des méningo-encéphalites communautaires, ainsi que d'évaluer la performance de la PCR multiplex comparativement aux méthodes classiques (la culture).

Il s'agit d'une étude rétro-prospective sur une période allant du 29 Novembre 2016 au 1 juin 2019, réalisée au niveau du service de microbiologie de l'hôpital central de l'armée, portant sur 119 LCR sélectionnés pour PCR sur la base de perturbation du bilan biochimique et /ou la cellulorachie et analysés conjointement par les méthodes classiques et la PCR multiplex en temps réel « FilmArray méningite/encéphalite panel ».

Les résultats ont montré une meilleure performance de la PCR multiplex avec 51 LCR revenus positifs (31 méningites virales, 17 méningites bactériennes et 3 coinfections) par rapport aux méthodes classiques, dont 5 LCR seulement étaient positifs par culture. La PCR a permis d'identifier 5 virus et 5 bactéries différentes, l'entérovirus représente la 1<sup>ère</sup> étiologie virale (20/31) suivi par l'HHV6 (6/31), alors que la 1<sup>ère</sup> étiologie bactérienne est le *S.pneumoniae* (8/17). L'apport a bien été démontré; en effet la sensibilité de cette technique a permis d'améliorer le taux de diagnostic de 4% à 43%.

Notre étude met en évidence une sensibilité et une spécificité satisfaisante pour la majorité des pathogènes inclus dans le **Film Array Méningite/Encéphalite Panel**. L'intégration de ce test moléculaire simple et rapide peut améliorer le diagnostic des méningites et des méningo-encéphalites communautaires et optimiser la prescription des traitements anti-infectieux.

**Mots clés:** Méningite, Méningo-encéphalite, PCR multiplex (FilmArray ME panel).

---





Meningitis and meningoencephalitis remain a dangerous prognosis (mortality and sequels) infection which is an urgent diagnostic and therapeutic necessity and thus the importance of the introduction of molecular biology techniques including PCR.

The purpose of our study is to identify the main etiologies of community meningitis and encephalitis and to evaluate the performance of multiplex PCR compared to conventional methods (culture).

This is a retro-prospective study covering a period from 29 november 2016 to 1 jun 2019 carried out at the laboratory of microbiology of the Central Army Hospital covering 119 CSF selected for PCR based on biochemical and /or cellulosachia balance distribution and analysed by the classical and real time multiplex PCR methods « FilmArray Meningitis/Encephalitis Panel ».

Results showed a better performance of multiplex PCR with 51 positive CSFs (31 viral meningitis, 17 bacterial meningitis and 3 cofections) than conventional methods, of which only 5 RCLs were positive per culture. PCR has identified 5 different viruses and 5 different bacteria, enterovirus is the first viral etiology (20/31) followed by HHV6 (6/31), while the first bacterial etiology is *S.pneumoniae* (8/17). The contribution was well demonstrated; the sensitivity of this technique has improved the diagnostic rate from 4% to 43%.

Our study shows a satisfactory sensitivity and specificity for the majority of pathogens included in FMPEP. Integration of this simple and rapid molecular test can improve diagnosis of meningitis and community meningoencephalitis and optimize prescribing of anti-infectious treatments

**Keywords :** Meningitis, Meningo-encephalitis, Multiplex PCR(FilmArray Meningitis/Encephalitis panel).

---

رغم التقدم الحاصل في التشخيص و العلاج، تظل التهابات السحايا و التهابات الدماغ المكتسبة داخل المجتمع مصدرا لنسبة كبيرة من العواقب و الوفيات . لذلك يتطلب اللجوء للعلاج و التشخيص السريع بتطبيق كل التقنيات البيولوجية الجزيئية (التفاعل البوليميراز المتسلسل). إن الهدف من دراستنا هو وصف الخصائص الوبائية، السريرية، البيولوجية، العلاجية و التطورية لالتهاب السحايا و التهاب الدماغ المكتسب داخل المجتمع ، و تقييم أداء تقنية التفاعل البوليميراز المتسلسل مقارنة بالطرق التقليدية (الزرع) ، من أجل تحديد مختلف العوامل المسببة للالتهاب و للمتكمين من تحسين التكفل بهذا المرض. قمنا بإجراء دراسة الرجعية و الحديثة لحالات التهاب السحايا و التهاب الدماغ المكتسب داخل المجتمع التي تضم 119 عينة من السائل الدماغي الشوكي مختارة على أساس اختلال في التحليل البيوكيميائي أو عدد الكريات البيضاء و باستعمال تقنية التفاعل البوليميراز المتسلسل على مستوى قسم علم الأحياء المجهرية بالمستشفى العسكري خلال الفترة الممتدة من 29 نوفمبر 2016 إلى غاية 1 جوان 2019 . شملت هذه الدراسة 51 حالة ايجابية ( 31 التهاب السحايا الفيروسي ، 17 التهاب السحايا الجرثومي و 3 قطع مشتركة) مقارنة مع الطرق التقليدية التي أظهرت 5 حالات ايجابية فقط . تم تحديد أيضا 5 فيروسات و 5 بكتيريا مختلفة و يعتبر الفيروس المعوي أول مسببات للعدوى (20/31) يتبعه فيروس الهربس البشري (6/31) في حين أن المسببات البكتيرية الأولى هي العقديّة الرئوية (17/18) و هذا ما بين لنا مدى فعالية هذه التقنية مكنت من التحسين معدل التشخيص من 4 بالمائة إلى 43 بالمائة . من خلال دراستنا توصلنا إلى مدى خصوصية و فعالية هذه التقنية ، يمكن أن نصنف هذا الاختبار الجزيئي البسيط و السريع إلى تحسين التشخيص التهاب السحايا و التهاب الدماغ في المجتمع و تحسين وصفة العلاجات المضادة للعدوى.

كلمات البحث : التفاعل البوليميراز المتسلسل، التهاب السحايا ، التهاب الدماغ

- Agut H, Bonnafous P, Gautheret-Dejean A.** 2015. Laboratory and clinical aspects of human herpesvirus 6 infections. *Clinical Microbiology*.28:313–335.
- Astruc D.**2010. Méningites purulentes du nourrisson et de l'enfant. *Thèse*.99p.
- Arduino PG et Porter SR.**2008. Infection par le virus de l'herpès simplex de type 1: aperçu des caractéristiques clinico-pathologiques pertinentes. *NCBI*.37(2):107-21.
- Bauman R.Wet al.**,2011. Microbiology with diseases by body system. eds 3. Pearson, USA p-928.
- Bijlsma M.W, BrouwerM.C, KasanmoentalibE.S, Kloek A.N, LucasM.J, Tanck M.W et al.**,2016. Community-acquired bacterial meningitis in adults in the Netherlands, 2006–14: a prospective cohort study. *Articles*.16,339-347.
- Bergallo M, Costa C, Margio S, Sidoti F, Terlizzi M.E and Cavallo R.** 2007. Development of a multiplex polymerase chain reaction for detection and typing of major human herpesviruses in cerebrospinal fluid. *Canadian Journal of Microbiology*. 53:1117-1122.
- Bidet P, Mariani-Kurkdjiana P and Bonacorsia S.** 2014. Méningites néonatales. *Francophones des laboratoires*. 470:55-63.
- Brouwer MC, Tunkel AR and van de Beek D.** 2010 . Épidémiologie, diagnostic et traitement antimicrobien de la méningite bactérienne aiguë . *Clinical Microbiology Reviews*. 23:467-492.
- Chavanet P, Schaller C, Levy C, Flores-Cordero J, Arens M, Piroth L, Bingen E and Portier H.** 2007. Performance of a predictive rule to distinguish bacterial and viral meningitis. *Infection*. 54(4):328-336.
- Cherian A and Thomas SV.**2011. Central nervous system tuberculosis. *NCBI*. 11(1): 116–127.
- Chevallier S, Monti M, Michel P and Vollenweider P.**2008.Ponction lombaire. *Med Suisse*. 23 (4): 12-8.
- Cherry J, Krogstad P.**2011. Enterovirus and Parechovirus infections. eds 7. Elsevier Saunders, Philadelphia,756- 799.
- Chiba N, Murayama S.Y, Morozumi M, Nakayama E, Okada T, Iwata S, Sunakawa K and Ubukata K.** 2009. Rapid detection of eight causative pathogens for the diagnosis of bacterial meningitis by real-time PCR. *Infection and chemotherapy*. 15:92–98.
- Cinque P, Bossolasco S and Lundkvist A.**2003. Molecular analysis of cerebrospinal fluid in viral diseases of the central nervous system. *ClinicalVirology*. 26,1-28.
- Duval X, Mourvillier B and Hoen B.** 2015. Méningites bactériennes communautaires de l'adulte à l'exception des méningites tuberculeuses. *Maladies infectieuses*.12(1):1-9.
- Dzupova O, Rozsypal H, Prochazka B, Benes J.** 2009. Acute bacterial meningitis in adults: predictors of outcome. *Scand Infectious Diseases*. 41:348–54.

- Delneste Y, Beauvillain C and Jeannin P.**2007. Innate immunity: structure and function of TLRs.*Medicine/ Science.*23(1):67-74.
- Elnifro E.M, Ashshi M.A, Cooper J.R and Klapper P.E.** 2000. Multiplex PCR: optimization and application in diagnostic virology. *Clinical microbiology.*13(4): 559–570.
- Fitch M and Van de Beek D.** 2007. Emergency diagnosis and treatment of adult meningitis. *Lancet Infectious Diseases.* 7:191–200.
- Garibyan L and Avashia N.**2013. Research Techniques Made Simple: Polymerase Chain Reaction (PCR). *NCBI.* 133(3): e6.
- Hanson K. E, Slechta E.S, Killpack J.A, Heyrend C, Lunt T, Daly J. A et al.,**2016. Preclinical assessment of a fully automated multiplex PCR panel for detection of central nervous system pathogens. *Clinical Microbiology.*54(3):785-787.
- Heyderman R.S, Lambert HP, O'Sullivan I, Stuart JM, Taylor BL and Wall RA.** 2003. Early management of suspected bacterial meningitis and meningococcal septicaemia in adults.*NCBI.* 46(2):75-7.
- Hoën B.** 2009. Diagnostic différentiel entre méningite bactérienne et méningite virale :apport des examens non microbiologiques.*Médecine et maladies infectieuses.* 39,468–472.
- Huet O, Choukroun G and Mira J.P.**2004. Toll like receptor, inflammatory response and sepsis.*Réanimation.*13,167-175.
- Idir zakia.**2012. Les méningites lymphocytaires chez l'enfant (à propos de 53 cas).*Thèse.*31,105p.
- Kimberlin D.W.** 2004. Neonatal Herpes Simplex infection. *Clinical Microbiology.*17(1):1-13.
- Koyuncu O, Hogue IB, Enquist LW.** 2013. Virus Infections in the nervous system. *NCBI.*13(4):379–393.
- Klossek J.M.**2009. Recherche et prise en charge de la porte d'entrée ORL des méningites aiguës bactériennes communautaires. *Médecine et maladies infectieuses.*39,554-559.
- Leclercq A, Charlier-Woerther C, Kayal S.**2017.*Listeria.* *Biologie médicale.*12(4):1-11.
- Leber A.L, Everhart K, Balada-Llasat J, Cullison J, Daly J, Holt S et al.**2016. Multicenter Evaluation of BioFire FilmArray Meningitis/Encephalitis Panel for Detection of Bacteria, Viruses, and Yeast in Cerebrospinal Fluid Specimens.*Clinical Microbiology.*54(9):2251-2261.*NCBI.*22,491-497.
- Levy M, Hentgena V, Marque-Juilletb S, Fiota E, Fagherazzic G, Nathansona S et al.**2015. Manifestations neurologiques associées à la varicelle : apport de l'amplification génique dans le liquide céphalo-rachidien.
- Logan S and Mac Mahon.** 2008. Viral meningitis. *NCBI.* 336,36-40.

- Lagae E et al.**,2016. Infections néonatale précoce à Entérovirus : quand faut-il y penser ?. *Med Liège*. 71(2):78-82.
- Mackay I.M, Arden K.E and Nitsche A.** 2002. Real-time PCR in virology. *NCBI*. 30(6):1292–1305.
- Maiden MC, Ibarz-Pavón AB, Urwin R, Gray SJ, Andrews NJ, Clarke SC et al.** 2008. Impact of meningococcal serogroup C conjugate vaccines on carriage and herd immunity. *NCBI*.197(5):737–743.
- Mariani-Kurkdjian P, Bonacorsi S and Bingen E.** 2016. Diagnostic bactériologique et suivi biologique des méningites bactériennes. *Bactériologie médicale*. Chapitre 14.p141-147.
- Marjolein J. L, Matthijs C. B and Diederik van de Beek.**2016. Neurological sequelae of bacterial meningitis. *NCBI*. 73,18-27.
- Mailles A, Stahl JP, Steering Committee and Investigators Group.**2009. Infectiousencephalitis in France in 2007: a national prospective study. *Clinical Infectious Diseases*.49,1838-1847.
- McGill F, Griffiths M.J and Solomon T.**2017. Viral meningitis: current issues in diagnosis and treatment. *Infectious Diseases*. 30(2):1-9.
- Monpoeho S, Dehée A, Mignotte B, Schwartzbrod L, Marechal V, Nicolas J.C et al.**.2000. Quantification de l'ARN d'entérovirus dans des échantillons de boues en utilisant la RT-PCR en temps réel à un seul tube. *NCBI*. 29 (1): 88-93.
- Nolan T, Hands RE and Bustin SA.** 2006. Quantification of mRNA using real-time RT-PCR. *NCBI*. 1(3):1559-82.
- Nigrovic LE, Malley R ,Macias CG, Kanegaye JT, Moro-Sutherland D.M, Schremmer R.D et al.**.2008. Effet du prétraitement aux antibiotiques sur les profils de liquide céphalorachidien des enfants atteints de méningite bactérienne. *Pédiatrie*. 122:726-730.
- Poitras E and Houde A.** 2002.La PCR en temps réel: principes et applications. *Biology and Biotechnology*.2(2):2-11.
- Pasquier L and Chuard C.**2017. Infections à *Listeria monocytogenes*. *Medical Suisse*.13,1737-1740.
- Plosa E.J, Esbenshade J.C, Weitkamp J.H.**2012. Cytomegalovirus infection.*NCBI*. 33(4):156-63.
- Rozenberg F.**2002.Diagnostic des infections neuroméningées virales aiguës : apport des techniques de PCR. *La Lettre du Neurologue*. 6(7):247-250.
- Revest M and Michelet C.**2009. Recherche de facteurs favorisant la survenue de méningites bactériennes communautaires (nouveau-né exclu). *Médecine et maladies infectieuses*. 39,562–571.
- Saidi M and Boukerche SM.** 2013. Anatomie des méninges. *E.H.U d'Oran*. Service d'anatomie humaine.

- Sakka L, Coll G and Chazal J.** 2011. Anatomie et physiologie du liquide cébrospinal. *Science direct.* 128(6): 359-366.
- Sebastiaan G.B. Heckenber G, Matthijs C. B and Van De Beek D.**2014. Bacterial meningitis. *Clinical Neurology.*93(121):1361-1374.
- Segondy M.**2017. Atteintes du système nerveux central d'origine virale. *Francophones des laboratoires.*495,47-56.
- Serrazin J.L, Bonneville F and Martin-Blondel G.**2012.Infections cérébrales.*Radiologie Diagnostique et interventionnelle.*93,503-520.
- Six A, Joubrel C, Tazi A and Poyart C.** 2014. Infections materno-foetales à Streptococcus Agalactiae. *Presse Med.* 43(6):706–714.
- Shrikanth V.**2015. Hypoglycorrhachia in adults with community-acquired meningitis:etiologies and prognostic significance. *Infectious Diseases.* 39, 39-43.
- Shah S.S,Hodinka R.L et Turnquist J.L.**2006.Cerebrospinal fluid mononuclear cell predominance is not related to symptom duration in children with enteroviral meningitis. *Pediatric.*148:18–121.
- Talaro K.P and Chess B.** 2017. Foundation in microbiology. eds 10. McGraw-hill higher education.USA. p-947.
- Tack D.M, Holman R.C,Folkema A.M , Mehal J.M , Blanton J.D , Sejvar J.J.** 2014 . Tendances des décès liés à l'encéphalite aux États-Unis, 1999-2008. *Neuroépidémiologie.* 43:1-8.
- Tamune H, Takeya H, Suzuki W, Tagashira Y, Kuki T, Honda H et al.**2013.Cerebrospinal fluid/blood glucose ratio as an indicator for bacterial meningitis. *Emergency Medicine.*1-4.
- Van de Beek D, Brouwer M, HasbuN R, Koedel U, Whitney C.G and Wijdicks E.**2016. Community-acquired bacterial meningitis. *Nature.* 16074(2):1-16.
- Viallon A, Desseigne N, Marjollet O, Birynczyk A, Belin M, Guyomarch S et al.**2011. Meningitis in adult patients with a negative direct cerebrospinal fluid examination: value of cytochemical markers for differential diagnosis.NCBI.15(3): R136.
- Yun KW, Choi EH, Cheon DS et al.**2012. Enteroviral meningitis without pleocytosis in children. *Arch Dis Child.* 97, 874-878.
- Zaoui R ; Nasseri A and Touaz S.**2017.Etude épidémiologique des méningites chez le nourrisson et l'enfant. *Mémoire.*
- Office National des Statistiques (O.N.S). <http://www.ons.dz>. [Consulté le 15/03/2019].
- Institut National de Santé Publique (I.N.S.P, 2007). <http://insp.dz> [Consulté le 15/03/2019].

**BAAR** : Bacille acido-alcool-résistant.

**DNTP** : Disoxynucléotides triphosphates.

**ELISA** : Enzyme-linked immunosorbent assay.

**FMEP** : FilmArray meningitis / encephalitis Panel.

**IL** : Interleukines.

**L3 / L4 / L5** : Vertébrés lombaires.

**LCR** : Liquide céphalorachidien.

**LBP** : lipopolysaccharides.

**LTA** : Acide lipothéichoïque.

**ME** : Méningite / encéphalite.

**MIF** : Maladies infectieuses.

**NK** : Natural killer.

**ORL** : Oro-rhino-laryngologie.

**PCR** : Polymerase chain reaction.

**RT** : Reverse transcriptase.

**RNO** : Réanimation néonatalogie

**SNC** : Système nerveux centrale.

**TNF** : Tumor necrosis factor.

**TLR** : Toll like receptor.

---

Une méningite est un processus inflammatoire; d'origine généralement infectieuse (virale, bactérienne ou fongique); atteignant les méninges. Cette inflammation peut s'étendre vers l'encéphale, entraînant par la suite la méningo-encéphalite (**Brouwe, Tunkel, van de Beek, 2010**).

Les virus sont la principale cause de méningite aseptique, une infection relativement courante et souvent bénigne, pouvant être causée à 85% par des entérovirus (non-polio). Des formes sévères avec séquelles lourdes sont possibles(en particulier au cours des méningo-encéphalites herpétiques)(**Tack et al., 2014**).

Les méningites bactériennes sont rares mais représentent une urgence médicale. Elles sont responsables de formes redoutables en raison de leur létalité et des graves séquelles qu'elles peuvent engendrer (perte auditive, les déficits neurologiques focales, une déficience cognitive ...). En dehors de la période néonatale, *Streptococcus pneumoniae* et *Neisseria meningitidis* sont les pathogènes les plus fréquents (**Marjolein et al., 2016**).

Un diagnostic et un traitement rapide de la méningite et de l'encéphalite infectieuse sont essentiels pour réduire au minimum la morbidité et la mortalité. La présentation clinique peut être variée et des symptômes tels que fièvre, maux de tête, raideur de la nuque, altération de la conscience et des convulsions (**Fitch et Van de Beek ,2007** ) n'orientent pas exactement vers une origine bactérienne ou virale de l'atteinte du SNC.

Habituellement, le diagnostic repose sur des techniques dites traditionnelles telles que l'examen direct, (la culture) l'immunologie (recherche des antigène). Ces techniques, bien que sensibles, dans plus de la moitié des cas ne suffisent plus à garantir un diagnostic fiable et rapide (antibiothérapie précédant la PL, difficulté de la culture des virus, bactéries de croissance lente ...) (**Hoën, 2009**).

L'évolution des technologies de la biologie moléculaire et la mise en place de la technique de la réaction polymérase en chaîne (PCR) a permis une contribution révolutionnaires dans différents domaines scientifiques notamment dans le domaine de microbiologie ce qui a facilité énormément la pose du diagnostic définitif par identification des principaux germes responsable de la méningite et des méningo-encéphalites communautaires (**Cinque,2003**).

Dans cette étude rétro-prospective, des échantillons de LCR ont été collectés chez les patients hospitalisé à l'hôpital central de l'armée (HCA) Ain Naadja et testaient en utilisant des méthodes conventionnelles et moléculaire. Notre objectif consiste à montrer la performance du Film Array méningite/encéphalite (ME) Panel (automate de PCR); en comparant à méthodes conventionnelles utilisées couramment dans le diagnostic des méningo-encéphalites communautaires.

Il s'agit d'une étude rétro-prospective effectuée au niveau du laboratoire de microbiologie à l'hôpital centrale de l'armée (HCA), sur une période allant du 29/11/2016 au 01/06/2019 sur des échantillons reçus au laboratoire de microbiologie. Les patients présentaient un tableau clinique évocateur d'une méningite ou une méningo-encéphalite (troubles de la conscience ou du comportement, fièvre, céphalées, vomissement, photophobie) qui avaient bénéficié d'une ponction lombaire afin de confirmer le diagnostic.

## **I. Matériels**

### **1. Matériel biologique**

#### **1.1. L'échantillon analysé**

Notre échantillon est le liquide céphalo-rachidien (LCR) prélevé par ponction lombaire dans des tubes secs stériles et étanches.

Notre étude à concerner 119 prélèvements dont 109 sont prélevés durant la période allant du 29 Novembre 2016 au 02 Février 2019 et font partie de l'étude rétrospective, alors que les 10 prélèvements restants appartiennent à l'étude prospective et sont recueillis entre le 03 Février 2019 et le 01 juin 2019.

#### **1.2. Recueil des données**

Les LCR reçus, ont été enregistrés dès leur arrivée, accompagnés d'une fiche de renseignements correctement remplie avec :

- L'identité du patient : nom, prénom, âge, sexe.
- La date de réception.
- Le nom du médecin traitant ainsi que le service de prise en charge.
- Les signes cliniques et radiologiques.
- La nature et la durée du traitement éventuellement reçu.

Les données rétrospectives ont été recueillies à partir du registre de paillasse de LCR. (Les informations concernant les 119 LCR reçus sont regroupées dans les annexes 8 , 9 et 10).

### **2. Matériel non biologique**

#### **2.1. Matériel non biologique de la bactériologie classique**

Il consiste en matériel et consommables (pipettes, cellule Malassez, sachets et jarres d'incubation...); réactifs et solutions (Bleu de méthylène, huile de vaseline, huile d'immersion...); milieux de culture (milieux ordinaire : gélose nutritive (GN); milieux enrichis : gélose au sang cuit (GSC); milieux sélectif : Hektoen (HK); milieux pour antibiogramme : Muller-Hinton (MH)) et le matériel de protection.

## 2.2. Matériel non biologique de la PCR multiplex

Le tableau 4 résume le matériel fournis et non fournis utilisés pour lancer une PCR multiplex.

**Tableau 4.** Récapitulatif du matériel non biologique de la PCR.

Matériel fourni	Matériel requis non fourni
<ul style="list-style-type: none"><li>- Casette FMEP emballée individuellement.</li><li>- Ampoule du tampon de l'échantillon à 0.1 ml (Sample buffer) à usage unique.</li><li>-Flacon d'hydratation à 1.5 ml (Hydratation Injection Vials) à usage unique « bleu ».</li><li>-Flacon de l'échantillon (Sample InJection Vials) à usage unique « rouge ».</li><li>-Pipette de transfère emballée individuellement.</li></ul>	<ul style="list-style-type: none"><li>- FilmArray instrument et logiciel.</li><li>-Station de chargement de la casette (Pouch Loading Station).</li></ul>

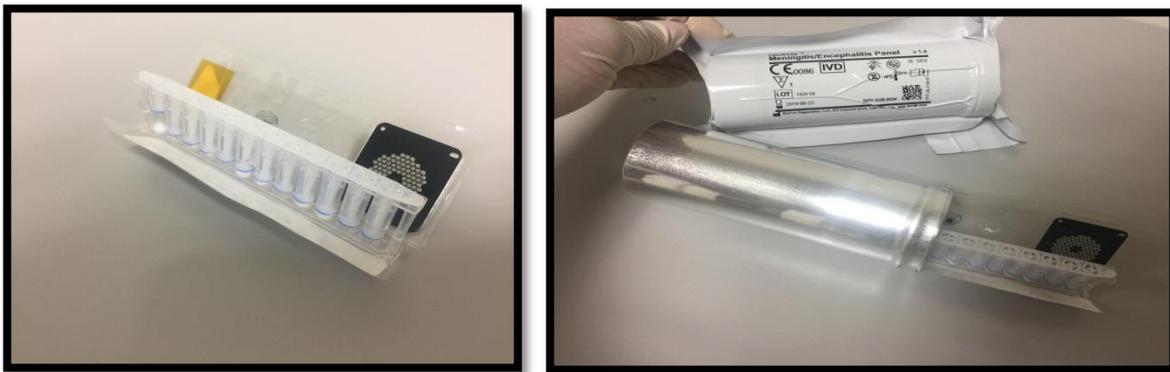
La station de chargement ainsi les deux flacons fournis sont illustrés dans la figure 5.



**Figure 05.** La station de chargement des 2 tubes bleu et rouge.

- **La cassette FilmArray ME (Méningite/Encéphalite) Panel (FMEP)**

C'est un système fermé jetable qui comprend tous les produits chimiques requis pour isoler, amplifier et détecter l'acide nucléique des différents pathogènes de la méningite et de l'encéphalite au sein d'un seul échantillon de LCR obtenu par ponction lombaire (PL). Le composant en plastique rigide (support) de la cassette FMEP contient les réactifs lyophilisés. La partie en plastique souple se divise en segments discrets (plaquettes) dans lesquels les processus chimiques sont exécutés (figure 6).



**Figure 06.** La cassette FMEP et son emballage.

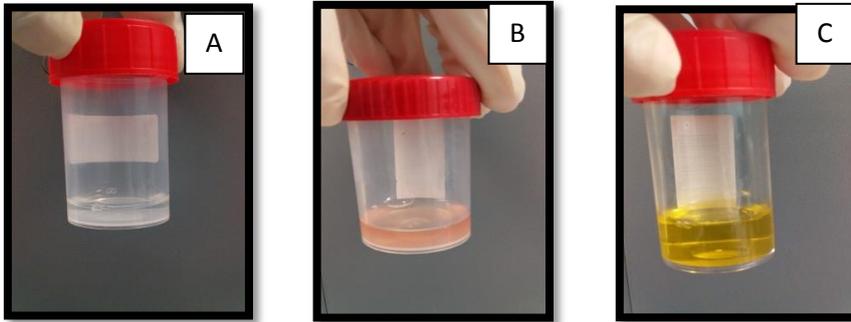
## **II. Méthodes**

### **1. Diagnostic bactériologique conventionnel**

L'analyse du LCR doit être faite le plus rapidement possible (intervalle de 30 min qui suivent le prélèvement) car après cet intervalle, une altération de la morphologie cellulaire et une diminution de la numération des cellules nucléées peuvent avoir lieu en plus de la lyse cellulaire.

### 1.1. Aspect macroscopique du LCR

L'aspect macroscopique du LCR est apprécié à l'œil nu.



**Figure 07.** Différents aspect macroscopiques du LCR. A : Clair, B : Hémorragique, C : Citrin. (Originale).

### 1.2. Mise en culture

La culture est réalisée systématiquement. Pour chaque échantillon de LCR, trois milieux sont ensemencés respectivement : GSC additionnée ou non de PolyVitex®, GN et HK selon la méthode des quatre quadrants. Les milieux ensemencés sont incubés à 37°C dans une étuve pendant 18-48 heures en atmosphère ordinaire, à l'exception de la GSC qui nécessite une atmosphère enrichie de 5 à 10% de CO<sub>2</sub>.

### 1.3. Examens microscopiques

La numération des éléments figurés est obligatoire pour les liquides clairs. En effet, la plupart des liquides troubles possèdent une opacité nécessitant une dilution préalable. L'examen direct n'est pas indiqué pour le LCR hémorragique (les globules rouges faussent la lecture des globules blancs).

Pour réaliser cet examen, on pratique un comptage sur la cellule de Mallassez selon le mode opératoire suivant :

- Déposer, en exerçant une pression ferme avec les doigts, une lamelle spéciale optiquement plane.
- Remuer le LCR pour mettre en suspension les éléments cellulaires.
- Garnir avec quelques gouttes de liquide.
- Laisser au repos quelques minutes, pour que les éléments se sédimentent.
- La préparation est ensuite placée sur la platine du microscope et on examine à l'objectif x 40.

Le décompte se fait sur quelques bandes puis la moyenne des leucocytes est faite. Cette moyenne est multipliée par 10 pour avoir le nombre de leucocytes/mm<sup>3</sup> (en cas de dilution de l'échantillon, la moyenne des leucocytes est multipliée par le facteur de dilution).

- Si le nombre est  $< 10^2$  éléments/mm<sup>3</sup>, il s'agit d'un LCR normal.
- Si le nombre est  $\geq 10^3$  éléments/mm<sup>3</sup>, il s'agit d'un LCR pathologique, dans ce cas une coloration au bleu de méthylène est effectuée permettant d'établir l'équilibre leucocytaire et une coloration de Gram est réalisée afin d'apprécier la morphologie des germes.

Pour une culture positive, nous procédons à l'identification des germes en nous basant sur l'ensemble des tests réalisés, et variant d'un germe à un autre (figure 08).

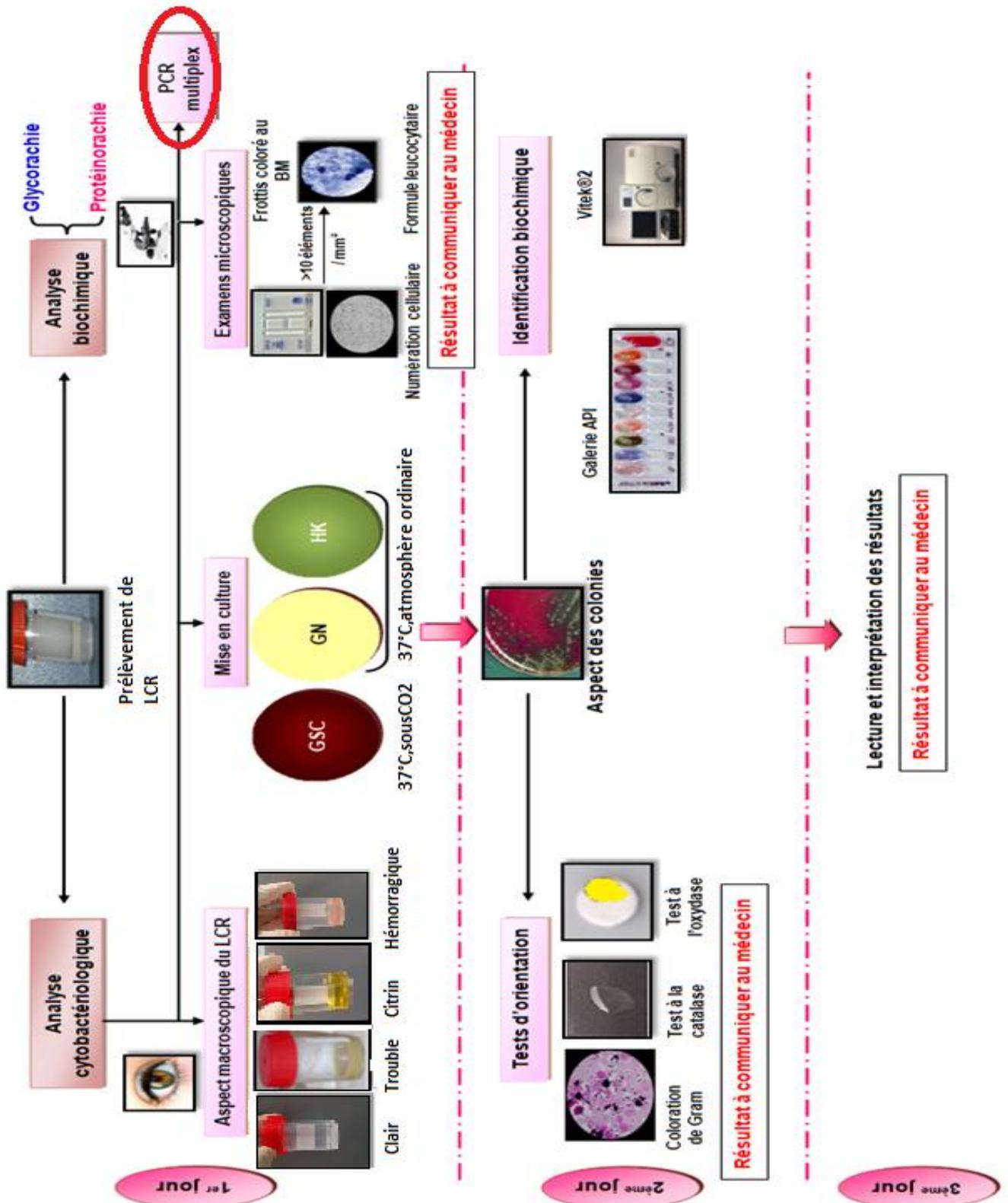


Figure 08. Schéma récapitulatif des différents examens biologiques du LCR

## 2. Diagnostic par PCR

Le panel FilmArray Meningite/Encephalite proposé par bioMérieux, permet la recherche simultanée et rapide, en une heure, de 15 pathogènes différents impliqués dans la méningite et l'encéphalite sur le même échantillon de LCR, soit 7 virus, 6 bactéries et 2 levures (tableau 5) et chaque poche FilmArray est à usage unique. Il inclue tous les réactifs sous forme lyophilisé nécessaires à l'extraction, l'amplification et la détection de l'acide nucléique.

L'analyse est réalisée sans intervention manuelle dans des cassettes de réactifs spécifiques prêtes à l'emploi. L'automate interagit avec la cassette de réactif pour purifier les acides nucléiques et amplifier les séquences d'acide nucléique cibles en utilisant une PCR en temps réel nichée et multiplex. Le logiciel FilmArray contrôle le fonctionnement de l'automate. Il collecte, analyse et conserve les données générées par l'automate.

**Tableau 5.** Les différents germes détectés par la PCR multiplex FilmArray ME

<b>Virus (7)</b>	<b>Bactéries (6)</b>	<b>Levures (2)</b>
Cytomégalovirus (CMV)	<i>Escherichia coli K1</i>	<i>Cryptococcus neoformans</i>
Entérovirus (EV)	<i>Haemophilus influenzae</i>	<i>Cryptococcus gattii</i>
Virus herpès simplex 1 (HSV-1)	<i>Listeria monocytogenes</i>	
Virus herpès simplex 2 (HSV-2)	<i>Neisseria meningitidis</i>	
Herpèsvirus humain 6 (HHV-6)	<i>Streptococcus agalactiae</i>	
Paréchovirus humain (HPEV)	<i>Streptococcus pneumoniae</i>	
Virus varicelle-zona (VZV)		

Pour une réaction de PCR, plusieurs éléments sont nécessaires dans le milieu réactionnel appelé Master Mix. Les amorces utilisées en PCR multiplex en temps réel sont illustrés dans les tableaux 6 et 7.

**Tableau 6.** Amorces pour l'identification des bactéries (Chiba et al., 2009).

Espèces	Amorces	Gènes cibles (fonction)
<i>S. pneumoniae</i> Amorce sense Amorce antisense	5'-CAACCGTACAGAATGAAGCGG-3' 5'-TTATTCGTGCAATACTCGTGCG-3'	lytA (enzyme autolytique)
<i>H. influenzae</i> Amorce sense Amorce antisense	5'-TTGACATCCTAAGAAGAGCTC-3' 5'-TCTCCTTTGAGTTCCCGACCG-3'	P 6 (incorporation des facteurs des virulences)
<i>E.coli</i> Amorce sense Amorce antisense	5'-GGGAGTAAAGTTAATACCTTTGC-3' 5'-CTCAAGCTTGCCAGTATCAG-3'	16S rRNA
<i>S. agalactiae</i> Amorce sense Amorce antisense	5'-AGGAATACCAGGCGATGAAC-3' 5'-AGGCCCTACGATAAATCGAG-3'	dltS (opéron)
<i>N. meningitidis</i> Amorce sense Amorce antisense	5'-CATATCGGAACGTACCGAGT-3' 5'-GCCGCTGATATTAGCAACAG-3'	crtA (transport de la capsule)
<i>L. monocytogenes</i> Amorce sense Amorce antisense	5'-CGCTTTTGAAAGATGGTTTCG-3' 5'-CTTCCAGTTTCCAATGACCC-3'	16S rRNA

lytA: N- acétylmuramoyl-L-alanine amidase, P 6 : protéine 6, dltS : acide D-alanyl-lipothéichoïque.

**Tableau 7.** Amorces pour l'identification des virus (Bergallo,2007).

Espèce	Amorces	Gènes cibles (fonction)
Entérovirus Amorce sense Amorce antisense	5'- CCCCTGAATGCGGCTAAT-3' 5'- ATTGTCACCATAAGCAGCCA-3'	5'NTR
Herpes Simplex Virus 1 Amorce sense Amorce antisense	5'-GCACACCACCGACCTCAAGTACAA-3' 5'- CCTGCCACTTGGTCATGGTG-3'	Glycoprotéine D (altération cellulaire)
Cytomégalovirus Amorce sense Amorce antisense	5'-CAAGCGGCCTCTGATAACCAAGC-3' 5'-CTCTTCCTCTGGGCAACTTCCTC-3'	UL123 (Glycoprotéine B)
Varicelle Zona Virus Amorce sense Amorce antisense	5'-TGATTTGGCTTTATTACCTTTGATGCG- 5'-CGACGGCAGTTACATTTCTGACG-3'	Gene 29 (DNA binding protein)
Herpes Humain Virus 6 Amorce sense Amorce antisense	5'-GAGGTAATYTATGGTGATACGGA-3' 5'-TGTCTACCAATRTATCTTTTTTTT-3'	Glycoprotéine L (ADN pol)

## 2.1. Protocole

- La 1<sup>ère</sup> étape : **préparation de la cassette** (figure 09)
  - Placez le flacon de l'échantillon dans le compartiment rouge.
  - Placez le flacon d'hydratation dans le compartiment bleu
  - Placez la poche FilmArray dans la station de chargement, en suivant les guides à code de couleur sur cette dernière.

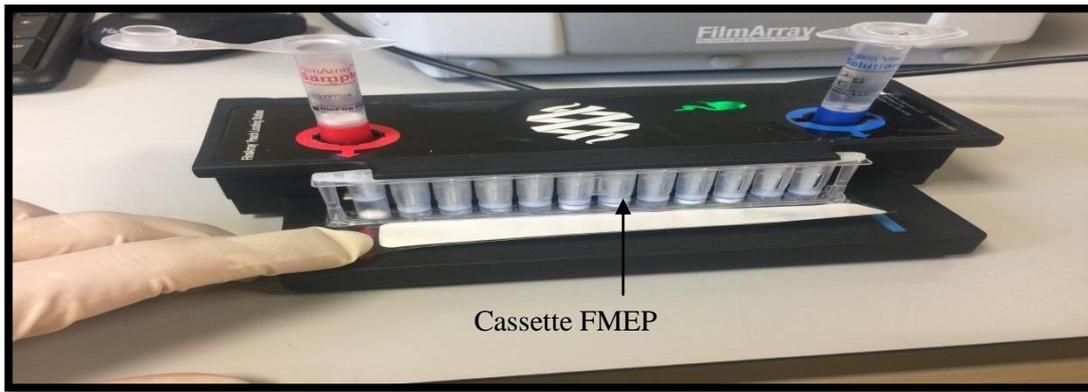


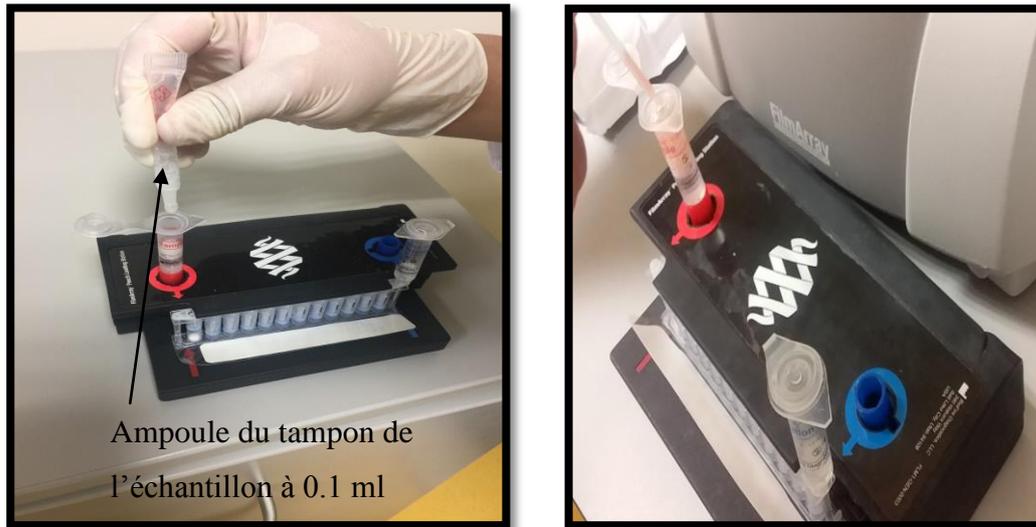
Figure 09. Préparation de la cassette

- La 2<sup>ème</sup> étape : **hydratation de la cassette** (figure 10)
- la solution d'hydratation est aspirée dans la cassette par le vide.



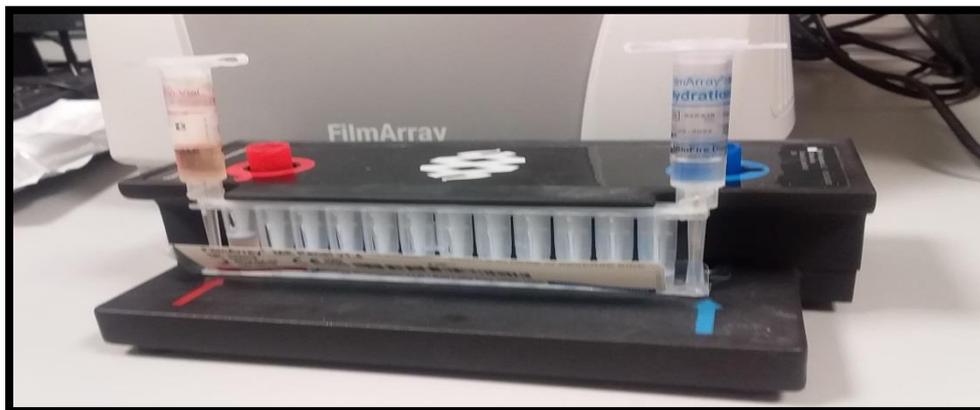
Figure 10. Hydratation de la cassette

- La 3<sup>ème</sup> étape : **préparation de l'échantillon** (figure 11)
- Ajoutez 0.1 ml du tampon dans le flacon de l'échantillon.
- Transférer l'échantillon à l'aide d'une pipette au tube rouge (volume déterminé par le trait de jaugeage qui se trouve sur ce tube). Mélangez l'échantillon en retournant doucement le flacon de l'échantillon 3 fois.
- Remettez le flacon de l'échantillon dans le compartiment rouge de la station de chargement de la cassette.



**Figure 11.** Préparation de l'échantillon

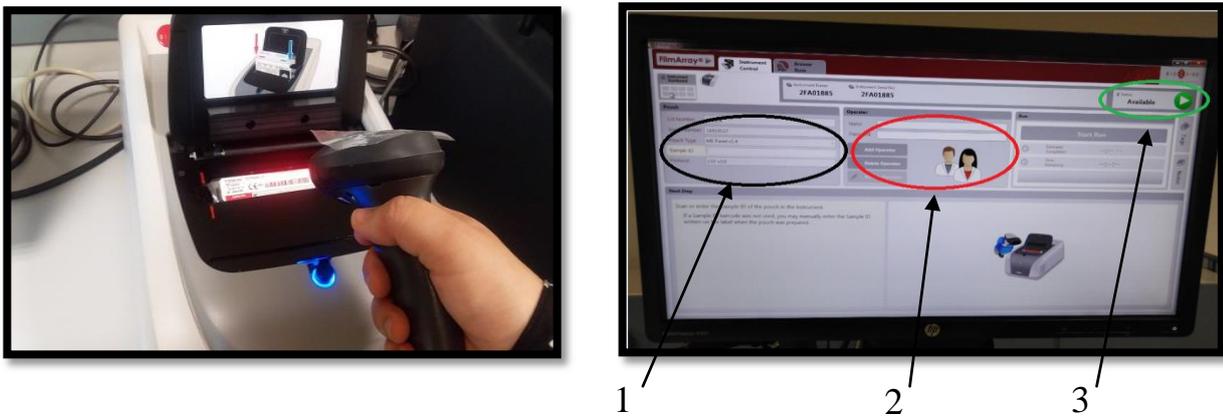
- La 4<sup>ème</sup> étape : **Chargement de l'échantillon préparé** (figure 12)
- L'échantillon est aspiré dans la cassette par le vide.



**Figure 12.** Chargement de l'échantillon préparé

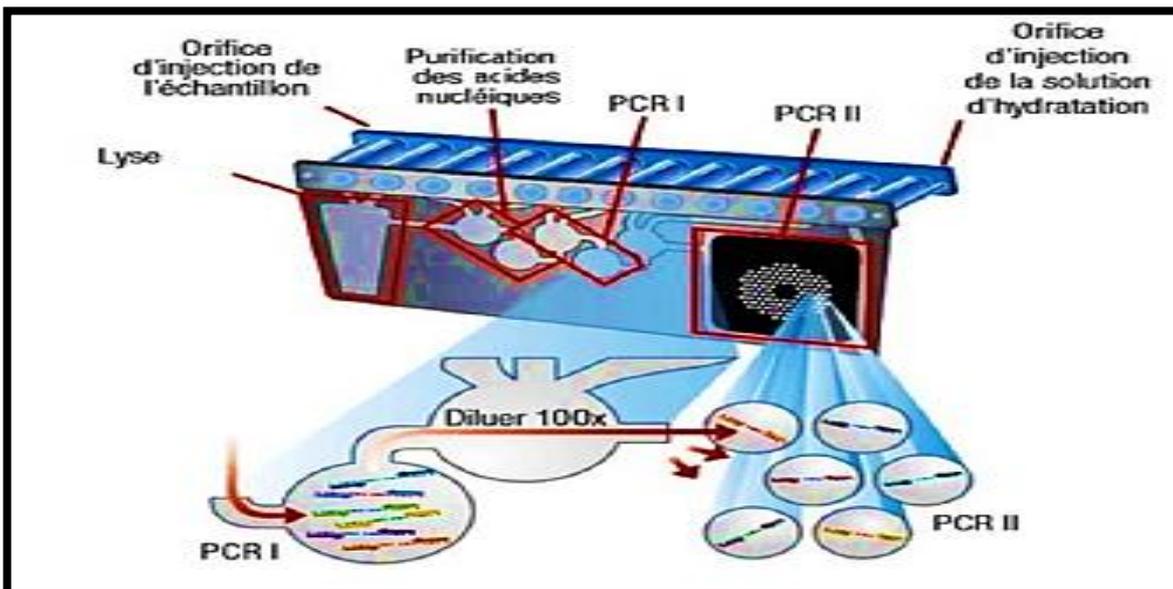
- La 5<sup>ème</sup> étape : **préparation de l'analyse de l'échantillon** (figure 13)
- Les deux flacons rouge et bleu sont retirés et la cassette est introduite dans l'appareil d'analyse FilmArray® avec les étiquettes rouge et bleue de la poche alignées sur les flèches rouge et bleue de l'automate FilmArray.
- Scanner le code-barres de l'étiquette de la poche FilmArray en utilisant le lecteur de codes-barres fourni.
- Entrer le nom et le prénom du malade manuellement (1).
- Entrer un nom d'utilisateur et un mot de passe dans les champs Name et Password (2).

- Refermez le couvercle de l'automate FilmArray. Cliquer sur le bouton « Start Run » sur l'écran du logiciel (3).



## 2.2 Etapes du procédé d'analyse du Panel FilmArray Méningite/Encéphalite

C'est une PCR multiplex type nichée (Nested PCR) qui s'effectue en deux étapes successives : Lors de la première étape, plusieurs amorces externes (se trouvent dans le compartiment solide de la cassette) sont utilisées pour réaliser une PCR multiplex sur les fragments modèles cibles présents dans l'échantillon. La seconde étape de PCR est réalisée pour continuer à amplifier les copies d'ADN générées lors de la première phase de PCR. Les amorces internes (se trouvent dans la matrice de la cassette) utilisées dans la deuxième phase de PCR sont constituées de séquences « nichées » au sein du ou des produits de la première phase de PCR (figure 14).



### **1. Lyse mécanique**

- L'échantillon se déplace dans la chambre de lyse. Les cellules et les agents pathogènes sont lysées par broyage avec les billes céramiques agités à haute vitesse pour briser les cellules et libérer les acides nucléiques.

### **2. Extraction et purification des acides nucléiques**

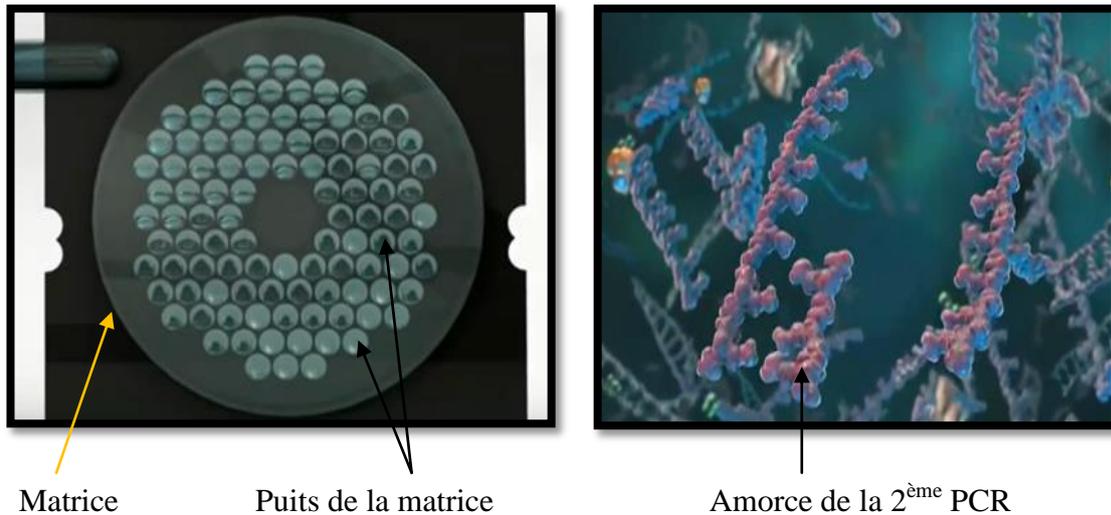
- Les acides nucléiques sont ensuite capturés par les billes magnétiques et transportés de la chambre de lyse vers la chambre de purification (figure 14). Ici, un tampon de lavage est utilisé afin d'éliminer les débris cellulaires, tandis que les billes magnétiques sont maintenue en place.
- Un tampon d'éluion est utilisé afin de purifier les acides nucléiques en les séparant des billes magnétiques qui sont à nouveau bloqués de manière mécanique tandis que les acides nucléiques sont déplacés vers l'étape suivante de la chambre de 1<sup>ère</sup> PCR.

### **3. Etape de 1<sup>ère</sup> PCR**

- Une RT-PCR est effectuée pour convertir toute cible ARN (entérovirus 5'-GATTGTCACCATAAGCAGC-3') (Monpoeho et al.,2000) en ADNc. Pour les bactéries et les virus à ADN, cette étape est toujours réalisée en présence d'un contrôle à ARN. Elle est suivie par une PCR multiplex impliquant des dizaines de paires d'amorces (voir annexe 1).
- Durant cette 1<sup>ère</sup> étape de PCR, plusieurs réactions sont simultanément effectuées dans un même volume. Les produits sont ensuite dilués pour éliminer les amorces restantes de la RT-PCR.

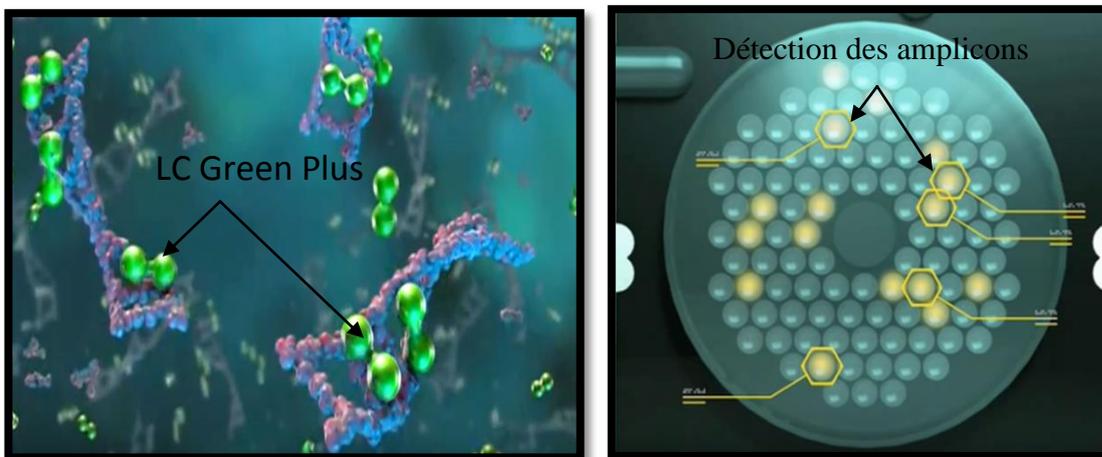
### **4. Elimination des amorces de la 1<sup>ère</sup> PCR et réalisation de 2<sup>ème</sup> PCR**

- Les produits de la 1<sup>ère</sup> PCR sont mélangés à un nouveau milieu réactionnel, puis distribué dans chaque puit de la matrice
- Chaque puit de cette matrice contient préalablement des amorces de la 2<sup>ème</sup> PCR conçues pour amplifier les séquences contenues dans le produit issu de la 1<sup>ère</sup> PCR, ceci élimine les produits non spécifiques associés à la PCR multiplex traditionnel (RT-PCR) car les amorces de la 2<sup>ème</sup> PCR impliquant spécifiquement l'ADN cible.



### 5. Révélation

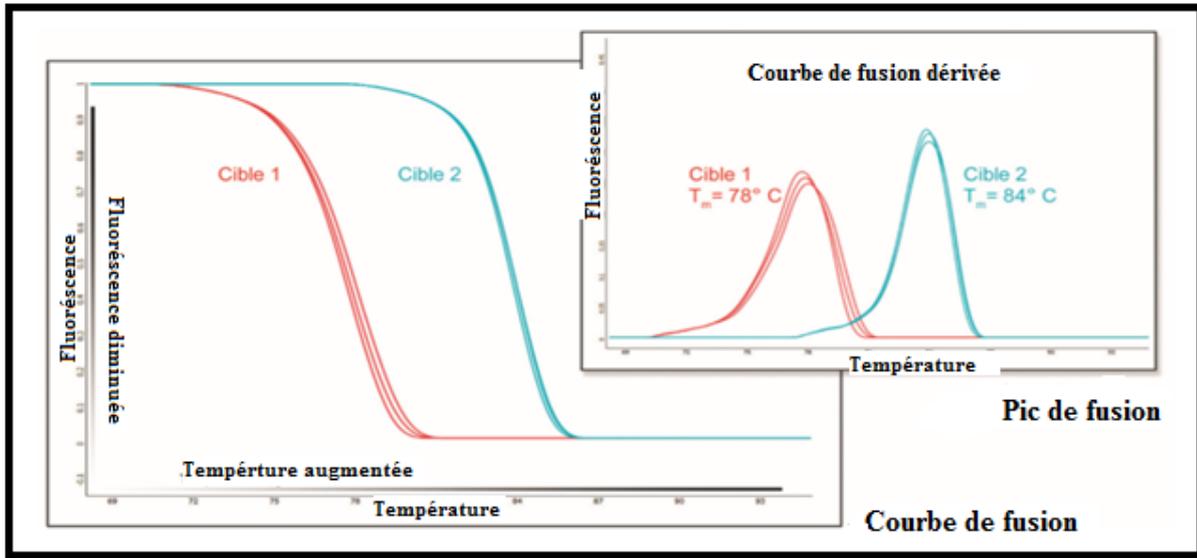
- Un agent intercalant (LCGreen Plus) capable de se lier à l'ADN double brin est utilisé permettant la détection de l'ADN double brin amplifié.
- Les organismes sont identifiés en fonction de chaque puits de la matrice.



### 6. Analyse de fusion de l'ADN et interprétation du test

La longueur et la séquence des amplicons générées déterminent la température de fusion ( $T_m$ ) de l'ADN double brin, c'est la température pour laquelle 50% des liaisons hydrogène sont rompues (dénaturation partielle). Les produits de PCR obtenus à partir de sources différentes auront des séquences différentes et donc des  $T_m$  différentes. Après le dernier cycle de PCR, l'automate FilmArray augmente graduellement la température de la réaction d'environ 60°C jusqu'à 94°C. Lorsque la température atteint la  $T_m$  d'un amplicon, ce dernier se dénature et la fluorescence diminue, ce qui libère du LCGreen Plus. Ceci produit une courbe de fusion, présentée sur le graphe

ci-après, qui illustre la baisse rapide de fluorescence. Un pic de fusion avec une  $T_m$  spécifique est généré pour chaque amplicon en traçant la dérivée négative de la courbe de fusion.



**Figure 15.** Courbes générés après le dernier cycle de PCR par l'automate Film Array

Le logiciel FilmArray évalue la courbe de fusion de l'ADN pour chaque compartiment de la matrice de PCR de phase 2. Si le profil de fusion indique la présence d'un produit de PCR, le logiciel d'analyse calcule alors la  $T_m$  de la courbe suivant l'évolution de la fluorescence lorsque la température augmente. La valeur de la  $T_m$  est alors comparée à la plage de  $T_m$  attendue pour le test. Une fois les courbes de fusion identifiées, le logiciel évalue les trois répliques (témoin positive, patient, contrôle) de chaque test pour déterminer le résultat du test.

- Pour qu'un test soit considéré comme positif, le pic de fusion doit se situer dans la plage de  $T_m$  spécifique du test, ainsi qu'au moins deux des trois courbes de fusion associées doivent être considérées comme positives, et la  $T_m$  pour au moins deux des trois courbes positives doit être similaire (à  $1^\circ\text{C}$  près).
- Les tests qui ne satisfont pas à ces critères sont considérés comme négatifs.

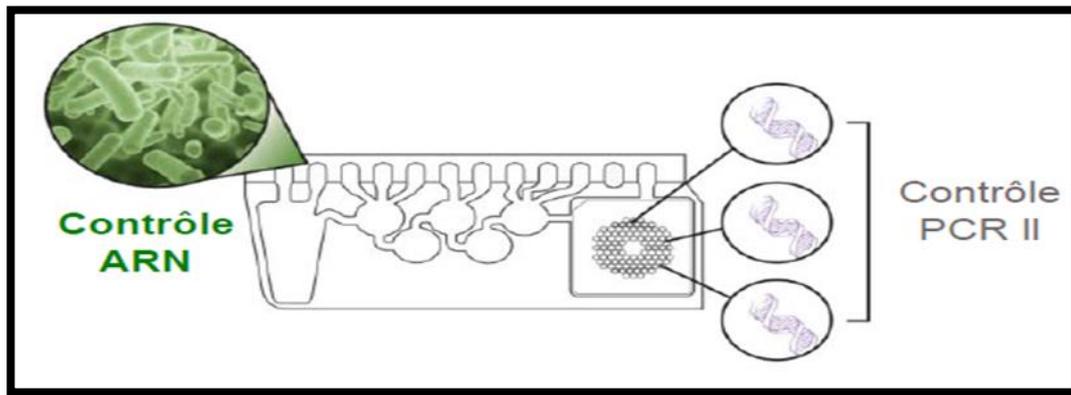
## 7. Contrôle de qualité

- **Contrôles de traitement :** Deux contrôles de traitement sont inclus dans chaque cassette

**1. RNA Process Control (Contrôle du traitement de l'ARN) :** Ce test cible un produit de transcription d'ARN de la levure *Schizosaccharomyces pombe*. La levure est présente dans la cassette sous forme lyophilisée et se réhydrate lorsque l'échantillon est chargé. Elle passe par tous les stades du processus de test. Un résultat du contrôle positif indique le déroulement correct de toutes les étapes effectuées dans la cassette FMEP.

**2. PCR2 Control (Contrôle de PCR 2) :** Ce test détecte une cible d'ADN qui est séchée dans les compartiments de la matrice avec les amorces correspondantes. Un résultat positif indique que la PCR de phase 2 s'est déroulée correctement.

Les tests de contrôle doivent tous deux être positifs pour que l'analyse soit réussie. Si les contrôles échouent, l'échantillon devra être testé à nouveau à l'aide d'une nouvelle cassette.



**Figure 16.** Les deux contrôles de la PCR multiplex FilmArray.

➤ **Contrôle des performances du système de test**

L'analyse sera automatiquement mise en échec par le logiciel FilmArray si la  $T_m$  de l'un des deux contrôles de traitement est en dehors de la plage admissible.

✓ Contrôle positif : Des échantillons de LCR positifs précédemment caractérisés ou des échantillons négatifs enrichis avec des organismes bien caractérisés peuvent être utilisés.

✓ Contrôle négatif : De l'eau.

**2.4. Imprimer un rapport de série de tests**

Les analyses de FilmArray ME Panel ont été considérées comme valides si l'analyse s'est terminée normalement et si les deux contrôles internes ont été validés. Le logiciel FilmArray effectue une analyse automatique des résultats avec chaque cible d'une exécution valide signalée comme «détectée» ou «non détectée». Si l'un des contrôles internes échoue, le logiciel fournit automatiquement un résultat «non valide» pour tous les analytyses du panel.

## **Analyse des données**

### **Méthodes d'analyse**

L'analyse des données de cette recherche est qualitative et quantitative. L'unité de mesure est la répartition des LCR selon le résultat obtenu par les techniques de dépistage utilisées ainsi que la répartition des résultats positifs de PCR sur LCR. Ces données ont été traitées au moyen du logiciel Excel qui a aussi été utilisé pour tracer les graphiques.

L'étude rétrospective qui s'est déroulée du 29/11/2016 au 02/02/2019, porte sur 109 LCR dont 48 PCR positifs. Les données étaient recueillies à partir des dossiers informatisés des patients hospitalisés à l'HCA.

L'étude prospective du 03/02/2019 au 01/06/2019, porte sur 10 LCR dont 3 PCR positifs. Tous les échantillons reçus au laboratoire de microbiologie étaient analysés et les données étaient recueillies par déplacement au service de prise en charge des patients hospitalisés.

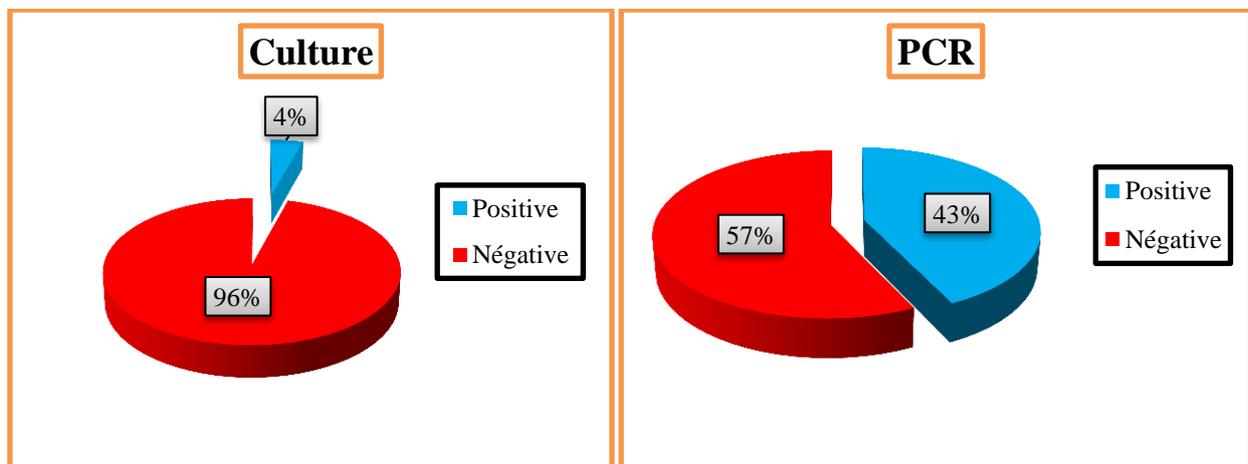
**I. Répartition des LCR selon le résultat obtenu par les techniques de dépistage utilisées (N=119)**

Le dépistage des agents responsables des méningites communautaires chez les patients hospitalisés à l’HCA a été réalisé par culture et par PCR multiplex en temps réel, au niveau du laboratoire de microbiologie, sur une totalité de 119 LCR reçu entre le 29 Novembre 2016 et le 1 Juin 2019.

La répartition des LCR selon les résultats obtenus par les techniques de dépistage utilisées sont représentés dans le tableau ainsi que la figure ci-après :

**Tableau 8.** Répartition des LCR selon le résultat obtenu par les techniques de dépistage utilisées

Techniques utilisées		PCR		Total
		Positive	Négative	
Culture	Positive	5	0	5/119
	Négative	46	68	114/119
<b>Total</b>		<b>51/119</b>	<b>68/119</b>	<b>119</b>



**Figure 17.** Répartition des LCR selon le résultat obtenu par les techniques de dépistage utilisées.

Sur les 119 échantillons de LCR diagnostiqués :

- ✚ La culture n'était positive que pour 5 LCR (4%). Les bactéries identifiées sont : *S.pneumoniae* (N=3), *S.agalactiae* (N=1) et *E .coli.K1* (N=1). La faible sensibilité de la culture peut être due à plusieurs raisons : début de méningite bactérienne, méningite bactérienne décapitée ou méningite à bactéries fragiles (**Nigrovic et al., 2008**).
- ✚ Presque la moitié des PCR sont revenues positives (43%). Cette technique a permis donc de mettre en évidence 51 patients porteurs d'agents pathogènes responsables de méningites. Les 68 PCR négatives n'excluent pas une origine infectieuse (possibilité de méningite à d'autres étiologies ne figurant pas dans le panel FMEP « syphilis, tuberculose, oreillons, brucellose, rougeole....»).
- ✚ La PCR a identifié presque 10 fois plus l'étiologie infectieuse que la culture.

La comparaison des résultats obtenus aux résultats de l'étude de **Leber et al.** sur l'évaluation multicentrique du panel méningites/encéphalites BioFire FilmArray en 2016 a révélé une concordance de spécificité (99.8% pour les bactéries et 99.7% pour les virus) et de sensibilité (100% pour les bactéries et de 97.3% pour les virus) pour la détection des différents germes responsables des méningites et des méningo-encéphalites communautaires.

Pour affiner l'analyse, nous avons comparé les résultats de la PCR par rapport à ceux de la culture dans le cas des méningites bactériennes, les résultats sont représentés dans le tableau suivant :

**Tableau 9.** Répartition des LCR selon le résultat obtenu par les techniques de dépistage utilisées dans le cas des méningites bactériennes.

Techniques utilisées / Méningites bactériennes		PCR		Total
		Positive	Négative	
Culture	Positive	5	0	5/20
	Négative	15	0	15/20
Total		20/20	0 /20	20/20

Selon le tableau, nous constatons que la PCR a pu identifier 4 fois l'étiologie des méningites bactériennes que la culture. Ces résultats sont proches à ceux de **Chiba et al.,2009** (Détection rapide de huit agents pathogènes responsables de méningite bactérienne par PCR multiplex en temps réel)

*S. pneumoniae, H. influenzae, E. coli, S. agalactiae, N. meningitidis, L. monocytogenes, Mycoplasma pneumoniae, Staphylococcus aureus*. La PCR a pu identifier ces dernières étiologies dans 72% des cas alors que la culture n'a pu les identifier que dans 48%.

## II. Répartition des résultats positifs de PCR sur LCR (N= 51)

### 1. En fonction du service

Le tableau 10 illustre les résultats de la répartition des prélèvements positifs en fonction du service.

**Tableau 10.** Répartition des LCR positifs en fonction du service.

Services	Nombre de cas positifs	%
<b>Urgences pédiatriques</b>	<u>29</u>	} <span style="border: 1px solid black; padding: 2px;">76%</span>
<b>Pédiatrie*</b>	6	
<b>Réanimation néonatale*</b>	3	
<b>Réanimation pédiatrique médicale*</b>	1	
<b>Urgences adultes</b>	<u>5</u>	10%
<b>Maladies infectieuses*</b>	4	8%
<b>Réanimation médicale*</b>	2	4%
<b>Psychiatrie*</b>	1	2%
<b>Total</b>	51	100%

\*Pour les patients hospitalisés au niveau de ces services, la méningite était acquise en communauté et c'était le motif de consultation et d'hospitalisation.

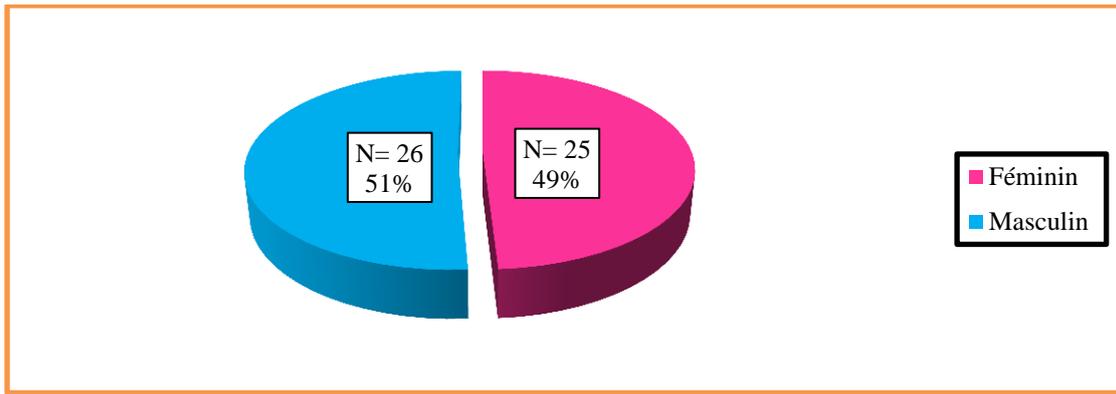
Selon nos résultats, nous constatons que:

- ✚ Les LCR positifs par PCR appartiennent à des patients provenant en majorité des urgences (pédiatriques et adultes) : 34/51 (66.66%).

-76.48% des malades avec méningite communautaire confirmée proviennent de la pédiatrie.

### 2. En fonction du sexe

La figure 18 illustre les résultats de la répartition des prélèvements positifs en fonction du sexe

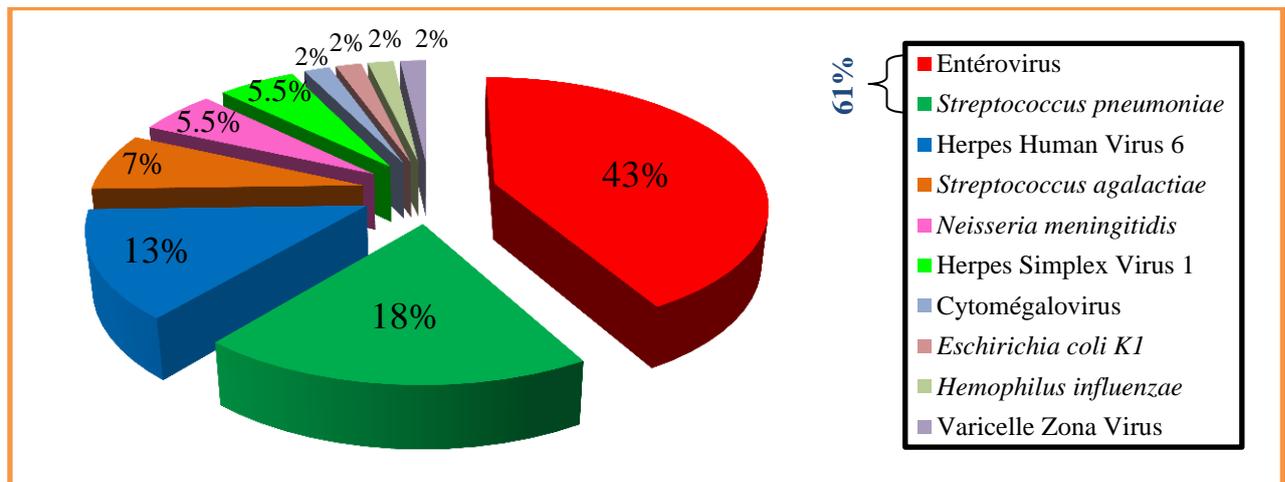


**Figure 18.** Répartition des LCR positifs en fonction du sexe .

Selon l'illustration ci-dessus, le sexe ratio est de 1,04, la méningite touche avec le même taux les deux sexes.

### 3. En fonction des germes détectés (N=54)

Les résultats de la répartition des prélèvements positifs en fonction des germes détectés sont représentés dans la figure ci-dessous :



**Figure 19.** Répartition des LCR positifs en fonction des germes détectés

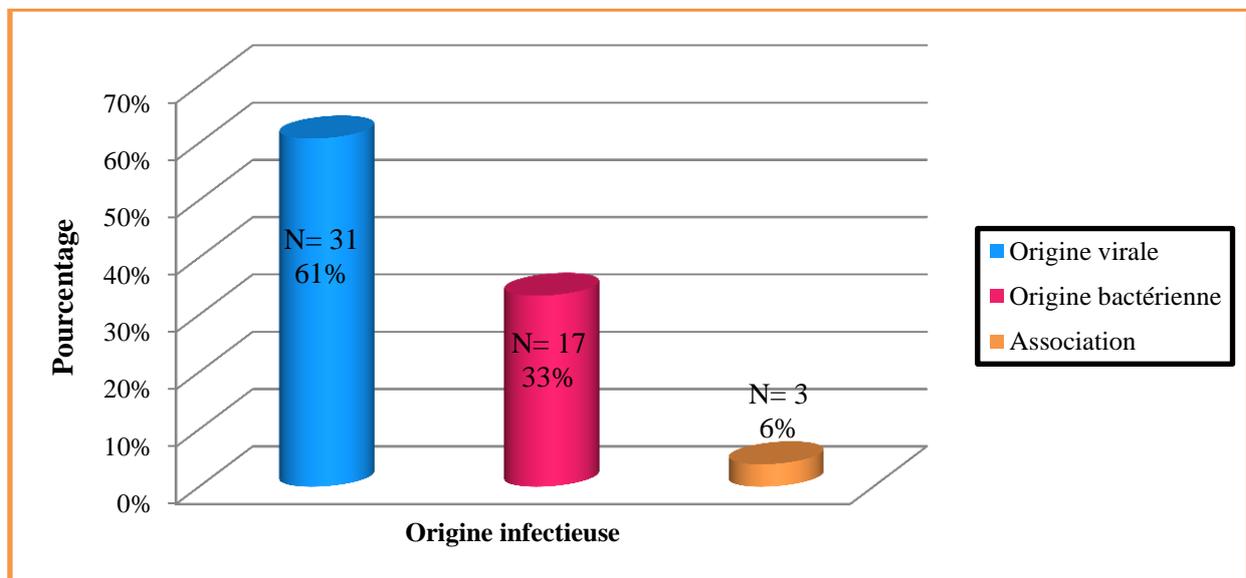
Selon la figure nous constatons que :

- ✚ La PCR a permis d'identifier 5 virus et 5 bactéries différents.
- ✚ L'Entérovirus suivi par le *Streptococcus pneumoniae* sont les deux principaux agents étiologiques détectés par PCR dans notre étude, représentant respectivement 43% et 18%. Ils sont à l'origine de plus de la moitié (61%) des méningites et des méningo-encéphalites communautaires. Ces résultats concordent nettement avec ceux trouvés par **Leber et al** (Manuel d'utilisation du

FilmArray Méningite/Encéphalite (ME) Panel 2016), où l'Entérovirus et le pneumocoque représentaient respectivement la première cause des méningites virales et bactériennes, et les deux étaient responsables de 61% des méningites et des méningo-encéphalites communautaires.

#### 4. En fonction de l'origine infectieuse

Les résultats de la répartition des LCR positifs selon l'origine infectieuse sont présentés en nombre et en pourcentage dans la figure suivante :

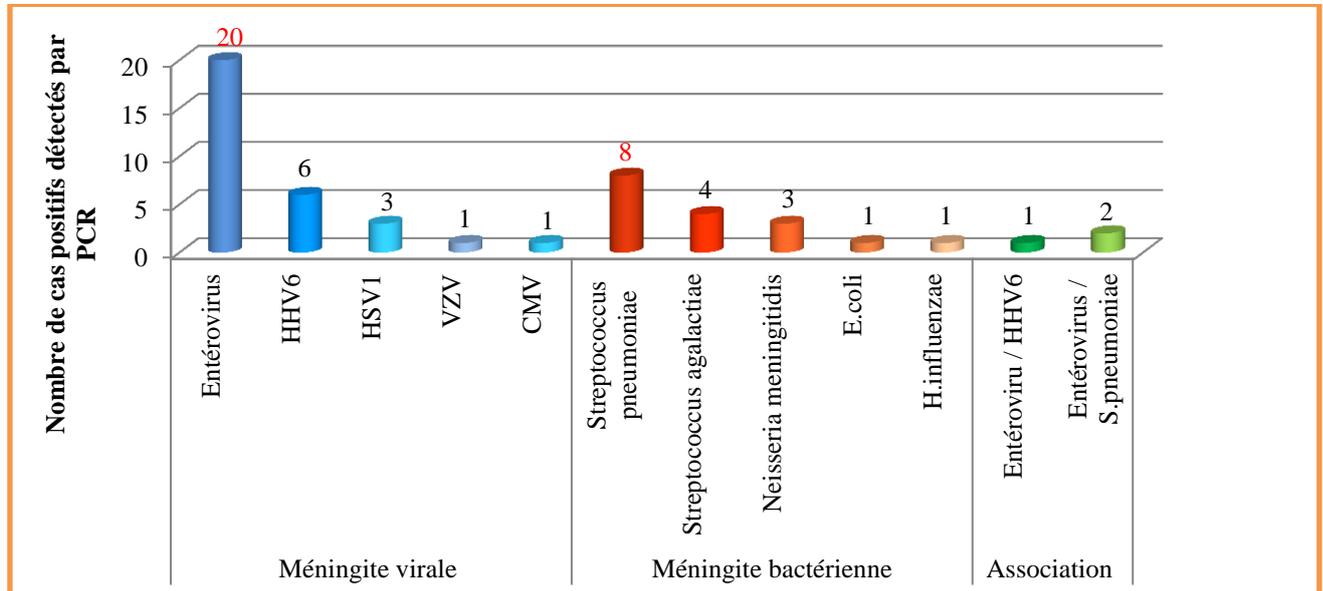


**Figure 20.** Répartition des LCR positifs en fonction de l'origine infectieuse

La figure montre une prédominance de la méningite virale avec 31/51 cas (61%) par rapport à la méningite bactérienne qui se présente dans 17/51 cas (33%). Cette fréquence de la méningite virale pourrait être expliquée par la multiplication rapide des virus en cause et l'absence de vaccin correspondant. Ces résultats concordent avec ceux de **Mailles et Stahl** en 2009 sur les infections encéphaliques en France qui rapportaient une prédominance de la méningite virale (69%) par rapport à la méningite bactérienne (30%).

## 5. Origines infectieuses et agents étiologiques

Les résultats de la répartition des germes détectés en fonction de l'origine infectieuse sont représentés dans le tableau ainsi que la figure ci-après :



**Figure 21.** Répartition des LCR positifs en fonction de l'origine infectieuse et germes détectés

La figure 21 montre que :

- ✚ L'entérovirus représente presque 2/3 (20/31) des étiologies virales.
- ✚ Le pneumocoque représente plus de 1/3 (8/17) des étiologies bactériennes.

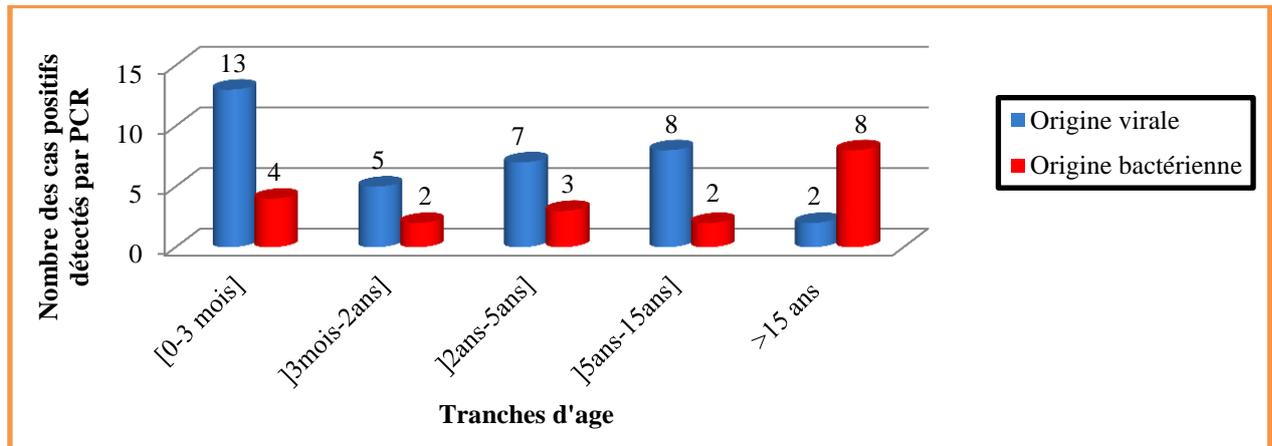
Ces résultats correspondent à ceux de la littérature :

- les méningites virales sont causées principalement par l'entérovirus (**Logan et MacMahon,2008**).
- Les méningites bactériennes sont causées essentiellement par le pneumocoque (**van de Beek et al.,2016**).
- La PCR multiplex a pu identifier trois cas de coïnfection à entérovirus : 1 cas Entérovirus+HHV6 et 2 cas Entérovirus+S.pneumoniae. Ces résultats sont proches de celles de **Hanson et al.** en 2016, dont ils ont évalué un panel PCR multiplexé pour la détection de 16 agents pathogènes bactériens, viraux et fongiques dans le liquide céphalorachidien dont l'identification de plus d'un organisme a concerné 6% (20/342) des échantillons.

## 6. Origines infectieuses et tranches d'âge

Dans notre étude, l'âge moyen était de 19 ans 3 mois et 20 jours avec des âges extrêmes de 1 jour et 79 ans.

Les résultats de la répartition des prélèvements positifs en fonction des tranches d'âge et de l'origine infectieuse sont représentés dans la figure suivante :



**Figure 22.** Répartition des LCR positifs selon l'origine infectieuse et tranches d'âges

En terme d'âge, nous constatons que :

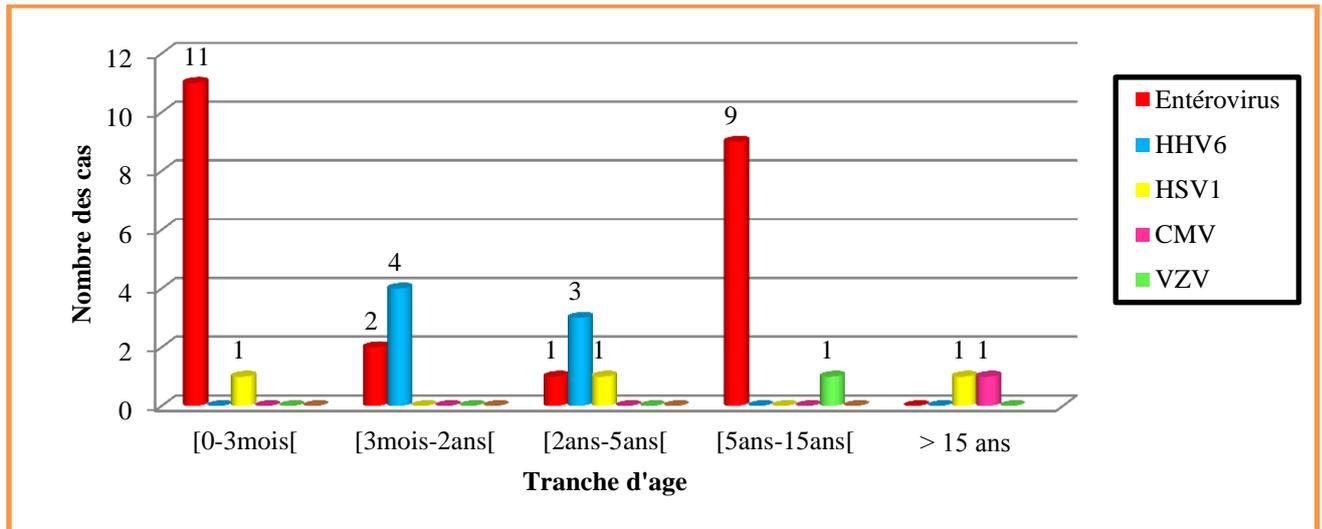
- Les méningites touchent essentiellement les enfants (44/54) et particulièrement les nouveaux nés (0-3mois) (17/54). Cette prédominance pourrait s'expliquer par une résistance moindre du fait d'une immaturité du système immunitaire.

Ce résultat rejoint d'une certaine manière ceux obtenus lors de la répartition des prélèvements positifs en fonction du service où 76% des prélèvements provenaient de la pédiatrie.

- Les méningites chez l'enfant sont beaucoup plus d'étiologies virales (33/44) contrairement à celles de l'adulte où les étiologies bactériennes prédominent (8/10).

### 6.1. Etiologies virales et âges

Les résultats de la répartition des LCR positifs en fonction de l'âge et des étiologies virales sont illustrés dans la figure ci-après :



**Figure 23.** Répartition des LCR positifs en fonction de l'âge et des étiologies virales

Dans le cas des méningites virales, l'entérovirus est l'étiologie la plus fréquente (23/35) en particulier chez le nouveau-né 11/23 et l'enfant de [5-15 ans [ (9/23) suivi par l'HHV6 (7/35).

Les résultats obtenus sont comparés à ceux obtenus lors de l'étude de **Lagae et al.,2016** sur les infections néonatales précoces à entérovirus où il était détecté chez les nouveaux-nés dans 30% des cas.

L'étude de **Cherry et Krogstad, 2011** sur les infections à entérovirus, prouve que la fréquence et la gravité des infections à ce dernier sont inversement proportionnelles à l'âge du sujet. L'absence de pléiocytose chez certains nouveau-nés peut être expliquée par une immaturité immunologique, les cytokines nécessaires au recrutement des leucocytes sur le site infectieux n'étant pas encore suffisamment développées (**Yun et al.,2012**).

La primo-infection, qui survient principalement durant les trois premières années de vie, est due au HHV-6B. Elle se caractérise par un bref exanthème appelé roséole. Le virus reste ensuite latent sous la forme d'un épisode dans le noyau des cellules infectées (lymphocytes, les monocytes, certaines cellules épithéliales et, en particulier les cellules des glandes salivaires). Sa réactivation chez les sujets immunocompétents est généralement asymptomatique, tandis que sa réactivation chez les patients immunodéprimés peut provoquer des pathologies (une encéphalite, un retard à la sortie d'aplasie, une hépatite) (**Agut,2015**).

Les autres étiologies virales étaient représentées par :

- Le cytomégalovirus (CMV) qui a été identifié chez un patient immunodéprimé de 29 ans et présentant en plus une méningite tuberculeuse. C'est le virus le plus invasif vu sa capacité élevés

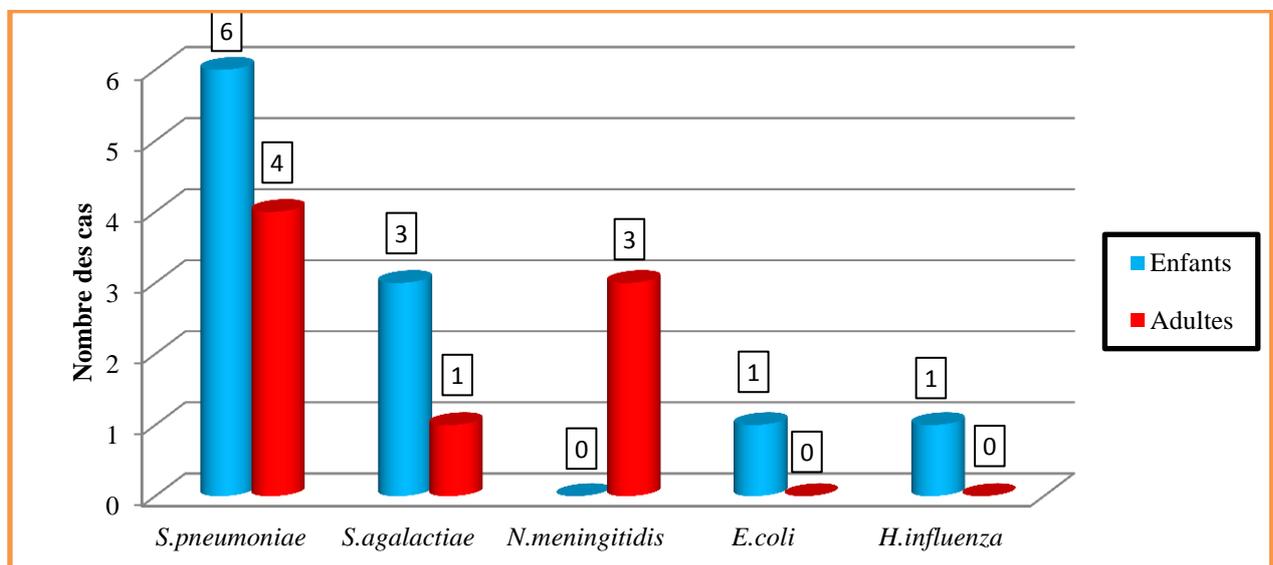
à s'échapper au système immunitaire de l'hôte en détournant la machinerie cellulaire de cette dernière. Il est opportuniste chez les individus immunodéprimés (Plosa et al.,2012).

- Le virus varicelle zona (VZV) a été identifié chez une fille de 13 ans présentant un zona. Ce virus infecte les enfants (primo-infection) sous forme de varicelle puis établit une phase de latence dans les ganglions nerveux sensitive rachidiens et crâniens et donne plus tard par réactivation le zona (Levy et al.,2014).

- Le HSV 1, a été identifié chez 3 patients de 2 mois, 3 ans, 35 ans. Cela s'accord avec la littérature : vers 6 mois à un an, après la perte des anticorps maternels, la plupart des individus s'infectent par le HSV-1 à partir de l'excrétion salivaire d'une personne de l'entourage, enfant ou adulte, elle se manifeste par un bouquet de vésicules à la jonction de la peau et de la muqueuse buccale et sur le bord des lèvres. Chez l'adulte, la multiplication intracérébrale du HSV-1 au niveau des neurones est liée à une encéphalite herpétique touchant des individus immunocompétents et survient généralement au cours de réactivations virales (Arduino and Porter,2008).

## 6.2. Etiologies bactériennes et âges

Les résultats de la répartition des LCR positifs en fonction de l'âge et des étiologies bactériennes sont illustrés dans le tableau et la figure ci-après :



**Figure 24.** Répartition des LCR positifs en fonction de l'âge et des étiologies bactériennes.

Selon la figure ci-dessus, nous remarquons que :

- ✚ *S.pneumoniae*, *S.agalactiae* et *N.meningitidis* sont les trois principales étiologies responsables de méningites bactériennes.

- Le *S.pneumoniae* est responsable de méningites chez l'enfant et chez l'adulte contrairement au méningocoque n'affectant que l'adulte (N=3 : 19 ans, 20 ans, 54 ans).

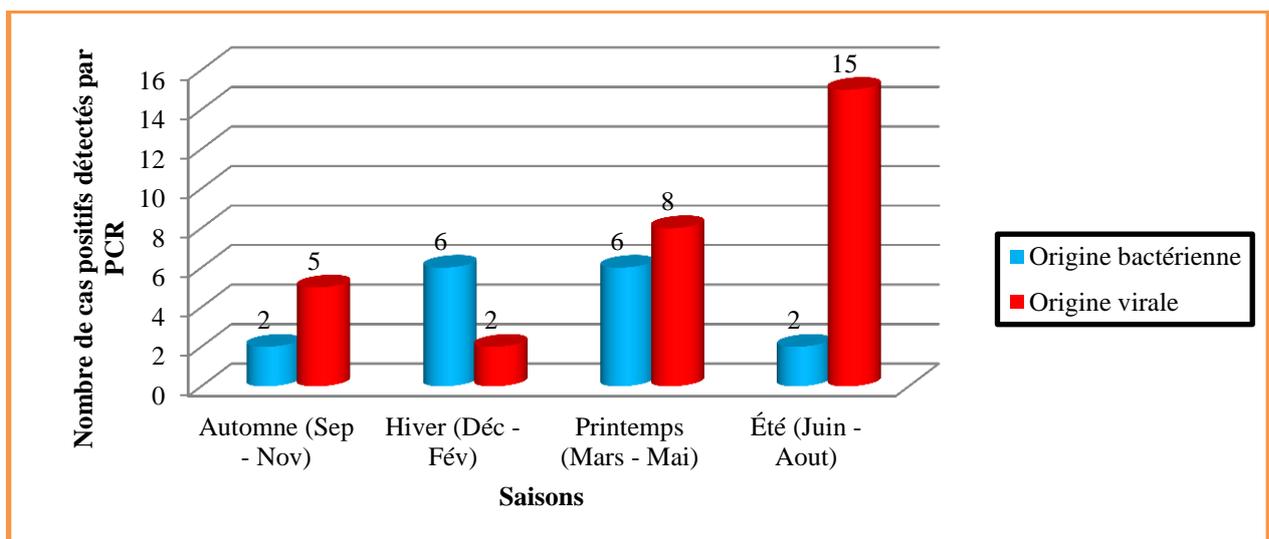
Les résultats obtenus concordent à ceux de l'étude de **Bijlsma et al.,2016** sur les méningites bactériennes communautaires chez l'adulte aux Pays-Bas sur une cohorte entre 2006-2014 dont l'âge été > 16 ans d'où le germe causatif le plus fréquent était *Streptococcus pneumoniae*, cela pourrait s'expliquer par le fait que les patients présentant un facteur de risque tel qu'une otite, sinusite ou un état immunodéprimé sont plus susceptibles de présenter une méningite à pneumocoque (**Revest et Michelet,2009**).

Les étiologies bactériennes des méningites néonatales identifiées sont *S.agalactiae* (N= 2 : 30 jours, 36 jours) et *E.coli K1* (N=1 : 1 jour). L'étude de **Chemsi et Benomar,2015** sur les infections bactériennes néonatales précoces a révélé une concordance avec nos résultats. Le *Streptococcus agalactiae* a représenté la première étiologie et son origine est une contamination du liquide amniotique par des germes provenant du tractus génital (**Six et al.,2014**).

- Les autres étiologies bactériennes sont *S.agalactiae* (N=2 : 5ans immunodéprimé, 21 ans hospitalisé en réanimation médicale) et *H.influenzae* (N=1 : 5ans immunodéprimé).

### 7. Origines infectieuses et saisons

En ce qui concerne cette rubrique, le choix s'est arrêté délibérément sur une période de deux ans allant du 1 juin 2017 au 1 juin 2019, au cours de laquelle, il a été enregistré 46 LCR positifs sur les 51 LCR positifs objet de notre étude. Les résultats obtenus sont démontrés dans la figure suivante :



**Figure 25.** Répartition des LCR positifs en fonction de l'origine infectieuse et saison

La figure indique que les méningites communautaires apparaissent au cours de toutes les saisons.

- Concernant la méningite virale, une recrudescence est notée pendant l'été et le printemps.

Ce résultat est compatible à celui trouvé par **Rozenberg,2002** lors de son étude réalisée sur les infections neuroméningées virales aiguës, montrant que ces dernières culminent pendant l'été et le printemps.

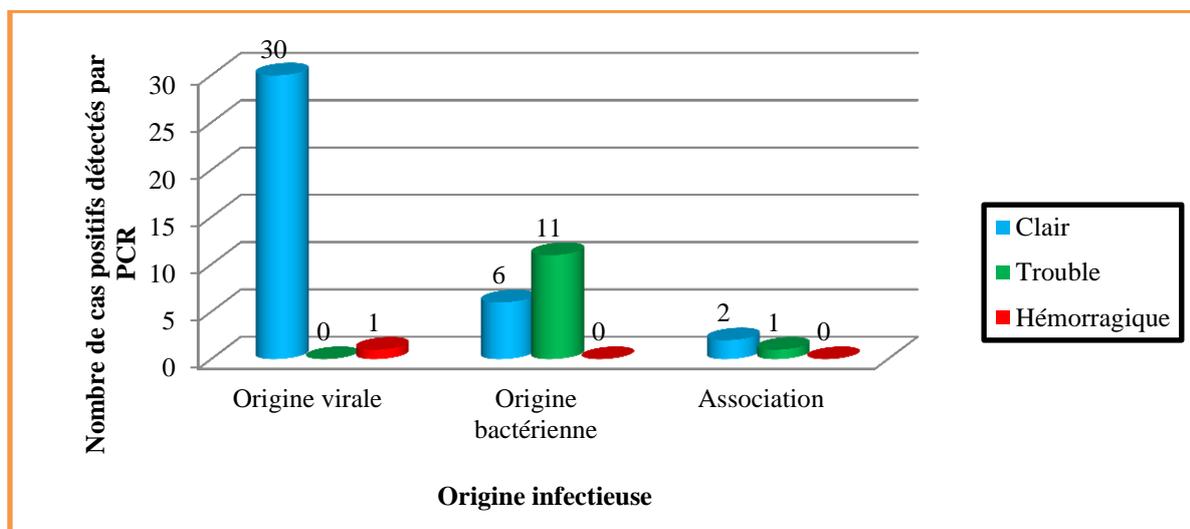
Dans une autre étude menée à Fès (Maroc) par **Idir,2012** a noté lui aussi la présence de deux pics dont l'un au printemps (32%) et l'autre en automne (26,4%). Par contre, d'autres études se contrastent avec ces résultats. En effet, celles réalisées par **Shah et al.,2006** ont montré une recrudescence de la méningite virale en été.

✚ Tandis que la méningite bactérienne sévit essentiellement au cours de la période hivernale et printanière. Cela peut être expliqué par l'augmentation de la fréquence des infections respiratoires aiguës pendant ces périodes.

**Astruc,2010** a remarqué lors d'une étude réalisée au Maroc, que les taux les plus élevés sont notés en automne et en hiver.

### 8. Origines infectieuses et aspect macroscopique du LCR :

La figure 26 démontre les résultats de la répartition des prélèvements positifs selon l'aspect macroscopique et l'origine infectieuse.



**Figure 26.** Répartition des LCR positifs en fonction de l'aspect macroscopique et de l'origine infectieuse.

Selon les résultats obtenus :

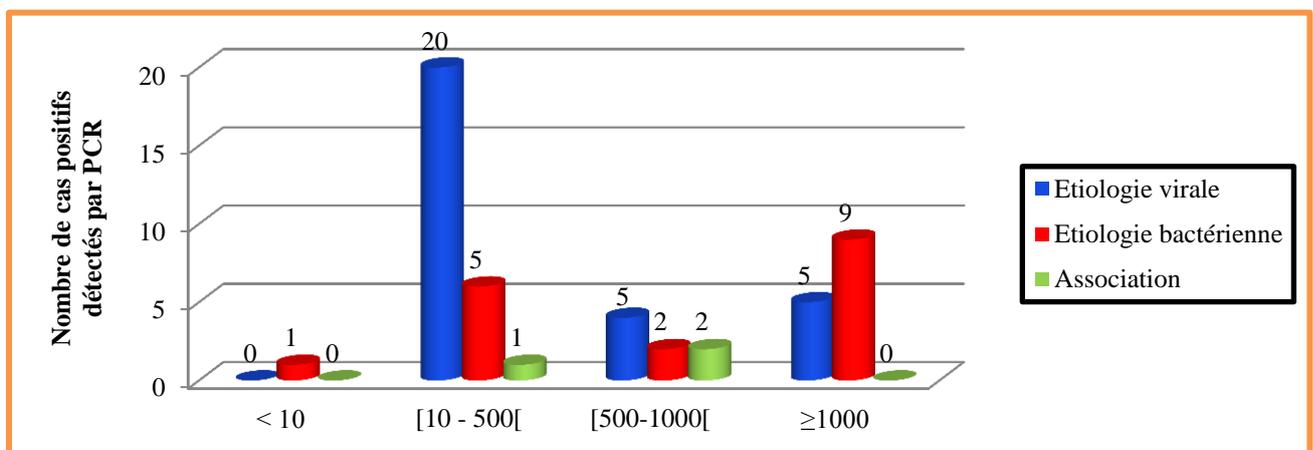
✚ Presque la totalité des méningites virales sont des méningites à liquide clair (30/31).

✚ Le LCR dans le cas des méningites bactériennes est :

- soit trouble (11/17), cet aspect est expliqué par l'hyperleucocytose présente dans le LCR lors des méningites purulentes. Dans l'étude de **Pusponegoro et al.,2011**, sur les méningites bactériennes, 8/11 cas avait un LCR d'aspect trouble ; ce qui concorde avec les résultats trouvés.
- ou clair (6/17) qui peut être lié à un début de méningite purulente ou à une méningite bactérienne décapitée (**Maiden et al., 2008**).

### 9. Origines infectieuses et cellulorachie :

Parmi les 51 LCR positifs, seul le prélèvement hémorragique a été écarté de l'étude cytologique. Les résultats obtenus figurent dans le tableau :



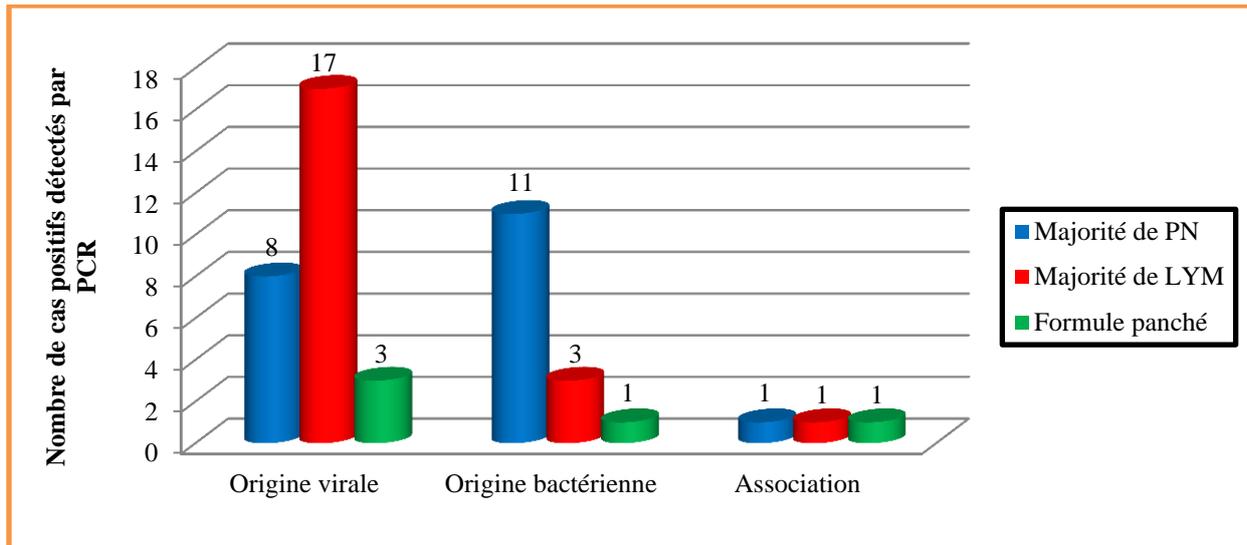
**Figure 27.** Répartition des LCR positifs en fonction de l'origine infectieuse et cellulorachie

Dans les méningites virales, la cellulorachie est dans majorité des cas (20/30) comprise entre 10 et 500 éléments/mm<sup>3</sup>, cependant pour 2 méningites à HHV 6 et 3 à Entérovirus elle dépasse 1000 éléments/mm<sup>3</sup>.

Dans les méningites bactériennes, la cellulorachie dans la majorité des cas (11/17) dépasse 500 éléments/mm<sup>3</sup> (dont 9 dépasse même 1000 éléments/mm<sup>3</sup>), cependant 5 cas de méningites bactériennes ont présentés une cellulorachie entre 10-500 éléments/mm<sup>3</sup>.

### 10. Origines infectieuses et formule leucocytaire du LCR:

La formule leucocytaire n'était réalisée que pour 46 prélèvements de LCR positifs. Les résultats obtenus sont présentés dans la figure



**Figure 28.** Répartition des LCR en fonction de l'origine infectieuse et formule leucocytaire

La formule leucocytaire est à prédominance neutrophile dans 11/15 cas des méningites bactériennes alors que dans 17/28 cas des méningites virales sont à prédominance lymphocytaire. Ces résultats concordent à ceux de **Viallon et al.,2011** sur les valeurs de marqueurs cytochimiques pour le diagnostic différentiel des méningites d'où ils ont trouvé que la méningite bactérienne est caractérisée par une prédominance neutrophile et la méningite virale est caractérisée par une prédominance lymphocytaire. Aussi ; comme le cas de notre étude, les résultats de **McGill et al.,2017** sur les méningites virales, prouvent que cette dernière est à prédominance neutrophile au début de la maladie et peut être à prédominance lymphocytaire après son évolution et particulièrement en cas de méningite virale due à l'Entérovirus. L'étude de **Sebastiaan et al.,2014** sur la méningite bactérienne prouve que cette dernière est à prédominance neutrophile avec un taux > à 80%.

Ces résultats concordent avec les données de la littérature :

- La formule leucocytaire peut être à prédominance neutrophile lors du début des méningites virales (8/20).
- La formule leucocytaire peut être lymphocytaire en cas de début de méningite bactérienne ou en cas de début de traitement (3/15).

### 11. Origines infectieuses et biochimie du LCR:

Les résultats de l'analyse biochimique du LCR sont représentés dans le tableau :

**Tableau 11.** Répartition des LCR positifs en fonction de l'origine infectieuse et biochimie du LCR

Etiologie \ Biochimie	Virale	Bactérienne	Association (V/V,B/V)	Total
Normoglycorachie.Normoprotéïnorachie	7	2	1	10
Normoglycorachie.Hyperprotéïnorachie	19	1	2	22
Hypoglycorachie.Normoprotéïnorachie	0	1	0	1
Hypoglycorachie.Hyperprotéïnorachie	1 <sup>a</sup>	11	0	12
<b>Total</b>	27	15	3	45

<sup>a</sup> : Méningite tuberculeuse + méningite à CMV.

✚ Dans les méningites virales :

- La glycorachie est normale dans la majorité des cas (26/27).
- L'hyperprotéïnorachie est observée seulement dans (20/27) des cas. Les 7 méningites virales associées à une normoprotéïnorachie sont dues à l'entérovirus.
- Les méningites bactériennes, dans la plus part des cas (11/15), sont associées à une hypoglycorachie et une hyperprotéïnorachie. Ces résultats étaient comparés à l'étude de **Tamune et al.,2013** (le rapport liquide céphalo-rachidien / glucose sanguin) dont ils ont constaté une hypoglycorachie ; indicateur de la méningite bactérienne. Aussi, l'étude de **Shrikanth et al.,2015** prouve que l'hypoglycorachie est associée à une méningite bactérienne d'une part (25%) mais aussi elle est due à la tuberculose ou à CMV dans 4/5 cas étudié. L'hypoglycorachie comprend l'inhibition de l'entrée du glucose dans les espaces sous-arachnoïdiens en raison d'altérations de la barrière hémato-encéphalique, du taux accru de transport du glucose entre les villosités arachnoïdiennes, de la glycolyse accrue par les leucocytes et les bactéries, à une augmentation du taux de métabolisme dans le cerveau et la moelle épinière (**Dzupova et al.,2009**).

❖ La cellulorachie, la formule leucocytaire et la biochimie du LCR permettent une orientation du diagnostic mais jamais un diagnostic de certitude.

20/43 PCR négatives étaient associées à une cellulorachie et une biochimie anormale. La négativité de ce test était aussi une information importante permettant un diagnostic d'élimination (adaptations du traitement anti-infectieux ou orientation vers une étiologie non infectieuse).

Les méningites et les méningo-encéphalites sont des infections du système nerveux central qui peuvent laisser des séquelles grave notamment la méningite bactérienne qui a des seuils de morbidité et de mortalité très élevé de ce fait leurs diagnostic biologique, leurs prise en charge et leurs traitement sont une urgence médicale.

L'intégration de la PCR multiplex en temps réel dans le domaine de microbiologie à faciliter énormément la détection des différents germes causant les méningites et l'encéphalite (virus, bactéries et levures) où elle a permis de détecter 10 fois plus d'étiologies virales et bactériennes avec une spécificité (99.8% pour les bactéries et 99.7% pour les virus) et une sensibilité (100% pour les bactéries et de 97.3% pour les virus) ainsi que des coïnfections (Entérovirus/HHV 6 dans 1 cas ; Entérovirus/*Streptococcus pneumoniae* dans 2 cas) non détectés par culture.

La comparaison des résultats de la culture aux résultats de la PCR multiplex en temps réel rend cette dernière la meilleure technique de dépistage permettant :

- De donner un résultat rapide en 1 heure.
- Une recherche simultanée de différents germes causaux.
- Une détection des acides nucléique persistant dans le LCR en cas des méningites décapités.

Toutefois, le résultat négatif n'exclut pas la possibilité d'une infection due à un agent pathogène ne figurant pas dans le panel FMEP c'est les cas des oreillons, de tuberculose et de syphilis nécessitant des PCR spécifiques.

Glossaire  
Liste des abréviations  
Liste des figures  
Liste des tableaux  
Résumé  
Introduction

## Chapitre I : synthèse bibliographique

**I. Rappel anatomo-physio-pathologique**

1. Les méninges ..... 3  
2. Le liquide céphalo-rachidien ..... 4  
3. Survenu de l'infection..... 5

**II. Définition et classification des méningites**

1. Définition .....6  
2. Classification .....6

**III. Epidémiologie**

1. Mode de transmission  
1.1. Méningites bactériennes..... 7  
1.2. Méningites virales..... 8  
2. Facteurs favorisant la survenue des méningites communautaires ..... 8  
3. Données épidémiologiques  
3.1. Dans le monde ..... 8  
3.2. En Algérie..... 9

**IV. Signes cliniques** ..... 9

**V. Agents étiologiques**

1. Méningites purulentes..... 10  
2. Méningites et méningo-encéphalites à liquide clair  
2.1. Méningites et méningo-encéphalites virales..... 10  
2.2. Méningites bactériennes

**VI. Ponction lombaire**

1. Définition ..... 12  
2. Réalisation de la ponction lombaire..... 12

**VII. Diagnostic conventionnel de la méningite**

1. Bilan biologique..... 13  
2. Aspect macroscopique du LCR ..... 13  
3. Mise en culture ..... 14

---

## VIII. Diagnostic moléculaire de la méningite

1. Définition de la PCR.....	14
2. Etapes de la réalisation de la PCR .....	14-16
3. Types de la PCR	
3.1. PCR conventionnel .....	16
3.2. PCR en temps réel .....	16
3.3. PCR multiplex .....	16
3.4. Revers transcription PCR .....	17
3.5. Nested PCR.....	17

## Chapitre II : matériel et méthodes

### I. Matériel

1. Matériel biologique	
1.1. Echantillon analysé .....	19
1.2. Recueil des données.....	19
2. Matériel non biologique	
2.1. Matériel non biologique de la bactériologie classique.....	20
2.2. Matériel non biologique de la PCR multiplex .....	20
1. Diagnostic bactériologique conventionnel	
1.1. Aspect macroscopique du LCR .....	22
1.2. Mise en culture.....	22
1.3. Examen microscopique.....	22
2. Diagnostic par PCR .....	25
2.1. Protocole .....	26-28
2.2. Etapes de procédés d'analyse du Film Array méningite/encéphalite panel..	28-34

## Chapitre III : résultats et discussion

### I. Répartition des LCR selon le résultat obtenu par les techniques de dépistage

<b>utilisées.....</b>	<b>36-37</b>
1. Répartition des LCR selon le résultat obtenu par les techniques de dépistage utilisées dans le cas des méningites bactériennes .....	38

### II. Répartition des résultats positifs de PCR sur LCR

1. En fonction du service .....	39
2. En fonction du sexe.....	40
3. En fonction des germes détectés .....	40
4. En fonction de l'origine infectieuse.....	41
5. En fonction de l'origine infectieuse et agents étiologiques .....	42
6. En fonction de l'origine infectieuse et tranches d'âge.....	43

6.1. Etiologies virales et âge .....	44
6.2. Etiologies bactérienne et âge .....	45
7. En fonction de l'origine infectieuse et saison .....	46
8. En fonction de l'origine infectieuse et aspect macroscopique du LCR .....	47
9. En fonction de l'origine infectieuse et cellulorachie .....	48
10. En fonction de l'origine infectieuse et formule leucocytaire .....	49
11. En fonction de l'origine infectieuse et biochimie du LCR .....	50

Conclusion

Références

Annexes

---

*Chapitre I : Synthèse  
bibliographique*

# *Chapitre II : Matériel et méthode*

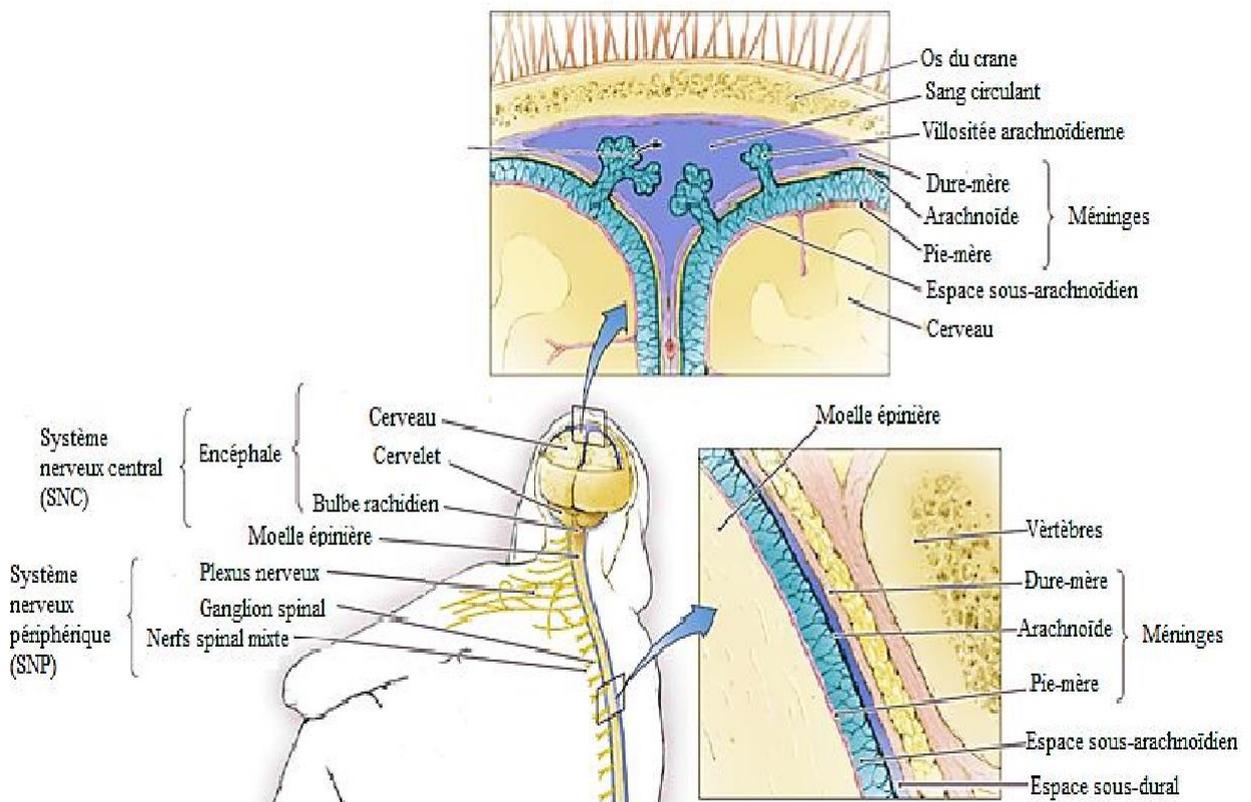
*Chapitre III :*  
*Résultats et*  
*discussion*

## I. Rappel anatomo-physiopathologique

### 1. les méninges

Sont des fines membranes entourant le cerveau et la moelle épinière, elles sont constituées de 3 couches : la pachyméninge (la dure mère) et la leptoméninge (arachnoïde et pie-mère) (figure 1); séparées par 3 espaces fondamentaux :

- L'espace épidual (extradural), entre l'os et la dure mère, au niveau du crâne et au niveau du rachis ; l'espace contient de la graisse et des veines.
- L'espace sou-dural, traversé par les veines du cerveau qui gagnent les sinus veineux.
- L'espace sous-arachnoïdien compris entre la pie-mère et l'arachnoïde, cloisonné par les travées de ce dernier qui contiennent le liquide céphalorachidien (LCR) (Saidi et Boukerche,2013).



**Figure 1.** Anatomie des méninges (Bauman,2011).

## 2. Le liquide céphalo-rachidien

Le liquide céphalorachidien (LCR) est un liquide entourant tout le système nerveux central; sa composition chimique ressemble à celle du plasma ; il est produit par filtration du sang, et secrété au niveau des plexus choroïdes situés à proximité des ventricules qui forment des cavités à l'intérieur du cerveau dont la parois est tapissées par des cellules appelées les épendymocytes ayant une propriété de motricité permettant le passage du LCR dans l'espace sous arachnoïdien, ce dernier est doté des granulations arachnoïdiennes (villosités arachnoïdiennes) permettant la sécrétion du LCR en dehors de l'espace sous arachnoïdien permettent la régulation de son volume et sa pression (figure 2).

Le LCR normal est un liquide d'aspect clair, limpide, qualifié d'eau de roche et stérile et toute perturbation de ce liquide est associé à un syndrome méningé et à un état infectieux se traduira par une méningite (Sakka, Coll et Chazal,2011).

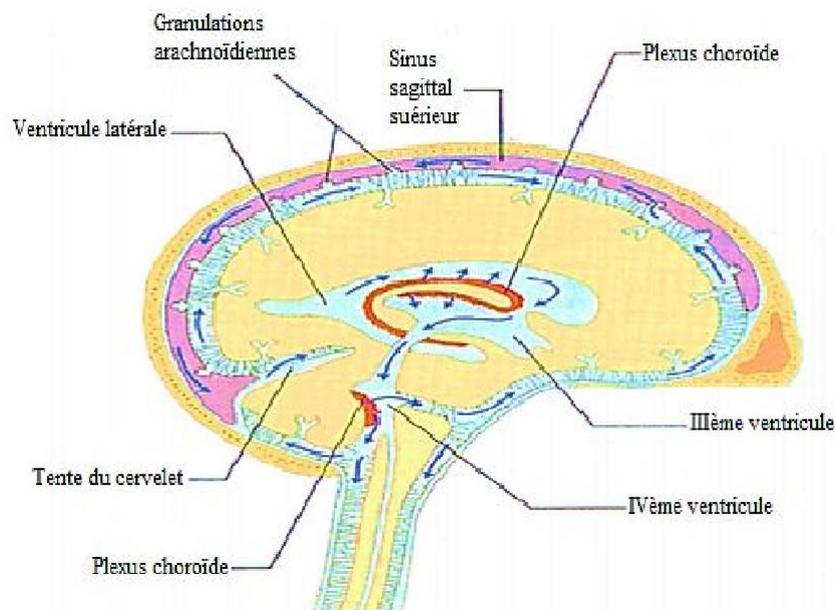


Figure 2. Circulation du LCR dans le cerveau (Saidi et Boukereche, 2013).

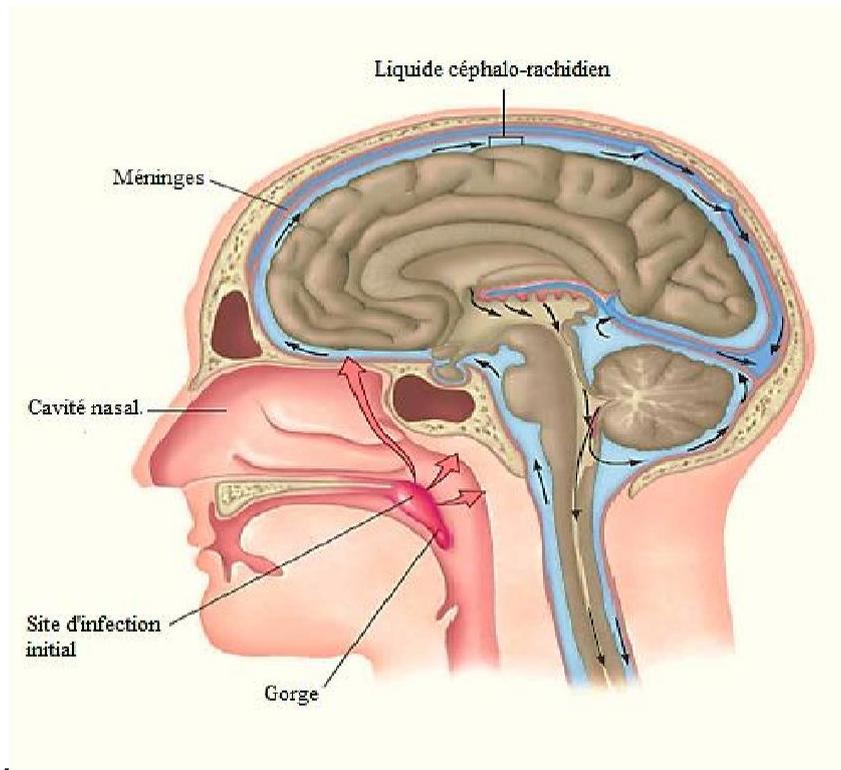
### 3. Survenue de l'infection

**Colonisation de l'hôte par le pathogène :** initialement ; les germes neurotropes colonisent les surfaces épithéliales soit dans les voies respiratoire ou les voies gastro-intestinal ou génital inférieures avant de passer dans le sang (Wijdiicks et al., 2016).

**Survie dans le sang :** grâce aux capsules polysaccharidiques présentent à la surface des bactéries et les capsides entourant le génome virale ainsi que la production des virions, le potentiel de pathogénicité de ces germes infectieux est élevé et se traduit par une résistance face aux cellules présentent dans la circulation sanguine (macrophage) ; cellules tueurs naturelles (NK) ; polynucléaires neutrophiles), permettant alors le franchissement de la barrière hémato-méningée donnant une méningite ou la barrière hémato-encéphalique donnant une méningo-encéphalite (Wijdiicks et al., 2016).

**Entrée dans le système nerveux centrale (SNC) :** la pénétration des germes dans l'espace sous arachnoïdien est assurée par une phase de bactériémie ou de virémie favorisée par l'interaction entre les composants de surfaces des germes infectieux et les récepteurs des cellules endothéliales de la barrière hémato-méningée (Koyuncu et al., 2013). Dans le LCR, les germes créent un intense processus inflammatoire provoquant une réponse de l'hôte consistant dans la production de cytokines par des cellules à activité macrophagique *in situ*, les principales sont les facteurs de nécrose tumorale (TNFalpha), interleukines 1 (IL1) et interleukine 6 (IL6)(Wijdiicks et al., 2016). Celle-ci se marque par l'afflux de polynucléaires (figure3).

---



**Figure 3.** Dissémination du méningocoque d'une infection rhinopharynx (Talaro et Chess, 2017).

## **I. Définition et classification des méningites**

### **1. Définition**

La méningite est une inflammation des fines membranes entourant le cerveau et la moelle épinière appelés les méninges. Elle résulte de la pénétration d'une multitude d'agents infectieux souvent des virus ou des bactéries à travers la barrière hémato-méningée. Ces microorganismes sont responsables de deux grandes entités ayant des manifestations cliniques, des traitements et des pronostics bien distincts, soit la méningite virale ou la méningite bactérienne (**Chavanet et al., 2007**).

La méningo-encéphalite est une inflammation du parenchyme cérébral provoqué par la pénétration de germes pathogènes neurotropes à travers la barrière hémato-encéphalique. C'est une maladie du cortex cérébral qui provoque une altération de l'état mental et des signes neurologiques locaux ou diffus peuvent être observés (**Heyderman, 2005**).

### **2. Classification**

- a. Selon les étiologies infectieuses, les méningites se répartissent en trois groupes :
    - Les méningites virales généralement bénignes et d'évolution spontanée favorable.
    - Les méningites fongiques, rares et le plus souvent liées à une immunodépression.
    - Les méningites bactériennes, rares et graves (**Mariani-Kurkdjian, Bonacorsi et Bingen, 2016**).
  - b. Selon l'aspect macroscopique du LCR, on distingue des méningites purulentes et des méningites à liquide clair.
  - c. Selon l'origine de l'infection et les conditions de survenue, on distingue parmi les méningites bactériennes :
    - les méningites primitives communautaires: l'infection est acquise en dehors d'une structure de santé ou un geste de soins. Elles sont dues à des bactéries encapsulées dont le portage est strictement humain (**Mariani et al., 2018**).
    - les méningites secondaires nosocomiales liées aux soins : l'infection est contractée dans un établissement de santé et/ou suites à un acte de soin. Elles sont dues à des germes hospitaliers souvent résistants à savoir : Entérobactéries (*KES* : *Klebsiella* *Enterobacter* *Serratia*), *Pseudomonas* *Acinetobacter* et *Staphylococcus aureus*/*Staphylococcus epidermidis* (**Mariani et al., 2018**).
-

### III. Epidémiologie

#### 1. Mode de transmission

La transmission varie selon l'agent causal :

##### Méningites bactériennes

Il existe plusieurs modes de transmission dont :

**La transmission interhumaine :** Il s'agit d'une transmission directe concernant essentiellement les bactéries commensales des voies respiratoires supérieures de l'homme (*Neisseria meningitidis*, *Haemophilus influenzae* et certains pneumocoques). Après inhalation des gouttelettes d'un sujet infecté ou de porteur asymptomatique et suite à une simple rhino pharyngite, ou pneumonie, la bactérie s'étend par voie hématogène (bactériémie) vers l'espace méningé (**Maiden et al., 2008**).

**La transmission par contiguïté :** Dans laquelle un foyer infectieux (en particulier ORL tels qu'otite ou mastoïdite) ou un simple portage s'étend à l'espace méningé, souvent du fait d'une brèche ostéoméningée préexistante (ex ; *Streptococcus pneumoniae*) (**Serrazin, Bonneville and Martin-Blondel, 2012**).

##### La transmission materno-fœtale :

— Par voie ascendante : Il s'agit d'une contamination du liquide amniotique par des germes provenant du tractus génital. C'est le mode de contamination le plus fréquent (en particulier pour le *Streptococcus agalactiae*) (**Six et al., 2014**).

— Par voie hématogène transplacentaire : Il s'agit d'une contamination du fœtus à partir du placenta suite à une bactériémie maternelle. C'est la plus fréquente au cours des listérioses (**Six et al., 2014**). La voie ascendante et la voie hématogène transplacentaire sont responsables d'un syndrome précoce survenant au cours de la première semaine de vie « 72 premières heures » (**Six et al., 2014**).

— Par voie per natale : C'est la contamination du nouveau-né, au cours du passage dans la filière génitale, suite à la déglutition du liquide amniotique infecté ou contaminé par les germes présents dans la flore vaginale. Elles sont dues principalement à *Streptococcus agalactiae* et *Escherichia coli*. C'est un syndrome tardif se déclarant de 7 jours à 3 mois après la naissance (**Bidet et al., 2014**).

**La transmission alimentaire :** *Listeria monocytogenes* se transmet par voie digestive lors de la consommation de laitages ou de charcuteries contaminés et touche exceptionnellement le sujet âgé et l'immunodéprimé (**Leclercq et al., 2017**).

---

## 1.2. Méningites virales

La transmission se fait par contact direct avec de la salive, des expectorations, du mucus nasal et des objets contaminés. Les nourrissons et les jeunes enfants qui mettent les jouets dans leur bouche ou partagent leurs couverts peuvent s'infecter mutuellement (**Logan et Mac Mahon, 2008**).

## 2. Facteurs favorisant la survenue des méningites communautaires

— Les brèches neuroméningées traumatiques (méningite à pneumocoque) (**Klossek, 2009**).

— Les localisations infectieuses primitives (sinusites, otites) peuvent être considérées comme la porte d'entrée des germes causaux de la méningite (**Revest, 2009**).

— La promiscuité dans les collectivités (en particulier au niveau des crèches, écoles...) favorise la survenue des méningites bactériennes et virales (**Revest, 2009**).

— L'âge > 60ans, l'immunodéficience, le diabète, le cancer, l'HIV sont des facteurs prédisposant de méningites bactériennes communautaires (**Revest, 2009**).

— Les éléments intervenant sur le taux de contamination du nouveau-né et majorant le risque de développer une infection materno-fœtale à *Streptococcus agalactiae* et *Escherichia coli K1* sont la présence du germe dans les voies génitales maternelles lors de l'accouchement et l'importance quantitative de la colonisation.

## 3. Données épidémiologiques

### 3.1. Au niveau mondial

La méningite reste une cause importante de morbidité et de mortalité, bien qu'elle soit une maladie à déclaration obligatoire dans de nombreux pays, les chiffres épidémiologiques exacts ne sont pas connus (**Logan et Mac Mahon, 2008**).

L'origine virale des méningites infectieuses reste la plus fréquente (70 à 80% des cas) avec un pronostic généralement favorable. Elle se rencontre généralement l'été et au début de l'automne. Elle touche tous les groupes d'âge, mais plus souvent les enfants de moins de 10 ans (**Logan et Mac Mahon, 2008**).

Les Entérovirus sont responsables de 85% des méningites virales durant toute l'année dans les régions tropicales ; tandis que les Oreillons sont responsables de 10% des méningites virales dans les régions non vaccinées. 5% des méningites virales sont causées par les Arbovirus aux USA alors que Herpes virus est responsable que de 4% des MV (**Segondy, 2017**).

---

Bien que la méningite bactérienne ne soit responsable que de 20 à 25% des cas, la mortalité qui lui est associée est très importante et les survivants présentent relativement souvent des séquelles neurologiques importantes (30%) (Matthijs et al., 2010).

L'incidence des méningites bactériennes varie considérablement d'un pays à l'autre, selon le développement, les conditions socio-économiques, l'âge et de nombreux autres facteurs. Dans les pays industrialisés elle est de 2,5 à 10 pour 100.000 habitants alors qu'elle est 10 fois plus élevée dans les pays en développement. Les deux tiers de ces méningites surviennent chez les enfants âgés de moins de 5 ans.

### 3.2. En Algérie

En 2011, le nombre de méningites survenues en Algérie a été estimé à 5284 cas (O.N.S). – Le taux d'incidence des méningites bactériennes purulentes a connu une baisse significative, passant de 7,16 cas pour 100.000 habitants en l'an 2000 à 1,87 cas pour 100.000 habitants en 2007. Aucune épidémie n'a été signalée au cours de l'année 2007, hormis quelques cas sporadiques, notamment dans les wilayas du sud (I.N.S.P, 2007).

Les bactéries impliqués sont par ordre de fréquence le *Streptococcus pneumoniae* (suite à l'émergence de souches résistantes), *Neisseria meningitidis* et *Haemophilus influenzae b* (Hib) en dernier « 1 seul cas en 2016 » ce qui pourrait être expliqué par l'instauration de la vaccination anti Hib (O.M.S).

En 2016, 73,4 % des souches de pneumocoques et 2/5 des souches de méningocoques isolées à partir du LCR étaient de sensibilité diminuée à la pénicilline G.

La mortalité globale est de 4 à 8% même avec un traitement approprié (O.M.S).

## II. Signes cliniques

Plusieurs données cliniques sont évocatrices d'une atteinte encéphalique à savoir: (Zaoui, Nasser et Touaz, 2016).

- Troubles variables et prolongés de la conscience.
- Crises convulsives (parfois état de mal épileptique).
- Signes de localisation neurologique focaux.
- Troubles de l'équilibre, atteinte des paires crâniennes.
- Modifications durables du comportement, troubles mnésiques ou du langage.
- Troubles hémodynamiques.

Des symptômes différents selon l'âge du patient marquent la méningite (tableau 1).

---

Tableau 1 : signes cliniques en fonction de l'âge

**Tableau 1.** Signes cliniques en fonction de l'âge (Fitch et Van de Beek, 2007).

<b>Chez le nourrisson</b>	Irritabilité, prise alimentaire insuffisante, fièvre, hypothermie
<b>Chez l'enfant</b>	Fièvre, maux de tête intenses, vomissements
<b>Chez l'adulte</b>	Fièvre, céphalées, raideur de nuque, altération de l'état de conscience, photophobie.

## V. Agents étiologiques

Les étiologies des méningites sont différentes de celles des méningo-encéphalites. L'épidémiologie varie selon l'âge du patient, le terrain (statut immunitaire) et l'origine géographique.

### 1. Méningites purulentes

Ce sont des méningites bactériennes à LCR purulent, constituant une urgence médicale mettant en jeu le pronostic vital dont la létalité reste élevée.

Les étiologies de méningites purulentes sont dominées par *S. pneumoniae*, *N. meningitidis*, et *H. influenzae* type b dans une proportion qui dépend de l'âge des sujets.

D'autres germes tels que *Streptococcus agalactiae*, *Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes*, et *Escherichia coli* de nombreuses bactéries à Gram négatif (entérobactéries) sont également isolés.

Avant la vaccination, *Haemophilus influenzae* était l'agent le plus fréquent responsable de méningite chez les enfants de moins de 5 ans (annexe 2, tableau 2).

### 2. Méningites et méningo-encéphalites à liquide clair

Les méningites à LCR clair regroupent les méningites et les méningo-encéphalites essentiellement communautaires. Les étiologies sont diverses (virales, bactériennes ou mycosiques). La majorité d'entre elles sont virales et bénignes, d'autres peuvent être graves (tuberculose, listériose et herpès).

## Méningites et méningo-encéphalites virales

Les infections virales du SNC se manifestent sous des formes cliniques variées, selon qu'elles impliquent les méninges, le parenchyme cérébral et/ou la moelle épinière. Les méningites virales sont de loin les plus fréquentes et les plus bénignes (Rozenberg, 2002). Elles ne nécessitent généralement aucun traitement antiviral à l'exception des méningo-encéphalites herpétiques pour lesquelles un traitement à l'acyclovir est prescrit (Kimberlin, 2004).

Les virus, dits neurotropes, ont la capacité de pénétrer dans le SNC et être directement responsables de lésions à ce niveau. Il s'agit essentiellement de virus pouvant se propager par voie nerveuse tel que l'Herpès virus (HSV1), Cytomégalovirus (CMV), Virus de la varicelle et du zona (VZV), ou de virus véhiculés par le sang et pouvant passer la barrière hémato-encéphalique (BHE) ; il s'agit par exemple des Entérovirus. Aussi de nombreux virus sont susceptibles d'entraîner occasionnellement une méningite comme le virus ourlien (Myxovirus), virus de la rougeole (Measles Virus), virus de la rubéole, virus influenza (Segondy, 2017).

### **Méningites bactériennes**

Certaines méningites bactériennes se présentent sous forme de méningites à LCR clair de nature lymphocytaire, polynucléaire ou à formule mixte (panachée). Elles peuvent être graves et urgentes devant être évoquées en premier.

### **Méningite tuberculeuse**

Le bacille de Koch (*Mycobacterium tuberculosis*) est un bacille acido-alcool-résistant (BAAR). Il est responsable de méningites qui surviennent dans un délai variable après la primo-infection ayant donné suite à une dissémination, de 6 mois à 2 ans et parfois beaucoup plus.

La méningite tuberculeuse touche essentiellement l'enfant, les personnes âgées, les transplantés et les immunodéprimés (Cherian et Thomas, 2011).

### **Méningite listérienne**

Certaines méningites à *Listeria monocytogenese* fournissent un liquide clair. La méningite listérienne doit être systématiquement évoquée au delà de 60 ans, chez l'immunodéprimé, chez le nouveau-né et chez la femme enceinte (Pasquier et Chuad, 2017).

### **Méningite bactérienne décapitée**

Certaines méningites bactériennes peuvent être décapitées par un traitement antibiotique traversant la barrière méningée mais à posologie et durée insuffisante. Le LCR est clair mais fait de polynucléaires. Le germe est absent (examen direct, culture). Le diagnostic est redressé par la clinique, la recherche d'antigènes solubles dans le LCR et idéalement par le diagnostic moléculaire (Maiden et al., 2008).

---

## VI. La ponction lombaire

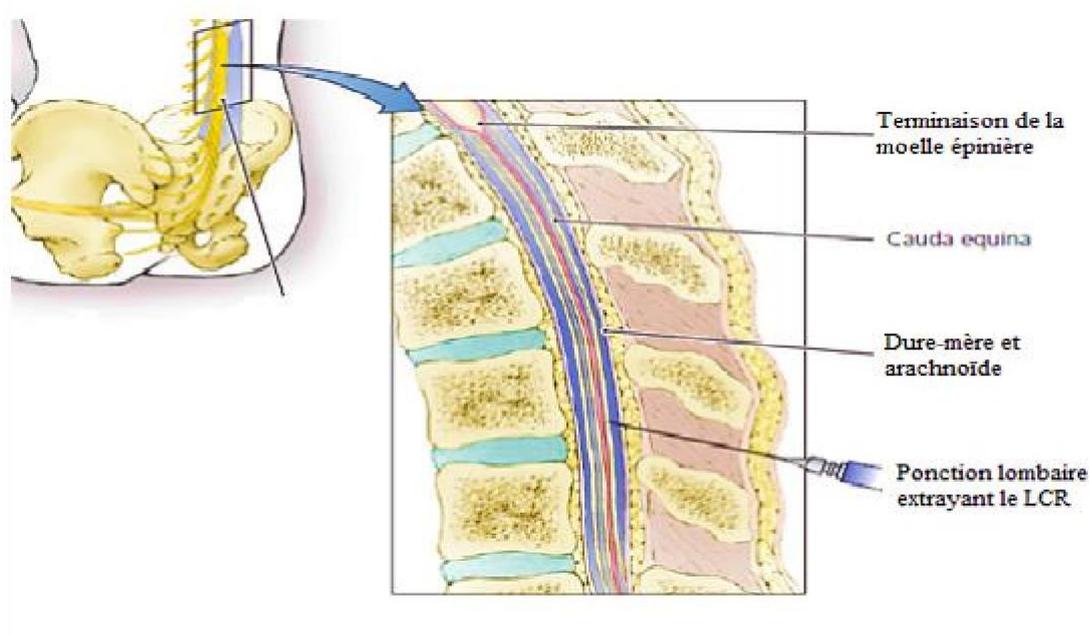
1. **Définition** : elle consiste à un prélèvement du LCR. Elle est indiquée dans plusieurs pathologies comme dans l'hydrocéphalie ou encore en cas de suspicion d'atteinte méningée, qu'elle soit (Chevallier et al.,2008):

— 1.1. Infectieuse : telle que la méningite et la méningo-encéphalite.

— 1.2. Inflammatoire : comme la myélite et toute autre manifestation clinique évoquant une inflammation (névrite optique).

— 1.3. Vasculaire : suspicion d'hémorragie méningée en cas de normalité du scanner cérébral.

2. **Réalisation de la ponction lombaire** : elle est réalisée entre les vertèbres lombaires : L3 et L4 ou L4 et L5 utilisant une aiguille fine après aseptie de la zone du prélèvement. Elle se fait en position assise ou en position latérale (Duval, 2015) (Figure 4).



**Figure 4.** Espace de réalisation de la ponction lombaire (Bauman,2017).

## VII. Diagnostic conventionnel de la méningite

### 1. Bilan biologique

Il consiste à réaliser deux bilans biochimiques : la glycorachie et la protéinorachie, dont les différentes variations aident à l'orientation vers un type précis de méningite qu'elle soit virale ou bactérienne.

Tableau 2 : valeurs du bilan biochimique en faveur du type de méningite

Tableau 2. Valeurs du bilan biochimique en faveur du type de méningite (Bingen,2016).

Bilan biochimique	Normal	En faveur de méningite virale	En faveur de méningite bactérienne
Protéinorachie	0,10 g/l — 0,45 g/l	Modérément élevé	Très élevés (> à 1g/l)
Glycorachie	≤ à 50% de la glycémie	> à 50 % de la glycémie	< à 50% de la glycémie

### 2. Aspect macroscopique du LCR

Le LCR est normalement clair (eau de roche) avec une cytologie < 5 éléments/mm<sup>3</sup>. Différents aspects et cytologies pathologiques peuvent être observés suite à une réaction inflammatoire. Le tableau 3 résume les aspects du LCR et les cytologies trouvés :

Tableau 3 : aspect macroscopique du LCR et cytologie en faveur

Aspects	Cytologie
LCR clair	< 05 éléments /mm <sup>3</sup>
LCR purulent (en faveur de méningite bactérienne)	> 200 éléments / mm <sup>3</sup> (prédominance des PN)
LCR claire (en faveur de méningite virale)	> 80 éléments / mm <sup>3</sup> (prédominance des LYM)
LCR citrin	10 — 500 éléments / mm <sup>3</sup>

3. **Mise en culture** : la mise en culture de LCR reste l'examen biologique de référence pour le diagnostic des méningites communautaires. La culture positive affirme le diagnostic et permet l'identification de l'agent étiologique et la détermination de sa sensibilité aux antibiotiques et donc d'adapter le traitement en fonction de la sensibilité observée.

## VIII. Diagnostic moléculaire de la méningite

Bien que les examens conventionnels soient nécessaires pour tout diagnostic de méningites communautaires, ils présentent des inconvénients : lents (18h – 48h), leurs résultats sont biaisés par de nombreux facteurs (antibiothérapie précoce, fragilité de certaines bactéries) ainsi que la difficulté de détection des virus. Pour pallier ces inconvénients ; les techniques de biologie moléculaire ont été instaurées.

### 1. Définition et principe de la réaction de polymérisation en chaîne (PCR)

Cette technique a été mise au point en 1985 par Kary Mullis. Il s'agit d'une répllication *in vitro* de séquences spécifiques d'ADN. Cette méthode permet de générer un très grand nombre d'exemplaires d'un fragment d'ADN particulier à partir d'une faible quantité d'échantillon (Garibyan et Avashia,2013).

### 2. Etapes de la réalisation de la PCR

**Etape1:**Extraction et purification des acides nucléiques

L'objectif de l'extraction est d'isoler la molécule d'ADN, c'est à dire la séparer de tous les autres constituants d'un tissu, y compris les molécules fortement liées à l'ADN (histones), et d'en obtenir un échantillon pur.

**Etape2 :** préparation du milieu réactionnel

1. **L'enzyme Taq polymérase** : Les ADN polymérases sont des enzymes qui synthétisent l'ADN de l'extrémité. Les polymérases utilisées en PCR sont extraites de bactéries vivant naturellement à des températures élevées, elle provenaient d'une bactérie thermophile (*Thermusaquaticus*) (Mackay, ArdeetNitsche,2002).
  2. **Les amorces (primers)** : durant la PCR, les amorces délimitent la séquence d'ADN à amplifier et elles lui sont spécifiques (Mackay, ArdeetNitsche,2002). Elles sont de
-

petites séquences d'environ 20 paires de bases capable de s'hybrider chacune à l'extrémité libre 3'OH du fragment à amplifier grâce à la complémentarité des séquences nucléotidiques.

3. **Les oligonucléotides** (dATP, dTTP, dGTP, dCTP) : sont des molécules présentes à l'état libre dans le milieu réactionnel, ajoutés au simple brin d'ADN afin de synthétiser le nouveau brin complémentaire au brin d'origine. (Mackay, Ardeet Nitsche, 2002).
4. **Le tampon** : le tampon utilisé pour la réaction PCR sert à maintenir la stabilité du pH du milieu réactionnel au niveau optimal pour la Taq polymérase (Mackay, Ardeet Nitsche, 2002). Il contient des cations bivalents  $Mg^{2+}$ , cofacteurs indispensables pour la réaction de polymérisation avec la Taq polymérase. La présence dans le milieu réactionnel des cations bivalents  $Mg^{2+}$  et de cations monovalents ( $K^{+}$  ou  $NH_4^{+}$ ) vont neutraliser les charges négatives des groupements phosphates au niveau de l'ADN et ainsi stabiliser les hybrides ADN/ADN.

### Etape 3 : Amplification

Elle est basée sur une répétition de cycles de transition de température, chaque cycle contient trois étapes.

1. **La dénaturation** : à une température élevée de  $95^{\circ}C$ , les liaisons hydrogènes sont rompues. A la fin de la dénaturation, on obtient deux simples brins d'ADN (Mackay, Ardeet Nitsche, 2002).
2. **L'hybridation** : à une température entre  $45^{\circ}C$  et  $65^{\circ}C$  les amorces sens et anti-sens s'hybrident aux brins d'ADN cibles par complémentarité de bases grâce à leurs extrémités 3'OH libres qui servent de point d'ancrage à l'ADN polymérase (Mackay, Arde et Nitsche, 2002).
3. **L'élongation** : cette étape est réalisée à  $72^{\circ}C$  permettant aux polymérases de synthétiser le brin complémentaire à l'ADN matriciel. Ce brin est synthétisé à partir des désoxyribonucléotiques (DNTP) libres présents dans le milieu réactionnel. La polymérisation se fait alors dans le sens 5' à 3' et aboutit à la formation d'ADN bicaténaire (Mackay, Arde et Nitsche, 2002).

### Etape 3 : Détection des amplicons

---

La détection des amplicons varie selon le type de la PCR (exemple :électrophorèse) (Mackay, Arde and Nitsche,2002).

---

### **3. Types de PCR**

#### **3.1. PCR conventionnelle**

La détection est faite à la fin des réactions de PCR soit en couplant le test ELISA, soit en réalisant une migration électrophorétique.

PCR-ELISA peut également être utilisé pour capturer l'amplicon sur une phase solide en utilisant des amorces marquées à la biotine ou à la digoxigénine, des sondes oligonueléotidiques (oligoprobes) ou directement après l'incorporation de la digoxigénine dans l'amplicon. Une fois capturé, l'amplicon peut être détecté à l'aide d'une molécule rapporteur avidine ou anti digoxigénine marquée par une enzyme, similaire au format ELISA standard (Mackay, Arde et Nitsche,2002).

L'électrophorèse sépare l'ADN selon le poids moléculaire. Sur gel d'agarose, les AN migrent dans un champ électrique. Les amplicons sont révélés par un agent intercalant fluorescent.

#### **PCR en temps réel (Real time PCR)**

La PCR en temps réel consiste à l'amplification et la détection simultanée des produits amplifiés. Le principe de cette technique repose sur la détection et la quantification d'un émetteur fluorescent pendant le processus d'amplification ; et l'augmentation du signal d'émission fluorescente est directement proportionnelle à la quantité d'amplicons produits durant la réaction. Il existe deux principes généraux pour la détection quantitative des amplicons : les agents se liant à la L'ADN double brin dit agents intercalant (exemple : SYBR Green I) et les sondes fluorescentes tel que les sondes d'hydrolyse (TaqMan), hybridation de 2 sondes (HybProbes), balises moléculaires (Molecular Beacons) et amorces scorpion (Scorpion primers)(Poitras et Houde, 2002).

#### **PCR multiplex**

Permet l'amplification simultanée de plusieurs séquences cibles en incluant plus d'une paire d'amorces dans la réaction dans une petite quantité contenue dans un seul tube à la fois. Elle peut être réalisée de manière conventionnelle « PCR classique » ou par PCR en temps réel (Chen, Schwarz, 2016). Depuis son introduction, la PCR multiplexa été appliquée avec

---

succès dans de nombreux domaines du diagnostic de l'acide nucléique, y compris l'analyse de délétion de gène, l'analyse de mutation et de polymorphisme, l'analyse quantitative et la détection d'ARN (Elnifro, 2000).

#### **La RT-PCR (reverse-transcription PCR)**

C'est une technique basée sur la transcription inverse des ARNm en ADNe utilisant une enzyme spécifique ; la transcriptase inverse (RT). Ce processus est suivie ensuite par une PCR classique afin d'amplifier l'ADNe. Cette technique est combinée à une PCR en temps réel dont les résultats sont dépendants de la cible (Nolan, Hands et Bustin, 2006).

#### **La PCR « nichée » (Nested PCR)**

La PCR nichée consiste à réaliser deux PCR successives en utilisant deux couples d'amorces différents (un couple externe effectuant la première PCR et couple interne pour la deuxième PCR). La première PCR est une réaction hautement multiplexée pour amplifier tous les AN cibles. Les fragments d'ADN obtenus par la première PCR seront révélés par un agent intercalant fluorescent. La deuxième PCR consiste à utiliser de nouvelles amorces pour l'amplification des fragments issue de la première PCR, ceci améliore la spécificité de la PCR en éliminant les amplicons non spécifiques (Dasgupta et al., 2017).

---

~~Il s'agit d'une étude rétro prospective effectuée au niveau du laboratoire de microbiologie à l'hôpital centrale de l'armée (HCA), sur une période allant du 29/11/2016 au 01/06/2019 sur des échantillons reçus au laboratoire de microbiologie. Les patients présentaient un tableau clinique évocateur d'une méningite ou une méningo-encéphalite (troubles de la conscience ou du comportement, fièvre, céphalées, vomissement, photophobie) qui avaient bénéficié d'une ponction lombaire afin de confirmer le diagnostic.~~

## **1. Matériel biologique**

### **L'échantillon analysé**

Notre échantillon est le liquide céphalo-rachidien (LCR) prélevé par ponction lombaire dans des tubes secs stériles et étanches.

La taille de notre échantillon est de 119 prélèvements dont 109 sont prélevés durant la période allant du 29 Novembre 2016 au 02 Février 2019 et font partie de l'étude rétrospective, alors que les 10 prélèvements restants appartiennent à l'étude prospective et sont recueillis entre le 03 Février 2019 et le 01 juin 2019.

### **Recueil des données**

Les LCR reçus, ont été enregistrés dès leur arrivée, accompagnés d'une fiche de renseignements correctement remplie avec :

- L'identité du patient : nom, prénom, âge, sexe.
- La date de réception.
- Le nom du médecin traitant ainsi que le service de prise en charge.
- Les signes cliniques et radiologiques.
- La nature et la durée du traitement éventuellement reçu.

Les données rétrospectives ont été recueillies à partir du registre de paillasse de LCR. (Les informations concernant les 119 LCR reçus sont regroupées dans les annexes 11).

## **— 2. Matériel non biologique**

---

**Matériel non biologique de la bactériologie classique**

Il consiste en matériel et consommables (pipettes, cellule Malassez, sachets et jarres d'incubation...) ; réactifs et solutions (Bleu de méthylène, huile de vaseline, huile d'immersion...) ; milieux de culture (milieu ordinaire : gélose nutritive (GN) ; milieux enrichis : gélose au sang cuit (GSC) ; milieu sélectif : Hektoen (HK) ; milieux pour antibiogramme : Muller Hinton (MH)) et le matériel de protection.

**Matériel non biologique de la PCR multiplex**

Le tableau 4 résume le matériel fournis et non fournis utilisés pour lancer une PCR multiplex.

Tableau 4 : récapitulatif du matériel non biologique de la PCR

Tableau 4. Récapitulatif du matériel non biologique de la PCR.

Matériel fourni	Matériel requis non fourni
<ul style="list-style-type: none"> <li>-Cassette FMEP emballée individuellement.</li> <li>-Ampoule du tampon de l'échantillon à 0.1 ml (Sample buffer) à usage unique.</li> <li>-Flacon d'hydratation à 1.5 ml (Hydratation Injection Vials) à usage unique « bleu ».</li> <li>-Flacon de l'échantillon (Sample InInjection Vial) à usage unique « rouge ».</li> <li>-Pipette de transfère emballée individuellement</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>-FilmArray instrument et logiciel.</li> <li>-Station de chargement de la cassette (Pouch Loading Station).</li> </ul>



Figure 05. La station de chargement des 2 tubes bleu et rouge.

Figure 5 : la station de chargement des 2 tubes bleu et rouge

● **La cassette FilmArray ME (Méningite/Encéphalite) Panel (FMPEP)**

C'est un système fermé jetable qui comprend tous les produits chimiques requis pour isoler, amplifier et détecter l'acide nucléique des différents pathogènes de la méningite et de l'encéphalite au sein d'un seul échantillon de LCR obtenu par ponction lombaire (PL). Le composant en plastique rigide (support) de la cassette FMPEP contient les réactifs lyophilisés. La partie en plastique souple se divise en segments discrets (plaquettes) dans lesquels les processus chimiques sont exécutés (figure 8).

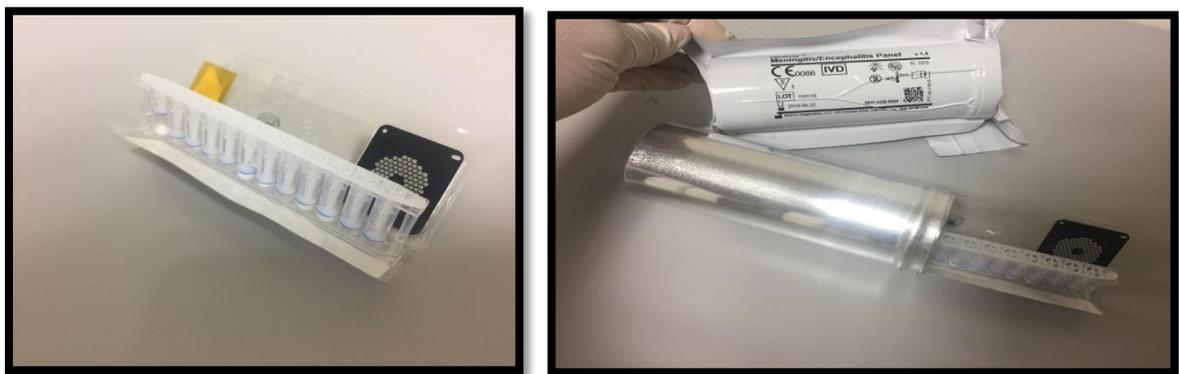


Figure 06. La cassette FMPEP et son emballage.

Figure 6 : la cassette FMPEP et son emballage

## **II. Méthodes**

### **1. Diagnostic bactériologique conventionnel**

L'analyse du LCR doit être faite le plus rapidement possible (intervalle de 30 min qui suivent le prélèvement) car après cet intervalle, une altération de la morphologie cellulaire et une diminution de la numération des cellules nucléées peuvent avoir lieu en plus de la lyse cellulaire.

#### **Aspect macroscopique du LCR**

L'aspect macroscopique du LCR est apprécié à l'œil nu.

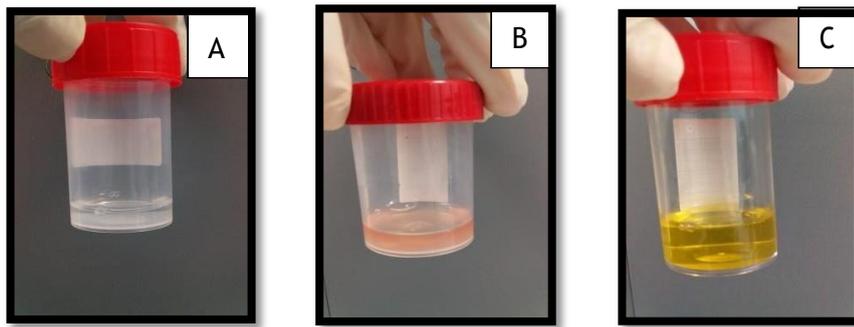


Figure 7 : différents aspect macroscopiques du LCR

#### **Mise en culture**

La culture est réalisée systématiquement. Pour chaque échantillon de LCR, trois milieux sontensemencés respectivement : GSC additionnée ou non de PolyVitex®, GN et HK selon la méthode des quatre quadrants. Les milieuxensemencés sont incubés à 37°C dans une étuve pendant 18-48 heures en atmosphère ordinaire, à l'exception de la GSC qui nécessite une atmosphère enrichie de 5 à 10% de CO<sub>2</sub>.

#### **Examens microscopiques**

La numération des éléments figurés est obligatoire pour les liquides clairs. En effet, la plupart des liquides troubles possèdent une opacité nécessitant une dilution préalable. L'examen direct n'est pas indiqué pour le LCR hémorragique (les globules rouges fausse la lecture des globules blancs).

Pour réaliser cet examen, on pratique un comptage sur la cellule de Mallassez selon le mode opératoire suivant :

— Déposer, en exerçant une pression ferme avec les doigts, une lamelle spéciale optiquement plane.

— Remuer le LCR pour mettre en suspension les éléments cellulaires.

~~—Garnir avec quelques gouttes de liquide.~~

~~—Laisser au repos quelques minutes, pour que les éléments se sédimentent.~~

~~—La préparation est ensuite placée sur la platine du microscope et on examine à l'objectif x 40.~~

~~Le décompte se fait sur quelques bandes puis la moyenne des leucocytes est faite. Cette moyenne est multipliée par 10 pour avoir le nombre de leucocytes/mm<sup>3</sup> (en cas de dilution de l'échantillon, la moyenne des leucocytes est multipliée par le facteur de dilution).~~

~~— Si le nombre est  $< 02$  éléments/mm<sup>3</sup>, il s'agit d'un LCR normal.~~

~~— Si le nombre est  $\geq 10$  éléments/mm<sup>3</sup>, il s'agit d'un LCR pathologique, dans ce cas une coloration au bleu de méthylène est effectuée permettant d'établir l'équilibre leucocytaire et une coloration de Gram est réalisée afin d'apprécier la morphologie des germes.~~

~~Pour une culture positive, nous procédons à l'identification des germes en nous basant sur l'ensemble des tests réalisés, et variant d'un germe à un autre (figure 08).~~

---

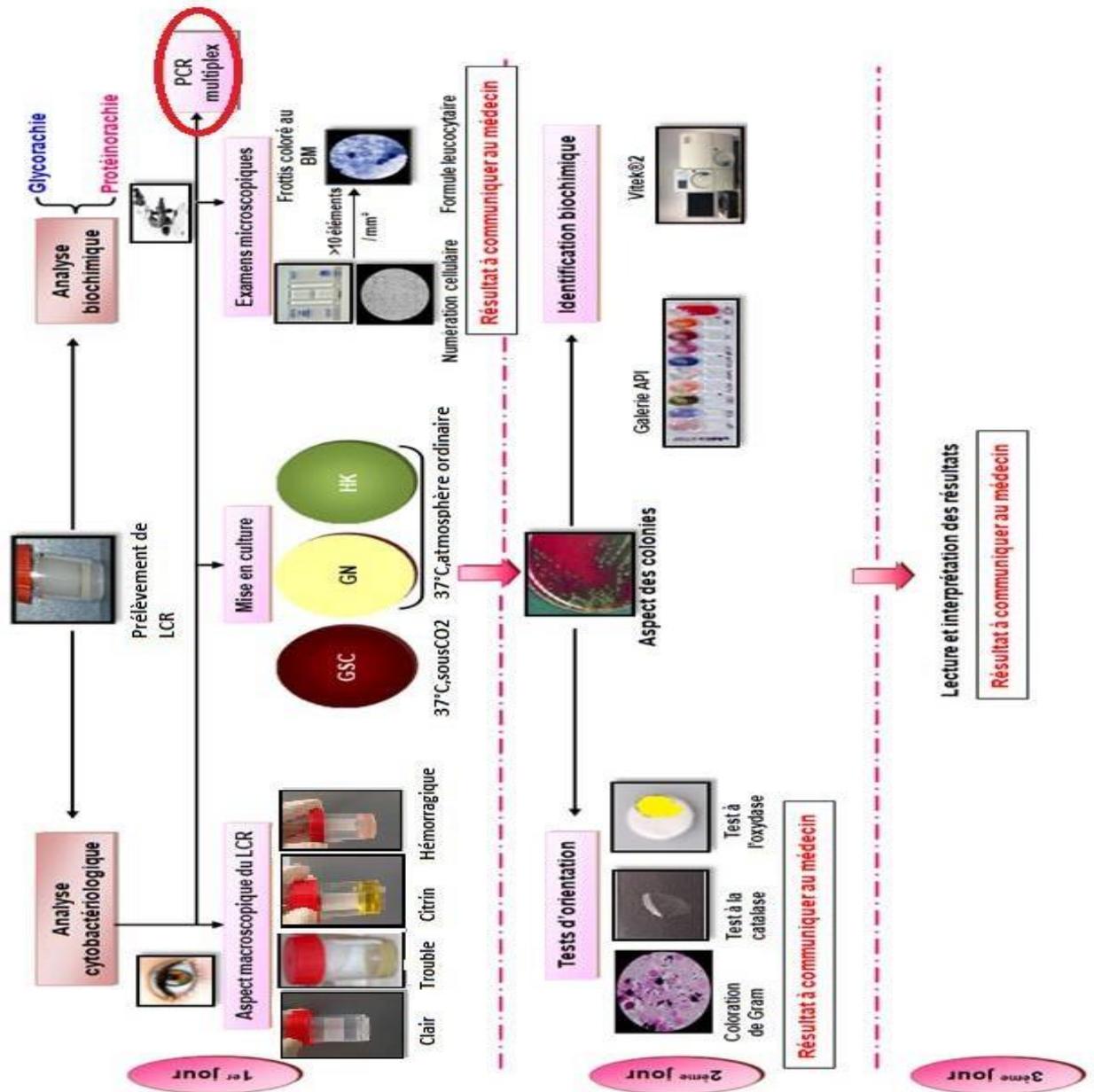


Figure 8 : schémas récapitulatif des différents examens biologiques du LCR

## 2. Diagnostic par PCR

Le panel FilmArray Meningite/Encephalite proposé par bioMérieux, permet la recherche simultanée et rapide, en une heure, de 15 pathogènes différents impliqués dans la méningite et l'encéphalite sur le même échantillon de LCR, soit 7 virus, 6 bactéries et 2 levures (tableau 7) et chaque poche FilmArray est à usage unique. Il inclue tous les réactifs sous forme lyophilisé nécessaires à l'extraction, l'amplification et la détection de l'acide nucléique.

L'analyse est réalisée sans intervention manuelle dans des cassettes de réactifs spécifiques prêtes à l'emploi. L'automate interagit avec la cassette de réactif pour purifier les acides nucléiques et amplifier les séquences d'acide nucléique cibles en utilisant une PCR en temps réel nichée et multiplex. Le logiciel FilmArray contrôle le fonctionnement de l'automate. Il collecte, analyse et conserve les données générées par l'automate.

Tableau 5 : les différents germes détectés par la PCR multiplex FilmArray ME

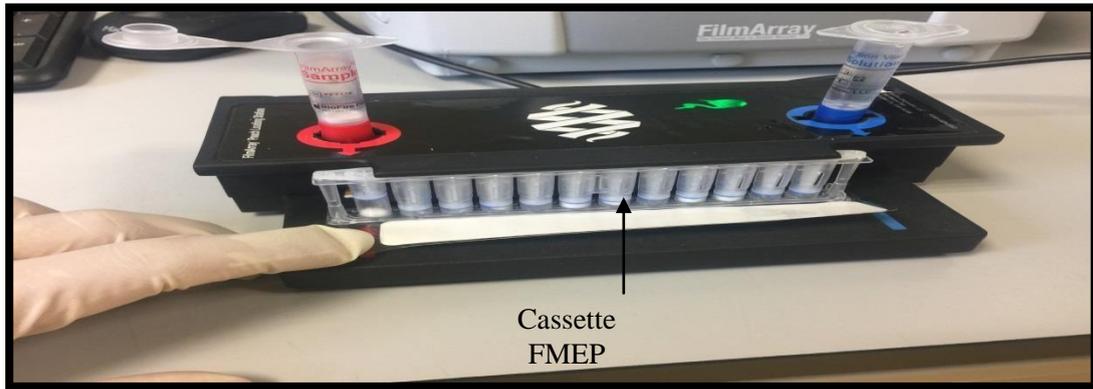
**Tableau 5.** Les différents germes détectés par la PCR multiplex FilmArray ME

<b>Virus (7)</b>	<b>Bactéries (6)</b>	<b>Levures (2)</b>
<b>Cytomégalo virus (CMV)</b>	<i>Escherichia coli K1</i>	<i>Cryptococcus neoformans</i>
<b>Entérovirus (EV)</b>	<i>Haemophilus influenzae</i>	<i>Cryptococcus gattii</i>
<b>Virus herpès simplex 1 (HSV-1)</b>	<i>Listeria monocytogenes</i>	
<b>Virus herpès simplex 2 (HSV-2)</b>	<i>Neisseria meningitidis</i>	
<b>Herpès virus humain 6 (HHV-6)</b>	<i>Streptococcus agalactiae</i>	
<b>Parécho virus humain (HPeV)</b>	<i>Streptococcus pneumoniae</i>	
<b>Virus varicelle-zona (VZV)</b>		

Pour une réaction de PCR, plusieurs éléments sont nécessaires dans le milieu réactionnel appelé Master Mix.

**Protocole**

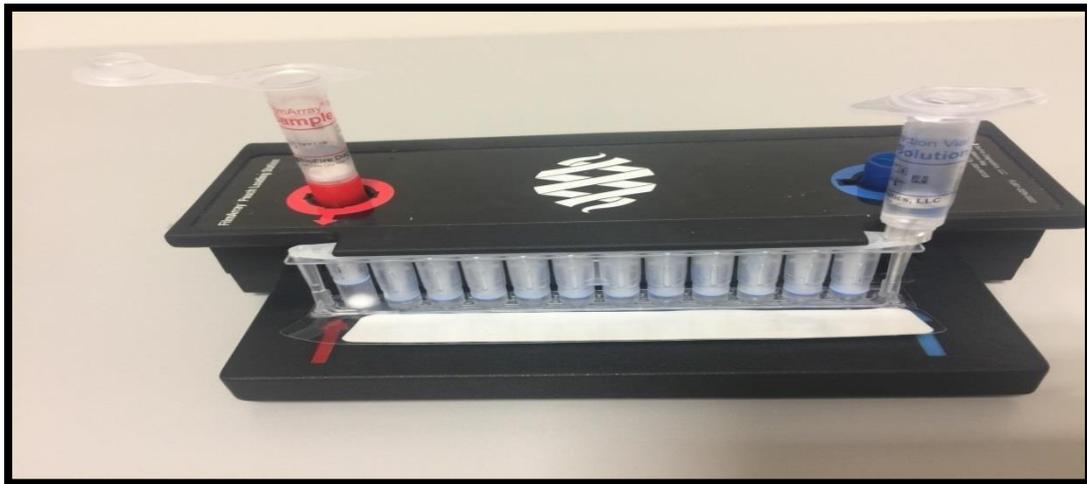
- La 1<sup>ère</sup> étape : **préparation de la cassette** (figure 09)
- Placez le flacon de l'échantillon dans le compartiment rouge.
- Placez le flacon d'hydratation dans le compartiment bleu
- Placez la poche FilmArray dans la station de chargement, en suivant les guides à code de couleur sur cette dernière.



**Figure 09.** Préparation de la cassette

**Figure 9 : préparation de la cassette**

- La 2<sup>ème</sup> étape : **hydratation de la cassette** (figure 10)
- la solution d'hydratation est aspirée dans la cassette par le vide.



**Figure 10.** Hydratation de la cassette.

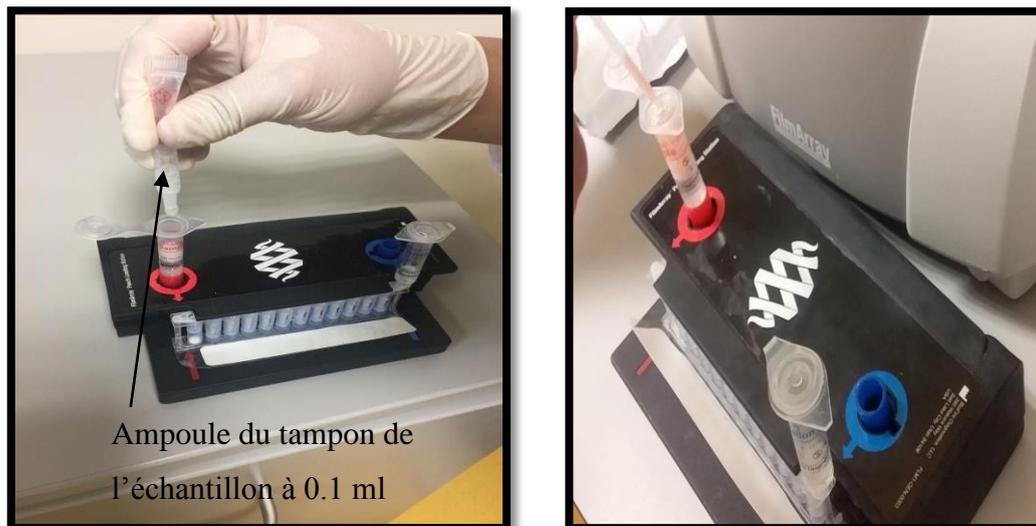
**Figure 10 : hydratation de la cassette**

□ La 3<sup>ème</sup> étape : **préparation de l'échantillon** (figure 11)

—Ajoutez 0.1 ml du tampon dans le flacon de l'échantillon.

—Transférer l'échantillon à l'aide d'une pipette au tube rouge (volume déterminé par le trait de jaugeage qui se trouve sur ce tube). Mélangez l'échantillon en retournant doucement le flacon de l'échantillon 3 fois.

—Remettez le flacon de l'échantillon dans le compartiment rouge de la station de chargement de la cassette.



**Figure 11.** Préparation de l'échantillon

Figure 11 : préparation de l'échantillon

● La 4<sup>ème</sup> étape : **Chargement de l'échantillon préparé** (figure 12)

—L'échantillon est aspiré dans la cassette par le vide.

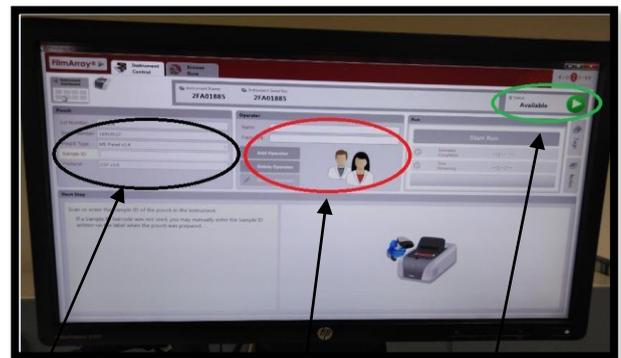


**Figure 12.** Chargement de l'échantillon préparé

Figure 12 : chargement de l'échantillon préparé

La 5<sup>ème</sup> étape : **préparation de l'analyse de l'échantillon** (figure 13)

- Les deux flacons rouge et bleu sont retirés et la cassette est introduite dans l'appareil d'analyse FilmArray® avec les étiquettes rouge et bleue de la poche alignées sur les flèches rouge et bleue de l'automate FilmArray.
- Scanner le code barre de l'étiquette de la poche FilmArray en utilisant le lecteur de codes barres fourni.
- Entrer le nom et le prénom du malade manuellement (1).
- Entrer un nom d'utilisateur et un mot de passe dans les champs Name et Password (2).
- Refermez le couvercle de l'automate FilmArray. Cliquer sur le bouton « Start Run » sur l'écran du logiciel (3).



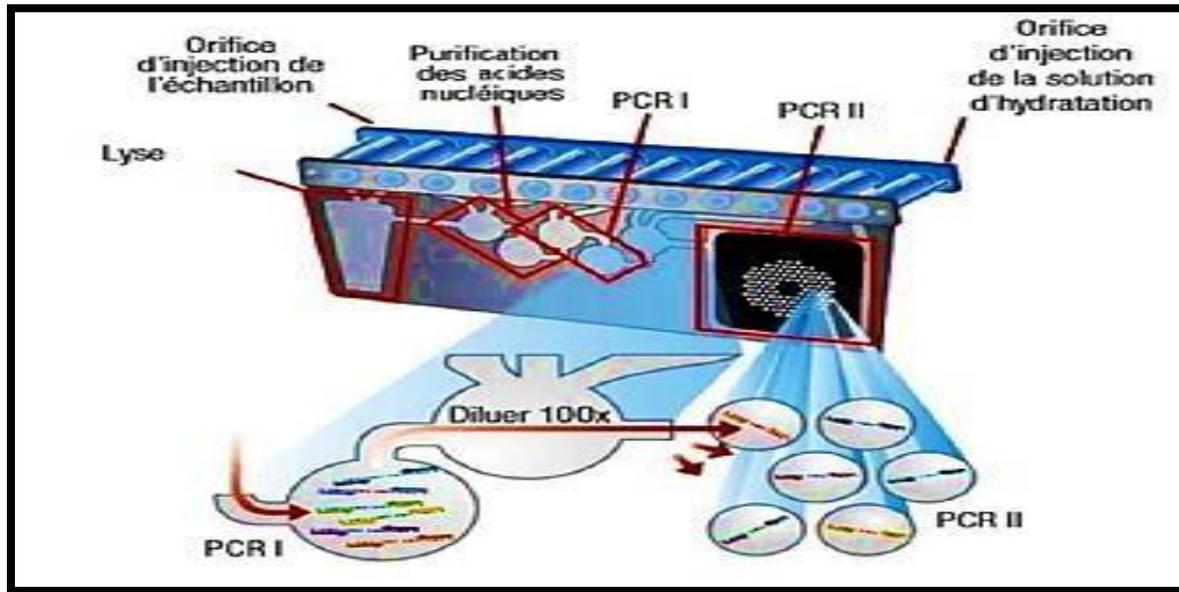
1 2 3

**Figure 13.** Scan du code à barre, logiciel.

Figure 13 : scan du code à barre , logiciel

### Étapes du procédé d'analyse du Panel FilmArray Méningite/Encéphalite

C'est une PCR multiplex type nichée (Nested PCR) qui s'effectue en deux étapes successives : Lors de la première étape, plusieurs amorces externes (se trouvent dans le compartiment solide de la cassette) sont utilisées pour réaliser une PCR multiplex sur les fragments modèles cibles présents dans l'échantillon. La seconde étape de PCR est réalisée pour continuer à amplifier les copies d'ADN générées lors de la première phase de PCR. Les amorces internes (se trouvent dans la matrice de la cassette) utilisées dans la deuxième phase de PCR sont constituées de séquences « nichées » au sein du ou des produits de la première phase de PCR (figure 14).



**Figure 14.** Etapes du procédé d'analyse FMEP

Figure 14 : etapes du procédé d'analyse FMEP

### 1. Lyse mécanique

L'échantillon se déplace dans la chambre de lyse. Les cellules et les agents pathogènes sont lysés par broyage avec les billes céramiques agités à haute vitesse pour briser les cellules et libérer les acides nucléiques.

### 2. Extraction et purification des acides nucléiques

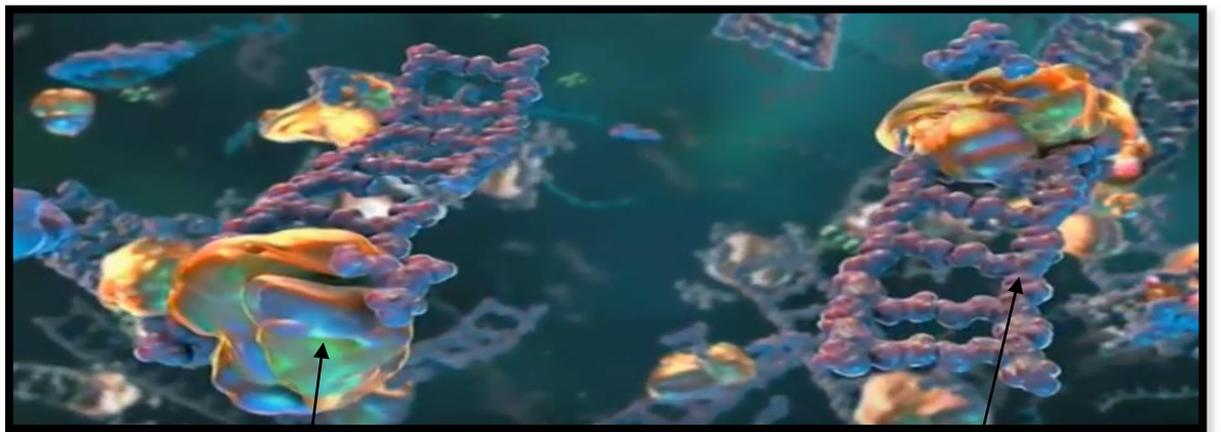
Les acides nucléiques sont ensuite capturés par les billes magnétiques et transportés de la chambre de lyse vers la chambre de purification (figure 14). Ici, un tampon de lavage est utilisé afin d'éliminer les débris cellulaires, tandis que les billes magnétiques sont maintenues en place.

Un tampon d'éluion est utilisé afin de purifier les acides nucléiques en les séparant des billes magnétiques qui sont à nouveau bloqués de manière mécanique tandis que les acides nucléiques sont déplacés vers l'étape suivante de la chambre de 1<sup>ère</sup> PCR.

### 3. Etape de 1<sup>ère</sup> PCR

Une RT PCR est effectuée pour convertir toute cible ARN (entérovirus 5' GATTGTCACCATAAGCAGC 3') (Monpocho et al.,2000) en ADNc. Pour les bactéries et les virus à ADN, cette étape est toujours réalisée en présence d'un contrôle à ARN. Elle est suivie par une PCR multiplex impliquant des dizaines de paires d'amorces (voir annexe 1).

Durant cette 1<sup>ère</sup> étape de PCR, plusieurs réactions sont simultanément effectuées dans un même volume. Les produits sont ensuite dilués pour éliminer les amorces restantes de la RT-PCR.



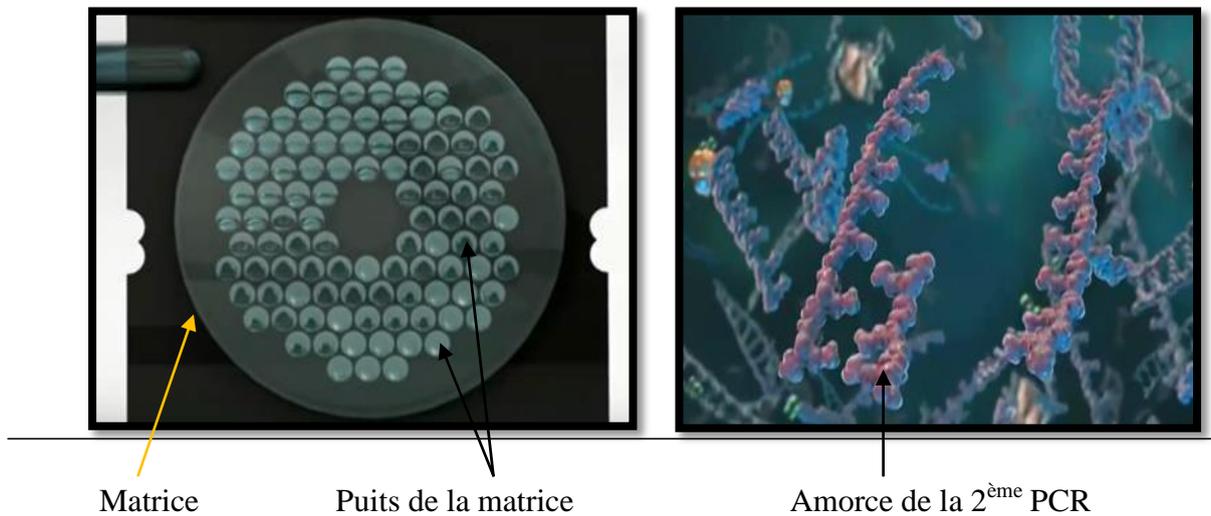
Revers transcriptase

Génome à ARN

### 4. Elimination des amorces de la 1<sup>ère</sup> PCR et réalisation de 2<sup>ème</sup> PCR

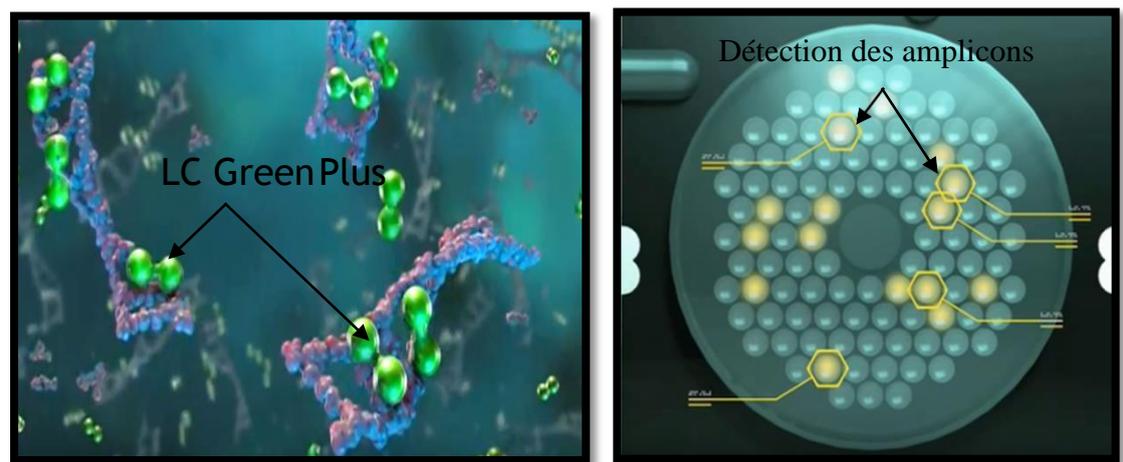
Les produits de la 1<sup>ère</sup> PCR sont mélangés à un nouveau milieu réactionnel, puis distribué dans chaque puit de la matrice

Chaque puit de cette matrice contient préalablement des amorces de la 2<sup>ème</sup> PCR conçues pour amplifier les séquences contenues dans le produit issu de la 1<sup>ère</sup> PCR, ceci élimine les produits non spécifiques associés à la PCR multiplex traditionnel (RT-PCR) car les amorces de la 2<sup>ème</sup> PCR impliquant spécifiquement l'ADN cible.



### 5. Révélation

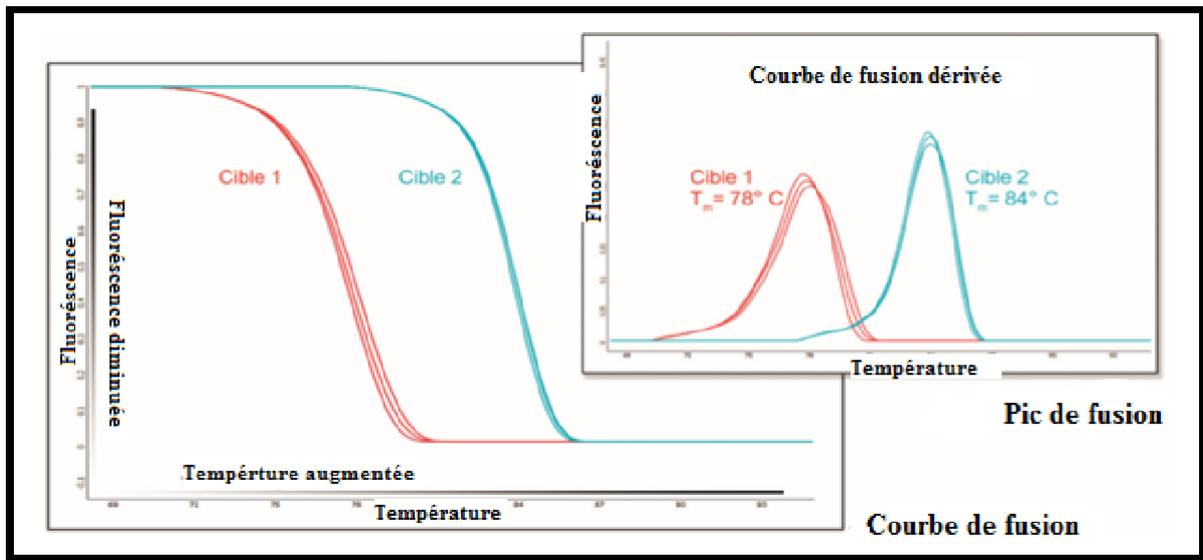
- Un agent intercalant (LCGreen Plus) capable de se lier à l'ADN double brin est utilisé permettant la détection de l'ADN double brin amplifié.
- Les organismes sont identifiés en fonction de chaque puits de la matrice.



### 6. Analyse de fusion de l'ADN et interprétation du test

— La longueur et la séquence des amplicons générées déterminent la température de fusion ( $T_m$ ) de l'ADN double brin, c'est la température pour laquelle 50% des liaisons hydrogène sont rompues (dénaturation partielle). Les produits de PCR obtenus à partir de sources différentes auront des séquences différentes et donc des  $T_m$  différentes. Après le dernier cycle de PCR, l'automate FilmArray augmente graduellement la température de la réaction d'environ  $60^\circ\text{C}$  jusqu'à  $94^\circ\text{C}$ . Lorsque la température atteint la  $T_m$  d'un amplicon, ce dernier se dénature et la fluorescence diminue, ce qui libère du LCGreen Plus. Ceci produit une courbe de fusion, présentée sur le graphe ci après, qui illustre la baisse rapide de fluorescence. Un pic de fusion

avec une  $T_m$  spécifique est généré pour chaque amplicon en traçant la dérivée négative de la courbe de fusion.



— Le logiciel FilmArray évalue la courbe de fusion de l'ADN pour chaque compartiment de la matrice de PCR de phase 2. Si le profil de fusion indique la présence d'un produit de PCR, le logiciel d'analyse calcule alors la  $T_m$  de la courbe suivant l'évolution de la fluorescence lorsque la température augmente. La valeur de la  $T_m$  est alors comparée à la plage de  $T_m$  attendue pour le test. Une fois les courbes de fusion identifiées, le logiciel évalue les trois répliques (témoin positive, patient, contrôle) de chaque test pour déterminer le résultat du test.

➤ Pour qu'un test soit considéré comme positif, le pic de fusion doit se situer dans la plage de  $T_m$  spécifique du test, ainsi qu'au moins deux des trois courbes de fusion associées doivent être considérées comme positives, et la  $T_m$  pour au moins deux des trois courbes positives doit être similaire (à 1°C près).

➤ — Les tests qui ne satisfont pas à ces critères sont considérés comme négatifs.

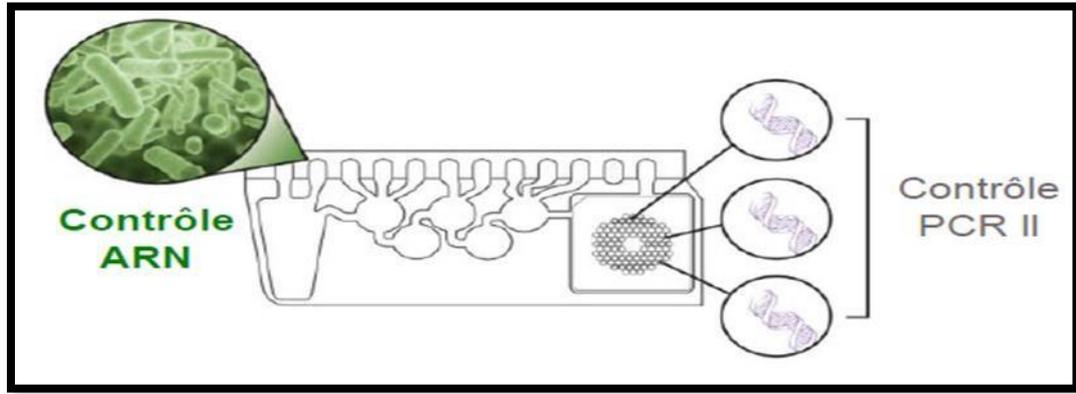
## 7. Contrôle de qualité

➤ **Contrôles de traitement** : Deux contrôles de traitement sont inclus dans chaque cassette

1. **RNA Process Control (Contrôle du traitement de l'ARN)** : Ce test cible un produit de transcription d'ARN de la levure *Schizosaccharomyces pombe*. La levure est présente dans la cassette sous forme lyophilisée et se réhydrate lorsque l'échantillon est chargé. Elle passe par tous les stades du processus de test. Un résultat du contrôle positif indique le déroulement correct de toutes les étapes effectuées dans la cassette FMEP.

2. **PCR2 Control (Contrôle de PCR 2)** : Ce test détecte une cible d'ADN qui est séchée dans les compartiments de la matrice avec les amorces correspondantes. Un résultat positif indique que la PCR de phase 2 s'est déroulée correctement.

— Les tests de contrôle doivent tous deux être positifs pour que l'analyse soit réussie. Si les contrôles échouent, l'échantillon devra être testé à nouveau à l'aide d'une nouvelle cassette.



**Figure 15.** Les deux contrôles de la PCR multiplex FilmArray.

Figure 15 : les deux contrôles de la PCR multiplex FilmArray

➤ **Contrôle des performances du système de test**

— L'analyse sera automatiquement mise en échec par le logiciel FilmArray si la  $T_m$  de l'un des deux contrôles de traitement est en dehors de la plage admissible.

✓ **Contrôle positif :** Des échantillons de LCR positifs précédemment caractérisés ou des échantillons négatifs enrichis avec des organismes bien caractérisés peuvent être utilisés.

✓ **Contrôle négatif :** De l'eau.

— **2.4. Imprimer un rapport de série de tests**

Les analyses de FilmArray ME Panel ont été considérées comme valides si l'analyse s'est terminée normalement et si les deux contrôles internes ont été validés. Le logiciel FilmArray effectue une analyse automatique des résultats avec chaque cible d'une exécution valide signalée comme «détectée» ou «non détectée». Si l'un des contrôles internes échoue, le logiciel fournit automatiquement un résultat «non valide» pour tous les analytes du panel.

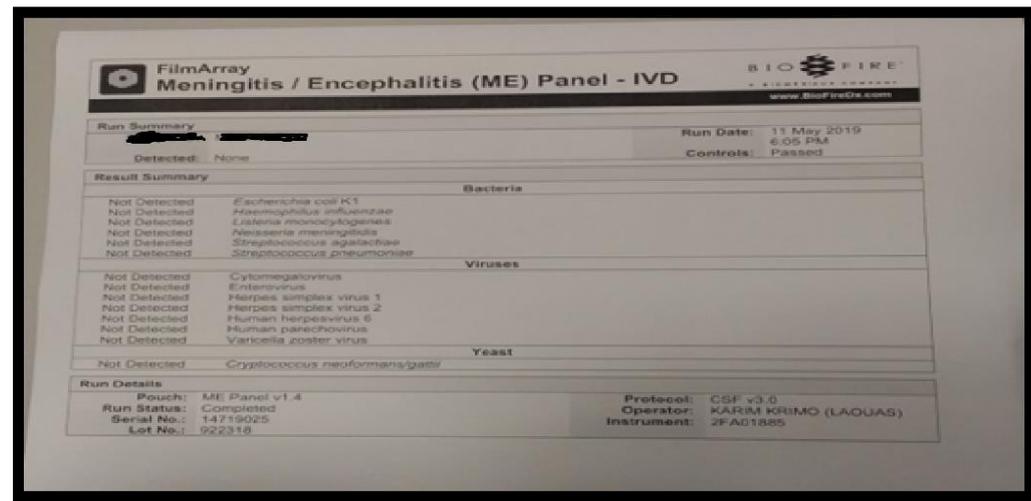
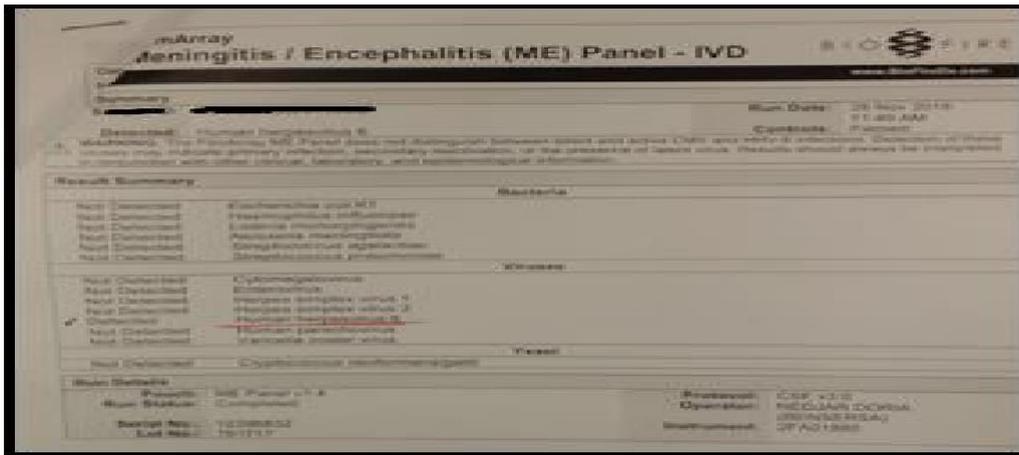


Figure 16. Résultats de FMEP.

Figure 16 : résultats de FMEP

**—Méthodes d'analyse**

L'analyse des données de cette recherche est qualitative et quantitative. L'unité de mesure est la répartition des LCR selon le résultat obtenu par les techniques de dépistage utilisées ainsi que la répartition des résultats positifs de PCR sur LCR. Ces données ont été traitées au moyen du logiciel Excel qui a aussi été utilisé pour tracer les graphiques.

L'étude rétrospective qui s'est déroulée du 29/11/2016 au 02/0/2019, porte sur 109 LCR dont 48 PCR positifs. Les données étaient recueillies à partir des dossiers informatisés des patients hospitalisés à l'HCA.

L'étude prospective du 03/02/2019 au 01/06/2019, porte sur 10 LCR dont 3 PCR positifs. Tous les échantillons reçus au laboratoire de microbiologie étaient analysés et les données étaient recueillies par déplacement au service de prise en charge des patients hospitalisés.

---

**I. Répartition des LCR selon le résultat obtenu par les techniques de dépistage utilisées (N=119)**

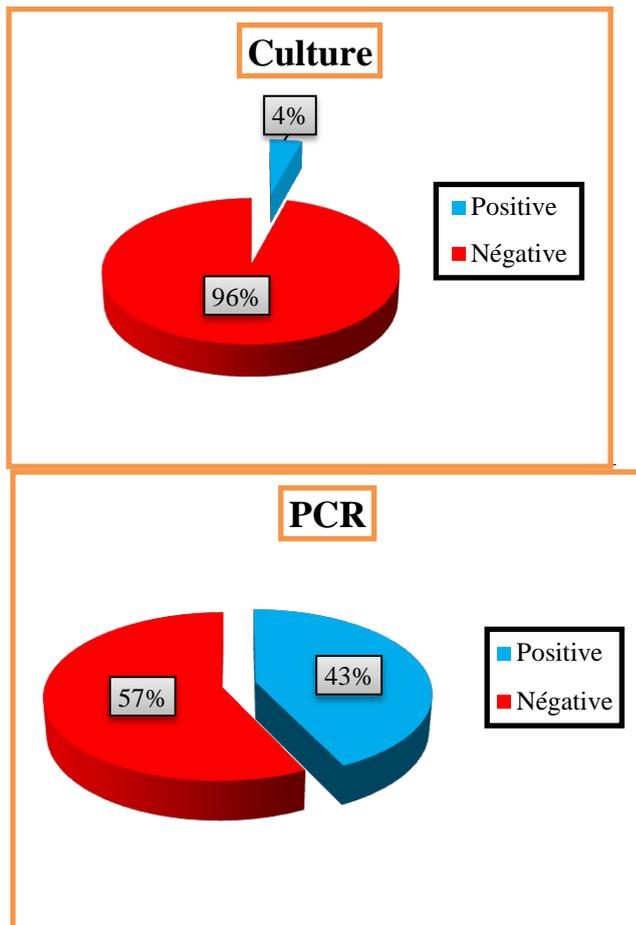
Le dépistage des agents responsables des méningites communautaires chez les patients hospitalisés à l'HCA a été réalisé par culture et par PCR multiplex en temps réel, au niveau du laboratoire de microbiologie, sur une totalité de 119 LCR reçu entre le 29 Novembre 2016 et le 1 Juin 2019.

La répartition des LCR selon les résultats obtenus par les techniques de dépistage utilisées sont représentés dans le tableau ainsi que la figure ci après :

**Tableau 6 : répartition des LCR positifs selon le résultat obtenu par les techniques de dépistage utilisées**

**Tableau 6.** Répartition des LCR selon le résultat obtenu par les techniques de dépistage utilisées

Techniques utilisées		PCR		Total
		Positive	Négative	
Culture	Positive	5	0	5/119 (4%)
	Négative	46	68	114/119 (96%)
<b>Total</b>		<b>51/119 (43%)</b>	<b>68/119 (57%)</b>	<b>119 (100%)</b>



**Figure 17.** Répartition des LCR selon le résultat obtenu par les techniques de dépistage utilisées.

Figure 17 : répartition des LCR selon le résultat obtenu par les techniques de dépistage utilisées

Sur les 119 échantillons de LCR diagnostiqués :

- ✚ La culture n'était positive que pour 5 LCR (4%). Les bactéries identifiées sont : 3 *S.pneumoniae*, 1 *S.agalactiae* et 1 *E.coli.K1*. La faible sensibilité de la culture peut être due à plusieurs raisons : début de méningite bactérienne, méningite bactérienne décapitée ou méningite à bactéries fragiles (Nigrovic et al., 2008).
- ✚ Presque la moitié des PCR sont revenues positives (43%). Cette technique a permis donc de mettre en évidence 51 patients porteurs d'agents pathogènes responsables de méningites. Les 68 PCR négatives n'excluent pas une origine infectieuse (possibilité de méningite à d'autres étiologies ne figurant pas dans le panel FMEP « syphilis, tuberculose, oreillons, brucellose, rougeole.... »).

✚ La PCR a identifié presque 10 fois plus l'étiologie infectieuse que la culture.

La comparaison des résultats obtenus aux résultats de l'étude de **Leber et al.** sur l'évaluation multicentrique du panel méningites/encéphalites BioFire FilmArray en 2016 a révélé une concordance de spécificité (99.8% pour les bactéries et 99.7% pour les virus) et de sensibilité (100% pour les bactéries et de 97.3% pour les virus) pour la détection des différents germes responsables des méningites et des méningo-encéphalites communautaires.

Pour affiner l'analyse, nous avons comparé les résultats de la PCR par rapport à ceux de la culture dans le cas des méningites bactériennes, les résultats sont représentés dans le tableau suivant :

Tableau 7: en cas de méningite bactérienne

**Tableau 7.** Répartition des LCR selon le résultat obtenu par les techniques de dépistage utilisées dans le cas des méningites bactériennes.

Techniques utilisées / Méningites bactériennes		PCR		Total
		Positive	Négative	
Culture	Positive	5	0	5/20
	Négative	15	0	15/20
<b>Total</b>		<b>20/20</b>	<b>0/20</b>	<b>20/20</b>

Selon le tableau, nous constatons que la PCR a pu identifier 4 fois l'étiologie des méningites bactériennes que la culture. Ces résultats sont proches à ceux de **Chiba et al.,2009** (Détection rapide de huit agents pathogènes responsables de méningite bactérienne par PCR en temps réel)

*S. pneumoniae, H. influenzae, E. coli, S. agalactiae, N. meningitidis, L. monocytogenes, Mycoplasma pneumoniae, Staphylococcus aureus*. La PCR a pu identifier ces dernières étiologies dans 72% des cas alors que la culture n'a pu les identifier que dans 48%.

## II. Répartition des résultats positifs de PCR sur LCR (N= 51)

### 1. En fonction du service

Le tableau 10 ainsi que la figure 21 illustrent les résultats de la répartition des prélèvements positifs en fonction du service.

Tableau 8 : répartition des LCR positifs en fonction du service

Tableau 8. Répartition des LCR positifs en fonction du service.

Services	Nombre de cas positifs	%
Urgences pédiatriques	29	
Pédiatrie*	6	16.48%
Réanimation néonatale*	3	
Réanimation pédiatrique médicale*	1	
Urgences adultes	5	9.80%
Maladies infectieuses*	4	7.84%
Réanimation médicale*	2	3.92%
Psychiatrie*	1	1.96%
<b>Total</b>	<b>51</b>	<b>100%</b>

\*Pour les patients hospitalisés au niveau de ces services, la méningite était acquise en communauté et c'était le motif de consultation et d'hospitalisation.

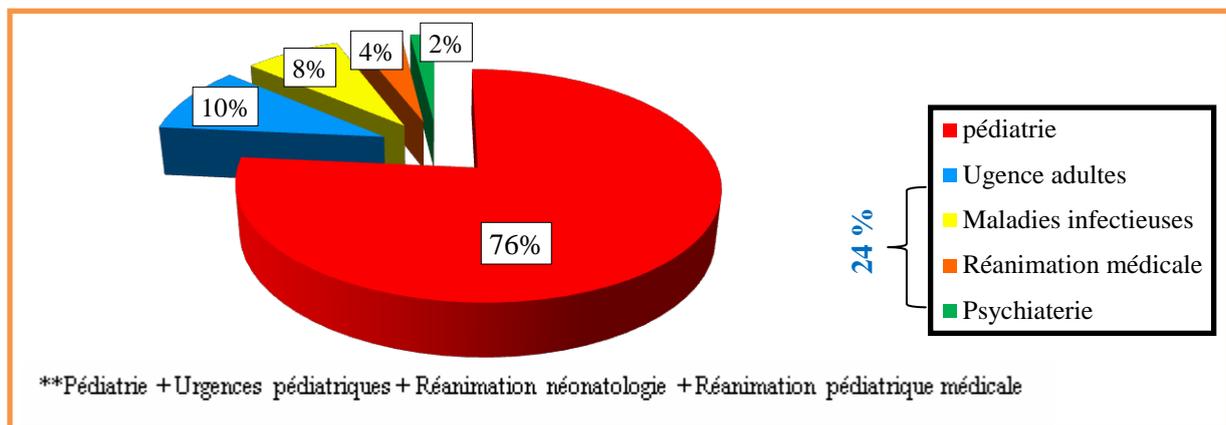


Figure 18. Répartition des LCR positifs en fonction du service.

Figure 18 : répartition des LCR positifs en fonction du service

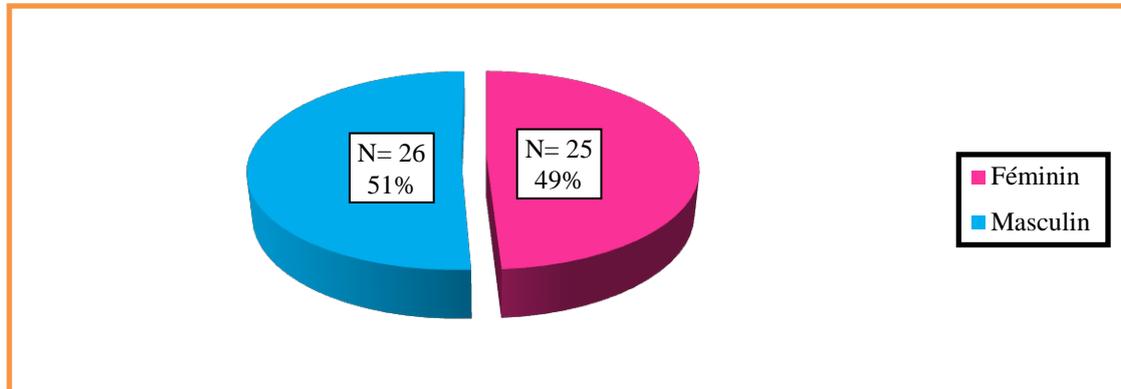
Selon nos résultats, nous constatons que: \_\_\_\_\_

Les LCR positifs par PCR appartiennent à des patients provenant en majorité des urgences (pédiatriques et adultes) : 34/51 (66.66%).

76.48% des malades avec méningite communautaire confirmée proviennent de la pédiatrie.

**2. En fonction du sexe**

La figure 22 illustre les résultats de la répartition des prélèvements positifs en fonction du sexe



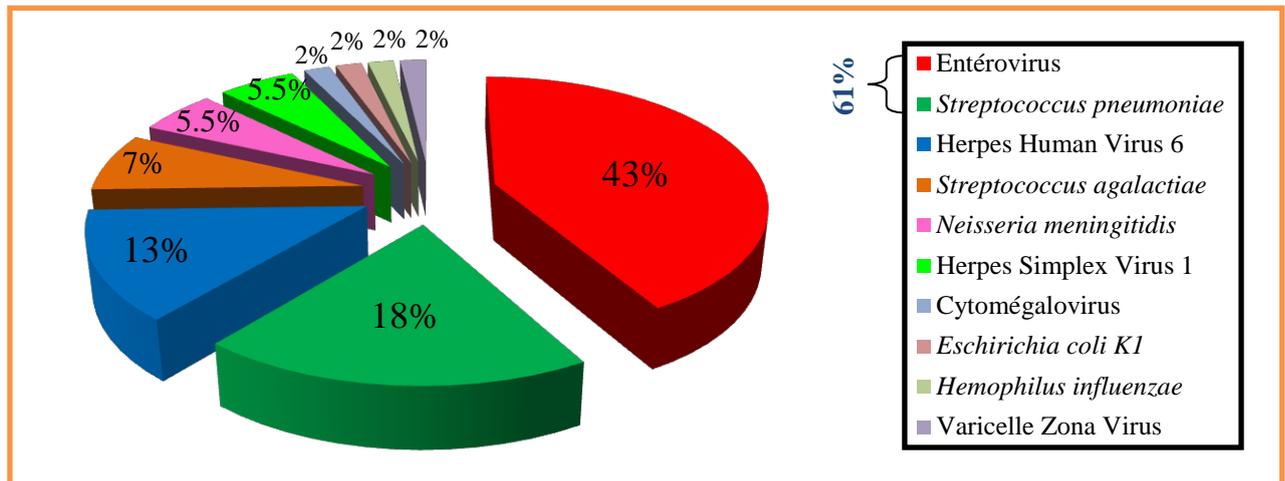
— **Figure 19.** Répartition des LCR positifs en fonction du sexe.

Figure 19 : répartition des LCR positifs en fonction du sexe

Selon l'illustration ci-dessus, le sexe ratio est de 1,04, la méningite touche avec le même taux les deux sexes.

**3. En fonction des germes détectés (N=54)**

Les résultats de la répartition des prélèvements positifs en fonction des germes détectés sont représentés dans la figure ci-dessous :



— **Figure 20.** Répartition des LCR positifs en fonction des germes détectés

Figure 20 : répartition des LCR positifs en fonction des germes détectés

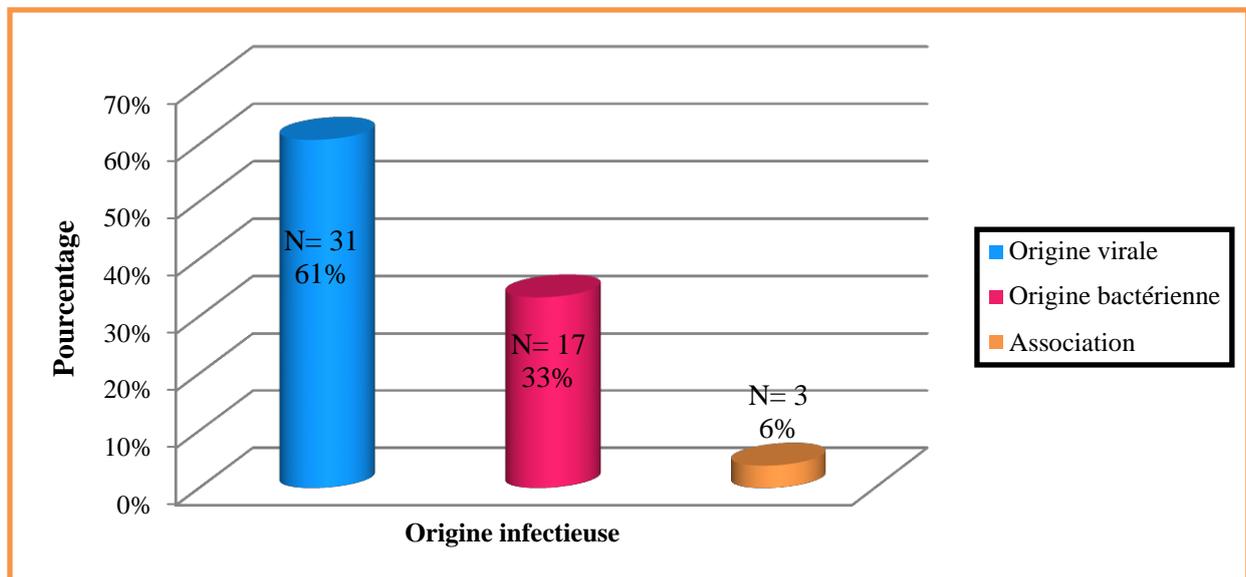
Selon la figure nous constatons que :

- La PCR a permis d'identifier 5 virus et 5 bactéries différents.

✚ L'Entérovirus suivi par le *Streptococcus pneumoniae* sont les deux principaux agents étiologiques détectés par PCR dans notre étude, représentant respectivement 43% et 18%. Ils sont à l'origine de plus de la moitié (61%) des méningites et des méningo-encéphalites communautaires. Ces résultats concordent nettement avec ceux trouvés par **Leber et al** (Manuel d'utilisation du FilmArray Méningite/Encéphalite (ME) Panel 2016), où l'Entérovirus et le pneumocoque représentaient respectivement la première cause des méningites virales et bactériennes, et les deux étaient responsables de 61% des méningites et des méningo-encéphalites communautaires.

#### 4. En fonction de l'origine infectieuse

Les résultats de la répartition des LCR positifs selon l'origine infectieuse sont présentés en nombre et en pourcentage dans la figure suivante :



— **Figure 21.** Répartition des LCR positifs en fonction de l'origine infectieuse

Figure 21 : Répartition des LCR positifs en fonction de l'origine infectieuse

La figure montre une prédominance de la méningite virale avec 31/51 cas (61%) par rapport à la méningite bactérienne qui se présente dans 17/51 cas (33%). Cette fréquence de la méningite virale pourrait être expliquée par la multiplication rapide des virus en cause et l'absence de vaccin correspondant. Ces résultats concordent avec ceux de **Mailles et Stahl** en 2009 sur les infections encéphaliques en France qui rapportaient une prédominance de la méningite virale (69%) par rapport à la méningite bactérienne (30%).

#### 5. Origines infectieuses et agents étiologiques :

Les résultats de la répartition des germes détectés en fonction de l'origine infectieuse sont représentés dans le tableau ainsi que la figure ci-après :

Tableau 9 : de l'origine infectieuse

Origines	Virale	Bactérienne	Associations(V/V, B/V)	-		
Agents étiologiques	Entérovirus	20	<i>S.pneumoniae</i>	8	Entérovirus / HHV6	1
	HHV6	6	<i>S.agalactiae</i>	4		
	HSV1	3	<i>N.meningitidis</i>	3	Entérovirus / <i>S.pneumoniae</i>	2
	CMV	1	<i>E.coli K1</i>	1		
	VZV	1	<i>H.influenzae</i>	1		
<b>Total</b>	31	17	3			

Tableau 9. Répartition des LCR positifs en fonction de l'origine infectieuse et germes détectés

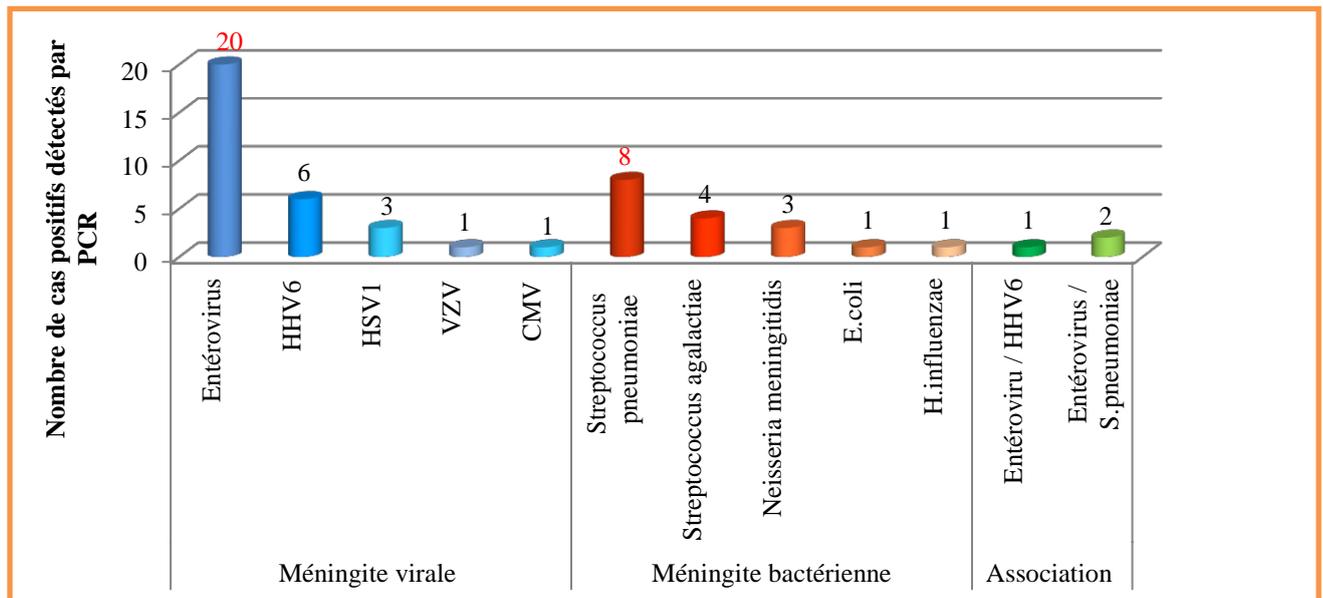


Figure 22. Répartition des LCR positifs en fonction de l'origine infectieuse et germes détectés

Figure 22 : et germes détectés

La figure 25 ainsi que le tableau montrent que :

- ✚ L'entérovirus représente presque 2/3 (20/31) des étiologies virales.
- ✚ Le pneumocoque représente plus de 1/3 (8/17) des étiologies bactériennes.

Ces résultats correspondent à ceux de la littérature :

— les méningites virales sont causées principalement par l'entérovirus (**Logan et MacMahon,2008**).

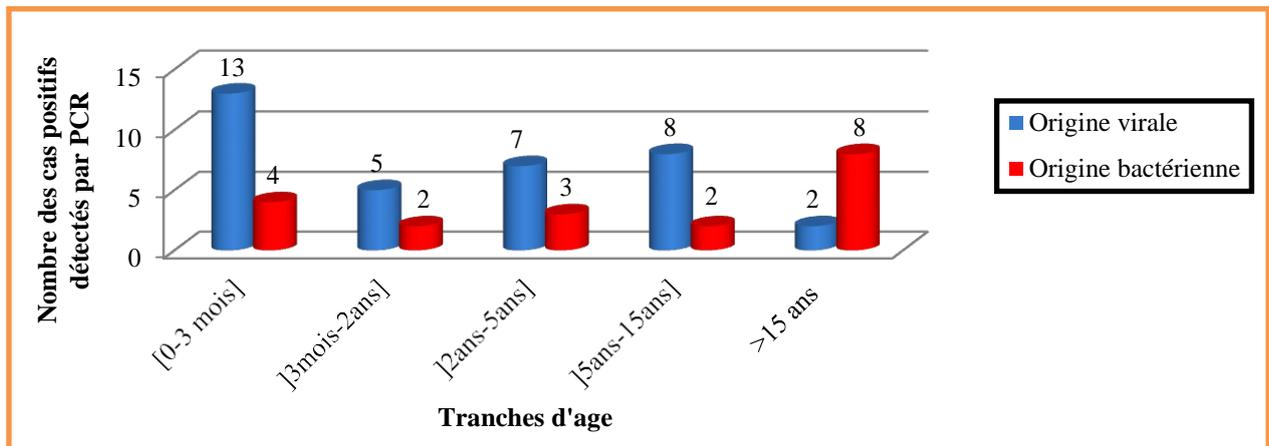
— Les méningites bactériennes sont causées essentiellement par le pneumocoque (**van de Beek et al.,2016**).

- La PCR multiplex a pu identifier trois cas de coinfection à entérovirus : 1 cas Entérovirus+HHV6 et 2 cas Entérovirus+*S.pneumoniae*. Ces résultats sont proches de celles de **Hanson et al.** en 2016, dont ils ont évalué un panel PCR multiplexé pour la détection de 16 agents pathogènes bactériens, viraux et fongiques dans le liquide céphalorachidien dont l'identification de plus d'un organisme a concerné 6% (20/342) des échantillons.

## 6. Origines infectieuses et tranches d'âge

Dans notre étude, l'âge moyen était de 19 ans 3 mois et 20 jours avec des âges extrêmes de 1 jour et 79 ans.

Les résultats de la répartition des prélèvements positifs en fonction des tranches d'âge et de l'origine infectieuse sont représentés dans la figure suivante :



**Figure 23.** Répartition des LCR positifs selon l'origine infectieuse et tranches d'âges

Figure 23 : et tranches d'ages

En terme d'âge, nous constatons que :

- Les méningites touchent essentiellement les enfants (44/54) et particulièrement les nouveaux nés (0-3mois) (17/54). Cette prédominance pourrait s'expliquer par une résistance moindre du fait d'une immaturité du système immunitaire.

Ce résultat rejoint d'une certaine manière ceux obtenus lors de la répartition des prélèvements positifs en fonction du service où 76.48% des prélèvements provenaient de la pédiatrie.

✚ Les méningites chez l'enfant sont beaucoup plus d'étiologies virales (33/44) contrairement à celles de l'adulte où les étiologies bactériennes prédominent (8/10).

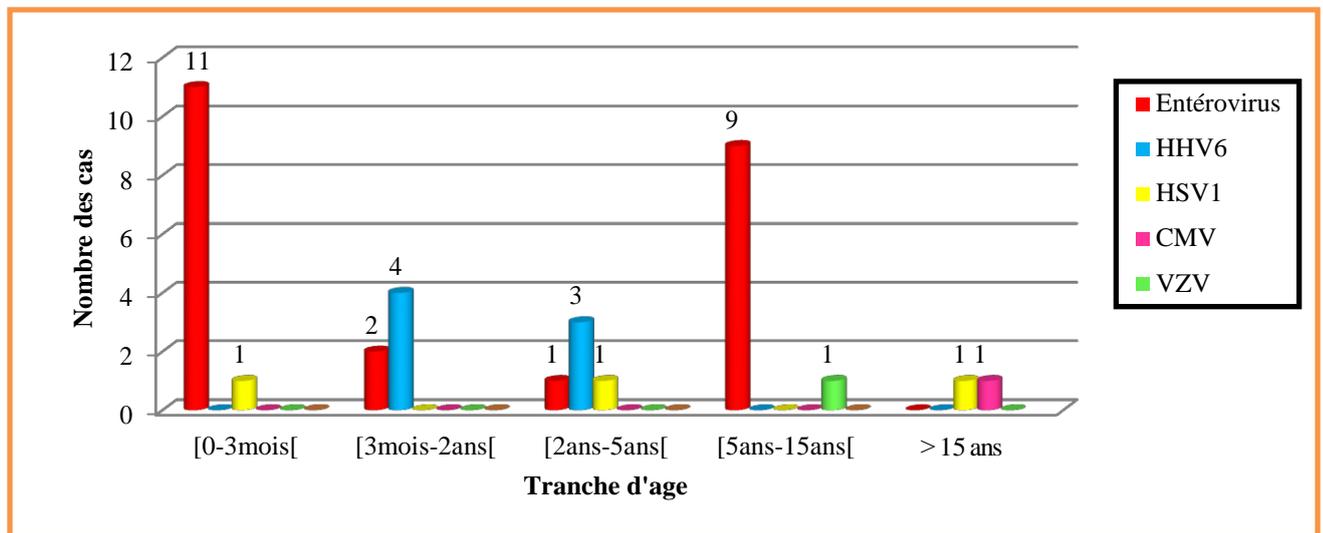
**a. Etiologies virales et âges**

— Les résultats de la répartition des LCR positifs en fonction de l'âge et des étiologies virales sont illustrés dans le tableau et la figure ci après :

Tableau 10 : en fonction de l'âge et étiologies virales

**Tableau 10.** Répartition des LCR positifs en fonction de l'âge et des étiologies virales

Virus	Nouveau-nés	Nourrissons	Enfants		Adultes	Total
	{0-3mois[	{3mois-2ans[	{2ans-5ans[	{5ans-15ans[	>15 ans	
Entérovirus	11	2	1	9	0	23/35
HHV6	0	4	3	0	0	7/35
HSV1	1	0	1	0	1	3/35
CMV	0	0	0	0	1	1/35
VZV	0	0	0	1	0	1/35
<b>Total</b>	<b>12/35</b>	<b>6/35</b>	<b>5/35</b>	<b>10/35</b>	<b>2/35</b>	<b>35</b>



**Figure 24.** Répartition des LCR positifs en fonction de l'âge et des étiologies virales

Figure 24 : répartition des LCR positifs en fonction de l'age et des étiologies virales

Dans le cas des méningites virales, l'entérovirus est l'étiologie la plus fréquente (23/35) en particulier chez le nouveau-né (11/23) et l'enfant de [5-15 ans] (9/23) suivi par l'HHV6 (7/35).

Les résultats obtenus sont comparés à ceux obtenus lors de l'étude de **Lagae et al., 2016** sur les infections néonatales précoces à entérovirus où il était détecté chez les nouveaux-nés dans 30% des cas.

L'étude de **Cherry et Krogstad, 2011** sur les infections à entérovirus, prouve que la fréquence et la gravité des infections à ce dernier sont inversement proportionnelles à l'âge du sujet.

L'absence de pléiocytose chez certains nouveau-nés peut être expliquée par une immaturité immunologique, les cytokines nécessaires au recrutement des leucocytes sur le site infectieux n'étant pas encore suffisamment développées (**Yun et al., 2012**).

La primo-infection, qui survient principalement durant les trois premières années de vie, est due au HHV-6B. Elle se caractérise par un bref exanthème appelé roséole. Le virus reste ensuite latent sous la forme d'un épisode dans le noyau des cellules infectées (lymphocytes, les monocytes, certaines cellules épithéliales et, en particulier les cellules des glandes salivaires). Sa réactivation chez les sujets immunocompétents est généralement asymptomatique, tandis que sa réactivation chez les patients immunodéprimés peut provoquer des pathologies (une encéphalite, un retard à la sortie d'aplasie, une hépatite) (**Agut, 2015**).

Les autres étiologies virales étaient représentées par :

—Le cytomegalovirus (CMV) qui a été identifié chez un patient immunodéprimé de 29 ans et présentant en plus une méningite tuberculeuse. C'est le virus le plus invasif vu sa capacité élevée à s'échapper au système immunitaire de l'hôte en détournant la machinerie cellulaire de cette dernière. Il est opportuniste chez les individus immunodéprimés (**Plosa et al., 2012**).

—Le virus varicelle-zona (VZV) a été identifié chez une fille de 13 ans présentant un zona. Ce virus infecte les enfants (primo-infection) sous forme de varicelle puis établit une phase de latence dans les ganglions nerveux sensitifs rachidiens et crâniens et donne plus tard par réactivation le zona (**Levy et al., 2014**).

—Le HSV-1, a été identifié chez 3 patients de 2 mois, 3 ans, 35 ans. Cela s'accorde avec la littérature : vers 6 mois à un an, après la perte des anticorps maternels, la plupart des individus s'infectent par le HSV-1 à partir de l'excrétion salivaire d'une personne de l'entourage, enfant ou

ou

---

adulte, elle se manifeste par un bouquet de vésicules à la jonction de la peau et de la muqueuse buccale et sur le bord des lèvres. Chez l'adulte, la multiplication intracérébrale du HSV-1 au niveau des neurones est liée à une encéphalite herpétique touchant des individus immunocompétents et survient généralement au cours de réactivations virales (Arduino and Porter,2008).

**b. Etiologies bactériennes et âges**

Les résultats de la répartition des LCR positifs en fonction de l'âge et des étiologies bactériennes sont illustrés dans le tableau et la figure ci-après :

Tableau 11 : étiologies bactériennes

Tableau 11. Répartition des LCR positifs en fonction de l'âge et des étiologies bactériennes

Bactéries	Enfants	Adultes	Total
<i>S.pneumoniae</i>	6	4	10
<i>S.agalactiae</i>	3	1	4
<i>N.meningitidis</i>	0	3	3
<i>E.coli KI</i>	1	0	1
<i>H.influenzae</i>	1	0	1
Total	11	8	19

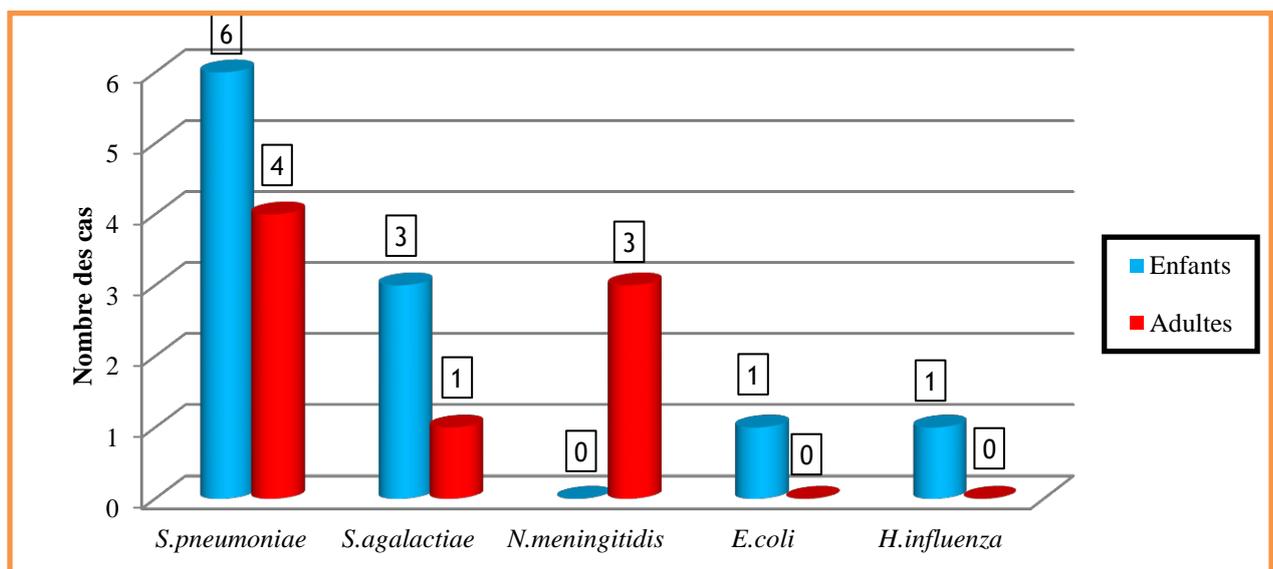


Figure 25. Répartition des LCR positifs en fonction de l'âge et des étiologies bactériennes.

Figure 25 : et des étiologies bactérienne

Selon le tableau et la figure ci-dessus, nous remarquons que :

- ✚ *S.pneumoniae*, *S.agalactiae* et *N.meningitidis* sont les trois principales étiologies responsables de méningites bactériennes.
- ✚ Le *S.pneumoniae* est responsable de méningites chez l'enfant et chez l'adulte contrairement au méningocoque n'affectant que l'adulte (N=3 : 19 ans, 20 ans, 54 ans).

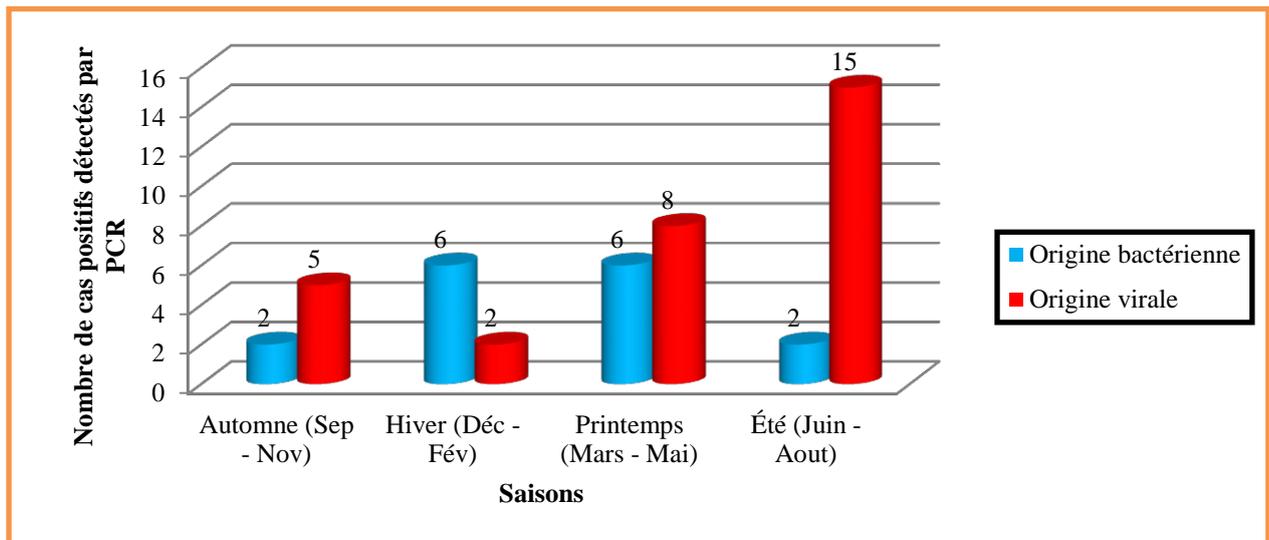
Les résultats obtenus concordent à ceux de l'étude de **Bijlsma et al.,2016** sur les méningites bactériennes communautaires chez l'adulte aux Pays-Bas sur une cohorte entre 2006-2014 dont l'âge été > 16 ans d'où le germe causatif le plus fréquent était *Streptococcus pneumoniae*, cela pourrait s'expliquer par le fait que les patients présentant un facteur de risque tel qu'une otite, sinusite ou un état immunodéprimé sont plus susceptibles de présenter une méningite à pneumocoque (**Revest et Michelet,2009**).

Les étiologies bactériennes des méningites néonatales identifiées sont *S.agalactiae* (N= 2 : 30 jours, 36 jours) et *E.coli K1* (N=1 : 1 jour). L'étude de **Chemsî et Benomar,2015** sur les infections bactériennes néonatales précoces a révélé une concordance avec nos résultats. Le *Streptococcus agalactiae* a représenté la première étiologie et son origine est une contamination du liquide amniotique par des germes provenant du tractus génital (**Six et al.,2014**).

- ✚ Les autres étiologies bactériennes sont *S.agalactiae* (N=2 : 5ans immunodéprimé, 21 ans hospitalisé en réanimation médicale) et *H.influenzae* (N=1 : 5ans immunodéprimé).

## 7. Origines infectieuses et saisons

En ce qui concerne cette rubrique, le choix s'est arrêté délibérément sur une période de deux ans allant du 1 juin 2017 au 1 juin 2019, au cours de laquelle, il a été enregistré 46 LCR positifs sur les 51 LCR positifs objet de notre étude. Les résultats obtenus sont démontrés dans la figure suivante :



**Figure 26.** Répartition des LCR positifs en fonction de l'origine infectieuse et saison

[Figure 26 : et saison](#)

La figure indique que les méningites communautaires apparaissent au cours de toutes les saisons.

✚ Concernant la méningite virale, une recrudescence est notée pendant l'été et le printemps.

Ce résultat est compatible à celui trouvé par **Rozenberg,2002** lors de son étude réalisée sur les infections neuroméningées virales aiguës, montrant que ces dernières culminent pendant l'été et le printemps.

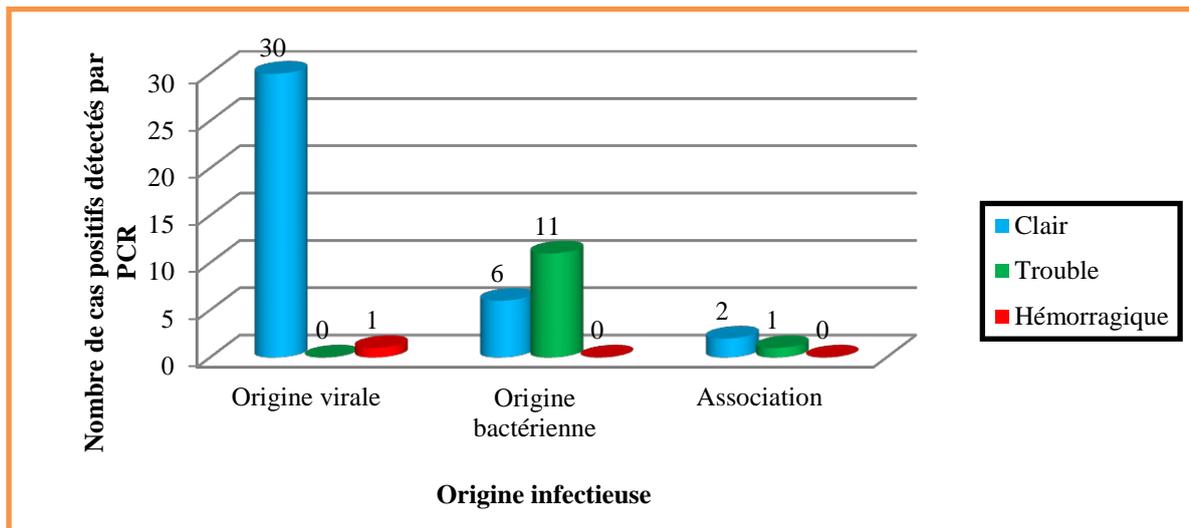
Dans une autre étude menée à Fès (Maroc) par **Idir,2012** a noté lui aussi la présence de deux pics dont l'un au printemps (32%) et l'autre en automne (26,4%). Par contre, d'autres études se contrastent avec ces résultats. En effet, celles réalisées par **Shah et al.,2006** ont montré une recrudescence de la méningite virale en été.

✚ Tandis que la méningite bactérienne sévit essentiellement au cours de la période hivernale et printanière. Cela peut être expliqué par l'augmentation de la fréquence des infections respiratoires aiguës pendant ces périodes.

**Astruc,2010** a remarqué lors d'une étude réalisée au Maroc, que les taux les plus élevés sont notés en automne et en hiver.

### 8. Origines infectieuses et aspect macroscopique du LCR :

La figure 30 démontre les résultats de la répartition des prélèvements positifs selon l'aspect macroscopique et l'origine infectieuse.



**Figure 27.** Répartition des LCR positifs en fonction de l'aspect macroscopique et de l'origine infectieuse.

Figure 27 : et de l'aspect macroscopique

Selon les résultats obtenus :

➤ Presque la totalité des méningites virales sont des méningites à liquide clair (30/31).

➤ Le LCR dans le cas des méningites bactériennes est :

→ soit trouble (11/17), cet aspect est expliqué par l'hyperleucocytose présente dans le LCR lors des méningites purulentes. Dans l'étude de **Puspongoro et al., 2011**, sur les méningites bactériennes, 8/11 cas avait un LCR d'aspect trouble ; ce qui concorde avec les résultats trouvés.

→ ou clair (6/17) qui peut être lié à un début de méningite purulente ou à une méningite bactérienne décapitée (**Maiden et al., 2008**).

### 9. Origines infectieuses et cellulorachie :

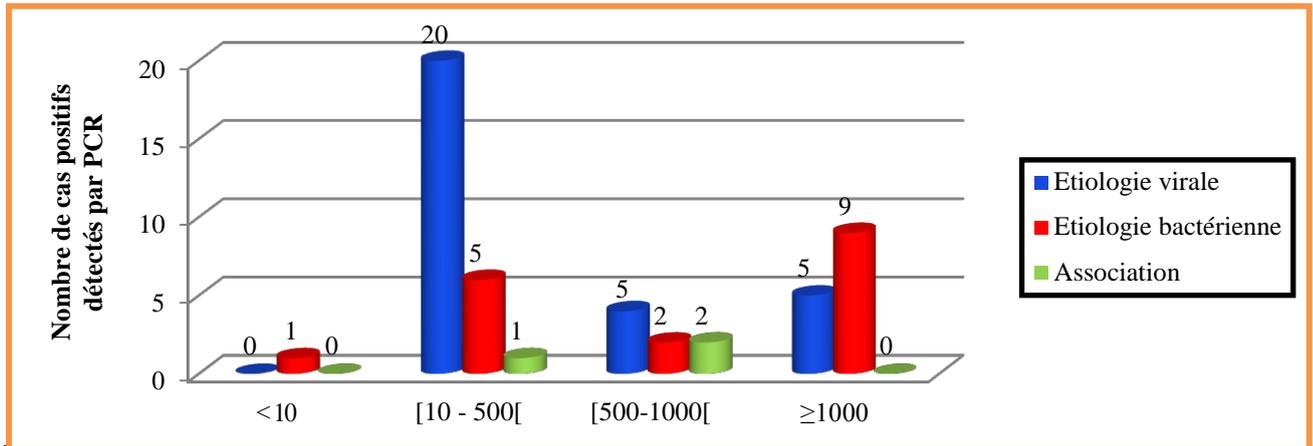
Parmi les 51 LCR positifs, seul le prélèvement hémorragique a été écarté de l'étude cytologique. Les résultats obtenus figurent dans le tableau :

Tableau 12 : et cellulorachie

**Tableau 12.** Répartition des LCR positifs en fonction de l'origine infectieuse et cellulorachie

Cellulorachie(éléments/mm <sup>3</sup> )	Etiologie virale	Etiologie bactérienne	Association	Total
--	------------------	-----------------------	-------------	-------

<10	0	1	0	1
[10 - 500[	20	5	1	26
[500-1000[	5	2	2	9
≥1000	5	9	0	14
<b>Total</b>	30	17	3	50



**Figure 28.** Répartition des LCR positifs en fonction de l'origine infectieuse et cellulorachie

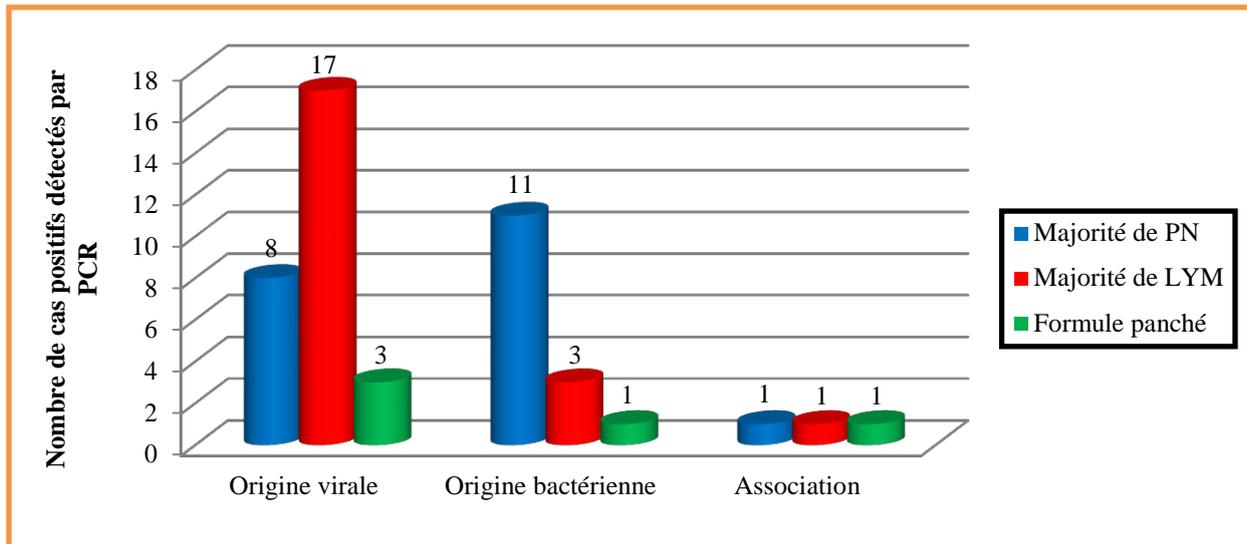
**Figure 28 : et cellulorachie**

Dans les méningites virales, la cellulorachie est dans majorité des cas (20/30) comprise entre 10 et 500 éléments/mm<sup>3</sup>, cependant pour 2 méningites à HHV 6 et 3 à Entérovirus elle dépasse 1000 éléments/mm<sup>3</sup>.

Dans les méningites bactériennes, la cellulorachie dans la majorité des cas (11/17) dépasse 500 éléments/mm<sup>3</sup> (dont 9 dépasse même 1000 éléments/mm<sup>3</sup>), cependant 5 cas de méningites bactériennes ont présentés une cellulorachie entre 10-500 éléments/mm<sup>3</sup>.

**10. Origines infectieuses et formule leucocytaire du LCR:**

La formule leucocytaire n'était réalisée que pour 46 prélèvements de LCR positifs. Les résultats obtenus sont présentés dans la figure



**Figure 29.** Répartition des LCR en fonction de l'origine infectieuse et formule leucocytaire

[Figure 29 ; et formule leucocytaire](#)

La formule leucocytaire est à prédominance neutrophile dans 11/15 cas des méningites bactériennes alors que dans 17/28 cas des méningites virales sont à prédominance lymphocytaire.

Ces résultats concordent à ceux de **Viallon et al.,2011** sur les valeur de marqueurs cytochimiques pour le diagnostic différentiel des méningites d'où ils ont trouvé que la méningite bactérienne est caractérisée par une prédominance neutrophile et la méningite virale est caractérisée par une prédominance lymphocytaire. Aussi ; comme le cas de notre étude, les résultats de **McGill et al.,2017** sur les méningites virales, prouve que cette dernière est à prédominance neutrophile au début de la maladie et peut être à prédominance lymphocytaire après son évolution et particulièrement en cas de méningite virale due à l'Entérovirus. L'étude de **Sebastiaan et al.,2014** sur la méningite bactérienne prouve que cette dernière est à prédominance neutrophile avec un taux > à 80%.

Ces résultats concordent avec les données de la littérature :

- La formule leucocytaire peut être à prédominance neutrophile lors du début des méningites virales (8/20).
- La formule leucocytaire peut être lymphocytaire en cas de début de méningite bactérienne ou en cas de début de traitement (3/15).

#### **11. Origines infectieuses et biochimie du LCR:**

- Les résultats de l'analyse biochimique du LCR sont représentés dans le tableau :

Tableau 13 : et biochimie du LCR

**Tableau 13.** Répartition des LCR positifs en fonction de l'origine infectieuse et biochimie du LCR

Etiologie — Biochimie	Virale	Bactérienne	Association (V/V,B/V)	Total
Normoglycorachie.Normoprotéinorachie	7	2	1	10
Normoglycorachie.Hyperprotéinorachie	19	1	2	22
Hypoglycorachie.Normoprotéinorachie	0	1	0	1
Hypoglycorachie.Hyperprotéinorachie	1 <sup>a</sup>	11	0	12
<b>Total</b>	<b>27</b>	<b>15</b>	<b>3</b>	<b>45</b>

<sup>a</sup>: Méningite tuberculeuse + méningite à CMV.

✚ Dans les méningites virales :

— La glycorachie est normale dans la majorité des cas (26/27).

— L'hyperprotéinorachie est observée seulement dans (20/27) des cas. Les 7 méningites virales associées à une normoprotéinorachie sont dues à l'entérovirus.

— Les méningites bactériennes, dans la plus part des cas (11/15), sont associées à une hypoglycorachie et une hyperprotéinorachie. Ces résultats étaient comparés à l'étude de **Tamune et al.,2013** (le rapport liquide céphalo-rachidien / glucose sanguin) dont ils ont constaté une hypoglycorachie ; indicateur de la méningite bactérienne. Aussi, l'étude de **Shrikanth et al.,2015** prouve que l'hypoglycorachie est associée à une méningite bactérienne d'une part (25%) mais aussi elle est due à la tuberculose ou à CMV dans 4/5 cas étudié. L'hypoglycorachie comprend l'inhibition de l'entrée du glucose dans les espaces sous arachnoïdiens en raison d'altérations de la barrière hémato-encéphalique, du taux accru de transport du glucose entre les villosités arachnoïdiennes, de la glycolyse accrue par les leucocytes et les bactéries, à une augmentation taux de métabolisme dans le cerveau et la moelle épinière (**Dzupova et al.,2009**).

❖ — La cellulorachie, la formule leucocytaire et la biochimie du LCR permettent une orientation du diagnostic mais jamais un diagnostic de certitude.

20/43 PCR négatives étaient associées à une cellulorachie et une biochimie anormale. La négativité de ce test était aussi une information importante permettant un diagnostic

d'élimination (adaptations du traitement anti infectieux ou orientation vers une étiologie non infectieuse).

<b>Figure 1</b> : Anatomie des méninges.....	2
<b>Figure 2</b> : Circulation du LCR dans le cerveau.....	3
<b>Figure 3</b> : Dissémination du méningocoque d'une infection rhinopharynx.....	5
<b>Figure 4</b> : Espace de réalisation de la ponction lombaire.....	13
<b>Figure 5</b> : La station de chargement des 2 tubes bleu et rouge.....	21
<b>Figure 6</b> : La cassette FMEP et son emballage.....	21
<b>Figure 7</b> : Différents aspect macroscopiques du LCR.....	22
<b>Figure 8</b> : Schémas récapitulatif des différents examens biologiques du LCR.....	24
<b>Figure 9</b> : Préparation de la cassette.....	28
<b>Figure 10</b> : Hydratation de la cassette.....	28
<b>Figure 11</b> : Préparation de l'échantillon.....	29
<b>Figure 12</b> : Chargement de l'échantillon préparé.....	29
<b>Figure 13</b> : Scan du code à barre , logiciel.....	30
<b>Figure 14</b> : Etapes du procédé d'analyse FMEP.....	30
<b>Figure 15</b> : courbes générés après le dernier cycle de PCR par l'automate Film Array.....	33
<b>Figure 16</b> : Les deux contrôles de la PCR multiplex FilmArray.....	34
<b>Figure 17</b> : Répartition des LCR selon le résultat obtenu par les techniques de dépistage ...	37
<b>Figure 18</b> : Répartition des LCR positifs en fonction du sexe.....	40
<b>Figure 19</b> : Répartition des LCR positifs en fonction des germes détectés.....	40
<b>Figure 20</b> : Répartition des LCR positifs en fonction de l'origine infectieuse.....	41
<b>Figure 21</b> : Répartition des LCR positifs en fonction de l'origine infectieuse et germes détectés.....	42
<b>Figure 22</b> : Répartition des LCR positifs en fonction de l'origine infectieuse et tranches d'âges .....	43
<b>Figure 23</b> : Répartition des LCR positifs en fonction de l'âge et des étiologies virales.....	44
<b>Figure 24</b> : Répartition des LCR positifs en fonction de l'âge et des étiologies bactériennes.	45
<b>Figure 25</b> : Répartition des LCR positifs en fonction de l'origine infectieuse et saison.....	46
<b>Figure 26</b> : Répartition des LCR positifs en fonction de l'origine infectieuse et de l'aspect macroscopique.....	47
<b>Figure 27</b> : Répartition des LCR positifs en fonction de l'origine infectieuse et cellulorachie .....	48
<b>Figure 28</b> : Répartition des LCR positifs en fonction de l'origine infectieuse et formule leucocytaire.....	49

---

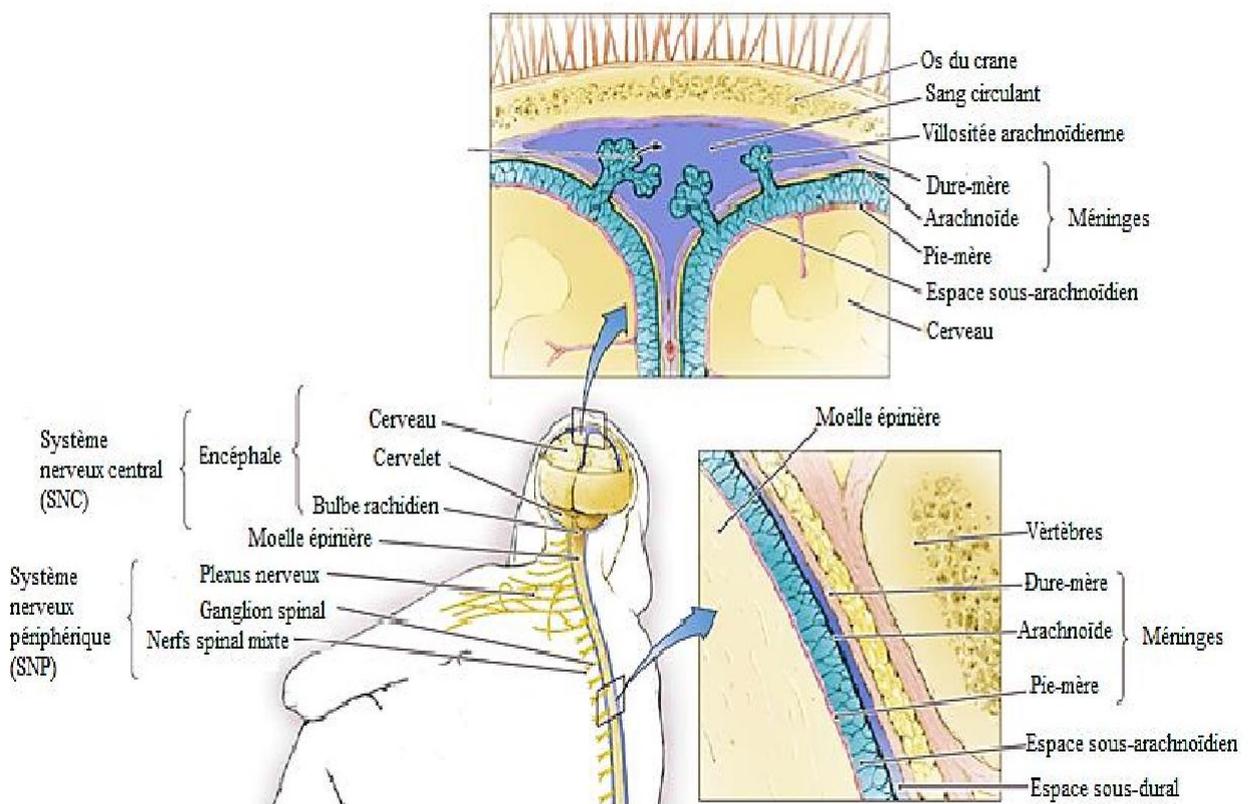
**Figure 28** : Répartition des LCR positifs en fonction de l'origine infectieuse et formule  
leucocytaire ..... 47

## I. Rappel anatomo-physiopathologique

### 1. les méninges

Sont des fines membranes entourant le cerveau et la moelle épinière, elles sont constituées de 3 couches : la pachyméninge (la dure mère) et la leptoméninge (arachnoïde et pie-mère) (figure 1); séparées par 3 espaces fondamentaux :

- L'espace épidual (extradural), entre l'os et la dure mère, au niveau du crâne et au niveau du rachis ; l'espace contient de la graisse et des veines.
- L'espace sou-dural, traversé par les veines du cerveau qui gagnent les sinus veineux.
- L'espace sous-arachnoïdien compris entre la pie-mère et l'arachnoïde, cloisonné par les travées de ce dernier qui contiennent le liquide céphalorachidien (LCR) (Saidi et Boukerche,2013).



**Figure 1.** Anatomie des méninges (Bauman,2011).

## 2. Le liquide céphalo-rachidien

Le liquide céphalorachidien (LCR) est un liquide entourant tout le système nerveux central; sa composition chimique ressemble à celle du plasma ; il est produit par filtration du sang, et secrété au niveau des plexus choroïdes situés à proximité des ventricules qui forment des cavités à l'intérieur du cerveau dont la parois est tapissées par des cellules appelées les épendymocytes ayant une propriété de motricité permettant le passage du LCR dans l'espace sous arachnoïdien, ce dernier est doté des granulations arachnoïdiennes (villosités arachnoïdiennes) permettant la sécrétion du LCR en dehors de l'espace sous arachnoïdien permettent la régulation de son volume et sa pression (figure 2).

Le LCR normal est un liquide d'aspect clair, limpide, qualifié d'eau de roche et stérile et toute perturbation de ce liquide est associé à un syndrome méningé et à un état infectieux se traduira par une méningite (Sakka, Coll et Chazal,2011).

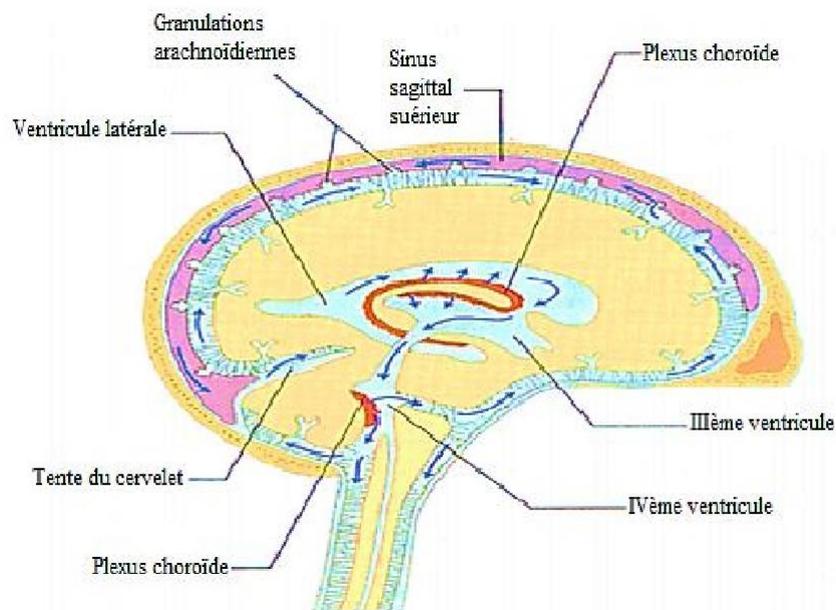


Figure 2. Circulation du LCR dans le cerveau (Saidi et Boukereche, 2013).

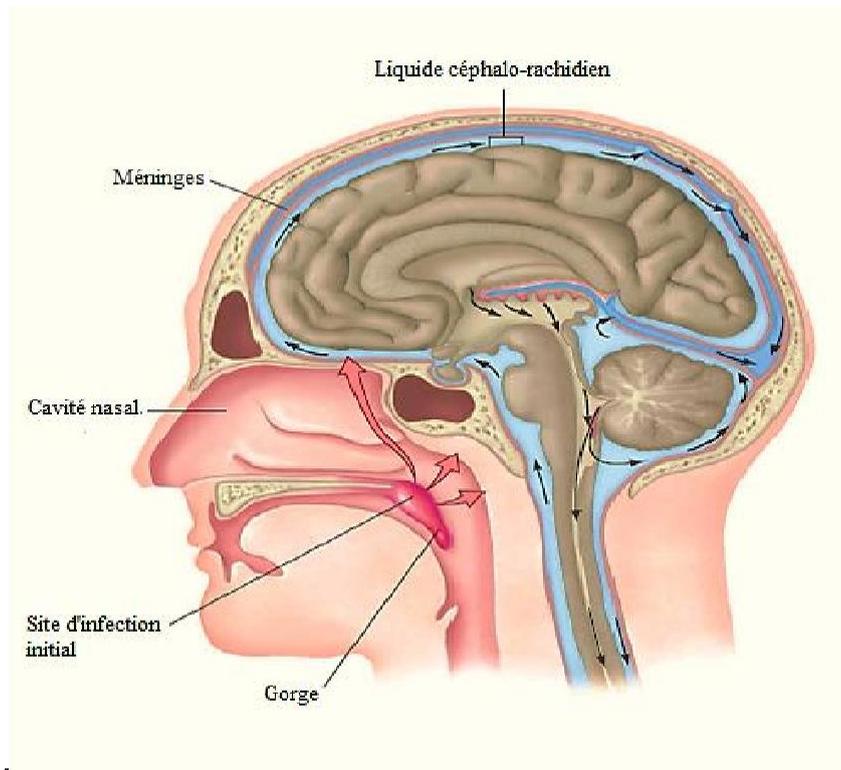
### 3. Survenue de l'infection

**Colonisation de l'hôte par le pathogène :** initialement ; les germes neurotropes colonisent les surfaces épithéliales soit dans les voies respiratoire ou les voies gastro-intestinal ou génital inférieures avant de passer dans le sang (Wijdiicks et al., 2016).

**Survie dans le sang :** grâce aux capsules polysaccharidiques présentent à la surface des bactéries et les capsides entourant le génome virale ainsi que la production des virions, le potentiel de pathogénicité de ces germes infectieux est élevé et se traduit par une résistance face aux cellules présentent dans la circulation sanguine (macrophage) ; cellules tueurs naturelles (NK) ; polynucléaires neutrophiles), permettant alors le franchissement de la barrière hémato-méningée donnant une méningite ou la barrière hémato-encéphalique donnant une méningo-encéphalite (Wijdiicks et al., 2016).

**Entrée dans le système nerveux centrale (SNC) :** la pénétration des germes dans l'espace sous arachnoïdien est assurée par une phase de bactériémie ou de virémie favorisée par l'interaction entre les composants de surfaces des germes infectieux et les récepteurs des cellules endothéliales de la barrière hémato-méningée (Koyuncu et al., 2013). Dans le LCR, les germes créent un intense processus inflammatoire provoquant une réponse de l'hôte consistant dans la production de cytokines par des cellules à activité macrophagique *in situ*, les principales sont les facteurs de nécrose tumorale (TNFalpha), interleukines 1 (IL1) et interleukine 6 (IL6)(Wijdiicks et al., 2016). Celle-ci se marque par l'afflux de polynucléaires (figure3).

---



**Figure 3.** Dissémination du méningocoque d'une infection rhinopharynx (Talaro et Chess, 2017).

## **I. Définition et classification des méningites**

### **1. Définition**

La méningite est une inflammation des fines membranes entourant le cerveau et la moelle épinière appelés les méninges. Elle résulte de la pénétration d'une multitude d'agents infectieux souvent des virus ou des bactéries à travers la barrière hémato-méningée. Ces microorganismes sont responsables de deux grandes entités ayant des manifestations cliniques, des traitements et des pronostics bien distincts, soit la méningite virale ou la méningite bactérienne (**Chavanet et al., 2007**).

La méningo-encéphalite est une inflammation du parenchyme cérébral provoqué par la pénétration de germes pathogènes neurotropes à travers la barrière hémato-encéphalique. C'est une maladie du cortex cérébral qui provoque une altération de l'état mental et des signes neurologiques locaux ou diffus peuvent être observés (**Heyderman, 2005**).

### **2. Classification**

- a. Selon les étiologies infectieuses, les méningites se répartissent en trois groupes :
    - Les méningites virales généralement bénignes et d'évolution spontanée favorable.
    - Les méningites fongiques, rares et le plus souvent liées à une immunodépression.
    - Les méningites bactériennes, rares et graves (**Mariani-Kurkdjian, Bonacorsi et Bingen, 2016**).
  - b. Selon l'aspect macroscopique du LCR, on distingue des méningites purulentes et des méningites à liquide clair.
  - c. Selon l'origine de l'infection et les conditions de survenue, on distingue parmi les méningites bactériennes :
    - les méningites primitives communautaires: l'infection est acquise en dehors d'une structure de santé ou un geste de soins. Elles sont dues à des bactéries encapsulées dont le portage est strictement humain (**Mariani et al., 2018**).
    - les méningites secondaires nosocomiales liées aux soins : l'infection est contractée dans un établissement de santé et/ou suites à un acte de soin. Elles sont dues à des germes hospitaliers souvent résistants à savoir : Entérobactéries (*KES* : *Klebsiella* *Enterobacter* *Serratia*), *Pseudomonas* *Acinetobacter* et *Staphylococcus aureus*/*Staphylococcus epidermidis* (**Mariani et al., 2018**).
-

### III. Epidémiologie

#### 1. Mode de transmission

La transmission varie selon l'agent causal :

##### Méningites bactériennes

Il existe plusieurs modes de transmission dont :

**La transmission interhumaine :** Il s'agit d'une transmission directe concernant essentiellement les bactéries commensales des voies respiratoires supérieures de l'homme (*Neisseria meningitidis*, *Haemophilus influenzae* et certains pneumocoques). Après inhalation des gouttelettes d'un sujet infecté ou de porteur asymptomatique et suite à une simple rhino pharyngite, ou pneumonie, la bactérie s'étend par voie hématogène (bactériémie) vers l'espace méningé (**Maiden et al., 2008**).

**La transmission par contiguïté :** Dans laquelle un foyer infectieux (en particulier ORL tels qu'otite ou mastoïdite) ou un simple portage s'étend à l'espace méningé, souvent du fait d'une brèche ostéoméningée préexistante (ex ; *Streptococcus pneumoniae*) (**Serrazin, Bonneville and Martin-Blondel, 2012**).

##### La transmission materno-fœtale :

— Par voie ascendante : Il s'agit d'une contamination du liquide amniotique par des germes provenant du tractus génital. C'est le mode de contamination le plus fréquent (en particulier pour le *Streptococcus agalactiae*) (**Six et al., 2014**).

— Par voie hématogène transplacentaire : Il s'agit d'une contamination du fœtus à partir du placenta suite à une bactériémie maternelle. C'est la plus fréquente au cours des listérioses (**Six et al., 2014**). La voie ascendante et la voie hématogène transplacentaire sont responsables d'un syndrome précoce survenant au cours de la première semaine de vie « 72 premières heures » (**Six et al., 2014**).

— Par voie per natale : C'est la contamination du nouveau-né, au cours du passage dans la filière génitale, suite à la déglutition du liquide amniotique infecté ou contaminé par les germes présents dans la flore vaginale. Elles sont dues principalement à *Streptococcus agalactiae* et *Escherichia coli*. C'est un syndrome tardif se déclarant de 7 jours à 3 mois après la naissance (**Bidet et al., 2014**).

**La transmission alimentaire :** *Listeria monocytogenes* se transmet par voie digestive lors de la consommation de laitages ou de charcuteries contaminés et touche exceptionnellement le sujet âgé et l'immunodéprimé (**Leclercq et**

---

al.,2017).

## 1.2. Méningites virales

La transmission se fait par contact direct avec de la salive, des expectorations, du mucus nasal et des objets contaminés. Les nourrissons et les jeunes enfants qui mettent les jouets dans leur bouche ou partagent leurs couverts peuvent s'infecter mutuellement (**Logan et Mac Mahon, 2008**).

## 2. Facteurs favorisant la survenue des méningites communautaires

— Les brèches neuroméningées traumatiques (méningite à pneumocoque) (**Klossek, 2009**).

— Les localisations infectieuses primitives (sinusites, otites) peuvent être considérées comme la porte d'entrée des germes causaux de la méningite (**Revest, 2009**).

— La promiscuité dans les collectivités (en particulier au niveau des crèches, écoles...) favorise la survenue des méningites bactériennes et virales (**Revest, 2009**).

— L'âge > 60ans, l'immunodéficience, le diabète, le cancer, l'HIV sont des facteurs prédisposant de méningites bactériennes communautaires (**Revest, 2009**).

— Les éléments intervenant sur le taux de contamination du nouveau-né et majorant le risque de développer une infection materno-fœtale à *Streptococcus agalactiae* et *Escherichia coli K1* sont la présence du germe dans les voies génitales maternelles lors de l'accouchement et l'importance quantitative de la colonisation.

## 3. Données épidémiologiques

### 3.1. Au niveau mondial

La méningite reste une cause importante de morbidité et de mortalité, bien qu'elle soit une maladie à déclaration obligatoire dans de nombreux pays, les chiffres épidémiologiques exacts ne sont pas connus (**Logan et Mac Mahon, 2008**).

L'origine virale des méningites infectieuses reste la plus fréquente (70 à 80% des cas) avec un pronostic généralement favorable. Elle se rencontre généralement l'été et au début de l'automne. Elle touche tous les groupes d'âge, mais plus souvent les enfants de moins de 10 ans (**Logan et Mac Mahon, 2008**).

Les Entérovirus sont responsables de 85% des méningites virales durant toute l'année dans les régions tropicales ; tandis que les Oreillons sont responsables de 10% des méningites virales dans les régions non vaccinées. 5% des méningites virales sont causées par les Arbovirus aux USA alors que Herpes virus est responsable que de 4% des MV (**Segondy, 2017**).

---

Bien que la méningite bactérienne ne soit responsable que de 20 à 25% des cas, la mortalité qui lui est associée est très importante et les survivants présentent relativement souvent des séquelles neurologiques importantes (30%) (Matthijs et al., 2010).

L'incidence des méningites bactériennes varie considérablement d'un pays à l'autre, selon le développement, les conditions socio-économiques, l'âge et de nombreux autres facteurs. Dans les pays industrialisés elle est de 2,5 à 10 pour 100.000 habitants alors qu'elle est 10 fois plus élevée dans les pays en développement. Les deux tiers de ces méningites surviennent chez les enfants âgés de moins de 5 ans.

### 3.2. En Algérie

En 2011, le nombre de méningites survenues en Algérie a été estimé à 5284 cas (O.N.S). – Le taux d'incidence des méningites bactériennes purulentes a connu une baisse significative, passant de 7,16 cas pour 100.000 habitants en l'an 2000 à 1,87 cas pour 100.000 habitants en 2007. Aucune épidémie n'a été signalée au cours de l'année 2007, hormis quelques cas sporadiques, notamment dans les wilayas du sud (I.N.S.P, 2007).

Les bactéries impliqués sont par ordre de fréquence le *Streptococcus pneumoniae* (suite à l'émergence de souches résistantes), *Neisseria meningitidis* et *Haemophilus influenzae b* (Hib) en dernier « 1 seul cas en 2016 » ce qui pourrait être expliqué par l'instauration de la vaccination anti Hib (O.M.S).

En 2016, 73,4 % des souches de pneumocoques et 2/5 des souches de méningocoques isolées à partir du LCR étaient de sensibilité diminuée à la pénicilline G.

La mortalité globale est de 4 à 8% même avec un traitement approprié (O.M.S).

## II. ————— Signes ————— cliniques

Plusieurs données cliniques sont évocatrices d'une atteinte encéphalique à savoir: (Zaoui, Nasser et Touaz, 2016).

- Troubles variables et prolongés de la conscience.
- Crises convulsives (parfois état de mal épileptique).
- Signes de localisation neurologique focaux.
- Troubles de l'équilibre, atteinte des paires crâniennes.
- Modifications durables du comportement, troubles mnésiques ou du langage.
- Troubles ————— hémodynamiques.

Des symptômes différents selon l'âge du patient marquent la méningite (tableau 1).

---

Tableau 1 : signes cliniques en fonction de l'âge

**Tableau 1.** Signes cliniques en fonction de l'âge (Fitch et Van de Beek, 2007).

<b>Chez le nourrisson</b>	Irritabilité, prise alimentaire insuffisante, fièvre, hypothermie
<b>Chez l'enfant</b>	Fièvre, maux de tête intenses, vomissements
<b>Chez l'adulte</b>	Fièvre, céphalées, raideur de nuque, altération de l'état de conscience, photophobie.

## V. Agents étiologiques

Les étiologies des méningites sont différentes de celles des méningo-encéphalites. L'épidémiologie varie selon l'âge du patient, le terrain (statut immunitaire) et l'origine géographique.

### 1. Méningites purulentes

Ce sont des méningites bactériennes à LCR purulent, constituant une urgence médicale mettant en jeu le pronostic vital dont la létalité reste élevée.

Les étiologies de méningites purulentes sont dominées par *S. pneumoniae*, *N. meningitidis*, et *H. influenzae* type b dans une proportion qui dépend de l'âge des sujets.

D'autres germes tels que *Streptococcus agalactiae*, *Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes*, et *Escherichia coli* de nombreuses bactéries à Gram négatif (entérobactéries) sont également isolés.

Avant la vaccination, *Haemophilus influenzae* était l'agent le plus fréquent responsable de méningite chez les enfants de moins de 5 ans (annexe 2, tableau 2).

### 2. Méningites et méningo-encéphalites à liquide clair

Les méningites à LCR clair regroupent les méningites et les méningo-encéphalites essentiellement communautaires. Les étiologies sont diverses (virales, bactériennes ou mycosiques). La majorité d'entre elles sont virales et bénignes, d'autres peuvent être graves (tuberculose, listériose et herpès).

## Méningites et méningo-encéphalites virales

Les infections virales du SNC se manifestent sous des formes cliniques variées, selon qu'elles impliquent les méninges, le parenchyme cérébral et/ou la moelle épinière. Les méningites virales sont de loin les plus fréquentes et les plus bénignes (Rozenberg, 2002). Elles ne nécessitent généralement aucun traitement antiviral à l'exception des méningo-encéphalites herpétiques pour lesquelles un traitement à l'acyclovir est prescrit (Kimberlin, 2004).

Les virus, dits neurotropes, ont la capacité de pénétrer dans le SNC et être directement responsables de lésions à ce niveau. Il s'agit essentiellement de virus pouvant se propager par voie nerveuse tel que l'Hèrpès virus (HSV1), Cytomégalovirus (CMV), Virus de la varicelle et du zona (VZV), ou de virus véhiculés par le sang et pouvant passer la barrière hémato-encéphalique (BHE) ; il s'agit par exemple des Entérovirus. Aussi de nombreux virus sont susceptibles d'entraîner occasionnellement une méningite comme le virus ourlien (Myxovirus), virus de la rougeole (Measles Virus), virus de la rubéole, virus influenza (Segondy, 2017).

### **Méningites bactériennes**

Certaines méningites bactériennes se présentent sous forme de méningites à LCR clair de nature lymphocytaire, polynucléaire ou à formule mixte (panachée). Elles peuvent être graves et urgentes devant être évoquées en premier.

### **Méningite tuberculeuse**

Le bacille de Koch (*Mycobacterium tuberculosis*) est un bacille acido-alcoolo-résistant (BAAR). Il est responsable de méningites qui surviennent dans un délai variable après la primo-infection ayant donné suite à une dissémination, de 6 mois à 2 ans et parfois beaucoup plus.

La méningite tuberculeuse touche essentiellement l'enfant, les personnes âgées, les transplantés et les immunodéprimés (Cherian et Thomas, 2011).

### **Méningite listérienne**

Certaines méningites à *Listeria monocytogenese* fournissent un liquide clair. La méningite listérienne doit être systématiquement évoquée au delà de 60 ans, chez l'immunodéprimé, chez le nouveau-né et chez la femme enceinte (Pasquier et Chuad, 2017).

### **Méningite bactérienne décapitée**

Certaines méningites bactériennes peuvent être décapitées par un traitement antibiotique traversant la barrière méningée mais à posologie et durée insuffisante. Le LCR est clair mais fait de polynucléaires. Le germe est absent (examen direct, culture). Le diagnostic est redressé par la clinique, la recherche d'antigènes solubles dans le LCR et idéalement par le diagnostic moléculaire (Maiden et al., 2008).

---

## VI. La ponction lombaire

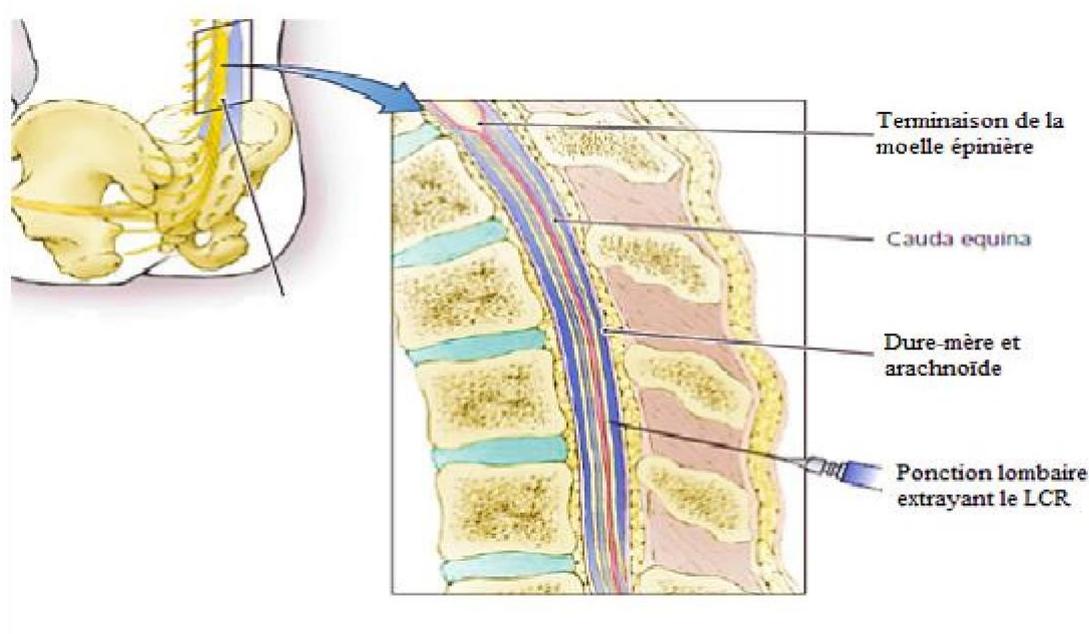
1. **Définition** : elle consiste à un prélèvement du LCR. Elle est indiquée dans plusieurs pathologies comme dans l'hydrocéphalie ou encore en cas de suspicion d'atteinte méningée, qu'elle soit (Chevallier et al.,2008):

— 1.1. Infectieuse : telle que la méningite et la méningo-encéphalite.

— 1.2. Inflammatoire : comme la myélite et toute autre manifestation clinique évoquant une inflammation (névrite optique).

— 1.3. Vasculaire : suspicion d'hémorragie méningée en cas de normalité du scanner cérébral.

2. **Réalisation de la ponction lombaire** : elle est réalisée entre les vertèbres lombaires : L3 et L4 ou L4 et L5 utilisant une aiguille fine après aseptie de la zone du prélèvement. Elle se fait en position assise ou en position latérale (Duval, 2015) (Figure 4).



**Figure 4.** Espace de réalisation de la ponction lombaire (Bauman,2017).

## VII. Diagnostic conventionnel de la méningite

### 1. Bilan biologique

Il consiste à réaliser deux bilans biochimiques : la glycorachie et la protéinorachie, dont les différentes variations aident à l'orientation vers un type précis de méningite qu'elle soit virale ou bactérienne.

Tableau 2 : valeurs du bilan biochimique en faveur du type de méningite

Tableau 2. Valeurs du bilan biochimique en faveur du type de méningite (Bingen,2016).

Bilan biochimique	Normal	En faveur de méningite virale	En faveur de méningite bactérienne
Protéinorachie	0,10 g/l — 0,45 g/l	Modérément élevé	Très élevés (> à 1g/l)
Glycorachie	≤ à 50% de la glycémie	> à 50 % de la glycémie	< à 50% de la glycémie

### 2. Aspect macroscopique du LCR

Le LCR est normalement clair (eau de roche) avec une cytologie < 5 éléments/mm<sup>3</sup>. Différents aspects et cytologies pathologiques peuvent être observés suite à une réaction inflammatoire. Le tableau 3 résume les aspects du LCR et les cytologies trouvés :

Tableau 3 : aspect macroscopique du LCR et cytologie en faveur

Aspects	Cytologie
LCR clair	< 05 éléments /mm <sup>3</sup>
LCR purulent (en faveur de méningite bactérienne)	> 200 éléments / mm <sup>3</sup> (prédominance des PN)
LCR claire (en faveur de méningite virale)	> 80 éléments / mm <sup>3</sup> (prédominance des LYM)
LCR citrin	10 — 500 éléments / mm <sup>3</sup>

3. **Mise en culture** : la mise en culture de LCR reste l'examen biologique de référence pour le diagnostic des méningites communautaires. La culture positive affirme le diagnostic et permet l'identification de l'agent étiologique et la détermination de sa sensibilité aux antibiotiques et donc d'adapter le traitement en fonction de la sensibilité observée.

## VIII. Diagnostic moléculaire de la méningite

Bien que les examens conventionnels soient nécessaires pour tout diagnostic de méningites communautaires, ils présentent des inconvénients : lents (18h – 48h), leurs résultats sont biaisés par de nombreux facteurs (antibiothérapie précoce, fragilité de certaines bactéries) ainsi que la difficulté de détection des virus. Pour pallier ces inconvénients ; les techniques de biologie moléculaire ont été instaurées.

### 1. Définition et principe de la réaction de polymérisation en chaîne (PCR)

Cette technique a été mise au point en 1985 par Kary Mullis. Il s'agit d'une répllication *in vitro* de séquences spécifiques d'ADN. Cette méthode permet de générer un très grand nombre d'exemplaires d'un fragment d'ADN particulier à partir d'une faible quantité d'échantillon (Garibyan et Avashia,2013).

### 2. Etapes de la réalisation de la PCR

**Etape1:**Extraction et purification des acides nucléiques

L'objectif de l'extraction est d'isoler la molécule d'ADN, c'est à dire la séparer de tous les autres constituants d'un tissu, y compris les molécules fortement liées à l'ADN (histones), et d'en obtenir un échantillon pur.

**Etape2 :** préparation du milieu réactionnel

1. **L'enzyme Taq polymérase** : Les ADN polymérases sont des enzymes qui synthétisent l'ADN de l'extrémité. Les polymérases utilisées en PCR sont extraites de bactéries vivant naturellement à des températures élevées, elle provenaient d'une bactérie thermophile (*Thermusaquaticus*) (Mackay, ArdeetNitsche,2002).
  2. **Les amorces (primers)** : durant la PCR, les amorces délimitent la séquence d'ADN à amplifier et elles lui sont spécifiques (Mackay, ArdeetNitsche,2002). Elles sont de
-

petites séquences d'environ 20 paires de bases capable de s'hybrider chacune à l'extrémité libre 3'OH du fragment à amplifier grâce à la complémentarité des séquences nucléotidiques.

3. **Les oligonucléotides** (dATP, dTTP, dGTP, dCTP) : sont des molécules présentes à l'état libre dans le milieu réactionnel, ajoutés au simple brin d'ADN afin de synthétiser le nouveau brin complémentaire au brin d'origine. (Mackay, Ardeet Nitsche, 2002).
4. **Le tampon** : le tampon utilisé pour la réaction PCR sert à maintenir la stabilité du pH du milieu réactionnel au niveau optimal pour la Taq polymérase (Mackay, Ardeet Nitsche, 2002). Il contient des cations bivalents  $Mg^{2+}$ , cofacteurs indispensables pour la réaction de polymérisation avec la Taq polymérase. La présence dans le milieu réactionnel des cations bivalents  $Mg^{2+}$  et de cations monovalents ( $K^{+}$  ou  $NH_4^{+}$ ) vont neutraliser les charges négatives des groupements phosphates au niveau de l'ADN et ainsi stabiliser les hybrides ADN/ADN.

### Etape 3 : Amplification

Elle est basée sur une répétition de cycles de transition de température, chaque cycle contient trois étapes.

1. **La dénaturation** : à une température élevée de  $95^{\circ}C$ , les liaisons hydrogènes sont rompues. A la fin de la dénaturation, on obtient deux simples brins d'ADN (Mackay, Ardeet Nitsche, 2002).
2. **L'hybridation** : à une température entre  $45^{\circ}C$  et  $65^{\circ}C$  les amorces sens et anti-sens s'hybrident aux brins d'ADN cibles par complémentarité de bases grâce à leurs extrémités 3'OH libres qui servent de point d'ancrage à l'ADN polymérase (Mackay, Arde et Nitsche, 2002).
3. **L'élongation** : cette étape est réalisée à  $72^{\circ}C$  permettant aux polymérases de synthétiser le brin complémentaire à l'ADN matriciel. Ce brin est synthétisé à partir des désoxyribonucléotiques (DNTP) libres présents dans le milieu réactionnel. La polymérisation se fait alors dans le sens 5' à 3' et aboutit à la formation d'ADN bicaténaire (Mackay, Arde et Nitsche, 2002).

### Etape 3 : Détection des amplicons

---

La détection des amplicons varie selon le type de la PCR (exemple :électrophorèse) (Mackay, Arde and Nitsche,2002).

---

### ~~3. Types de PCR~~

#### ~~3.1. PCR conventionnelle~~

La détection est faite à la fin des réactions de PCR soit en couplant le test ELISA, soit en réalisant une migration électrophorétique.

PCR—ELISA peut également être utilisé pour capturer l'amplicon sur une phase solide en utilisant des amorces marquées à la biotine ou à la digoxigénine, des sondes oligonueléotidiques (oligoprobes) ou directement après l'incorporation de la digoxigénine dans l'amplicon. Une fois capturé, l'amplicon peut être détecté à l'aide d'une molécule rapporteur avidine ou anti digoxigénine marquée par une enzyme, similaire au format ELISA standard (Mackay, Arde et Nitsche,2002).

L'électrophorèse sépare l'ADN selon le poids moléculaire. Sur gel d'agarose, les AN migrent dans un champ électrique. Les amplicons sont révélés par un agent intercalant fluorescent.

#### **PCR en temps réel (Real time PCR)**

La PCR en temps réel consiste à l'amplification et la détection simultanée des produits amplifiés. Le principe de cette technique repose sur la détection et la quantification d'un émetteur fluorescent pendant le processus d'amplification ; et l'augmentation du signal d'émission fluorescente est directement proportionnelle à la quantité d'amplicons produits durant la réaction. Il existe deux principes généraux pour la détection quantitative des amplicons : les agents se liant à la L'ADN double brin dit agents intercalant (exemple : SYBR Green I) et les sondes fluorescentes tel que les sondes d'hydrolyse (TaqMan), hybridation de 2 sondes (HybProbes), balises moléculaires (Molecular Beacons) et amorces scorpion (Scorpion primers)(Poitras et Houde, 2002).

#### **PCR multiplex**

Permet l'amplification simultanée de plusieurs séquences cibles en incluant plus d'une paire d'amorces dans la réaction dans une petite quantité contenue dans un seul tube à la fois. Elle peut être réalisée de manière conventionnelle « PCR classique » ou par PCR en temps réel (Chen, Schwarz, 2016). Depuis son introduction, la PCR multiplexa été appliquée avec

---

succès dans de nombreux domaines du diagnostic de l'acide nucléique, y compris l'analyse de délétion de gène, l'analyse de mutation et de polymorphisme, l'analyse quantitative et la détection d'ARN (Elnifro, 2000).

### **La RT-PCR (reverse-transcription PCR)**

C'est une technique basée sur la transcription inverse des ARNm en ADNe utilisant une enzyme spécifique ; la transcriptase inverse (RT). Ce processus est suivie ensuite par une PCR classique afin d'amplifier l'ADNe. Cette technique est combinée à une PCR en temps réel dont les résultats sont dépendants de la cible (Nolan, Hands et Bustin, 2006).

### **La PCR « nichée » (Nested PCR)**

La PCR nichée consiste à réaliser deux PCR successives en utilisant deux couples d'amorces différents (un couple externe effectuant la première PCR et couple interne pour la deuxième PCR). La première PCR est une réaction hautement multiplexée pour amplifier tous les AN cibles. Les fragments d'ADN obtenus par la première PCR seront révélés par un agent intercalant fluorescent. La deuxième PCR consiste à utiliser de nouvelles amorces pour l'amplification des fragments issue de la première PCR, ceci améliore la spécificité de la PCR en éliminant les amplicons non spécifiques (Dasgupta et al., 2017).

---

~~Il s'agit d'une étude rétro prospective effectuée au niveau du laboratoire de microbiologie à l'hôpital centrale de l'armée (HCA), sur une période allant du 29/11/2016 au 01/06/2019 sur des échantillons reçus au laboratoire de microbiologie. Les patients présentaient un tableau clinique évocateur d'une méningite ou une méningo-encéphalite (troubles de la conscience ou du comportement, fièvre, céphalées, vomissement, photophobie) qui avaient bénéficié d'une ponction lombaire afin de confirmer le diagnostic.~~

## **1. Matériel biologique**

### **L'échantillon analysé**

Notre échantillon est le liquide céphalo-rachidien (LCR) prélevé par ponction lombaire dans des tubes secs stériles et étanches.

La taille de notre échantillon est de 119 prélèvements dont 109 sont prélevés durant la période allant du 29 Novembre 2016 au 02 Février 2019 et font partie de l'étude rétrospective, alors que les 10 prélèvements restants appartiennent à l'étude prospective et sont recueillis entre le 03 Février 2019 et le 01 juin 2019.

### **Recueil des données**

Les LCR reçus, ont été enregistrés dès leur arrivée, accompagnés d'une fiche de renseignements correctement remplie avec :

- L'identité du patient : nom, prénom, âge, sexe.
- La date de réception.
- Le nom du médecin traitant ainsi que le service de prise en charge.
- Les signes cliniques et radiologiques.
- La nature et la durée du traitement éventuellement reçu.

Les données rétrospectives ont été recueillies à partir du registre de paillasse de LCR. (Les informations concernant les 119 LCR reçus sont regroupées dans les annexes 11).

## **— 2. Matériel non biologique**

---

**Matériel non biologique de la bactériologie classique**

Il consiste en matériel et consommables (pipettes, cellule Malassez, sachets et jarres d'incubation...) ; réactifs et solutions (Bleu de méthylène, huile de vaseline, huile d'immersion...) ; milieux de culture (milieux ordinaire : gélose nutritive (GN) ; milieux enrichis : gélose au sang cuit (GSC) ; milieux sélectif : Hektoen (HK) ; milieux pour antibiogramme : Muller Hinton (MH)) et le matériel de protection.

**Matériel non biologique de la PCR multiplex**

Le tableau 4 résume le matériel fournis et non fournis utilisés pour lancer une PCR multiplex.

Tableau 4 : récapitulatif du matériel non biologique de la PCR

Tableau 4. Récapitulatif du matériel non biologique de la PCR.

Matériel fourni	Matériel requis non fourni
<ul style="list-style-type: none"> <li>-Cassette FMEP emballée individuellement.</li> <li>-Ampoule du tampon de l'échantillon à 0.1 ml (Sample buffer) à usage unique.</li> <li>-Flacon d'hydratation à 1.5 ml (Hydratation Injection Vials) à usage unique « bleu ».</li> <li>-Flacon de l'échantillon (Sample InJection Vial) à usage unique « rouge ».</li> <li>-Pipette de transfère emballée individuellement</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>-FilmArray instrument et logiciel.</li> <li>-Station de chargement de la cassette (Pouch Loading Station).</li> </ul>



Figure 05. La station de chargement des 2 tubes bleu et rouge.

Figure 5 : la station de chargement des 2 tubes bleu et rouge

● **La cassette FilmArray ME (Méningite/Encéphalite) Panel (FMEP)**

C'est un système fermé jetable qui comprend tous les produits chimiques requis pour isoler, amplifier et détecter l'acide nucléique des différents pathogènes de la méningite et de l'encéphalite au sein d'un seul échantillon de LCR obtenu par ponction lombaire (PL). Le composant en plastique rigide (support) de la cassette FMEP contient les réactifs lyophilisés. La partie en plastique souple se divise en segments discrets (plaquettes) dans lesquels les processus chimiques sont exécutés (figure 8).

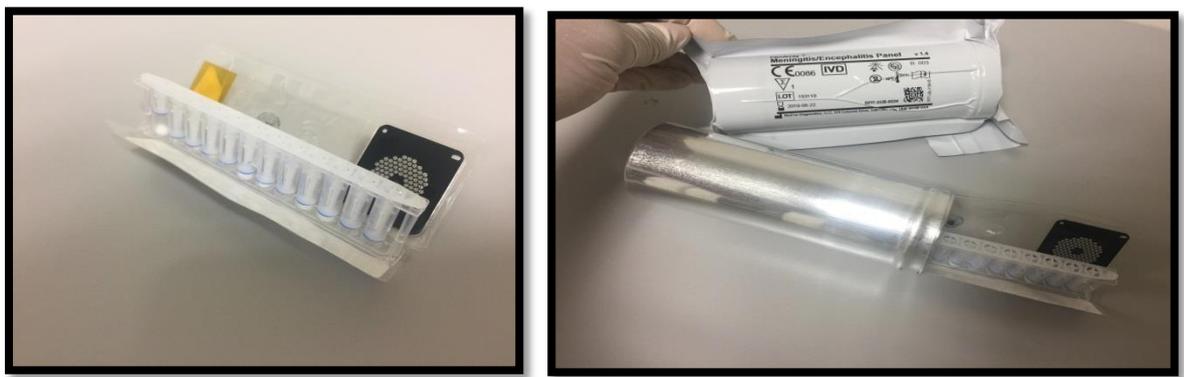


Figure 06. La cassette FMEP et son emballage.

Figure 6 : la cassette FMEP et son emballage

## **II. Méthodes**

### **1. Diagnostic bactériologique conventionnel**

L'analyse du LCR doit être faite le plus rapidement possible (intervalle de 30 min qui suivent le prélèvement) car après cet intervalle, une altération de la morphologie cellulaire et une diminution de la numération des cellules nucléées peuvent avoir lieu en plus de la lyse cellulaire.

#### **Aspect macroscopique du LCR**

L'aspect macroscopique du LCR est apprécié à l'œil nu.

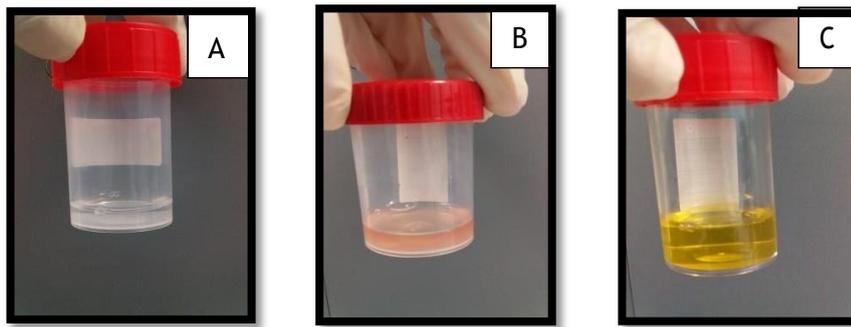


Figure 7 : différents aspect macroscopiques du LCR

#### **Mise en culture**

La culture est réalisée systématiquement. Pour chaque échantillon de LCR, trois milieux sontensemencés respectivement : GSC additionnée ou non de PolyVitex®, GN et HK selon la méthode des quatre quadrants. Les milieuxensemencés sont incubés à 37°C dans une étuve pendant 18-48 heures en atmosphère ordinaire, à l'exception de la GSC qui nécessite une atmosphère enrichie de 5 à 10% de CO<sub>2</sub>.

#### **Examens microscopiques**

La numération des éléments figurés est obligatoire pour les liquides clairs. En effet, la plupart des liquides troubles possèdent une opacité nécessitant une dilution préalable. L'examen direct n'est pas indiqué pour le LCR hémorragique (les globules rouges faussent la lecture des globules blancs).

Pour réaliser cet examen, on pratique un comptage sur la cellule de Mallassez selon le mode opératoire suivant :

— Déposer, en exerçant une pression ferme avec les doigts, une lamelle spéciale optiquement plane.

— Remuer le LCR pour mettre en suspension les éléments cellulaires.

~~—Garnir avec quelques gouttes de liquide.~~

~~—Laisser au repos quelques minutes, pour que les éléments se sédimentent.~~

~~—La préparation est ensuite placée sur la platine du microscope et on examine à l'objectif x 40.~~

~~Le décompte se fait sur quelques bandes puis la moyenne des leucocytes est faite. Cette moyenne est multipliée par 10 pour avoir le nombre de leucocytes/mm<sup>3</sup> (en cas de dilution de l'échantillon, la moyenne des leucocytes est multipliée par le facteur de dilution).~~

~~— Si le nombre est  $< 02$  éléments/mm<sup>3</sup>, il s'agit d'un LCR normal.~~

~~— Si le nombre est  $\geq 10$  éléments/mm<sup>3</sup>, il s'agit d'un LCR pathologique, dans ce cas une coloration au bleu de méthylène est effectuée permettant d'établir l'équilibre leucocytaire et une coloration de Gram est réalisée afin d'apprécier la morphologie des germes.~~

~~Pour une culture positive, nous procédons à l'identification des germes en nous basant sur l'ensemble des tests réalisés, et variant d'un germe à un autre (figure 08).~~

---

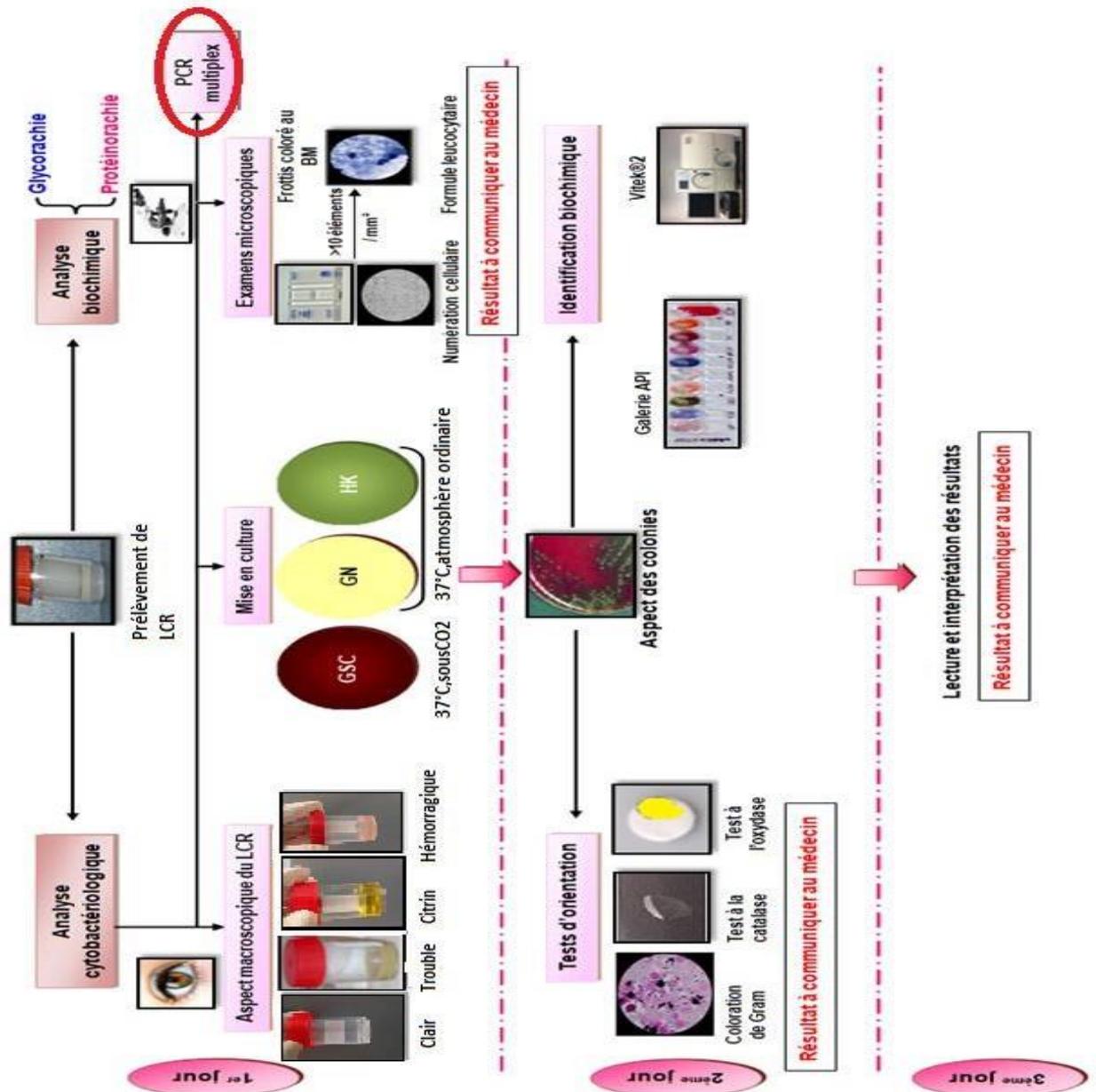


Figure 8 : schémas récapitulatif des différents examens biologiques du LCR

## 2. Diagnostic par PCR

Le panel FilmArray Meningite/Encephalite proposé par bioMérieux, permet la recherche simultanée et rapide, en une heure, de 15 pathogènes différents impliqués dans la méningite et l'encéphalite sur le même échantillon de LCR, soit 7 virus, 6 bactéries et 2 levures (tableau 7) et chaque poche FilmArray est à usage unique. Il inclue tous les réactifs sous forme lyophilisé nécessaires à l'extraction, l'amplification et la détection de l'acide nucléique.

L'analyse est réalisée sans intervention manuelle dans des cassettes de réactifs spécifiques prêtes à l'emploi. L'automate interagit avec la cassette de réactif pour purifier les acides nucléiques et amplifier les séquences d'acide nucléique cibles en utilisant une PCR en temps réel nichée et multiplex. Le logiciel FilmArray contrôle le fonctionnement de l'automate. Il collecte, analyse et conserve les données générées par l'automate.

Tableau 5 : les différents germes détectés par la PCR multiplex FilmArray ME

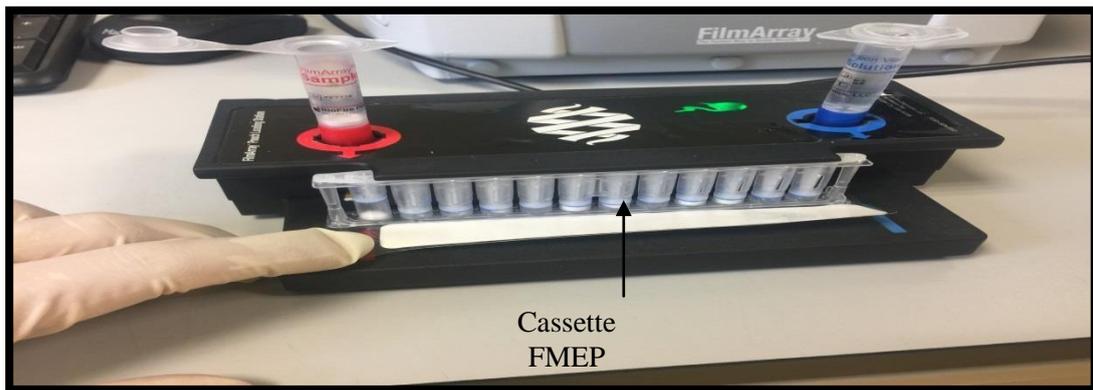
**Tableau 5.** Les différents germes détectés par la PCR multiplex FilmArray ME

<b>Virus (7)</b>	<b>Bactéries (6)</b>	<b>Levures (2)</b>
<b>Cytomégalo virus (CMV)</b>	<i>Escherichia coli K1</i>	<i>Cryptococcus neoformans</i>
<b>Entérovirus (EV)</b>	<i>Haemophilus influenzae</i>	<i>Cryptococcus gattii</i>
<b>Virus herpès simplex 1 (HSV-1)</b>	<i>Listeria monocytogenes</i>	
<b>Virus herpès simplex 2 (HSV-2)</b>	<i>Neisseria meningitidis</i>	
<b>Herpès virus humain 6 (HHV-6)</b>	<i>Streptococcus agalactiae</i>	
<b>Parécho virus humain (HPeV)</b>	<i>Streptococcus pneumoniae</i>	
<b>Virus varicelle-zona (VZV)</b>		

Pour une réaction de PCR, plusieurs éléments sont nécessaires dans le milieu réactionnel appelé Master Mix.

**Protocole**

- La 1<sup>ère</sup> étape : **préparation de la cassette** (figure 09)
- Placez le flacon de l'échantillon dans le compartiment rouge.
- Placez le flacon d'hydratation dans le compartiment bleu
- Placez la poche FilmArray dans la station de chargement, en suivant les guides à code de couleur sur cette dernière.



**Figure 09.** Préparation de la cassette

Figure 9 : préparation de la cassette

- La 2<sup>ème</sup> étape : **hydratation de la cassette** (figure 10)
- la solution d'hydratation est aspirée dans la cassette par le vide.



**Figure 10.** Hydratation de la cassette.

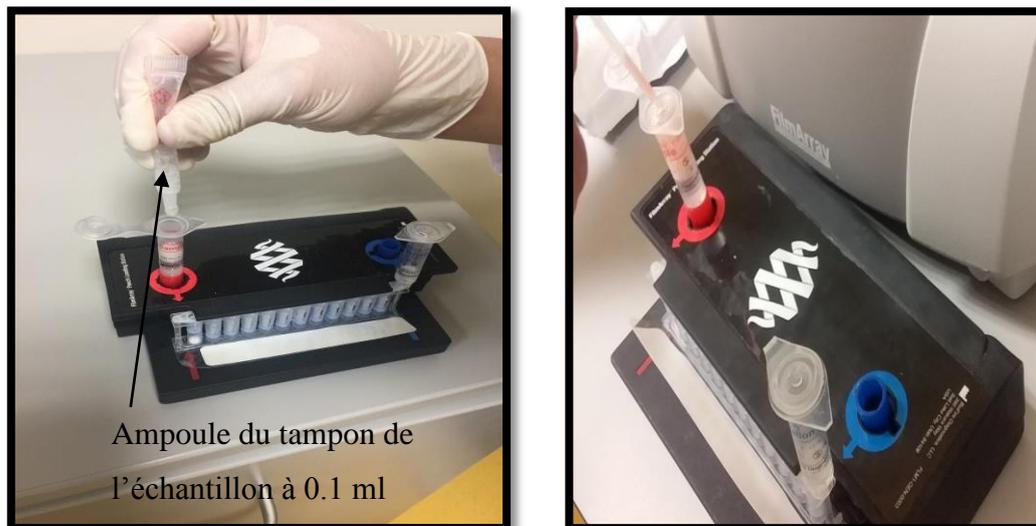
Figure 10 : hydratation de la cassette

□ La 3<sup>ème</sup> étape : **préparation de l'échantillon** (figure 11)

—Ajoutez 0.1 ml du tampon dans le flacon de l'échantillon.

—Transférer l'échantillon à l'aide d'une pipette au tube rouge (volume déterminé par le trait de jaugeage qui se trouve sur ce tube). Mélangez l'échantillon en retournant doucement le flacon de l'échantillon 3 fois.

—Remettez le flacon de l'échantillon dans le compartiment rouge de la station de chargement de la cassette.



**Figure 11.** Préparation de l'échantillon

Figure 11 : préparation de l'échantillon

● La 4<sup>ème</sup> étape : **Chargement de l'échantillon préparé** (figure 12)

—L'échantillon est aspiré dans la cassette par le vide.

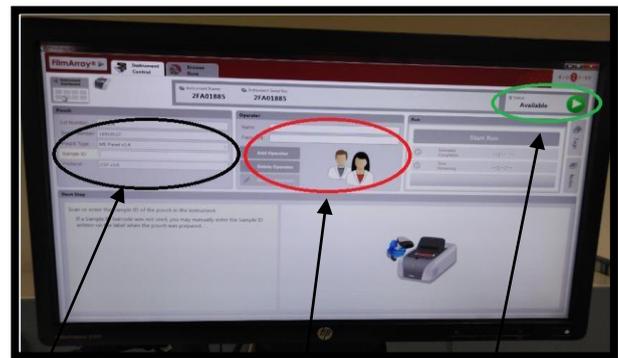


**Figure 12.** Chargement de l'échantillon préparé

**Figure 12 :** chargement de l'échantillon préparé

La 5<sup>ème</sup> étape : **préparation de l'analyse de l'échantillon** (figure 13)

- Les deux flacons rouge et bleu sont retirés et la cassette est introduite dans l'appareil d'analyse FilmArray® avec les étiquettes rouge et bleue de la poche alignées sur les flèches rouge et bleue de l'automate FilmArray.
- Scanner le code barre de l'étiquette de la poche FilmArray en utilisant le lecteur de codes barres fourni.
- Entrer le nom et le prénom du malade manuellement (1).
- Entrer un nom d'utilisateur et un mot de passe dans les champs Name et Password (2).
- Refermez le couvercle de l'automate FilmArray. Cliquer sur le bouton « Start Run » sur l'écran du logiciel (3).



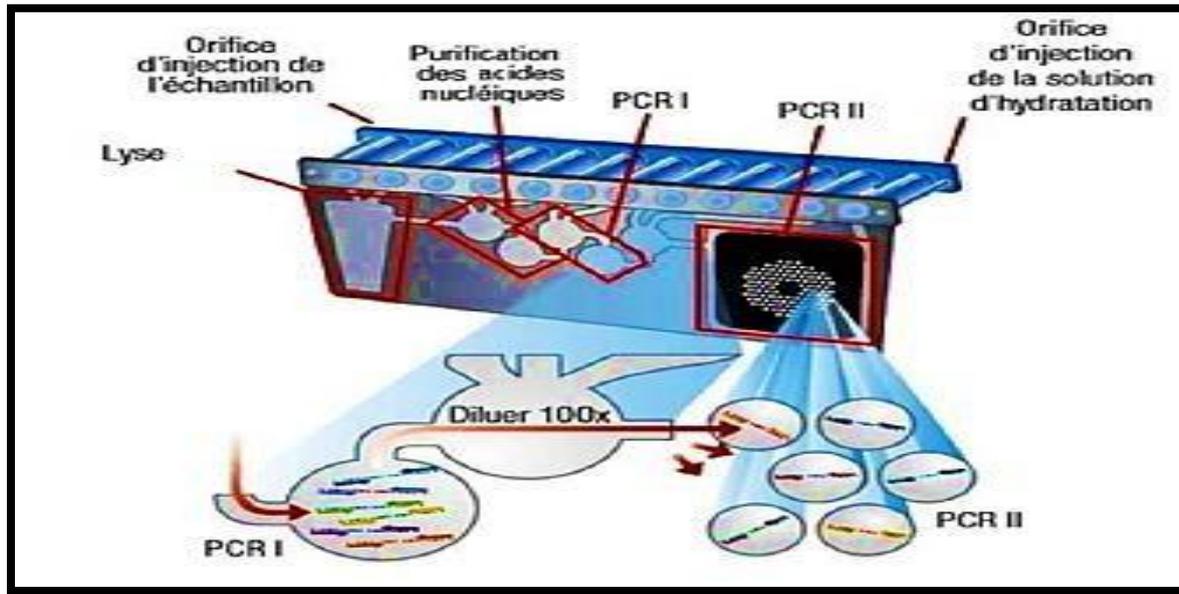
1 2 3

**Figure 13.** Scan du code à barre, logiciel.

**Figure 13 :** scan du code à barre , logiciel

### Etapes du procédé d'analyse du Panel FilmArray Méningite/Encéphalite

C'est une PCR multiplex type nichée (Nested PCR) qui s'effectue en deux étapes successives : Lors de la première étape, plusieurs amorces externes (se trouvent dans le compartiment solide de la cassette) sont utilisées pour réaliser une PCR multiplex sur les fragments modèles cibles présents dans l'échantillon. La seconde étape de PCR est réalisée pour continuer à amplifier les copies d'ADN générées lors de la première phase de PCR. Les amorces internes (se trouvent dans la matrice de la cassette) utilisées dans la deuxième phase de PCR sont constituées de séquences « nichées » au sein du ou des produits de la première phase de PCR (figure 14).



**Figure 14.** Etapes du procédé d'analyse FMEP

Figure 14 : etapes du procédé d'analyse FMEP

### 1. Lyse mécanique

L'échantillon se déplace dans la chambre de lyse. Les cellules et les agents pathogènes sont lysés par broyage avec les billes céramiques agités à haute vitesse pour briser les cellules et libérer les acides nucléiques.

### 2. Extraction et purification des acides nucléiques

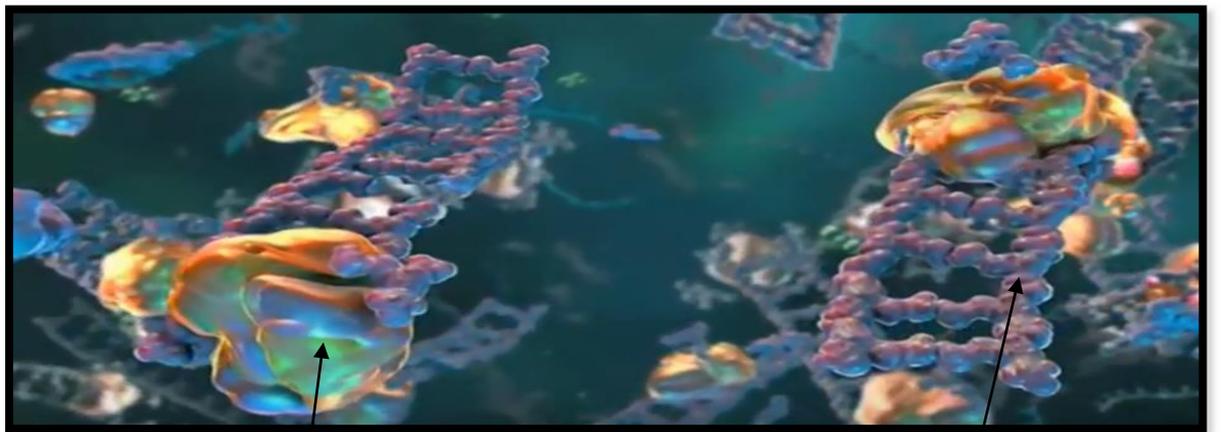
Les acides nucléiques sont ensuite capturés par les billes magnétiques et transportés de la chambre de lyse vers la chambre de purification (figure 14). Ici, un tampon de lavage est utilisé afin d'éliminer les débris cellulaires, tandis que les billes magnétiques sont maintenues en place.

— Un tampon d'éluion est utilisé afin de purifier les acides nucléiques en les séparant des billes magnétiques qui sont à nouveau bloqués de manière mécanique tandis que les acides nucléiques sont déplacés vers l'étape suivante de la chambre de 1<sup>ère</sup> PCR.

### **3. Etape de 1<sup>ère</sup> PCR**

— Une RT PCR est effectuée pour convertir toute cible ARN (entérovirus 5' GATTGTCACCATAAGCAGC 3') (Monpocho et al.,2000) en ADNc. Pour les bactéries et les virus à ADN, cette étape est toujours réalisée en présence d'un contrôle à ARN. Elle est suivie par une PCR multiplex impliquant des dizaines de paires d'amorces (voir annexe 1).

— Durant cette 1<sup>ère</sup> étape de PCR, plusieurs réactions sont simultanément effectuées dans un même volume. Les produits sont ensuite dilués pour éliminer les amorces restantes de la RT-PCR.



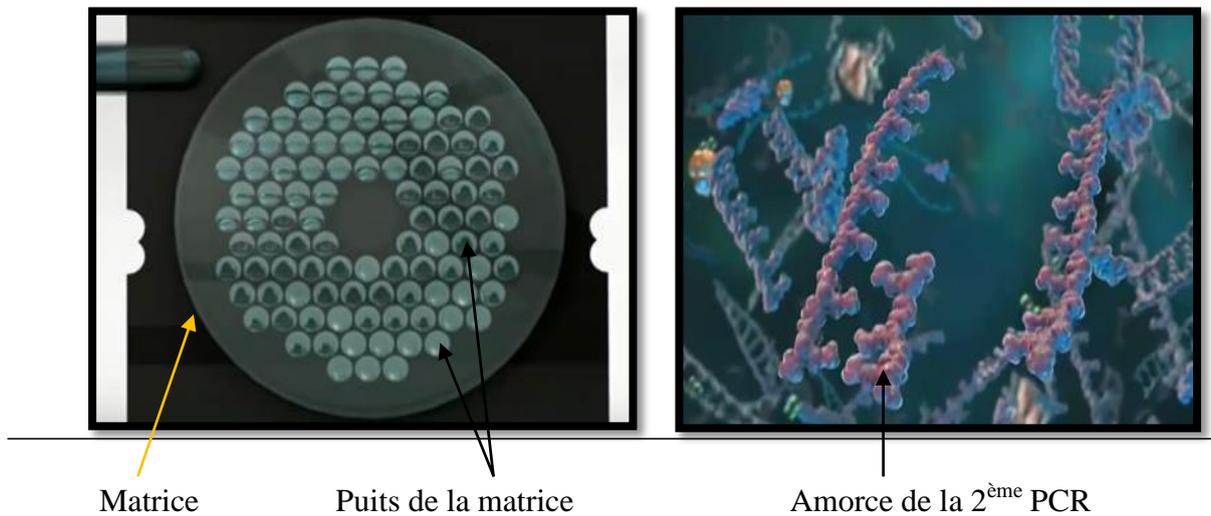
Revers transcriptase

Génome à ARN

### **4. Elimination des amorces de la 1<sup>ère</sup> PCR et réalisation de 2<sup>ème</sup> PCR**

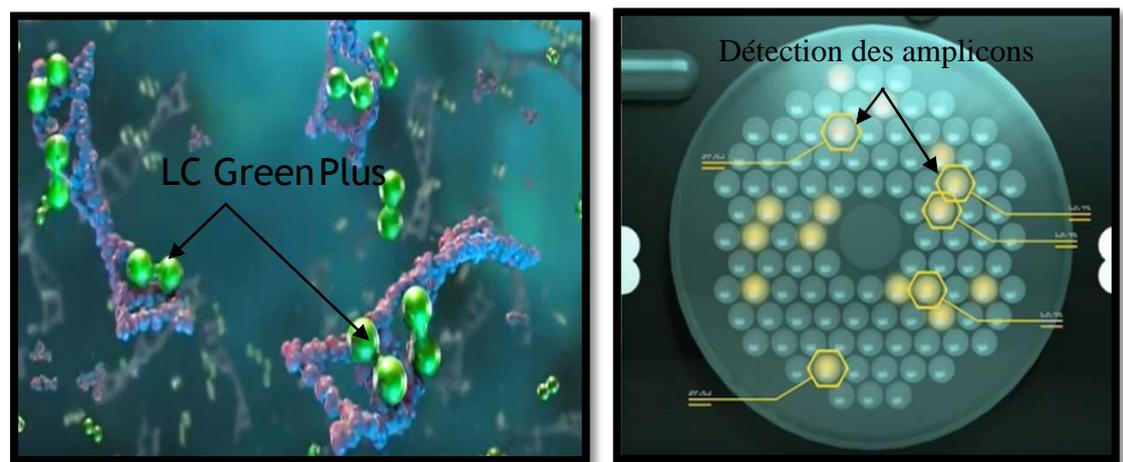
— Les produits de la 1<sup>ère</sup> PCR sont mélangés à un nouveau milieu réactionnel, puis distribué dans chaque puit de la matrice

— Chaque puit de cette matrice contient préalablement des amorces de la 2<sup>ème</sup> PCR conçues pour amplifier les séquences contenues dans le produit issu de la 1<sup>ère</sup> PCR, ceci élimine les produits non spécifiques associés à la PCR multiplex traditionnel (RT-PCR) car les amorces de la 2<sup>ème</sup> PCR impliquant spécifiquement l'ADN cible.



### 5. Révélation

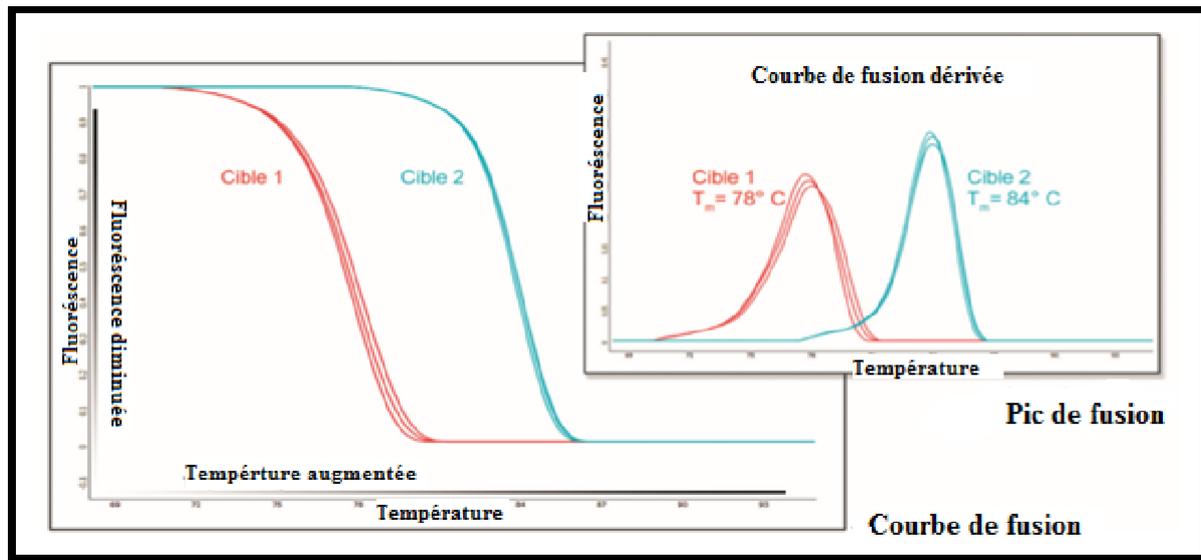
- Un agent intercalant (LCGreen Plus) capable de se lier à l'ADN double brin est utilisé permettant la détection de l'ADN double brin amplifié.
- Les organismes sont identifiés en fonction de chaque puits de la matrice.



### 6. Analyse de fusion de l'ADN et interprétation du test

— La longueur et la séquence des amplicons générées déterminent la température de fusion ( $T_m$ ) de l'ADN double brin, c'est la température pour laquelle 50% des liaisons hydrogène sont rompues (dénaturation partielle). Les produits de PCR obtenus à partir de sources différentes auront des séquences différentes et donc des  $T_m$  différentes. Après le dernier cycle de PCR, l'automate FilmArray augmente graduellement la température de la réaction d'environ 60°C jusqu'à 94°C. Lorsque la température atteint la  $T_m$  d'un amplicon, ce dernier se dénature et la fluorescence diminue, ce qui libère du LCGreen Plus. Ceci produit une courbe de fusion, présentée sur le graphe ci après, qui illustre la baisse rapide de fluorescence. Un pic de fusion

avec une  $T_m$  spécifique est généré pour chaque amplicon en traçant la dérivée négative de la courbe de fusion.



— Le logiciel FilmArray évalue la courbe de fusion de l'ADN pour chaque compartiment de la matrice de PCR de phase 2. Si le profil de fusion indique la présence d'un produit de PCR, le logiciel d'analyse calcule alors la  $T_m$  de la courbe suivant l'évolution de la fluorescence lorsque la température augmente. La valeur de la  $T_m$  est alors comparée à la plage de  $T_m$  attendue pour le test. Une fois les courbes de fusion identifiées, le logiciel évalue les trois répliques (témoin positive, patient, contrôle) de chaque test pour déterminer le résultat du test.

➤ Pour qu'un test soit considéré comme positif, le pic de fusion doit se situer dans la plage de  $T_m$  spécifique du test, ainsi qu'au moins deux des trois courbes de fusion associées doivent être considérées comme positives, et la  $T_m$  pour au moins deux des trois courbes positives doit être similaire (à 1 °C près).

➤ — Les tests qui ne satisfont pas à ces critères sont considérés comme négatifs.

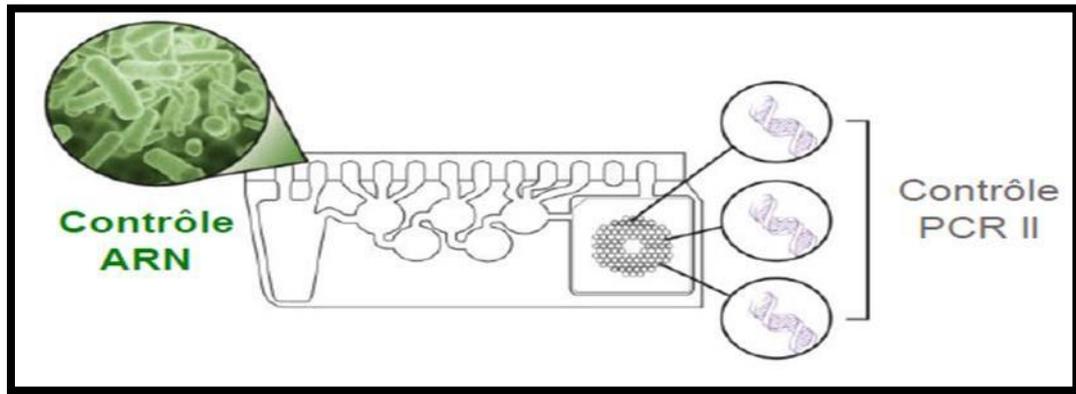
## 7. Contrôle de qualité

➤ **Contrôles de traitement** : Deux contrôles de traitement sont inclus dans chaque cassette

1. **RNA Process Control (Contrôle du traitement de l'ARN)** : Ce test cible un produit de transcription d'ARN de la levure *Schizosaccharomyces pombe*. La levure est présente dans la cassette sous forme lyophilisée et se réhydrate lorsque l'échantillon est chargé. Elle passe par tous les stades du processus de test. Un résultat du contrôle positif indique le déroulement correct de toutes les étapes effectuées dans la cassette FMEP.

2. **PCR2 Control (Contrôle de PCR 2)** : Ce test détecte une cible d'ADN qui est séchée dans les compartiments de la matrice avec les amorces correspondantes. Un résultat positif indique que la PCR de phase 2 s'est déroulée correctement.

— Les tests de contrôle doivent tous deux être positifs pour que l'analyse soit réussie. Si les contrôles échouent, l'échantillon devra être testé à nouveau à l'aide d'une nouvelle cassette.



**Figure 15.** Les deux contrôles de la PCR multiplex FilmArray.

Figure 15 : les deux contrôles de la PCR multiplex FilmArray

➤ **Contrôle des performances du système de test**

— L'analyse sera automatiquement mise en échec par le logiciel FilmArray si la  $T_m$  de l'un des deux contrôles de traitement est en dehors de la plage admissible.

✓ **Contrôle positif :** Des échantillons de LCR positifs précédemment caractérisés ou des échantillons négatifs enrichis avec des organismes bien caractérisés peuvent être utilisés.

✓ **Contrôle négatif :** De l'eau.

— **2.4. Imprimer un rapport de série de tests**

Les analyses de FilmArray ME Panel ont été considérées comme valides si l'analyse s'est terminée normalement et si les deux contrôles internes ont été validés. Le logiciel FilmArray effectue une analyse automatique des résultats avec chaque cible d'une exécution valide signalée comme «détectée» ou «non détectée». Si l'un des contrôles internes échoue, le logiciel fournit automatiquement un résultat «non valide» pour tous les analytyses du panel.

**FilmArray Meningitis / Encephalitis (ME) Panel - IVD**

Run Date: 28 Sep 2019 11:20 AM

Detected: **Human Herpesvirus 8**

Controls: Passed

WARNING: The FilmArray ME Panel does not distinguish between latent and active. Data only refer to antibodies. Occurrence of these viruses may indicate primary infection, secondary reactivation, or the presence of latent virus. Results should always be interpreted in conjunction with other clinical, laboratory, and epidemiological information.

Result Summary		Bacteria
Not Detected	<i>Escherichia coli</i> ME3	
Not Detected	<i>Haemophilus influenzae</i>	
Not Detected	<i>Listeria monocytogenes</i>	
Not Detected	<i>Neisseria meningitidis</i>	
Not Detected	<i>Streptococcus agalactiae</i>	
Not Detected	<i>Streptococcus pneumoniae</i>	

Result Summary		Viruses
Not Detected	Cytomegalovirus	
Not Detected	Enterovirus	
Not Detected	Herpes simplex virus 1	
Not Detected	Herpes simplex virus 2	
Not Detected	Human herpesvirus 6	
Not Detected	Human parvovirus	
Not Detected	Varicella zoster virus	

Result Summary		Yeast
Not Detected	<i>Cryptococcus neoformans/gattii</i>	

Run Details: Pouch: ME Panel v1.4, Run Status: Completed, Serial No.: 1238834, Lot No.: 121717

Protocol: CSF v3.0, Operator: NEELAN DOSSA, Instrument: 2FA01885

**FilmArray Meningitis / Encephalitis (ME) Panel - IVD**

Run Date: 11 May 2019 6:05 PM

Detected: None

Controls: Passed

Result Summary		Bacteria
Not Detected	<i>Escherichia coli</i> K1	
Not Detected	<i>Haemophilus influenzae</i>	
Not Detected	<i>Listeria monocytogenes</i>	
Not Detected	<i>Neisseria meningitidis</i>	
Not Detected	<i>Streptococcus agalactiae</i>	
Not Detected	<i>Streptococcus pneumoniae</i>	

Result Summary		Viruses
Not Detected	Cytomegalovirus	
Not Detected	Enterovirus	
Not Detected	Herpes simplex virus 1	
Not Detected	Herpes simplex virus 2	
Not Detected	Human herpesvirus 6	
Not Detected	Human parvovirus	
Not Detected	Varicella zoster virus	

Result Summary		Yeast
Not Detected	<i>Cryptococcus neoformans/gattii</i>	

Run Details: Pouch: ME Panel v1.4, Run Status: Completed, Serial No.: 14719025, Lot No.: 922319

Protocol: CSF v3.0, Operator: KARIM KRIMO (LAQUAS), Instrument: 2FA01885

Figure 16. Résultats de FMEP.

Figure 16 : résultats de FMEP

**~~Méthodes d'analyse~~**

~~L'analyse des données de cette recherche est qualitative et quantitative. L'unité de mesure est la répartition des LCR selon le résultat obtenu par les techniques de dépistage utilisées ainsi que la répartition des résultats positifs de PCR sur LCR. Ces données ont été traitées au moyen du logiciel Excel qui a aussi été utilisé pour tracer les graphiques.~~

~~L'étude rétrospective qui s'est déroulée du 29/11/2016 au 02/0/2019, porte sur 109 LCR dont 48 PCR positifs. Les données étaient recueillies à partir des dossiers informatisés des patients hospitalisés à l'HCA.~~

~~L'étude prospective du 03/02/2019 au 01/06/2019, porte sur 10 LCR dont 3 PCR positifs. Tous les échantillons reçus au laboratoire de microbiologie étaient analysés et les données étaient recueillies par déplacement au service de prise en charge des patients hospitalisés.~~

---

**I. Répartition des LCR selon le résultat obtenu par les techniques de dépistage utilisées (N=119)**

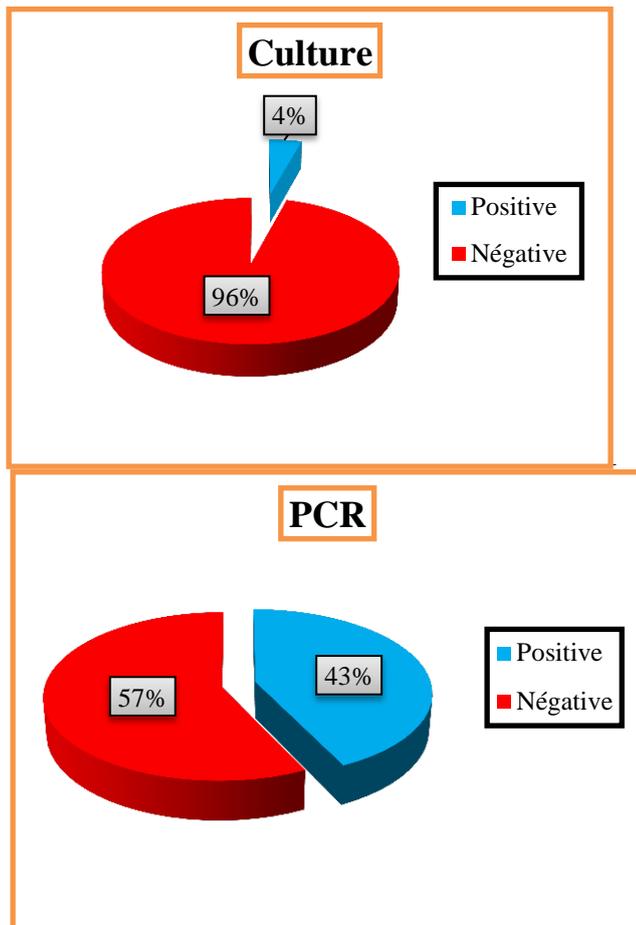
Le dépistage des agents responsables des méningites communautaires chez les patients hospitalisés à l'HCA a été réalisé par culture et par PCR multiplex en temps réel, au niveau du laboratoire de microbiologie, sur une totalité de 119 LCR reçu entre le 29 Novembre 2016 et le 1 Juin 2019.

La répartition des LCR selon les résultats obtenus par les techniques de dépistage utilisées sont représentés dans le tableau ainsi que la figure ci après :

**Tableau 6 : répartition des LCR positifs selon le résultat obtenu par les techniques de dépistage utilisées**

**Tableau 6.** Répartition des LCR selon le résultat obtenu par les techniques de dépistage utilisées

Techniques utilisées		PCR		Total
		Positive	Négative	
Culture	Positive	5	0	5/119 (4%)
	Négative	46	68	114/119 (96%)
<b>Total</b>		<b>51/119 (43%)</b>	<b>68/119 (57%)</b>	<b>119 (100%)</b>



**Figure 17.** Répartition des LCR selon le résultat obtenu par les techniques de dépistage utilisées.

Figure 17 : répartition des LCR selon le résultat obtenu par les techniques de dépistage utilisées

Sur les 119 échantillons de LCR diagnostiqués :

- ✚ La culture n'était positive que pour 5 LCR (4%). Les bactéries identifiées sont : 3 *S.pneumoniae*, 1 *S.agalactiae* et 1 *E.coli.K1*. La faible sensibilité de la culture peut être due à plusieurs raisons : début de méningite bactérienne, méningite bactérienne décapitée ou méningite à bactéries fragiles (Nigrovic et al., 2008).
- ✚ Presque la moitié des PCR sont revenues positives (43%). Cette technique a permis donc de mettre en évidence 51 patients porteurs d'agents pathogènes responsables de méningites. Les 68 PCR négatives n'excluent pas une origine infectieuse (possibilité de méningite à d'autres étiologies ne figurant pas dans le panel FMEP « syphilis, tuberculose, oreillons, brucellose, rougeole.... »).

✚ La PCR a identifié presque 10 fois plus l'étiologie infectieuse que la culture. La comparaison des résultats obtenus aux résultats de l'étude de **Leber et al.** sur l'évaluation multicentrique du panel méningites/encéphalites BioFire FilmArray en 2016 a révélé une concordance de spécificité (99.8% pour les bactéries et 99.7% pour les virus) et de sensibilité (100% pour les bactéries et de 97.3% pour les virus) pour la détection des différents germes responsables des méningites et des méningo-encéphalites communautaires.

Pour affiner l'analyse, nous avons comparé les résultats de la PCR par rapport à ceux de la culture dans le cas des méningites bactériennes, les résultats sont représentés dans le tableau suivant :

Tableau 7: en cas de méningite bactérienne

**Tableau 7.** Répartition des LCR selon le résultat obtenu par les techniques de dépistage utilisées dans le cas des méningites bactériennes.

Techniques utilisées / Méningites bactériennes		PCR		Total
		Positive	Négative	
Culture	Positive	5	0	5/20
	Négative	15	0	15/20
<b>Total</b>		<b>20/20</b>	<b>0/20</b>	<b>20/20</b>

Selon le tableau, nous constatons que la PCR a pu identifier 4 fois l'étiologie des méningites bactériennes que la culture. Ces résultats sont proches à ceux de **Chiba et al.,2009** (Détection rapide de huit agents pathogènes responsables de méningite bactérienne par PCR en temps réel)

*S. pneumoniae, H. influenzae, E. coli, S. agalactiae, N. meningitidis, L. monocytogenes, Mycoplasma pneumoniae, Staphylococcus aureus*. La PCR a pu identifier ces dernières étiologies dans 72% des cas alors que la culture n'a pu les identifier que dans 48%.

## II. Répartition des résultats positifs de PCR sur LCR (N= 51)

### 1. En fonction du service

Le tableau 10 ainsi que la figure 21 illustrent les résultats de la répartition des prélèvements positifs en fonction du service.

Tableau 8 : répartition des LCR positifs en fonction du service

Tableau 8. Répartition des LCR positifs en fonction du service.

Services	Nombre de cas positifs	%
Urgences pédiatriques	29	
Pédiatrie*	6	16.48%
Réanimation néonatale*	3	
Réanimation pédiatrique médicale*	1	
Urgences adultes	5	9.80%
Maladies infectieuses*	4	7.84%
Réanimation médicale*	2	3.92%
Psychiatrie*	1	1.96%
<b>Total</b>	<b>51</b>	<b>100%</b>

\*Pour les patients hospitalisés au niveau de ces services, la méningite était acquise en communauté et c'était le motif de consultation et d'hospitalisation.

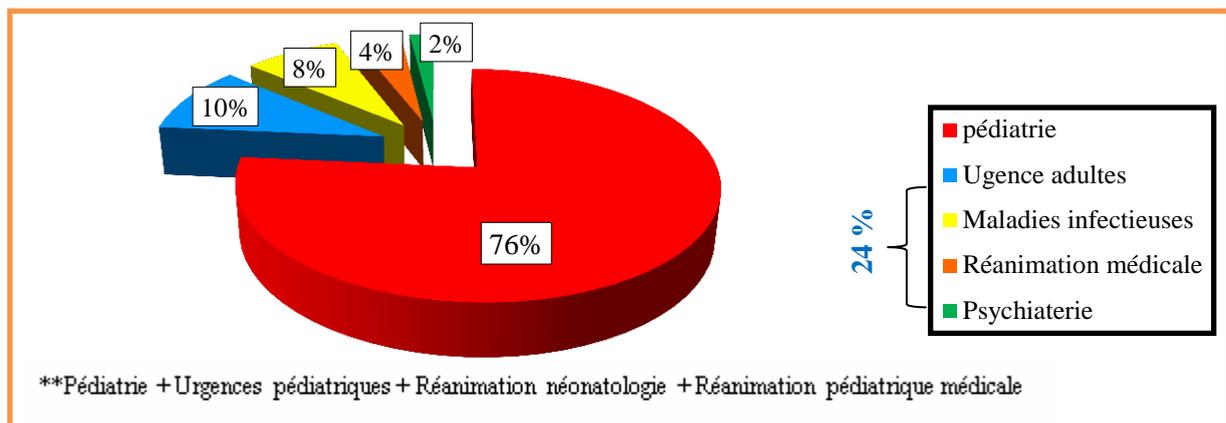


Figure 18. Répartition des LCR positifs en fonction du service.

Figure 18 : répartition des LCR positifs en fonction du service

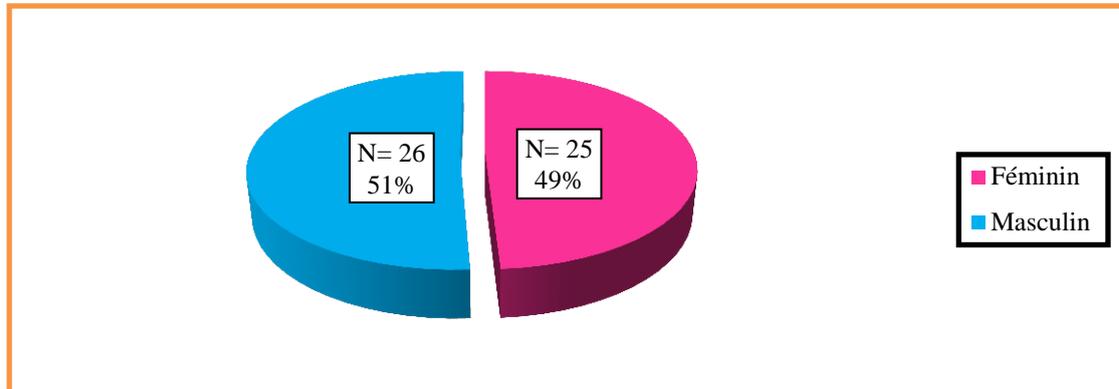
Selon nos résultats, nous constatons que: \_\_\_\_\_

Les LCR positifs par PCR appartiennent à des patients provenant en majorité des urgences (pédiatriques et adultes) : 34/51 (66.66%).

76.48% des malades avec méningite communautaire confirmée proviennent de la pédiatrie.

**2. En fonction du sexe**

La figure 22 illustre les résultats de la répartition des prélèvements positifs en fonction du sexe



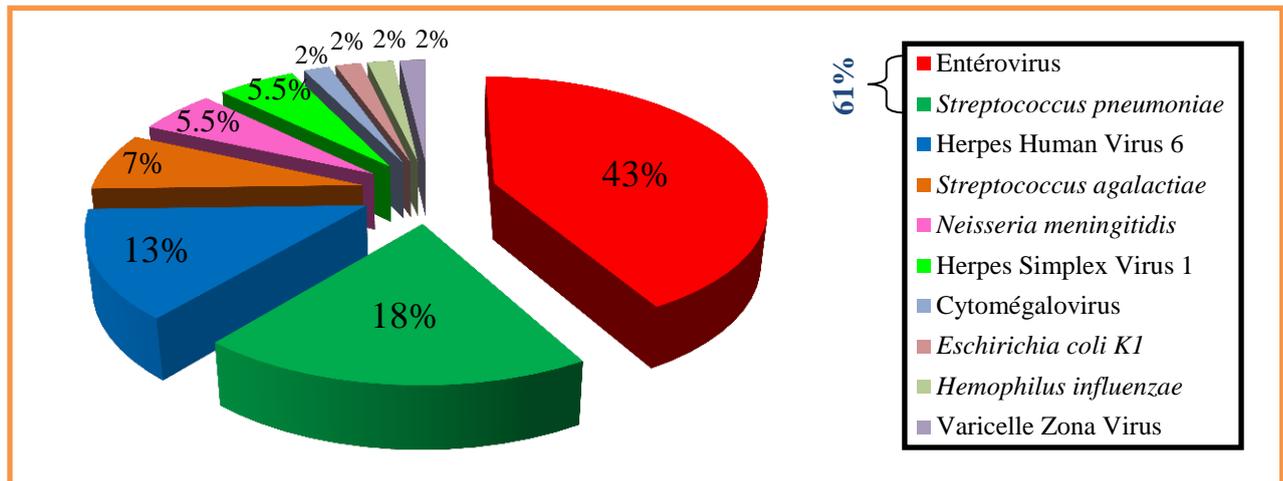
— **Figure 19.** Répartition des LCR positifs en fonction du sexe.

Figure 19 : répartition des LCR positifs en fonction du sexe

Selon l'illustration ci-dessus, le sexe ratio est de 1,04, la méningite touche avec le même taux les deux sexes.

**3. En fonction des germes détectés (N=54)**

Les résultats de la répartition des prélèvements positifs en fonction des germes détectés sont représentés dans la figure ci-dessous :



— **Figure 20.** Répartition des LCR positifs en fonction des germes détectés

Figure 20 : répartition des LCR positifs en fonction des germes détectés

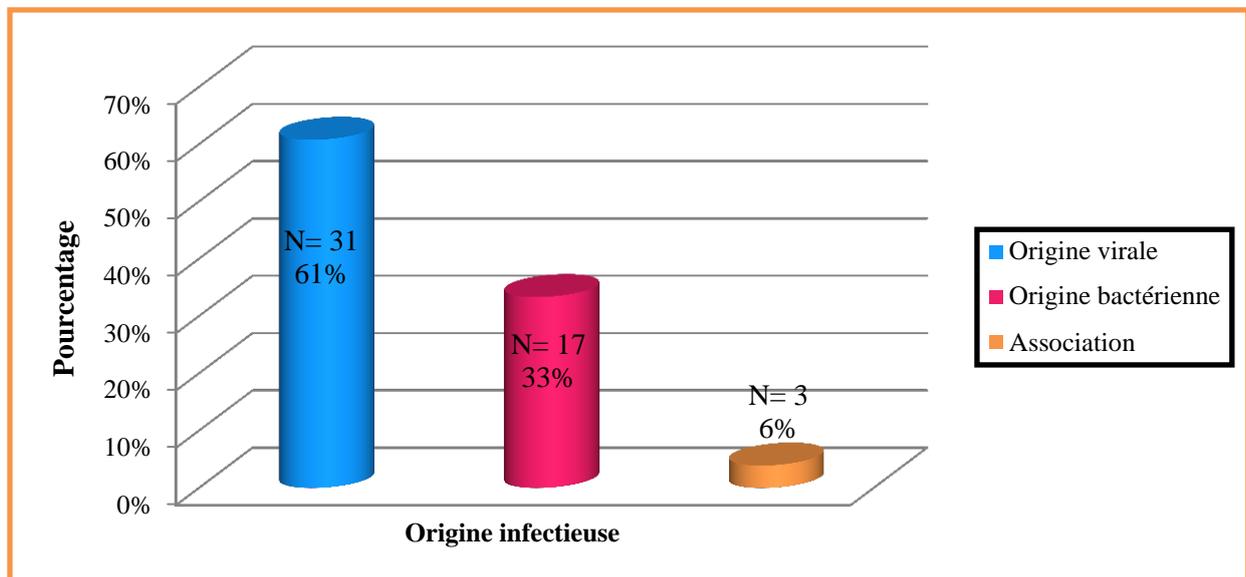
Selon la figure nous constatons que :

- La PCR a permis d'identifier 5 virus et 5 bactéries différents.

✚ L'Entérovirus suivi par le *Streptococcus pneumoniae* sont les deux principaux agents étiologiques détectés par PCR dans notre étude, représentant respectivement 43% et 18%. Ils sont à l'origine de plus de la moitié (61%) des méningites et des méningo-encéphalites communautaires. Ces résultats concordent nettement avec ceux trouvés par **Leber et al** (Manuel d'utilisation du FilmArray Méningite/Encéphalite (ME) Panel 2016), où l'Entérovirus et le pneumocoque représentaient respectivement la première cause des méningites virales et bactériennes, et les deux étaient responsables de 61% des méningites et des méningo-encéphalites communautaires.

#### 4. En fonction de l'origine infectieuse

Les résultats de la répartition des LCR positifs selon l'origine infectieuse sont présentés en nombre et en pourcentage dans la figure suivante :



— **Figure 21.** Répartition des LCR positifs en fonction de l'origine infectieuse

Figure 21 : Répartition des LCR positifs en fonction de l'origine infectieuse

La figure montre une prédominance de la méningite virale avec 31/51 cas (61%) par rapport à la méningite bactérienne qui se présente dans 17/51 cas (33%). Cette fréquence de la méningite virale pourrait être expliquée par la multiplication rapide des virus en cause et l'absence de vaccin correspondant. Ces résultats concordent avec ceux de **Mailles et Stahl** en 2009 sur les infections encéphaliques en France qui rapportaient une prédominance de la méningite virale (69%) par rapport à la méningite bactérienne (30%).

#### 5. Origines infectieuses et agents étiologiques :

Les résultats de la répartition des germes détectés en fonction de l'origine infectieuse sont représentés dans le tableau ainsi que la figure ci-après :

Tableau 9 : de l'origine infectieuse

Origines	Virale	Bactérienne	Associations(V/V, B/V)	-		
Agents étiologiques	Entérovirus	20	<i>S.pneumoniae</i>	8	Entérovirus / HHV6	1
	HHV6	6	<i>S.agalactiae</i>	4		
	HSV1	3	<i>N.meningitidis</i>	3	Entérovirus / <i>S.pneumoniae</i>	2
	CMV	1	<i>E.coli K1</i>	1		
	VZV	1	<i>H.influenzae</i>	1		
<b>Total</b>	31	17	3			

Tableau 9. Répartition des LCR positifs en fonction de l'origine infectieuse et germes détectés

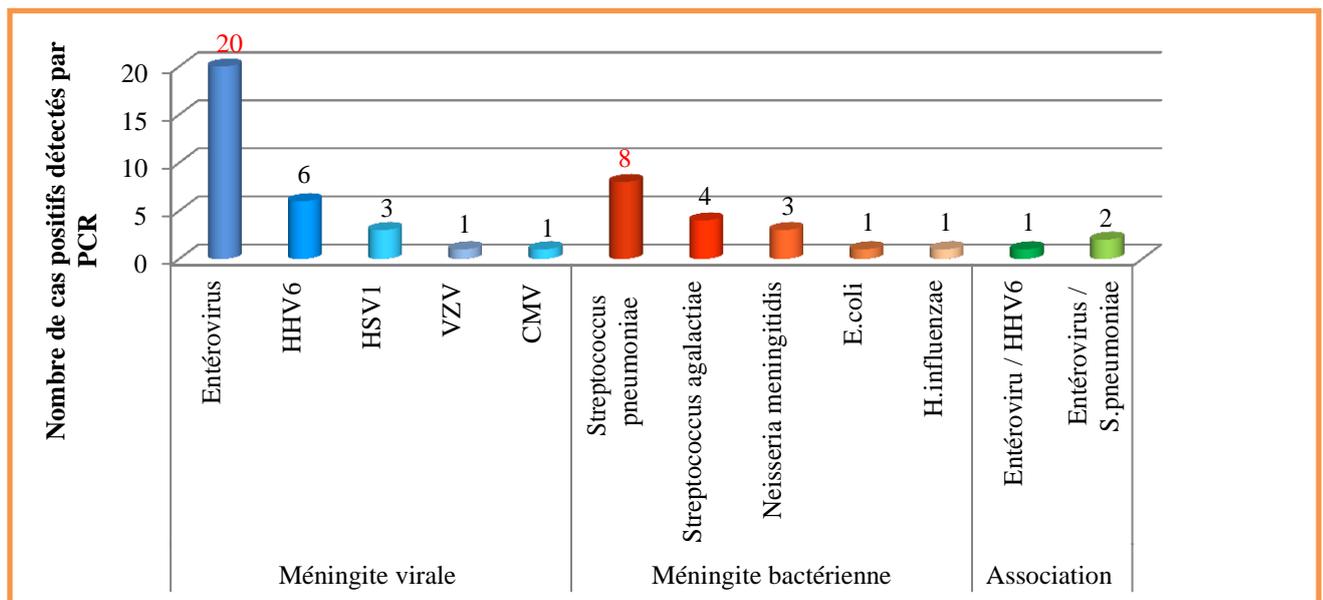


Figure 22. Répartition des LCR positifs en fonction de l'origine infectieuse et germes détectés

Figure 22 : et germes détectés

La figure 25 ainsi que le tableau montrent que :

- ✚ L'entérovirus représente presque 2/3 (20/31) des étiologies virales.
- ✚ Le pneumocoque représente plus de 1/3 (8/17) des étiologies bactériennes.

Ces résultats correspondent à ceux de la littérature :

— les méningites virales sont causées principalement par l'entérovirus (**Logan et MacMahon,2008**).

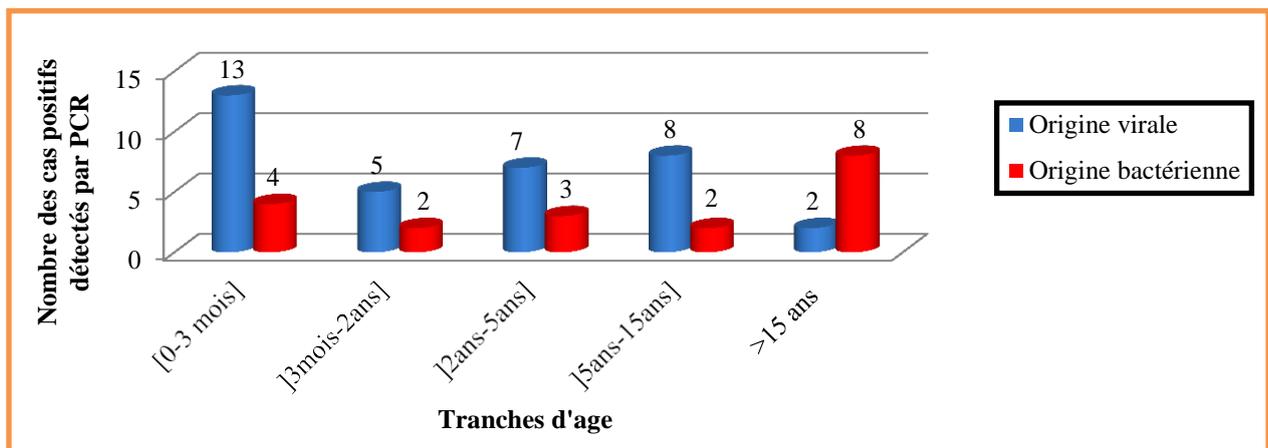
— Les méningites bactériennes sont causées essentiellement par le pneumocoque (**van de Beek et al.,2016**).

- La PCR multiplex a pu identifier trois cas de coinfection à entérovirus : 1 cas Entérovirus+HHV6 et 2 cas Entérovirus+*S.pneumoniae*. Ces résultats sont proches de celles de **Hanson et al.** en 2016, dont ils ont évalué un panel PCR multiplexé pour la détection de 16 agents pathogènes bactériens, viraux et fongiques dans le liquide céphalorachidien dont l'identification de plus d'un organisme a concerné 6% (20/342) des échantillons.

## 6. Origines infectieuses et tranches d'âge

Dans notre étude, l'âge moyen était de 19 ans 3 mois et 20 jours avec des âges extrêmes de 1 jour et 79 ans.

Les résultats de la répartition des prélèvements positifs en fonction des tranches d'âge et de l'origine infectieuse sont représentés dans la figure suivante :



**Figure 23.** Répartition des LCR positifs selon l'origine infectieuse et tranches d'âges

Figure 23 : et tranches d'ages

En terme d'âge, nous constatons que :

- ✚ Les méningites touchent essentiellement les enfants (44/54) et particulièrement les nouveaux nés (0-3mois) (17/54). Cette prédominance pourrait s'expliquer par une résistance moindre du fait d'une immaturité du système immunitaire.

Ce résultat rejoint d'une certaine manière ceux obtenus lors de la répartition des prélèvements positifs en fonction du service où 76.48% des prélèvements provenaient de la pédiatrie.

✚ Les méningites chez l'enfant sont beaucoup plus d'étiologies virales (33/44) contrairement à celles de l'adulte où les étiologies bactériennes prédominent (8/10).

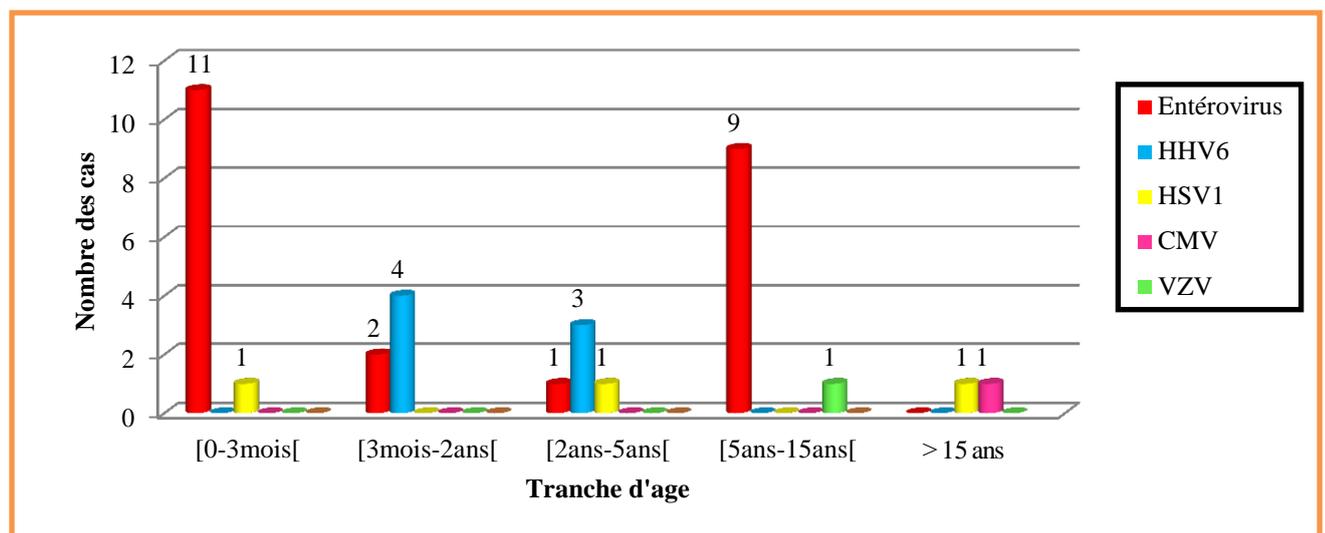
**a. Etiologies virales et âges**

— Les résultats de la répartition des LCR positifs en fonction de l'âge et des étiologies virales sont illustrés dans le tableau et la figure ci après :

Tableau 10 : en fonction de l'âge et étiologies virales

**Tableau 10.** Répartition des LCR positifs en fonction de l'âge et des étiologies virales

Virus	Nouveau-nés	Nourrissons	Enfants		Adultes	Total
	{0-3mois[	{3mois-2ans[	{2ans-5ans[	{5ans-15ans[	>15 ans	
Entérovirus	11	2	1	9	0	23/35
HHV6	0	4	3	0	0	7/35
HSV1	1	0	1	0	1	3/35
CMV	0	0	0	0	1	1/35
VZV	0	0	0	1	0	1/35
<b>Total</b>	<b>12/35</b>	<b>6/35</b>	<b>5/35</b>	<b>10/35</b>	<b>2/35</b>	<b>35</b>



**Figure 24.** Répartition des LCR positifs en fonction de l'âge et des étiologies virales

Figure 24 : répartition des LCR positifs en fonction de l'age et des étiologies virales

Dans le cas des méningites virales, l'entérovirus est l'étiologie la plus fréquente (23/35) en particulier chez le nouveau-né (11/23) et l'enfant de [5-15 ans] (9/23) suivi par l'HHV6 (7/35).

Les résultats obtenus sont comparés à ceux obtenus lors de l'étude de **Lagae et al., 2016** sur les infections néonatales précoces à entérovirus où il était détecté chez les nouveaux-nés dans 30% des cas.

L'étude de **Cherry et Kroghstad, 2011** sur les infections à entérovirus, prouve que la fréquence et la gravité des infections à ce dernier sont inversement proportionnelles à l'âge du sujet.

L'absence de pléiocytose chez certains nouveau-nés peut être expliquée par une immaturité immunologique, les cytokines nécessaires au recrutement des leucocytes sur le site infectieux n'étant pas encore suffisamment développées (**Yun et al., 2012**).

La primo-infection, qui survient principalement durant les trois premières années de vie, est due au HHV-6B. Elle se caractérise par un bref exanthème appelé roséole. Le virus reste ensuite latent sous la forme d'un épisode dans le noyau des cellules infectées (lymphocytes, les monocytes, certaines cellules épithéliales et, en particulier les cellules des glandes salivaires). Sa réactivation chez les sujets immunocompétents est généralement asymptomatique, tandis que sa réactivation chez les patients immunodéprimés peut provoquer des pathologies (une encéphalite, un retard à la sortie d'aplasie, une hépatite) (**Agut, 2015**).

Les autres étiologies virales étaient représentées par :

—Le cytomegalovirus (CMV) qui a été identifié chez un patient immunodéprimé de 29 ans et présentant en plus une méningite tuberculeuse. C'est le virus le plus invasif vu sa capacité élevée à s'échapper au système immunitaire de l'hôte en détournant la machinerie cellulaire de cette dernière. Il est opportuniste chez les individus immunodéprimés (**Plosa et al., 2012**).

—Le virus varicelle-zona (VZV) a été identifié chez une fille de 13 ans présentant un zona. Ce virus infecte les enfants (primo-infection) sous forme de varicelle puis établit une phase de latence dans les ganglions nerveux sensitifs rachidiens et crâniens et donne plus tard par réactivation le zona (**Levy et al., 2014**).

—Le HSV-1, a été identifié chez 3 patients de 2 mois, 3 ans, 35 ans. Cela s'accorde avec la littérature : vers 6 mois à un an, après la perte des anticorps maternels, la plupart des individus s'infectent par le HSV-1 à partir de l'excrétion salivaire d'une personne de l'entourage, enfant ou

ou

---

adulte, elle se manifeste par un bouquet de vésicules à la jonction de la peau et de la muqueuse buccale et sur le bord des lèvres. Chez l'adulte, la multiplication intracérébrale du HSV-1 au niveau des neurones est liée à une encéphalite herpétique touchant des individus immunocompétents et survient généralement au cours de réactivations virales (Arduino and Porter,2008).

**b. Etiologies bactériennes et âges**

Les résultats de la répartition des LCR positifs en fonction de l'âge et des étiologies bactériennes sont illustrés dans le tableau et la figure ci-après :

Tableau 11 : étiologies bactériennes

Tableau 11. Répartition des LCR positifs en fonction de l'âge et des étiologies bactériennes

Bactéries	Enfants	Adultes	Total
<i>S.pneumoniae</i>	6	4	10
<i>S.agalactiae</i>	3	1	4
<i>N.meningitidis</i>	0	3	3
<i>E.coli KI</i>	1	0	1
<i>H.influenzae</i>	1	0	1
Total	11	8	19

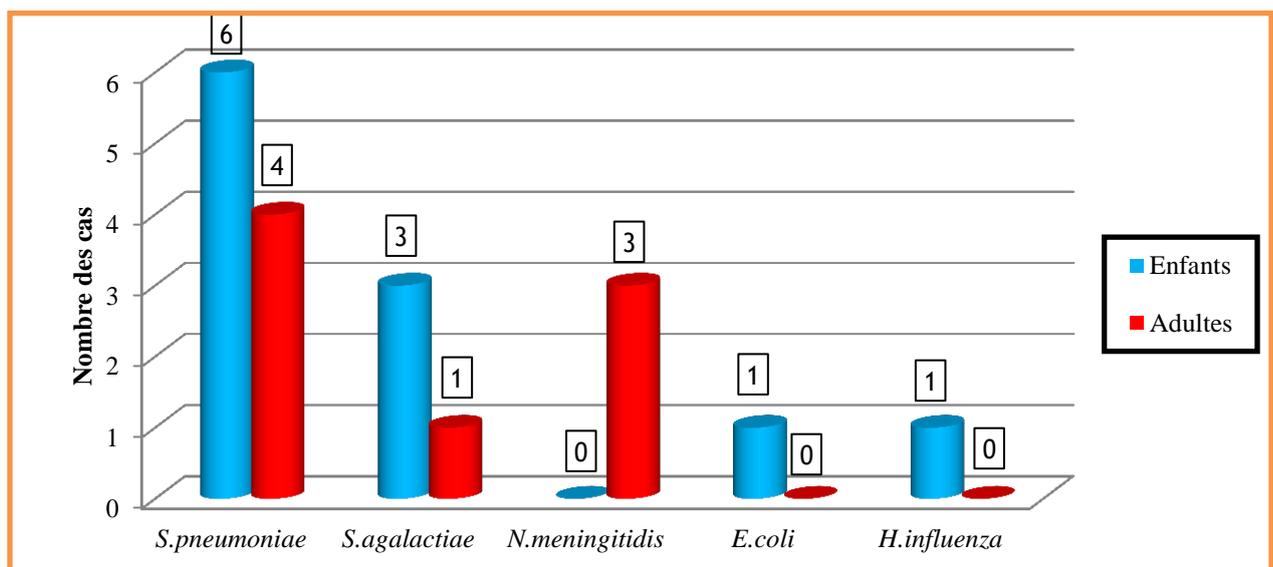


Figure 25. Répartition des LCR positifs en fonction de l'âge et des étiologies bactériennes.

Figure 25 : et des étiologies bactérienne

Selon le tableau et la figure ci-dessus, nous remarquons que :

- ✚ *S.pneumoniae*, *S.agalactiae* et *N.meningitidis* sont les trois principales étiologies responsables de méningites bactériennes.
- ✚ Le *S.pneumoniae* est responsable de méningites chez l'enfant et chez l'adulte contrairement au méningocoque n'affectant que l'adulte (N=3 : 19 ans, 20 ans, 54 ans).

Les résultats obtenus concordent à ceux de l'étude de **Bijlsma et al.,2016** sur les méningites bactériennes communautaires chez l'adulte aux Pays-Bas sur une cohorte entre 2006-2014 dont l'âge été > 16 ans d'où le germe causatif le plus fréquent était *Streptococcus pneumoniae*, cela pourrait s'expliquer par le fait que les patients présentant un facteur de risque tel qu'une otite, sinusite ou un état immunodéprimé sont plus susceptibles de présenter une méningite à pneumocoque (**Revest et Michelet,2009**).

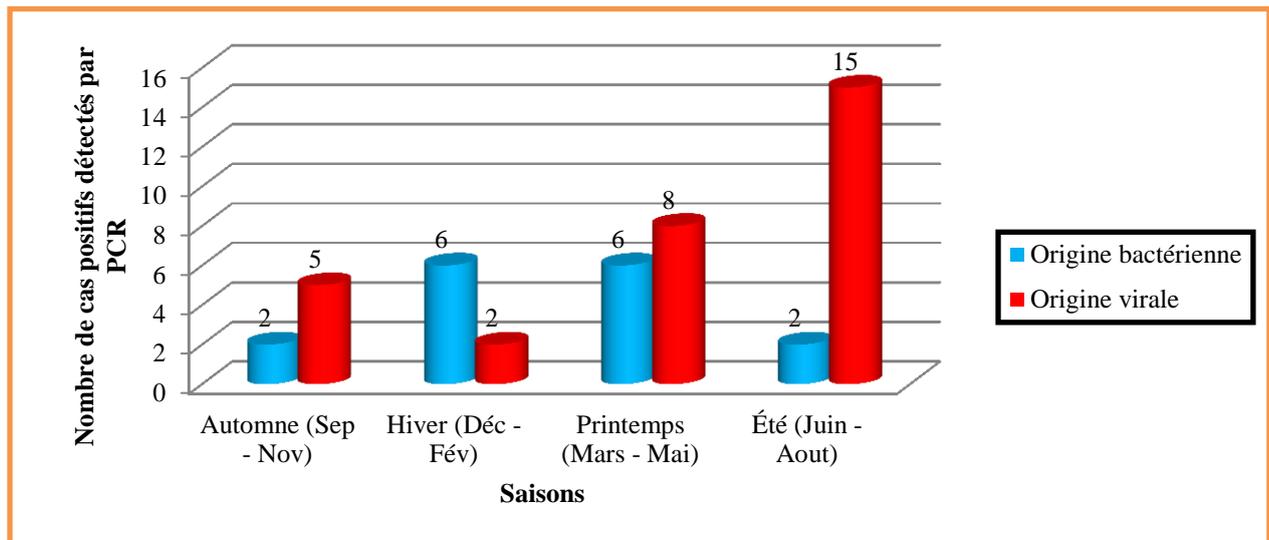
Les étiologies bactériennes des méningites néonatales identifiées sont *S.agalactiae* (N= 2 : 30 jours, 36 jours) et *E.coli K1* (N=1 : 1 jour). L'étude de **Chemsî et Benomar,2015** sur les infections bactériennes néonatales précoces a révélé une concordance avec nos résultats. Le *Streptococcus agalactiae* a représenté la première étiologie et son origine est une contamination du liquide amniotique par des germes provenant du tractus génital (**Six et al.,2014**).

- ✚ Les autres étiologies bactériennes sont *S.agalactiae* (N=2 : 5ans immunodéprimé, 21 ans hospitalisé en réanimation médicale) et *H.influenzae* (N=1 : 5ans immunodéprimé).

#### 7. Origines infectieuses et saisons

En ce qui concerne cette rubrique, le choix s'est arrêté délibérément sur une période de deux ans allant du 1 juin 2017 au 1 juin 2019, au cours de laquelle, il a été enregistré 46 LCR positifs sur les 51 LCR positifs objet de notre étude. Les résultats obtenus sont démontrés dans la figure suivante :

---



**Figure 26.** Répartition des LCR positifs en fonction de l'origine infectieuse et saison

[Figure 26 : et saison](#)

La figure indique que les méningites communautaires apparaissent au cours de toutes les saisons.

✚ Concernant la méningite virale, une recrudescence est notée pendant l'été et le printemps.

Ce résultat est compatible à celui trouvé par **Rozenberg,2002** lors de son étude réalisée sur les infections neuroméningées virales aiguës, montrant que ces dernières culminent pendant l'été et le printemps.

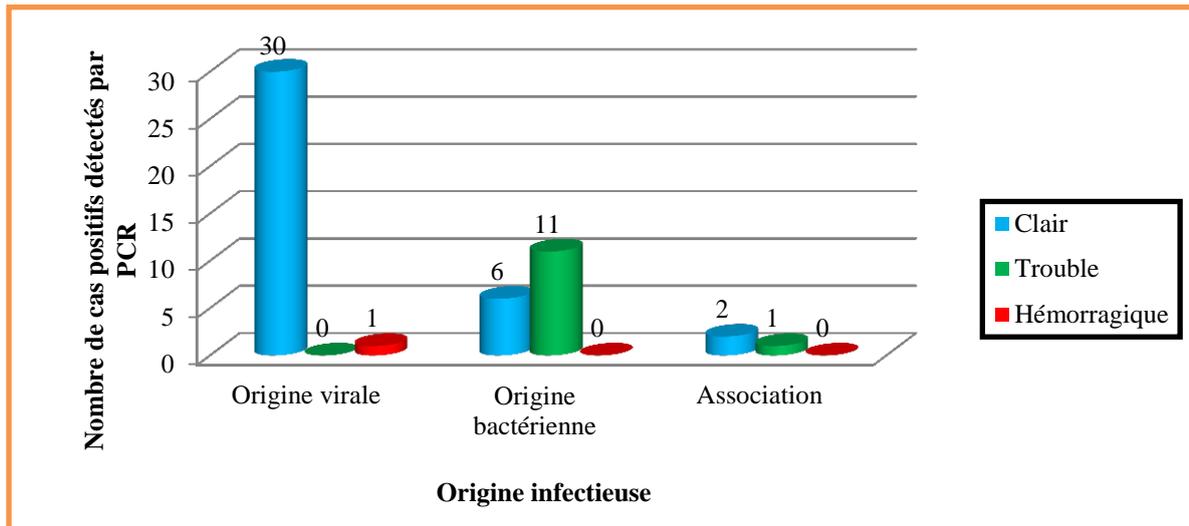
Dans une autre étude menée à Fès (Maroc) par **Idir,2012** a noté lui aussi la présence de deux pics dont l'un au printemps (32%) et l'autre en automne (26,4%). Par contre, d'autres études se contrastent avec ces résultats. En effet, celles réalisées par **Shah et al.,2006** ont montré une recrudescence de la méningite virale en été.

✚ Tandis que la méningite bactérienne sévit essentiellement au cours de la période hivernale et printanière. Cela peut être expliqué par l'augmentation de la fréquence des infections respiratoires aiguës pendant ces périodes.

**Astruc,2010** a remarqué lors d'une étude réalisée au Maroc, que les taux les plus élevés sont notés en automne et en hiver.

### **8. Origines infectieuses et aspect macroscopique du LCR :**

La figure 30 démontre les résultats de la répartition des prélèvements positifs selon l'aspect macroscopique et l'origine infectieuse.



**Figure 27.** Répartition des LCR positifs en fonction de l'aspect macroscopique et de l'origine infectieuse.

Figure 27 : et de l'aspect macroscopique

Selon les résultats obtenus :

- Presque la totalité des méningites virales sont des méningites à liquide clair (30/31).

- Le LCR dans le cas des méningites bactériennes est :

- soit trouble (11/17), cet aspect est expliqué par l'hyperleucoeytose présente dans le LCR lors des méningites purulentes. Dans l'étude de **Pusponegoro et al., 2011**, sur les méningites bactériennes, 8/11 cas avait un LCR d'aspect trouble ; ce qui concorde avec les résultats trouvés.

- ou clair (6/17) qui peut être lié à un début de méningite purulente ou à une méningite bactérienne décapitée (**Maiden et al., 2008**).

### 9. Origines infectieuses et cellulorachie :

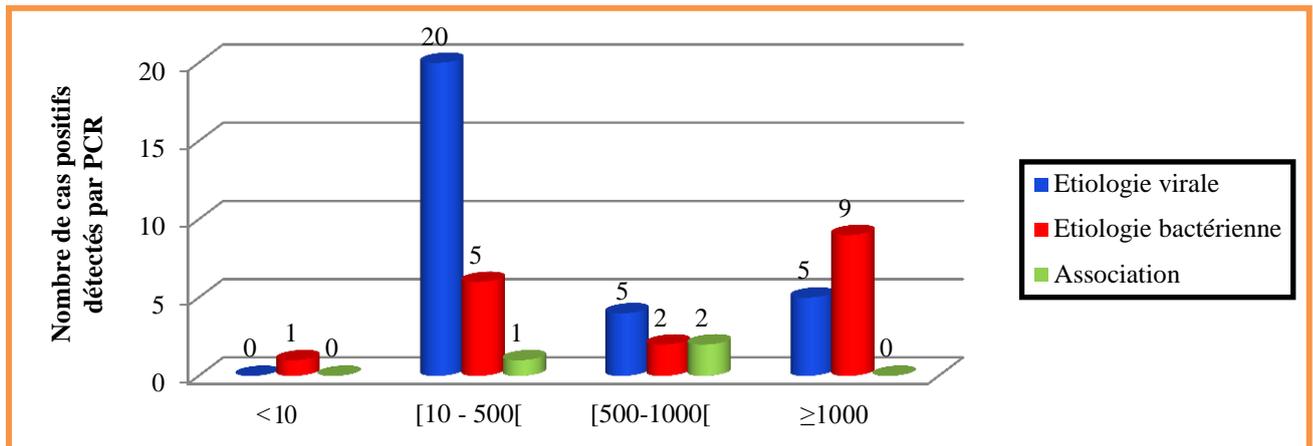
Parmi les 51 LCR positifs, seul le prélèvement hémorragique a été écarté de l'étude cytologique. Les résultats obtenus figurent dans le tableau :

Tableau 12 : et cellulorachie

**Tableau 12.** Répartition des LCR positifs en fonction de l'origine infectieuse et cellulorachie

Cellulorachie(éléments/mm <sup>3</sup> )	Etiologie virale	Etiologie bactérienne	Association	Total
--	------------------	-----------------------	-------------	-------

<10	0	1	0	1
[10 - 500[	20	5	1	26
[500-1000[	5	2	2	9
≥1000	5	9	0	14
<b>Total</b>	30	17	3	50



**Figure 28.** Répartition des LCR positifs en fonction de l'origine infectieuse et cellulorachie

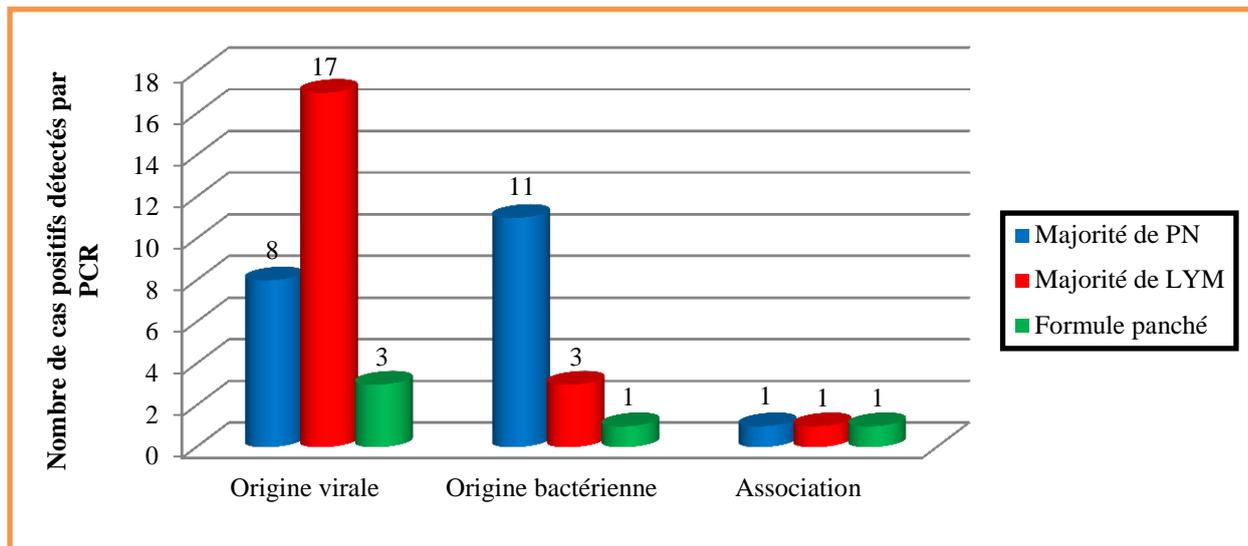
**Figure 28 : et cellulorachie**

Dans les méningites virales, la cellulorachie est dans majorité des cas (20/30) comprise entre 10 et 500 éléments/mm<sup>3</sup>, cependant pour 2 méningites à HHV 6 et 3 à Entérovirus elle dépasse 1000 éléments/mm<sup>3</sup>.

Dans les méningites bactériennes, la cellulorachie dans la majorité des cas (11/17) dépasse 500 éléments/mm<sup>3</sup> (dont 9 dépasse même 1000 éléments/mm<sup>3</sup>), cependant 5 cas de méningites bactériennes ont présentés une cellulorachie entre 10-500 éléments/mm<sup>3</sup>.

**10. Origines infectieuses et formule leucocytaire du LCR:**

La formule leucocytaire n'était réalisée que pour 46 prélèvements de LCR positifs. Les résultats obtenus sont présentés dans la figure



**Figure 29.** Répartition des LCR en fonction de l'origine infectieuse et formule leucocytaire

Figure 29 ; et formule leucocytaire

La formule leucocytaire est à prédominance neutrophile dans 11/15 cas des méningites bactériennes alors que dans 17/28 cas des méningites virales sont à prédominance lymphocytaire.

Ces résultats concordent à ceux de **Viallon et al.,2011** sur les valeur de marqueurs cytochimiques pour le diagnostic différentiel des méningites d'où ils ont trouvé que la méningite bactérienne est caractérisée par une prédominance neutrophile et la méningite virale est caractérisée par une prédominance lymphocytaire. Aussi ; comme le cas de notre étude, les résultats de **McGill et al.,2017** sur les méningites virales, prouve que cette dernière est à prédominance neutrophile au début de la maladie et peut être à prédominance lymphocytaire après son évolution et particulièrement en cas de méningite virale due à l'Entérovirus. L'étude de **Sebastiaan et al.,2014** sur la méningite bactérienne prouve que cette dernière est à prédominance neutrophile avec un taux > à 80%.

Ces résultats concordent avec les données de la littérature :

- La formule leucocytaire peut être à prédominance neutrophile lors du début des méningites virales (8/20).
- La formule leucocytaire peut être lymphocytaire en cas de début de méningite bactérienne ou en cas de début de traitement (3/15).

#### **11. Origines infectieuses et biochimie du LCR:**

- Les résultats de l'analyse biochimique du LCR sont représentés dans le tableau :

Tableau 13 : et biochimie du LCR

**Tableau 13.** Répartition des LCR positifs en fonction de l'origine infectieuse et biochimie du LCR

<b>Etiologie</b> <b>—Biochimie</b>	<b>Virale</b>	<b>Bactérienne</b>	<b>Association</b> <b>(V/V,B/V)</b>	<b>Total</b>
<b>Normoglycorachie.Normoprotéinorachie</b>	7	2	1	10
<b>Normoglycorachie.Hyperprotéinorachie</b>	19	1	2	22
<b>Hypoglycorachie.Normoprotéinorachie</b>	0	1	0	1
<b>Hypoglycorachie.Hyperprotéinorachie</b>	1 <sup>a</sup>	11	0	12
<b>Total</b>	27	15	3	45

<sup>a</sup>: Méningite tuberculeuse + méningite à CMV.

✚ Dans les méningites virales :

— La glycorachie est normale dans la majorité des cas (26/27).

— L'hyperprotéinorachie est observée seulement dans (20/27) des cas. Les 7 méningites virales associées à une normoprotéinorachie sont dues à l'entérovirus.

— Les méningites bactériennes, dans la plus part des cas (11/15), sont associées à une hypoglycorachie et une hyperprotéinorachie. Ces résultats étaient comparés à l'étude de **Tamune et al.,2013** (le rapport liquide céphalo-rachidien / glucose sanguin) dont ils ont constaté une hypoglycorachie ; indicateur de la méningite bactérienne. Aussi, l'étude de **Shrikanth et al.,2015** prouve que l'hypoglycorachie est associée à une méningite bactérienne d'une part (25%) mais aussi elle est due à la tuberculose ou à CMV dans 4/5 cas étudié. L'hypoglycorachie comprend l'inhibition de l'entrée du glucose dans les espaces sous-arachnoïdiens en raison d'altérations de la barrière hémato-encéphalique, du taux accru de transport du glucose entre les villosités arachnoïdiennes, de la glycolyse accrue par les leucocytes et les bactéries, à une augmentation taux de métabolisme dans le cerveau et la moelle épinière (**Dzupova et al.,2009**).

❖ — La cellulorachie, la formule leucocytaire et la biochimie du LCR permettent une orientation du diagnostic mais jamais un diagnostic de certitude.

20/43 PCR négatives étaient associées à une cellulorachie et une biochimie anormale. La

~~négativité de ce test était aussi une information importante permettant un diagnostic~~

d'élimination (adaptations du traitement anti infectieux ou orientation vers une étiologie non infectieuse)

---

<b>Tableau 1</b> : Signes cliniques en fonction de l'age .....	10
<b>Tableau 2</b> : Valeurs du bilan biochimique en faveur du type de méningite.....	11
<b>Tableau 3</b> : Aspect macroscopique du LCR et cytologie en faveur .....	13
<b>Tableau 4</b> : Récapitulatif du matériel non biologique de la PCR.....	20
<b>Tableau 5</b> : Les différents germes détectés par la PCR mltiplex FilmArray ME.....	25
<b>Tableau 6</b> : Amorce pour l'identification des bactéries .....	26
<b>Tableau 7</b> : Amorce pour l'identification des virus .....	27
<b>Tableau 8</b> : Répartition des LCR positifs selon le résultat obtenu par les techniques de dépistage utilisées.....	37
<b>Tableau 9</b> : Répartition des LCR positifs selon le résultat obtenu par les techniques de dépistage utilisées en cas de méningite bactérienne.....	38
<b>Tableau 10</b> : Répartition des LCR positifs en fonction du service.....	39
<b>Tableau 11</b> : Répartition des LCR positifs selon le résultat de l'origine infectieuse et biochimie du LCR .....	50

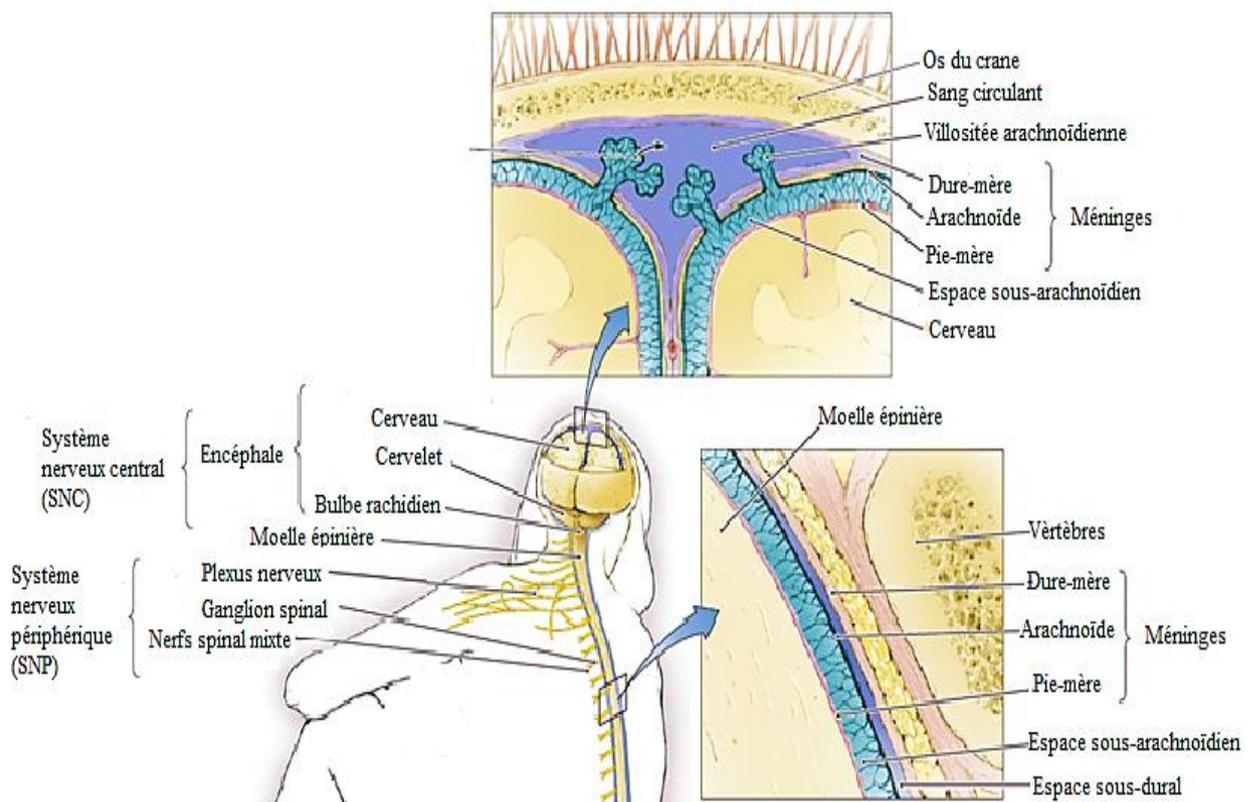
---

## I. Rappel anatomo-physiopathologique

### 1. les méninges

Sont des fines membranes entourant le cerveau et la moelle épinière, elles sont constituées de 3 couches : la pachyméninge (la dure mère) et la leptoméninge (arachnoïde et pie-mère) (figure 1); séparées par 3 espaces fondamentaux :

- L'espace épidual (extradural), entre l'os et la dure-mère, au niveau du crâne et au niveau du rachis ; l'espace contient de la graisse et des veines.
- L'espace sou-dural, traversé par les veines du cerveau qui gagnent les sinus veineux.
- L'espace sous-arachnoïdien compris entre la pie-mère et l'arachnoïde, cloisonné par les travées de ce dernier qui contiennent le liquide céphalorachidien (LCR) (**Saidi et Boukerche, 2013**).

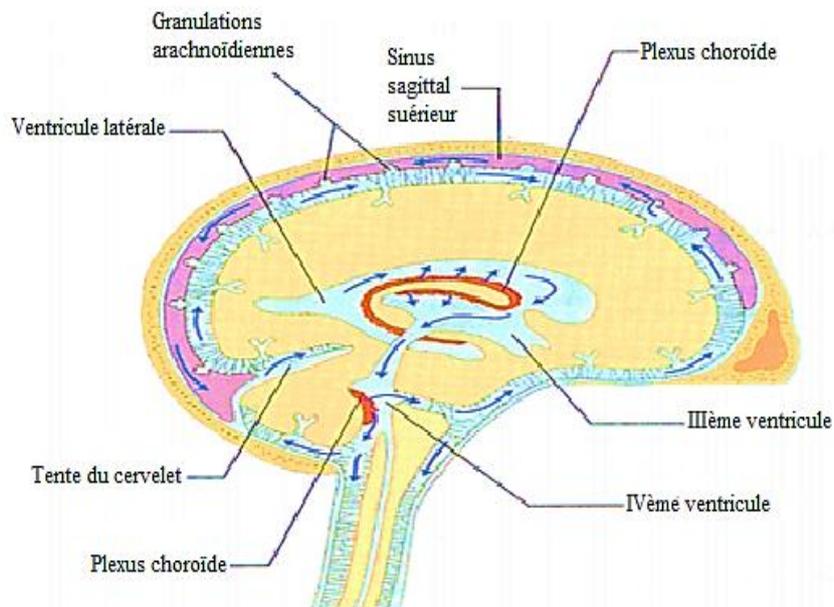


**Figure 1.** Anatomie des méninges (**Bauman,2011**).

## 2. Le liquide céphalo-rachidien

Le liquide céphalorachidien (LCR) est un liquide entourant tout le système nerveux central; sa composition chimique ressemble à celle du plasma ; il est produit par filtration du sang, et sécrété au niveau des plexus choroïdes situés à proximité des ventricules qui forment des cavités à l'intérieur du cerveau dont la parois est tapissées par des cellules appelées les épendymocytes ayant une propriété de motricité permettant le passage du LCR dans l'espace sous arachnoïdien, ce dernier est doté des granulations arachnoïdiennes (villosités arachnoïdiennes) permettant la sécrétion du LCR en dehors de l'espace sous-arachnoïdien permettent la régulation de son volume et sa pression (figure 2).

Le LCR normal est un liquide d'aspect clair, limpide, qualifié d'eau de roche et stérile et toute perturbation de ce liquide est associé à un syndrome méningé et à un état infectieux se traduira par une méningite (Sakka, Coll et Chazal,2011).



**Figure 2.** Circulation du LCR dans le cerveau (Saidi et Boukerche, 2013).

### **3. Survenue de l'infection**

**3.1. Colonisation de l'hôte par le pathogène :** initialement ; les germes neurotropes colonisent les surfaces épithéliales soit dans les voies respiratoire (exemple : *Streptococcus pneumoniae*) ou les voies gastro-intestinal (exemple : *E.coli*) ou génital inférieures avant de passer dans le sang (**Wijdicks et al., 2016**).

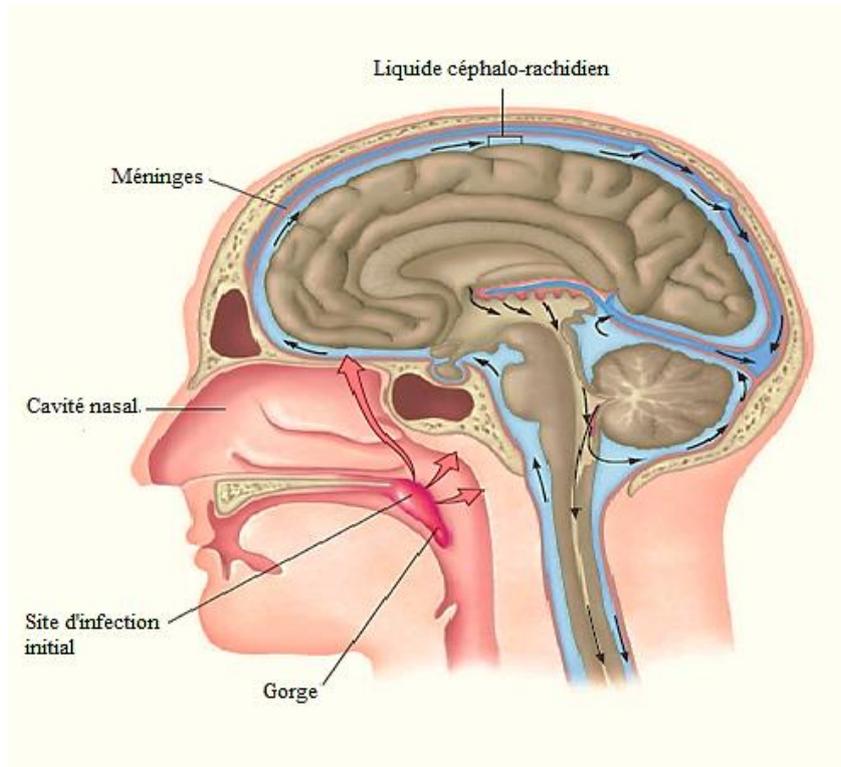
**3.2. Survie dans le sang :** grâce aux capsules polysaccharidiques présentent à la surface des bactéries et les capsides entourant le génome virale ainsi que la production des virions , le potentiel de pathogénicité de ces germes infectieux est élevé et se traduit par une résistance face aux cellules présentent dans la circulation sanguine (macrophages) ; cellules tueurs naturelles (NK) ; polynucléaires neutrophiles(PN), permettant alors le franchissement de la barrière hémato-méningée donnant une méningite ou la barrière hémato-encéphalique donnant une méningo-encéphalite (**Wijdicks et al., 2016**).

**3.3. Entrée dans le système nerveux centrale (SNC) :** la pénétration des germes dans l'espace sous-arachnoïdien est assurée par une phase de bactériémie ou de virémie favorisée par l'interaction entre les composants de surfaces des germes infectieux et les récepteurs des cellules endothéliales de la barrière hémato-méningée (**Koyuncu et al., 2013**) (figure3).

Un certain nombre de Toll-Like Receptor (TLR) (TLR 3,7, 8 et 9) sont capables de reconnaître des molécules qui constituent des signatures typiques d'infection virale (l'ARN simple brin ou bicaténaire, l'ADN bicaténaire non méthylé ou encore des protéines d'origine virale) (**Delneste et al., 2007**). Ces récepteurs ont la capacité d'induire la production d'interféron de type I ( $\alpha/\beta$ ) capables de circonscrire l'infection virale et de limiter sa dissémination en interagissant avec le système immunitaire adaptatif en le stimulant et en favorisant le développement d'une réponse appropriée. L'activité antivirale des IFN  $\alpha/\beta$  est médiée par l'expression de nombreux gènes. Parmi ceux-ci, certains exercent une activité exclusivement antivirale (protéine MX, 2',5'- oligoadénylate synthétase/RNA se L, ISG20, ADAR I) d'autres exercent des fonctions cellulaires potentiellement antivirales (La protéine kinase R) (**Delneste et al., 2007**). D'autre part, la réponse immunitaire contre les bactéries vise à les éliminer et neutraliser leurs effets toxiques due à la production de certaines toxines (exemple : pneumolysine) et des constituant de la structure des bactéries (exemple : acide lipothéichoïque (LTA), (lipopolysaccharides) LBP, capsules, et des motifs CpG) par reconnaissance de certains récepteurs (TLR 1, 2, 4 et 6 ; CD14, MACRO, Nod 2, SIGN-R1) (**Huet et al., 2004**). Ces récepteurs ont la capacité d'induire la production des interleukines 8 (IL 8) ainsi que le TNF $\alpha$ , celle-ci se marque par l'afflux de polynucléaires. Les principaux

mécanismes de l'immunité innée contre les bactéries extracellulaires sont : activation du complément, phagocytose et la réponse inflammatoire (Huet et al., 2004).

Dans le LCR, les germes créent un intense processus inflammatoire provoquant une réponse de l'hôte consistant dans la production de cytokines pro-inflammatoire par des cellules à activité macrophagique *in situ*, les principales sont les facteurs de nécrose tumorale (TNF alpha), interleukines 1 (IL1) et interleukine 6 (IL6) (Wijdicks et al., 2016).



**Figure 3.** Dissémination du méningocoque d'une infection rhinopharynx (Talaro et Chess, 2017).

## I. Définition et classification des méningites

### 1. Définition

La méningite est une inflammation des fines membranes entourant le cerveau et la moelle épinière appelés les méninges. Elle résulte de la pénétration d'une multitude d'agents infectieux souvent des virus ou des bactéries à travers la barrière hémato-méningée. Ces microorganismes sont responsables de deux grandes entités ayant des manifestations cliniques, des traitements et des pronostics bien distincts, soit la méningite virale ou la méningite bactérienne (**Chavanet et al., 2007**).

La méningo-encéphalite est une inflammation du parenchyme cérébral provoqué par la pénétration de germes pathogènes neurotropes à travers la barrière hémato-encéphalique. C'est une maladie du cortex cérébral qui provoque une altération de l'état mental et des signes neurologiques locaux ou diffus peuvent être observés (**Heyderman, 2005**).

### 2. Classification

- a. Selon les étiologies infectieuses, les méningites se répartissent en trois groupes :
  - Les méningites virales généralement bénignes et d'évolution spontanée favorable.
  - Les méningites fongiques, rares et le plus souvent liées à une immunodépression.
  - Les méningites bactériennes, rares et graves (**Mariani-Kurkdjian, Bonacorsi et Bingen, 2016**).
- b. Selon l'aspect macroscopique du LCR, on distingue des méningites purulentes et des méningites à liquide clair.
- c. Selon l'origine de l'infection et les conditions de survenue, on distingue parmi les méningites bactériennes :
  - les méningites primitives communautaires: l'infection est acquise en-dehors d'une structure de santé ou un geste de soins. Elles sont dues à des bactéries encapsulées dont le portage est strictement humain (**Mariani et al., 2018**).
  - les méningites secondaires nosocomiales liées aux soins : l'infection est contractée dans un établissement de santé et/ou suites à un acte de soin. Elles sont dues à des germes hospitaliers souvent résistants à savoir : Entérobactéries (KES : *Klebsiella-Enterobacter-Serratia*), *Pseudomonas-Acinetobacter* et *Staphylococcus aureus/Staphylococcus epidermidis* (**Mariani et al., 2018**).

### **III. Epidémiologie**

#### **1. Mode de transmission**

La transmission varie selon l'agent causal :

##### **1.1. Méningites bactériennes**

Il existe plusieurs modes de transmission dont :

**1.1.1. La transmission interhumaine :** Il s'agit d'une transmission directe concernant essentiellement les bactéries commensales des voies respiratoires supérieures de l'homme (*Neisseria meningitidis*, *Haemophilus influenzae* et certains pneumocoques).Après inhalation des gouttelettes d'un sujet infecté ou de porteur asymptomatique et suite à une simple rhino-pharyngite, ou pneumonie, la bactérie s'étend par voie hémotogène (bactériémie) vers l'espace méningé (**Maiden et al., 2008**).

**1.1.2. La transmission par contiguïté :** Dans laquelle un foyer infectieux (en particulier ORL tels qu'otite ou mastoïdite) ou un simple portage s'étend à l'espace méningé, souvent du fait d'une brèche ostéoméningée préexistante (ex ; *Streptococcus pneumoniae*) (**Serrazin, Bonneville and Martin-Blondel,2012**).

##### **1.1.3. La transmission materno-fœtale :**

- Par voie ascendante : Il s'agit d'une contamination du liquide amniotique par des germes provenant du tractus génital. C'est le mode de contamination le plus fréquent (en particulier pour le *Streptococcus agalactiae*) (**Six et al.,2014**).
- Par voie hémotogène transplacentaire : Il s'agit d'une contamination du fœtus à partir du placenta suite à une bactériémie maternelle. C'est la plus fréquente au cours des listérioses (**Six et al., 2014**). La voie ascendante et la voie hémotogène transplacentaire sont responsables d'un syndrome précoce survenant au cours de la première semaine de vie « 72 premières heures » (**Six et al., 2014**).
- Par voie per natale : C'est la contamination du nouveau-né, au cours du passage dans la filière génitale, suite à la déglutition du liquide amniotique infecté ou contaminé par les germes présents dans la flore vaginale. Elles sont dues principalement à *Streptococcus agalactiae* et *Escherichia coli*. C'est un syndrome tardif se déclarant de 7 jours à 3 mois après la naissance (**Bidet et al., 2014**).

**1.1.4. La transmission alimentaire :** *Listeria monocytogenes* se transmet par voie digestive lors de la consommation de laitages ou de charcuteries contaminés et touche exceptionnellement le sujet âgé et l'immunodéprimé (**Leclercq et al.,2017**).

## **1.2. Méningites virales**

La transmission se fait par contact direct avec de la salive, des expectorations, du mucus nasal et des objets contaminés. Les nourrissons et les jeunes enfants qui mettent les jouets dans leur bouche ou partagent leurs couverts peuvent s'infecter mutuellement (**Logan et Mac Mahon ,2008**).

## **2. Facteurs favorisant la survenue des méningites communautaires**

### **2.1. Liés à l'hôte**

- Les brèches neuroméningées traumatiques (méningite à pneumocoque) (**Klossek,2009**).
- Les localisations infectieuses primitives (sinusites, otites) peuvent être considérées comme la porte d'entrée des germes causaux de la méningite (**Revest,2009**).
- La promiscuité dans les collectivités (en particulier au niveau des crèches, écoles...) favorise la survenue des méningites bactériennes et virales (**Revest,2009**).
- L'âge > 60ans, l'immunodéficience, le diabète, le cancer, l'HIV sont des facteurs prédisposant de méningites bactériennes communautaires (**Revest,2009**).
- Les éléments intervenant sur le taux de contamination du nouveau-né et majorant le risque de développer une infection materno-fœtale à *Streptococcus agalactiae* et *Escherichia coli K1* sont la présence du germe dans les voies génitales maternelles lors de l'accouchement et l'importance quantitative de la colonisation.

**2.2. Liés aux pathogènes :** Pour induire une maladie infectieuse, un agent pathogène doit être capable : (**Wijdicks et al., 2016**).

- D'être transporté vers l'hôte (exemple : capsules, infection des cellules hôtes).
- D'adhérer et de coloniser ou d'envahir l'hôte (exemple : glycoprotéines D, l'antigène K1 de E.coli).
- D'échapper aux mécanismes de défense de l'hôte (exemple : production de la pneumolysine par le *streptococcus pneumoniae* et le système de sabotage ou de camouflage utilisé par les virus).
- De posséder la capacité mécanique, chimique ou moléculaire de nuire à l'hôte (exemple : transcriptase inverse).

### **3. Données épidémiologiques**

#### **3.1. Epidémiologie de la méningite dans le monde**

La méningite reste une cause importante de morbidité et de mortalité, bien qu'elle soit une maladie à déclaration obligatoire dans de nombreux pays, les chiffres épidémiologiques exacts ne sont pas connus (**Logan et Mac Mahon, 2008**).

L'origine virale des méningites infectieuses reste la plus fréquente (70 à 80% des cas) avec un pronostic généralement favorable. Elle se rencontre généralement l'été et au début de l'automne. Elle touche tous les groupes d'âge, mais plus souvent les enfants de moins de 10 ans (**Logan et Mac Mahon, 2008**).

Les Entérovirus sont responsables de 85% des méningites virales durant toute l'année dans les régions tropicales ; tandis que les Oreillons sont responsables de 10% des méningites virales dans les régions non vaccinées. 5% des méningites virales sont causées par les Arbovirus aux USA alors que Herpes virus est responsable que de 4% des MV (**Segondy, 2017**).

Bien que la méningite bactérienne ne soit responsable que de 20 à 25% des cas, la mortalité qui lui est associée est très importante et les survivants présentent relativement souvent des séquelles neurologiques importantes (30%) (**Matthijs et al., 2010**).

L'incidence des méningites bactériennes varie considérablement d'un pays à l'autre, selon le développement, les conditions socio-économiques, l'âge et de nombreux autres facteurs. Dans les pays industrialisés elle est de 2,5 à 10 pour 100.000 habitants alors qu'elle est 10 fois plus élevée dans les pays en développement. Les deux tiers de ces méningites surviennent chez les enfants âgés de moins de 5 ans.

#### **3.2. Epidémiologie de la méningite en Algérie**

En 2011, le nombre de méningites survenues en Algérie a été estimé à 5284 cas (**O.N.S**).

Le taux d'incidence des méningites bactériennes purulentes a connu une baisse significative, passant de 7,16 cas pour 100.000 habitants en l'an 2000 à 1,87 cas pour 100.000 habitants en 2007. Aucune épidémie n'a été signalée au cours de l'année 2007, hormis quelques cas sporadiques, notamment dans les wilayas du sud (**I.N.S.P, 2007**).

Les bactéries impliqués sont par ordre de fréquence le *Streptococcus pneumoniae* (suite à l'émergence de souches résistantes), *Neisseria meningitidis* et *Haemophilus influenzae b* (Hib) en dernier « 1 seul cas en 2016 » ce qui pourrait être expliqué par l'instauration de la vaccination anti-Hib (**O.M.S**).

En 2016, 73,4 % des souches de pneumocoques et 2/5 des souches de méningocoques isolées à partir du LCR étaient de sensibilité diminuée à la pénicilline G.

La mortalité globale est de 4 à 8% même avec un traitement approprié (O.M.S).

## II. Signes cliniques

Plusieurs données cliniques sont évocatrices d'une atteinte encéphalique à savoir: (Zaoui, Nasser et Touaz, 2016).

- Troubles variables et prolongés de la conscience.
- Crises convulsives (parfois état de mal épileptique).
- Signes de localisation neurologique focaux.
- Troubles de l'équilibre, atteinte des paires crâniennes.
- Modifications durables du comportement, troubles mnésiques ou du langage.
- Troubles hémodynamiques.

Des symptômes différents selon l'âge du patient marquent la méningite (tableau 1).

**Tableau 1.** Signes cliniques en fonction de l'âge (Fitch et Van de Beek, 2007).

<b>Chez le nourrisson</b>	Irritabilité, prise alimentaire insuffisante, fièvre, hypothermie
<b>Chez l'enfant</b>	Fièvre, maux de tête intenses, vomissements
<b>Chez l'adulte</b>	Fièvre, céphalées, raideur de nuque, altération de l'état de conscience, photophobie.

## V. Agents étiologiques

Les étiologies des méningites sont différentes de celles des méningo-encéphalites. L'épidémiologie varie selon l'âge du patient, le terrain (statut immunitaire) et l'origine géographique.

### 1. Méningites purulentes

Ce sont des méningites bactériennes à LCR purulent, constituant une urgence médicale mettant en jeu le pronostic vital dont la létalité reste élevée.

Les étiologies de méningites purulentes sont dominées par *S. pneumoniae*, *N. meningitidis*, et *H. influenzae* type b dans une proportion qui dépend de l'âge des sujets.

D'autres germes tels que *Streptococcus agalactiae*, *Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes*, et *Escherichia coli* de nombreuses bactéries à Gram négatif (entérobactéries) sont également isolés.

Avant la vaccination, *Haemophilus influenzae* était l'agent le plus fréquent responsable de méningite chez les enfants de moins de 5 ans.

## **2. Méningites et méningo-encéphalites à liquide clair**

Les méningites à LCR clair regroupent les méningites et les méningo-encéphalites essentiellement communautaires. Les étiologies sont diverses (virales, bactériennes ou mycosiques). La majorité d'entre-elles sont virales et bénignes, d'autres peuvent être graves (tuberculose, listériose et herpès).

### **2.1. Méningites et méningo-encéphalites virales**

Les infections virales du SNC se manifestent sous des formes cliniques variées, selon qu'elles impliquent les méninges, le parenchyme cérébral et/ou la moelle épinière. Les méningites virales sont de loin les plus fréquentes et les plus bénignes (**Rozenberg, 2002**). Elles ne nécessitent généralement aucun traitement antiviral à l'exception des méningo-encéphalites herpétiques pour lesquelles un traitement à l'acyclovir est prescrit (**Kimberlin, 2004**).

Les virus, dits neurotropes, ont la capacité de pénétrer dans le SNC et être directement responsables de lésions à ce niveau. Il s'agit essentiellement de virus pouvant se propager par voie nerveuse tel que l'Herpès virus (HSV1), Cytomégalovirus (CMV), Virus de la varicelle et du zona (VZV), ou de virus véhiculés par le sang et pouvant passer la barrière hémato-encéphalique (BHE) ; il s'agit par exemple des Entérovirus. Aussi de nombreux virus sont susceptibles d'entraîner occasionnellement une méningite comme le virus ourlien (Myxovirus), virus de la rougeole (Measles Virus), virus de la rubéole, virus influenza (**Segondy, 2017**).

### **2.2. Méningites bactériennes**

Certaines méningites bactériennes se présentent sous forme de méningites à LCR clair de nature lymphocytaire, polynucléaire ou à formule mixte (panachée). Elles peuvent être graves et urgentes devant être évoquées en premier.

#### **2.2.1. Méningite tuberculeuse**

Le bacille de Koch (*Mycobacterium tuberculosis*) est un bacille acido-alcool-résistant (BAAR). Il est responsable de méningites qui surviennent dans un délai variable après la primo-infection ayant donné suite à une dissémination, de 6 mois à 2 ans et parfois beaucoup plus.

La méningite tuberculeuse touche essentiellement l'enfant, les personnes âgées, les transplantés et les immunodéprimés (**Cherian et Thomas, 2011**).

### **2.2.2. Méningite listérienne :**

Certaines méningites à *Listeria monocytogenese* fournissent un liquide clair. La méningite listérienne doit être systématiquement évoquée au-delà de 60 ans, chez l'immunodéprimé, chez le nouveau-né et chez la femme enceinte (**Pasquier et Chuad, 2017**).

### **2.2.3. Méningite bactérienne décapitée**

Certaines méningites bactériennes peuvent être décapitées par un traitement antibiotique traversant la barrière méningée mais à posologie et durée insuffisante. Le LCR est clair mais fait de polynucléaires. Le germe est absent (examen direct, culture). Le diagnostic est redressé par la clinique, la recherche d'antigènes solubles (agglutination au latex) dans le LCR et idéalement par le diagnostic moléculaire (**Maiden et al., 2008**).

## **VI. La ponction lombaire**

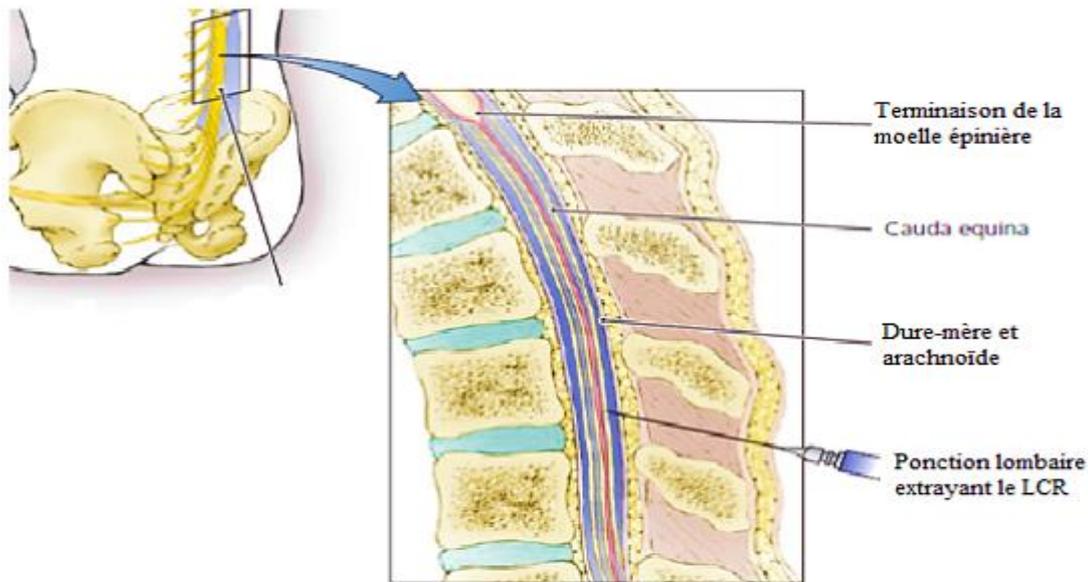
**1. Définition :** elle consiste à un prélèvement du LCR. Elle est indiquée dans plusieurs pathologies comme dans l'hydrocéphalie ou encore en cas de suspicion d'atteinte méningée, qu'elle soit (**Chevallier et al., 2008**) :

1.1. Infectieuse : telle que la méningite et la méningo-encéphalite.

1.2. Inflammatoire : comme la myélite et toute autre manifestation clinique évoquant une inflammation (névrite optique).

1.3. Vasculaire : suspicion d'hémorragie méningée en cas de normalité du scanner cérébral.

**2. Réalisation de la ponction lombaire :** elle est réalisée entre les vertèbres lombaires : L3 et L4 ou L4 et L5 utilisant une aiguille fine après aseptie de la zone du prélèvement. Elle se fait en position assise ou en position latérale (**Duval, 2015**) (Figure 4).



**Figure 4.** Espace de réalisation de la ponction lombaire (Bauman,2017).

## VII. Diagnostic conventionnel de la méningite

### 1. Bilan biologique

Il consiste à réaliser deux bilans biochimiques : la glycorachie et la protéinorachie, dont les différentes variations aident à l'orientation vers un type précis de méningite qu'elle soit virale ou bactérienne.

**Tableau 1.** Valeurs du bilan biochimique en faveur du type de méningite (Bingen,2016).

Bilan biochimique	Normal	En faveur de méningite virale	En faveur de méningite bactérienne
Protéinorachie	0,10 g/l – 0,45 g/l	Modérément élevé	Très élevés (> à 1g/l)
Glycorachie	≤ à 50% de la glycémie	> à 50 % de la glycémie	< à 50% de la glycémie

### 2. Aspect macroscopique du LCR

Le LCR est normalement clair (eau de roche) avec une cytologie < 5 éléments/mm<sup>3</sup>. Différents aspects et cytologies pathologiques peuvent être observés suite à une réaction inflammatoire. Le tableau 3 résume les aspects du LCR et les cytologies trouvés :

**Tableau 2.** Aspect macroscopique du LCR et cytologie en faveur (Bingen,2016).

Aspects	Cytologie
LCR clair	< 05 éléments /mm <sup>3</sup>
LCR purulent (en faveur de méningite bactérienne)	> 200 éléments / mm <sup>3</sup> (prédominance des PN)
LCR claire (en faveur de méningite virale)	> 80 éléments / mm <sup>3</sup> (prédominance des LYM)
LCR citrin	10 – 500 éléments / mm <sup>3</sup>

- 3. Mise en culture :** la mise en culture de LCR reste l'examen biologique de référence pour le diagnostic des méningites communautaires. La culture positive affirme le diagnostic et permet l'identification de l'agent étiologique et la détermination de sa sensibilité aux antibiotiques et donc d'adapter le traitement en fonction de la sensibilité observée.

### VIII. Diagnostic moléculaire de la méningite

Bien que les examens conventionnels soient nécessaires pour tout diagnostic de méningites communautaires, ils présentent des inconvénients : lents (18h - 48h), leurs résultats sont biaisés par de nombreux facteurs (antibiothérapie précoce, fragilité de certaines bactéries) ainsi que la difficulté de détection des virus. Pour pallier ces inconvénients ; les techniques de biologie moléculaire ont été instaurées.

#### 1. Définition et principe de la réaction de polymérisation en chaîne (PCR)

Cette technique a été mise au point en 1985 par Kary Mullis. Il s'agit d'une répllication *in vitro* de séquences spécifiques d'ADN. Cette méthode permet de générer un très grand nombre d'exemplaires d'un fragment d'ADN particulier à partir d'une faible quantité d'échantillon (Garibyan et Avashia,2013).

## 2. Etapes de la réalisation de la PCR

### **Etape1:**Extraction et purification des acides nucléiques

L'objectif de l'extraction est d'isoler la molécule d'ADN, c'est-à-dire la séparer de tous les autres constituants d'un tissu, y compris les molécules fortement liées à l'ADN (histones), et d'en obtenir un échantillon pur.

### **Etape2 :** préparation du milieu réactionnel

1. **Matrice d'ADN :** il s'agit du modèle à partir duquel les séquences spécifiques sont amplifiées.
2. **L'eau**
3. **L'enzyme Taq polymérase :** Les ADN polymérases sont des enzymes qui synthétisent l'ADN de l'extrémité. Les polymérases utilisées en PCR sont extraites de bactéries vivant naturellement à des températures élevées, elle provenaient d'une bactérie thermophile (*Thermusaquaticus*) (**Mackay, ArdeetNitsche,2002**).
4. **Les amorces (primers) :** durant la PCR, les amorces délimitent la séquence d'ADN à amplifier et elles lui sont spécifiques (**Mackay, ArdeetNitsche,2002**). Elles sont de petites séquences d'environ 20 paires de bases capable de s'hybrider chacune à l'extrémité libre 3'OH du fragment à amplifier grâce à la complémentarité des séquences nucléotidiques.
5. **Les oligonucléotides** (dATP, dTTP, dGTP, dCTP) : sont des molécules présentent à l'état libre dans le milieu réactionnel, ajoutés au simple brin d'ADN afin de synthétiser le nouveau brin complémentaire au brin d'origine. (**Mackay, Ardeet Nitsche, 2002**).
6. **Le tampon :** le tampon utilisé pour la réaction PCR sert à maintenir la stabilité du pH du milieu réactionnel au niveau optimal pour la Taq polymérase (**Mackay, ArdeetNitsche,2002**).Il contient des cations bivalents  $Mg^{2+}$ , cofacteurs indispensables pour la réaction de polymérisation avec la Taq polymérase. La présence dans le milieu réactionnel des cations bivalents  $Mg^{2+}$  et de cations monovalents ( $K^+$  ou  $NH_4^+$ ) vont neutraliser les charges négatives des groupements phosphates au niveau de l'ADN et ainsi stabiliser les hybrides ADN/ADN.

### **Etape 3 :** Amplification

Elle est basée sur une répétition de cycles de transition de température, chaque cycle contient trois étapes.

**1. La dénaturation** : à une température élevée de 95°C, les liaisons hydrogènes sont rompues. A la fin de la dénaturation, on obtient deux simples brins d'ADN (**Mackay, ArdeetNitsche,2002**).

**2. L'hybridation** : à une température entre 45°C et 65°C les amorces sens et anti-sens s'hybrident aux brins d'ADN cibles par complémentarité de bases grâce à leurs extrémités 3'OH libres qui servent de point d'ancrage à l'ADN polymérase (**Mackay, Arde et Nitsche,2002**).

**3. L'élongation** : cette étape est réalisée à 72°C permettant aux polymérases de synthétiser le brin complémentaire à l'ADN matriciel. Ce brin est synthétisé à partir des désoxyribonucléiques (DNTP) libres présents dans le milieu réactionnel. La polymérisation se fait alors dans le sens 5' à 3' et aboutit à la formation d'ADN bicaténaire (**Mackay, Arde et Nitsche,2002**).

**Etape 3** : Détection des amplicons

La détection des amplicons varie selon le type de la PCR (exemple :électrophorèse) (**Mackay, Arde and Nitsche,2002**).

### **3. Types de PCR**

#### **3.1. PCR conventionnelle**

La détection est faite à la fin des réactions de PCR soit en couplant le test ELISA, soit en réalisant une migration électrophorétique.

PCR – ELISA peut également être utilisé pour capturer l'amplicon sur une phase solide en utilisant des amorces marquées à la biotine ou à la digoxigénine, des sondes oligonucléotidiques (oligoprobes) ou directement après l'incorporation de la digoxigénine dans l'amplicon. Une fois capturé, l'amplicon peut être détecté à l'aide d'une molécule rapporteur avidine ou anti-digoxigénine marquée par une enzyme, similaire au format ELISA standard (**Mackay, Arde et Nitsche,2002**).

L'électrophorèse sépare l'ADN selon le poids moléculaire. Sur gel d'agarose, les AN migrent dans un champ électrique. Les amplicons sont révélés par un agent intercalant fluorescent.

### **3.2. PCR en temps réel (Real time PCR)**

La PCR en temps réel consiste à l'amplification et la détection simultanée des produits amplifiés. Le principe de cette technique repose sur la détection et la quantification d'un émetteur fluorescent pendant le processus d'amplification ; et l'augmentation du signal d'émission fluorescente est directement proportionnelle à la quantité d'amplicons produits durant la réaction. Il existe deux principes généraux pour la détection quantitative des amplicons : les agents se liant à la L'ADN double brin dit agents intercalant (exemple : SYBR Green I) et les sondes fluorescentes tel que les sondes d'hydrolyse (TaqMan), hybridation de 2 sondes (HybProbes), balises moléculaires (Molecular Beacons) et amorces scorpion (Scorpion primers)(**Poitras et Houde, 2002**).

### **3.3. PCR multiplex**

Permet l'amplification simultanée de plusieurs séquences cibles en incluant plus d'une paire d'amorces dans la réaction dans une petite quantité contenue dans un seul tube à la fois. Elle peut être réalisée de manière conventionnelle « PCR classique » ou par PCR en temps réel (Chen, Schwarz, 2016). Depuis son introduction, la PCR multiplexa été appliquée avec succès dans de nombreux domaines du diagnostic de l'acide nucléique, y compris l'analyse de délétion de gène, l'analyse de mutation et de polymorphisme, l'analyse quantitative et la détection d'ARN (**Elnifro, 2000**).

### **3.4. La RT-PCR (reverse- transcription PCR)**

C'est une technique basée sur la transcription inverse des ARNm en ADNc utilisant une enzyme spécifique ; la transcriptase inverse (RT). Ce processus est suivie ensuite par une PCR classique afin d'amplifier l'ADNc. Cette technique est combinée à une PCR en temps réel dont les résultats sont dépendants de la cible (**Nolan, Hands et Bustin, 2006**).

### **3.5. La PCR « nichée » (Nested PCR)**

La PCR nichée consiste à réaliser deux PCR successives en utilisant deux couples d'amorces différents (un couple externe effectuant la première PCR et couple interne pour la deuxième PCR). La première PCR est une réaction hautement multiplexée pour amplifier tous les AN cibles. Les fragments d'ADN obtenus par la première PCR seront révélés par un agent intercalent fluorescent. La deuxième PCR consiste à utiliser de nouvelles amorces pour

l'amplification des fragments issue de la première PCR, ceci améliore la spécificité de la PCR en éliminant les amplicons non spécifiques (**Dasgupta et al.,2017**).



## Annexe 1. Fiche de renseignements

Nom : .....

Date d'admission: .....

Prénom : .....

Date de prélèvement : .....

Age : .....

Numéro d'ordre : .....

Service : .....

## ➤ Signes cliniques et radiologiques:

.....  
 .....

## ➤ Antibiothérapie reçue:

▪ Nature de l'antibiotique: .....

▪ Durée: .....

## ➤ Biochimie :

▪ Glycorachie :

g/l

▪ Protéinorachie :

g/l

## ➤ Résultats :

## ✓ Aspect macroscopique du LCR :

Clair  Citrin  Trouble  Purulent  Hémorragique 

## ✓ Examens microscopiques :

▪ Leucocytes :

éléments/mm<sup>3</sup>

▪ Lymphocytes :

%

▪ Polynucléaires :

%

## ✓ Culture directe :

Positive Négative 

▪ Bactérie détectée : .....

▪ Antibiogramme : .....

## ✓ Culture après enrichissement :

Positive Négative 

## ✓ PCR :

Positive Négative 

▪ Germe(s) détecté(s) : .....

## Annexe 2. Méthode d'ensemencement

### ➤ Technique des quadrants ou par épuisement

#### 1. Principe et but

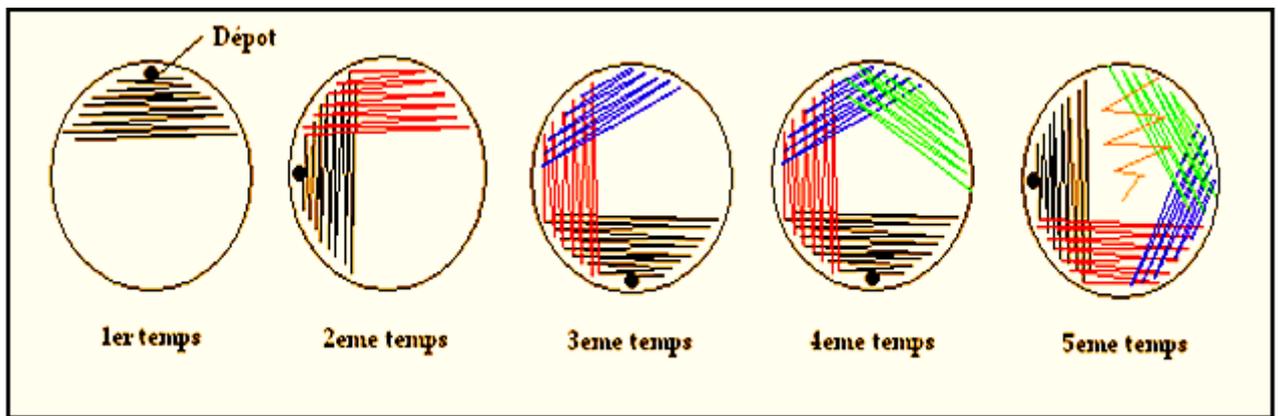
Épuiser un dépôt initial en faisant des étalements successifs dans différentes directions (d'où le nom de la technique : épuisement par la méthode des quadrants). Deux techniques sont couramment appliquées : 4 ou 5 étalements successifs.

C'est le type de base des ensemencements. En effet, il permet s'il est bien réalisé, d'obtenir des colonies isolées, donc d'obtenir des cultures pures d'une espèce bactérienne.

#### 2. Technique

Description de la technique en 5 étalements :

- Dépôt initial de la souche près d'un bord d'une boîte de gélose adaptée à l'espèce désirée
- Etalement de ce dépôt en réalisant des stries serrées sur environ 1/3 de la boîte
- Stérilisation de l'instrument d'étalement
- Etalement d'une partie des stries précédentes, après avoir fait tourner la boîte d'environ 50 °
- Répétition des deux étapes précédentes 2 fois.
- Faire un Z final vers le centre de la gélose



### Annexe 3. Coloration au bleu de méthylène

#### ➤ Technique

- Réaliser un frottis directement du prélèvement et le fixer
- Le recouvrir de bleu de méthylène n et laisser agir 3 min.
- Rincer à l'eau distillée.
- Sécher entre 2 feuilles de papier essuie-tout.

#### ➤ Observations

- Examiner à l'objectif x100 à immersion (avec une goutte d'huile) avec un éclairage important (diaphragme ouvert).
- Toutes les cellules apparaissent colorées en bleu.

#### ➤ Noter

- La morphologie des bactéries: bacilles, coques...
- Leur mode de groupement: isolées, par 2, en amas, en chaînettes.
- La présence de cellules (polynucléaires, cellules épithéliales...)



Frottis coloré au BM

#### ➤ Avantages et inconvénients

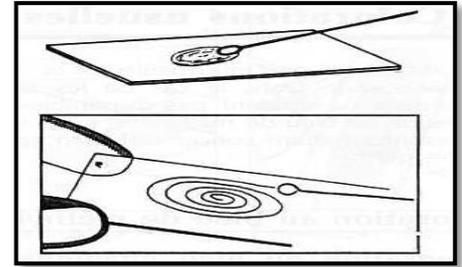
Avantages	Inconvénients
<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ Coloration simple et rapide</li> <li>▪ Permet d'apprécier la morphologie des bactéries</li> <li>▪ Peu d'échecs possibles</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ Ne permet pas de différencier les bactéries de même morphologie</li> </ul>

#### Annexe 4. Coloration de Gram

C'est la coloration la plus utilisée en bactériologie, elle permet de différencier les bactéries Gram positif des bactéries Gram négatif. Elle est réalisée comme suit :

##### a) Réalisation du frottis

- Déposer une goutte d'eau stérile sur une lame de verre propre.
- Déposer quelques colonies de bactéries sur la lame.
- Réaliser le frottis à partir du centre de la lame en décrivant un mouvement circulaire.
- Sécher et fixer le frottis au dessus de la flamme du bec Bunsen.



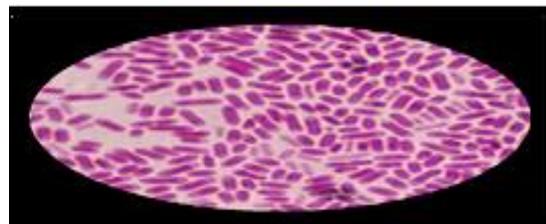
Réalisation d'un Frottis

##### b) Coloration de Gram

- Coloration par le violet de Gentiane. Laisser agir de 30 secondes à 1minute.
- Mordantage au Lugol. Laisser agir pendant 1minute. Rincer à l'eau déminéralisée.
- Décoloration à l'alcool pendant 5 à 10 secondes.
- Contre coloration avec de la Fuchsine. Laisser agir de 30 secondes à 1minute. Rincer à l'eau déminéralisée.
- Sécher entre deux feuilles de papier filtre, puis à la chaleur.
- Observer au microscope optique (avec une goutte d'huile à immersion, au grossissement  $\times 100$ ).

##### c) Résultats

- Les bactéries à Gram positif apparaissent violettes.
- Les bactéries à Gram négatif apparaissent roses



Examen direct après coloration de Gram de *Streptococcus agalactiae*

## Annexe 5. Réalisation de l'antibiogramme

### ➤ Antibiogramme par diffusion des disques

#### 1. Milieu pour antibiogramme

- Il doit être coulé en boîtes de Petri sur une épaisseur de 4 mm.
- Les géloses doivent être séchées avant l'emploi.

#### 2. Préparation de l'inoculum

▪ A partir d'une culture pure de 18 à 24 h sur milieu d'isolement approprié, racler à l'aide d'une anse de platine quelques colonies bien isolées et parfaitement identiques. Dans le cas de *Streptococcus spp* et d'*Haemophilus spp* utiliser un écouvillon pour prélever plus facilement les colonies bactériennes.

▪ Bien décharger l'anse ou l'écouvillon dans 5 à 10 ml d'eau physiologique stérile à 0,9%.

▪ Bien homogénéiser la suspension bactérienne, son opacité doit être équivalente à 0,5 MF. L'utilisation d'un densitomètre est fortement souhaitable.

❖ **NB:** La suspension bactérienne à 0,5 MF doit être diluée au 1/10ème dans le cas où l'on teste des molécules à charge SFM (c'est-à-dire des antibiotiques pour lesquels il n'existe pas encore de critères d'interprétation dans la technique CLSI).



Densitomètre

#### 3. Ensemencement

▪ Tremper un écouvillon stérile dans l'inoculum.

▪ L'essorer en le pressant fermement (et en le tournant) contre la paroi interne du tube, afin de décharger au maximum.

▪ Frotter l'écouvillon sur la totalité de la surface gélosée, sèche, de haut en bas, en stries serrées.

▪ Répéter l'opération 2 fois, en tournant la boîte de 60° à chaque fois, sans oublier de faire pivoter l'écouvillon sur

lui-même. Finir l'ensemencement en passant l'écouvillon sur la périphérie de la gélose.

▪ Dans le cas où l'on ensemence plusieurs boîtes de Petri, il faut recharger l'écouvillon à chaque fois.

#### 4. Application des disques d'antibiotiques

▪ Il est préférable de ne pas mettre plus de 6 disques d'antibiotique sur une boîte de 90 mm.

▪ Pour les bactéries exigeantes (*Streptococcus pneumoniae*, *Neisseria meningitidis*, *Haemophilus influenzae*), ne pas mettre plus de 4 disques par boîte de 90 mm.



Ensemencement du MH

- Presser chaque disque d'antibiotique à l'aide de pinces bactériologiques stériles et ne pas déplacer les disques après application.

#### 5. Conditions d'incubation

Respecter la température, l'atmosphère et la durée d'incubation recommandées pour chaque bactérie

#### 6. Lecture

Mesurer avec précision les diamètres des zones d'inhibition à l'aide d'un pied à coulisse.



### Application des disques d'antibiotiques

- Pour les bactéries testées sur Mueller-Hinton simple, les mesures seront prises en procédant par transparence à travers le fond de la boîte de Petri fermée.

- Pour les bactéries testées sur Mueller-Hinton au sang, les mesures de diamètres de zones d'inhibition seront prises, boîte de Petri ouverte et bien éclairée.

- Comparer les résultats obtenus, aux valeurs critiques figurant dans les tables de lecture correspondantes.

- Classer la bactérie dans l'une des catégories S, R ou I

#### 7. Contrôle de qualité

Pour chaque espèce bactérienne testée, un contrôle de qualité est réalisé dans les mêmes conditions de test et d'incubation.

**Pied à coulisse**



**Diamètre de zone d'inhibition**



## Annexe 6. Galerie API 20 E

### ➤ Principe

Le système API® Biomerieux (Appareillage et Procédé d'Identification) est une version miniaturisée et standardisée des techniques biochimiques conventionnelles pour l'identification des bactéries.

Lorsqu'une suspension bactérienne de densité convenable est répartie dans les différentes alvéoles qui composent la micro galerie (contenant de substrats déshydratés), les métabolites produits durant la période d'incubation se traduisent par des changements de couleur spontanés ou révélés par addition de réactifs.

Elle permet l'identification d'une centaine de bacilles à Gram négatif dont les Entérobactéries. Elle comprend 20 tests biochimiques.

### ➤ Technique

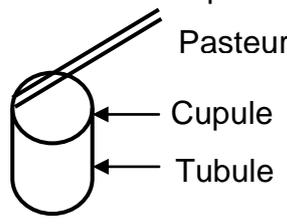
#### 1. Préparation de la galerie

- Réunir fond et couvercle d'une boîte d'incubation et répartir de l'eau dans les alvéoles pour créer une atmosphère humide.
- Déposer stérilement la galerie dans la boîte d'incubation.

#### 2. Préparation de l'inoculum

- Ouvrir une ampoule de Suspension Medium (ou un tube d'eau distillée stérile).
- Prélever une seule colonie bien isolée sur milieu gélosé.
- Réaliser une suspension bactérienne faible (opacité 0,5 sur l'échelle Mc Farland).

#### 3. Inoculation de la galerie

<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ Remplir les tubules et les cupules des tests du type CIT. </li> </ul>	<p><b>Remplissage des tubes :</b></p>  <ul style="list-style-type: none"> <li>▪ Remplir en posant la pipette contre la paroi de la cupule.</li> </ul>
<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ Remplir les tubules des tests du type ADH et _____ remplir la cupule avec de l'huile de paraffine, pour créer l'anaérobiose.</li> </ul>	
<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ Remplir uniquement les tubules des tests restants.</li> </ul>	

❖ **NB :** il est important de veiller à ne pas créer de bulles lors de l'inoculation qui pourraient fausser le résultat. De plus l'apparition de bulles après incubation apportera un caractère d'identification supplémentaire (GAZ+).

### ➤ Résultats

- Noter sur la fiche de résultats toutes les réactions spontanées.
- Réaliser les tests nécessitant l'addition de réactifs : Test VP, TDA, IND, Nitrate réductase...

➤ **Identifications**

- Avec le tableau d'identification : comparer les réactions notées sur la fiche de résultats avec celle du tableau : chaque cellule de ce tableau contient les pourcentages de positivité.
- Avec le catalogue analytique : Les tests sont regroupés en groupe de 3, et une valeur (1, 2 ou 4) est indiquée pour chacun. Additionner à l'intérieur de chaque groupe les nombres correspondants aux tests positifs. On obtient un nombre à 7 chiffres qui sert de code d'identification.
- Avec un logiciel d'identification.

## Annexe 7 : informations sur les 119 patients

N° de série	N° d'ordre	Date de prélèvement	Service	AGE	Sexe	Signes cliniques/diagnostique	Traitement empirique	Résultats de la PCR
1	742	29/11/2016	Pédiatrie	4 ans	F	Fièvre - Céphalées - Vomissement	/	Entérovirus
2	782	21/12/2016	Urgences	36 ans	M	/	Amoxicilline - Ciprofloxacine	-
3	40	25/01/2017	Neurologie	62 ans	M	Affection démyélinisante du SNC sans précision	/	-
4	83	19/02/2017	Urgences	54 ans	M	Fièvre - Céphalées - Syndrome grippale - Angine érythémateuse	Céfotaxime	<i>Neisseria meningitidis</i>
5	100	28/02/2017	Psychiatrie	35 ans	M	Confusion fébrile - Suspicion de <b>méningite herpétique</b>	Aciclovir	HSV1
6	133	12/03/2017	Neurologie	32 ans	M	Syndrome méningé - Trouble de conscience - Aggravation de tableau neurologique - Raideur de la nuque - Coma	Céfotaxime - Vancomycine	-
7	181	05/04/2017	RNO	20 jours	M	Fièvre - Irritabilité	Ampicilline - Acide nalidixique	<i>Streptococcus pneumoniae</i> / Entérovirus
8	210	20/04/2017	Pédiatrie	2 ans	M	Fièvre - Hypotonie flasque - Détresse respiratoire - Cardiopathie opérée - Trisomie	Vancomycine - Céfotaxime	<i>Streptococcus pneumoniae</i>
9	276	21/05/2017	U. pédiatrique	9 mois	M	Fièvre	/	-
10	293	25/05/2017	U. pédiatrique	1 mois	F	Fièvre	Ampicilline	-
11	329	05/06/2017	U. pédiatrique	4 mois	M	Fièvre rebelle sans foyer	/	-
12	367	22/06/2017	Pédiatrie	13 ans	F	<b>Méningite post zona</b>	Aciclovir	VZV
13	370	24/06/2017	U. pédiatrique	10 ans	M	Fièvre - Céphalées - Vomissement	Céfotaxime	Entérovirus
14	371	25/06/2017	RNO	6 jours	F	/	/	-
15	380	30/06/2017	Urgences	30 ans	M	Céphalées - Vomissement	/	-
16	389	05/07/2017	U. pédiatrique	5 ans	M	Fièvre - Vomissement	/	-
17	390	05/07/2017	Urgences	63 ans	F	Fièvre - Céphalées - Vomissement - Brèche ostéoméningée depuis 3 mois	/	-
18	393	06/07/2017	Urgences	6 mois	F	Fièvre - Convulsion	/	-
19	410	11/07/2017	U. pédiatrique	7 ans	F	Fièvre - Céphalées	Amoxicilline	Entérovirus
20	429	17/07/2017	Urgences	79 ans	M	Coma fébrile - Pneumopathie	Céfotaxime - Ciprofloxacine	-
21	443	25/07/2017	Urgences	18 ans	M	/	/	-
22	445	26/07/2017	Neuro-chir	16 ans	M	/	/	-
23	458	30/07/2017	U. pédiatrique	5 ans	M	Fièvre - oreillon .15 jours	/	-
24	476	06/08/2017	U. pédiatrique	3 mois	F	Fièvre depuis une semaine	/	Entérovirus
25	477	06/08/2017	U. pédiatrique	5 ans	M	/	/	<i>Streptococcus agalactiae</i>

26	483	08/08/2017	U. pédiatrique	5 ans	M	/	/	<i>Haemophilus influenzae</i>
27	493	??	U. pédiatrique	5 ans	M	/	/	-
28	487	10/08/2017	U. pédiatrique	11 jours	M	/	/	Entérovirus
29	490	11/08/2017	U. pédiatrique	25 jours	M	/	/	Entérovirus
30	520	17/08/2017	RPM	3 ans	F	Fièvre - Céphalées en casque - Vomissement - Convulsion	/	HSV 1
31	534	23/08/2017	Pédiatrie	3 ans	M	/	/	HHV 6
32	542	27/08/2017	U. pédiatrique	2 ans	M	/	/	HHV 6
33	549	28/08/2017	Pédiatrie	2 ans	M	Fièvre - Détresse respiratoire - Crises convulsives	/	-
34	567	04/09/2017	MIF	29 ans	F	Convulsion - Céphalées - Trouble neurologiques - Méningite tuberculeuse - Immunodépression	/	CMV
35	582	11/09/2017	U. pédiatrique	5 ans	M	/	/	-
36	596	18/09/2017	Pédiatrie	4 ans	M	/	/	-
37	601	19/09/2017	Pédiatrie	4 mois	F	Fièvre - Pharyngite - Asthénie - Refus de teter	Céfotaxime - Vancomycine - Ciprofloxacine	-
38	653	11/10/2017	Externe	3 mois	M	/	/	-
39	655	12/11/2017	Pédiatrie	36 jours	F	Fièvre - Pleurnessant - Refus de teter - Légère hypotonie - Hyperextensibilité	/	<i>Streptococcus agalactiae</i>
40	692	27/10/2017	MIF	63 ans	F	Fièvre - Céphalées - Atteinte articulaire - Atteinte hépatique	Amoxiciline - AC.davuljanique	-
41	762	22/11/2017	U. pédiatrique	3 ans	M	Fièvre - Raideur méningée	/	-
42	786	03/12/2017	Réa-Med	21 ans	M	Fièvre - Céphalées - Raideur méningée	Céfotaxime	<i>Streptococcus agalactiae</i>
43	787	03/12/2017	MIF	79 ans	M	Fièvre - Céphalées - Raideur de la nuque - Altération de l'état générale	/	<i>Streptococcus pneumoniae</i>
44	788	04/12/2017	RNO	2 mois	F	Fièvre - Céphalées - vomissement - hydrocéphalie	Ciprofloxacine - Vancomycine	-
45	791	04/12/2017	RMD	63 ans	M	<b>Syphilis</b>	Ciprofloxacine - Céfotaxime	-
46	794	04/12/2017	MIF	25 ans	M	Syndrome méningé discret : Fièvre - Céphalées - Otite moyenne chronique	Amoxiciline - AC.davuljanique	-
47	796	05/12/2017	U. pédiatrique	4 ans	M	Fièvre - Vomissement - Trouble de comportement	Aciclovir - Céfotaxime	-
48	840	27/12/2017	Pédiatrie	10 ans	M	Fièvre - Syndromeméningée franc sans trouble de conscience	Céfotaxime - Vancomycine - Aciclovir	<i>Streptococcus pneumoniae</i>
49	12	06/01/2018	CMF	74 ans	M	/	/	-
50	22	10/01/2018	U. pédiatrique	15 jours	M	/	/	Entérovirus

51	29	11/02/2018	Chir-Gen A	70 ans	F	Encéphalite herpétique	/	-
52	33	14/01/2018	U. pédiatrique	6 mois	F	/	Céfotaxime - Gentamicine	-
53	85	10/02/2018	Urgences	33 ans	F	Fièvre - Céphalées - Vomissement	/	-
54	98	15/02/2018	Urgences	20 ans	M	Céphalées - Raideur de la nuque - <b>Lésion purpurique</b> - Rhinrite	Céfotaxime	<i>Neisseria meningitidis</i>
55	99	15/02/2018	U. pédiatrique	1 an	F	Fièvre	Amoxicilline	HHV 6
56	102	17/02/2018	RNO	1 jour	F	Fièvre sans foyer	Amoxicilline - Amikacine - Céfotaxime	-
57	123	23/02/2018	Externe	3 ans	M	/	/	-
58	144	01/03/2018	U. pédiatrique	1 jour	F	/	/	<i>Escherichia coli/K1</i>
59	146	02/03/2018	U. pédiatrique	2 mois	M	Fièvre - infection urinaire	/	-
60	150	03/03/2018	Urgences	64 ans	M	/	/	-
61	183	18/03/2018	U. pédiatrique	9 mois	F	/	/	HHV 6 / Entérovirus
62	204	28/03/2018	Urgences	50 ans	M	/	/	-
63	210	30/03/2018	Réa-Med	20 ans	M	Fièvre - Trouble de conscience	/	<i>Streptococcus pneumoniae</i>
64	214	02/04/2018	U. pédiatrique	1 mois	F	Convulsion	Amoxicilline + AC. Clavulanique	<i>Streptococcus agalactiae</i>
65	253	17/04/2018	Urgences	31 ans	M	/	/	-
66	278	02/05/2018	U. pédiatrique	9 ans	M	/	/	Entérovirus
67	288	06/06/2018	U. pédiatrique	8 ans	M	/	/	Entérovirus
68	290	08/05/2018	Pédiatrie	2 mois	M	/	/	-
69	301	13/05/2018	Pédiatrie	18 mois	M	Fièvre - Somnolence	Céfotaxime - Amikacine - Vancomycine	-
70	307	20/05/2018	U. pédiatrique	40 ans	F	Fièvre - Céphalées	Céfotaxime - Amikacine - Ciprofloxacine	Entérovirus
71	318	20/05/2018	MIF	19 ans	M	Fièvre - Céphalées - Raideur de la nuque - <b>lésion purpurique</b>	Céfotaxime	<i>Neisseria meningitidis</i>
72	324	20/05/2018	U. pédiatrique	4 ans	M	Suspicion de méningite ouïllenne	/	-
73	326	20/05/2018	Urgences	7 ans	F	/	/	Entérovirus
74	327	21/05/2018	MIF	54 ans	F	Fièvre - Coma	/	<i>Streptococcus pneumoniae</i>
75	345	29/05/2018	RNO	10 jours	M	Fièvre	Ciprofloxacine - Impipénème	Entérovirus

76	351	30/05/2018	U. pédiatrique	3 ans	M	/	/	-	-
77	368	07/06/2018	Urgences	5 ans	M	Fièvre - Céphalées - Vomissement - Photophobie	Céfotaxime	Entérovirus	Entérovirus
78	372	09/06/2018	U. pédiatrique	7 ans	M	/	/	-	-
79	384	11/06/2018	MIF	28 ans	M	/	/	-	-
80	397	14/06/2018	U. pédiatrique	4 ans	M	Fièvre	/	HHV 6	HHV 6
81	413	18/06/2018	U. pédiatrique	6 ans	M	Méningite	Céfotaxime	Entérovirus	Entérovirus
82	414	18/06/2018	U. pédiatrique	1 an	M	Fièvre	Céfotaxime	-	-
83	429	23/06/2018	U. pédiatrique	4 ans	M	Convulsion + fièvre	/	-	-
84	480	14/07/2018	U. pédiatrique	6 ans	M	Fièvre	/	-	-
86	486	16/07/2018	Neurologie	50 ans	M	ATCD de coronopathie, de diabète, qui présente une altération d'une fonction supérieures	/	-	-
87	541	02/08/2018	Urgence	25 ans	M	/	/	-	-
88	550	04/08/2018	U. pédiatrique	28 jours	M	Fièvre	/	Entérovirus	Entérovirus
89	599	16/08/2018	U. pédiatrique	45 jours	F	Méningite	/	Entérovirus	Entérovirus
90	605	20/08/2018	Urgence	23 ans	M	Suspicion d'une encéphalite herpétique	/	-	-
91	610	22/08/2018	U. pédiatrique	1 mois	F	Fièvre	/	Entérovirus	Entérovirus
92	634	31/08/2018	U. pédiatrique	10 ans	F	/	/	-	-
93	640	03/09/2018	Urgence	22 ans	M	/	/	-	-
94	656	09/09/2018	Urgence	24 ans	M	Suspicion d'une méningite	/	-	-
95	674	15/09/2018	U. pédiatrique	1 mois	F	Fièvre	/	Entérovirus	Entérovirus
96	675	16/09/2018	U. pédiatrique	19 jours	F	Fièvre sans foyer	/	Entérovirus	Entérovirus
97	684	24/09/2018	Urgence	37 ans	M	/	/	-	-
98	770	30/10/2018	Psychiatrie	37 ans	M	/	/	-	-
99	515	26/07/2018	Hématologie	30 ans	F	/	/	-	-
100	789	08/11/2018	U. pédiatrique	7 mois	F	Convulsion fébrile	/	Streptococcus pneumoniae	Streptococcus pneumoniae

101	850	28/11/2018	U, pédiatrique	1an	M	/	/	HHV 6
102	861	01/12/2018	U, pédiatrique	4ans	F	Méningite	/	HHV 6
103	911	18/12/2018	Pédiatrie	9ans	F	/	/	-
104	912	18/12/2018	RMD		M	/	/	-
105	922	24/12/2018	Neurologie	75ans	M	PCR +culture BK	/	-
106	925	24/12/2018	U, pédiatrique	4ans	M	Syndrome méningé	/	-
107	928	25/12/2018	U, pédiatrique	19ans	F	/	/	<i>Streptococcus pneumoniae</i>
108	948	31/12/2018	U, pédiatrique	5ans	M	Syndrome méningé	/	<i>Streptococcus pneumoniae</i> /Entérovirus
109	1	03/01/2019	Urgence	20ans	M	/	/	-
110	148	11/03/2019	U, pédiatrique	8ans	M	Céphalées, Vomissement, Fièvre (38c°-39c°), Photophobie	Claforane (1jr)	-
111	150	14/03/2019	RMD	18ans	M	Trouble de conscience dans un contexte fébrile	Claforane, Amoxiciline, Gentamicine, AcidoVir, Antituberculeux	-
112	209	31/03/2019	Externe	10ans	F	/	/	Entérovirus
113	225	04/04/2019	RMD	18ans	M	Fièvre à 40c°, altération de l'état de conscience	Anti-tuberculeux	-
114	258	18/04/2019	ORL	21ans	F	Méningo-encéphalite poste opératoire, odite moyenne colestéatoplus (7raprès)	Céfazoline	-
115	273	24/04/2019	Urgence	61ans	F	Agitation fébrile	/	<i>Streptococcus pneumoniae</i>
116	286	29/04/2019	Urgence	69ans	F	/	/	-
117	306	03/05/2019	RNO	2 mois	F	Convulsion avec trouble de conscience dans un contexte fébrile	AcidoVir	HSV 1
118	307	11/05/2019	U, pédiatrique	5 mois	F	Fièvre à 38 C° pendant 7 jours	Amoxicilline	-
119	309	17/05/2019	U, pédiatrique	2 mois	F	/	/	-

## Annexes 8. Résultats des examens biologiques des 119 LCR

N° de série	Age	Sexe	Aspect macroscopique	Cellulorachie (éléments/mm3)	Formule leucocytaire	Glycorachie/ Glycémie	protéino-achie (g/l)	Culture	culture après enrichissement	PCR
1	4 ans	F	Clair	>100	100% LYM 0% PN	60%	0,3	-	/	Entérovirus
2	36 ans	M	Clair	56	50%LYM 50% PN	68%	0,328	-	/	-
3	62 ans	M	Clair	6	NF	NF	NF	-	/	-
4	54 ans	M	purulent	>2000	0% LYM 100% PN	26%	> 6	-	/	<i>Neisseria meningitidis</i>
5	35 ans	M	Clair	320	90% LYM 10% PN	90%	0,8	-	/	HSV1
6	32 ans	M	Clair	6800	90% LYM 10% PN	16%	1,71	-	/	-
7	20 jours	M	trouble	840	10% LYM 90% PN	50%	1,09	-	/	<i>Streptococcus pneumoniae</i> / Entéroc
8	2 ans	M	trouble	1641	50% LYM 50% PN	10%	3	-	-	<i>Streptococcus pneumoniae</i>
9	9 mois	M	Clair	350	100% LYM 0% PN	16%	0,02	-	/	-
10	1 mois	F	Clair	260	100% LYM 0% PN	54%	0,53	-	/	-
11	4 mois	M	trouble	620	02% LYM 98% PN	90%	1,33	-	/	-
12	13 ans	F	Clair	157	90% LYM 10% PN	50%	0,68	-	/	VZV
13	10 ans	M	Clair	128	70% LYM 30% PN	75%	0,47	-	/	Entérovirus
14	6 jours	F	citrin	346	100% LYM 0% PN	NF	NF	-	/	-
15	30 ans	M	Clair	230	10% LYM 90% PN	51%	0,36	-	/	-
16	5 ans	M	Clair	104	90% LYM 10% PN	94%	0,38	-	/	-
17	63 ans	F	trouble	900	05% LYM 95% PN	48%	0,33	-	/	-
18	6 ans	F	Clair	165	90% LYM 10% PN	67%	0,22	-	/	-
19	7 ans	F	Clair	284	90% LYM 10% PN	65%	0,22	-	/	Entérovirus
20	79 ans	M	Tube siliconé	NF	NF	62%	6	-	/	-
21	18 ans	M	Clair	760	100% LYM 0% PN	NF	NF	-	/	-
22	16 ans	M	Clair	171	90% LYM 10% PN	42%	0,22	-	/	-
23	5 ans	M	Clair	398	70% LYM 30% PN	50%	0,75	-	/	-
24	3 mois	F	Clair	189	100% LYM 0% PN	50%	0,3	-	/	Entérovirus
25	5 ans	M	Clair	192	90% LYM 10% PN	70%	0,38	-	/	<i>Streptococcus agalactiae</i>

26	5 ans	M	Trouble	2000	10% LYM 90 % PN	70%	1,08	-	/	<i>emophilus influenzae</i>
27	5 ans	M	Clair	240	NF	NF	NF	-	/	-
28	11 jours	M	Clair	104	10% LYM 90 % PN	60%	0,3	-	/	Entérovirus
29	25 jours	M	Clair	360	10% LYM 90 % PN	55%	0,46	-	/	Entérovirus
30	3 ans	F	Clair	156	90% LYM 10 % PN	55%	0,79	-	/	HSV 1
31	3 ans	M	Hémorragique	NF	NF	60%	0,6	-	/	HHV 6
32	2 ans	M	Clair	1190	50% LYM 50 % PN	69%	0,55	-	/	HHV 6
33	2 ans	M	Hémorragique	NF	NF	51%	2,47	-	/	-
34	29 ans	F	Clair	110	01% LYM 99 % PN	40%	0,5	-	/	CMV
35	5 ans	M	Trouble	272	60% LYM 40 % PN	71%	0,38	-	/	-
36	4 ans	M	Clair	33	NF	NF	NF	-	/	-
37	4 mois	F	Clair	236	0% LYM 100 % PN	16%	1,51	-	/	-
38	3 mois	M	Hémorragique	NF	NF	NF	NF	-	/	-
39	36 jours	F	Clair	3280	0% LYM 100 % PN	23%	1,62	-	+	<i>Streptococcus agalactiae</i>
40	63 ans	F	Trouble	1200	10% LYM 90 % PN	52%	2,42	-	/	-
41	3 ans	M	Clair	460	20% LYM 80 % PN	20%	0,4	-	-	-
42	21 ans	M	Clair	120	90% LYM 10 % PN	40%	2,25	-	-	<i>Streptococcus agalactiae</i>
43	97 ans	M	Purulent	981	100% LYM 0 % PN	2%	5	-	-	<i>Streptococcus pneumoniae</i>
44	2 mois	F	Citrin	2100	1% LYM 99 % PN	3%	7,29	-	-	-
45	63 ans	M	Clair	123	90% LYM 10 % PN	1%	0,269	-	/	-
46	25 ans	M	Clair	333	5% LYM 95 % PN	5300%	0,9	-	-	-
47	4 ans	M	Clair	39	NF	7600%	0,2	-	/	-
48	10 ans	M	Purulent	15000	0% LYM 100 % PN	1700%	1,13	-	+	<i>Streptococcus pneumoniae</i>
49	74 ans	M	Citrin	550	10% LYM 90 % PN	57%	1,91	-	-	-
50	15 jours	M	Clair	95	43% LYM 57 % PN	56%	2,02	-	/	Entérovirus

51	70 ans	F	Clair	14	NF	NF	NF	NF	-	/	-
52	6 mois	F	Citrin	25	NF	NF	37%	1,06	-	/	-
53	33 ans	F	Clair	240	10% LYM 90% PN	1,71	77%	1,71	-	/	-
54	20 ans	M	Purulent	6672	0% LYM 100% PN	0,9	40%	0,9	-	-	<i>Neisseria meningitidis</i>
55	1 ans	F	Clair	846	20% LYM 80% PN	0,86	50%	0,86	-	-	HHV 6
56	1 jours	M	Clair	22	NF	0,9	55%	0,9	-	/	-
57	3 ans	M	Clair	16	NF	NF	NF	NF	-	/	-
58	1 jours	F	Clair	<02	NF	2	45%	2	+	/	<i>Escherichia coli K1</i>
59	2 mois	M	Clair	93	80% LYM 20% PN	0,72	53%	0,72	-	/	-
60	64 ans	M	Purulent	>2000	NF	3,879	1%	3,879	-	-	-
61	9 mois	F	Clair	511	65% LYM 35% PN	1	60%	1	-	/	HHV 6/ Entérovirus
62	50 ans	M	Tube siliconé	NF	NF	NF	NF	NF	-	/	-
63	20 ans	M	Clair	13	NF	0,3	83%	0,3	+	-	<i>Streptococcus pneumoniae</i>
64	30 jours	F	Clair	4	NF	0,7	33%	0,7	+	-	<i>Streptococcus agalactiae</i>
65	31 ans	M	Hémorragique	NF	NF	1,19	66%	1,19	-	/	-
66	9 ans	M	Clair	38	20% LYM 80% PN	0,24	83%	0,24	-	/	Entérovirus
67	8 ans	M	Clair	628	80% LYM 20% PN	0,54	90%	0,54	-	/	Entérovirus
68	2 mois	M	Clair	8	NF	0,75	83%	0,75	-	/	-
69	18 mois	M	Clair	<02	NF	0,45	58%	0,45	-	/	-
70	40 jours	F	Clair	15	NF	0,7	50%	0,7	-	/	Entérovirus
71	19 ans	M	Purulent	>2000	NF	6,27	5%	6,27	-	-	<i>Neisseria meningitidis</i>
72	4 ans	M	Citrin	400	50% LYM 50% PN	1,7	55%	1,7	-	/	-
73	7 ans	F	Clair	65	NF	0,22	52%	0,22	-	/	Entérovirus
74	54 ans	F	Purulent	>2000	0% LYM 100% PN	17,83	6%	17,83	+	/	<i>Streptococcus pneumoniae</i>
75	10 jours	M	Clair	1800	5% LYM 95% PN	1,2	50%	1,2	-	/	Entérovirus

76	3 ans	M	Clair	620	90% LYM 10% PN	NF	NF	-	/	-
77	5 ans	M	Clair	274	90% LYM 10% PN	84%	0,26	-	/	Entérovirus
78	7 ans	M	Clair	1300	99% LYM 1% PN	57%	0,3	-	/	-
79	28 ans	M	Clair	460	90% LYM 10% PN	70%	0,5	-	/	-
80	4 ans	M	Clair	1050	90% LYM 10% PN	86%	0,5	-	/	HHV 6
81	6 ans	M	Clair	70	50% LYM 50% PN	40%	0,6	-	/	Entérovirus
82	1 an	M	Clair	196	85% LYM 15% PN	62%	0,29	-	/	-
83	4 ans	M	Clair	4200	40% LYM 60% PN	71%	0,23	-	/	-
84	6 ans	M	Clair	160	30% LYM 70% PN	60%	0,3	-	/	-
86	50 ans	M	Citrin	127	NF	NF	NF	-	/	-
87	25 ans	M	Clair	1160	80% LYM 20% PN	55%	1,32	-	/	-
88	28 jours	M	Clair	4582	50% LYM 50% PN	35%	0,99	-	/	Entérovirus
89	45 jours	F	Clair	750	100% LYM	NF	NF	-	/	Entérovirus
90	23 ans	M	Clair	59	NF	56%	2,67	-	/	-
91	1 mois	F	Clair	312	100% LYM	NF	NF	-	/	Entérovirus
92	10 ans	F	Clair	95	NF	NF	NF	-	/	-
93	22 ans	M	Clair	760	80% LYM 20% PN	Hypo	Hyper	-	/	-
94	24 ans	M	Clair	160	10% LYM 90% PN	NF	NF	-	/	-
95	1 mois	F	Clair	1032	10% LYM 90% PN	42%	0,93	-	/	Entérovirus
96	19 jours	F	Clair	400	10% LYM 90% PN	45%	1	-	/	Entérovirus
97	37 ans	M	Clair	18	NF	NF	NF	-	/	-
98	37 ans	M	Clair	44	NF	NF	NF	-	/	-
99	30 ans	F	Clair	140	NF	NF	NF	-	/	-
100	7 mois	F	Purulent	PN en nappe	NF	NF	NF	-	-	<i>Streptococcus pneumoniae</i>

101	1 an	M	Clair	289	100% LYM	NF	NF	-	/	HHV 6
102	4 ans	F	Clair	620	95% LYM 5% PN	39%	0,52	-	/	HHV 6
103	9 ans	F	Citrin	12	NF	36%	1,36	-	/	-
104		M	Citrin	8	NF	4%	Hyper	-	/	-
105	75 ans	M	Clair	48	NF	50%	0,9	-	/	-
106	4 ans	M	Clair	92	70% LYM 30% PN	58%	0,52	-	/	-
107	19 ans	F	Trouble	245	100% PN	5%	4,19	-	+	<i>Streptococcus pneumoniae</i>
108	5 ans	M	Clair	200	10% LYM 90% PN	60%	0,27	-	-	<i>Streptococcus pneumoniae</i> / Entéro
109	20 ans	M	Purulent	PN en nappe	NF	NF	1,6	-	/	-
110	8 ans	M	Clair	164	30% LYM 70% PN	54%	0,34	-	/	-
111	18 ans	M	Clair	33	NF	239%	0,62	-	/	-
112	10 ans	F	Clair	300	100% LYM	NF	0,32	-	/	Entérovirus
113	18 ans	F	Clair	56	43% LYM 57% PN	<50%	4,32	-	/	-
114	21 ans	F	Trouble	31500	100% PN	1%	2,01	-	/	-
115	61 ans	F	Purulent	800	98% PN 2% LYM	/	/	-	/	<i>Streptococcus pneumoniae</i>
116	69 ans	F	Clair	80	80% LYM 20% PN	/	/	-	/	-
117	2 mois	F	Hémorragique	NF	NF	NF	NF	-	/	HSV 1
118	5 mois	F	Clair	24	NF	51%	0,26	-	/	-
119	2 mois	F	Clair	22	NF	81%	0,23	-	/	-

## Annexes 9. Résultats des examens biologiques des 51 LCR positifs par PCR

N° de série	Age	Sexe	Aspect macroscopique	Cellulorachie (éléments/mm <sup>3</sup> )	Formule leucocytaire	Glycorachie/Glycémie	Protéinorachie (g/l)	culture directe	clture après enrichissement	PCR
1	4 ans	F	Clair	100	100%LYM 0%PN	80%	0,3	-	/	Entérovirus
4	54 ans	M	Purulent	>2000	0%LYM 100%PN	26%	6+	-	-	<i>Neisseria meningitidis</i>
5	35 ans	M	Clair	320	90%LYM 10%PN	90%	0,8+	-	/	HSV 1
7	20 jours	M	Trouble	840	10%LYM 90%PN	50%	1,09	-	-	<i>Streptococcus pneumoniae</i> / Entérovirus
8	2 ans	M	Trouble	1641	50%LYM 50%PN	10%	3+	-	-	<i>Streptococcus pneumoniae</i>
12	13 ans	F	Clair	157	90%LYM 10%PN	50%	0,68+	-	/	VZV
13	10 ans	M	Clair	128	70%LYM 30%PN	75%	0,47+	-	/	Entérovirus
19	7 ans	F	Clair	284	90%LYM 10%PN	65%	0,22	-	/	Entérovirus
24	3 mois	F	Clair	189	100%LYM 0%PN	50%	0,3	-	/	Entérovirus
25	5 ans	M	Clair	192	90%LYM 10%PN	70%	0,38	-	/	<i>Streptococcus agalactiae</i>
26	5 ans	M	Trouble	2000	10%LYM 90%PN	70%	1,08+	-	/	<i>Hemophilus influenzae</i>
28	11 jours	M	Clair	104	10%LYM 90%PN	60%	0,3	-	/	Entérovirus
29	25 jours	M	Clair	360	10%LYM 90%PN	55%	0,46+	-	/	Entérovirus
30	3 ans	F	Clair	156	90%LYM 10%PN	55%	0,79+	-	/	HSV 1
31	3 ans	M	Hémorragique	/	/	60%	0,60+	-	/	HHV 6
32	2 ans	M	Clair	190	50%LYM 50%PN	69%	0,55+	-	/	HHV 6
34	29 ans	F	Clair	110	1%LYM 99%PN	40%	0,5+	-	/	CMV
39	36 jours	F	Clair	3280	0%LYM 100%PN	2,80%	1,62	-	+	<i>Streptococcus agalactiae</i>
42	21 ans	M	Clair	120	90%LYM 10%PN	40%	2,20+	-	-	<i>Streptococcus agalactiae</i>
43	79 ans	M	Purulent	981	100%LYM 0%PN	2%	5+	-	-	<i>Streptococcus pneumoniae</i>
48	10 ans	M	Purulent	15000	0%LYM 100%PN	17%	1,13+	-	+	<i>Streptococcus pneumoniae</i>
50	15 jours	M	Clair	95	43%LYM 57%PN	56%	2,02+	-	/	Entérovirus
54	20 ans	M	Purulent	6672	0%LYM 100%PN	40%	0,9+	-	-	<i>Neisseria meningitidis</i>
55	1 an	F	Clair	846	20%LYM 80%PN	50%	0,86+	-	-	HHV 6
58	1 jour	F	Clair	40	20%LYM 80%PN	45%	2+	+	/	<i>Escherichia coli</i> K1

61	9 mois	F	Clair	511	65%LYM 35%PN	60%	1+	-	/	HHV 6/ Entérovirus
63	20 ans	M	Clair	18	/	60%	0,3	-	-	<i>Streptococcus pneumoniae</i>
64	1 mois	F	Clair	4	/	33%	0,7	+	-	<i>Streptococcus agalactiae</i>
66	9 ans	M	Clair	38	20%LYM 80%PN	83%	0,24	-	/	Entérovirus
67	8 ans	M	Clair	628	0%LYM 100%PN	5%	6,27+	-	/	Entérovirus
70	40 ans	F	Clair	15	/	52%	0,55	-	/	Entérovirus
71	19 ans	M	Purulent	>2000	0%LYM 100%PN	5%	6,27+	-	-	<i>Neisseria meningitidis</i>
73	7 ans	F	Clair	65	/	52%	0,22	-	/	Entérovirus
74	58 ans	F	Purulent	>2000	0%LYM 100%PN	6%	17,83+	+	-	<i>Streptococcus pneumoniae</i>
75	10 jours	M	Clair	1800	5%LYM 95%PN	50%	1,2	-	/	Entérovirus
77	5 ans	M	Clair	274	90%LYM 10%PN	84%	0,26	-	/	Entérovirus
80	4 ans	M	Clair	1050	90%LYM 10%PN	80%	0,5	-	/	HHV 6
81	6 ans	M	Clair	70	50%LYM 50%PN	40%	0,6	-	/	Entérovirus
87	28 jours	M	Clair	4552	50%LYM 50%PN	35%	0,99	-	/	Entérovirus
88	45 jours	F	Clair	750	Prédominance des L	/	/	-	/	Entérovirus
90	1 mois	F	Clair	312	90%LYM 10%PN	/	/	-	/	Entérovirus
94	1 mois	F	Clair	1032	10%LYM 90%PN	42%	0,93	-	/	Entérovirus
95	19 jours	F	Clair	400	10%LYM 90%PN	45%	1	-	/	Entérovirus
100	7 mois	F	Purulent	1600	PN en nappe	/	/	+	-	<i>Streptococcus pneumoniae</i>
101	1 an	M	Clair	1030	99%PN	/	/	-	/	HHV-6
102	4 ans	F	Clair	620	100%LYM	3,09	0,52	-	/	HHV-6
107	19 ans	F	Trouble	245	100%PN	0,05	4,19	-	+	<i>Streptococcus pneumoniae</i>
108	5 ans	F	Clair	240	10%LYM 90%PN	60%	0,27	-	-	<i>Streptococcus pneumoniae</i> / Entérovirus
112	10 ans	F	Clair	300	100%LYM	/	0,32	/	/	Entérovirus
115	61 ans	F	Purulent	800	98%PN	/	/	-	-	<i>Streptococcus pneumoniae</i>
117	2 mois	F	Clair	270	90%LYM 10%PN	NF	NF	-	/	HSV-1

## Annexe 10. Rapport de résultat du test FilmArray ME Panel

 <b>FilmArray</b> <b>Meningitis / Encephalitis (ME) Panel - IVD</b>			
<small>www.biofire.com</small>			
<b>Run Summary</b>			
<b>Sample ID:</b> LCR 318		<b>Run Date:</b> 20 May 2018	
<b>Detected:</b> <i>Neisseria meningitidis</i>		10:13 AM	
		<b>Controls:</b> Passed	
<b>Result Summary</b>			
<b>Bacteria</b>			
Not Detected	<i>Escherichia coli</i> K1		
Not Detected	<i>Haemophilus influenzae</i>		
Not Detected	<i>Listeria monocytogenes</i>		
✓ Detected	<i>Neisseria meningitidis</i>		
Not Detected	<i>Streptococcus agalactiae</i>		
Not Detected	<i>Streptococcus pneumoniae</i>		
<b>Viruses</b>			
Not Detected	Cytomegalovirus		
Not Detected	Enterovirus		
Not Detected	Herpes simplex virus 1		
Not Detected	Herpes simplex virus 2		
Not Detected	Human herpesvirus 6		
Not Detected	Human parechovirus		
Not Detected	Varicella zoster virus		
<b>Yeast</b>			
Not Detected	<i>Cryptococcus neoformans/gattii</i>		
<b>Run Details</b>			
<b>Pouch:</b>	ME Panel v1.4	<b>Protocol:</b>	CSF v3.0
<b>Run Status:</b>	Completed	<b>Operator:</b>	Nadjet Nadjet (Aggoune)
<b>Serial No.:</b>	07939946	<b>Instrument:</b>	2FA01885
<b>Lot No.:</b>	424916		

**Crises convulsives** : contractions musculaires involontaires et subites, occasionnant des mouvements plus ou moins localisés ou touchant parfois l'ensemble du corps, d'origine cérébrale ou médullaire (moelle épinière).

**Glycorachie** : taux de glucose présent dans le liquide céphalorachidien.

**Hydrocéphalie** : provient d'une augmentation de la pression du LCR due à la dilatation des cavités ventriculaires du cerveau, entraînant un accroissement du volume de la tête.

**Méningite aseptique** : inflammation des méninges avec culture de routine négative, suite à la prise de traitement préalable.

**Morbidité** : nombre de personnes souffrant d'une maladie donnée pendant un temps donné.

**Myélite** : inflammation de la moelle épinière par altération de la structure protectrice qui entoure les fibres nerveuse. La myéline.

**Névrite** : lésion inflammatoire des nerfs périphériques. Les nerfs optiques.

**Plexus choroïde** : petites organes localisées à l'intérieure du système nerveux centrale, plus particulièrement à proximité des ventricules. Ils sécrètent le LCR dans lequel baigne une partie du cerveau.

**Protéïnorachie** : concentration des protéines dans le liquide céphalorachidien.

**Ventriculite** : inflammation des membranes des ventricules (cavités dans lesquels le LCR circule) du cerveau. C'est ne forme de méningite.

**Virus neurotrope** : virus ayant un tropisme particulier non exclusif au système nerveux susceptible d'infecter les cellules nerveuses qui sont la cible préférentielle.

**Rachialgie** : douleurs de la colonne vertébrale.

**Rachis** : nom scientifique de la colonne vertébrale, il s'agit d'une structure osseuses constitué de vertèbres empilées les unes sur les autres et qui s'étend de la base du crâne au bassin.

**Sinus sagittal supérieur** : c'est un des sinus veineux crâniens formé par la duplication de la dure-mère.

---

**Syndrome pyramidal** : correspond à une interruption des fibres pyramidales, ce qui donne lieu à des troubles réflexes et moteurs. Il regroupe des symptômes liés à l'atteinte de la voie cortico-spinale qui commande la motricité volontaire.

**Troubles mnésiques** : appelés également troubles de la mémoire ou perte de mémoire correspondent à l'incapacité ou la difficulté à mémoriser, la personne ne se rappelle plus certains faits récents ou des souvenirs anciens, ou les deux à la fois.

**Troubles du langage** : regroupent tous les troubles pouvant altérer la capacité d'une personne à parler mais aussi à communiquer. Ils peuvent être d'origine psychique (neurologique, physiologique), mais aussi sémantique (difficulté à se souvenir du bon mot, de la signification des mots).

**Trouble hémodynamique** : dysfonctionnement cardio-vasculaire plus ou moins marqué et durable, pouvant se résumer en une baisse de la tension artérielle ou être plus grave, avec des troubles du rythme cardiaque voire un état de choc.

**Virions** : particules virales.

---