



HAL
open science

État des lieux des prescriptions des analyses virologiques sur les prélèvements de liquides céphalorachidiens et optimisation de leur prise en charge au laboratoire de virologie du CHU de Caen

Anne-Laure Garand

► To cite this version:

Anne-Laure Garand. État des lieux des prescriptions des analyses virologiques sur les prélèvements de liquides céphalorachidiens et optimisation de leur prise en charge au laboratoire de virologie du CHU de Caen. Sciences pharmaceutiques. 2017. dumas-01905842

HAL Id: dumas-01905842

<https://dumas.ccsd.cnrs.fr/dumas-01905842>

Submitted on 26 Oct 2018

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

UNIVERSITE DE CAEN NORMANDIE

ANNEE 2017

U.F.R DES SCIENCES PHARMACEUTIQUES

THESE POUR LE DIPLOME D'ETAT DE DOCTEUR EN PHARMACIE

PRESENTEE PAR

Anne-Laure Garand

SUJET : Etat des lieux des prescriptions des analyses virologiques sur les prélèvements de liquides céphalorachidiens et optimisation de leur prise en charge au laboratoire de Virologie du CHU de Caen

SOUTENUE PUBLIQUEMENT LE : 17 Octobre 2017

JURY :

Monsieur le Professeur Jean-Christophe GIARD
Madame le Professeur Astrid VABRET
Monsieur le Professeur Renaud VERDON
Madame le Docteur Marguerite FINES-GUYON

PRESIDENT DU JURY
DIRECTEUR DE THESE

Table des matières

Introduction	1
1. Liquide céphalorachidien	1
A. Synthèse	1
B. Aspect et composition	2
C. Rôles.....	3
2. Ponction lombaire	4
A. Réalisation du geste	4
B. Indications.....	6
C. Contre-Indications.....	7
3. Infections du système nerveux central (SNC).....	8
A. Méningites virales	8
a. Aspects cliniques	8
b. Analyses biochimiques et cytologiques du LCR.....	10
c. Dosage de la procalcitonine	11
d. Epidémiologie.....	11
e. Méningites à Entérovirus	12
f. Méningites ourliennes.....	14
g. Méningites à VZV.....	15
h. Méningites à Adénovirus.....	16
B. Encéphalites virales.....	16
a. Clinique.....	16
b. Conduite à tenir.....	17
c. Epidémiologie.....	18
d. Encéphalites herpétiques.....	20
e. Encéphalites à VZV	22
f. Encéphalites à Cytomegalovirus.....	23
g. Encéphalite à virus Epstein-Barr.....	23
h. Encéphalite à Human Herpesvirus 6	24
i. Encéphalites à VIH.....	25
j. Encéphalites à virus Influenza	27
k. Encéphalites rougeoleuses.....	28

l.	Encéphalites rubéoleuses.....	30
m.	Encéphalites à Paréchovirus.....	31
n.	Encéphalites rabiques	31
o.	Encéphalites à virus JC.....	32
p.	Encéphalites à Arbovirus	33
q.	Encéphalites post-infectieuses	40
C.	Rhombencéphalites virales	42
D.	Syndrome de Guillain-Barré	46
E.	Myélites infectieuses.....	48
F.	Paraparésie spastique tropicale	52
4.	Approche syndromique des infections du SNC	53
A.	Contexte actuel	53
B.	Outils disponibles.....	56
C.	Place actuelle des techniques de PCR Multiplex	57

Partie 1 : Etat des lieux des prescriptions des analyses virologiques sur les prélèvements de liquides céphalorachidiens au CHU de Caen entre 2015 et 2016.....59

1.	Parcours d'un échantillon de LCR au CHU de Caen : du prélèvement à la réalisation des analyses aux laboratoires de virologie et bactériologie	59
A.	Prélèvement	59
B.	Etiquetage et bons de demande	59
C.	Transport vers le laboratoire	60
D.	Réception, enregistrement et non-conformités	61
E.	Accueil Biologique Commun	62
F.	Traitement des échantillons et stockage.....	63
G.	Extraction de l'ARN et ADN :	64
H.	Analyses de biologie moléculaire au laboratoire de Virologie.....	66
a.	Principe de la PCR en temps réel avec sonde Taqman.....	66
b.	HSV1, HSV2 et VZV	68
c.	EV.....	69
d.	HHV6.....	69
e.	Virus JC	70
f.	Rougeole.....	71
g.	Oreillons	71

h.	Rubéole.....	72
i.	Parvovirus B19.....	72
j.	CMV et EBV.....	73
I.	Cas particulier : Synthèse Intrathécale d'AC anti-rougeole.....	73
J.	Laboratoire de Bactériologie.....	74
a.	Analyses réalisées en urgences	74
b.	Analyses spécifiques.....	77
2.	Résultats des analyses de Virologie effectuées au CHU de Caen du 1 ^{er} janvier 2015 au 31 décembre 2016.....	78
3.	Analyse des services prescripteurs du CHU de Caen du 1 ^{er} janvier 2015 au 31 décembre 2016.....	86
A.	Résultats globaux	86
B.	Non-conformités	88
C.	Résultats par service	91
a.	Neurologie	91
b.	Urgences Adultes.....	93
c.	Hématologie Clinique	94
d.	Pédiatrie	94
4.	Synthèse	96

Partie 2 : Optimisation de la prise en charge des prélèvements de liquides céphalorachidiens au laboratoire de Virologie du CHU de Caen.....97

1.	Comparaison de 2 techniques de RT-PCR en temps réel pour la détection de l'ARN Entérovirus dans les échantillons de LCR	97
A.	Etude prospective	97
a.	Objectif	97
b.	Matériel et Méthodes	97
c.	Résultats	98
d.	Discussion et perspectives	102
B.	Etude rétrospective.....	104
a.	Objectif	104
b.	Matériel et Méthodes	104
c.	Résultats	105
d.	Discussion et perspectives	109

2. Evaluation d'une technique de PCR Multiplex pour la détection de 14 micro-organismes dans les échantillons de LCR.....	110
A. Objectifs	110
B. Présentation de la PCR Multiplex Panel ME, FilmArray® Biomérieux.....	111
a. Généralités	111
b. Agents pathogènes détectés	111
C. Principe et fonctionnement	114
D. Matériel et Méthodes	116
E. Résultats.....	117
F. Discussion et perspectives	122

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1. Items du NIHSS utilisés pour la recherche de signes de localisations	8
Tableau 2. Signes de gravité à rechercher lors d'une suspicion de méningite et nécessitant l'hospitalisation en réanimation.....	10
Tableau 3. Orientation clinique en fonction des résultats de cytologie et de biochimie du LCR	11
Tableau 4. Classification des Entérovirus	12
Tableau 5. Recommandations de la Société de Pathologie Infectieuse de Langue Française pour les recherches étiologiques chez des patients présentant une Encéphalite Aigue 2007 [21]	20
Tableau 6. Incidence des principales pathologies neurologiques pour 1000 patients-année.	26
Tableau 7. Cas décrits d'encéphalites à virus Toscana dans le bassin méditerranéen ou en retour de voyage	39
Tableau 8. Causes d'ADEM rapportées dans la littérature, d'après [77]	41
Tableau 9. Etiologies des rhombencéphalites / encéphalites du tronc cérébral	45
Tableau 10. Liste des diagnostics pour les 64 cas d'infections neurologiques à chikungunya de catégories A (probable cas) et B (possible cas) [88].....	48
Tableau 11. Etiologies infectieuses des myélites [91]	50
Tableau 12. Outils diagnostique de PCR Multiplex disponibles pour la recherche des agents infectieux responsables d'infections du SNC	56
Tableau 13. Recherches virologiques effectuées au laboratoire de Virologie du CHU de Caen entre 2015 et 2016 par biologie moléculaire.....	79
Tableau 14. Codétection de virus dans le LCR sur les années 2015 et 2016.....	80
Tableau 15. Génotypes des Entérovirus positifs entre 2015 et 2016 dans les LCR (n=74)	83
Tableau 16. Symptomatologie et diagnostics retenus pour les 4 patients sans immunodépression notable et présentant un EBV dans le LCR.....	84
Tableau 17. LCR envoyés uniquement au laboratoire de Bactériologie pour cytologie : Indications principales des PL effectuées dans le service de Neurologie.	92
Tableau 18. Ct obtenus avec la technique de routine et le kit Diagenode® pour les 12 patients positifs	99
Tableau 19. Ct du CI obtenus avec la technique de routine et le kit Diagenode® pour les 12 patients positifs	100
Tableau 20. Génotypes des 13 échantillons positifs à entérovirus	101
Tableau 21. Résultats des QCMD Entérovirus 2016 avec les techniques de routine et Diagenode®	102
Tableau 22. Comparaison des Ct obtenus rétrospectivement avec la technique routine 2 et le kit Diagenode® sur une prise d'essai de 400µL et sur une dilution au demi (n=9).....	106
Tableau 23. Comparaison des Ct de la cible obtenus rétrospectivement avec la technique de routine 2 et le kit Diagenode® sur une prise d'essai de 400µL (n=19)	107
Tableau 24. Comparaison des Ct de la cible obtenus rétrospectivement avec la technique routine et le le kit Diagenode® sur une prise d'essai de 200µL (n=6).....	108
Tableau 25. Récapitulatif des Ct de la cible obtenus en technique de routine et avec le kit Diagenode pour les 3 échantillons discordants	108
Tableau 26. Renseignements cliniques, résultats de la cytologie de la PL, traitement, imagerie, durée d'hospitalisation et délai de rendu des résultats chez les patients (N=20) de l'étude FilmArray®	120

LISTE DES FIGURES

Figure 1. Localisation des méninges et du LCR.....	1
Figure 2. Circulation du LCR.....	2
Figure 3. Réabsorption du LCR au niveau des granulations de Paccioni.....	2
Figure 4. Matériel nécessaire pour la réalisation d'une ponction lombaire	4
Figure 5. Schéma du point de ponction lombaire	4
Figure 6. Positions du patient adulte (décubitus latéral et assis) lors d'une ponction lombaire.....	5
Figure 7. Position de décubitus latéral pour la réalisation d'une ponction lombaire chez un nouveau-né.....	5
Figure 8. Position assise pour la réalisation d'une ponction lombaire chez un enfant.....	5
Figure 9. a.Signe de Brudzinski et b.Signe de Kernig.....	9
Figure 10. Infections à entérovirus: distribution des cas positifs par semaine, réseau de surveillance des entérovirus RSE, France, 1 ^{er} janvier 2010 – 10 juin 2017	13
Figure 11. Carte des études épidémiologiques sur l'étiologie des encéphalites	18
Figure 12. Incidence des 10 manifestations définissant le SIDA pour 1000 patients-année de 1994 à 2008	26
Figure 13. Classification des Arbovirus.....	34
Figure 14. Principaux Arbovirus responsables d'encéphalites	34
Figure 15. Approche diagnostique d'une encéphalomyélite aigüe disséminée (ADEM), d'après [77]	42
Figure 16. Coupe longitudinale du cerveau	43
Figure 17. Répartition mondiale des infections à HTLV-1	53
Figure 18. Etiologie des méningites bactériennes chez les enfants et les adultes en France entre 2005 et 2010 (EPIBAC/InVS)	54
Figure 19. Etiologies des encéphalites infectieuses en France	54
Figure 20. Plan du CHU dans l'agglomération caennaise	60
Figure 21. Parcours de l'échantillon de LCR au laboratoire de Virologie	63
Figure 22. Principe de fonctionnement du QIASymphony	65
Figure 23. Principe de la PCR en temps réel avec utilisation d'une sonde Taqman.....	66
Figure 24. Courbes de fluorescence et Ct obtenus lors d'une PCR en temps réel.....	67
Figure 25. Courbe des contrôles internes de la technique Rougeole : exemple d'inhibiteurs	68
Figure 26. Cellule de comptage KOVA slide®	75
Figure 27. Examen direct caractéristique « lancéolé en flamme de bougie » de <i>Streptococcus pneumoniae</i> à la coloration de GRAM	76
Figure 28. Examen direct à l'encre de Chine de <i>Cryptococcus neoformans</i> : capsule visible en négatif.....	77
Figure 29. Virus détectés dans les LCR au laboratoire de Virologie de Caen en 2015 et 2016	80
Figure 30. Répartition des LCR reçus aux laboratoires de Virologie et de Bactériologie au CHU de Caen entre 2015 et 2016 (1).....	87
Figure 31. Répartition des LCR reçus aux laboratoires de Virologie et de Bactériologie au CHU de Caen entre 2015 et 2016 (2).....	87
Figure 32. LCR envoyés aux laboratoires de Virologie et de Bactériologie : répartition des services prescripteurs au sein du CHU de Caen sur 2015 et 2016.....	88
Figure 33. Types de NC sur les LCR (2015 et 2016) au laboratoire de Virologie	89
Figure 34. Décisions suite aux NC (2015-2016) au laboratoire de Virologie.....	89
Figure 35. Recherches virales annulées suite aux NC (2015-2016) au laboratoire de Virologie	90

Figure 36. Répartition des NC par services prescripteurs (2015-2016)	91
Figure 37. LCR envoyés uniquement au laboratoire de Bactériologie : objectifs de la PL (Service de Neurologie)	92
Figure 38. LCR envoyés uniquement au laboratoire de Bactériologie : Objectifs de la PL (Urgences Adultes)	93
Figure 39. LCR envoyés uniquement au laboratoire de Bactériologie : Objectifs de la PL (Pédiatrie)	95
Figure 40. Manipulations manuelles pour le lancement d'une analyse sur automate FilmArray ME Panel.....	114
Figure 41. Présentation de la cassette FilmArray ME Panel.....	115
Figure 42. Résultats des tests effectués sur le FilmArray Panel ME.....	118

REMERCIEMENTS

Au Professeur Astrid Vabret, pour avoir accepté de diriger ce travail de thèse. Merci pour votre disponibilité, votre écoute et votre soutien durant ces derniers mois. Merci de m'avoir poussé à toujours essayer de mieux faire, travailler à vos côtés m'a beaucoup appris professionnellement et humainement.

Au Professeur Jean-Christophe Giard, pour m'avoir fait l'honneur d'accepter la présidence de ce jury. Je vous remercie de votre disponibilité.

Au Professeur Renaud Verdon, membre de mon jury. Merci d'avoir accepté de juger mon travail de thèse.

Au Docteur Marguerite Fines-Guyon, membre de mon jury. Merci d'avoir accepté de juger mon travail de thèse. Merci pour votre gentillesse votre disponibilité.

Aux biologistes qui m'enseignent la virologie au quotidien : Stéphanie, Julia, Cécile, Clément.

Merci pour votre disponibilité et votre bonne humeur. Travailler à vos côtés est un réel plaisir.

A toute l'équipe de virologie : Martine, Sandrine, Isabelle, Véro, Amélie, Justine, Julie, Gaëlle & Gaël, Sylvie, Thérèse, Christine & Christine, Momo, Nelly, Laurence. Merci pour votre disponibilité et pour tout ce que vous m'avez appris. Merci de m'avoir supporté depuis 4 ans !

Mention spéciale à Sandrine, merci pour ta patience et tes précieux conseils.

Au Docteur Christine Archimbaud, pour m'avoir fait tomber dans la virologie quand j'étais petite étudiante à la fac.

A ma mère, toujours présente à mes côtés. A nos longues discussions téléphoniques et nos moments de complicité. Pour avoir cru en moi depuis toujours et pour n'avoir jamais douté de moi. J'ai tenu grâce et pour toi.

A mon père, malheureusement pas là pour partager ce moment avec moi. Tu m'accompagnes à tout instant, et je te remercie de m'avoir soutenu tout au long de ces années, et de m'avoir poussé à être la meilleure. A nos moments partagés ensemble, et à cette magnifique journée de traversée de la Baie du Mont-Saint-Michel, je garderai ce moment gravé dans ma mémoire.

A mon frère, Jean-Charles, et sa façon bien personnelle de me soutenir ! A Stéphanie, nos nombreux fous rires, notre complicité. A Maé, le rayon de soleil de ces derniers mois, puisse la cigogne t'apporter un petit frère...

A mon frère Pierre, l'explorateur, et nos moments complices à la terrasse de la maison. Merci de croire toujours en moi et de me soutenir. A Esther, future M^{me} Wang-Garand, « thank you for everything, you are a great woman! ».

A ma grand-mère, Marie, pour garder toujours la porte ouverte de la maison! A mes longues après-midi de sieste sur le canapé après la « tchoutchouka ».

A mon grand-père, Philippe, toujours présent à mes côtés.

A Marie-Line *alias* Odile Deray, et nos après-midi shopping, notre complicité, merci pour tout.

A toute ma famille, Serge, Véro, Pat, Valérie, Louis (et tes contrepéties !), Pauline, Clémence, Hugo, Antoine.

A Nanou et Mimi, mes grands-parents.

A Victor, ma moitié, qui m'a soutenu ces derniers mois, merci pour ton écoute, ta gentillesse, ta patience et tes attentions.

A ma famille d'adoption, Isabelle et Hervé. Le petit veilleur a été utile ! A Mélissa et numéro deux, et nos après-midi mölkky. A Emeline et Arthur, qui m'ont fait découvrir l'intérêt des jeux de rôles et le langage Java.

A la team clermontoise ! Fatou mon double parisien-réunionnais, Caro mon pilier, Marie ma petite Berruyenne au cœur tendre, Marion et tes gaffes, et Chouchou, sans qui je n'aurai jamais pu devenir biologiste... Vous êtes présentes dans les bons comme dans les mauvais moments. Merci pour ces années étudiantes, mais les plus belles restent à venir !

A Titi, mon ami de toujours et Laure, seconde mère. Merci d'être toujours là pour moi.

A Camille, mon amie du bout du monde, rdv bientôt en Nouvelle-Calédonie !

A Gui et Claire, les stéphanois parisiens, et nos soirées Scrubs pâtes pesto parmesan.

A Hortense, à ta sensibilité et ta bonne humeur.

A Mathilde, Erwann et Louanne, ma famille normande. Vous avez été d'un énorme soutien. Merci de m'avoir accueilli et dorloté, vous êtes géniaux.

A Sophie, pour m'avoir fait découvrir le Dolly's, et pour m'avoir écouté, soutenu, et surtout à nos longues discussions sur tes marches d'escalier ! Merci d'être toi.

A Claire, pour m'avoir aidé à chercher les échantillons pendant des heures à -80°C ! Mais surtout pour ta bonne humeur et ton écoute, merci !

A Simon, je n'ai qu'un mot à dire : « Lovelife » !

A mes copines d'immuno, Emilie, Patou, Nathalie, Sabrina, Ninja, Lolo, Cloclo, qui m'ont supporté de nombreux mois. Rendez-vous en Guadeloupe, ou à défaut en Auvergne ! Merci d'avoir toujours été là, dans les bons comme dans les mauvais moments.

A la team rugby hérouvillaise, et vos traquenards... A nos soirées karaoké au French, merci pour votre éternelle bonne humeur.

A mes amis d'adoption, Camille, Duncan, Albane, Joscelyn, Vincent, Alexia, Anne-So, Polo, Thomas, Morue, Louison, Palin, Cyp, Henri, Alexis, Choubidou, Ludo, et tous les autres, sans qui la Normandie m'aurait paru bien triste. Merci pour les soirées, les barbecues, les apéros et les parties de rigolades !

Introduction

1. Liquide céphalorachidien

A. Synthèse

Le système nerveux central (SNC) est enveloppé par les méninges, qui sont, de l'extérieur vers l'intérieur : la dure mère, l'espace sous dural (entre la dure mère et l'arachnoïde), et la pie mère. Le liquide céphalorachidien (LCR) se localise entre la pie mère et l'arachnoïde, dans l'espace sous arachnoïdien [Figure 1].

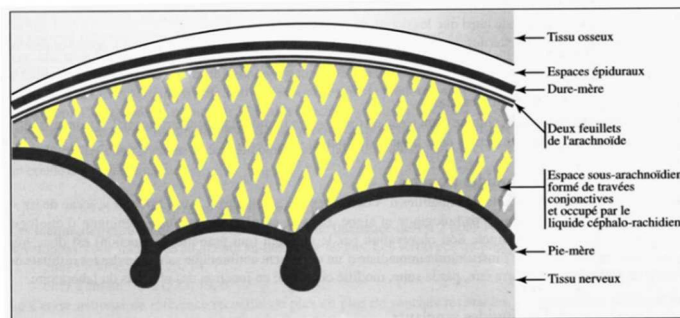


Figure 1. Localisation des méninges et du LCR

(<http://microbiologimedecale.fr/physiopathologie-et-diagnostic-des-infections>)

Le LCR est produit en majorité par les plexus choroïdes, mais aussi au niveau des capillaires de l'espace sous arachnoïdien, spinal et péri-encéphalique, pour un volume d'environ 500mL par jour chez un adulte. Chez les enfants entre 4 et 13 ans, le volume de LCR produit par jour varie entre 65 et 150mL [1]. Il rejoint ensuite l'espace sous-arachnoïdien *via* les espaces péri-vasculaires de Virchow-Robin.

Le LCR subit une circulation passive en passant d'abord dans les citernes basales et sylviennes, puis il atteint l'ensemble de l'espace sous-arachnoïdien pour arriver enfin au niveau de la convexité et du sinus longitudinal supérieur [Figure 2]. Ce sont les granulations

de Paccioni, invaginations sous-arachnoïdiennes dans la paroi du sinus longitudinal supérieur qui sont le siège de la réabsorption du LCR [Figure 3].

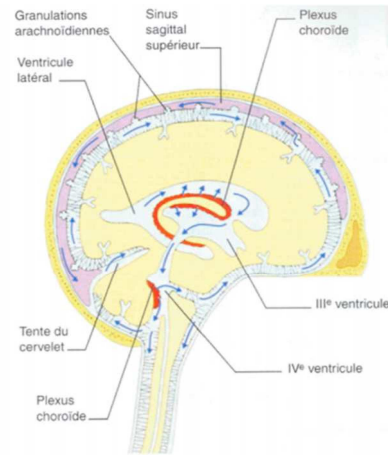


Figure 2. Circulation du LCR

(http://umvf.cerimes.fr/media/ressWikinu/Neurophysiologie/Neurophysiologie_UPMC/2007-neurophysio-LCR-jfv.pdf)

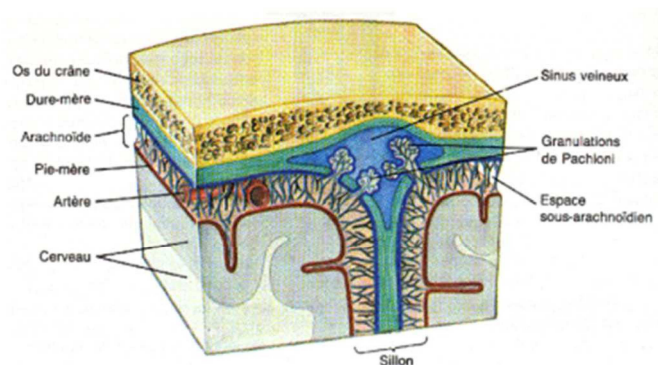


Figure 3. Réabsorption du LCR au niveau des granulations de Paccioni

(<http://osteo-perfectionnement.com/wp-content/uploads/Circulation-c%C3%A9phalo-et-LCR.Pr.L.Baud.pdf>)

B. Aspect et composition

Le LCR est un liquide stérile transparent et incolore, avec un aspect « eau de roche ».

Son pH est d'environ 7,32. Il contient dans les conditions normales moins de 5 éléments par mm³ [2]. Sa composition en ions (sodium, potassium, chlore, bicarbonates) est voisine mais différente de celle du plasma. Dans le LCR physiologique, la protéinorachie est

comprise entre 0,15 et 0,35g/L, la chlorurorachie entre 120 et 130 mmol/L, et la glycorachie doit être interprétée en fonction de la glycémie (environ 2/3 de la glycémie). La lactatorachie est comprise entre 1,2 et 2,2 mmol/L et le taux de lactate déshydrogénase (LDH) entre 20 et 40 UI/L.

Lors d'atteintes du système nerveux central, l'aspect du LCR peut être modifié et devenir trouble, hémorragique, ou purulent, et l'on peut observer une perturbation des valeurs normales biochimiques ainsi qu'une hypercellularité plus ou moins importante.

C. Rôles

Le LCR a un effet d'amortisseur liquide et de protection. Il maintient le SNC dans un environnement physique et chimique constant. Si la pression du LCR augmente, les villosités arachnoïdiennes s'ouvrent afin de laisser échapper le LCR, ce qui ramène sa pression à la normale. Cela permet que le tissu cérébral ne soit pas soumis à des pressions mécaniques.

Le LCR sert aussi de tampon et agit comme un réservoir régulateur du volume encéphalique. Si le volume du parenchyme cérébral ou du sang intracérébral augmentent, le LCR va être drainé au niveau des granulations de Pacchioni.

Enfin, le LCR a un rôle de transporteur des matières nutritives et des neurotransmetteurs aux tissus nerveux.

2. Ponction lombaire

A. Réalisation du geste

La ponction lombaire est un acte invasif qui doit obligatoirement être encadrée par un médecin. Elle est réalisée après avoir vérifié l'absence de contre-indications (voir plus loin), et après la réalisation d'un fond d'œil, et/ou d'un scanner cérébral.

Le matériel nécessaire comporte une aiguille à ponction lombaire avec mandrin stériles, le matériel pour anesthésie et désinfection de la peau, des gants stériles, et des tubes [Figure 4].



Figure 4. Matériel nécessaire pour la réalisation d'une ponction lombaire

(Figure personnelle)

La ponction est effectuée après anesthésie locale, dans des conditions d'asepsie stricte. Le point de ponction se situe entre la 3^{ème} et la 4^{ème} vertèbre lombaire, ou entre la 4^{ème} et la 5^{ème} [Figure 5].

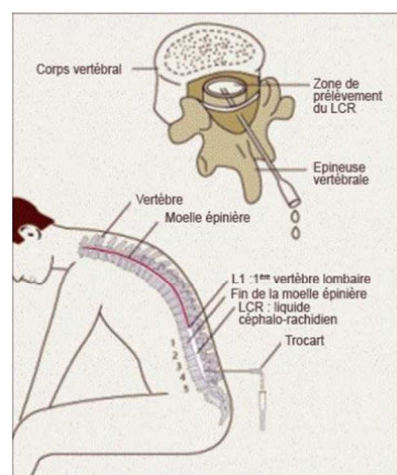


Figure 5. Schéma du point de ponction lombaire

(<http://www.artc.asso.fr/la-recherche-et-l-information-medicale/le-cerveau-et-les-tumeurs/les-tumeurs-cerebrales>)

Le patient adulte est installé assis le dos rond ou en décubitus latéral, les jambes pliées près du ventre, en position dite en « chien de fusil » [Figure 6]. Chez les enfants et les nouveau-nés, la ponction lombaire est pratiquée en décubitus latéral [1], avec une flexion maximale de la taille et du cou, pour que les genoux se retrouvent au niveau de la poitrine [Figure 7].

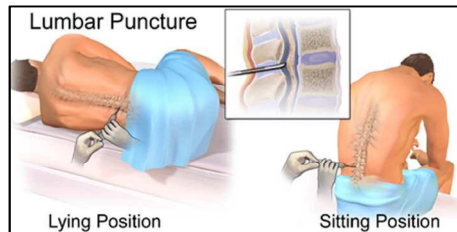


Figure 6. Positions du patient adulte (décubitus latéral et assis) lors d'une ponction lombaire

(<https://www.wikiwand.com/fr/M%C3%A9ningite>)



Figure 7. Position de décubitus latéral pour la réalisation d'une ponction lombaire chez un nouveau-né

(Bonadio W, 2014)

En alternative chez les grands enfants, la position assise, comme pour les adultes, est utilisée : le dos est rond, le cou en flexion, le menton vers la poitrine [Figure 8].



Figure 8. Position assise pour la réalisation d'une ponction lombaire chez un enfant

(Bonadio W, 2014)

En cas de difficultés anatomiques (obésité, ostéo-arthrite, cyphoscoliose...), il existe la possibilité d'effectuer la PL sous contrôle radiologique (scopie).

Le patient reste couché au moins une heure après le geste, pour éviter toute complication, dont la plus fréquente est le syndrome post-PL (SPPL). C'est la survenue au décours d'une PL de céphalées posturales aggravées par l'orthostatisme. Dans 90% des cas, ce syndrome se manifeste dans les 3 jours suivant le geste et perdure en moyenne une semaine [3]. Il peut de façon exceptionnelle se prolonger quelques mois. Les céphalées sont classiquement fronto-occipitales bilatérales en casque. Le diamètre de l'aiguille utilisée ainsi que l'orientation du biseau par rapport à l'axe vertébral sont des facteurs influençant la survenue d'un SPPL.

Les antalgiques et les anti-inflammatoires non stéroïdiens associés à un antiémétique suffisent le plus souvent à contrôler les SPPL peu sévères. Le traitement le plus efficace est le colmatage sanguin péri-dural ou *blood patch*. Réalisé au moins 24 heures après la PL, il permet une sédation *quasi* immédiate des symptômes dans près de 90% des cas. En pratique, un *blood patch* est indiqué si la symptomatologie est sévère et perdure plus de 24 heures.

B. Indications

La ponction lombaire est un examen qui peut être pratiqué dans de nombreux cas, parfois en urgence, à la recherche :

- D'une infection du SNC en présence de signes cliniques évocateurs de méningite, encéphalite, myélite, polyradiculonévrite.
- D'une atteinte du SNC d'origine inflammatoire ou auto-immune : sclérose en plaque, vascularite, sarcoïdose.
- D'arguments pour l'aide au diagnostic d'une hémorragie sous arachnoïdienne.
- D'une maladie neurodégénérative : biomarqueurs de la maladie d'Alzheimer.

- D'une méningite carcinomateuse, d'un lymphome ou d'une leucémie avec diffusion cérébrale

La ponction lombaire a aussi un rôle thérapeutique, notamment pour le traitement de l'hydrocéphalie (PL évacuatrice), l'injection de traitements médicamenteux en intrathécal (chimiothérapie, antibiotiques) ou l'anesthésie spinale et épidurale.

C. Contre-Indications

Les contre-indications à la réalisation d'une ponction lombaire sont les suivantes [4,5]:

- Anomalie connue de l'hémostase (Taux de plaquettes < 50G/L ; INR \geq 1.5), saignement actif faisant suspecter un trouble majeur de l'hémostase
- Instabilité hémodynamique du patient
- Infection locale au point de ponction
- Risque élevé d'engagement cérébral : signes de localisation neurologique (items 2 à 11 du score NIHSS (*National Institute of Health Stroke Score*), [Tableau 1]), troubles de la vigilance (Score de Glasgow \leq 11)
- Crise convulsive récente ou en cours

Ces 3 dernières situations impliquent de réaliser une TDM en urgence, avant de pouvoir éliminer tout signe d'engagement cérébral contre indiquant la PL.

L'hypertension intracrânienne (HTIC), fréquente dans les méningites graves, n'est pas elle-même une contre-indication à la PL [5].

Commandes (ouverture des yeux, ouverture du poing)
Oculomotricité
Champ visuel
Paralysie faciale
Motricité membre supérieur
Motricité membre inférieur
Ataxie
Sensibilité
Langage
Dysarthrie
Extinction, négligence

Tableau 1. Items du NIHSS utilisés pour la recherche de signes de localisations

(SPILF – 17^{ème} Conférence de Consensus en Thérapeutique Anti-Infectieuse – Prise en charge des méningites bactériennes aiguës communautaires)

3. Infections du système nerveux central (SNC)

A. Méningites virales

a. Aspects cliniques

Les méningites sont des infections des enveloppes méningées du SNC. La symptomatologie et les signes cliniques se manifestent différemment en fonction de l'âge du patient.

En pédiatrie, en général, plus l'enfant est jeune, plus les symptômes et signes cliniques sont pauvres et atypiques. L'interrogatoire des parents est essentiel.

Chez les nourrissons de moins de 3 mois, une PL est réalisée devant les signes suivants [5]:

- Troubles du comportement : cri plaintif, enfant geignard, inconsolabilité, hyporéactivité, irritabilité, enfant douloureux, hyperesthésie cutanée
- Anomalies neurologiques : fontanelle bombée, hypotonie
- Convulsions
- Purpura

Chez le nourrisson de 3 mois à 2 ans, les symptômes cliniques classiques (vomissements, bombement de la fontanelle, raideur de nuque, photophobie, troubles de la conscience) sont plus fréquents, moins dissociés, mais peuvent manquer. Une convulsion en contexte fébrile

impose la PL chez un enfant de moins de 9 mois et doit la faire discuter entre 9 et 12 mois. Plus l'enfant est âgé, plus les signes se rapprochent de ceux d'un adulte.

Chez les enfants de plus de 2 ans et les adultes, une méningite est hautement probable devant une fièvre, une raideur de nuque, des céphalées et troubles de la conscience.

Chez l'adulte, le syndrome méningé fébrile est le tableau clinique le plus souvent retrouvé. Le syndrome méningé associe la triade céphalées, vomissements, et raideur de nuque [4]. Les céphalées sont intenses, diffuses, non soulagées par les antalgiques, exagérées par la lumière (photophobie), le bruit (phonophobie), et la mobilisation du patient. Leur début est le plus souvent brutal (quelques minutes à quelques jours), mais peut aussi être progressif (plusieurs jours). La raideur de la nuque est majorée par le maintien des jambes en extension, c'est le signe de Brudzinski [Figure 9]. Si le patient ramène les jambes sur le tronc, toujours en extension, la tête se rejette en arrière et les céphalées augmentent, c'est le signe de Kernig [Figure 9].

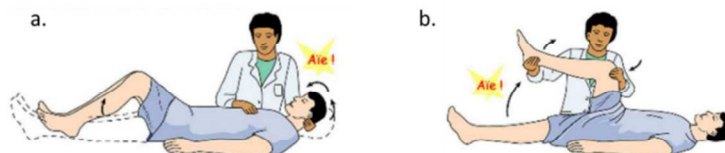


Figure 9. a.Signe de Brudzinski et b.Signe de Kernig

(http://what-when-how.com/wp-content/uploads/2012/08/tmp602f37_thumb22222.png)

En cas de suspicion de méningite, la conduite à tenir impose de rechercher des signes de gravité, qui nécessitent une hospitalisation en service de réanimation [Tableau 2].

La recherche d'un syndrome infectieux est systématique (fièvre, infection ORL ou bronchopulmonaire, contagé viral) ainsi que des signes de localisation neurologique (déficit moteur ou sensitif, atteinte des paires crâniennes, troubles du langage, syndrome cérébelleux).

- Signes de gravité :
- Purpura extensif
 - Troubles graves de conscience avec Glasgow \leq 8
 - Signes de localisation neurologique
 - Signes de souffrance du tronc cérébral
 - État de mal convulsif
 - Instabilité hémodynamique

Tableau 2. Signes de gravité à rechercher lors d'une suspicion de méningite et nécessitant l'hospitalisation en réanimation

(ECN PILLY 2016)

Une méningite est une urgence diagnostique et thérapeutique. Les méningites virales sont en générale bénignes avec une évolution vers la guérison sans traitement ; les séquelles sont rares mais possibles (exemple : surdité après une méningite ourlienne). Les méningites bactériennes sont en revanche des infections graves, dont la létalité moyenne est de 20% chez l'adulte, avec 30% de séquelles [4].

b. Analyses biochimiques et cytologiques du LCR

Les méningites infectieuses peuvent avoir différentes étiologies : bactériennes, virales, parasitaires ou mycologiques. Les analyses biochimiques et cytologiques du LCR permettent en première intention d'orienter le clinicien sur l'étiologie infectieuse [Tableau 3].

Les méningites lymphocytaires normoglycorachiques aiguës sont essentiellement virales [4].

Quelques bactéries peuvent être impliquées (*Treponema pallidum*, *Borrelia burgdorferi*), même si la syphilis et la maladie de Lyme sont plus souvent responsables de méningo-encéphalites à liquide clair (avec atteinte fréquente des paires crâniennes).

Néanmoins, la formule peut être à prédominance de polynucléaires au cours d'une méningite virale lorsque la PL est réalisée très précocement (notamment en cas de méningite à entérovirus). Une absence de pléïocytose (c'est-à-dire moins de 10 éléments/mm³) ne doit pas exclure le diagnostic de méningite virale.

	LCS normal	Méningite purulente = prédominance de PNN	Méningite à liquide clair = prédominance de lymphocytes
Macroscopie : turbidité	Clair (eau de roche)	Trouble en général	Clair
Éléments (leucocytes) Total et formule	< 5/mm ³ Lymphocytes 60-70 % Monocytes 30-50 % Ni PNN ni hématies	> 20/mm ³ , mais en général > 1000/mm ³ PNN > 50 %	5 à 100/mm ³ en général, parfois 100-1000/mm ³ Lymphocytes > 50 %
Glycorachie	> 2/3 x glycémie	≤ 0,4 x glycémie (sensibilité 80% et spécificité 98% pour l'étiologie bactérienne)	> 2/3 x glycémie : viral < 0,4 x glycémie : <i>Listeria</i> ou BK
Protéïnorachie	< 0,40 g/L	En général > 1 g/L	Souvent < 1 g/L si viral 1-2 g/L si bactérien
Lactatorachie	< 3,2 mmol/L	> 3,2 mmol/L	< 3,2 mmol/L
Examen direct avec colorations spécifiques (Gram...)	Négatif	Positif dans 60-80 % des cas en l'absence d'antibiothérapie préalable Si négatif , envisager méningite décapitée par antibiotiques, bactérie fragile ou faible inoculum	Négatif si viral Positif dans moins d'un tiers des cas si <i>Listeria</i> ou BK
Étiologie		· méningite bactérienne · 30 % des méningites virales au début (surtout entérovirus)	Le plus fréquent. · normoglycorachique = viral <i>a priori</i> . Toujours rechercher des signes d'encéphalite. · hypoglycorachique = <i>Listeria</i> , BK · 10 % des méningites bactériennes au début

Tableau 3. Orientation clinique en fonction des résultats de cytologie et de biochimie du LCR
(ECN PILLY 2016)

c. Dosage de la procalcitonine

Le dosage de la procalcitonine (PCT) a surtout un intérêt pour différencier une méningite bactérienne et virale quand l'examen direct et la culture sont négatifs, mais que l'analyse cytologique est plutôt en faveur d'une étiologie bactérienne. Le seuil est de 0,5ng/mL chez l'adulte (>0,5ng/mL en faveur d'une étiologie bactérienne et <0,5ng/mL en faveur d'une étiologie virale) [5,6]. La mise en place d'un diagnostic moléculaire rapide dit « syndromique » limite l'intérêt de ce marqueur indirect.

d. Epidémiologie

Chez l'enfant et l'adulte jeune, les méningites virales sont plus fréquentes que les méningites bactériennes [4]. Le ratio s'inverse chez le sujet de plus de 65 ans.

L'orientation initiale du diagnostic des méningites virales repose sur un ensemble de données: contexte géographique, épidémiologique, terrain (immunité), cytologie et biochimie du LCR.

Les méningites virales sont les plus fréquentes des méningites aseptiques [7]. Elles sont en général bénignes et de régression spontanée. Elles sont la première cause de méningite chez l'enfant de moins d'un an [8].

e. Méningites à Entérovirus

Les entérovirus (EV) sont des petits virus non enveloppés à ARN, de la famille des *Picornaviridae*. Le genre Enterovirus comprend plus de 100 sérotypes [Tableau 4].

Espèces	Sérotypes	Classification
<i>Human enterovirus A</i> (Enterovirus humain A) (12 sérotypes)	coxsackievirus A2-A8 A10, A12, A14, A16 entérovirus 71	A
<i>Human enterovirus B</i> (Enterovirus humain B) (36 sérotypes)	coxsackievirus B1-B6 échovirus 1-7, 9, 11-21, 24-27, 29-33 entérovirus 69	B
<i>Human enterovirus C</i> (Enterovirus humain C) (11 sérotypes)	coxsackievirus A1, A11, A13, A15, A17-21, A22, A24	C
<i>Poliovirus</i> (3 sérotypes)	poliovirus 1-3	C
<i>Human enterovirus D</i> (Enterovirus humain D) (2 sérotypes)	Entérovirus 68 et 70	D

Tableau 4. Classification des Entérovirus

(<http://www.microbes-edu.org/etudiant/picornaviridae2.html>)

On distingue les poliovirus des non poliovirus : entérovirus, echovirus et coxsackievirus. Les EV non poliovirus sont responsables de 90% des méningites virales [4]. Dans les régions tropicales, elles surviennent toute l'année alors que dans les régions tempérées, on observe une recrudescence en été et automne [Figure 10].

Les méningites à EV sont fréquentes chez les enfants. C'est la première cause de méningite chez les moins de 1 an [8].

La transmission de ces virus s'effectue par contact direct à partir du virus excrété dans les selles et au niveau du rhinopharynx. D'autres mode de transmission sont possibles: *via* la salive ou au contact d'autres lésions cutanées (cas des syndromes pied-main-bouche), mais aussi par transmission materno-foetale à l'origine d'infections néonatales [9].

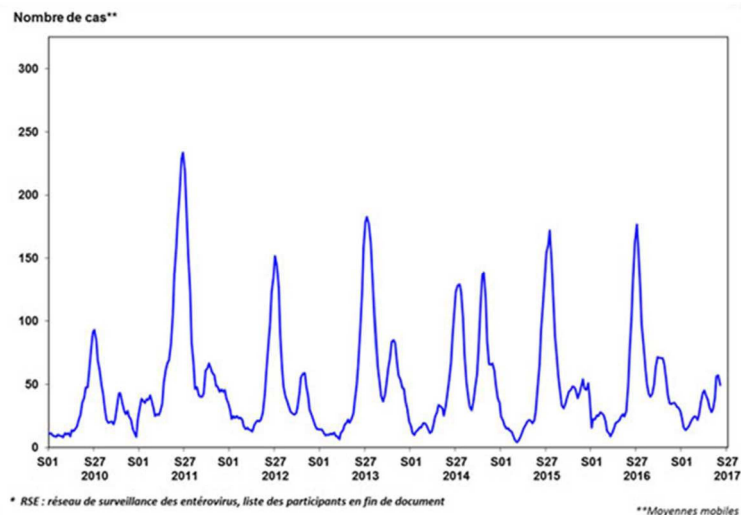


Figure 10. Infections à entérovirus: distribution des cas positifs par semaine, réseau de surveillance des entérovirus RSE, France, 1^{er} janvier 2010 – 10 juin 2017

(Point sur les infections à entérovirus au 20 juin 2017. InVS)

L'infection par un EV est le plus souvent pauci-symptomatique (affections fébriles non spécifiques), et l'évolution est en général bénigne, hormis chez le nouveau-né qui peut développer une infection systémique potentiellement grave, ou chez le patient immunodéprimé. Les manifestations cliniques les plus fréquemment rapportées et diagnostiquées sont neurologiques, majoritairement représentées par des méningites évoluant rapidement vers la guérison sans séquelle. Dans de très rares cas, on peut observer des encéphalites (< 10 cas/an en France) ou des paralysies. Les virus impliqués de manière prédominante dans les méningites sont des EV neurotropes comme l'Echovirus 30 ou E-30, l'E-6, l'E-11, l'E-13, l'E-18 ou le Coxsackievirus B5 (CB-5) [9]. La co-circulation de plusieurs types n'est pas rare, et la distribution des types circulant est variable selon les années. Au 20 juin 2017, 432 cas d'infections avec détection positive d'EV dans le LCR ont été déclarés par les laboratoires du Réseau de Surveillance des EV. D'après les résultats de typage disponibles (97 sur 432), l'E-6 est prédominant (34%), suivi par le CB-5 (14,4%), l'E-5 (12,3%) et l'E-30 (11,3%) [9].

En mai 2016 en Catalogne, un foyer épidémique d'infections graves à EV, majoritairement EV-71, a été signalé par les autorités sanitaires espagnoles [10]. Les 87 cas, essentiellement des enfants, présentaient des atteintes neurologiques type encéphalite, rhombo-encéphalite, paralysie flasque aigue. Vingt-deux des 87 cas ont été hospitalisés en unité de soins intensifs, mais aucun décès n'a été constaté. Les enfants avaient de 3 mois à 8 ans, dont plus de la moitié (57%) entre 1 et 2 ans. Suite à cette épidémie, la surveillance des méningites à EV a été accrue en France, mais aucune circulation accrue de l'EV-71 n'a été constatée, avec 5 cas rapportés au 20 juin 2016 dont 2 complications neurologiques.

Bien que l'évolution des méningites à EV soit le plus souvent bénigne, le diagnostic de certitude par la mise en évidence du génome viral par RT-PCR (*Reverse Transcriptase Polymerase Chain Reaction*) dans le LCR permet d'une part d'éviter l'antibiothérapie et les examens complémentaires inutiles, et d'autre part de diminuer la durée de l'hospitalisation du patient. En 2008, lors de la 17ème Conférence de Consensus en Thérapeutique Anti-Infectieuse, il a été recommandé de « rechercher le génome viral de l'EV par RT-PCR (test Genexpert®) en cas de méningite avec faible suspicion de méningite bactérienne » [5]. Compte tenu de la sensibilité et de la spécificité élevées, de la forte prévalence des EV dans les méningites aiguës infectieuses, et de la rapidité d'obtention du résultat, la positivité de la RT-PCR EV permet d'éviter la réalisation de PCR bactériennes et d'arrêter un traitement antibiotique si celui-ci avait été initié.

f. Méningites ourliennes

Le virus ourlien (famille des *Paramyxoviridae*) est à l'origine des oreillons, maladie le plus souvent bénigne mais très contagieuse, évoluant par petites épidémies de collectivités [11].

La méningite ourlienne peut être associée à une parotidite ou à d'autres localisations

glandulaires, mais elle peut aussi être isolée. C'est une méningite à liquide clair marquée par une symptomatologie méningée classique (céphalées, raideur de nuque, vomissement, fièvre). Elle peut être associée à des signes neurologiques déficitaires transitoires (parésie oculomotrice, atteinte médullaire ou radiculaire) ou à des troubles du comportement. On retrouve une pléïocytose dans 50 % des cas, la glycorachie est basse et la formule est panachée au début de l'infection [12].

L'encéphalite ourlienne est rare (<0,05%) ; elle est marquée par des troubles de la vigilance, des crises convulsives, des déficits sensitivo-moteurs, mais guérit en général sans séquelles.

L'atteinte du nerf auditif est spécifique mais rare (1 cas pour 30 000) [13]: la surdité peut être transitoire, mais elle est le plus souvent définitive. L'atteinte de la vision est aussi possible.

g. Méningites à VZV

Le virus Varicelle-Zona (VZV) est un Herpes Virus, induisant une varicelle lors de la primo-infection. Le virus persiste ensuite dans les ganglions du système nerveux périphérique et dans le ganglion de Gasser du nerf trijumeau, et peut se réactiver suite à une baisse de l'immunité cellulaire pour provoquer un zona [15]. La transmission du virus se fait par voie respiratoire par inhalation de gouttelettes de salive ou par contact direct avec les lésions cutanées. La contagiosité débute 2 à 4 jours avant le début de l'éruption et se poursuit jusqu'à disparition des croûtes, soit en moyenne 7 jours après l'éruption. La guérison est spontanée en 10 à 15 jours. Les sujets à risque de formes graves sont les nouveau-nés et les sujets immunodéprimés [16]. Les complications neurologiques dues aux réactivations sont fréquentes, surtout chez les immunodéprimés, et souvent associées à un rash vésiculaire de topographie radiculaire. Cependant, 6 cas de méningites à VZV confirmées par PCR ont été décrits sans aucune manifestation dermatologique associée [17]. Ceci confirme que le virus latent dans les

ganglions peut atteindre directement le SNC lors de sa réactivation, sans induire de manifestation clinique cutanée.

h. Méningites à Adénovirus

Les Adénovirus (ADV) sont des virus pantropiques essentiellement responsables de pathologies respiratoires basses (bronchopathie aiguë) et de gastro-entérites aiguës. De façon beaucoup plus rare, on a pu incriminer les ADV lors de méningites aiguës aseptiques ou de méningo-encéphalites [45,119]. En cas de suspicion d'infection du SNC, la recherche directe d'ADV est recommandée sur les prélèvements respiratoires (prélèvement nasal, pharynx) ainsi que dans le sang (recherche d'une virémie associée), en cas de symptomatologie respiratoire [21,22]. La recherche de l'ADV n'est pas recommandée sur le LCR.

B. Encéphalites virales

a. Clinique

Une encéphalite est définie comme étant une association de processus inflammatoires du parenchyme cérébral et de dysfonctionnements neurologiques [18]. Les symptômes et signes cliniques de dysfonctionnement du SNC les plus fréquents sont : des troubles de la vigilance (de l'obnubilation au coma), des troubles du comportement, des crises d'épilepsie, des signes neurologiques focaux [19]. Des signes méningés peuvent être associés, on parle alors de méningo-encéphalite. La fièvre est très fréquente mais peut être masquée par la prise d'antipyrétiques. Cliniquement, les tableaux peuvent être très polymorphes dans leurs expressions et leurs degrés de sévérité.

Tout symptôme ou signe clinique de dysfonctionnement du SNC associé à de la fièvre doit faire évoquer une encéphalite infectieuse [19].

La gravité de l'encéphalite est surtout neurologique (coma, convulsions, état de mal épileptique), mais peut concerner d'autres organes (défaillance respiratoire, rénale, hémodynamique). Les encéphalites peuvent se compliquer d'hypertension intracrânienne (HTIC), de saignement, de nécrose, de vasculopathie ou d'œdème cérébral.

b. Conduite à tenir

Dès la suspicion d'encéphalite aiguë, des examens d'imagerie, une PL et la mise en route d'un traitement prophylactique sont indispensables. En 2013, le Consortium International des Encéphalites a défini 2 algorithmes diagnostiques en évaluation initiale des encéphalites aiguës, l'un chez les adultes, l'autre en population pédiatrique [18] [Annexes 17 et 18]. La distinction des 2 populations est expliquée par le fait que les étiologies possibles et les fréquences des agents infectieux retrouvés sont différentes. La recherche par biologie moléculaire des virus HSV1, HSV2, VZV et EV doit être systématique [19].

Si possible, l'IRM cérébrale, du fait de son apport diagnostique nettement supérieur à la TDM, est à réaliser en première intention. L'électroencéphalogramme (EEG) est recommandé pour le diagnostic et le suivi des encéphalites aiguës, mais il n'existe pas de recommandations pour la répétition systématique de cet examen.

Le *gold standard* permettant d'affirmer l'encéphalite est l'examen de la biopsie cérébrale, rarement effectuée en *pre-mortem* à cause du risque lors de la procédure invasive [18]. En l'absence de confirmation anatomopathologique, la définition d'un cas d'encéphalite se base sur des critères cliniques, biologiques et d'imagerie [Annexe 19].

Le traitement initial probabiliste comporte l'association d'Amoxicilline (200mg/kg/jour) et d'Aciclovir (10mg/kg toutes les 8 heures). La réévaluation de ce traitement à 48 heures est impérative, selon les résultats des analyses bactériologiques et virologiques.

c. Epidémiologie

L'incidence des encéphalites présumées infectieuses est estimée entre 1,5 et 7 cas pour 100 000 habitants par an, hors période épidémique [20]. L'HSV est l'agent infectieux le plus souvent impliqué, avec plus de 65% dans certaines études.

En France, les 4 agents infectieux les plus fréquents sont l'HSV, le VZV, *Mycobacterium tuberculosis* et *Listeria monocytogenes*.

Les différences régionales sont importantes, surtout en cas de transmission vectorielle : encéphalite japonaise en Asie, encéphalite à tiques en Europe et Russie, encéphalites à Alphavirus et Flavivirus sur le continent américain.

L'épidémiologie des encéphalites est en constante évolution, révélant l'émergence ou la dispersion de nouveaux agents pathogènes. L'étiologie des encéphalites selon de nombreuses études mondiales est représentée sur la Figure 11.

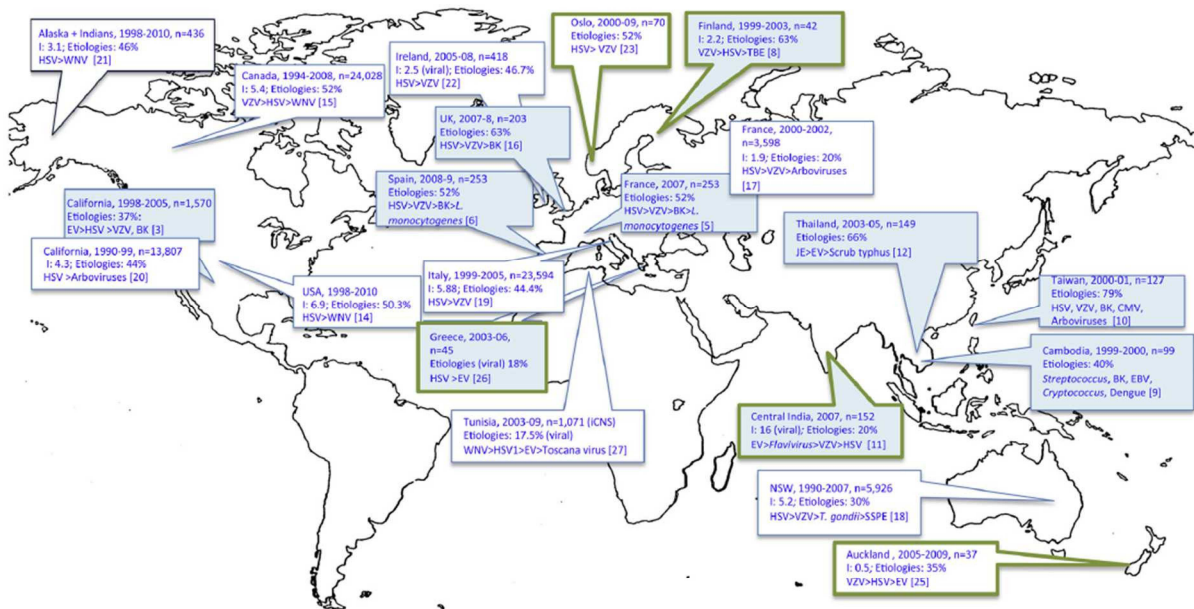


Figure 11. Carte des études épidémiologiques sur l'étiologie des encéphalites

Epidemiology of infectious encephalitis causes in 2016. Médecine et Maladies infectieuses 47(2017):221-235

L'histoire médicale du patient (immunodépression), son lieu de résidence, l'environnement professionnel et personnel, la notion de voyage, peuvent aider à rechercher des causes plus spécifiques [Annexe 20]. La procédure diagnostique recommandée par la Société de Pathologie Infectieuse de Langue Française (SPILF) [Tableau 5] pour les recherches étiologiques d'encéphalites infectieuses est divisée en 3 étapes successives, en rapport avec la fréquence des agents infectieux comme étiologie d'encéphalite, ainsi que la nécessité de débiter un traitement [21].

Dans une étude française de 2007, le diagnostic étiologique avec identification de l'agent pathogène en cause a pu être établi dans 48% des cas d'encéphalites infectieuses [21]. Les causes non infectieuses représentent 22% des causes des tableaux évocateurs d'encéphalite infectieuse [19]. Les encéphalites auto-immunes induisent le plus souvent des tableaux subaigus d'encéphalite limbique ou d'encéphalomyélite aigue. Le diagnostic repose d'une part sur la recherche d'anticorps onco-neuronaux pour l'encéphalite limbique, et d'autre part sur l'IRM médullaire et cérébrale pour l'encéphalomyélite aigue. Le lupus érythémateux disséminé, le syndrome de Gougerot-Sjögren et l'encéphalite d'Hashimoto sont les autres diagnostics non infectieux alternatifs les plus fréquents.

Pathogens	Cerebrospinal fluid	Paired serum samples	Other samples
Pathogens frequently responsible for encephalitis (step 1)^a			
Nonspecific tests	Direct examination, culture including <i>Mycobacterium tuberculosis</i> and <i>Listeria monocytogenes</i>	...	Blood culture
Virus			
HSV-1 and HSV-2 ^b	PCR
VZV ^b	PCR
HIV (as an exclusion criteria)	...	ELISA and WB (single serum)	...
Bacteria			
<i>Mycoplasma pneumoniae</i>	PCR	Complement fixation or ELISA IgM	PCR on pharyngeal swab
<i>M. tuberculosis</i> and <i>L. monocytogenes</i>	Direct examination and culture, PCR
Pathogens that less frequently cause encephalitis (step 2)			
Virus			
Enterovirus	PCR	...	Culture on throat swab
CMV, EBV, and HHV6 ^b	PCR
Adenovirus	Culture or PCR on nasal or pharyngeal swabs
TBE	Before day 4: isolation or PCR	IgM and IgG by ELISA, confirmed by neutralization	...
Bacteria			
<i>Chlamydia</i> species	PCR	ELISA	PCR on pharyngeal swab (<i>Chlamydia pneumoniae</i>)
<i>Borrelia burgdorferi</i>	PCR	ELISA and WB	...
<i>Coxiella burnetii</i>	...	Immunofluorescent assay	...
<i>Bartonella henselae</i>	...	Immunofluorescent assay	...
Rare infectious causes of encephalitis (step 3)			
Virus			
Influenza and parainfluenzae	Culture or PCR of nasal or pharyngeal swabs
Measles, rubella, and mumps	...	IgM by ELISA	...
West Nile virus	Before day 4: isolation or PCR	IgM and IgG by ELISA confirmed by neutralization	...
Toscana virus	Before day 5: PCR; after day 5: ELISA	IgM and IgG by ELISA	...
LCMV	PCR and immunofluorescent assay
Parechovirus	PCR	...	Culture of throat swab specimen
Bacteria			
Rickettsial agents	...	Immunofluorescent assay	...
<i>Tropheryma whipplei</i>	PCR
<i>Ehrlichia schaffensii</i>	PCR	Immunofluorescent assay	...
According to special exposures (miscellaneous)			
Nipah	PCR	ELISA	...
Rabies	In vitam: PCR of skin biopsy, CSF, and saliva specimens; postmortem: immunofluorescent assay or viral isolation or antigens detection of brain biopsy specimen
Other arboviruses			
Japanese encephalitis	ELISA and neutralization	ELISA and neutralization	...
Dengue	...	PCR before day 6, ELISA after day 5	...
Other	IgM and IgG by ELISA, confirmed by neutralization	IgM and IgG by ELISA, confirmed by neutralization	...

NOTE. From [6, 18]. CMV, cytomegalovirus; CSF, cerebrospinal fluid; EBV, Epstein-Barr virus; ELISA, enzyme-linked immunosorbent assay; HHV, human herpesvirus; HIV, human immunodeficiency virus; HSV, herpes simplex virus; LCMV, lymphocytic choriomeningitis virus; PCR, polymerase chain reaction; TBE, tick-borne encephalitis; VZV, varicella-zoster virus; WB, Western blot.

^a A pertinent history or pertinent epidemiologic features could change the order of the steps.

^b Multiplex PCR investigating all herpesviruses could be used. For HSV and VZV, if the lumbar puncture had been performed in the first 4 days after onset of neurologic signs and if the PCR result was negative, an additional lumbar puncture had to be performed on a CSF sample obtained after day 4.

Tableau 5. Recommandations de la Société de Pathologie Infectieuse de Langue Française pour les recherches étiologiques chez des patients présentant une Encéphalite Aigue 2007 [21]

d. Encéphalites herpétiques

L'encéphalite herpétique est une encéphalite aigue nécrosante temporale, qui est la manifestation clinique soit d'une primo-infection (PI), soit d'une réactivation de l'HSV.

L'HSV 1 est la 1^{ère} cause identifiée d'encéphalite infectieuse [18]. L'incidence est estimée entre 2 et 4 cas pour 1 million d'habitants par an. C'est une des causes les plus fréquentes au niveau mondial [22], elle touche les enfants comme les adultes tout au long de l'année.

Le début est brutal, en moins de 48 heures, avec une fièvre à 40°C, des céphalées, des troubles du comportement, des troubles phasiques et mnésiques, et des troubles de la conscience pouvant aller jusqu'au coma. L'évolution est mortelle dans 5 à 20% des cas (70% avant la mise sur le marché de l'aciclovir) [18 et 19]. Les séquelles neurologiques graves sont fréquentes chez les survivants.

Le fond d'œil est normal mais peut aussi révéler un œdème papillaire. L'IRM met en évidence plus précocement que le scanner cérébral des zones hyperdenses en périphérie dans les zones temporales, frontales ou occipitales, correspondant aux zones nécrosées.

Les analyses biochimiques sur le LCR montrent en général une glycorachie normale et une protéinorachie légèrement augmentée. La pléïocytose est fréquente mais dépasse rarement les 500 éléments/mm³. La recherche du génome viral par PCR est la technique de référence pour la recherche de l'HSV dans le LCR.

Devant un tableau d'encéphalite fébrile, aucun résultat biologique ou d'imagerie n'est attendu pour mettre en route le traitement antiviral [19]. L'aciclovir à dose de 10mg/kg toutes les 8h est le traitement de référence de l'encéphalite à HSV de l'adulte. Le retard d'initiation du traitement est un facteur pronostique indépendant d'évolution défavorable des encéphalites à HSV. La durée recommandée est de 14 jours chez l'adulte immunocompétent, et de 21 jours pour l'adulte immunodéprimé. Si l'encéphalite herpétique est prouvée par la positivité de la PCR, le contrôle systématique de la PCR HSV dans le LCR à la fin du traitement n'est pas recommandé si l'évolution est favorable [19]. En cas d'évolution clinique non favorable à la fin

du traitement, une ponction lombaire avec PCR HSV et recherche d'anticorps anti-HSV sur le LCR doit être réalisée.

e. Encéphalites à VZV

Le VZV représente la seconde étiologie virale des encéphalites aiguës infectieuses en France [23]. Elle touche les adultes et les enfants. L'encéphalite subaiguë ou chronique à VZV est observée chez les patients immunodéprimés (VIH, traitement immunosuppresseur) : elle est le résultat d'une vasculopathie des petits vaisseaux et d'une infection des cellules gliales, à l'origine d'une leucoencéphalite.

L'encéphalite à VZV doit être évoquée devant une atteinte fébrile du SNC. Les signes évocateurs d'une infection à VZV sont la présence de vésicules cutanées, une atteinte des nerfs crâniens et des signes de vasculopathie à l'imagerie [24]. L'absence de rash cutané (plus de 50% des cas) rend le diagnostic plus difficile [25].

L'encéphalite à VZV est généralement de mauvais pronostic, avec une mortalité jusqu'à 15% selon les études [25] et les séquelles neurologiques chez les survivants sont relativement fréquentes. L'encéphalite à VZV associée au VIH induit une mortalité (33%) et une fréquence des séquelles (33%) plus importantes malgré la mise en place d'un traitement antiviral.

Le traitement de référence est l'aciclovir en IV, avec une dose de 15mg/kg pendant une heure toutes les 8 heures [19]. La durée recommandée est de 10 à 14 jours. Le foscarnet et le ganciclovir pourraient être utilisés en seconde intention dans les encéphalites à VZV en cas d'échec, d'intolérance ou de résistance à l'aciclovir. Dans ces indications, la recherche combinée des HSV1, HSV2 et VZV est souvent réalisée.

f. Encéphalites à Cytomegalovirus

Les encéphalites à CMV surviennent presque exclusivement chez les patients immunodéprimés ; de rares cas ont été décrits chez les patients immunocompétents [20].

La plupart des encéphalites à CMV concerne les patients infectés par le VIH (85%), rarement les patients immunodéprimés autres que le VIH (12%) et exceptionnellement les patients immunocompétents (3%) [26]. Depuis l'apparition de la trithérapie antirétrovirale, l'incidence des infections à CMV chez les sujets infectés par le VIH a chuté [27].

Les complications neurologiques à CMV surviennent au cours d'une immunodépression profonde, quand le taux de lymphocytes T CD4 est $< 50/\text{mm}^3$ [28], et signent le stade SIDA du patient. Le tableau clinique des encéphalites à CMV est aspécifique, et il est difficile de les différencier des encéphalites à VIH. Cependant, le mode d'installation est souvent brutal. L'association d'une atteinte des nerfs crâniens, un syndrome de la queue de cheval, une myélite et une atteinte multiviscérale (rétinienne, pulmonaire, digestive) doit faire évoquer une encéphalite à CMV.

A l'IRM, la leucopathie est souvent diffuse, mais l'imagerie cérébrale reste peu spécifique. L'existence d'une autre localisation viscérale de l'infection à CMV est un élément important du diagnostic, et la recherche d'un foyer rétinien devrait être systématique.

La positivité de la PCR CMV dans le LCR pose le diagnostic ; cependant le traitement antiviral (ganciclovir IV ou foscarnet IV) doit être débuté sans attendre le résultat de cette PCR CMV.

g. Encéphalite à virus Epstein-Barr

Le virus Epstein-Barr (EBV) est responsable de la mononucléose infectieuse, pathologie bénigne et très répandue. Après la primo-infection, le virus reste latent dans les lymphocytes.

Une réactivation lors de déficiences immunitaires peut entraîner certaines formes graves,

notamment des encéphalites. L'EBV est une cause importante d'encéphalite en population pédiatrique, surtout chez les adolescents [18]. La primo-infection EBV a aussi été rapportée comme étant une cause d'encéphalite aiguë chez le jeune enfant [29]. La coinfection avec un autre agent pathogène (virus ou bactérie) n'est pas rare. Le problème se pose alors de la responsabilité de l'EBV dans ces infections. Weinsberg et al. [30] rapportent 16 coinfections neurologiques à EBV, associées à un autre pathogène. La charge virale s'étendait de 900 UI (peu significatif) à 615 000 UI (significatif). L'affirmation du diagnostic d'encéphalite à EBV doit être établie avec prudence et les études à propos de la charge virale dans le LCR manquent.

Le génome étant présent dans une fraction des cellules mononuclées sanguines, la positivité de la PCR EBV dans le LCR peut être la simple conséquence d'un afflux de lymphocytes dans ce compartiment du fait d'une inflammation [7].

Quoiqu'il en soit, le traitement des formes neurologiques n'est pas codifié et il n'existe pas de traitement anti-EBV spécifique [31]. Il repose essentiellement sur une restauration de l'immunité.

h. Encéphalite à Human Herpesvirus 6

Le Human Herpesvirus 6 ou HHV-6, est un virus neurotrope. C'est l'Herpes virus dont la prévalence est la plus élevée chez l'homme, estimée à 100%.

Beaucoup de cas d'encéphalites limbiques à HHV-6 ont été rapportés à la suite de transplantations de cellules souches [20]. Les encéphalites à HHV-6 ne surviennent qu'exceptionnellement chez les patients immunocompétents.

En 2009, une étude rétrospective multicentrique a rapporté 23 cas d'encéphalites sur près de 5500 transplantations allogéniques, dont la médiane de survenue était de 22 jours [32].

En 2013, une seconde étude multicentrique, cette fois prospective, a rapporté 7 cas d'encéphalites à HHV-6 après 233 transplantations de cellules souches, avec une médiane de survenue de 70 jours. La survenue d'une encéphalite était corrélée à un pic de réplication virale dans le plasma (charge virale plasmatique de 21656 à 433693 copies/mL) [33].

La recherche de l'HHV-6 dans le LCR lors d'atteintes neurologiques doit donc être systématique chez les patients immunodéprimés et chez les enfants de moins de 5 ans.

L'interprétation biologique de la positivité de la PCR HHV6 doit tenir compte de la possibilité pour le sous-groupe A (HHV6-A) de s'intégrer au génome humain. Ainsi, une étude de 2011 a estimé l'incidence de cette intégration à environ 2% dans la population caucasienne [34].

i. Encéphalites à VIH

Les manifestations neurologiques touchent les patients infectés par le VIH à tous les stades de la maladie. La cohorte française *French Hospital Database on HIV* (FHDH) permet une estimation de la fréquence des manifestations neurologiques centrales compliquant l'infection par le VIH [Tableau 6] [35]. Depuis la mise en place de la trithérapie, on a observé un effondrement de l'incidence des affections définissant le stade SIDA, qui a concerné toutes les pathologies opportunistes [Figure 12].

L'incidence de l'encéphalite à VIH, encore appelée complexe démentiel du SIDA ou démence associée au VIH, est de 1,8 pour 1000 patients-année en France. Son diagnostic repose sur un faisceau d'arguments cliniques, biologiques et d'imagerie. L'expression clinique peut aller d'un simple ralentissement psychomoteur, de troubles mnésiques et de l'équilibre, à un tableau plus évolué d'atteintes cognitives. L'apparition d'un tableau neurologique chez un sujet séropositif impose la réalisation d'une imagerie cérébrale en urgence : un tableau d'encéphalite doit faire suspecter une encéphalite à VIH [28]. L'IRM, plus sensible que la TDM,

montre une leucopathie diffuse bilatérale et symétrique. Les facteurs de risque de l'encéphalite due au VIH sont l'âge plus élevé lors de la séroconversion, le nombre de lymphocytes T CD4, un antécédent de complications définissant le stade SIDA et la toxicomanie par voie IV [36].

Pathologie	Incidence
Encéphalite due au VIH	1,8
Toxoplasmose cérébrale	1,5
Accidents vasculaires cérébraux	1,3
Leucoencéphalite multifocale progressive	1,0
Cryptococcose méningée	0,2
Lymphome primitif du SNC	0,1
Tuberculose extrapulmonaire (dont neurologique)	2,0
Syphilis (toutes formes confondues)	7,0

Tableau 6. Incidence des principales pathologies neurologiques pour 1000 patients-année

Source FHDH 2009 (retour d'informations clinico-épidémiologiques, 16 octobre 2009, <http://www.ccde.fr>)

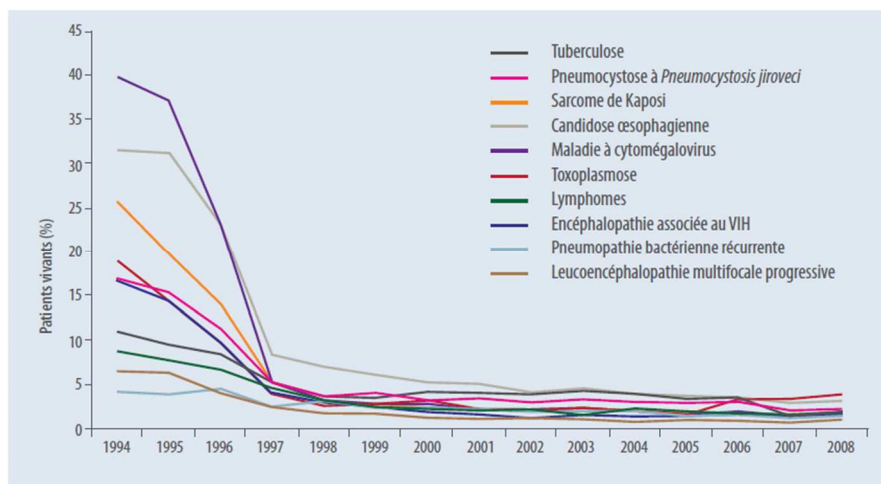


Figure 12. Incidence des 10 manifestations définissant le SIDA pour 1000 patients-année de 1994 à 2008

Source FHDH 2009 (retour d'informations clinico-épidémiologiques, 16 octobre 2009, <http://www.ccde.fr>)

On distingue 2 formes d'encéphalites à VIH : la forme aiguë lors de la primo-infection, qui est spontanément résolutive et la forme subaiguë au stade tardif, lorsque les CD4 sont inférieurs à 200/mm³. Cette forme d'évolution progressive évolue vers un tableau de démence sous corticale. Les troubles cognitifs sont importants mais on ne retrouve ni fièvre, ni céphalées. L'évolution est défavorable. Le seul traitement passe par la trithérapie antirétrovirale.

La quantification du génome viral par RT-PCR dans le LCR (à interpréter en fonction de la charge virale plasmatique) est un facteur prédictif des atteintes neurologiques. Une charge virale élevée est corrélée au développement et à la sévérité de ces atteintes. Cette quantification permet aussi le monitoring des traitements antirétroviraux.

Des virus mutants résistants doivent être recherchés dans le compartiment du SNC.

j. Encéphalites à virus Influenza

Le virus Influenza est responsable de la grippe. Il a été décrit dans des cas d'encéphalites aiguës et d'encéphalites post-infectieuses (voir plus loin). Les encéphalites grippales surviennent de façon épidémique. L'identification et le diagnostic des cas sporadiques sont plus difficiles.

Le premier cas d'encéphalite à virus Influenza B diagnostiqué par PCR dans le LCR a été décrit en 1998 dans le Tennessee [37] chez une petite fille de 6 ans. Peu de données sont disponibles sur la surveillance des formes neurologiques associées à la grippe, à l'exception des travaux publiés par les équipes japonaises [38]. Morishima et al ont décrit une série de 148 cas diagnostiqués au cours de l'épidémie de grippe A (H3N2) de l'hiver 1998-1999 [39]. Cent-vingt et un (81,8%) étaient des enfants de moins de 5 ans et les formes neurologiques étaient rarement observées chez les plus de 10 ans. Trente-deux pourcent des patients sont décédés et 9% ont présentés de lourdes séquelles. Cette prédominance des encéphalites survenant chez les très jeunes pourrait être en partie expliquée par un niveau d'immunité contre le virus de la grippe saisonnière (acquis ou vaccinal) plus faible par rapport aux enfants plus âgés.

Aux Etats-Unis, 4 cas d'encéphalites associées au virus Influenza A (H1N1) ont été décrits à partir de mai 2009 au Texas [40]. Les patients avaient moins de 17 ans, et ont présenté des états fébriles avec convulsions ou confusions, sans anomalie au scanner ou à l'IRM. L'évolution vers la guérison s'est fait sans séquelle.

Au Japon en 2009, 132 cas d'encéphalites associées au virus Influenza ont été rapportés en 20 semaines [38]: 116 virus Influenza A(H1N1), 15 virus A (autres que la souche H1N1) et 1 virus B. Quatre-vingt-quinze pourcent des patients avaient moins de 15 ans (médiane : 8 ans). Sur les 59 cas documentés, 5% sont décédés, 12% ont gardé des séquelles neurologiques et 83% ont guéri sans séquelle.

k. Encéphalites rougeoleuses

La rougeole est la maladie infectieuse la plus contagieuse (taux de reproduction RO entre 12 et 18). La transmission se fait essentiellement par voie respiratoire et aéroportée, soit directement auprès d'un sujet infecté, soit indirectement en raison de la persistance du virus dans l'air. Le lymphotropisme du virus induit une immunosuppression transitoire (lymphopénie B et T). Ce phénomène d'immunosuppression explique en partie les complications faisant suite à l'infection par le virus de la rougeole [41].

Les complications sont plus fréquentes chez les enfants de moins d'un an et les adultes de plus de 20 ans. Il s'agit surtout de maladies respiratoires et neurologiques. Parmi les complications neurologiques de la rougeole, on décrit 3 types d'encéphalites : l'encéphalomyélite post-infectieuse (EPI), la panencéphalite sclérosante subaigüe (PESS) et l'encéphalite à inclusions rougeoliques ou *Measles Inclusion Body Encephalitis* (MIBE).

La fréquence de l'EPI est estimée entre 0.5 et 1 pour 1000 cas de rougeole. Elle apparaît 5 à 14 jours après l'éruption : on note une réapparition de la fièvre, des céphalées, et des troubles de la conscience. L'évolution est fatale dans 10 à 20% des cas. L'étiologie de cette EPI pourrait être une démyélinisation par réaction auto-immune dirigée contre le virus de la rougeole dans le tissu cérébral. On ne retrouve ni anticorps anti-rougeoleux, ni ARN viral dans le LCR ; leur recherche est donc sans intérêt dans ce type d'atteinte.

La redoutable PESS survient en moyenne 8 ans après l'épisode aigu avec une fréquence d'environ 1 pour 100 000 cas de rougeole. Elle apparaît plus fréquente si la primo-infection a eu lieu pendant l'enfance avant l'âge de 2 ans, et se caractérise par une détérioration mentale, une ataxie et un coma. Les patients atteints de PESS présentent une synthèse intrathécale d'AC anti-rougeoleux dans le LCR. La destruction neuronale affecte aussi bien la substance blanche et grise mais les mécanismes expliquant la survenue de la PESS sont mal connus. Les virus retrouvés dans le tissu cérébral sont ceux circulant au moment de la primo-infection.

La MIBE est la complication neurologique de la rougeole la plus rare et touche essentiellement les patients immunodéprimés, notamment au cours de leucémie aiguë lymphoblastique, d'infection par le VIH, de transplantation d'organe solide ou de cellules souches, de maladie auto-immune. Cette encéphalite apparaît dans les 6 mois qui suivent une rougeole et conduit au décès dans 80% des cas. Le virus répliquatif peut être mis en évidence et isolé à partir de biopsies cérébrales. La sérologie dans ce contexte-là, est très peu informative. Basée sur de rares publications, la ribavirine en IV est actuellement utilisée pour traiter ces encéphalites rougeoliques. Son efficacité dans le traitement de la MIBE est inconnue [43]. Elle inhibe la réplication *in vitro* et a été utilisée avec succès dans le traitement d'infections rougeoliques chez des patients immunocompétents. Elle a été utilisée au moins 4 fois dans le traitement de la MIBE, avec un seul cas où l'état clinique s'est amélioré. Toutefois, le patient a gardé des séquelles neurologiques sévères. Les 3 autres patients traités sont décédés, notamment une femme de 27 ans en 2010 à Caen [42].

L'épidémie de rougeole en France entre 2009 et 2013 a particulièrement touchée les nourrissons de moins d'un an. Le risque pour ces enfants de développer une PESS dans les années à venir est important. Un protocole pour la mise en évidence de la synthèse intrathécale d'AC anti-rougeoleux caractéristiques de la PESS a été réalisé au CNR Rougeole

[41]. Ce protocole utilise le dosage en parallèle dans le sang et le LCR de l'albumine et des AC anti-rougeole, herpes et varicelle-zona. Il permet le calcul de plusieurs index pour établir la synthèse intrathécale d'AC anti-rougeoleux, vérifier l'intégrité de la barrière hémoméningée et éliminer une synthèse polymorphe d'AC dans le LCR.

I. Encéphalites rubéoleuses

La rubéole est une infection virale contagieuse, généralement bénigne qui touche le plus souvent les enfants et les adultes jeunes non vaccinés. Chez la femme enceinte, la rubéole peut entraîner la mort du fœtus ou des malformations congénitales. Le virus se transmet par voie respiratoire *via* les gouttelettes nasales expulsées par les sujets contagieux [44]. La maladie est en général bénigne et se manifeste notamment par une éruption cutanée (exanthème) et une fièvre. Des formes rares d'encéphalites rubéoliques, survenant vers le 10^{ème} jour de la maladie sont possibles, caractérisées par une infiltration lymphocytaire périveineuse, une absence de virus dans les tissus atteints et des séquelles en général peu importantes en pourcentage [45]. L'encéphalite rubéolique est considérée exceptionnelle (1/5000 à 1/10000), de pronostic favorable avec guérison sans séquelles. Cependant, en 2002 dans les îles Tonga et en 2003 dans les îles Samoa, une épidémie de rubéole a sévi, entraînant un taux d'encéphalites anormalement élevé (1/300) et des décès chez les jeunes enfants [46]. Il a aussi été rapporté l'existence exceptionnelle de panencéphalite progressive rubéolique. Elle est analogue en beaucoup de points à la PESS rougeolique [47]. Elle survient environ 10 ans après une rubéole congénitale ou plusieurs années après une infection rubéolique chez un enfant. Elle est caractérisée par une démence progressive, des parésies, dysarthries, mouvements choréiformes, crises d'épilepsie, ataxie cérébelleuse, évoluant en général vers le décès.

m. Encéphalites à Paréchovirus

Les paréchovirus humains, ou HPeV, (famille des *Picornaviridae*) comprennent plus d'une dizaine de génotypes différents, dont 3 sont pathogènes pour l'homme : HPeV1, HPeV2 (anciennement Echovirus 22 et 23) et HPeV3 [48]. Ces virus sont fréquemment impliqués dans les infections chez les enfants de moins de 5 ans. L'HPeV1 est responsable de gastroentérites, d'infections respiratoires et du SNC. L'HPeV2 a été très rarement rapporté comme pathogène humain et l'HPeV3 est responsable, de plus en plus fréquemment, d'infections du SNC.

La séroprévalence des HPeV est de 22% à 2 mois et augmente jusqu'à 88% à 24 mois [49]. Ceci explique que la grande majorité des infections à HPeV survient dans les premières années de vie. L'âge médian des infections à HPeV1 et HPeV3 est respectivement de 14,6 mois et 1,3 mois [48]. L'HPeV1 est associé à des cas sporadiques de méningites aseptiques, d'encéphalites et d'encéphalomyélite [50]. L'HPeV3 est quant à lui, de plus en plus fréquemment impliqué dans les méningo-encéphalites infantiles [51]. Ce génotype, particulièrement neurotrope est à l'origine d'encéphalites du nouveau-né (<3mois). L'absence de pléïocytose est dans ce cas caractéristique. L'évolution est spontanée vers la guérison, mais quelques séquelles neurologiques modérées peuvent subsister.

n. Encéphalites rabiques

La rage est une zoonose virale due à un Lyssavirus, présent dans la salive des espèces hôtes. Les carnivores terrestres (principalement le chien, mais aussi les renards) et les chauves-souris (chiroptères) constituent ces espèces hôtes, ou réservoirs du virus. La transmission survient après morsure, griffure, léchage sur peau lésée ou des muqueuses, d'un animal contaminé. La contamination interhumaine est exceptionnelle.

Le virus rabique est neurotrope : il infecte le système nerveux et affecte son fonctionnement. Il ne provoque pas de lésions visibles mais perturbe le fonctionnement des neurones, notamment ceux régulant l'activité cardiaque et respiratoire [52]. Après quelques jours à quelques mois, l'individu atteint développe un tableau d'encéphalite. Une fois les signes déclarés, l'évolution se fait vers le coma et le décès (souvent par arrêt respiratoire) en quelques heures voire quelques jours. Hormis de rares cas décrits, l'issue est toujours fatale. Un premier cas de survie a été décrit chez un garçon de 6 ans en 1970 [53] ; en 2004, une jeune américaine a aussi survécu après morsure par une chauve-souris, après un lourd traitement et un séjour en réanimation. Mais aucun patient traité de la même façon depuis n'a survécu [52].

La rage est responsable d'environ 59 000 décès annuel dans le monde, principalement en Asie et en Afrique, le plus souvent suite à une morsure par un chien enragé. Chaque année, environ 17 millions de personnes reçoivent un traitement après exposition à des animaux soupçonnés d'être infectés par le virus de la rage.

Aucun cas de rage humaine acquise sur le territoire français métropolitain n'a été rapporté depuis 1924. En 2008, un cas humain a été rapporté en Guyane après morsure par une chauve-souris. Depuis 1970, on dénombre 20 cas de rage humaine d'importation, dont près de la moitié chez des enfants entre 3 et 10 ans : 85% proviennent d'Afrique et 90% sont dus à des morsures de chien [54].

o. Encéphalites à virus JC

La leucoencéphalite multifocale progressive (LEMP) est une infection due à une réactivation d'un Poliomavirus : le virus JC. C'est un virus ubiquitaire touchant 2/3 de la population générale de façon asymptomatique ou paucisymptomatique. Lorsqu'il infecte sa cellule cible, l'oligodendrocyte (producteur de myéline), il entraîne des lésions dites de démyélinisation du

SNC. La LEMP survient habituellement dans un contexte d'immunodépression profonde : patient VIH, hémopathies, traitement immunosuppresseurs [90]. Des cas de LEMP ont aussi été décrits chez des patients immunocompétents ou faiblement immunodéprimés recevant des biothérapies [56]. Le diagnostic est établi grâce à un faisceau d'arguments cliniques, radiologiques et biologiques.

La symptomatologie clinique de la LEMP est aspécifique : trouble neurologique focal progressif, troubles visuels, syndrome cérébelleux, troubles cognitifs. On observe aussi un déficit sensitivomoteur affectant le plus souvent les membres supérieurs.

A l'imagerie, l'aspect est typique : on retrouve à l'IRM des lésions de la substance blanche sous-corticale (fibres en U), bilatérales et asymétriques, un hyposignal en T1 et un hypersignal en T2, et classiquement pas de rehaussement après injection de gadolinium [57].

La positivité dans le LCR de la PCR est inconstante, et le seul diagnostic de certitude repose sur la positivité de la PCR sur la biopsie cérébrale. Il y a en général moins de 20 éléments/mm³ dans le LCR [58], et la protéinorachie est élevée (>2g/L). Un taux élevé de virus JC dans le LCR est de mauvais pronostic pour la survie du patient.

L'évolution clinique est rapide, même si certains patients survivent plusieurs années avec de lourdes séquelles neurologiques. Il n'existe pas de traitement spécifique : l'objectif est la restauration de l'immunité, notamment avec la trithérapie chez les patients VIH.

p. Encéphalites à Arbovirus

Les arboviroses, transmises par des arthropodes hématophages, regroupent des affections différentes quant à leur symptomatologie et surtout leur épidémiologie. Les arbovirus sont classés en plusieurs familles [Figure 13] et les principaux arbovirus responsables d'encéphalites sont regroupés dans la Figure 14.

Le diagnostic biologique d'encéphalite à arbovirus repose sur la détection des anticorps IgM et IgG dans le LCR, avec mise en évidence d'une séroconversion ou d'une augmentation significative du taux des AC [18]. La recherche directe du virus par PCR est utile en cas de prélèvement précoce, pendant la phase de virémie.

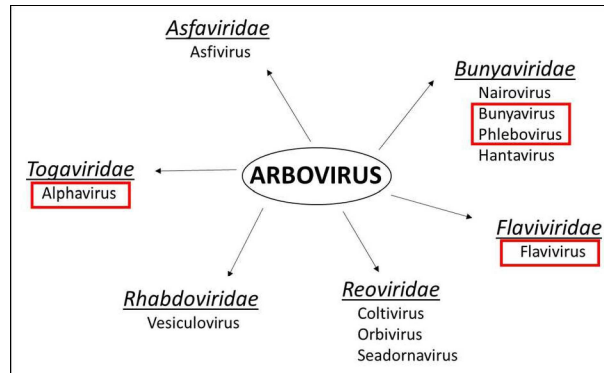


Figure 13. Classification des Arbovirus

(Figure personnelle)

<u>Bunyavirus</u>	<u>Phlebovirus</u>	<u>Flavivirus</u>	<u>Alphavirus</u>
Encéphalite Californienne	Fièvre de la Vallée du Rift	Dengue	Encéphalite équine de l'Est
La Crosse	Toscana	Encéphalite Japonaise	Encéphalite équine de l'Ouest
		Rocio	Encéphalite équine Vénézuélienne
		Murray Valley	Chikungunya
		Saint-Louis	
		Encéphalite à tiques	
		Kunjin	
		West-Nile	
		Zika	
		Fièvre jaune	
		Powassan	

Figure 14. Principaux Arbovirus responsables d'encéphalites

(Figure personnelle)

- Encéphalite à tiques

Les encéphalites à tiques sont dues à des arbovirus TBEV (*Tick Borne Encephalitis Virus*) appartenant à la famille des Flavivirus. Il en existe 2 sous types : l'encéphalite russe (ou orientale) et l'encéphalite d'Europe centrale (ou occidentale) [59]. C'est une cause importante

d'infections du SNC dans les pays d'Europe orientale, centrale et septentrionale, dans le nord de la Chine, en Mongolie et en Russie.

La transmission se fait par morsure de tique infectée, mais il arrive parfois que les vaches et brebis infectées transmettent le virus dans le lait et les produits laitiers non pasteurisés et infectent ainsi l'homme par la voie alimentaire. La transmission interhumaine n'a jamais été décrite. Près de 10 000 à 12 000 cas cliniques d'encéphalites à tiques sont notifiés chaque année dans le monde [60]. En France, l'incidence est très faible : 42 cas ont été rapportés entre 2000 et 2008 en Alsace et Lorraine [20]. L'incidence saisonnière de la maladie coïncide avec une exposition accrue au printemps, en été et en automne.

L'infection est asymptomatique dans 2/3 des cas. Les signes cliniques apparaissent en 7 à 14 jours après la morsure de tique. La maladie évolue en 2 phases : une première phase peu spécifique à type de syndrome pseudogrippal suivie par une seconde phase caractérisée par des atteintes neurologiques notamment méningo-encéphalite, paralysie, atteinte des nerfs crâniens, radiculite [59]. Dans environ 40% des cas d'encéphalite, la maladie entraîne des séquelles permanentes, notamment des atteintes neuropsychiatriques et des cognitives. Le taux de mortalité peut atteindre 20% [60].

Le génome viral peut, dans de rares cas, être mis en évidence par PCR dans le LCR, mais le diagnostic est surtout sérologique avec recherche des anticorps IgM spécifiques dans le LCR.

Le virus Powassan, souvent appelé à tort *Tick Borne Encephalitis Virus* aux Etats-Unis, est très proche du virus des encéphalites à tiques. Il est présent en Amérique du Nord et est responsable d'encéphalites moins sévères. Entre 1958 et 2015, 37 cas humains ont été rapportés, touchant surtout les personnes âgées pendant l'été [20]. Aucun décès n'a été constaté, mais les séquelles peuvent être majeures. L'incidence de ce virus est en augmentation, avec 16 cas déclarés en 2011 par le CDC aux Etats-Unis.

- Encéphalite japonaise

L'encéphalite japonaise est due à un Flavivirus transmis par un moustique du genre *Culex*. C'est la cause majeure d'encéphalites en Asie qui surviennent de façon endémique dans 24 pays des régions OMS de l'Asie du Sud Est et du Pacifique occidental, ce qui représente plus de 3 milliards de personnes exposées au risque. Elle survient de façon épidémique dans les régions tempérées.

Une méta-analyse récente estime l'incidence annuelle des infections dans 24 pays endémiques à 1,8/100 000 habitants par an, allant de 0,01 à 10,6/100 000 habitants par an selon les régions [20]. On dénombre 67 900 cas d'encéphalite japonaise déclarés chaque année, dont 75% sont des enfants.

L'infection est le plus souvent asymptomatique sauf dans 1 cas sur 250 [62]. L'encéphalite est caractérisée par des convulsions, un syndrome parkinsonien et une paralysie aigue flasque [22]. Le taux de létalité est de 20 à 30%, surtout chez les enfants de moins de 10 ans mais les séquelles neurologiques et psychiatriques sont observées chez 30% des survivants.

- Encéphalite à virus West Nile

Le virus West Nile (WNV), ou virus de Nil occidental, est un Flavivirus transmis par un moustique du genre *Culex*. Les oiseaux constituent le réservoir du virus, et les hommes et chevaux sont des hôtes accidentels. Le virus est présent en Afrique, en Asie, aux Etats-Unis et des cas sont régulièrement rapportés en Europe de l'Est et du Sud (Grèce, Italie) depuis les dix dernières années.

L'infection est saisonnière dans les régions tempérées : 93% ont lieu entre juillet et septembre. Les infections dues au WNV sont asymptomatiques dans 80% des cas, et des complications neurologiques surviennent dans moins de 1%, surtout chez les personnes âgées et

immunodéprimées [20]. L'incidence de ces complications (encéphalites, mais aussi des méningites, myélite et paralysie flasque aiguë) est en augmentation chez ces personnes à risque [22]. Un système de surveillance a été mis en place aux Etats-Unis depuis 2001 ; les complications neuroinvasives représentent 41% des cas, dont 63% sont des encéphalites [22]. L'âge médian est de 60 ans, avec une létalité de 12%.

Le WNV continue de se manifester dans le reste du monde. En France, en Camargue, après 30 ans de silence, le virus a causé 76 cas d'encéphalites équine en 2000 et 31 cas en 2004. Il y a eu 7 cas humains dans le Var en 2003 [63].

Le virus Kunjin, sous-type 1 du WNV, est présent en Australie. Il induit des infections moins sévères, et aucun décès n'a été pour l'instant rapporté.

- Encéphalite due au virus Zika

Le virus Zika est un Flavivirus transmis par un moustique du genre *Aedes*. Il a été détecté pour la première fois en Ouganda en 1947, et ne cesse de se propager au niveau mondial.

En France métropolitaine, 176 cas ont été biologiquement confirmés chez des personnes revenant de zone de circulation du virus Zika, dont 7 femmes enceintes et une complication neurologique [64].

Les infections sont souvent asymptomatiques (70 à 80%) ; les symptômes et signes cliniques sont de type pseudogrippal associés à des éruptions cutanées. Chez les femmes enceintes, la transmission du virus au fœtus peut engendrer de graves anomalies du développement cérébral.

La complication neurologique la plus fréquemment rapportée est le syndrome de Guillain-Barré (voir plus loin). Le lien entre l'infection par le virus et l'apparition d'autres complications neurologiques est en cours d'étude.

En avril 2016, un cas de méningo-encéphalite chez un homme de 81 ans a été rapporté aux îles Solomon. Le diagnostic a été posé grâce à la positivité de la RT-PCR dans le LCR [65].

En août 2016, une femme de 47 ans est décédée au Brésil d'une encéphalite [66]. Le diagnostic a été cette fois sérologique, avec la mise en évidence par ELISA d'IgM dans le sérum et le LCR à J7 après le début des signes cliniques. La séroconversion avec positivité des IgG dans le sérum à J15 permet de confirmer l'infection aiguë. La RT-PCR dans le LCR était négative.

Dans les régions endémiques, le virus Zika devrait donc être considéré comme une cause potentielle d'encéphalite.

- Encéphalites dues au virus de la dengue

Le virus de la dengue (Flavivirus), classé en 4 sérotypes (DEN-1 à DEN-4) est transmis par un moustique du genre *Aedes*. La dengue est une maladie qui sévit principalement dans l'ensemble de la zone intertropicale.

Ces dernières années, *Aedes albopictus* s'est implanté en Amérique du Nord et en Europe, y compris en France.

Désormais le risque de transmission de la dengue est devenu une réalité. En 2010 en France, les 2 premiers cas autochtones de dengue ont été détectés [67].

Le nombre de cas de dengue notifiés chaque année à l'OMS augmente : il est passé de 0,4 millions en 1995 à 3,2 millions en 2015 [63]. Dans les DOM-TOM, les épidémies de dengue ont touché en 2013 les Antilles, la Polynésie française et la Nouvelle-Calédonie.

L'encéphalite est une complication rare et atypique de l'infection par le virus de la dengue [20].

Une étude prospective cambodgienne rapporte 5 cas d'encéphalites à dengue sur 99 cas cliniques d'encéphalites : 4 enfants et 1 adulte, dont 2 ont été fatales [68].

Au Brésil, une étude prospective entre janvier 2005 et juillet 2006 rapporte 498 cas confirmés de dengue, dont un cas d'encéphalite et deux cas de méningoencéphalites [69].

La dengue doit donc être une cause potentielle d'encéphalite à considérer.

- Encéphalites dues au virus Toscana

Le virus Toscana est un Phlebovirus transmis par des mouches de sable du genre *Phlebotomus*.

Il est présent dans tout le bassin méditerranéen, et plusieurs cas d'encéphalites ont été rapportés, notamment en France [20]. L'incidence des encéphalites est estimée à 1,5% en France selon une étude nationale prospective [21].

La plupart des infections à Toscana sont des pathologies bénignes d'évolution favorable mais des cas d'encéphalites ont été décrits [Tableau 7].

Publications	Doudier et al. [71]	Bartels et al. [72]	Papa et al. [73]	Howell et al. [74]	Osborne et al. [75]
Age	76	73	49	82	65
Sexe	Homme	Homme	Femme	Homme	Homme
Lieu de résidence / voyage	Marseille (résidence)	Italie, Toscane (voyage)	Grèce (résidence)	Italie (voyage)	Sicile (voyage)
AC spécifiques (sérum)	Positifs	Positifs	Positifs	-	Positifs
AC spécifiques (LCR)	-	-	-	Positifs	Positifs
PCR (LCR)	Négative	Négative	Positive	-	Positive
Evolution	Guérison	Décès	Guérison	Guérison	Guérison

Tableau 7. Cas décrits d'encéphalites à virus Toscana dans le bassin méditerranéen ou en retour de voyage

(Tableau personnel)

- Encéphalites dues au chikungunya

Le virus chikungunya est un Alphavirus transmis par les moustiques du genre *Aedes*. Il est présent au niveau mondial, en Amérique, Europe, Asie du Sud Est et en Afrique.

Il est responsable d'atteintes articulaires très invalidantes, d'où son nom : « qui marche courbé en avant » en langue Makondée. Les formes sévères n'étaient qu'exceptionnellement décrites avant l'épidémie de 2005 survenue à l'île de la Réunion. Cette épidémie a permis de montrer l'existence de formes neurologiques graves, notamment des méningo-encéphalites. 12 patients ont été atteints (6 nouveau-nés et 6 adultes) de méningo-encéphalite sur plus de 7000 cas d'infections, et aucun décès ni aucune séquelle n'a été observé [20].

q. Encéphalites post-infectieuses

Parmi les encéphalites liées aux infections, on distingue les encéphalites infectieuses par agression directe du pathogène, et les encéphalites post-infectieuses, liées à un mécanisme immunologique. L'encéphalite post-infectieuse, aussi appelée encéphalomyélite aiguë disséminée (*acute disseminated encephalomyelitis* [ADEM]) est définie par une atteinte inflammatoire démyélinisante multifocale de la substance blanche du SNC. Elle est médiée par un mécanisme auto-immun et s'installe le plus souvent suite à une infection ou une vaccination (antigène étranger).

L'ADEM est plus fréquente chez l'enfant que chez l'adulte [77] ; il semble exister une prédominance saisonnière, avec un pic en hiver et un au printemps. Une infection ou une vaccination sont les facteurs déclenchants les plus fréquents. On retrouve ceux-ci dans environ 75% des cas de l'enfant et dans 45 à 50% des cas chez l'adulte. L'incidence de l'ADEM est estimée chez l'enfant entre 0,4 et 0,8/100 000 par an [78]. On ne dispose pas de données chez l'adulte.

Les formes originales d'ADEM post-infectieuses ont été décrites dans les jours suivants l'apparition d'éruptions exanthémateuses (rougeole, rubéole, varicelle). La fréquence de ce type d'ADEM dans les pays développés a diminué avec les campagnes de vaccination. Ainsi

actuellement dans les pays occidentaux, la plupart des ADEM post-infectieuses sont observées après des infections non spécifiques (infections respiratoires, gastro-entérites). Les principaux cas d'ADEM post-infectieuses et post-vaccinales sont rapportés dans le [Tableau 8](#). Le délai maximal entre infection et développement des symptômes neurologiques pour faire le diagnostic d'ADEM post-infectieuse est de 30 jours. Il est de 3 mois pour les ADEM post-vaccinales [77].

Le tableau encéphalitique est brutal, associant fréquemment des troubles de la conscience, des convulsions, de la fièvre et une raideur méningée. L'IRM est essentielle au diagnostic, montrant des lésions diffuses ou multifocales de la substance blanche du SNC.

Infections	Vaccinations
Virus	
Rougeole (1/1000) ^a	Rage Vaccin neural type Semple (1/300–1/7000) ^a
Rubéole (1/20 000) ^a	Vaccin non neural (<i>human diploid cell</i>) (<1/75 000) ^a
Varicelle (1/10 000) ^a	Diphtérie–tétanos–coqueluche (0,9/100 000) ^a
Oreillons	Poliomyélite
Influenza A ou B	Variole (3/665 000) ^a
HIV	Rougeole (vaccin vivant) (0,1/100 000) ^a
HTLV-1	Encéphalite japonaise (0,2/100 000) ^a
Hépatites A ou B	VHB (dix cas décrits) ^a
HSV, EBV, CMV, HHV6	Influenza
Coxsackie	Fièvre jaune
Coronavirus	
Bactéries	
Streptocoque	
Chlamydiae	
Campylobacter	
<i>Mycoplasma pneumoniae</i>	
Legionella	
Leptospira	
<i>Borrelia burgdorferi</i>	
<i>Rickettsia rickettsii</i>	

^a La fréquence est indiquée entre parenthèses quand elle est connue.

Tableau 8. Causes d'ADEM rapportées dans la littérature, d'après [77]

L'analyse du LCR peut montrer des anomalies aspécifiques (pléïocytose, hyperprotéinorachie), mais aucun agent infectieux n'est détecté.

Il n'existe pas de marqueur biologique spécifique de la maladie, le diagnostic est basé sur un faisceau d'arguments anamnestiques, cliniques et radiologiques [Figure 15].

L'évolution est généralement favorable sous traitement immunomodulateur : corticoïdes intraveineux, immunoglobulines polyvalentes et échanges plasmatiques.

La mortalité de l'ADEM est actuellement inférieure à 5% chez l'enfant et d'environ 8% chez l'adulte [77].

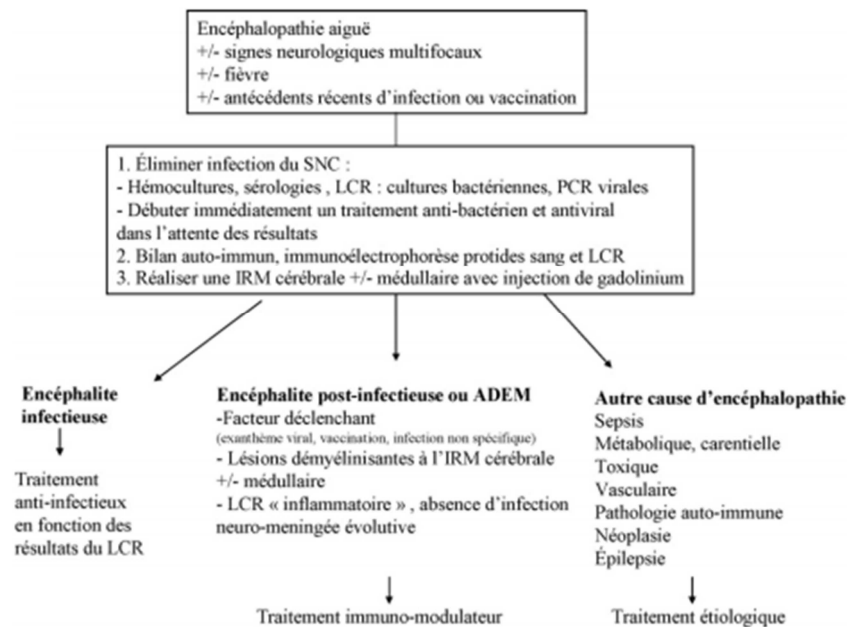


Figure 15. Approche diagnostique d'une encéphalomyélite aiguë disséminée (ADEM), d'après [77]

C. Rhombencéphalites virales

Le terme de rhombencéphalite désigne l'inflammation du rhombencéphale, ou cerveau postérieur, et concerne donc simultanément le bulbe rachidien, la protubérance annulaire (ou pont de Varole) et le cervelet [Figure 16].

Les termes de rhombencéphalite et d'encéphalite du tronc cérébral sont utilisés de façon interchangeable par la plupart des auteurs, bien que les localisations anatomiques de ces 2 atteintes soient différentes.

Les étiologies des encéphalites incluent les infections, les maladies auto-immunes et les syndromes paranéoplasiques [Tableau 9] [104].

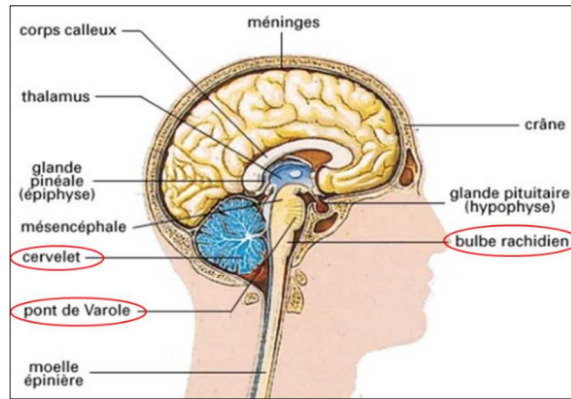


Figure 16. Coupe longitudinale du cerveau

<http://www.lecorpshumain.fr/anatomie/le-cerveau/le-cerveau.html>

Listeria monocytogenes est la cause la plus fréquente de rhombencéphalite infectieuse, suivie par l'EV71 et l'HSV. Le virus de l'encéphalite japonaise est aussi une cause fréquente de rhombencéphalite, mais uniquement dans les régions endémiques d'Asie.

La paralysie des nerfs crâniens est retrouvée dans 75% des rhombencéphalites [105] et l'ataxie cérébelleuse est fréquente. Une altération de la conscience, une confusion, de la fièvre et un méningisme sont plus souvent rapportés lors des rhombencéphalites d'origine infectieuses.

L'analyse du LCR met en évidence une pléiocytose quasi constante, pouvant aller de 5 à plus de 500 éléments/mm³, avec une formule panachée dans la plupart des cas.

Le traitement probabiliste recommandé est l'association de l'amoxicilline et de l'aciclovir, actifs l'un contre la *Listeria* et l'autre contre l'Herpès, qui sont les 2 agents les plus communément impliqués et possédant un traitement efficace.

L'EV71, à l'origine notamment des syndromes pieds-mains-bouche, est connu pour induire des manifestations neurologiques parfois graves. Depuis une dizaine d'années, des épidémies régulières surviennent en Asie / Pacifique, notamment en 1998 à Taïwan, où la mortalité des infections neurologiques à EV71 a atteint 11%. Plus récemment, des cas sont survenus en Europe, dont un cas mortel en France en avril 2007 chez un garçon de 17 mois [106].

L'HSV a été rapporté dans 24 cas de rhombencéphalites au moins [107]. L'âge médian était de 41,4 ans (54% d'hommes). Le rhombencéphale était touché spécifiquement dans 54%, et était associé à une atteinte du lobe temporal dans 42% et du lobe frontal dans 33%.

Cliniquement on notait une atteinte ophtalmique (mouvements oculaires anormaux, nystagmus, ptosis) dans 81%, des déficits d'autres nerfs crâniens et de la fièvre (69%), des céphalées (50%), une ataxie (38%), une dysphagie (31%).

La cellularité du LCR était variable, en moyenne de 93 éléments/mm³ (de 0 à 465 éléments/mm³), avec prédominance de formules panachées.

La mortalité était de 22% pour les patients traités par aciclovir et de 75% pour les patients non traités par aciclovir.

Les cas de rhombencéphalite à EBV sont rares : 4 selon Moragas et al. [105]. L'âge médian des patients (100% de femmes) était de 20 ans. L'ataxie, la fièvre et l'altération de l'état de conscience sont les principaux signes cliniques associés. La cellularité, plus faible que pour l'HSV, était en moyenne de 24 éléments/mm³, représentés uniquement par des lymphocytes. Crawford et al [108] rapporte 3 cas de rhombencéphalites à HHV6 chez des enfants immunocompétents (de 9 mois à 3 ans). Une légère fièvre ainsi que des symptômes respiratoires et une ataxie sont les signes cliniques communs, et la cellularité du LCR reste modérée (de 23 à 157 éléments/mm³).

Etiology	Frequency ^a
Infectious	
<i>Listeria</i>	Common
Enteroviruses	
Enterovirus 71	Common
Bulbar poliomyelitis	Now very rare
Coxsackievirus A16	Very rare
Echovirus	Very rare
Flaviviruses	
Japanese encephalitis	Common
St. Louis encephalitis	Very rare
West Nile virus	Rare
Herpes viruses	
HSV	Uncommon
EBV	Rare
HH6	Rare
CMV	Very rare
VZV	Very rare
Other infections	
Bacterial RE	
TB	Rare
Pneumococcus	Very rare
<i>Brucella</i>	Very rare
<i>Borrelia</i> (Lyme disease)	Very rare
<i>Salmonella</i>	Very rare
<i>Legionella</i>	Very rare
<i>Mycoplasma</i>	Rare
Viral RE	
Rabies virus	Very rare
Eastern equine encephalitis	Very rare
Adenovirus	Very rare
Influenza A	Very rare
Other	
Melioidosis	Rare
<i>Aspergillus</i>	Very rare
Mucormycosis	Very rare
<i>Nocardia</i>	Very rare
Cysticercosis	Very rare
Toxoplasmosis	Very rare
Autoimmune	
Behcet disease	Common
SLE	Very rare
Relapsing polychondritis	Very rare
Sjogren's syndrome	Very rare
Sarcoidosis	Very rare
Vogt-Koyanagi-Harada	Very rare
Paraneoplastic	Uncommon
Other	
Lymphoma	Very rare

Tableau 9. Etiologies des rhombencéphalites / encéphalites du tronc cérébral

^aFréquence : « common » indique une centaine de cas « uncommon » indique une douzaine ou plusieurs douzaines de cas « rare » indique entre 7 et 12 cas et « very rare » indique de 1 à 6 cas

RE Rhombencéphalite ; SLE Lupus érythémateux systémique; TB Tuberculose

(Jubelt B. Rhombencephalitis / Brainstem Encephalitis. Curr Neurol Neurosci Rep 2011)

D. Syndrome de Guillain-Barré

Le syndrome de Guillain-Barré (SGB), ou polyradiculonévrite démyélinisante aiguë, est la cause la plus fréquente et la plus sévère de paralysie aiguë. Il fait suite à un épisode infectieux dans la plupart des cas, et se traduit par une paralysie qui débute le plus souvent au niveau des membres inférieurs puis remonte vers le haut du corps, pouvant atteindre les muscles respiratoires et les nerfs crâniens.

L'incidence en Europe et en Amérique du Nord est estimée entre 0,8 et 1,9/100 000 habitants par an [79]. Le SGB touche plus fréquemment les adultes que les adolescents et les enfants.

Dans une étude rétrospective incluant 5469 cas de SGB entre 2000 et 2014, l'incidence était de 1,71/100 000 habitants par an, avec une mortalité associée de 1,61%. L'âge médian était de 52 ans, dont 61% d'hommes [80].

Les agents infectieux les plus communément en cause sont le *Campylobacter jejuni* (25 à 50%), le CMV, l'EBV, le virus Influenza A, le *Mycoplasma pneumoniae* et l'*Haemophilus influenzae*. Depuis l'émergence des arboviroses, on observe une augmentation des SGB, parallèlement à certaines épidémies de virus zika et chikungunya dans le monde [79].

Le SGB est une urgence neurologique et nécessite une hospitalisation le plus rapidement possible. Le diagnostic est essentiellement clinique.

L'analyse du LCR montre une dissociation albumino-cytologique et une hyperprotéinorachie, qui peut être retardée de quelques jours, et atteindre plusieurs g/L. La dissociation albumino-cytologique, c'est-à-dire l'élévation importante du taux d'albumine dans le LCR malgré une cellularité normale, est évocatrice d'un SGB, bien que non spécifique [81].

La primo-infection par CMV représente la deuxième cause infectieuse des SGB en terme de fréquence. Dans étude prospective française, 506 patients ont été hospitalisés pour un SGB [82]. Parmi eux, 63 (12,5%) avaient une primo-infection CMV dans les semaines précédentes.

Le risque estimé de développer un SGB après une primo-infection CMV est compris entre 0,6 et 2,2 cas de SGB pour 1000 primo-infections à CMV [83].

Sur le plan épidémiologique, une association temporelle entre le nombre de cas de syndromes grippaux et de SGB déclarés a été rapportée [84], ainsi qu'une association entre le nombre de cas hebdomadaires de gripes confirmées au laboratoire et le nombre de cas de SGB [85]. Une étude française a permis d'estimer l'incidence du SGB associé à la grippe entre 4 et 7 cas de SGB pour 100 000 cas de grippe [83].

L'association entre la vaccination anti-grippale et la survenue de SGB a été observée aux Etats-Unis depuis 1976, où une vaccination massive de plus de 45 millions de personnes a été soudainement interrompue suite à une augmentation significative du nombre de SGB (plus de 500, dont 25 décès). Pendant la campagne vaccinale de 2009 contre le virus influenza H1N1, une surveillance par les autorités sanitaires américaines a été mise en place ; elle a permis de mettre en évidence une corrélation entre la vaccination et la survenue de SGB. L'incidence estimée de SGB était de 1,21 pour 100 000 personnes non vaccinées contre 1,92 pour 100 000 personnes vaccinées [86].

Lors de l'épidémie d'infections par le virus zika en Polynésie française en 2013-2014, 42 SGB ont été recensés, soit 17 fois plus que la normale [87]. Sur ces 42 patients atteints de SGB, 37 (88%) ont présenté un syndrome viral compatible avec une infection par le virus zika quelques jours auparavant et tous (100%) possédaient des AC spécifiques contre le virus zika. Après 3 mois, aucun patient n'est décédé, et 24 (57%) pouvaient marcher sans assistance.

Le virus zika est donc devenu un des agents pathogènes potentiellement responsable de SGB, surtout dans les pays où le virus est à l'origine d'épidémies.

Une revue de la littérature effectuée entre 2000 et 2015 a permis de recenser 5 SGB sur 64 cas d'infections neurologiques à chikungunya [Tableau 10] [88]. Lors des épidémies de

chikungunya de 2014 en Martinique et en Guadeloupe, 13 cas de SGB ont été rapportés, dont 2 décès et 4 infections graves avec séquelles lourdes [89].

Category B		Category A	
<i>Diagnoses</i>	<i>Count</i>	<i>Diagnoses</i>	<i>Count</i>
Encephalitis	21	Encephalitis	6
Optic neuropathy	18	GBS	3
Neuroretinitis	5		
ADEM	3		
(Encephalo-) Myeloradiculopathy	3		
GBS	2		
Bickerstaff-MFS-GBS	1		
Myelitis	1		
Acute encephalopathy	1		
	<i>TOTAL = 55</i>		<i>TOTAL = 9</i>

Tableau 10. Liste des diagnostics pour les 64 cas d'infections neurologiques à chikungunya de catégories A (probable cas) et B (possible cas) [88]

E. Myélites infectieuses

Les myélites, ou myélopathies, sont des atteintes inflammatoires de la moelle épinière caractérisées cliniquement par des symptômes et signes de dysfonctionnement neurologiques, responsables d'une faiblesse et/ou d'un déficit sensitif.

Cliniquement, on distingue les myélopathies aiguës (<4 semaines) et chroniques (>4 semaines).

Les myélites aiguës sont fréquemment divisées en 2 catégories selon l'extension topographique de l'atteinte : myélites aiguës transverses (MAT) et myélites aiguës partielles (MAP).

Les MAT (de loin les plus fréquentes) sont caractérisées par une lésion unique, habituellement étendue en longueur sur plusieurs segments médullaires. Les atteintes de la motricité sont bilatérales et sévères, avec présence de troubles sphinctériens (vessie neurologique), associées à l'existence d'un niveau sensitif et d'une lésion extensive de la moelle à l'IRM.

Dans les MAP, l'atteinte est strictement sensitive et unilatérale, limitée en hauteur.

Les étiologies des myélites aiguës sont nombreuses : maladies inflammatoires ou auto-immunes (Lupus, sclérose en plaque SEP, sarcoïdose), infectieuses, paranéoplasiques, post-radiques, ou encore idiopathiques (diagnostic d'élimination).

Les myélites chroniques, plus rares, ont plusieurs étiologies : métaboliques (déficit en vitamine B12 ou en cuivre), inflammatoires (SEP progressive), neurodégénératives.

L'IRM médullaire est l'examen essentiel pour établir le diagnostic et l'IRM cérébrale permet d'affiner le diagnostic étiologique. On complète la démarche diagnostique par l'analyse du LCR, importante dans les myélites aiguës, notamment lorsqu'une étiologie tumorale, inflammatoire ou infectieuse est suspectée, en présence d'une IRM normale ou non spécifique.

Cependant, chez 15 à 30% des patients, l'étiologie reste inconnue : on parle alors de myélite idiopathique [91].

Cliniquement, la myélite se traduit par une paralysie aiguë ou une faiblesse progressive, une perte de sensibilité, une fatigabilité musculaire associée à une hyper-réflexie et un signe de Babinski. Les anomalies sensitives incluent des paresthésies, engourdissements et sensations de picotement, voire parfois des sensations douloureuses.

Les myélites infectieuses peuvent être causées par de nombreux virus, bactéries, champignons ou encore parasites [Tableau 11]. Les myélites virales peuvent atteindre la substance blanche, la substance grise, ou la corne antérieure de la moelle épinière. La plupart des atteintes de la substance grise, ou des infections des cellules de la corne antérieure de la moelle épinière sont dues aux EV (*poliovirus*, EV71, *echovirus*, *coxsackievirus A* et *B*) et aux Flavivirus (WNV, encéphalite japonaise et encéphalites à tiques), alors que les atteintes de la substance blanche sont dues aux Herpesvirus (HSV, VZV) [91].

-
- 1. Viral etiology
 - a. DNA viruses:
 - o Herpes simplex virus (HSV)-2
 - o Human herpes viruses 6 and 7
 - o Varicella-zoster virus
 - o Cytomegalovirus
 - o Epstein-Barr virus
 - b. RNA viruses:
 - o Flaviviruses: dengue, Japanese encephalitis virus, St Louis virus, tick-borne virus
 - o Orthomyxoviruses: influenza A
 - o Paramyxoviruses: measles, mumps
 - o Picornaviruses: coxsackie viruses A and B, echoviruses, enterovirus-70 and -71, hepatitis A and C, poliovirus type 1, 2, and 3
 - 2. Bacterial etiology
 - a. *Mycoplasma pneumoniae*
 - b. Tuberculosis (*Mycobacterium tuberculosis*)
 - c. Syphilis (*Treponema pallidum*)
 - d. Neurobrucellosis (*Brucella*)
 - e. *Listeria monocytogenes*
 - f. Lyme/Borreliosis (*Borrelia burgdorferi*)
 - g. *Streptococcus pneumoniae*
 - h. *Staphylococcus aureus*
 - i. *Rickettsiae* (*R. rickettsii* and *R. tsutsugamushi*)
 - j. *Chlamydia pneumoniae*
 - k. *Bartonella henselae*
 - 3. Fungal etiology
 - a. Primary pathogens: *Cryptococcus neoformans*, *Coccidioides immitis*, *Blastomyces dermatitidis*, *Histoplasma capsulatum*
 - b. Secondary pathogens/opportunistic agents: *Candida* species, *Aspergillus* species, *Zygomycetes*
 - 4. Parasitic etiology
 - a. *Schistosoma* species
 - b. *Toxocara canis*
 - c. *Echinococcus* species
 - d. *Taenia solium*
 - e. *Trichinella spiralis*
 - f. *Plasmodium* species
-

Tableau 11. Etiologies infectieuses des myélites [91]

Jusqu'à la campagne de vaccination mondiale de l'OMS en 1988, la poliomyélite était la première cause de myélite aiguë. En 2016, le nombre de cas de poliomyélite a atteint le niveau le plus bas jamais enregistré : 37 cas confirmés, au Nigeria, en Afghanistan et au Pakistan [92]. L'EV71 induit des tableaux de « paralysie flasque aigue ressemblant à la poliomyélite et l'encéphalite avec atteinte du tronc cérébral et de la moelle, associée à une défaillance cardio-pulmonaire » [93]. Il est à l'origine d'épidémies régulières, notamment en Asie, parfois considérables, comme en Chine, avec 490 000 cas de syndromes pieds-mains-bouche dont 78 décès (la plupart dus à des encéphalites, méningo-encéphalites, et aussi paralysies flasques aiguës) [94]. Moins fréquemment, les Echovirus et Coxsakievirus sont responsables de paralysie flasque aiguë, en général de gravité moindre [95-98].

Les Herpesvirus sont probablement la cause la plus fréquente de myélite transverse, soit par invasion virale directe, soit par des mécanismes immuns. Comme l'HSV et le VZV sont latents dans les ganglions trijumeau et sacré, ils peuvent se réactiver et induire des encéphalites et méningites, mais aussi des myélites transverses lors d'une réactivation au niveau de la moelle épinière. L'HSV est à l'origine de différents types de myélites, allant de la forme mineure avec guérison sans séquelles, à la forme grave nécrotique avec séquelles irréversibles. L'HSV1 est plus fréquemment responsable de myélites chez les enfants, alors que c'est l'HSV2 chez les adultes [91].

Les myélites sont une complication peu fréquente des infections à VZV, dont la plupart surviennent chez des patients immunodéprimés. Chez ces patients, la myélite est due à une invasion virale directe de la moelle épinière par le VZV. La plupart des patients présentent un zoma dermatologique 1 à 3 semaines avant l'apparition de la myélite, qui est en général subaiguë et asymétrique, et associée initialement à une faiblesse des membres inférieurs [91].

Les méningites et encéphalites sont les manifestations cliniques les plus fréquentes du virus des encéphalites à tiques. Les paralysies flasques, caractéristiques des méningoencéphalomyélites, surviennent pendant la phase fébrile de l'infection. Les myélites surviennent généralement en association à l'encéphalite, et sont rarement la seule manifestation des infections à TBEV [99].

La paralysie flasque (syndrome pseudopoliomyélitique) est un des signes majeurs et habituels de la méningo-encéphalite sévère due au virus de l'encéphalite japonaise [100]. Il est fréquent, surtout chez l'enfant de moins de 10 ans, que persistent des séquelles neurologiques plus ou moins sévères, notamment une faiblesse musculaire voire des paralysies (en particulier des nerfs crâniens et des membres). La plupart de ces séquelles neurologiques régressent, parfois complètement, en deux à trois ans.

Les infections neuroinvasives dues au WNV incluent des méningites, encéphalites et/ou paralysies flasques aiguës, plusieurs de ces atteintes pouvant être retrouvées. Environ 10% des patients présentant une infection neuroinvasive développent une paralysie flasque aiguë [91]. Durant l'été 1999, la première épidémie d'encéphalites à WNV est survenue à New York. Parmi les 59 patients, 27% présentaient une faiblesse musculaire, et 10% une paralysie flasque aiguë [101].

F. Paraparésie spastique tropicale

Isolé en 1980 aux Etats-Unis, le virus HTLV-1 (*Human T cell Leukemia/Lymphoma virus* de type 1) est le premier rétrovirus humain à avoir été découvert. Dix à vingt millions de personnes sont infectées par ce virus à travers le monde [102]. Les foyers majeurs d'infection endémique à HTLV-1 sont localisés au sud-ouest du Japon, dans les Caraïbes, en Amérique latine et en Afrique tropicale [Figure 17].

La séroprévalence est de 3% aux Antilles françaises et en Guyane, et elle est de 0,003% en France métropolitaine [103]. Dans les zones de forte endémie, la séroprévalence augmente avec l'âge.

Dans 5% des cas d'infections à HTLV-1, les personnes développent soit un cancer, l'ATLL (*adult T cell leukemia/lymphoma*), soit une neuromyélopathie.

La paraparésie spastique tropicale, ou neuromyélopathie associée à HTLV-1, est une pathologie de l'adulte, avec prédominance féminine, survenant entre 40 et 50 ans. Le début est en général insidieux, marqué par des lombalgies et des troubles urinaires. La progression de la maladie est variable, cependant après 10 ans d'évolution, près de 50% des patients sont grabataires [102].



Figure 17. Répartition mondiale des infections à HTLV-1

(Gessain A, Cassar O. Epidemiological aspects and world distribution of HTLV-1 infection. *Front Microbiol* 2012)

A la phase d'état, le tableau clinique est dominé par une paraparésie ou une paraplégie spastique et symétrique. Les signes sensitifs sont généralement modérés et l'état général est conservé au début de la maladie. Les troubles sphinctériens sont fréquents.

L'examen du LCR montre une pléïocytose modérée (<50 éléments/mm³) à prédominance lymphocytaire, et la protéinorachie est normale [103].

Plusieurs traitements font l'objet d'essais thérapeutiques (immunoglobulines, interféron, corticoïdes), mais le traitement est essentiellement symptomatique. Il n'existe pour l'instant pas de vaccin contre l'HTLV-1.

4. Approche syndromique des infections du SNC

A. Contexte actuel

Les infections du SNC, notamment les méningites et encéphalites, peuvent être dues comme nous venons de le voir à de très nombreux agents infectieux. Les méningites à EV, de loin les causes de méningite les plus fréquentes en France, ne disposent que d'un traitement symptomatique et sont à l'origine dans la plupart des cas d'infections bénignes. Les méningites bactériennes [Figure 18] nécessitent pour leur part une antibiothérapie ciblée.

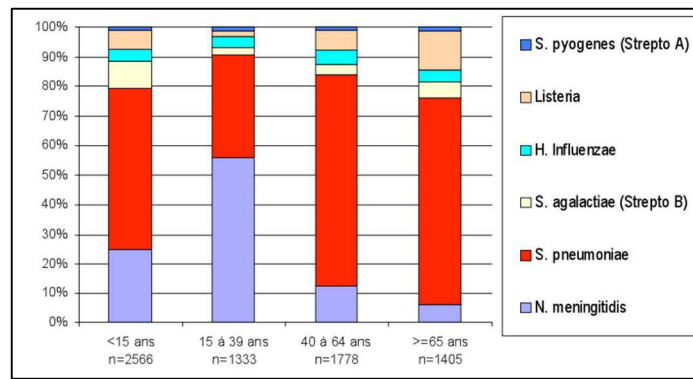


Figure 18. Etiologie des méningites bactériennes chez les enfants et les adultes en France entre 2005 et 2010 (EPIBAC/InVS)

En France, l'HSV1 est la première cause d'encéphalite infectieuse, suivi par le VZV, *Mycobacterium tuberculosis* et *Listeria monocytogenes* [Figure 19].

Les méningites et encéphalites infectieuses sont des urgences thérapeutiques ; un retard au diagnostic engendre un retard dans la prise en charge adaptée (antibiothérapie ciblée), un taux de complications plus important, une prolongation des durées de séjour, la prescription d'examen complémentaires le plus souvent inutiles et coûteux, et la surconsommation d'antibiotiques et d'antiviraux.

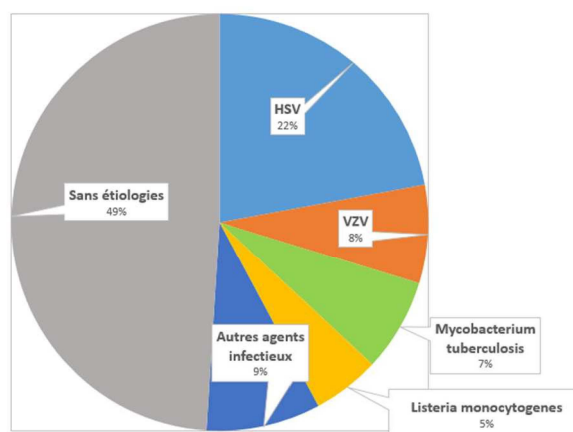


Figure 19. Etiologies des encéphalites infectieuses en France

(Mailles et al. CID 2009) [21]

Toutes les recommandations actuelles imposent d'effectuer en première intention et le plus rapidement possible une PL à la recherche d'agents bactériens (examen direct, cultures,

recherche d'antigènes et parfois biologie moléculaire) et de virus (biologie moléculaire uniquement). En dehors de tout contexte épidémiologique, l'HSV et l'EV sont les virus à rechercher en priorité. De plus, depuis la 17^{ème} Conférence de Consensus en Thérapeutique Anti-infectieuse, il est recommandé « de rechercher le génome viral de l'EV par RT-PCR en cas de méningite avec faible suspicion de méningite bactérienne, ceci permettant d'éviter la réalisation de PCR bactériennes et d'arrêter un traitement antibiotique si celui-ci avait été initié » [5]. Mais plusieurs problèmes restent récurrents :

- Il existe de nombreuses exceptions à l'algorithme d'orientation sur les bases de la cytologie (absence de pléïocytose, formule à polynucléaires neutrophiles malgré une étiologie virale...)
- La sensibilité de la lecture de l'examen direct (coloration de GRAM) et de la recherche d'antigènes solubles dans le LCR est faible
- Les cultures sont parfois non contributives : méningite bactérienne décapitée par les antibiotiques, pousse bactérienne difficile, cultures après enrichissement avec allongement du délai de rendu des résultats...
- Volume d'échantillon souvent insuffisant, nécessitant une hiérarchisation dans le choix des tests

L'approche syndromique des infections du système nerveux central permet d'optimiser la prise en charge du patient à travers la recherche en priorité des agents infectieux les plus fréquemment rencontrés. Le développement récent des techniques de PCR Multiplex s'inscrit dans cette problématique actuelle.

B. Outils disponibles

Il existe plusieurs types de PCR Multiplex disponibles sur le marché ; certains permettent la détection uniquement de virus et d'autres contiennent un panel plus large avec détection simultanée de virus, de bactéries et de levures [Tableau 12].

Automate	Virus				Bactéries		Levures	Total
Clart® Entherpex	HSV1 HSV2 VZV	CMV EBV Entérovirus	HHV6 HHV7 HHV8		-	-	-	9 virus
FTD® Neuro 9	HSV1 HSV2 VZV HHV6	CMV EBV Adénovirus HHV7	Entérovirus Paréchovirus Parvovirus B19		-	-	-	11 virus
Eazyplex® Amplex	HSV1 HSV2 VZV				<i>N.Meningitidis</i> <i>S.Pneumoniae</i>	<i>S.Agalactiae</i> <i>L.Monocytogenes</i>	-	7 agents pathogènes: 3 virus 4 bactéries
Seeplex® Meningitidis Seegene	HSV1 HSV2	CMV EBV	HHV6 Entérovirus		<i>S.Pneumoniae</i> <i>N.Meningitidis</i> <i>H.Influenzae</i>	<i>L.Monocytogenes</i> <i>S.agalactiae</i>	-	12 agents pathogènes: 7 virus 5 bactéries
MeningoFinder® 2SMART PathoFinder	HSV1 HSV2 VZV	CMV EBV Entérovirus	HHV6 HHV7 HHV8	Rougeole Oreillons Paréchovirus	<i>L.Monocytogenes</i> <i>N.Meningitidis</i> <i>S.Aureus</i> <i>S.Pneumoniae</i>	<i>S.agalactiae</i> <i>E.coli K1</i> <i>B.burgdorferi</i> <i>B.miyamotoi</i>	<i>Cryptococcus gattii</i> , <i>Cryptococcus neoformans</i>	22 agents pathogènes: 12 virus 8 bactéries 2 levures
FilmArray® Meningitis/Encephalitis Panel Biomérieux	HSV1 HSV2	CMV HHV6	Entérovirus Paréchovirus		<i>L.monocytogenes</i> <i>N.Meningitidis</i> <i>S.Pneumoniae</i>	<i>S.agalactiae</i> <i>E.coli K1</i> <i>H.influenzae</i>	<i>Cryptococcus neoformans/gattii</i> (pas de distinction entre les 2 espèces)	14 agents pathogènes: 7 virus 6 bactéries 1 levure

Tableau 12. Outils diagnostique de PCR Multiplex disponibles pour la recherche des agents infectieux responsables d'infections du SNC

(Tableau personnel)

Les kits Clart® Entherpex et FTD® Neuro 9 permettent uniquement la détection de virus et nécessitent une extraction préalable.

Les kits Eazyplex® Amplex, Seeplex® Meningitidis Seegene, et MeningoFinder® 2SMART, PathoFinder, permettent la détection de plusieurs virus et de bactéries, mais nécessitent eux aussi une extraction préalable.

Le système FilmArray®, BioMérieux, est pour le moment le seul à permettre la détection de nombreux agents pathogènes en incluant les étapes d'extraction du génome viral, d'amplification des sondes spécifiques, et de détection. L'avantage notable de ce type de technologie, « *sample to result* », est une suppression des étapes intermédiaires nécessaires avec des techniques classiques de PCR (prétraitement, extraction, manipulations manuelles). L'échantillon de LCR est dans ce cas inséré dans l'automate, qui rend le résultat au bout d'une

heure environ. L'évaluation de cette technologie, ses avantages et inconvénients sont détaillés dans la Partie 2.

C. Place actuelle des techniques de PCR Multiplex

Les infections du SNC sont des maladies infectieuses fréquentes chez les enfants et les adultes ; elles sont de sévérité variable, mais la plupart d'entre elles nécessitent une consultation aux urgences, voire souvent une hospitalisation. Elles induisent souvent des examens complémentaires coûteux, et la prescription d'antibiotiques, parfois inutiles.

Le diagnostic étiologique est souvent impossible grâce aux seuls signes cliniques. L'approche syndromique permet de réaliser un seul prélèvement de LCR, pour une seule technique détectant la grande majorité des agents pathogènes à l'origine d'infections du SNC.

Déjà largement utilisée pour les infections respiratoires, cette approche syndromique est une alternative prometteuse pour palier à certains inconvénients des techniques actuelles.

Quelques études ont été menées à propos de l'évaluation des différents kits commercialisés.

Le kit Seeplex® Meningitidis Seegene, a été évalué dans une étude prospective de 2011 sur 27 contrôles et 78 échantillons de LCR humains [110]. Aucune réaction croisée ni aucun faux positifs n'a été retrouvé. En revanche 6 échantillons, positifs en technique usuelle, étaient négatifs avec le kit testé, et 2 discordances ont été observées sur les échantillons positifs.

Le kit MeningoFinder®, PathoFinder (détection de 6 virus uniquement) a été étudié rétrospectivement en 2008, sur 50 échantillons de LCR [111]. Les résultats étaient concordants avec les techniques usuelles dans 96% des cas. Les limites de détection étaient variables selon les différents virus. Deux échantillons contenant de faibles charges virales d'EBV étaient faussement négatifs avec cette technique. Aucune étude n'est actuellement disponible

concernant le kit MeningoFinder® 2SMART, PathoFinder, permettant la détection de 22 agents pathogènes.

Une étude multicentrique prospective de 8 mois a été menée aux Etats-Unis en 2014 pour évaluer les performances du kit FilmArray® Panel Meningitis/Encephalitis, BioMérieux [112]. Au total, 1560 échantillons de LCR ont été collectés, et les résultats obtenus ont été comparés avec les techniques usuelles (cultures bactériennes et biologie moléculaire). La technique FilmArray® a été effectuée sur des échantillons frais ainsi que sur des échantillons congelés et conservés à -70°C. Les sensibilités obtenues étaient de 100% pour 9 des 14 agents pathogènes recherchés, 95,7% pour les EV, 85,7% pour l'HHV6. Aucune donnée n'est disponible pour *Listeria monocytogenes* ni *Neisseria meningitidis*. La sensibilité pour *Streptococcus agalactiae* était de 0%, du fait de la détection d'un faux positif et d'un faux négatif. La spécificité était de 99,2% pour tous les agents pathogènes. 17 échantillons étaient non valides : 11 tests incomplets (erreur d'instrument ou de logiciel) et 6 contrôles internes non valides. Ce taux d'erreur de 0,38% est en adéquation avec les autres études publiées sur ce kit FilmArray® Panel Meningitis/Encephalitis.

Partie 1 : Etat des lieux des prescriptions des analyses virologiques sur les prélèvements de liquides céphalorachidiens au CHU de Caen entre 2015 et 2016

1. Parcours d'un échantillon de LCR au CHU de Caen : du prélèvement à la réalisation des analyses aux laboratoires de virologie et bactériologie

Cette partie décrit le parcours d'un échantillon de LCR, depuis son prélèvement jusqu'à la réalisation des analyses de virologie et bactériologie, avant la mise en place de l'accueil biologique commun (ABC), soit avant avril 2017. Les modifications de l'organisation depuis cet ABC sont détaillées plus loin.

A. Prélèvement

La PL, ses indications et contre-indications sont décrites en introduction.

Le manuel de prélèvement, nécessaire à la bonne pratique dans les services de soins, est disponible sur l'intranet du CHU et sur le logiciel qualité des laboratoires (PB-TRANS-PC-013).

B. Etiquetage et bons de demande

Les tubes ou pots stériles, une fois la PL réalisée, devraient être étiquetés en théorie par le médecin qui réalise le prélèvement, et qui doit aussi remplir les bons de demande d'examens correspondants aux différents laboratoires [Annexes 1-5 et 13-16]. En pratique, les pots sont préparés et étiquetés par les infirmières, ainsi que les bons de demande. Sur ces bons doivent figurer l'identité du patient, du prescripteur et du préleveur (en toutes lettres), l'unité fonctionnelle (UF) du service, la date et l'heure du prélèvement. Les renseignements cliniques,

souvent absents, sont pourtant nécessaires à l'évaluation de la pertinence des demandes d'analyses et à l'interprétation des résultats par les biologistes. Une fois les analyses cochées sur le bon de demande, les tubes de LCR sont séparés et mis dans plusieurs sachets. Leur envoi dans les différents laboratoires est immédiat.

En cas d'infection du SNC en présence de signes cliniques évocateurs de méningite, encéphalite, myélite, polyradiculonévrite, le LCR est systématiquement envoyé aux laboratoires de biochimie (dosage de protéines, glucose, chlore), de bactériologie (numération des éléments et formule si nécessaire) et de virologie. Il est envoyé de façon non systématique aux autres laboratoires (hématologie et immunologie).

C. Transport vers le laboratoire

Les sachets sont acheminés par les coursiers aux différents laboratoires, à température ambiante, le plus rapidement possible. Les laboratoires du CHU de Caen sont répartis sur deux sites : le niveau 3 du site Côte de Nacre (laboratoires de bactériologie, d'hématologie et de biochimie) et le site Clémenceau (laboratoires de virologie et d'immunologie), à 10 minutes en voiture navette [Figure 20]. Pour ces deux laboratoires, les navettes circulent toutes les heures pour acheminer les prélèvements.

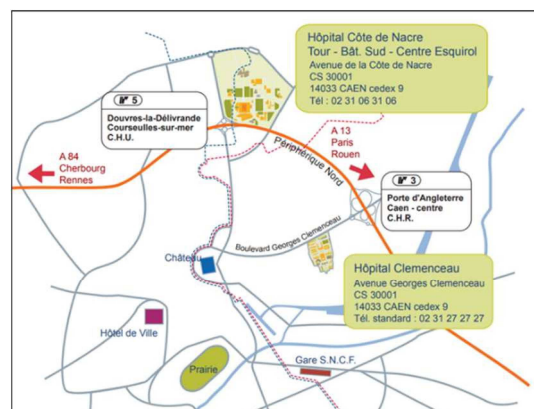


Figure 20. Plan du CHU dans l'agglomération caennaise

file:///C:/Users/garand-al/Downloads/plans-PLAN_CHU_agglo.pdf

Avant avril 2017, chaque laboratoire possédait sa propre réception de prélèvements, et chaque service envoyait spécifiquement ses prélèvements dans chacun des laboratoires. En dehors des horaires d'ouverture du laboratoire de virologie (8h-17h du lundi au vendredi et 8h-14h le samedi), les prélèvements sont acheminés et stockés à 4°C au laboratoire de bactériologie.

La distance entre les deux sites du CHU impose plusieurs problématiques pour le laboratoire de virologie. D'une part le délai entre l'heure du prélèvement et sa réception au laboratoire est plus long que pour n'importe quel autre laboratoire du site Côte de Nacre. D'autre part, il faut noter le manque d'optimisation de l'utilisation des automates: le partage du matériel et des techniques d'analyses (notamment les techniques de biologie moléculaire) ne peut être envisagé dans cette organisation.

D. Réception, enregistrement et non-conformités

Toutes les étapes à partir de la réception au laboratoire suivent des protocoles *via* le système de qualité. Toutes les fiches techniques de réception, d'enregistrement, de réalisation d'une analyse sont référencées dans le logiciel qualité du laboratoire « ARMURE ». Nous les citerons entre parenthèses, mais la liste n'est pas exhaustive.

La réception des prélèvements s'effectue pendant les horaires d'ouverture de chaque laboratoire (PB-VIRO-PC-001). Une permanence est assurée 24h/24 dans les laboratoires de bactériologie par des internes, et dans les laboratoires d'hématologie et de biochimie, par des techniciens. Pour les laboratoires de virologie et d'immunologie, la réception des prélèvements, après fermeture du laboratoire (17h), s'effectue respectivement par les laboratoires de bactériologie et de biochimie. Aucune analyse de virologie (hormis la

recherche du génome de l'Entérovirus) et d'immunologie ne peut être effectuée après cet horaire.

L'enregistrement des analyses est effectué par les agents administratifs. Ils peuvent ainsi déjà mettre en évidence des non-conformités (NC) pré-analytiques, notamment une absence de date ou d'heure de prélèvement, une absence de nom de prescripteur. L'ensemble de ces NC pré-analytiques du laboratoire de virologie est regroupé en [Annexes 6 à 12](#). Le biologiste de signature revoit chaque prescription concernant les LCR, pour s'assurer de la pertinence des analyses demandées, voire ajouter ou supprimer certaines demandes : c'est la revue de prescription.

Après enregistrement des analyses, les aides de laboratoires identifient les tubes une seconde fois avec les étiquettes spécifiques du laboratoire. C'est à ce niveau-là que les non-conformités concernant le prélèvement sont mises en évidence, notamment une quantité insuffisante de prélèvement, une discordance d'identité entre le prélèvement et le bon de demande. Le LCR est un prélèvement précieux : la plupart des échantillons non conformes sont remis en conformité (après appel dans le service notamment) ou une dérogation est faite par le biologiste pour accepter l'échantillon.

E. Accueil Biologique Commun

Depuis avril 2017, un Accueil Biologique Commun (ABC) a été mis en place au niveau 3 du site Côte de Nacre, permettant l'accueil centralisé de tous les prélèvements (PB-ABC-PC-003). De nouveaux bons de demande ont été mis au point par les biologistes de chaque secteur [\[Annexes 13 à 16\]](#). Les analyses sont enregistrées au niveau de l'ABC (PB-ABC-DE-028), et les échantillons sont ensuite transférés dans les différents laboratoires, toujours *via* des navettes pour les laboratoires du site Clémenceau.

Les revues de prescription des biologistes vis-à-vis des analyses prescrites sur les LCR sont beaucoup plus difficiles à mettre en œuvre. Le délai de réception des échantillons au laboratoire de virologie, déjà supérieur à celui des autres laboratoires du site Côte de Nacre du fait de sa localisation, a été majoré depuis la mise en place de l'ABC.

F. Traitement des échantillons et stockage

L'échantillon de LCR est ensuite pris en charge par les techniciennes de laboratoire qui préparent une ou deux fractions aliquotées selon les analyses enregistrées (et selon le type d'extraction des acides nucléiques). L'excédent de LCR, après aliquotage, est conservé dans un tube spécial (Cryotubes Nunc®) puis placé à -80°C : c'est ce qu'on appelle la LCR thèque.

Les échantillons vont être extraits selon 2 protocoles différents. Les extraits d'ARN et d'ADN vont être congelés à -80°C jusqu'à la réalisation de l'analyse, puis seront recongelés et conservés 6 mois à -80°C [Figure 21]. Toutes les recherches de génome viral dans le LCR s'effectuent par des techniques de type PCR.

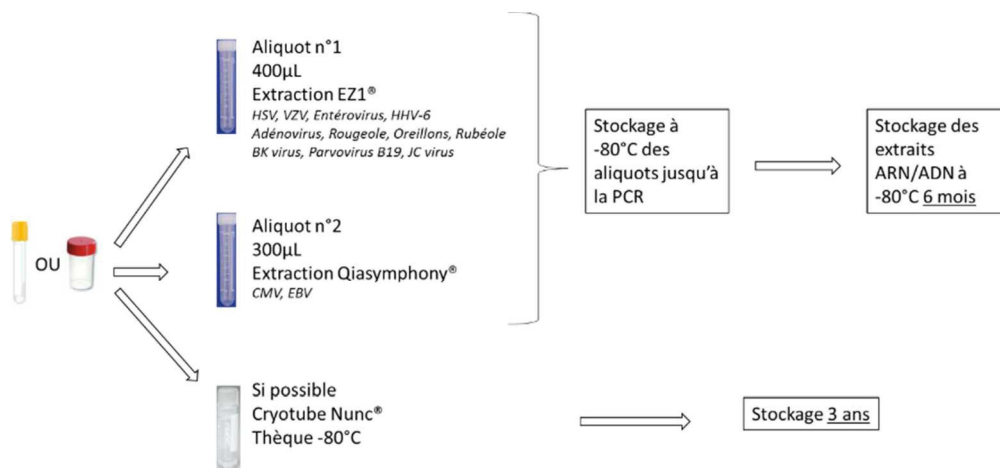


Figure 21. Parcours de l'échantillon de LCR au laboratoire de Virologie

(Figure personnelle)

G. Extraction de l'ARN et ADN :

Il y a 2 automates d'extraction, ou extracteurs, au laboratoire de virologie : l'EZ1[®] et le QIAasymphony[®]. Une extraction manuelle est aussi possible.

L'EZ1[®] (QIAGEN) est utilisé en vue des recherches de l'ADN des virus HSV1, HSV2, VZV, HHV-6, virus JC, Adénovirus, et Parvovirus B19, et de l'ARN des EV, virus de la rougeole, des oreillons et de la rubéole (PB-VIRO-FT-2092). Il utilise la technologie des particules magnétiques pour l'isolation et la purification automatisées des acides nucléiques à partir d'échantillons biologiques.

Il nécessite une prise d'essai de 400µL de LCR. Une dilution de l'échantillon est possible dans du PBS (*Phosphate-buffered saline*, ou tampon phosphate), avec au minimum 200µL de LCR. L'avantage de cette dilution est de pouvoir traiter un certain nombre d'échantillons de LCR de volume insuffisant ; en revanche, elle implique aussi le risque de ne pas détecter certaines charges virales très faibles de virus. L'EZ1[®] peut extraire 1 à 14 échantillons en 43 minutes.

Les échantillons de LCR, contrairement aux autres échantillons (sang, urines, biopsies...), ne nécessitent pas de prétraitement avant leur extraction.

L'extraction comporte 4 étapes : lyse, fixation, lavage et élution. La protéolyse des échantillons s'effectue en présence de protéinase K et de tampon de lyse, qui ensemble garantissent la digestion des protéines d'enveloppe virale et l'inactivation des nucléases. Les lysats sont ensuite soigneusement mélangés aux particules magnétiques pour permettre une adsorption optimale des acides nucléiques viraux à la surface de la silice. Les déchets de lyse sont éliminés durant une séquence d'étapes de lavage utilisant du tampon et de l'éthanol. Enfin, les acides nucléiques viraux de haute pureté sont élués dans le tampon d'élution (AVE) en une seule étape terminale. Le volume d'élution, c'est-à-dire le volume obtenu après l'extraction, est de 90µL.

Pour toutes les techniques que nous allons voir, sauf pour la PCR HHV6, un contrôle interne (CI) est ajouté lors de cette étape d'extraction ; il est donc présent dans l'extrait avec les acides nucléiques.

Le QIASymphony[®], est utilisé en vue des recherches de l'ADN du CMV et de l'EBV (PB-VIRO-FT-2004). Il nécessite une prise d'essai d'au moins 300µL, sans dilution possible en cas de volume insuffisant. Il peut extraire jusqu'à 96 échantillons par lot de 24 en un seul cycle d'environ 1h20. Le principe d'extraction associe la chromatographie d'échange d'anions par pH aux particules magnétiques. Elle comprend 4 étapes : lyse, liaison, lavage et élution. Après protéolyse des échantillons biologiques, l'ADN se fixe aux particules magnétiques. Un barreau aimanté pénètre dans un puits contenant l'échantillon et attire les particules magnétiques, puis se déplace au-dessus d'un second puits dans lequel les particules magnétiques seront libérées [Figure 22].

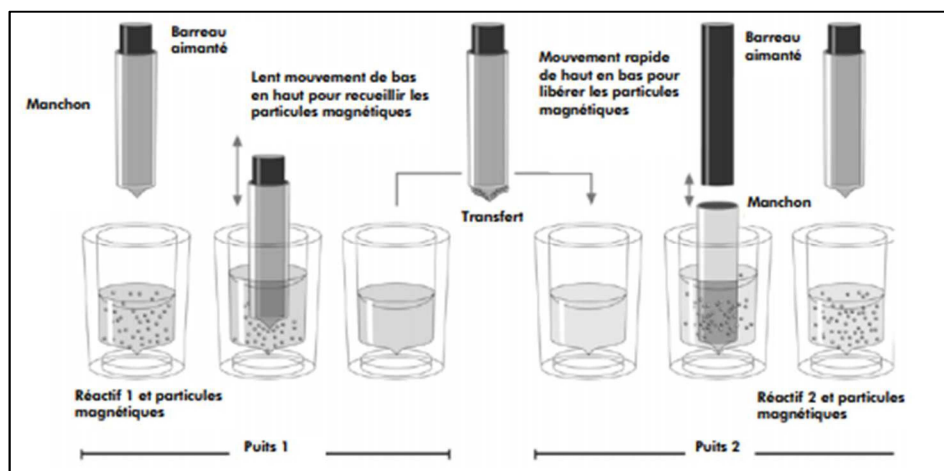


Figure 22. Principe de fonctionnement du QIASymphony

(Manuel d'utilisation, janvier 2015)

Enfin, l'étape d'élution permet d'obtenir un ADN de haute pureté. Le volume d'élution est dans ce cas de 110µL. Le contrôle interne est ajouté lors de cette étape d'extraction, il est donc présent dans les extraits d'ADN.

H. Analyses de biologie moléculaire au laboratoire de Virologie

a. Principe de la PCR en temps réel avec sonde Taqman

La PCR est une technique d'amplification d'ADN *in vitro*. Pour les virus à ARN, une étape de rétro-transcription (transcription de l'ARN en ADN *via* la *reverse transcriptase*) est nécessaire : on parle de RT-PCR. Chaque cycle de PCR est constitué de 3 étapes : dénaturation de l'ADN pour séparer les 2 brins, puis hybridation des amorces aux extrémités de la séquence recherchée, et enfin élongation grâce à l'action d'une enzyme, la Taq polymérase.

La PCR en temps réel est basée sur la détection d'un marqueur fluorescent, dont le signal, détecté en temps réel, est proportionnel à la quantité d'amplicons.

La sonde Taqman, spécifique d'un morceau de séquence à amplifier, est marquée en 5' par un fluorophore appelé « *reporter* » et en 3' par un second fluorophore appelé « *quencher* ». La fluorescence du *reporter* est absorbée par la proximité du *quencher*. Lorsque la Taq polymérase exerce son activité d'élongation, elle dégrade aussi la sonde grâce à son activité exonucléase. Les fluorophores ne sont plus reliés entre eux, et le *quencher* n'exerce plus son activité d'absorption de fluorescence [Figure 23].

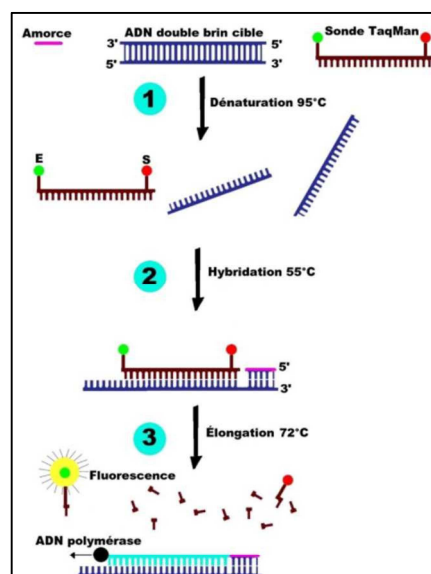


Figure 23. Principe de la PCR en temps réel avec utilisation d'une sonde Taqman

(<http://outils.microbiologiemedicale.fr/plan-amplification-genique/amplification-genique-par-pcr-en-temps-reel/>)

Le signal de fluorescence du *reporter* est proportionnel au nombre de copies polymérisées à chaque cycle de PCR. Le Ct (*Cycle Threshold*) correspond au nombre de cycles d'amplification nécessaire pour obtenir un signal fluorescent significatif par rapport au bruit de fond (valeur seuil). Plus le Ct est petit, plus le nombre de copies d'ADN viral est élevé [Figure 24].

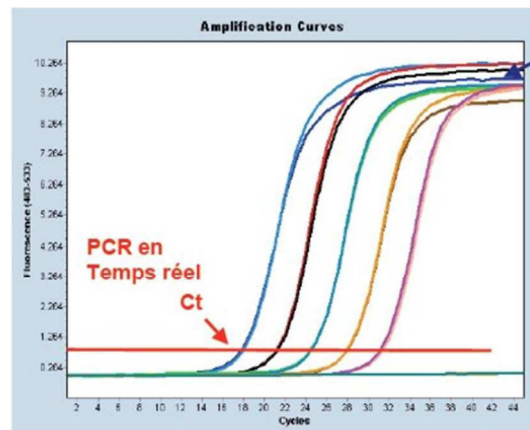


Figure 24. Courbes de fluorescence et Ct obtenus lors d'une PCR en temps réel
(<http://www.carabinsnicois.fr/phpbb/download/file.php?id=7085&mode=view>)

Le problème inhérent à la PCR est le risque de rendre un résultat faussement négatif en raison de présence d'un inhibiteur de l'ADN polymérase dans le milieu. Les substances reconnues comme inhibitrices sont les suivantes : l'hème, l'héparine, certains colorants ou indicateurs de pH (bleu de bromophénol), le phénol, les polyamines. Certains milieux biologiques contiennent des substances inhibitrices dont la nature n'est en général pas connue (urine, selles, LCR) [118]. Suivant la concentration en inhibiteurs, l'action de la Taq polymérase peut être inhibée totalement ou partiellement. La détection des inhibiteurs s'effectue *via* l'utilisation d'un CI intégré dans le prélèvement : il va donc être extrait et amplifié. La validité du CI, dépendant de chaque technique de PCR, permet d'éliminer la présence d'inhibiteurs. Si le CI n'est pas valide, cela traduit la présence d'inhibiteurs : un résultat négatif sera donc rendu « résultat ininterprétable dû à la présence d'inhibiteurs » [Figure 25].

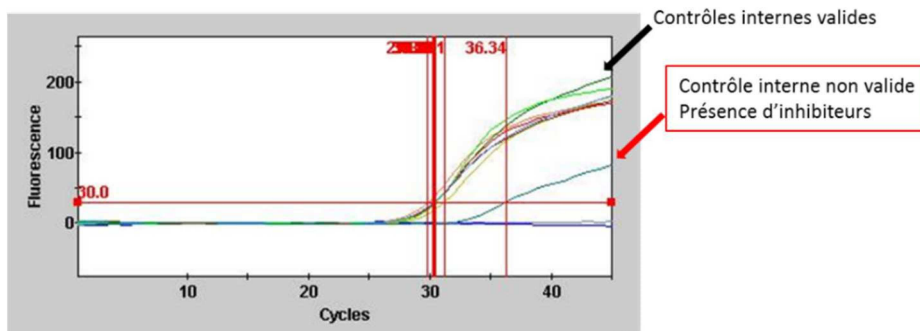


Figure 25. Courbe des contrôles internes de la technique Rougeole : exemple d'inhibiteurs

(Figure personnelle)

b. HSV1, HSV2 et VZV

La trousse r-gène permet de rechercher l'ADN des virus HSV1, HSV2 et VZV par amplification en temps réel après extraction de l'ADN viral (PB-VIRO-FT-2026). L'extraction est automatisée sur l'extracteur EZ1[®]. L'amplification est réalisée au moyen de la technique des sondes d'hydrolyse 5' nucléase Taqman.

La technique est effectuée sur l'automate Rotor-Gene[®], uniquement en qualitatif, par série le lundi, mercredi et vendredi. Elle nécessite 10µL d'extrait ADN pour les 3 virus. La durée du *run*, c'est-à-dire du lancement de l'amplification dans l'automate à la fin de l'analyse des résultats, est d'environ 1h40.

Pour valider la technique, plusieurs conditions sont nécessaires : les témoins positifs, témoins de non contamination (appelé témoin d'extraction TE) et le blanc doivent être conformes. Le témoin positif pour HSV1 est le QS3 fourni dans le kit. Les témoins positifs utilisés pour l'HSV2 et le VZV sont des témoins « maison » préparés à partir de souches d'HSV2 et de VZV et mis en culture. Le TE est constitué d'eau : il est extrait avec les échantillons, et contient donc du Cl. Il permet, comme son nom l'indique, de contrôler la non contamination de l'étape d'extraction. Le « blanc », constitué uniquement d'eau, n'est pas extrait : il permet de contrôler l'étape d'amplification.

Les sondes spécifiques de la cible virale et du CI sont marquée différemment. L'ADN viral et le CI sont donc détectés dans deux canaux de lecture différents à deux longueurs d'ondes différentes (canal *green* pour la cible virale et *yellow* pour le CI). La validation de la technique inclue aussi la validation du CI en s'assurant que l'on obtient un signal pour chaque tube (sauf pour le blanc). Ce CI, témoin d'extraction et d'inhibition, est fourni dans le kit (IC2).

c. EV

La recherche qualitative de l'ARN entérovirus par RT-PCR en temps réel sur Rotor-Gene® est une technique maison adaptée de la technique décrite par Verstrepen et al en 2001 [113] (PB-VIRO-FT-2075). L'amplification est réalisée après extraction automatisée sur l'EZ1®. Elle utilise les amorces NC1M, E2 et la sonde d'hydrolyse OL27LC marquée par 2 molécules fluorescentes (sonde Taqman). Le CI est un bactériophage MS2. Le témoin positif est obtenu par culture cellulaire sur cellules MRC5 d'une souche de Référence « ECHO 30.35.30.483 » : 2 dilutions (1 TCID50 et 10 TCID50) sont utilisées.

La validation de la technique inclue là aussi la validation des deux témoins positifs, du blanc, du TE et du CI. Dès lors qu'un échantillon est positif, un génotypage de la souche est systématiquement effectué.

Le volume d'extrait ARN nécessaire est de 5µL par échantillon. La technique est réalisée par série le lundi, mercredi et vendredi ; chaque *run* dure environ 2h.

d. HHV6

La recherche qualitative de l'ADN HHV6 par PCR en temps réel sur l'automate SmartCycler® est une technique « maison » adaptée de la technique décrite par Gautheret-Dejean et al en 2002 [114] (PB-VIRO-FT-2041). Elle est réalisée après extraction automatisée sur l'EZ1®. La

révélation des produits d'amplification s'effectue à chaque fin de cycle par le principe des sondes d'hydrolyse Taqman.

Il n'y a pas de CI. La validité de la technique est évaluée par la conformité du TE, du blanc et des témoins positifs. Les témoins positifs sont obtenus à partir d'une culture de plasmides TOPO[®] contenus dans une souche bactérienne, sur une gélose sélective ; 2 dilutions, à 10⁴ et 10⁶ copies/mL sont ainsi préparées.

Le volume d'extrait ADN nécessaire pour la technique est de 10µL par échantillon. La technique est réalisée par série une fois par semaine, en général le jeudi ou le vendredi selon l'activité du laboratoire ; chaque *run* dure environ 1h30.

e. Virus JC

La recherche qualitative de l'ADN du virus JC par PCR en temps réel sur le SmartCycler[®] est réalisée avec le kit JC virus R-gene[®] et le kit DICO Extra R-gene[®], après extraction automatisée sur l'EZ1[®] (PB-VIRO-FT-2042[°]). Le kit R-gene[®] contient le prémix, c'est-à-dire les sondes et les amorces spécifiques. Le kit DICO Extra R-gene[®] contient le prémix et le CI (IC2), permettant la validité de l'extraction et de l'amplification. Le témoin positif est une souche de Référence du virus (Mad-1) insérée dans un plasmide et ensuite transfectée dans la bactérie *E.coli* HB101.1993. Ce témoin positif est obtenu après mise en culture du clone bactérien puis aliquoté à une concentration de 10⁶ copies/µL.

La validité de la technique est évaluée par la conformité du TE, du blanc, du témoin positif et du CI. Le volume d'extrait ADN nécessaire pour la technique est de 10µL par échantillon. La technique est réalisée en fonction de la demande et selon l'activité du laboratoire ; chaque *run* dure environ 1h20.

f. Rougeole

Le laboratoire de Virologie du CHU de Caen est Centre National de Référence de la rougeole. La recherche qualitative du virus de la rougeole par RT-PCR en temps réel sur le SmartCycler® est une technique « maison » réalisée après extraction automatisée sur l'EZ1® (PB-VIRO-FT-2038). C'est une technique adaptée de la technique décrite par Hübschen et al en 2008 [115]. La révélation des produits d'amplification utilise le principe des sondes d'hydrolyse Taqman. Le CI est un bactériophage MS2. Le témoin positif est obtenu à partir d'une culture de vaccin ROR (souche de Référence EDMONSTON, génotype A) pour la rougeole, sur cellule Véro Slam. Les extraits de témoin positifs sont dilués pour obtenir un Ct compris entre 21 et 24 cycles à la RT-PCR.

La validité de la technique est évaluée par la conformité du TE, du blanc, du témoin positif et du CI. Dès lors qu'un échantillon est positif, un génotypage de la souche est systématiquement réalisé. Le volume d'extrait ARN nécessaire pour la technique est de 5µL par échantillon. La technique est réalisée le lundi, mercredi et vendredi ; chaque *run* dure environ 2h.

g. Oreillons

La recherche qualitative du virus des oreillons par RT-PCR en temps réel sur le SmartCycler® est une technique « maison » réalisée après extraction automatisée sur l'EZ1® (PB-VIRO-FT-2036). C'est une technique adaptée de la technique décrite par Rota et al en 2013 [116]. La révélation des produits d'amplification utilise le principe des sondes d'hydrolyse Taqman. Le CI est un bactériophage MS2. Le témoin positif est un extrait d'ARN obtenu à partir d'une culture d'une souche Oreillon d'un patient sur cellules NCI. L'extrait est dilué pour que le Ct soit compris entre 30 et 35 cycles à la RT-PCR.

La validité de la technique est évaluée par la conformité du TE, du blanc, du témoin positif et du CI. Le volume d'extrait ARN nécessaire pour la technique est de 5µL par échantillon. La technique est réalisée selon la demande ; chaque *run* dure environ 2h.

h. Rubéole

La recherche qualitative du virus de la rubéole par RT-PCR en temps réel sur le SmartCycler® est une technique « maison » réalisée après extraction automatisée sur l'EZ1® (PB-VIRO-FT-2081). C'est une technique adaptée de la technique décrite Hübschen et al en 2008 [115]. La révélation des produits d'amplification utilise le principe des sondes d'hydrolyse Taqman. Le CI est un bactériophage MS2. Le témoin positif est un extrait d'ARN obtenu à partir d'une culture de Rubivax® (souche Wistar) sur cellules Véro Slam. L'extrait est dilué pour que le Ct soit compris entre 21 et 24 cycles à la RT-PCR.

La validité de la technique est évaluée par la conformité du TE, du blanc, du témoin positif et du CI. Le volume d'extrait ARN nécessaire pour la technique est de 5µL par échantillon. La technique est réalisée 1 fois par semaine, en général le jeudi ou le vendredi ; chaque *run* dure environ 1h45.

i. Parvovirus B19

La recherche qualitative du Parvovirus B19 par PCR en temps réel sur le SmartCycler® est réalisée avec le kit RealStar® Parvo B19, après extraction automatisée sur l'EZ1® (PB-VIRO-FT-2085). La révélation des produits d'amplification utilise le principe des sondes d'hydrolyse Taqman. Le CI et le témoin positif sont intégrés au kit.

La validité de la technique est évaluée par la conformité du TE, du blanc, du témoin positif et du CI. Le volume d'extrait ADN nécessaire pour la technique est de 10µL par échantillon. La

technique est réalisée une fois par semaine en fonction de la demande, en général le jeudi ; chaque *run* dure environ 1h20.

j. CMV et EBV

Les recherches qualitatives du CMV et de l'EBV par PCR en temps réel sur le Rotor-Gene[®], sont réalisées respectivement avec le kit ARTUS[®] CMV QS-RGV et le kit ARTUS[®] EBV QS-RGV sur chaîne automatisée QIASymphony[®]: extraction, élution et amplification (PB-VIRO-FT-2018). La révélation des produits d'amplification se fait à chaque fin de cycle d'amplification par le principe des sondes d'hydrolyse. Les 4 standards, permettant la quantification de la charge virale dans le sang EDTA uniquement, font office de contrôles positifs, et sont fournis dans chaque kit. Le CI et le contrôle négatif (eau) est aussi fourni dans chaque kit, ainsi que le prémix contenant les sondes et amorces spécifiques.

La validité de chaque technique est évaluée par la conformité du témoin d'extraction, des 4 standards, du contrôle négatif et des contrôles internes.

Le volume d'extrait ADN nécessaire pour chaque technique est de 20µL par échantillon. La technique est réalisée tous les jours sauf le mercredi : la durée du *run* dépend du nombre d'échantillons.

l. Cas particulier : Synthèse Intrathécale d'AC anti-rougeole

Cette technique est réalisée pour des patients suspects d'être atteints d'une PESS. Elle permet de vérifier l'intégrité de la barrière hémoméningée et d'identifier une synthèse intrathécale d'AC anti-rougeole [117]. Elle nécessite un échantillon de LCR et de sérum, prélevés le même jour (48 heures de décalage entre les 2 prélèvements sont tolérées).

C'est une technique immuno-enzymatique (kit Siemens Enzygnost®) destinée à la détection et à la quantification des AC IgG anti-rougeole et AC anti-varicelle/zona, dans le sérum et dans le LCR. Les dosages sont effectués sur 2 dilutions de LCR et 3 dilutions de sérum et rendus en mUI/mL.

Si le LCR est négatif en IgG anti-rougeole, aucun test supplémentaire n'est pratiqué, et l'examen sera répondu « diagnostic de PESS liée au virus de la rougeole exclus ».

Si le LCR est positif en IgG anti-rougeole, les dosages des IgG totales et de l'albumine sont réalisés dans le LCR et dans le sérum, au niveau du laboratoire de biochimie, permettant le calcul de rapports et d'index indispensables à l'interprétation des résultats.

La présence d'AC anti-rougeole dans le LCR et le sérum peut être due à la PESS, mais aussi à un passage des AC sériques, voire d'une SEP. Le calcul du rapport AC anti-rougeole sur le taux d'albumine permet de différencier ces différents cas : si ce rapport est supérieur à 3, les AC anti-rougeole sont anormalement présents dans le LCR. Des taux anormalement élevés d'AC anti-rougeole dans le LCR sont observés dans la PESS en raison d'une infection chronique du cerveau par le virus. Eventuellement, on peut détecter ces AC en cas d'altération de la barrière héméo-méningée. D'autres calculs d'index et de rapports permettent de différencier une réelle altération de la barrière héméo-méningée d'une PESS.

J. Laboratoire de Bactériologie

a. Analyses réalisées en urgences

Deux analyses sont pratiquées sur le LCR systématiquement dès réception du prélèvement au laboratoire de bactériologie : l'ensemencement sur gélose spécifique et la cytologie.

L'ensemencement sur gélose chocolat permet de sélectionner les germes possiblement responsables de méningites. La culture est lue tous les jours et rendue à 72h d'incubation ($35^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ en milieu enrichi à 5% de CO_2).

La cytologie, ou numération des éléments, est réalisée en cellule KOVA Slide® [Figure 26]. Une goutte de LCR est diluée dans $3\mu\text{L}$ de bleu de toluidine, qui colore les éléments nucléés, puis transféré dans la cellule. La numération des hématies et des éléments (rendue en nb/mm^3) se fait ensuite au microscope.

On interprète le rapport hématies/leucocytes pour différencier une piqure vasculaire (>500) d'un nombre réellement anormal de leucocytes (<500).

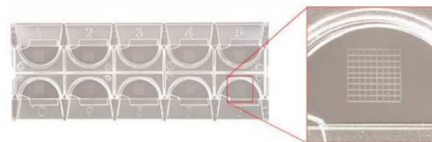


Figure 26. Cellule de comptage KOVA slide®

(<https://assets.fishersci.com/TFS-Assets/CCG/product-images/F265541~p.eps-650.jpg>)

S'il y a moins de $10\text{ éléments}/\text{mm}^3$ ($<15\text{ éléments}/\text{mm}^3$ pour les nourrissons de moins d'un an), aucun test supplémentaire n'est pratiqué, sauf dans des cas particuliers : patient présentant un purpura, un coma fébrile, ou un patient en aplasie.

S'il y a plus de $10\text{ éléments}/\text{mm}^3$ ($>15\text{ éléments}/\text{mm}^3$ pour les nourrissons de moins d'un an), plusieurs analyses supplémentaires sont pratiquées : une formule leucocytaire, ou à défaut une estimation de la prédominance des polynucléaires ou des lymphocytes, et un examen direct sur coloration de GRAM à la recherche de germes. La formule n'est pas pratiquée pour les services d'hématologie adulte et pédiatrique (formule réalisée dans ce cas au laboratoire d'hématologie), ni pour le Centre François Baclesse.

Le test Binax® immunochromatographique est un test *in vitro* destiné à la détection de l'antigène de *Streptococcus pneumoniae* dans le LCR, effectué sur accord du biologiste lorsque l'examen direct est évocateur (cocci Gram positif « en grain de café » [Figure 27]).

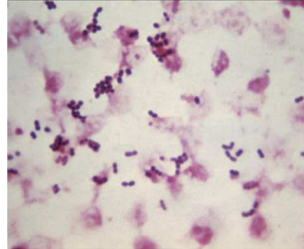


Figure 27. Examen direct caractéristique « lancéolé en flamme de bougie » de *Streptococcus pneumoniae* à la coloration de GRAM
(http://www.ups.upenn.edu/bugdrug/antibiotic_manual/Gramstains/small/pneumococcus.htm)

Un examen mycologique du LCR peut être réalisé sur demande spécifique (24H/24) en cas de suspicion d'infection fongique nosocomiale (levures, champignons filamenteux). Il consiste en un examen direct entre lame et lamelles au microscope, à la recherche de levure ou de filaments. L'échantillon de LCR est parallèlement mis en culture sur une gélose Sabouraud pendant 48heures.

La recherche de *Cryptococcus neoformans* dans le LCR peut être réalisée sur demande spécifique (24H/24) en cas de suspicion de cryptococcose méningée chez un patient immunodéprimé. L'examen direct à l'encre de Chine est caractéristique : l'encre colore le fond de la préparation en noir, et la capsule polysaccharidique du cryptocoque apparaît comme une auréole (ou halo) blanche, nette, régulière et de taille variable autour de la levure [Figure 28]. L'échantillon de LCR est parallèlement mis en culture sur une gélose Sabouraud pendant 48heures.

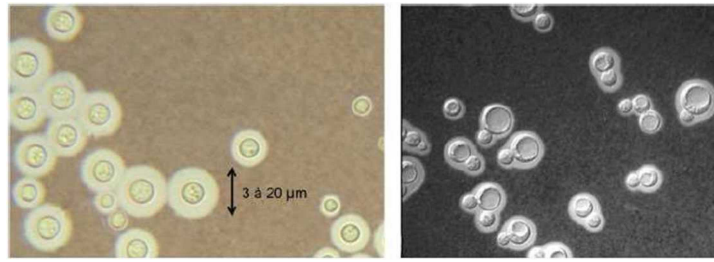


Figure 28. Examen direct à l'encre de Chine de *Cryptococcus neoformans* : capsule visible en négatif
(PB-MICRO-FT-3065)

On peut aussi réaliser un test d'agglutination au latex pour la détection de l'antigène *C.neoformans* dans le LCR, non réalisée en urgence.

b. Analyses spécifiques

En cas de suspicion de neuroborréliose de Lyme, une recherche des AC totaux spécifiques de *Borrelia burgdorferi* peuvent être recherché dans le LCR et dans le sérum en parallèle. En cas de positivité, une confirmation par une seconde technique (Western-Blot) est nécessaire.

En cas de suspicion de tuberculose neuroméningée, la recherche des mycobactéries, et en particulier du *Mycobacterium tuberculosis*, peut être réalisée. Un examen direct positif par coloration de Ziehl-Neelsen est fort présomptif d'une tuberculose, et signe la contagiosité du patient. La culture des bacilles acido-alcoolrésistants (BAAR) sur gélose spécifique est lente (jusqu'à 8 semaines) mais confirme le diagnostic et permet de pratiquer l'antibiogramme en cas de positivité. Une PCR à la recherche des mycobactéries du complexe *tuberculosis* (*M.tuberculosis*, *africanum*, BCG, *bovis* et *microti*) peut aussi être réalisée sur demande spécifique. En revanche, sa négativité n'exclut pas le diagnostic de tuberculose. L'identification des mycobactéries est soumise à une réglementation spéciale : manipulation exclusive en

secteur protégé de niveau 3, ou P3, qui se trouve au niveau du laboratoire de virologie sur le site Clémenceau.

L'ARN ribosomal 16S est commun à toutes les bactéries, qui partagent le même ancêtre. La recherche par PCR de l'ARN 16S est effectuée ponctuellement en cas de PL post-antibiothérapie, permettant un large *screening* pour tenter de documenter l'infection. Si la PCR est positive, l'étape de séquençage permet d'obtenir un pourcentage d'homologie avec des souches de la banque de données. Cette technique est en général utilisée en dernier recours chez des patients présentant des tableaux méningés atypiques.

En cas de suspicion de toxoplasmose cérébrale chez un patient immunodéprimé, la recherche de l'ADN de *Toxoplasma gondii* par PCR peut être réalisée.

De façon ponctuelle, d'autres PCR peuvent être réalisées, sur demande spécifique en présence de renseignements cliniques : *Neisseria meningitidis*, *Streptococcus pneumoniae*, *Nocardia sp*, *Bartonella sp*, *Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes*, et *Tropheryma Whipplei* notamment.

2. Résultats des analyses de Virologie effectuées au CHU de Caen du 1^{er} janvier 2015 au 31 décembre 2016

L'extraction des données a été faite sur le logiciel informatique du laboratoire (TD-NexLab) entre le 1^{er} janvier 2015 et le 31 décembre 2016, permettant de lister la totalité des LCR reçus au laboratoire, ainsi que les résultats des analyses de biologie moléculaire. Nous avons ensuite

utilisé le logiciel des dossiers patients (Référence) pour obtenir les informations cliniques complémentaires.

Au total entre le 1^{er} janvier 2015 et le 31 décembre 2016, 1899 prélèvements de LCR ont été envoyés au laboratoire de Virologie du CHU de Caen. Parmi ces 1899 LCR, 275 ont été envoyés pour une LCR thèque et 1624 pour des recherches virologiques.

L'HSV1, HSV2 et VZV sont recherchés dans presque tous les cas (93%) et l'EV dans plus de la moitié des cas (56,7%) [Tableau 13]. L'HHV6, l'EBV et le CMV sont recherchés respectivement dans 27,7%, 15% et 14,8% des cas. Les autres recherches sont effectuées ponctuellement selon le contexte clinique et biologique.

	Analyses réalisées		Positifs		Ininterprétables	
	Nombre	% des LCR totaux	Nombre	% des positifs	Nombre	% des analyses réalisées
HSV1	1510	93,0	9	5,2	6	0,4
HSV2	1510	93,0	5	2,9	6	0,4
VZV	1510	93,0	15	8,7	6	0,4
Entérovirus	920	56,7	90	52,0	17	1,8
HHV6	450	27,7	14	8,1	1	0,2
EBV	242	14,9	19	11,0	13	5,3
CMV	240	14,8	3	1,7	5	2,1
JC	90	5,5	2	1,2	0	0,0
VIH	22	1,4	14	8,1	0	0,0
Mycoplasma pneumoniae / Chlamydia pneumoniae	18	1,1	0	0,0	0	0,0
Rougeole	15	0,9	0	0,0	0	0,0
Oreillons	13	0,8	0	0,0	0	0,0
Virus Respiratoires	12	0,7	0	0,0	0	0,0
BK	7	0,4	0	0,0	1	14,3
ADV	6	0,4	0	0,0	0	0,0
Parvovirus B19	5	0,3	1	0,6	0	0,0
Hépatite E	2	0,1	0	0,0	0	0,0
Coronavirus	1	0,1	0	0,0	0	0,0
Rubéole	1	0,1	0	0,0	0	0,0

Tableau 13. Recherches virologiques effectuées au laboratoire de Virologie du CHU de Caen entre 2015 et 2016 par biologie moléculaire

Sur les 1624 LCR, 172 (10,7%) avaient un génome viral détectable : 90 EV (52%), 19 EBV (11,0%), 15 VZV (8,7%), 14 HHV6 (8,1%), 14 VIH (8,1%), 9 HSV1 (5,2%), 5 HSV2 (2,9%), 3 CMV (1,7%), 2 JC virus (1,2%) et 1 Parvovirus B19 (0,6%) [Figure 29].

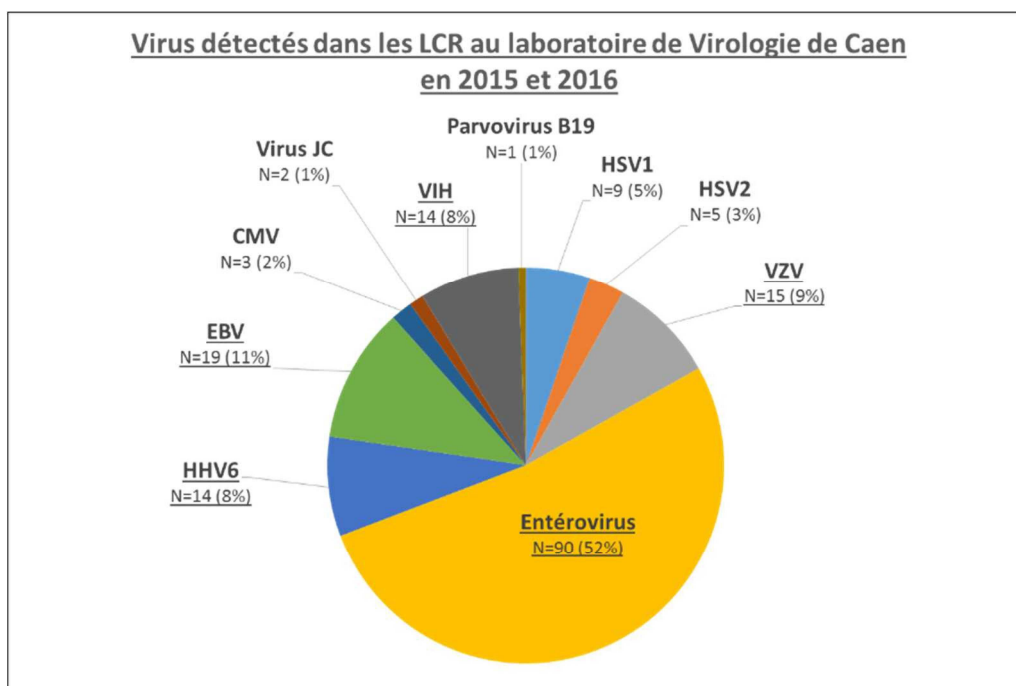


Figure 29. Virus détectés dans les LCR au laboratoire de Virologie de Caen en 2015 et 2016

Le nombre de résultats ininterprétables, par présence d'inhibiteurs dans le prélèvement était de 55 (3,4%). Le nombre de codétection de virus étaient de 8 [Tableau 14], à noter que les LCR n°3 et 5 proviennent de la même patiente, et les n°6 et 7 du même patient.

N°	Sexe	Age	Comorbidités	Virus détectés
1	Masculin	16 mois	Pas d'informations	HSV1 et HHV6
2	Féminin	67 ans	Pas d'informations	HSV1 et EBV
3	Féminin	43 ans	VIH stade SIDA	CMV et EBV
4	Masculin	59 ans	VIH stade SIDA	CMV et VIH
5	Féminin	43 ans	VIH stade SIDA	EBV, CMV et VIH
6	Masculin	53 ans	VIH stade SIDA	EBV et VIH
7	Masculin	53 ans	VIH stade SIDA	EBV et VIH
8	Féminin	46 ans	VIH	EBV et VIH

Tableau 14. Codétection de virus dans le LCR sur les années 2015 et 2016

Les 9 LCR positifs à HSV1 concernent un garçon de 16 mois et 8 adultes (Ratio H/F=1) d'âge moyen 74 ans (de 61 à 90 ans). Nous n'avons pas d'information dans « Référence » pour 6 des 9 patients. Les 3 autres patients présentaient un tableau typique de méningo-encéphalite herpétique avec confusion fébrile, désorientation sans signe de localisation neurologique ni syndrome méningé. Les 3 patients ont été mis sous aciclovir pendant 3 semaines, et leur évolution a été favorable.

Les 5 LCR positifs à HSV2 concernent 4 femmes et un homme, d'âge moyen 43 ans (de 29 à 61 ans). Nous n'avons pas d'information dans « Référence » pour 2 des 5 patients. Les 3 autres patients présentaient un tableau de méningite virale, avec phonophobie, céphalées brutales, vomissements, raideur de la nuque et fièvre. Ils ont été traités par aciclovir pendant 10 jours à 3 semaines, avec une évolution favorable.

Les 15 LCR positifs à VZV concernent 3 enfants (une fillette de 20 mois et 2 garçons de 8 mois et 5 ans) et 11 adultes (2 LCR pour un patient). L'âge moyen des adultes (Ratio H/F=1,2) était de 73 ans (de 60 à 91 ans). Nous n'avons pas d'information dans « Référence » pour 5 des 14 patients. Concernant les 9 autres patients, 6 (67%) présentaient une éruption vésiculeuse. L'évolution a été favorable sous traitement (aciclovir ou valaciclovir) pour 7 patients mais 2 patients sont décédés des suites de leur méningo-encéphalite varicelleuse.

Concernant les 90 EV positifs, la moyenne d'âge des patients (Ratio H/F=2,1) est de 9 ans et 9 mois (de 6 jours à 60 ans). Nous avons déterminé 3 groupes en fonction de l'âge : le groupe des nouveau-nés et nourrissons (âge \leq 1 an), le groupe des enfants (de 1 à 15 ans) et le groupe des adultes (\geq 15 ans).

Le premier groupe est constitué de 23 garçons et 7 filles (Ratio H/F=3,3). Nous avons des informations cliniques pour 25 des 30 patients. La fièvre est le signe clinique constant retrouvé chez ces 25 patients (100%). On notait aussi des changements de comportement à type de pleurs, enfant geignard ou grognon (32%), une diminution de la prise alimentaire (16%) et des troubles digestifs à type de vomissements ou diarrhées (12%). L'évolution était favorable dans 100% des cas et la durée moyenne d'hospitalisation était de 3,3 jours (de 1 à 8 jours).

Le groupe des enfants est constitué de 25 garçons et 13 filles (Ratio H/F=1,9). Nous avons des informations cliniques pour 17 des 38 patients. Cliniquement, on retrouvait des céphalées (82,4%), une fièvre (76,5%), des vomissements (58,8%) et une photophobie et/ou phonophobie (17,6%). L'évolution a été favorable dans 100% des cas et la durée moyenne d'hospitalisation était de 1,7 jours (de 1 à 3 jours).

Le groupe des adultes est constitué de 13 hommes et 9 femmes (Ratio H/F=1,4) ; nous avons des informations cliniques pour 16 des 22 patients. Cliniquement on retrouvait des céphalées (93,8%), une photophobie et/ou phonophobie (62,5%), de la fièvre (43,8%) et des vomissements (31,3%). L'évolution a été favorable dans 100% des cas et la durée moyenne d'hospitalisation était de 1,5 jours (de quelques heures à 3 jours).

Le laboratoire de virologie contribue à la surveillance sanitaire des infections à EV : les données virologiques et cliniques sont envoyées systématiquement au CNR EV (Lyon/Clermont-Ferrand). Le génotypage des souches d'EV par séquençage SANGER partiel, a été effectué dans 87,8% des cas (79/90). Chez 5 patients (6,3%), le génotype était indéterminé ou non typable. Le Coxsackievirus B5 est le génotype le plus fréquemment retrouvé (29,7%) devant l'Echovirus 6 (21,6%) [Tableau 15].

Génotype	Nombre (%)
Coxsackievirus B5	22 (29,7%)
Echovirus 6	16 (21,6%)
Echovirus 5	7 (9,5%)
Echovirus 30	5 (6,8%)
Echovirus 9	5 (6,8%)
Coxsackievirus B4	4 (5,4%)
Echovirus 13	3 (4,0%)
Echovirus 7	3 (4,0%)
Echovirus 18	2 (2,6%)
Echovirus 25	2 (2,6%)
Coxsackievirus B1	1 (1,4%)
Coxsackievirus B2	1 (1,4%)
Coxsackievirus B3	1 (1,4%)
Entérovirus A71	1 (1,4%)
Echovirus 11	1 (1,4%)

Tableau 15. Génotypes des Entérovirus positifs entre 2015 et 2016 dans les LCR (n=74)

Les 14 LCR positifs à HHV6 concernaient 2 adultes (1 femme de 38 ans et un homme de 53 ans) et 12 enfants d'âge moyen 10,7 mois (de 19 jours à 24 mois). La patiente de 38 ans présentait une mononeuropathie multiple avec une lombosciatique et des paresthésies du membre inférieur droit et de la main droite, d'évolution spontanément favorable. Le patient de 53 ans présentait des complications multiples suite à une allogreffe pour une myélodysplasie, notamment des troubles cognitifs persistants. Concernant les enfants, nous n'avons pas d'informations cliniques concernant 3 d'entre eux. Pour les 9 autres, ils présentaient tous de la fièvre, et les recherches d'HSV, de VZV et d'EV étaient négatives. L'évolution a été favorable dans 100% des cas, et la durée d'hospitalisation moyenne était de 2,6 jours (de 1 à 5 jours).

Les 19 LCR positifs à EBV concernent 15 patients: 3 hommes et 12 femmes (RatioH/F=0,25) d'âge moyen 56,9 ans (de 33 à 81 ans). Nous n'avons pas d'information dans « Référence » pour 2 patients. Concernant les 13 autres patients, 9 présentaient une immunodépression : 3 VIH (dont 2 au stade SIDA), 3 greffés, 3 lymphomes. La présence de l'EBV dans le sang chez ces

patients ainsi que dans le LCR reflètent une réactivation virale du fait de l'immunodépression, et pas une infection du SNC. Chez les 4 autres patients, qui ne présentaient pas d'ID connue, l'implication de l'EBV n'a pas non plus été retenue dans la symptomatologie clinique [Tableau 16].

N°	Sexe	Age	Signes cliniques	Diagnostic
1	Masculin	81 ans	Confusions, hallucinations visuelles	Cause iatrogène retenue
2	Féminin	57 ans	Céphalées, troubles visuels	Infarctus cérébral vertébro-basilaire
3	Féminin	46 ans	Boiterie, faiblesse musculaire du MI gauche	Pathologie inflammatoire du SNC
4	Féminin	81 ans	AEG, confusion, désorientation, céphalées fébriles, photophobie	Encéphalopathie non étiquetée

Tableau 16. Symptomatologie et diagnostics retenus pour les 4 patients sans immunodépression notable et présentant un EBV dans le LCR

Les 3 LCR positifs à CMV concernent 2 patients : une femme de 43 ans et un homme de 59 ans. A chaque fois, le CMV a été détecté avec un ou plusieurs virus. Les 2 patients étaient VIH positif au stade SIDA, et présentaient une immunodépression expliquant la réactivation du CMV et sa positivité dans le LCR. Celui-ci n'a pas été retenu comme cause de la symptomatologie clinique. La patiente de 43 ans présentait une LEMP à virus JC et le patient de 59 ans une cryptococcose neuroméningée.

Concernant les 2 LCR positifs à virus JC, comme nous venons de le voir, l'un concerne une femme de 43 ans, et l'autre un homme de 58 ans. La patiente, VIH positif au stade SIDA avec toxoplasmose cérébrale, présentait une paralysie faciale droite avec aphasie complète. L'IRM était en faveur d'une LEMP, confirmée par la positivité du virus JC dans le LCR. Elle a ensuite présenté des complications neurologiques centrales sévères avec des troubles cognitifs majeurs et une perte d'autonomie. Le patient de 58 ans, allogreffé dans le cadre d'une leucémie aigüe myéloblastique de type 4, a présenté lui aussi une paralysie faciale initiale puis

des troubles du comportement et des troubles de la vigilance. Le diagnostic de LEMP a été posé du fait des signes clinico-biologiques et de l'IRM. Le patient est décédé après 60 jours d'hospitalisation.

Les 14 LCR positifs à VIH concernaient 6 hommes et 5 femmes (RatioH/F=1,2) connus VIH positifs, d'âge moyen 53,5 ans (de 28 à 70 ans). Les charges virales s'étendaient de 673 à 72 666 copies/mL (18 983 copies/mL en moyenne), et 4 charges virales VIH étaient détectables mais sous le seuil de quantification. Nous n'avons pas d'informations cliniques concernant 3 patients. Cinq patients étaient connus VIH positifs (2 stade SIDA), et 3 patients n'étaient pas connus (dont 1 stade SIDA). La découverte de la séropositivité VIH chez ces 3 patients était respectivement liée à une altération de l'état général, une paralysie faciale et un tableau d'encéphalite. Un seul diagnostic d'encéphalite à VIH a été posé chez une patiente de 70 ans qui présentait une altération de l'état général ainsi que des troubles cognitifs. Après mise sous trithérapie, l'état général de la patiente et ses troubles cognitifs se sont nettement améliorés.

Le LCR positif à Parvovirus B19 concernait une femme de 43 ans qui présentait des douleurs articulaires symétriques inflammatoires avec dérouillage matinal, des œdèmes prédominant aux extrémités évoluant depuis 10 jours, un urticaire diffus et des douleurs musculaires. La charge virale dans le sang était de 1 747 000 copies/mL. Le diagnostic retenu était une primo-infection à Parvovirus B19, d'évolution favorable.

3. Analyse des services prescripteurs du CHU de Caen du 1^{er} janvier 2015 au 31 décembre 2016

A. Résultats globaux

Entre le 1^{er} janvier 2015 et le 31 décembre 2016, 1899 et 3021 prélèvements de LCR ont été envoyés respectivement au laboratoire de virologie et au laboratoire de bactériologie.

Sur ces 1899 LCR, 407 ont été envoyés uniquement en virologie et 1492 ont été envoyés dans les 2 laboratoires [Figures 30 et 31].

Les plus gros services prescripteurs d'analyses de virologie et de bactériologie sur les prélèvements de LCR au sein du CHU de Caen sont la Neurologie (594 demandes), les Urgences adultes (572 demandes), l'Hématologie clinique (571 demandes) et la Pédiatrie (455 demandes) [Figure 32]. La liste des unités fonctionnelles (UF) et des services associés se trouve en Annexe 21.

Les autres services prescripteurs sont la Neurochirurgie (139 demandes), la Réanimation Chirurgicale (114 demandes), la Réanimation Médicale (86 demandes), l'Infectiologie (62 demandes), la Médecine Interne (61 demandes), la Médecine Générale et Polyvalente (57 demandes) et la Néonatalogie (49 demandes).

Plus rarement, d'autres services notamment la Néphrologie, la Pneumologie, la Gériatrie, la Dermatologie, l'Ophtalmologie, envoient des prélèvements de LCR aux laboratoires pour des analyses de virologie et/ou bactériologie.

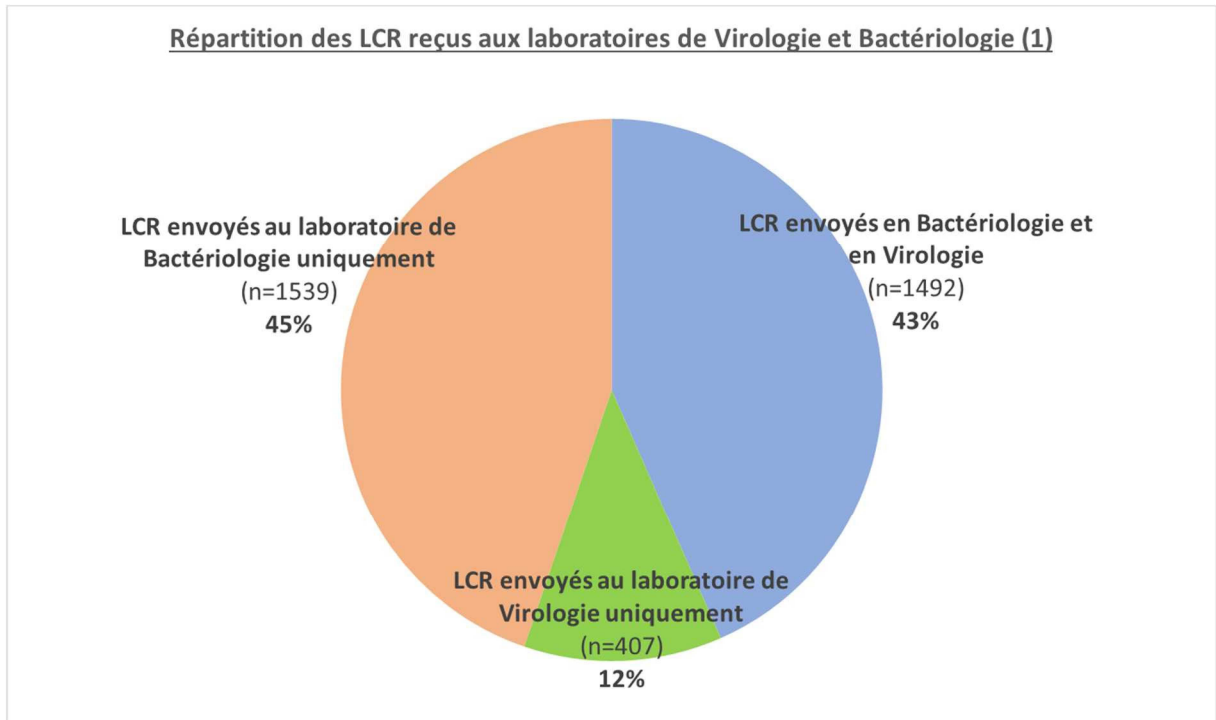


Figure 30. Répartition des LCR reçus aux laboratoires de Virologie et de Bactériologie au CHU de Caen entre 2015 et 2016 (1)

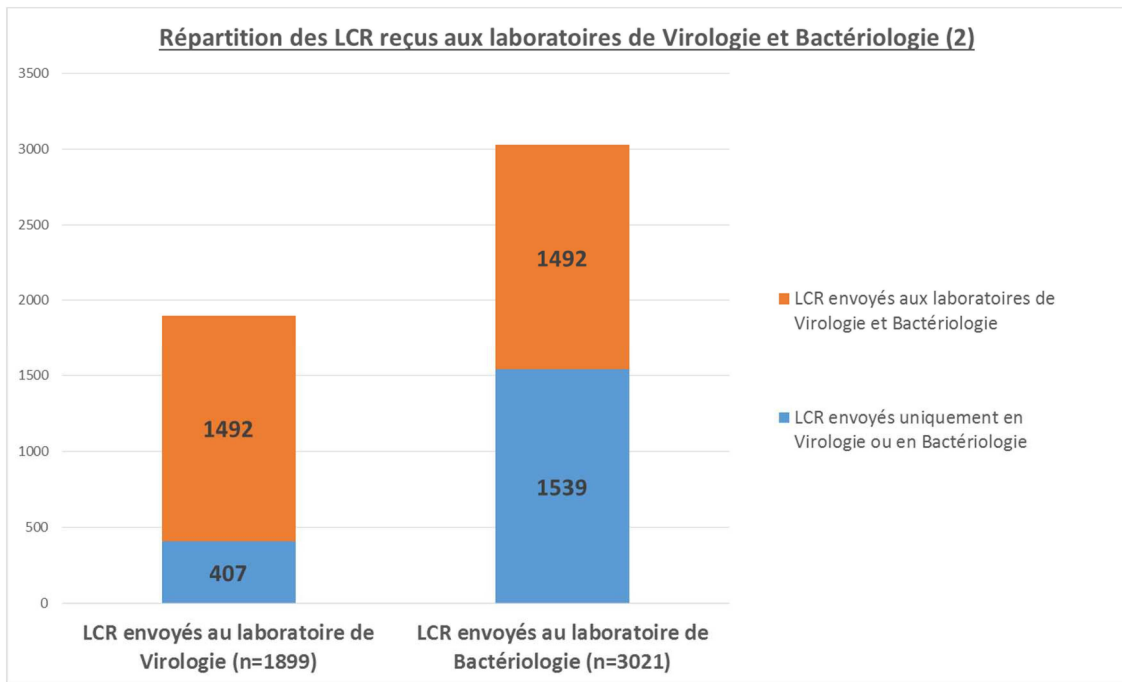


Figure 31. Répartition des LCR reçus aux laboratoires de Virologie et de Bactériologie au CHU de Caen entre 2015 et 2016 (2)

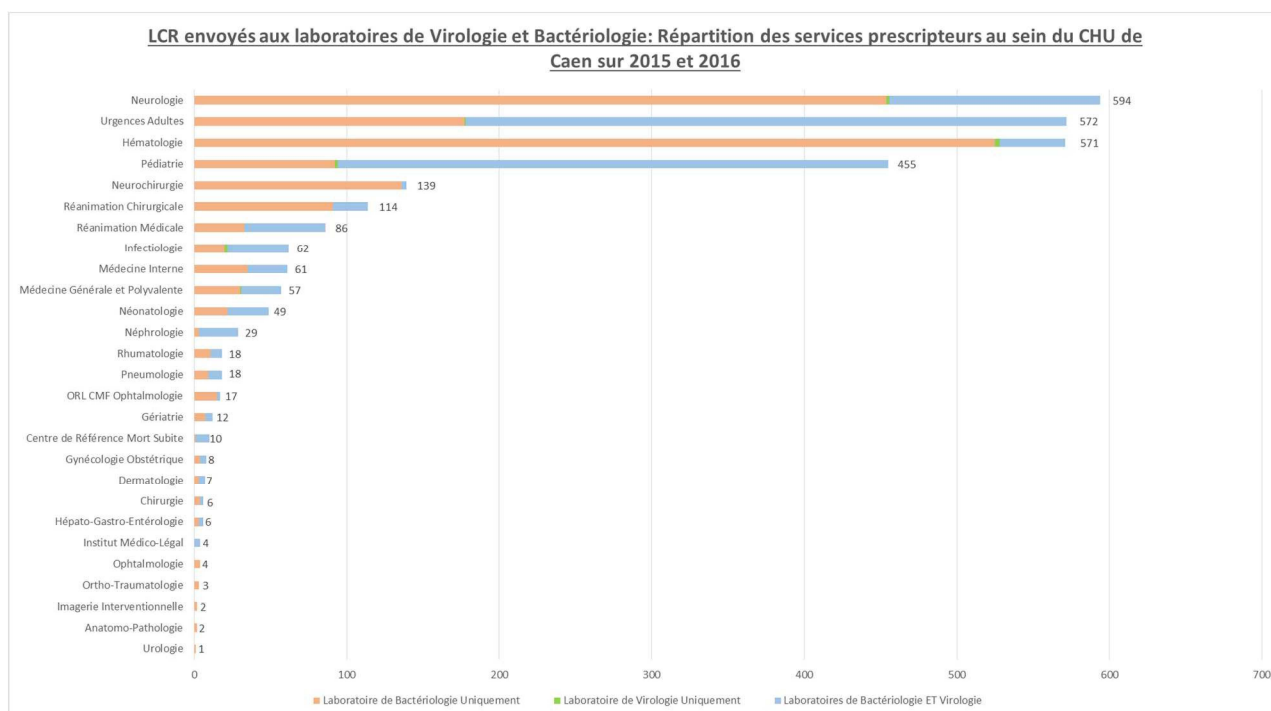


Figure 32. LCR envoyés aux laboratoires de Virologie et de Bactériologie : répartition des services prescripteurs au sein du CHU de Caen sur 2015 et 2016

B. Non-conformités

Nous avons enregistré 319 non-conformités (NC) sur les années 2015 et 2016 concernant les LCR envoyés au laboratoire de virologie.

Les NC les plus fréquemment rapportées sont liées à des demandes d'analyses non justifiées, ou non pertinentes sur le LCR [Figure 33].

En fonction du type de NC, il existe 3 décisions différentes [Figure 34]:

- l'acceptation du prélèvement après remise en conformité après appel au service (26%): absence d'UF sur la prescription, absence de date de prélèvement, absence de nature de l'échantillon...
- l'acceptation du prélèvement avec dérogation par le biologiste (7%): délai d'acheminement dépassé, absence d'identité du patient sur l'échantillon...

- l'annulation de la demande (67%): analyses non justifiées, prescription non pertinente sur ce type de prélèvement, quantité insuffisante d'échantillon, erreur de tube ou de contenant de l'échantillon

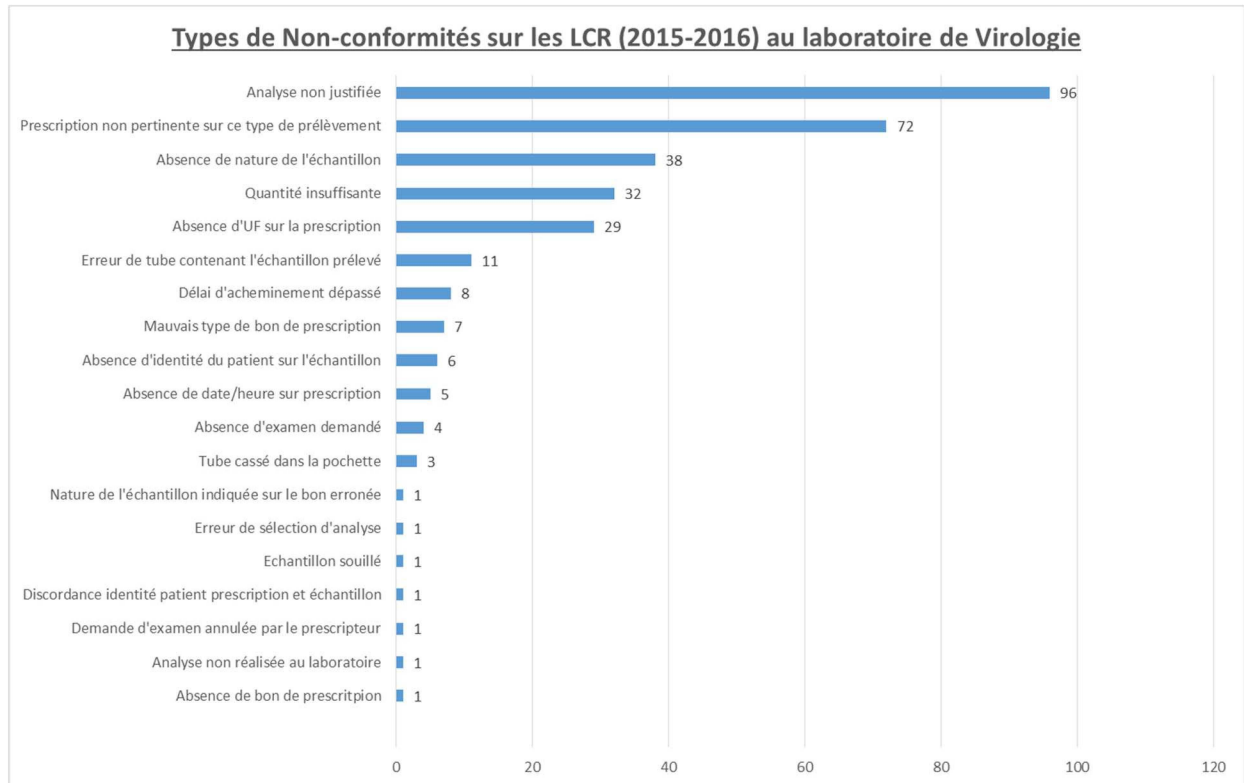


Figure 33. Types de NC sur les LCR (2015 et 2016) au laboratoire de Virologie

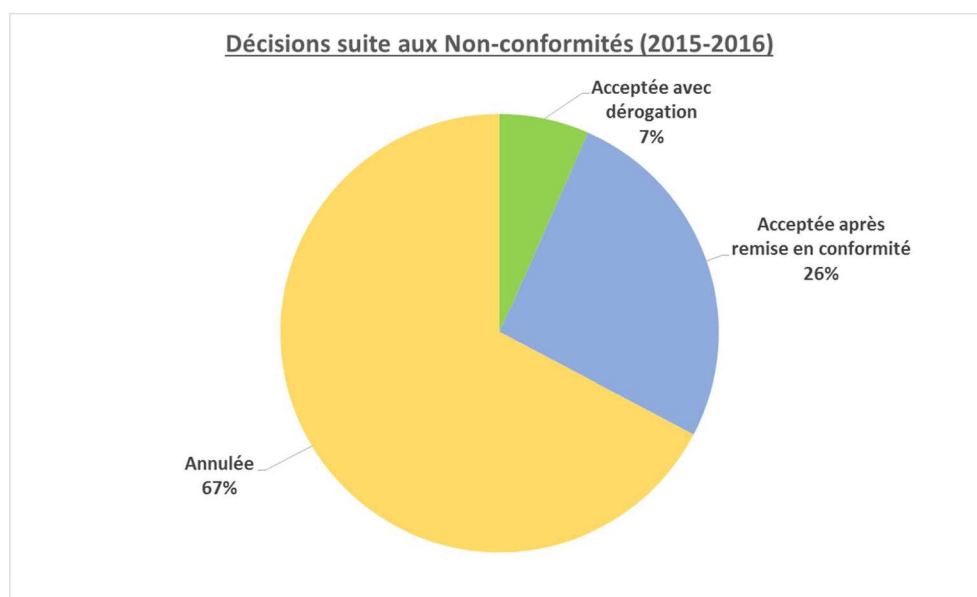


Figure 34. Décisions suite aux NC (2015-2016) au laboratoire de Virologie

Les recherches virales annulées suite aux NC sont regroupées dans la [Figure 35](#). La recherche d'ADV sur le LCR, non recommandée, est l'analyse la plus fréquemment annulée (31,5%).

Les NC réparties selon les services prescripteurs sont regroupées dans la [Figure 36](#). Les Urgences adultes et la Pédiatrie sont les 2 services qui présentent le plus grand nombre de NC, expliqué par le nombre important de LCR envoyés au laboratoire de Virologie.

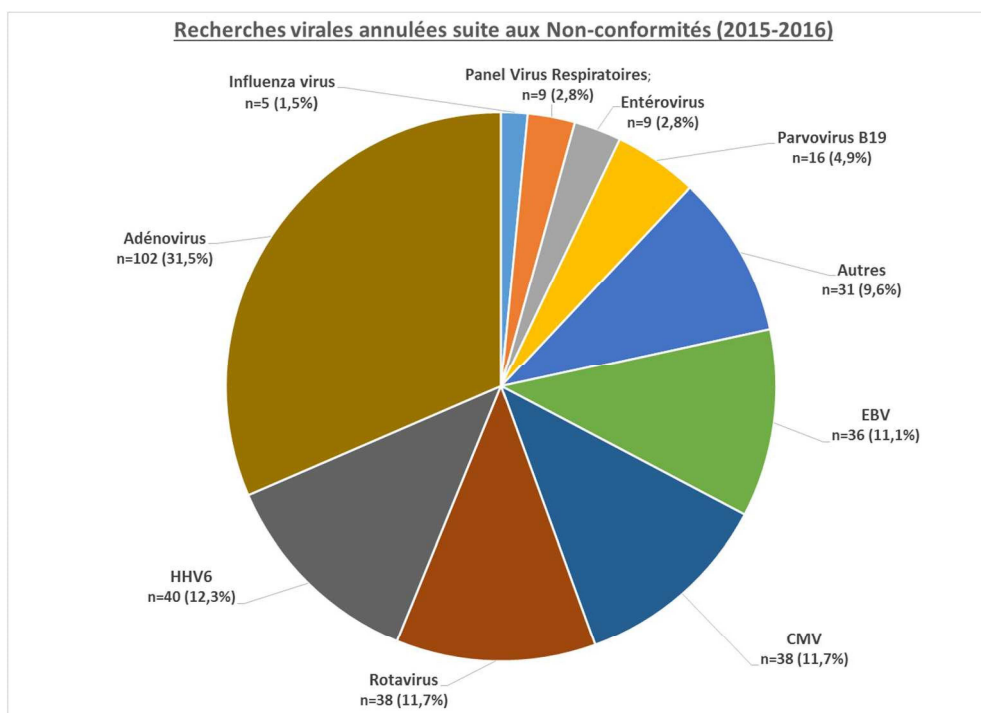


Figure 35. Recherches virales annulées suite aux NC (2015-2016) au laboratoire de Virologie

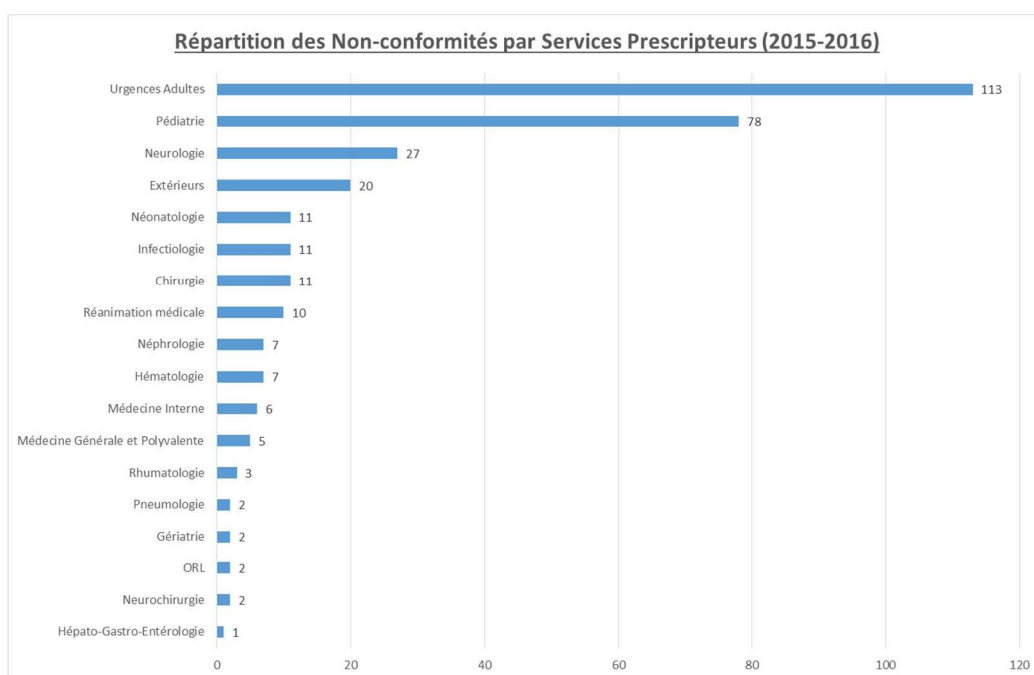


Figure 36. Répartition des NC par services prescripteurs (2015-2016)

C. Résultats par service

Nous allons étudier les prescriptions des analyses microbiologiques sur les LCR des 4 plus gros services prescripteurs (la Neurologie, les Urgences Adultes, l'Hématologie Clinique et la Pédiatrie) en nous intéressant plus particulièrement aux LCR envoyés uniquement au laboratoire de bactériologie. L'objectif est de comprendre dans quels cas les prélèvements de LCR sont envoyés uniquement au laboratoire de bactériologie, sans recherche spécifique de virus.

a. Neurologie

Le service de Neurologie a envoyé 594 LCR aux laboratoires de bactériologie et/ou de virologie en 2015 et 2016: 362 LCR ont été envoyés en bactériologie et virologie, 230 LCR ont été envoyés en bactériologie uniquement et 2 LCR ont été envoyés en virologie uniquement.

Pour les 230 LCR envoyés uniquement au laboratoire de bactériologie, la [Figure 37](#) regroupe les différents objectifs de la PL précisés dans les dossiers patients.

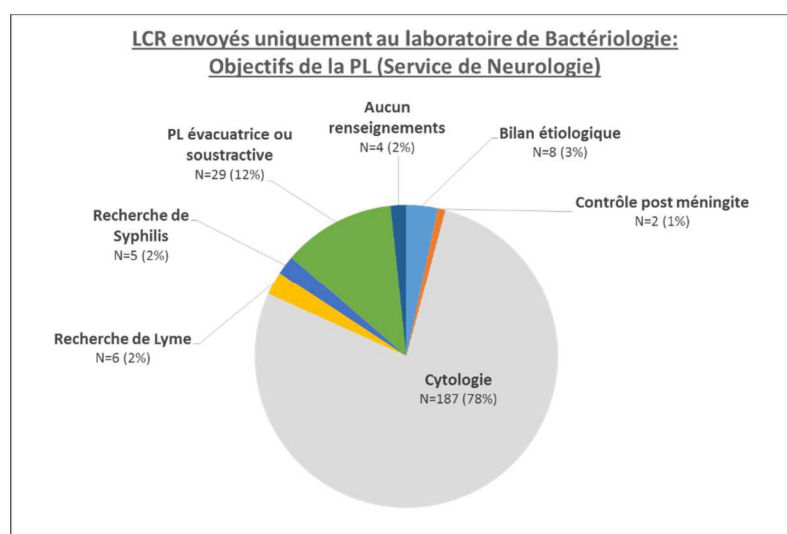


Figure 37. LCR envoyés uniquement au laboratoire de Bactériologie : objectifs de la PL (Service de Neurologie)

Le plus souvent, la PL est effectuée pour évaluer la cytologie du LCR (78%). En effet, le nombre de leucocytes et d'hématies présents dans le LCR sont des éléments indispensables lors d'explorations d'atteintes neurologiques. Les bilans de troubles cognitifs, de troubles mnésiques, de déficits sensitivomoteurs, de démence, et de troubles de la marche sont les indications cliniques les plus fréquentes [\[Tableau 17\]](#).

Indications	Nombre (%)
Bilan de troubles cognitifs	56 (29,9%)
Autres	27 (14,4%)
Bilan de troubles mnésiques	19 (10,2%)
Bilan de déficit sensitivo-moteurs	18 (9,6%)
Bilan de démence / Suspicion d'Alzheimer	15 (8%)
Bilan de troubles de la marche	10 (5,3%)
Bilan de maladie inflammatoire du SNC	10 (5,3%)
Bilan de myélite	7 (3,7%)
Bilan d'atteinte ophtalmique (diplopie, NORB)	7 (3,7%)
Bilan d'aphasie	5 (2,7%)
Bilan de polyneuropathie	5 (2,7%)
Bilan de SEP	3 (1,7%)
Bilan de polyradiculonévrite	3 (1,7%)
Bilan d'AVC	2 (1,1%)

Tableau 17. LCR envoyés uniquement au laboratoire de Bactériologie pour cytologie : Indications principales des PL effectuées dans le service de Neurologie.

Les cultures bactériennes étaient stériles sauf dans un cas (0,4%) avec la pousse de très rares colonies de *Moraxella spp*, sans antibiogramme réalisé, probablement due à une contamination.

b. Urgences Adultes

Le service des Urgences Adultes a envoyé 572 LCR aux laboratoires de bactériologie et/ou de virologie en 2015 et 2016: 408 LCR ont été envoyés en bactériologie et virologie, 163 LCR ont été envoyés en bactériologie uniquement et 1 LCR a été envoyé en virologie uniquement.

Pour les 163 LCR envoyés uniquement au laboratoire de Bactériologie, la [Figure 38](#) regroupe les différents objectifs de la PL précisés dans les dossiers patients.

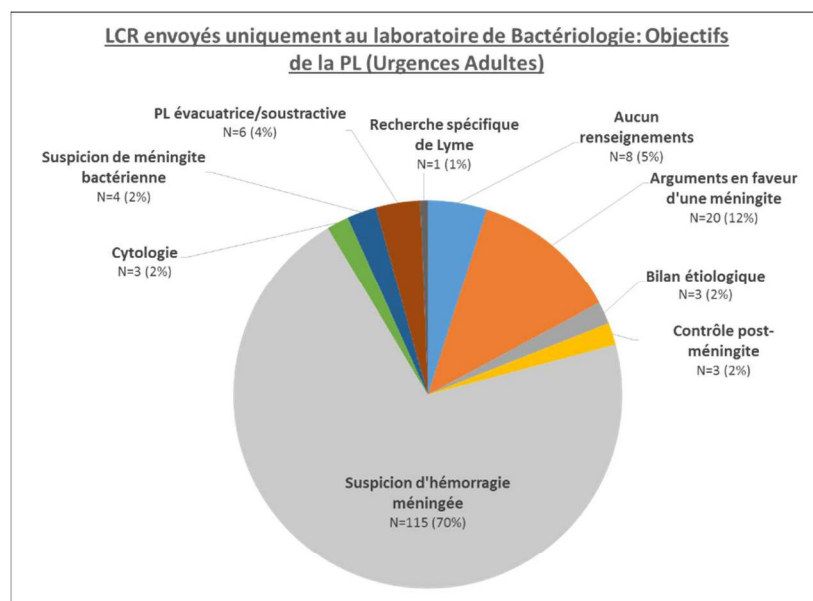


Figure 38. LCR envoyés uniquement au laboratoire de Bactériologie : Objectifs de la PL (Urgences Adultes)

La PL est effectuée le plus souvent en cas de suspicion d'hémorragie méningée (70%). Un nombre abondant d'hématies avec un rapport hématies sur leucocytes supérieur à celui du sang ($>10^3$) sont caractéristiques en cas d'hémorragie méningée. Dans 12% des cas, la PL est effectuée pour rechercher des arguments en faveur d'une méningite, c'est-à-dire une cytologie anormale du LCR avec un nombre d'éléments anormal.

Les cultures bactériennes étaient stériles sauf dans 2 cas (1,2%) : un *Staphylococcus warneri* en très rares colonies et un Staphylocoque à coagulase négative après enrichissement. Aucun antibiogramme n'a été réalisé du fait d'une contamination probable.

c. Hématologie Clinique

Le service d'Hématologie Clinique a envoyé 571 LCR aux laboratoires de bactériologie et/ou virologie en 2015 et 2016: 44 LCR en bactériologie et virologie, 524 LCR en bactériologie uniquement et 3 LCR en virologie uniquement.

Sur les 524 LCR envoyés uniquement en Bactériologie, 510 (97%) proviennent de PL thérapeutiques préventives ou curatives effectuées dans le cadre de lymphomes et sont associés à un protocole du service clinique. Les cultures bactériennes étaient stériles sauf dans un cas (0,2%) avec la pousse de *Staphylococcus hominis* en très rares colonies, sans antibiogramme de réaliser du fait d'une contamination probable.

d. Pédiatrie

Le service de Pédiatrie a envoyé 455 LCR aux laboratoires de bactériologie et/ou virologie en 2015 et 2016: 365 LCR en bactériologie et en virologie, 88 LCR en bactériologie uniquement et 2 LCR en virologie uniquement.

Sur les 88 LCR envoyés uniquement en Bactériologie, 40 (45%) proviennent de PL thérapeutique dans le cadre du traitement de médulloblastome [Figure 39]. Les cultures bactériennes sont dans ce cas toujours stériles (100%).

Pour les 48 autres LCR, les objectifs de la PL sont variés :

- Cytologie (14%) : bilan de polyradiculonévrite, bilan de diabète insipide central
- Non renseigné (12%)

- Bilan étiologique d'atteintes diverses (8%): hypotonie, encéphalopathie, névrite optique
- PL évacuatrice (6%) dans le cadre d'HTIC

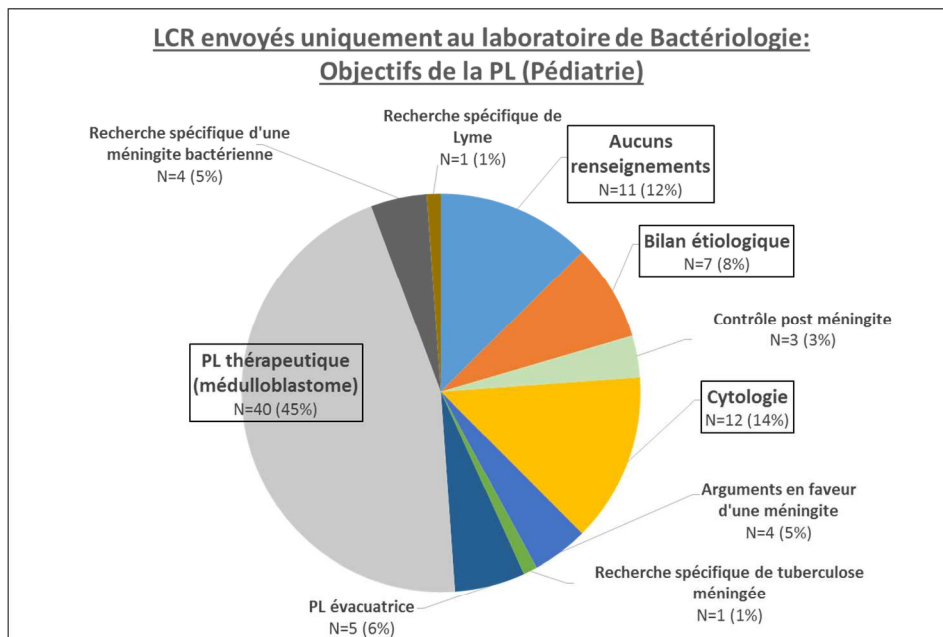


Figure 39. LCR envoyés uniquement au laboratoire de Bactériologie : Objectifs de la PL (Pédiatrie)

Les cultures bactériennes étaient positives dans 8,3% (4/48) et un antibiogramme a été pratiqué à chaque fois :

- *Staphylococcus aureus* (quelques colonies) : pas d'information supplémentaire
- Staphylocoque à coagulase négative après enrichissement dans le cadre d'une PL évacuatrice pour hydrocéphalie
- *Staphylococcus aureus* (rares colonies) chez un enfant présentant un choc septique décompensé, avec la même souche de *S.aureus* dans ses hémocultures
- *Streptococcus pneumoniae* (quelques colonies) chez un enfant présentant une hypotonie et des signes de déshydratation, et dont une hémoculture pousse aussi à *S.pneumoniae*

4. Synthèse

Toutes les recherches de virus s'effectuent en biologie moléculaire au laboratoire de virologie.

Il n'y a pas d'étape de *screening* par un examen cytologique : la recherche de l'HSV1 et 2, du VZV et de l'EV est *quasi* systématique, contrairement au CMV, l'EBV et le virus JC notamment, qui sont des recherches beaucoup plus ciblées. L'élément important quant à l'orientation des recherches est l'état immunitaire du patient ; la cytologie du LCR a peu d'intérêt en virologie.

Un résultat négatif est aussi important qu'un résultat positif et permet d'orienter le diagnostic.

Les LCR thèques représentent une part importante des demandes : elles permettent d'effectuer des recherches *a posteriori* en cas de doute diagnostic, notamment avec le service de neurologie où l'étiologie infectieuse n'est pas la plus fréquente.

Les LCR sont envoyés au laboratoire de bactériologie dans le cadre de différentes indications : diagnostic d'infection du SNC, évaluation de la cytologie (service de Neurologie), protocole d'envoi des PL thérapeutiques (service d'Hématologie clinique). En cas de suspicion d'infection du SNC, la cytologie est l'élément principal d'orientation ; la biologie moléculaire représente une part très faible des techniques diagnostiques au sein du laboratoire de bactériologie.

Le volume de LCR nécessaire à la réalisation des recherches « classiques » est élevé, et parfois impossible à obtenir. La revue de prescription effectuée par le biologiste, déjà difficile de par l'absence des renseignements cliniques nécessaires sur les bons de prescriptions, est rendue plus compliquée à mettre en place depuis la réorganisation des laboratoires. De plus, les infections du SNC sont pour la grande majorité des infections aiguës qui nécessitent une réponse rapide de la part des laboratoires. Dans ce contexte, les techniques de PCR multiplex seraient tout à fait indiquées pour palier à ces difficultés, et permettraient d'optimiser la prise en charge des LCR et donc des patients.

Partie 2 : Optimisation de la prise en charge des prélèvements de liquides céphalorachidiens au laboratoire de Virologie du CHU de Caen

1. Comparaison de 2 techniques de RT-PCR en temps réel pour la détection de l'ARN Entérovirus dans les échantillons de LCR

A. Etude prospective

a. Objectif

L'objectif de cette étude a été d'évaluer le kit de RT-PCR Entérovirus Diagenode O-DiaENT[®] par comparaison avec la technique de RT-PCR en temps réel utilisée en routine au laboratoire de virologie du CHU de Caen.

b. Matériel et Méthodes

L'étude prospective a été menée du 29 juin au 04 octobre 2016, période de pic estival de circulation des entérovirus à tropisme méningé.

La technique de RT-PCR en temps réel utilisée en routine a été décrite en Partie 1.

Pour valider la technique, toutes les conditions suivantes doivent être impérativement remplies:

- Le TE ne doit donner aucun signal à 530nm (*green*) et doit sortir autour de 28 cycles à 610nm (*orange*).
- La valeur du témoin positif 10 TCID50 doit être comprise entre 28 et 31 Ct et la valeur du témoin positif 1 TCID50 doit être comprise entre 31 et 34 Ct.
- Validation du CI : Le Ct MS2 du TE doit être supérieur à 33 Ct. Si le Ct MS2 de l'échantillon est inférieur au Ct MS2 du TE +3, l'échantillon est validé. Si le Ct MS2 de

l'échantillon est supérieur au Ct MS2 du TE +3, l'échantillon est validé si la RT-PCR Entérovirus est positive, mais l'échantillon n'est pas validé si la RT-PCR Entérovirus est négative. Dans ce cas, il est nécessaire de réextraire l'échantillon et de le passer dans la série suivante.

La trousse O-DiaENT[®] permet la détection qualitative des entérovirus par RT-PCR en temps réel dans le LCR après extraction. Les extraits utilisés sont ceux obtenus après extraction sur l'EZ1[®], selon le protocole d'extraction de la technique de routine.

Le mix est préparé extemporanément de la façon suivante, pour un tube : 6,25µL de Master Mix 4X, 2,5µL de sondes et amorces pathogène, 2,5µL de sondes et amorces du contrôle d'amplification, 6,25µL d'eau, 2,5µL de CI pour un volume final de 20µL. 5µL d'extraits, de témoin positif et de témoin négatif (prêts à l'emploi, fournis dans le kit) sont ensuite ajoutés au mix. La RT-PCR est réalisée sur le même Rotor-Gene[®] QIAGEN N°R060949 utilisé pour la technique de routine.

Pour valider la technique, toutes les conditions suivantes doivent être impérativement remplies:

- Le témoin négatif est valide s'il n'y a pas de signal FAM au-dessus du seuil.
- Le témoin positif est valide si le Ct obtenu est compris entre 26.7 et 33.3.
- Le CI est valide dès qu'un signal est détecté, quel que soit le Ct obtenu.

c. Résultats

- Patients :

Au total, lors de cette étude prospective, 46 échantillons de LCR frais ont été testés avec les 2 techniques, sur le même automate Rotor-Gene[®] QIAGEN N°R060949.

Avec la technique de routine, nous avons obtenus 13 résultats positifs : 9 patients et 4 contrôles de qualité QCMD. Avec la technique Diagenode[®], nous avons obtenus 12 résultats positifs : 8 patients et 4 contrôles de qualité QCMD. La discordance s'observe chez un patient, pour lequel le Ct obtenu avec la technique routine est de 38,15 (absence de signal avec la technique Diagenode[®]). Le géotypage de la souche n'a pas pu être effectué du fait de l'absence d'amplification lors de la PCR nichée, et le résultat rendu de la souche était « non typable ».

Pour les 12 échantillons positifs, la moyenne des Ct de la cible obtenus avec la technique de routine est de 32,11 (de 28,81 à 38,08). La moyenne des Ct de la cible obtenus avec le kit Diagenode testé est de 30,67 (de 27,76 à 39,68) [Tableau 18].

Le signal obtenu avec le kit Diagenode[®] sort plus tôt de 1,44Ct par rapport à la technique de routine (de 0,46 à 3,51).

Patients	Ct obtenus avec la technique routine	Ct obtenus avec le kit Diagenode [®]	Delta Ct
Patient 1	37.29	33.86	-3.43
Patient 2	37.31	35.00	-2.31
Patient 3	31.20	29.52	-1.68
Patient 4	29.32	27.76	-1.56
Patient 5	28.81	28.17	-0.64
Patient 6	32.53	30.06	-2.47
Patient 7	38.08	39.68	1.6
Patient 8	29.43	28.12	-1.31
Patient 9	29.26	28.71	-0.55
Patient 10	32.31	28.80	-3.51
Patient 11	30.51	29.56	-0.95
Patient 12	29.30	28.84	-0.46
Moyenne	32.11	30.67	-1.44

Tableau 18. Ct obtenus avec la technique de routine et le kit Diagenode[®] pour les 12 patients positifs

- Contrôle interne :

Pour les 12 échantillons positifs, la moyenne des Ct du CI obtenus avec la technique de routine est de 31,06 (de 28,28 à 34,09). La moyenne des Ct du CI obtenus avec le kit Diagenode[®] testé est de 25,71 (de 24,15 à 27,95) [Tableau 19].

Le signal du CI obtenu avec le kit Diagenode® sort plus tôt de 5,34Ct par rapport à la technique de routine (de 1,04 à 8,20).

Patients	Ct du CI obtenus avec la technique routine	Ct du CI obtenus avec le kit Diagenode®	Delta Ct
Patient 1	29.29	25.18	-4.11
Patient 2	29.97	25.26	-4.71
Patient 3	30.54	24.15	-6.39
Patient 4	33.21	26.41	-6.8
Patient 5	31.51	25.92	-5.59
Patient 6	34.09	25.90	-8.19
Patient 7	34.05	25.85	-8.20
Patient 8	32.50	25.57	-6.93
Patient 9	30.22	24.60	-5.62
Patient 10	28.28	26.10	-2.18
Patient 11	30.01	25.67	-4.34
Patient 12	28.99	27.95	-1.04
Moyenne	31.06	25.71	-5.34
Ecart-type	1.99	0.95	2.21

Tableau 19. Ct du CI obtenus avec la technique de routine et le kit Diagenode® pour les 12 patients positifs

Pour tous les échantillons testés (n=46), la moyenne des Ct du CI obtenus avec la technique de routine est de 31,16 (de 28,28 à 34,18). La moyenne des Ct du CI obtenus avec le kit Diagenode® est de 25,79 (de 24,02 à 28,38) [Annexe 22]. Le signal du CI obtenu avec le kit Diagenode® sort plus tôt de 5,37Ct par rapport à la technique de routine (de 0,35 à 8,58).

A propos des témoins positifs, la moyenne des Ct du CI obtenus avec le kit Diagenode® est de 26,01 (de 24,51 à 28,26). A propos des témoins négatifs, la moyenne des Ct du CI obtenus avec le kit Diagenode® est de 25,82 (de 24,30 à 28,06) [Annexe 23].

- Témoins positifs:

A propos des 2 témoins positifs utilisés pour la technique de routine, 10 TCID50 et 1 TCID50, les moyennes des Ct obtenus sont respectivement de 28,65 (de 27,74 à 29,78) et 31,92 (de 29,80 à 33,39). A propos du témoin positif fourni dans le kit Diagenode®, la moyenne des Ct obtenus est de 31,51 (de 29,18 à 33,60) [Annexe 24].

- **Génotypage :**

Sur les 12 échantillons positifs avec la technique de routine, le génotypage effectué au laboratoire de virologie par PCR nichée suivie d'un séquençage type Sanger, a permis de mettre en évidence 8 types d'entérovirus (2 Coxsackievirus B3, 2 Entérovirus 71, 2 Echovirus 18, 1 Coxsackievirus B1, 1 Coxsackievirus B4, 1 Echovirus 30, 1 Echovirus 5) et 2 entérovirus non typables [Tableau 20].

Patient/Echantillon	Age	Sexe	Génotype
Patient 1	9 ans	Masculin	Coxsackievirus B1
Patient 2	9 ans	Féminin	Non typable
Patient 3	60 ans	Masculin	Non typable
Patient 4	2 mois	Masculin	Echovirus 30
Patient 5	10 jours	Masculin	Coxsackievirus B3
QCMD1	-	-	Coxsackievirus B3
QCMD2	-	-	Entérovirus 71
QCMD3	-	-	Entérovirus 71
QCMD4	-	-	Entérovirus 68
Patient 6	16 jours	Masculin	Coxsackievirus B4
Patient 7	1 mois	Masculin	Echovirus 18
Patient 8	17 ans	Féminin	Echovirus 5
Patient 9	29 ans	Masculin	Echovirus 18

Tableau 20. Génotypes des 13 échantillons positifs à entérovirus

- **QCMD :**

Nous avons testé 5 contrôles de qualité externes QCMD parmi tous les échantillons testés. La concordance des résultats retrouvés avec la RT-PCR du kit entérovirus Diagenode® est de 100 % par rapport à la technique de routine. Ces résultats sont concordants avec les résultats attendus par l'organisme fournisseur de ces contrôles de qualité externes.

Le QCMD négatif a bien été retrouvé négatif avec les 2 techniques. Les QCMD positifs ont été aussi retrouvés positifs avec les 2 techniques, les génotypages étant aussi concordants avec les résultats attendus. Parmi ces QCMD se trouvait une faible charge virale d'Entérovirus 71, qui a été détectée avec les 2 techniques [Tableau 21].

N° QCMD	Génotype	Fréquence de détection	Détection avec la technique de routine	Détection avec le kit Diagenode®
1	Entérovirus négatif	-	oui	oui
2	Coxsackievirus B3	Détection fréquente	oui	oui
3	Entérovirus 71 (forte charge virale)	Détection fréquente	oui	oui
4	Entérovirus 71 (faible charge virale)	Détection peu fréquente	oui	oui
5	Entérovirus 68	Détection fréquente	oui	oui

Tableau 21. Résultats des QCMD Entérovirus 2016 avec les techniques de routine et Diagenode®

d. Discussion et perspectives

A propos du résultat discordant, une repasse en technique de routine et avec le kit Diagenode® n'a pas pu être effectuée à cause d'une quantité insuffisante d'extrait. Une troisième technique (voir plus loin) sera effectuée sur ce prélèvement, stocké au congélateur à -80°C. Cette troisième technique permettra l'interprétation de ce résultat discordant. Le Ct obtenu avec la technique de routine est de 38,15, ce qui est élevé. On pourrait imaginer une mauvaise conservation de l'extrait, une prise en charge trop tardive de l'extrait pour la réalisation de la RT-PCR avec le kit Diagenode®, ou encore une charge virale très faible en dessous de seuil de détection.

L'interprétation des résultats avec Le kit Diagenode® est simplifiée, avec des signaux et des Ct obtenus plus précocement (1,44 Ct en moyenne) qu'avec la technique de routine pour les échantillons positifs.

Les extraits d'ARN, utilisé pour la technique de routine, ont aussi servi à la technique Diagenode® : le CI du kit n'a donc pas été intégré dans l'échantillon de LCR de départ. Il est ajouté dans le pré-mix, et n'est donc pas extrait : il permet un contrôle de l'amplification uniquement. Nous l'avons tout de même qualifié de « CI ». Au vu des résultats, ce contrôle sort plus tôt que le CI de la technique de routine, en moyenne de 5,34Ct pour les patients

positifs. Si l'on regarde le total des échantillons testés, ce contrôle sort aussi plus tôt, en moyenne de 5,37Ct. Les valeurs de Ct de ce CI sont aussi moins dispersées avec le kit Diagenode® (écart-type 0,95 pour les échantillons positifs, écart-type 1,10 pour la totalité des échantillons testés) qu'avec la technique de routine (écart-type 1,99 pour les échantillons positifs et 1,58 pour la totalité des échantillons testés). On note dans l' [Annexe 22](#), que pour les 6 derniers échantillons testés (N°41 à 46), le delta Ct du CI est beaucoup plus faible que pour le reste des échantillons. Ceci peut être expliqué par une plus longue latence entre le moment de l'extraction du LCR et la réalisation de la RT-PCR avec le kit Diagenode®. En effet, l'extraction a eu lieu le lundi matin, la technique de routine a été effectuée dans la foulée, mais pour des raisons techniques, la RT-PCR avec le kit Diagenode® a été effectuée le lendemain après-midi. Ceci montre que la RT-PCR doit être réalisée rapidement (dans les 24 heures) après l'extraction de l'ARN, et que la conservation de cet extrait à +4°C ne devrait pas dépasser ce délai.

La technique de routine est moins pratique et plus lourde en terme de préparation. En effet les techniciennes doivent préparer les 2 témoins positifs à partir d'une souche de référence « ECHO 30.35.30.483 ». Cette souche est repiquée sur cellules MCR5 : lorsqu'un effet cytopathique apparaît, le surnageant de culture est recueilli et congelé en plusieurs aliquots de 1,5mL. Cette souche est ensuite titrée pour préparer le contrôle dit « fort » (10 TCID50) et le contrôle dit « faible » (1 TCID 50). Le blanc, constitué d'eau, sert de témoin négatif. Avec le kit Diagenode®, les témoins positif et négatif sont prêts à l'emploi. La moyenne des Ct obtenus avec le kit Diagenode pour le témoin positif est de 31,51, ce qui est proche de la moyenne des Ct obtenus avec la technique de routine pour le témoin faible 1 TCID50 (31,92).

Cette comparaison de méthodes a été effectuée sur un faible nombre d'échantillons (n=46), expliqué par une absence de pic estival de méningites à entérovirus durant l'été 2016.

Néanmoins, ces premiers résultats ont permis d'évaluer le kit de RT-PCR entérovirus Diagenode® O-DiaENT, qui est un kit plus simple et rapide d'utilisation que la technique de routine. Il permet d'obtenir des résultats similaires avec des Ct plus précoces, et un CI moins dispersé.

B. Etude rétrospective

a. Objectif

L'objectif principal de cette étude a été d'évaluer le kit de RT-PCR Entérovirus Diagenode® O-DiaENT par comparaison avec la technique utilisée en routine au laboratoire de virologie du CHU de Caen. L'évaluation porte surtout sur la stabilité des échantillons de LCR ainsi que sur le volume d'échantillon nécessaire à la technique. En effet, le LCR est un prélèvement précieux, et le volume reçu est souvent insuffisant pour effectuer toutes les recherches nécessaires aux cliniciens pour établir le diagnostic étiologique des infections neurologiques.

b. Matériel et Méthodes

Cette étude est une étude rétrospective menée sur 25 échantillons de LCR, conservés congelés à -80°C.

Une requête a été effectuée du 31 décembre 2014 au 31 mai 2016, pour rechercher tous les LCR rendus positifs à Entérovirus. La date de début correspond au moment où l'extracteur EZ1® a été mis en place au laboratoire de virologie. Nous avons ensuite estimé chaque volume de LCR restant, stockés à -80°C. Nous avons sélectionné les LCR pour lesquels il restait un volume d'au moins 200µL. Ces LCR ont ensuite été stockés à part, dans une boîte à -80°C.

Les 25 échantillons ont été extraits sur l'automate EZ1® puis testés d'une part avec la technique de routine et d'autre part avec le kit Diagenode®. Nous avons donc 3 résultats : le premier

résultat obtenu avec la technique de routine lors du prélèvement (appelé « Routine 1 »), un second résultat obtenu avec la technique de routine lors de cette étude rétrospective (appelé « Routine 2 ») et un troisième résultat obtenu avec le kit Diagenode®.

Un témoin de non contamination (ou TE) a été inséré dans chaque série d'extraction, constitué d'eau. L'extraction nécessite un volume minimum de 400µL de LCR, mais une dilution au demi dans du PBS peut être réalisée en cas de quantité insuffisante d'échantillon. Nous avons donc testé les échantillons avec et sans cette dilution au demi.

Au total, 9 échantillons (n°1 à 9) ont été extraits en duplicate sur une prise d'essai de 400µL et de 200µL, 10 échantillons (n°10 à 19) ont été extraits sur une prise d'essai de 400µL et 6 échantillons (n°20 à 25) ont été extraits sur une prise d'essai de 200µL.

La RT-PCR en temps réel de routine a été réalisée avec la technique « maison » sur le Rotor-Gene® avec une prise d'essai de 400µL. La RT-PCR en temps réel avec le kit Diagenode® a été effectuée sur les mêmes extraits utilisés pour la technique de routine. Le CI fourni dans le kit a été ajouté à l'échantillon de LCR avant extraction : il est donc extrait avec l'échantillon. Les témoins positifs et négatifs sont prêts à l'emploi et ne sont pas extraits. La RT-PCR est réalisée sur le Rotor-Gene®.

c. Résultats

- Comparaison des 2 techniques de routine

La RT-PCR en temps réel effectuée avec la technique de routine (1 et 2) a été positive sur les 25 échantillons (100%) de LCR sélectionnés. Les Ct de la cible obtenus avec la technique routine 1 sont significativement les mêmes que ceux obtenus avec la technique routine 2 [Annexe 25].

- Comparaison entre la technique routine 2 (prise d'essai : 400µL) et le kit Diagenode® sur les 9 échantillons extraits (prise d'essai : 400µL et 200µL):

La technique de RT-PCR avec le kit Diagenode® a été positive sur 9 échantillons avec prise d'essai de 400µL et sur 8 échantillons avec prise d'essai de 200µL.

Les résultats obtenus sur les 9 échantillons avec une prise d'essai de 400µL sont concordants.

En revanche, pour l'un des échantillons extraits sur une dilution au demi, le résultat est discordant (échantillon n°1): il n'y a pas de signal avec la technique Diagenode® [Tableau 22].

N°	Ct obtenus avec la technique de routine 2	Ct obtenus avec le kit Diagenode®	ΔCt entre les 2 techniques	Ct obtenus avec le kit Diagenode®	ΔCt entre 2 techniques Diagenode®
	prise d'essai 400µL	prise d'essai 400µL	prise d'essai 400µL	prise d'essai 200µL	prises d'essai 400µL et 200µL
1	35,60	35,14	-0,46	-	-
2	31,10	26,76	-4,34	27,87	1,11
3	34,10	28,86	-5,24	29,11	0,25
4	32,40	25,08	-7,32	25,13	0,05
5	37,80	32,43	-5,37	35,89	3,46
6	31,80	26,44	-5,36	27,08	0,64
7	38,10	26,16	-11,94	27,60	1,44
8	30,70	26,39	-4,31	27,15	0,76
9	33,60	29,51	-4,09	32,00	2,49
Moyenne	-	-	-5,38	-	1,28
Ecart-type	-	-	3,06	-	1,17

Tableau 22. Comparaison des Ct obtenus rétrospectivement avec la technique routine 2 et le kit Diagenode® sur une prise d'essai de 400µL et sur une dilution au demi (n=9)

Le signal obtenu avec le kit Diagenode® (prise d'essai de 400µL) sort plus tôt de 5,38Ct (de 0,46 à 11,94) par rapport à la technique de routine.

Pour les 8 échantillons positifs avec le kit Diagenode®, le signal obtenu avec une prise d'essai de 200µL sort plus tard de 1,28 Ct (de 0,05 à 3,46) par rapport à une prise d'essai de 400µL.

- Comparaison entre la technique de routine 2 (prise d'essai : 400µL) et le kit Diagenode® (prise d'essai : 400µL):

Nous avons comparé 19 échantillons de LCR avec une prise d'essai de 400µL: un seul échantillon est discordant (échantillon n°14). Le Ct de la cible obtenu avec la technique de routine en rétrospectif est de 36,80, et le génotypage n'a pas permis d'identifier le génotype de l'entérovirus (rendu entérovirus non typable) [Tableau 23].

En moyenne, le signal obtenu avec le kit Diagenode® sort plus tôt qu'avec la technique de routine, de 4,37Ct (de 0,46 à 11,94).

Patients	Ct obtenus avec la technique de routine 2		Ct obtenus avec le kit Diagenode®		Delta Ct entre les 2 techniques	
	prise d'essai 400µL		prise d'essai 400µL		prise d'essai 400µL	
1		35,60		35,14		-0,46
2		31,10		26,76		-4,34
3		34,10		28,86		-5,24
4		32,40		25,08		-7,32
5		37,80		32,43		-5,37
6		31,80		26,44		-5,36
7		38,10		26,16		-11,94
8		30,70		26,39		-4,31
9		33,60		29,51		-4,09
10		31,70		29,07		-2,63
11		35,20		32,40		-2,80
12		31,10		29,39		-1,71
13		32,10		27,68		-4,42
14		36,70		-		-
15		31,40		28,95		-2,45
16		33,90		32,47		-1,43
17		33,10		27,91		-5,19
18		33,40		26,80		-6,60
19		33,70		30,75		-2,95
Moyenne		-		-		-4,37
Ecart-type		-		-		2,62

Tableau 23. Comparaison des Ct de la cible obtenus rétrospectivement avec la technique de routine 2 et le kit Diagenode® sur une prise d'essai de 400µL (n=19)

- Comparaison entre la technique de routine 2 (prise d'essai : 400µL) et le kit Diagenode® (prise d'essai : 200µL) :

Nous avons comparé 6 échantillons avec la technique de routine (prise d'essai 400µL) avec le kit Diagenode® (prise d'essai 200µL). Sur les 6 échantillons, un seul est discordant (n°25). Le Ct obtenu avec la technique routine 2 est de 37,50, mais aucun signal n'a été détecté avec le kit Diagenode®. Le Ct obtenu avec la technique de routine 1 était aussi de 37,50 [Tableau 24].

En moyenne, le signal obtenu avec le kit Diagenode® sort plus tôt qu'avec la technique de routine, de 3,37Ct (de 2,63 à 3,99).

Patients	Ct obtenus avec la technique de routine	Ct obtenus avec le kit Diagenode®	Delta Ct entre les 2 techniques
	prise d'essai 400µL	prise d'essai 200µL	prise d'essai 200µL
20	30,20	26,58	-3,62
21	33,30	30,01	-3,29
22	31,90	29,27	-2,63
23	32,40	29,09	-3,31
24	34,90	30,91	-3,99
25	37,50	-	-
Moyenne	-	-	-3,37
Ecart-type	-	-	0,50

Tableau 24. Comparaison des Ct de la cible obtenus rétrospectivement avec la technique routine et le le kit Diagenode® sur une prise d'essai de 200µL (n=6)

- Discordances :

Sur les 25 échantillons testés, nous obtenons 3 résultats discordants entre les techniques de routine et Diagenode® [Tableau 25].

N°	Ct obtenus avec la technique de routine 1	Ct obtenus avec le kit Diagenode®	Ct obtenus avec le kit Diagenode®	Génotypage
	prise d'essai 400µL	prise d'essai 400µL	prise d'essai 200µL	
1	35,60	35,14	Pas de Ct	Coxsakiavirus B5
14	36,70	Pas de Ct	Non réalisé	Entérovirus non typable
25	37,50	Non réalisé	Pas de Ct	Absence d'amplification

Tableau 25. Récapitulatif des Ct de la cible obtenus en technique de routine et avec le kit Diagenode pour les 3 échantillons discordants

Pour l'échantillon n°1, nous avons bien détecté avec le kit Diagenode®, la présence d'ARN d'entérovirus en utilisant une prise d'essai de 400µL de LCR pour l'extraction sur l'EZ1®. En revanche avec une prise d'essai de 200µL de LCR dilué dans 200µL de PBS, aucun signal n'a été détecté. Le génotypage réalisé au moment du prélèvement a permis de conclure à un Coxsakievirus B5.

Pour l'échantillon n°14, nous n'avons pas détecté la présence d'ARN d'entérovirus avec une prise d'essai de 400µL de LCR. Le Ct obtenu avec la technique de routine était de 36,70 mais le génotypage n'a pas été concluant : cet entérovirus était « non typable ».

Pour l'échantillon n°25, nous n'avons pas détecté la présence d'ARN d'entérovirus avec une prise d'essai de 200µL de LCR. Le volume restant de LCR était insuffisant pour refaire la technique. Le Ct obtenu avec la technique de routine est de 37,50 mais le génotypage n'a pas pu être réalisée, du fait d'une absence d'amplification lors de la PCR avant le séquençage.

d. Discussion et perspectives

Cette comparaison a permis de mettre en évidence que la technique de routine est reproductible. En effet, les Ct obtenus sont significativement les mêmes entre la technique routine effectuée au moment de la demande et celle effectuée lors de l'étude rétrospective, malgré l'étape de congélation/décongélation.

En revanche, en comparant la technique de routine avec la technique Diagenode® (effectuées sur le même automate), les Ct de la cible obtenus avec cette seconde technique sont plus faibles. En effet, le signal sort en moyenne plus tôt de 4,37Ct pour une prise d'essai identique. Une dilution de l'échantillon au demi a un impact sur le signal détecté : celui-ci est détecté plus tard, en moyenne de 1,28Ct par rapport à une prise d'essai de LCR de 400µL. Plus l'échantillon

est dilué, plus la charge virale diminue, et plus le signal sera détecté tard. Le risque est donc de rendre un résultat faussement négatif par dilution de l'échantillon.

Concernant les 3 échantillons discordants, on peut se poser la question de l'impact de la dilution sur la charge virale contenue dans l'échantillon, la mauvaise conservation des échantillons, une charge virale trop faible dans le LCR. Deux résultats discordants impliquent des échantillons où l'on détecte des quantités faibles de virus, évaluées avec des Ct élevés. Pour l'échantillon n°14, le Ct obtenu avec la technique de routine est élevé (36,70) et le géotypage n'avait pas été concluant. Cet échantillon sera testé avec une 3^{ème} technique (voire plus loin). Pour l'échantillon n°25, le Ct obtenu avec la technique de routine est lui aussi élevé (37,50) et le géotypage n'avait pas pu être réalisé du fait d'une absence d'amplification lors de la PCR nichée.

Pour l'échantillon n°1, le Ct n'étant pas particulièrement élevé, la dilution n'aurait normalement pas dû avoir de conséquence sur la détection de l'ARN viral.

On peut dans ces 3 cas se poser la question d'une mauvaise conservation des échantillons, d'une dégradation de l'ARN dans le prélèvement ou d'une charge virale trop faible dans le prélèvement.

2. Evaluation d'une technique de PCR Multiplex pour la détection de 14 micro-organismes dans les échantillons de LCR

A. Objectifs

L'objectif principal de cette étude est une évaluation du panel Méningoencéphalite (ME) sur l'automate FilmArray® Biomérieux, en testant rétrospectivement 24 échantillons de LCR, conservés congelés à -80°C.

Les résultats obtenus sont comparé aux résultats obtenus avec les techniques effectuées en routine au laboratoire de virologie et de bactériologie du CHU de Caen sur des LCR « frais ».

Le second objectif de cette étude est de comparer les délais de rendu de résultats entre la technique multiplex et les techniques effectuées en routine, ainsi que l'influence sur la durée d'hospitalisation des patients.

B. Présentation de la PCR Multiplex Panel ME, FilmArray® Biomérieux

a. Généralités

Le FilmArray® ME Panel est un test diagnostique multiplex *in vitro* pour la détection qualitative d'acides nucléiques. Il est capable de détecter et d'identifier simultanément les acides nucléiques de diverses bactéries, virus et levures directement à partir d'échantillons de LCR. Les organismes suivants sont identifiés à l'aide de ce panel : *Escherichia coli* K1, *Haemophilus influenzae*, *Listeria monocytogenes*, *Neisseria meningitidis* (encapsulée), *Streptococcus agalactiae*, *Streptococcus pneumoniae*, HSV1, HSV2, VZV, HHV6, CMV, EBV Paréchovirus humain et *Cryptococcus neoformans/gattii*.

Ce panel est une aide au diagnostic des agents spécifiques aux méningites et/ou aux encéphalites. Des résultats positifs n'excluent pas une coinfection par des organismes non inclus dans le panel. Tous les agents responsables d'une infection du SNC ne sont pas détectés par ce test : des résultats négatifs n'excluent pas une infection du SNC.

b. Agents pathogènes détectés

Nous avons vu précédemment en introduction l'épidémiologie et la présentation des virus responsables d'infections du SNC. Nous allons décrire rapidement les bactéries et levures à l'origine d'infections du SNC détectées avec ce panel.

- *E.coli* K1 :

Les souches d'*E.coli* K1 constituent près de 80% des *E.coli* isolées dans le LCR. L'antigène K1 est une capsule qui protège les bactéries du système immunitaire. Les méningites à *E.coli* K1 sont particulièrement inquiétantes chez les prématurés et les nouveau-nés avec des taux de mortalité respectivement de 13% et 25% [120]. Les infections chez l'adulte sont moins courantes et généralement opportunistes.

- *H.influenzae* :

Avant l'introduction de la vaccination, l'incidence des infections invasives à *H.influenzae* était de 27 pour 100 000 en France, soit 1 000 cas par an (17/100 000 pour les méningites) [121]. Les méningites purulentes sont les plus fréquentes (60%), et les plus graves par leurs séquelles (10 à 15% de surdité) avec un taux de mortalité associé de 3%. Les méningites s'observent dans 80% des cas entre 3 et 18 mois. Depuis l'introduction de la vaccination contre l'*H.influenzae* de type b en 1992 grâce à son association au vaccin diphtérie-polio-tétanos, la couverture vaccinale est très élevée. L'incidence des méningites à *H.influenzae* a été divisée par 10 entre 1991 et 2005.

- *L.monocytogenes* :

Ce bacille Gram positif est responsable de la listériose. La listériose invasive peut entraîner une fausse couche, une septicémie, une méningite et une méningo-encéphalite. Les populations à risque de présenter une listériose invasive sont les patients ID, les femmes enceintes, les nouveau-nés, les fœtus et les personnes âgées. L'incidence de la méningite à *L.monocytogenes* a diminué depuis 1992, en passant de 0,4/100 000 à 0,1/100 000 en 2010 [8].

- *N.meningitidis* ou Méningocoque :

Seuls les *N.meningitidis* encapsulées sont généralement considérées comme pathogènes. Les méningites à Méningocoque sont plus courantes chez les nourrissons, les enfants et les jeunes adultes. Le sérotype B est à l'origine de 60 à 80% des infections invasives avec une incidence variable en fonction de l'âge : 0,1 cas pour 100 000 chez les plus de 25 ans et 6 cas pour 100 000 chez les moins de 1 ans [8].

- *S.agalactiae* ou Streptocoque B :

Le Streptocoque B est une cause importante de méningite chez les nouveau-nés, en particulier chez les prématurés. Avec un chiffre moyen de 70 cas par an, l'incidence annuelle des infections néonatales est restée stable entre 1997 et 2006, soit 0,10 pour 1 000 naissances. Les méningites contribuent en moyenne pour 45% des infections néonatales [122].

- *S.pneumoniae* ou Pneumocoque :

Le Pneumocoque est une cause majeure de méningite, en particulier chez les enfants et les personnes âgées avec une incidence stable de 6/100 000 chez les moins de 2 ans et de 2/100 000 chez les plus de 64 ans [8].

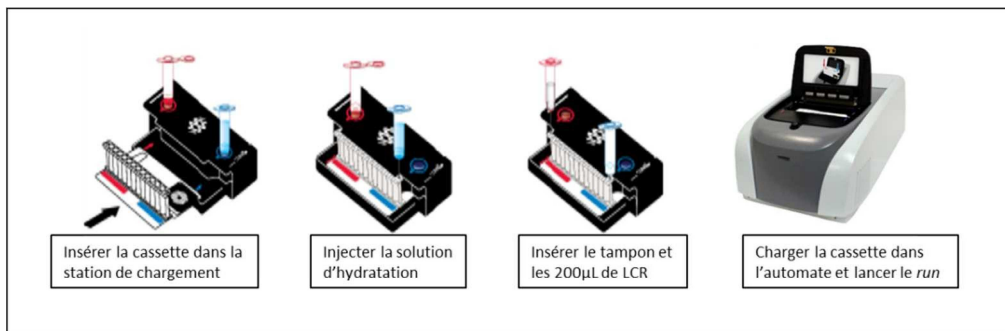
- *C.neoformans/gattii* :

C.neoformans et *C.gattii* sont des champignons pathogènes opportunistes indissociables avec la technique FilmArray® ME Panel. Ils sont responsables de la cryptococcose, dont la forme clinique la plus fréquente est une méningo-encéphalite disséminée, survenant surtout chez des patients ID. Elle survient chez 2 à 20% des patients infectés par le VIH, au stade SIDA, lors d'un déficit immunitaire profond. Le taux de mortalité associé est d'environ 20% [123].

C. Principe et fonctionnement

La cassette FilmArray® ME est un système fermé jetable à usage unique qui comprend tous les produits chimiques requis pour isoler, amplifier et détecter les acides nucléiques des différents pathogènes vus précédemment, au sein d'un seul échantillon de LCR.

Les manipulations manuelles, très simples, nécessitent 5 minutes maximum: l'utilisateur insère la cassette dans la station de chargement, injecte la solution d'hydratation puis le tampon et l'échantillon (200µL de LCR), et place la cassette dans l'automate [Figure 40]. Après le lancement de l'analyse, toutes les autres opérations sont automatisées.



Le composant en plastique rigide (support) de la cassette contient les réactifs lyophilisés. La partie en plastique souple de la cassette se divise en segments dans lesquels les processus chimiques sont réalisés [Figure 41].

La purification des acides nucléiques s'effectue dans les 3 premières plaquettes de la cassette. L'échantillon est lysé par agitation (broyage par des billes) et les acides nucléiques libérés sont capturés, lavés et élués selon grâce à des billes magnétiques. Ces étapes durent environ 10 minutes (C,D,E sur la Figure 41).

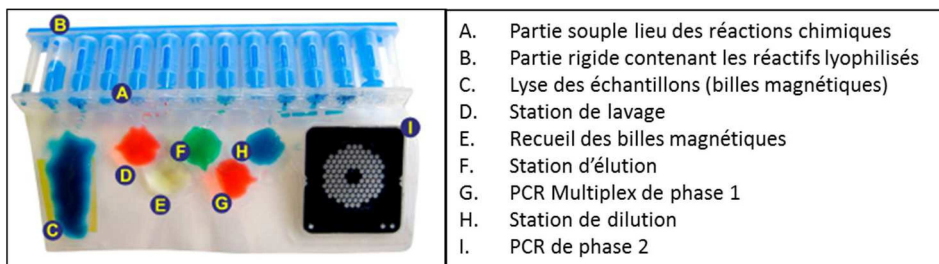


Figure 41. Présentation de la cassette FilmArray ME Panel

(Manuel d'utilisation)

L'étape de transcription inverse permet de convertir l'ARN viral en ADNc avant amplification. La PCR multiplex de phase 1 a pour but d'enrichir la solution en acides nucléiques cibles présents dans l'échantillon (F,G).

Les produits de la première PCR sont dilués (H) et mélangés avec des réactifs de PCR contenant un colorant d'ADN intercalant fluorescent. Cette solution est répartie sur la matrice de la seconde PCR (I). Chaque compartiment de la matrice contient des amorces pour des tests différents (chacune présente en triple exemplaire) qui ciblent les séquences d'acides nucléiques spécifiques de chacun des agents pathogènes détectés.

Après la seconde PCR, la température est progressivement augmentée et la fluorescence de chaque compartiment de la matrice est analysée afin de tracer une courbe de fusion. La température à laquelle le produit spécifique de PCR fond (température de fusion) est constante et prévisible : le logiciel FilmArray évalue automatiquement les données issues des compartiments pour chaque test afin de fournir les résultats. Le rapport de test est fourni automatiquement par le logiciel à la fin de l'analyse. L'ensemble du processus dure environ 1h10.

Deux contrôles sont inclus dans chaque cassette :

- Un « *RNA Process Control* » : il cible un produit de transcription d'ARN de la levure *Schizosaccharomyces pombe*. Ce contrôle passe par tous les stades du processus de

test (lyse, purification, transcription inverse, PCR n°1, dilution, PCR n°2 et fusion de l'ADN). Un résultat positif du contrôle indique le déroulement correct de toutes les étapes effectuées dans la cassette.

- Un « *PCR₂ Control* » : Il détecte une cible d'ADN (non précisé par le fournisseur). Un résultat positif indique que la PCR n°2 s'est déroulée correctement.

Les tests de contrôle doivent tous les deux être positifs pour que l'analyse soit réussie. Lorsque l'un ou l'autre des contrôles a échoué, le champ *Controls* du rapport de test affiche *Failed* et tous les résultats sont donnés comme *Invalid*. Si les contrôles échouent, l'échantillon devra être testé à nouveau avec une nouvelle cassette.

D. Matériel et Méthodes

Nous avons testé rétrospectivement 24 échantillons de LCR : un négatif et 23 positifs, choisis parmi les échantillons stockés à -80°C au laboratoire de virologie et pour lesquels un agent pathogène présent dans le panel ME était détecté. Parmi les échantillons positifs, on retrouvait : 13 EV, 1 HSV1, 1 HSV2, 2 VZV, 1 HHV6, 1 *N.meningitidis*, 2 *S.pneumoniae*, 1 *L.monocytogenes* et une co-infection CMV et *C.neoformans/gattii*.

Les réactifs du panel ME ont été réceptionnés puis stockés à température ambiante (15-25°C), dans la pièce de réserve du laboratoire de bactériologie. Les échantillons de LCR ont été stockés à -80°C dans un congélateur de la laverie du laboratoire de bactériologie. Ils ont ensuite été décongelés à température ambiante, extemporanément avant chaque test. Les réactifs, notamment la barrette conservée sous vide, ont été ouverts aussi avant chaque test.

Les manipulations ont été effectuées par le même opérateur pendant 4 jours (7 tests par jour).

Les résultats ont été comparés avec les techniques de routine des laboratoires de virologie et bactériologie.

L'évaluation de délai de rendu des résultats a été obtenue via le logiciel informatique des laboratoires (TD-Nexlab), et la durée d'hospitalisation ainsi que les renseignements des patients ont été obtenu via le logiciel patient du CHU (Référence).

E. Résultats

Sur les 24 échantillons testés, nous avons observé 5 discordances [Figure 42].

A propos de ces 5 discordances :

- Echantillon 1 : pas de détection du Coxsackievirus B5 avec le FilmArray. Le Ct obtenu avec la technique de routine sur LCR « frais » était de 35,6.
- Echantillon 12 : pas de détection de l'Echovirus 25 avec le FilmArray. Nous n'avons pas de Ct correspondant à la technique de RT-PCR de routine.
- Echantillon 13 : pas de détection d'un EV non typable avec le FilmArray. Le Ct obtenu avec la technique de routine sur LCR « frais » était de 38,2. Cet échantillon avait été testé avec la technique Diagenode (voir étude rétrospective) : l'ARN de l'EV était là aussi non détectable.
- Echantillon 18 : Pas de détection du CMV avec le FilmArray. Le Ct obtenu avec la technique de routine sur LCR « frais » était de 37,3.
- Echantillon 19 : Pas de détection de l'HHV6 avec le FilmArray. Le Ct obtenu avec la technique de routine sur LCR « frais » était de 38,8.

N° échantillon	Date de prélèvement	Durée de congélation à -80°C (mois)	Résultat obtenu avec la technique effectuée en routine au laboratoire	Ct obtenu avec la technique effectuée en routine au laboratoire	Résultat obtenu avec le Panel ME sur Filmarray®
1	05/06/2015	16	Coxsackievirus B5 ¹	35,6	Négatif
2	17/06/2015	16	Echovirus 6 ¹	31,1	Enterovirus
3	01/07/2015	15	Echovirus 5 ¹	34,1	Enterovirus
4	18/10/2015	12	Echovirus 6 ¹	32,4	Enterovirus
5	05/01/2016	9	Coxsackievirus B5 ¹	31,7	Enterovirus
6	17/07/2015	15	Coxsackievirus B5 ¹	37,8	Enterovirus
7	04/06/2015	16	Echovirus 6 ¹	31,8	Enterovirus
8	21/01/2016	9	Echovirus 6 ¹	38,1	Enterovirus
9	24/06/2016	4	Echovirus 9 ¹	30,9	Enterovirus
10	11/06/2015	16	Coxsackievirus B5 ¹	35,2	Enterovirus
11	10/07/2016	3	Coxsackievirus B2 ²	-	Enterovirus
12	14/06/2016	4	Echovirus 25 ²	-	Négatif
13	15/07/2016	3	Entérovirus non typable ³	38,2	Négatif
14	13/08/2015	14	HSV1 ⁴	33,5	Herpes simplex virus 1
15	18/09/2015	13	HSV2 ⁴	33,0	Herpes simplex virus 2
16	31/03/2015	18	VZV ⁴	32,4	Varicella zoster virus
17	06/05/2015	17	VZV ⁴	35,5	Varicella zoster virus
18	14/03/2015	19	CMV ⁵ et <i>Cryptococcus neoformans/gattii</i> ⁶	37,3 ⁵	<i>Cryptococcus neoformans/gattii</i>
19	01/02/2016	8	HHV-6 ⁷	38,8	Négatif
24	12/09/2016	0	Négatif	-	Négatif

¹RT-PCR maison effectuée sur Rotorgene® après extraction sur automate EZ1® - Génométypage obtenu par PCR nichée et séquençage

²Pas de RT-PCR effectuée (UF 7550) - Génométypage obtenu par PCR nichée et séquençage

³Entérovirus non typable ou Entérovirus humain - Résultat obtenu sur le NCBI (site d'alignement de séquences)

⁴PCR réalisée avec le kit Argene® sur Rotorgene® après extraction sur automate EZ1®

⁵PCR réalisée avec le kit ART US-CMV RGQ sur Rotorgene® après extraction sur automate Qiasymphony®

⁶Recherche d'antigènes solubles couplée à des cultures du LCR - Envoi au CNR pour identification de l'espèce

⁷PCR maison réalisée sur Smartcycler® après extraction sur automate EZ1

N° échantillon	Date de prélèvement	Durée de congélation à -80°C (mois)	Résultat obtenu après mise en culture et identification sur Maldi-Tof®	Résultat obtenu avec le Panel ME sur Filmarray®
20	29/02/2016	7	<i>Neisseria meningitidis</i> groupe C	<i>Neisseria meningitidis</i>
21	03/04/2016	6	<i>Streptococcus pneumoniae</i>	<i>Streptococcus pneumoniae</i>
22	20/06/2016	4	<i>Streptococcus pneumoniae</i>	<i>Streptococcus pneumoniae</i>
23	08/09/2016	1	<i>Listeria monocytogenes</i>	<i>Listeria monocytogenes</i>
24	12/09/2016	0	Négatif	Négatif

Figure 42. Résultats des tests effectués sur le FilmArray Panel ME

Les Ct obtenus avec les techniques de routine sont tous relativement élevés, témoignant d'une charge virale faible probablement responsable de ces discordances. La question d'une altération de ces échantillons, par le cycle congélation/décongélation, pourrait probablement expliquer ces discordances.

L'âge médian des 24 patients était de 36 ans (de 1 mois à 88 ans), et 54% était de sexe masculin (Ratio=1,2). Concernant les 23 LCR positifs, le délai moyen de rendu des résultats était de 27 heures (de 4 à 75 heures). La durée moyenne d'hospitalisation était de 22 jours (de 5 heures à 180 jours) et 2 patients sont décédés lors de l'hospitalisation. [\[Tableau 26\]](#).

Le nombre d'éléments dans le LCR était de 1 à 740 éléments/mm³ lors des étiologies virales, et de 1 440 à 30 000 éléments/mm³ lors des étiologies bactériennes.

Une antibiothérapie a été instaurée dans 68,4% et un traitement par aciclovir dans 31,6%. Une TDM cérébrale a été pratiquée dans 47,4% et une IRM cérébrale dans 10,5% des cas.

Dans 4 cas (13,6%), le patient est sorti avant que les résultats des analyses virologiques et bactériologiques du LCR ne soient disponibles.

Patients	Sexe Age	Renseignements cliniques	Cytologie de la PL	Antibiothérapie / Traitement antiviral	Imagerie cérébrale	Durée d'hospitalisation	Délai de rendu des résultats	Sortie avant résultats	Diagnostic retenu
1	F 16 ans	Céphalées frontales fébriles, photophobie, raideur de nuque, signe de Kernig. Pas de signe de localisation	66 éléments/mm ³ : 84% C mono 16% PNN 5700 hématies/mm ³	Ceftriaxone IV	TDM cérébrale sans injection	6,7 heures	72 heures	OUI	Méningite virale
2	F 34 ans	Céphalées intenses frontales fébriles, vomissement, phonophotophobie, raideur de nuque	5 éléments/mm ³ 42 hématies/mm ³	-	-	4,6 heures	30 heures	OUI	Virose
3	M 31 ans	Céphalées en casque fébriles, nausées photophobie	1 élément/mm ³ 0 hématie/mm ³	-	-	4,8 heures	4 heures	OUI	Syndrome viral
4	M 30 ans	Céphalées brutales fébriles, photophonophobie, raideur méningée. Pas de signe de localisation	181 éléments/mm ³ : 92% PNN 8% C mono 144 hématies/mm ³	Ceftriaxone IV	-	2 jours	6 heures	NON	Méningite à Entérovirus
5	F 1 mois	<i>Pas d'information</i>	<i>Pas d'information</i>	<i>Pas d'information</i>	<i>Pas d'information</i>	<i>Pas d'information</i>	6 heures	<i>Pas d'information</i>	<i>Pas d'information</i>
6	F 18 ans	Céphalées fébriles, photophobie, vomissements	95 éléments/mm ³ : 70% C mono 30% PNN 130 hématies/mm ³	Ceftriaxone IV	TDM cérébrale sans injection	1,5 jours	6 heures	NON	Méningite à Entérovirus
7	M 37 ans	Céphalées fébriles, syndrome grippal, raideur de nuque. Pas de signe de localisation	35 éléments/mm ³ : 69% C mono 31% PNN 2 hématies/mm ³	Ceftriaxone IV	-	1,5 jours	23 heures	NON	Méningite à Entérovirus
8	M 49 ans	Céphalées fébriles	740 éléments/mm ³ : 70% PNN 30% C mono 20 hématies/mm ³	Ceftriaxone IV	-	2 jours	7 heures	NON	Méningite à Entérovirus
9	M 2 mois	Fièvre sans point d'appel infectieux chez un prématuré, geignard, en pleurs	2 éléments/mm ³ 69 hématies/mm ³	Céfotaxime IV Amoxicilline IV Gentamicine IV	-	3 jours	4 heures (PCR Entérovirus sur le Genexpert® positive)	NON	Méningite à Entérovirus
10	F 31 ans	Céphalées en casque, photophobie	20 éléments/mm ³ : 62% C mono 38% PNN 410 hématies/mm ³	-	TDM cérébrale sans injection	2 jours	7 heures	NON	Méningite à Entérovirus
11	M 1 mois	Fièvre chez un nouveau-né sans point d'appel, pleurs	550 éléments/mm ³ : majorité de C mono 1 hématie/mm ³	Céfotaxime IV Amoxicilline IV Gentamicine IV Aciclovir IV	-	4 jours	4 heures (PCR Entérovirus sur le Genexpert® positive)	NON	Méningite à Entérovirus

Tableau 26. Renseignements cliniques, résultats de la cytologie de la PL, traitement, imagerie, durée d'hospitalisation et délai de rendu des résultats chez les patients (N=20) de l'étude FilmArray®

Patients	Sexe Age	Renseignements cliniques	Cytologie de la PL	Antibiothérapie / Traitement antiviral	Imagerie cérébrale	Durée d'hospitalisation	Délai de rendu des résultats	Sortie avant résultats	Diagnostic retenu
12	M 61 ans	Convulsions fébriles, troubles du comportement majeurs, désorientations chez un patient éthylique chronique et sous traitement antidépresseur	2 éléments/mm ³ 4 hématies/mm ³	Ceftriaxone IV Aciclovir IV	TDM cérébrale avec injection IRM cérébrale avec injection	11 jours	56 heures	NON	Crise généralisée tonico-clonique dans un contexte de sevrage éthylique
13	F 4 ans	<i>Pas d'information</i>	<i>Pas d'information</i>	<i>Pas d'information</i>	<i>Pas d'information</i>	<i>Pas d'information</i>	5 heures	<i>Pas d'information</i>	<i>Pas d'information</i>
14	M 88 ans	<i>Pas d'information</i>	<i>Pas d'information</i>	<i>Pas d'information</i>	<i>Pas d'information</i>	<i>Pas d'information</i>	7 heures	<i>Pas d'information</i>	<i>Pas d'information</i>
15	F 40 ans	Céphalées fébriles, photophobie, signe de Kernig positif	83 éléments/mm ³ : 99% C mono 1% PNN 4 hématies/mm ³	Ceftriaxone IV Aciclovir IV	TDM cérébrale sans injection	2 jours	53 heures	OUI (PCR Entérovirus sur le Genexpert® négative)	Méningite virale
16	F 54 ans	Altération de l'état général chez une patiente greffée rénale, fièvre, céphalées, confusions	2 éléments/mm ³ 1 hématie/mm ³	Amphotéricine B IV Flucytosine IV Puis Fluconazole PO	TDM cérébrale avec injection	6 mois	26 heures	NON	Cryptococcose neuroméningée chez patiente greffée rénale
17	F 80 ans	Syndrôme confusionnel, AEG, asthénie, vomissements	3 éléments/mm ³ 125 hématies/mm ³	-	TDM cérébrale sans injection	40 jours (patiente décédée)	25 heures	NON	<i>Pas d'information</i>
18	M 59 ans	Transfert du CH d'Alençon pour découverte séropositivité VIH et hémocultures à Cryptocoque	3 éléments/mm ³ 0 hématie/mm ³	Amphotéricine B IV Flucytosine IV Puis Fluconazole PO	-	20 jours	32 heures	NON	Cryptococcose neuroméningée révélatrice séropositivité VIH
19	M 53 ans	Confusion fébrile inexpliquée chez un patient allogreffé	33 éléments/mm ³ 135 hématies/mm ³	<i>Pas d'information</i>	<i>Pas d'information</i>	99 jours	75 heures	NON	<i>Pas d'information</i>
20	F 20 ans	Céphalées fébriles, troubles de conscience, purpura évocateur d'un Méningocoque	30 000 éléments/mm ³ : 69% PNN 31% C mono 83 hématies/mm ³	Ceftriaxone IV Aciclovir IV	-	10 jours	47 heures	NON	Méningite à Méningocoque
21	M 37 ans	Céphalées fébriles, photophobie	3 930 éléments/mm ³ : 80% PNN 20% C mono 130 hématies/mm ³	Ceftriaxone IV Aciclovir IV Puis Cefotaxime IV	-	6 jours	38 heures	NON	Méningite à Pneumocoque
22	F 23 ans	Céphalées fébriles Pas de signe de localisation méningée ATCD de méningite à Pneumocoque	8 000 éléments/mm ³ : 99% PNN 1% C mono 45 hématies/mm ³	Ceftriaxone IV	IRM cérébrale sans injection TDM cérébrale sans injection	8 jours	61 heures	NON	Méningite à Pneumocoque
23	M 65 ans	Aphasie, obnubilation, raideur de nuque	1 440 éléments/mm ³ : 92% PNN 8% C mono 470 hématies/mm ³	Ceftriaxone IV Aciclovir IV Puis Amoxicilline IV et Gentamicine IV	TDM cérébrale sans injection	44 jours (patient décédé)	28 heures	NON	Méningo-encéphalite listérienne
24	M 35 ans	Exploration d'un purpura vasculaire dans un contexte de rectocolite hémorragique sous anti-TNF alpha	1 élément/mm ³ 3 hématies/mm ³	<i>Pas d'information</i>	<i>Pas d'information</i>	1 jour	21 heures	NON	<i>Pas d'information</i>

Tableau 26 (suite). Renseignements cliniques, résultats de la cytologie de la PL, traitement, imagerie, durée d'hospitalisation et délai de rendu des résultats chez les patients (N=20) de l'étude FilmArray®

F. Discussion et perspectives

Concernant les 5 échantillons discordants, les Ct obtenus avec les techniques de routine sont tous relativement élevés, témoignant d'une charge virale faible dans le LCR. La question d'une altération de ces échantillons, par le cycle congélation/décongélation, pourrait probablement expliquer ces discordances.

L'approche syndromique *via* l'utilisation de cette PCR Multiplex permet de rechercher les agents infectieux les plus fréquents, de simplifier le diagnostic, de raccourcir ce délai diagnostique et d'optimiser la prise en charge du patient.

Cette technologie permet de diminuer les étapes techniques et de validation biologique : en effet, avec seulement 2 minutes de préparation de la cassette et environ 1h10 d'analyse et d'interprétation automatique des résultats, le délai de rendu du résultat est largement diminué.

La détection de ces 14 agents pathogènes ne nécessite que 200µL de LCR, volume très faible par rapport à ceux nécessaires pour les techniques actuellement utilisées. La validation biologique, en une seule étape, ainsi que l'accréditation de ce test unique sont aussi simplifiées.

Cette technique, qui a déjà montré de très bonnes performances analytiques **[14,55,61,70,76,109]**, permet de s'affranchir des étapes techniques d'aliquotage, de pré-traitement, d'extraction, de préparation des mix de PCR ainsi que de l'interprétation analytique. Elle est compatible avec l'urgence et réalisable au coup par coup, avec un rendu rapide des résultats.

Les bénéfices dans la prise en charge des patients et la gestion au laboratoire sont nombreux :

- Baisse des consommations d'antibiotiques et d'aciclovir

- Aiguillage des patients plus rapide dans le parcours de soins approprié
- Diminution de la durée d'hospitalisation des patients (ou non hospitalisation)
- Simplification des flux de personnels et des échantillons au laboratoire
- Diminution du nombre de tubes prélevés et des volumes de LCR utilisés
- Diminution des examens complémentaires et des envois extérieurs

L'utilisation FilmArray® ME Panel est parfaitement indiquée en cas de suspicion forte de méningite communautaire bactérienne ou virale (Entérovirus), et/ou d'encéphalite herpétique, en cas de cytologie évocatrice de méningite bactérienne sans germe visible à l'examen direct, ou encore lors de situations d'errance diagnostique.

Même si certaines performances analytiques restent à consolider (sensibilité CMV et HHV6), c'est le premier système fermé recherchant simultanément et rapidement la plupart des étiologies des méningites et méningo-encéphalites communautaires.

ANNEXES

LABORATOIRE DE VIROLOGIE CHU Clemenceau Pr Astrid VABRET		
Etiquette Identification de la personne	Etiquette (Code Unité Fonctionnelle)	Réservé Laboratoire
N° IEP : _____ NOM : _____ Prénom : _____ Né(e) le : _____ Sexe : _____ N° app. : _____		Date du prélèvement : / / Heure du prélèvement : h / Date d'arrivée au laboratoire : / / Heure d'arrivée au laboratoire : h / Identité du préleveur : _____ Mission prescripteur : _____
Renseignements Terrain : <input type="checkbox"/> Polytransfusion <input type="checkbox"/> Femme enceinte <input type="checkbox"/> Greffe des ? <input type="checkbox"/> Immunodéprimé : <input type="checkbox"/> Traitement antiviral Renseignements cliniques : <div style="border: 1px solid black; height: 40px; width: 100%;"></div>	SEROLOGIE - Tube sec à gel - (suite) <input type="checkbox"/> Sérologie VIH 1/2 <input type="checkbox"/> Test de confirmation <input type="checkbox"/> Dépistage <input type="checkbox"/> Sérologie HTLV 1/2 <input type="checkbox"/> Sérologie HSV - Herpès simplex virus 1-2 (IgG) <input type="checkbox"/> Sérologie VZV - Varicelle/Zona <input type="checkbox"/> Immunité (IgG) <input type="checkbox"/> Infection (IgG/IgM) <input type="checkbox"/> Immunité (IgG) Femme enceinte <input type="checkbox"/> Sérologie EBV - Epstein Barr virus <input type="checkbox"/> Sérologie CMV - Cytomégalovirus (IgG/IgM) <input type="checkbox"/> Avidité CMV <input type="checkbox"/> Sérologie HHV8 (Herpes Human virus 8) <input type="checkbox"/> Sérologie Rubéole-Immunité (IgG) <input type="checkbox"/> Sérologie Rougeole-Immunité (IgG) <input type="checkbox"/> Sérologie Oreillons-Immunité (IgG) <input type="checkbox"/> Sérologie Parvovirus (IgG/IgM) Sérologie Arbovirose <input type="checkbox"/> Dengue <input type="checkbox"/> Chikungunya <input type="checkbox"/> Érosiphte japonaise <input type="checkbox"/> West Nile <input type="checkbox"/> Érosiphte à tiques (TBE) <input type="checkbox"/> Sérologie Fièvre hémorragique (Hantaan) * <input type="checkbox"/> AUTRES : svp Tél. au 2553	SEROLOGIE - Tube sec à gel - (suite) <input type="checkbox"/> Sérologie Chlamydia trachomatis (général/NN) <input type="checkbox"/> Sérologie Mycoplasma pneumoniae <input type="checkbox"/> Sérologie Chlamydia pneumoniae <input type="checkbox"/> Sérologie Chlamydia psittaci <input checked="" type="checkbox"/> Adulte : réalisé à réception du 2 ^{ème} sérum (10-15j)
SEROLOGIE sur SANG - Tube EDTA - 2 tubes (1 virus) - 1 tube par virus supplémentaire <input type="checkbox"/> Quantification ADN VHB (Hépatite B) <input type="checkbox"/> Quantification ARN VHC (Hépatite C) <input type="checkbox"/> Quantification ARN VHD (Hépatite Delta) <input type="checkbox"/> Quantification ARN VHE (Hépatite E) <input type="checkbox"/> Quantification ARN VIH 1 <input type="checkbox"/> ADN proviral VIH 1 <input type="checkbox"/> Génotypage VHB* : <input type="checkbox"/> de la souche <input type="checkbox"/> de résistance <input type="checkbox"/> Génotypage souche VHC <input type="checkbox"/> Génotypage de résistance VIH1 * <input type="checkbox"/> Génotypage de résistance * : <input type="checkbox"/> CMV <input type="checkbox"/> HSV 2 tubes (1 virus) - 3 tubes (> 1 virus) <input type="checkbox"/> PCR/Quantification ADN CMV <input type="checkbox"/> PCR/Quantification ADN EBV <input type="checkbox"/> PCR/Quantification ADN HHV6 <input type="checkbox"/> PCR/Quantification ADN HSV1-2 <input type="checkbox"/> PCR/Quantification ADN VZV <input type="checkbox"/> PCR/Quantification ADN HHV8 <input type="checkbox"/> PCR/Quantification ADN Parvovirus B19 <input type="checkbox"/> PCR/Quantification ADN Adenovirus <input type="checkbox"/> PCR/Quantification ADN BK virus	RECHERCHE DIRECTE Liquide biologique / écouvillon dans MTV * * MTV : Milieu Transport Virologique Nature du prélèvement : Localisation : <input type="checkbox"/> Panel Virus respiratoires (virus, bactéries intra-cell.) <input type="checkbox"/> Virus Influenza <input type="checkbox"/> VRS <input type="checkbox"/> Rotavirus/ Adenovirus (test EIA rapide) <input type="checkbox"/> Panel entérique (rotavirus/adéno/astrovirus) <input type="checkbox"/> Adenovirus <input type="checkbox"/> HSV1-2 (Herpès simplex virus) <input type="checkbox"/> VZV (Varicelle/Zona) <input type="checkbox"/> HHV6 (Herpès virus 6) <input type="checkbox"/> CMV (Cytomégalovirus) <input type="checkbox"/> EBV (Epstein Barr virus) <input type="checkbox"/> Entérovirus <input type="checkbox"/> Parvovirus B19 <input type="checkbox"/> Hépatite E (selles) <input type="checkbox"/> Virus JC <input type="checkbox"/> Virus BK <input type="checkbox"/> Virus de la Rougeole <input type="checkbox"/> Virus de la Rubéole <input type="checkbox"/> Virus des Oreillons <input type="checkbox"/> HPV (papillomavirus)	
		<input type="checkbox"/> Chlamydia trachomatis (général-NN) <input type="checkbox"/> Mycoplasmes génitaux * joindre fiche demande téléchargeable du répertoire des analyses (portail CHU)

Annexe 1. Ancien bon de demande d'analyses de Virologie (jusqu'en avril 2017)

LABORATOIRE DE MICROBIOLOGIE Pr. LECLERCQ	Identité du malade (Étiquette) N° SIGMA : NOM : Prénom : Nom de jeune fille : Né(e) le : N° IPP :	Tampon dateur UF demandeur	Réservé laboratoire N° interne du laboratoire <input type="checkbox"/> Consultations Externes	Date du prélèvement : / / Heure : h Identité du préleveur : Médecin prescripteur :
RENSEIGNEMENTS CLINIQUES TERRAIN <input type="checkbox"/> 13 Mucoviscidose <input type="checkbox"/> 14 ATCD Tuberculose <input type="checkbox"/> 15 Greffe <input type="checkbox"/> 17 Immuno dépression virale <input type="checkbox"/> 18 Diabète		RECHERCHE À EFFECTUER Cocher 1, 2 ou 3 cases <input type="checkbox"/> B Ex. Cyto-bact. (ECB) <input type="checkbox"/> K Tuberculose (BK-Mycobactériés) <input type="checkbox"/> Y Ex. Mycologique ajouté <input type="checkbox"/> BLSE BLSE Selles <u>seulement</u> <input type="checkbox"/> SARM <input type="checkbox"/> SARF Nez <u>seulement</u>		
TRAITEMENT <input type="checkbox"/> A1 Contrôle après traitement <input type="checkbox"/> A2 Pas de traitement <input type="checkbox"/> A3 Traitement antibiotique en cours.		STB <input type="checkbox"/> Strepto B vagin <u>seulement</u> <input type="checkbox"/> Allergie pénicillines		
RENSEIGNEMENTS CLINIQUES (entourer)		APP. RESPIRATOIRE RC <input type="checkbox"/> Expectoration RCT <input type="checkbox"/> Aspiration trachéale RA <input type="checkbox"/> Aspiration bronchique RL <input type="checkbox"/> LBA RW <input type="checkbox"/> Brosse RP <input type="checkbox"/> Protégé distal RT <input type="checkbox"/> Tubage gast. (BK) RM <input type="checkbox"/> Expectoration muco BORD <input type="checkbox"/> Aspl. Naso. Ph (coqueluche)		
GENERAUX 2 - Pré-opératoire 4 - Post-opératoire 10 - Pré-greffe 18 - Nécropse 20 - Infection sur matériel GENITO-URINAIRE 23 - Prostatite 50 - Urérite 25 - Stérilet 27 - Saipingite OBSTETRICIAUX 1 - Grossesse 29 - Rupture prémat. poche des eaux RESPIRATOIRES 30 - Pneumopathie communautaire 31 - Pneumopathie nosocomiale 34 - Suspicion tuberculose 36 - Abcès pulmonaire 37 - Médiastrite 38 - Mélaide intubé SYSTEME NERVEUX 40 - Méningo encéphalite 88 - Méningite OPHTALMO. 47 - Infection intra oculaire. DIGESTIFS 53 - Colite Pseudo Membraneuse		APP. GÉNITAL H. - F. GV <input type="checkbox"/> Prélév. vaginal GE <input type="checkbox"/> Endococ GS <input type="checkbox"/> Stérilet GT <input type="checkbox"/> Pus gynécologique GU <input type="checkbox"/> Urètre SP <input type="checkbox"/> Sperme PÉRINATALITÉ NG <input type="checkbox"/> Tubage gastr. N. né. NP <input type="checkbox"/> Placenta NL <input type="checkbox"/> Lochies NM <input type="checkbox"/> Méconium DN <input type="checkbox"/> Coproculture NS <input type="checkbox"/> Sonde trachéale LAMA <input type="checkbox"/> Lait		
OSTEO-ARTICULAIRES 20 - Infection sur matériel DERMATOLOGIQUES 7 - Morsure 9 - Purpura 58 - Brûlure 60 - Cartographie CARDIOLOGIQUES 61 - Suspicion endocardite HEMATOLOGIE 8 - Neutropénie 9 - Purpura 54 - Synd. Hémolyt. Urémique TROUBLE DE CONSCIENCE 11 - Coma fébrile 12 - Coma stade 4 P.C.		APPAREIL DIGESTIF DC <input type="checkbox"/> Coproculture DQ <input type="checkbox"/> Copro. Quantitative TOXIN <input type="checkbox"/> Cost. Difficile HELI <input type="checkbox"/> Biopsie gastrique DO <input type="checkbox"/> Biopsie colique LIQUIDES LC <input type="checkbox"/> LCR PL. LCD <input type="checkbox"/> LCR dérivation LA <input type="checkbox"/> Ascite LP <input type="checkbox"/> Pleurat LT <input type="checkbox"/> Articulaire LE <input type="checkbox"/> Péricardique LD <input type="checkbox"/> Péritonéal LN <input type="checkbox"/> Dialyse FR <input type="checkbox"/> Redon. Drain-lame LB <input type="checkbox"/> Bile LCOB <input type="checkbox"/> Liq. cons. Cornée LCOB <input type="checkbox"/> Liq. cons. organe		
GENITO-URINAIRE 20 - Infection sur matériel DERMATOLOGIQUES 7 - Morsure 9 - Purpura 58 - Brûlure 60 - Cartographie CARDIOLOGIQUES 61 - Suspicion endocardite HEMATOLOGIE 8 - Neutropénie 9 - Purpura 54 - Synd. Hémolyt. Urémique TROUBLE DE CONSCIENCE 11 - Coma fébrile 12 - Coma stade 4 P.C.		APPAREIL DIGESTIF DC <input type="checkbox"/> Coproculture DQ <input type="checkbox"/> Copro. Quantitative TOXIN <input type="checkbox"/> Cost. Difficile HELI <input type="checkbox"/> Biopsie gastrique DO <input type="checkbox"/> Biopsie colique LIQUIDES LC <input type="checkbox"/> LCR PL. LCD <input type="checkbox"/> LCR dérivation LA <input type="checkbox"/> Ascite LP <input type="checkbox"/> Pleurat LT <input type="checkbox"/> Articulaire LE <input type="checkbox"/> Péricardique LD <input type="checkbox"/> Péritonéal LN <input type="checkbox"/> Dialyse FR <input type="checkbox"/> Redon. Drain-lame LB <input type="checkbox"/> Bile LCOB <input type="checkbox"/> Liq. cons. Cornée LCOB <input type="checkbox"/> Liq. cons. organe		
GENITO-URINAIRE 20 - Infection sur matériel DERMATOLOGIQUES 7 - Morsure 9 - Purpura 58 - Brûlure 60 - Cartographie CARDIOLOGIQUES 61 - Suspicion endocardite HEMATOLOGIE 8 - Neutropénie 9 - Purpura 54 - Synd. Hémolyt. Urémique TROUBLE DE CONSCIENCE 11 - Coma fébrile 12 - Coma stade 4 P.C.		APPAREIL DIGESTIF DC <input type="checkbox"/> Coproculture DQ <input type="checkbox"/> Copro. Quantitative TOXIN <input type="checkbox"/> Cost. Difficile HELI <input type="checkbox"/> Biopsie gastrique DO <input type="checkbox"/> Biopsie colique LIQUIDES LC <input type="checkbox"/> LCR PL. LCD <input type="checkbox"/> LCR dérivation LA <input type="checkbox"/> Ascite LP <input type="checkbox"/> Pleurat LT <input type="checkbox"/> Articulaire LE <input type="checkbox"/> Péricardique LD <input type="checkbox"/> Péritonéal LN <input type="checkbox"/> Dialyse FR <input type="checkbox"/> Redon. Drain-lame LB <input type="checkbox"/> Bile LCOB <input type="checkbox"/> Liq. cons. Cornée LCOB <input type="checkbox"/> Liq. cons. organe		
GENITO-URINAIRE 20 - Infection sur matériel DERMATOLOGIQUES 7 - Morsure 9 - Purpura 58 - Brûlure 60 - Cartographie CARDIOLOGIQUES 61 - Suspicion endocardite HEMATOLOGIE 8 - Neutropénie 9 - Purpura 54 - Synd. Hémolyt. Urémique TROUBLE DE CONSCIENCE 11 - Coma fébrile 12 - Coma stade 4 P.C.		APPAREIL DIGESTIF DC <input type="checkbox"/> Coproculture DQ <input type="checkbox"/> Copro. Quantitative TOXIN <input type="checkbox"/> Cost. Difficile HELI <input type="checkbox"/> Biopsie gastrique DO <input type="checkbox"/> Biopsie colique LIQUIDES LC <input type="checkbox"/> LCR PL. LCD <input type="checkbox"/> LCR dérivation LA <input type="checkbox"/> Ascite LP <input type="checkbox"/> Pleurat LT <input type="checkbox"/> Articulaire LE <input type="checkbox"/> Péricardique LD <input type="checkbox"/> Péritonéal LN <input type="checkbox"/> Dialyse FR <input type="checkbox"/> Redon. Drain-lame LB <input type="checkbox"/> Bile LCOB <input type="checkbox"/> Liq. cons. Cornée LCOB <input type="checkbox"/> Liq. cons. organe		
GENITO-URINAIRE 20 - Infection sur matériel DERMATOLOGIQUES 7 - Morsure 9 - Purpura 58 - Brûlure 60 - Cartographie CARDIOLOGIQUES 61 - Suspicion endocardite HEMATOLOGIE 8 - Neutropénie 9 - Purpura 54 - Synd. Hémolyt. Urémique TROUBLE DE CONSCIENCE 11 - Coma fébrile 12 - Coma stade 4 P.C.		APPAREIL DIGESTIF DC <input type="checkbox"/> Coproculture DQ <input type="checkbox"/> Copro. Quantitative TOXIN <input type="checkbox"/> Cost. Difficile HELI <input type="checkbox"/> Biopsie gastrique DO <input type="checkbox"/> Biopsie colique LIQUIDES LC <input type="checkbox"/> LCR PL. LCD <input type="checkbox"/> LCR dérivation LA <input type="checkbox"/> Ascite LP <input type="checkbox"/> Pleurat LT <input type="checkbox"/> Articulaire LE <input type="checkbox"/> Péricardique LD <input type="checkbox"/> Péritonéal LN <input type="checkbox"/> Dialyse FR <input type="checkbox"/> Redon. Drain-lame LB <input type="checkbox"/> Bile LCOB <input type="checkbox"/> Liq. cons. Cornée LCOB <input type="checkbox"/> Liq. cons. organe		

Annexe 2. Ancien bon de demande d'analyses de Bactériologie (jusqu'en avril 2017)

LABORATOIRE D'IMMUNOLOGIE & IMMUNOPATHOLOGIE CHU Clemenceau Pr Brigitte LE MAUFF

Etiquette Identification Patient		Etiquette (Code Unité Fonctionnelle)		Réservé laboratoire	
N° IEP :		Date du prélèvement :	/ /	h	
NOM :		Heure du prélèvement :	/ /	h	
Prénom :		Date d'arrivée au laboratoire :	/ /	h	
Né(e) le :		Heure d'arrivée au laboratoire :	/ /	h	
N° IPP :		Identité du préleveur :			
	Sexe :	Medecin prescripteur :			

RECEPTION DES PRELEVEMENTS DU LUNDI AU VENDREDI de 8 h 30 à 16 h (☎) : Rendez-vous téléphonique obligatoire (poste 25 51) ☎ = Voir informations au dos

RENSEIGNEMENTS CLINIQUES JUSTIFIANT LA DEMANDE

<p>IMMUNOGLOBULINES (tube sec ou tube gel) 4ml</p> <p><input type="checkbox"/> IgG, IgA et IgM <input type="checkbox"/> IgA seules</p> <p><input type="checkbox"/> sous-classes d'immunoglobulines G</p> <p><input type="checkbox"/> IgG4 seules (recherche hyper IgG4)</p> <p><input type="checkbox"/> IgD <input type="checkbox"/> Ac anti-IgA avant traitement par Ig</p> <p>Gammaopathie monoclonale (ex.IEP)</p> <p>Détection et typage : électrophorèse des protéides et immunofixation, IgGAM</p> <p>Sang <input type="checkbox"/> Urines <input type="checkbox"/> Volume:L / 24 h</p> <p>Suivi : électrophorèse (quantification du pic), immunofixation si besoin, IgGAM</p> <p>Sang <input type="checkbox"/> Urines <input type="checkbox"/> Volume:L / 24 h</p> <p>chaînes légères sériques (kappa, lambda)</p> <p><input type="checkbox"/> si suivi d'amylose ou protocole freelite ☎</p> <p>cryoglobuline ☎ <input type="checkbox"/> tube sec uniquement</p>	<p>REponses ANTICORPS VACCINAUX (tube sec) 4ml</p> <p><input type="checkbox"/> anti-tétaniques, diphtériques <input type="checkbox"/> *anti-pneumococciques</p> <p>SYSTEME DU COMPLEMENT (tube edta) Transport < 2 heures ☎</p> <p><input type="checkbox"/> complément hémolytique voie classique(CH50), * C3, C4 si Tt Soliris → <input type="checkbox"/></p> <p>C3 et C4 si urgent → <input type="checkbox"/></p> <p>oedème angioneurotique (CH50, C3, C4, C1-inh)</p> <p>* exploration SHU (2 tubes edta)</p> <p>facteurs H, I <input type="checkbox"/> anticorps anti-H</p> <p>CD46 (MCP) sur sang total</p> <p>* autre exploration spécialisée (2 tubes edta) ☎</p> <p>C1q <input type="checkbox"/> anti-C1q <input type="checkbox"/> C1 Inh fonctionnel</p> <p>Anti C1 Inh <input type="checkbox"/> C2 <input type="checkbox"/> C3 Nef</p> <p>C5 <input type="checkbox"/> C6-C9 <input type="checkbox"/> Properdine</p> <p>étude génétique selon contexte ☎</p>	<p>AUTO-ANTICORPS (tube sec ou tube à gel) - 4ml pour 3 anticorps</p> <p><input type="checkbox"/> anti-peau (membrane basale et substance intercellulaire)</p> <p>* caractérisation des anticorps anti-peau remplir formulaire</p> <p><input type="checkbox"/> * IF Peau Clivée <input type="checkbox"/> anti-BPAG1 <input type="checkbox"/> * anti-BPAG2</p> <p><input type="checkbox"/> * anti-DSG3</p> <p>* autres anti-peau : emprolaktine, Collagène VII, P200, autres</p> <p><input type="checkbox"/> anti-tissus non spécifiques d'organes : muscle lisse, mitochondries, réticulum endoplasmique (LKM), cytosol hépatique (LC)</p> <p>Identification selon contexte :</p> <p><input type="checkbox"/> anti-Mitot2 <input type="checkbox"/> anti-LKM1</p> <p><input type="checkbox"/> anti-gp210 <input type="checkbox"/> anti-LC1</p> <p><input type="checkbox"/> anti-sp100 <input type="checkbox"/> anti-SLA</p> <p>anti-F-actine</p> <p>anti-thyroïdiens :</p> <p>anti-thyroglobuline (TG) <input type="checkbox"/> sérum <input type="checkbox"/> LCR</p> <p>anti-thyropéroxydase (TPO) <input type="checkbox"/> sérum <input type="checkbox"/> LCR</p> <p>anti-GAD <input type="checkbox"/> anti-IA2 <input type="checkbox"/> anti-insuline</p> <p>onconeuraux (Hu, Yo, Ri, CV2, amphiphysine, Ma1, Ma2, GAD)</p> <p><input type="checkbox"/> sérum <input type="checkbox"/> LCR</p> <p>* anti-polynucléaires-neutrophiles (granulocytes)</p> <p>* anti-surrénales <input type="checkbox"/> * anti-21 hydroxylase</p> <p>* anti-ovaire</p> <p>* anti-récepteur de l'acétylcholine</p> <p>* anti-musk (uniquement en absence d'anti-récepteur de l'acétylcholine)</p> <p>* anti-muscle strié</p> <p>* anti-myéline (et si positif : anti-MAGS/GS/GLP) <input type="checkbox"/> anti-MAG(Suivi)</p> <p>* anti-assooscorine 4 (ex. Anti-NMO)</p> <p>* anti-néoplasies : (NMDA, VGKC, LGI1, CASPR2, mGluR1) LCR</p> <p>* anti-canaux calciques</p> <p>Autres demandés :</p>	<p>CONGELATION / CONSERVATION ☎</p> <p><input type="checkbox"/> sérum <input type="checkbox"/> plasma <input type="checkbox"/> LCR</p>
---	--	---	---

* ANALYSES TRANSMISES DANS DES LABORATOIRES EXTERIEURS (sans renseignements cliniques pertinents, ces demandés ne seront pas transmisés)

Laboratoire de BIOCHIMIE - Dr S.ALLOUCHE et Dr S.FRADIN

Etiquette Identification Patient Nom : Prénom : Né(e) le : Sexe : N°IPP :		Code unité fonctionnelle 		Réservé laboratoire 		Date du prélèvement : Heure : Identité du Préleveur : Identité du prescripteur :	
CHIMIE Des URINES	URINES DIVERS	SELLES	LIQUIDES DIVERS	L.C.R.	URINES Conditions de recueil	RENSEIGNEMENTS CLINIQUES	
Protéines <input type="checkbox"/> Glucose <input type="checkbox"/> Sodium Potassium <input type="checkbox"/> Chlore <input type="checkbox"/> Créatinine <input type="checkbox"/> Urée <input type="checkbox"/> Calcium <input type="checkbox"/> 1 PR Phosphore <input type="checkbox"/> 1 PR A. urique <input type="checkbox"/> 1 PR Clairance <input type="checkbox"/> Créatinine <input type="checkbox"/> S Créatinine corr. SPT <input type="checkbox"/> TRP, Phosphore <input type="checkbox"/> S TRP, Phos corr. SPT <input type="checkbox"/> Bilan lithiasique** (Mg, urée, Ca, P, Na, K, oxalate, urate, urates) Bilan pédiatrique <input type="checkbox"/> Bilan standard <input type="checkbox"/> pédiatrique** (Protéines, urée, urate, Ca, P, Na, K, urates) Bilan fonction rénale* SPT <input type="checkbox"/> Recherche Sp Protéines, glucose, urate, urée, Ca, P, Na, K, Créatinine, urate, TRP, Phosphore et microglobuline	Ph <input type="checkbox"/> Densité <input type="checkbox"/> Osmolarité <input type="checkbox"/> Recherche <input type="checkbox"/> Sang <input type="checkbox"/> 1 PR Hémoglobine <input type="checkbox"/> 1 PR Myoglobine <input type="checkbox"/> 1 PR Cristaux** <input type="checkbox"/> Protéogramme <input type="checkbox"/> 1 PR Micro-albumine <input type="checkbox"/> α1 microglobuline <input type="checkbox"/> Test au xylrose** <input type="checkbox"/> β2 micro-globuline <input type="checkbox"/> 1 PR Oxalate** <input type="checkbox"/> Citrate** <input type="checkbox"/> Autres : <input type="checkbox"/> OLIGO ELEMENTS <input type="checkbox"/> Fluor <input type="checkbox"/> 1 PR Magnésium <input type="checkbox"/> Iode <input type="checkbox"/> 1 PR Cuivre <input type="checkbox"/> Autres : <input type="checkbox"/>	Sang <input type="checkbox"/> Clairance α1 Antitrypsine*** <input type="checkbox"/> Autres : <input type="checkbox"/> LIQUIDE AMNIOTIQUE <input type="checkbox"/> Date des dernières Règles : Indice optique <input type="checkbox"/> Acétyl choline estérase <input type="checkbox"/> Enz Digestives jumeaux <input type="checkbox"/> Intestin hyperéchogène <input type="checkbox"/> Urines Fœtales <input type="checkbox"/> Autres : <input type="checkbox"/>	Ascite <input type="checkbox"/> Pleural <input type="checkbox"/> Autres <input type="checkbox"/> Dialysat Identification : Dialyse péritonéale (urée créatinine) <input type="checkbox"/> Volume de sortie <input type="checkbox"/> chimie <input type="checkbox"/> Protéines <input type="checkbox"/> Sodium <input type="checkbox"/> Potassium <input type="checkbox"/> Chlore <input type="checkbox"/> Ur-ée <input type="checkbox"/> Créatinine <input type="checkbox"/> Glucose <input type="checkbox"/> Bicarbonates <input type="checkbox"/> Amylase <input type="checkbox"/> Lipase <input type="checkbox"/> LDH <input type="checkbox"/> Recherche de chylomicrons <input type="checkbox"/> Autres : <input type="checkbox"/>	Protéines <input type="checkbox"/> Chlorures <input type="checkbox"/> Glucose <input type="checkbox"/> LDH <input type="checkbox"/> Lactate <input type="checkbox"/> β2 micro-globuline <input type="checkbox"/> Protéogramme <input type="checkbox"/> Albumine <input type="checkbox"/> IgG <input type="checkbox"/> Index IgG <input type="checkbox"/> Isoélectrofocantent S <input type="checkbox"/> Recherche <input type="checkbox"/> Pigments (à l'abri de la lumière) <input type="checkbox"/> Angiotensine convertase <input type="checkbox"/> Autres : <input type="checkbox"/>	Echantillon <input type="checkbox"/> Diurèse des 24 h <input type="checkbox"/> Volume <input type="checkbox"/> l <input type="checkbox"/> 2 <input type="checkbox"/> 3 <input type="checkbox"/> 4 <input type="checkbox"/> 5 <input type="checkbox"/> 6 <input type="checkbox"/> dl <input type="checkbox"/> 0 <input type="checkbox"/> 1 <input type="checkbox"/> 2 <input type="checkbox"/> 3 <input type="checkbox"/> 4 <input type="checkbox"/> 5 <input type="checkbox"/> 6 <input type="checkbox"/> 7 <input type="checkbox"/> 8 <input type="checkbox"/> cl <input type="checkbox"/> 0 <input type="checkbox"/> 1 <input type="checkbox"/> 2 <input type="checkbox"/> 3 <input type="checkbox"/> 4 <input type="checkbox"/> 5 <input type="checkbox"/> 6 <input type="checkbox"/> 7 <input type="checkbox"/> 8 <input type="checkbox"/> ml <input type="checkbox"/> 0 <input type="checkbox"/> 1 <input type="checkbox"/> 2 <input type="checkbox"/> 3 <input type="checkbox"/> 4 <input type="checkbox"/> 5 <input type="checkbox"/> 6 <input type="checkbox"/> 7 <input type="checkbox"/> 8 <input type="checkbox"/> Bilan pédiatrique <input type="checkbox"/> Temps de recueil :h.....mn Volume en mL :mL	Poids (Kg) : Taille (cm) : Précision sur échantillon <input type="checkbox"/>	
AIDES INFORMATIONS S : Joindre un sang PT : indiquer poids et taille PR : pot rouge * : Indiquer temps de recueil et volume ** : envoyer totalité des urines de 24 heures *** : Voir protocole							

Annexe 4. Ancien bon de demande d'analyses de Biochimie (jusqu'en avril 2017)

Laboratoire d'HEMATOLOGIE - Pr Xavier TROUSSARD

Date du prélèvement : Heure	Identité préleveur	Identité prescripteur :	
CYTOLOGIE		HEMOSTASE	
Numération Formule Plaquettes Réticulocytes Schizocytes Plaquettes sur citrate Vitesse de sédimentation Test de Kleihauer (HF) Enzymes érythrocytaires G6PD-PK Résistance globulaire* Auto hémolyse* Électrophorèse de l'hémoglobine ☑ Erythropeptidase Myélogramme* Empreinte de biopsie médullaire* Adénogramme ☑ <i>Joindre la fiche de renseignements</i>	Cytologie de liquides Pleural droit Pleural gauche Genou gauche Genou droit Ascite LCR (Hématologie et oncologie pédiatrique) <i>Biopsie de moelle osseuse</i> Autres : Renseignements cliniques Sepsis Grossesse Etat de choc I. Hépatocellulaire Autres : /	Temps de Quick/TP Temps de céphaline + Activateur Fibrinogène Facteur V Facteur VIII+X Facteur II Facteur VIII Facteur IX Facteur XI Facteur XII Activité anti Xa IIFN Activité anti Xa IIBPM Activité anti Xa Orgaran Activité anti Xa Arixtra PDF Complexes solubles D-Dimères Temps de saignement PFA Agrégation plaquettaire** Recherche de maladie de Willebrand Protéase du FvW	Recherche de thrombopénie induite à l'héparine** Autres : Recherche de thrombophilie Antithrombine Protéine C Protéine S Résistance à la protéine C activée Facteur V Leiden ☑ Mutation G20210A du gène de la prothrombine ☑ Recherche d'un anticoagulant circulant ☑ <i>Joindre le consentement de patient</i> Traitements Hémo-phlie Concentré de F VIII Concentré de F IX Concentré de F Willebrand Novoseven Doses :
CYTOLOGIE		HEMOSTASE	
Numération Formule Plaquettes Réticulocytes Schizocytes Plaquettes sur citrate Vitesse de sédimentation Test de Kleihauer (HF) Enzymes érythrocytaires G6PD-PK Résistance globulaire* Auto hémolyse* Électrophorèse de l'hémoglobine ☑ Erythropeptidase Myélogramme* Empreinte de biopsie médullaire* Adénogramme ☑ <i>Joindre la fiche de renseignements</i>	Cytologie de liquides Pleural droit Pleural gauche Genou gauche Genou droit Ascite LCR (Hématologie et oncologie pédiatrique) <i>Biopsie de moelle osseuse</i> Autres : Renseignements cliniques Sepsis Grossesse Etat de choc I. Hépatocellulaire Autres : /	Temps de Quick/TP Temps de céphaline + Activateur Fibrinogène Facteur V Facteur VIII+X Facteur II Facteur VIII Facteur IX Facteur XI Facteur XII Activité anti Xa IIFN Activité anti Xa IIBPM Activité anti Xa Orgaran Activité anti Xa Arixtra PDF Complexes solubles D-Dimères Temps de saignement PFA Agrégation plaquettaire** Recherche de maladie de Willebrand Protéase du FvW	Recherche de thrombopénie induite à l'héparine** Autres : Recherche de thrombophilie Antithrombine Protéine C Protéine S Résistance à la protéine C activée Facteur V Leiden ☑ Mutation G20210A du gène de la prothrombine ☑ Recherche d'un anticoagulant circulant ☑ <i>Joindre le consentement de patient</i> Traitements Hémo-phlie Concentré de F VIII Concentré de F IX Concentré de F Willebrand Novoseven Doses :
CYTOLOGIE		HEMOSTASE	
Numération Formule Plaquettes Réticulocytes Schizocytes Plaquettes sur citrate Vitesse de sédimentation Test de Kleihauer (HF) Enzymes érythrocytaires G6PD-PK Résistance globulaire* Auto hémolyse* Électrophorèse de l'hémoglobine ☑ Erythropeptidase Myélogramme* Empreinte de biopsie médullaire* Adénogramme ☑ <i>Joindre la fiche de renseignements</i>	Cytologie de liquides Pleural droit Pleural gauche Genou gauche Genou droit Ascite LCR (Hématologie et oncologie pédiatrique) <i>Biopsie de moelle osseuse</i> Autres : Renseignements cliniques Sepsis Grossesse Etat de choc I. Hépatocellulaire Autres : /	Temps de Quick/TP Temps de céphaline + Activateur Fibrinogène Facteur V Facteur VIII+X Facteur II Facteur VIII Facteur IX Facteur XI Facteur XII Activité anti Xa IIFN Activité anti Xa IIBPM Activité anti Xa Orgaran Activité anti Xa Arixtra PDF Complexes solubles D-Dimères Temps de saignement PFA Agrégation plaquettaire** Recherche de maladie de Willebrand Protéase du FvW	Recherche de thrombopénie induite à l'héparine** Autres : Recherche de thrombophilie Antithrombine Protéine C Protéine S Résistance à la protéine C activée Facteur V Leiden ☑ Mutation G20210A du gène de la prothrombine ☑ Recherche d'un anticoagulant circulant ☑ <i>Joindre le consentement de patient</i> Traitements Hémo-phlie Concentré de F VIII Concentré de F IX Concentré de F Willebrand Novoseven Doses :
CYTOMETRIE EN FLUX Tel : 5330 BIOLOGIE MOLECULAIRE HEMOPATHIES Tel : 5293		TRAITEMENTS Traitements anticoagulants <i>A renvoyer impérativement</i> Sintrom Préviscan Coumadine Héparine standard Calciparine Lovemox Fraxiparine Frangine Innohep Arixtra Orgaran Doses : PPSB Vitamine K Doses : Autres traitements Chimiothérapie Corticothérapie Facteur de croissance Immunosuppresseur	

Annexe 5. Ancien bon de demande d'analyses d'Hématologie cytologie (jusqu'en avril 2017)

NCED	A.exam.dem	absence d'examen demandé
NCACP	Abs.consen	absence de consentement du patient
NCCNC	cons.non c	Consentement non conforme. Le consentement est à télécharger à partir du répertoire des analyses.
NCANE	A.nat.ech	absence de nature de l'échantillon
NCABP	A.bon.presc.	absence de bon de prescription
NCRC	A.R.cliniqu	absence de renseignements cliniques indispensables à la réalisation de l'analyse
NCRCI	A.RC.pr I	absence de renseignements cliniques indispensables à l'interprétation de l'analyse
NCRCL	R.Clin.let	Absence de renseignements cliniques. Merci de nous adresser une lettre motivant votre demande
NCADH	A.dat/H;pr.	absence de date et/ou heure de prélèvement sur la prescription
NCDAT	PB.date.pr	Problème sur la date ou l'heure du prélèvement
NCIPV	A.id.prél.	absence d'identité préleveur sur la prescription
NCIPS	A.id.pres	absence d'identité prescripteur sur la prescription
NCIDE	N°éch.abs.	N° identifiant échographiste absent
NCAUF	A.UF	absence d'UF sur la prescription
NCCNR	Conf.NonR	confidentialité non respectée
NCIP	Bon non ID	identité du patient absente, illisible ou incomplète sur la prescription
NCRDV	Abs.RDV	Absence de rendez-vous
NCESA	Err.analys	Erreur de sélection d'analyse sur le bon de demande
NCIPM	IDPmanusc	identité du patient écrite à la main sur le bon (absence d'étiquette code barre)
NCNEE	nat.ech.err	nature de l'échantillon indiquée sur le bon erronée
NCPNP	pres.N.per	prescription non pertinente sur ce type de prélèvement
NCEBP	Mv.typ.bon	mauvais type de bon de prescription utilisé ou version obsolète du bon
NCDAP	AN.prescri	Demande annulée par le prescripteur
NCUFA	ancienneUF	ancienne UF sur la prescription
NCUFM	UF.manuscr	Code UF manuscrit
NCPI	presc.illi	Prescription illisible
NCPEN	plus.ech	Attention : plusieurs échantillons de natures différentes ont été associés à une même demande dans une même pochette

Annexe 6. Non-conformités pré-analytiques liées à la prescription

NCIPE	Ech non ID	absence d'identité du patient sur le ou les échantillons
NCDIP	Dis.id.pat	discordance entre l'identité du patient sur la prescription et l'identité du patient sur l'échantillon
NCMPP	Mauv.pat.p	Mauvais patient prélevé
NCAES	Ident.soig	Problème d'identité du patient exposé
NCDEM	Erreur.dn-n-p	Erreur dans l'orthographe du nom, nom de jeune fille, prénom ou date de naissance du patient
NCME	mauv.étiq	Mauvais étiquetage du bon et du prélèvement
NCANN	Ab.nom.nai	Nom de naissance non renseigné sur le bon

Annexe 7. Non-conformités pré-analytiques liées à l'identitovigilance

NCDAD	Dél.achem	délai d'acheminement du ou des échantillons dépassé
NCCTR	Cond.trans	conditions de transport non respectées autres que le délai (température,...)
NCHHR	Ech.Hors.HR	échantillons apportés au laboratoire en dehors des heures de réalisation de l'analyse précisées dans le répertoire des analyses
NCMPR	Er.point.R	échantillons apportés au mauvais point de réception du laboratoire

Annexe 8. Non-conformités pré-analytiques liées à l'acheminement / transport

NCETC	Er.tube	erreur de tube / contenant / échantillon prélevé
NCQEI	QI	quantité d'échantillon prélevée insuffisante (ex: 1 tube au lieu de 2 ou tube mal rempli)
NCQIB	QI buvard	Quantité insuffisante, le cercle doit être bien rempli et le sang doit traverser le buvard
NCETI	Q.trop Imp	quantité d'échantillon prélevée trop importante
NCEC	Coag.	échantillon coagulé
NCTP	Tube périmé	tube / contenant utilisé périmé
NCTC	Cond.Tech	conditions techniques de prélèvement non respectées
NCTCP	KC pochett	tube / contenant cassé dans la pochette
NCAEP	Abs echant.	absence d'échantillon dans la pochette ou contenant vide
NCPES	P/ech soui	pochette / échantillon souillé
NCPNS	P.non stér.	Prélèvement non stérile
NCPH	Prot.habit	Délai de prélèvement non conforme au protocole habituel
NCTSU	t.surnumér	Tube surnuméraire
NCHEM	hémolysé	Echantillon hémolysé
NCSPI	ser-pl ict	Sérum ou plasma ictérique
NCSPL	ser-pl lac	Sérum ou plasma lactescent
NCPBA	Bulle air	Présence de bulles d'air dans l'échantillon
NCHER	hémorragiq	Echantillon hémorragique

Annexe 9. Non-conformités pré-analytiques liées au prélèvement

NCTCL	KC labo	tube / contenant cassé après réception au laboratoire
NCDRD	Dél.lab	délai de prise en charge à la réception dépassé
NCETL	Er.T.lab	erreur de traitement pré-analytique au laboratoire (ex : Tube centrifugé par erreur)
NCAOE	an.oub.ENR	analyse(s) oubliée(s) à l'enregistrement => délai dépassé
NCDCL	déf.conserv	défaut de conservation au laboratoire
NCTNT		Tube(s) ou autre échantillon non transmis par l'accueil biologique commun

Annexe 10. Non-conformités pré-analytiques post-réception

NCNJ	Non justif.	Analyse non justifiée
NC24H	Reçu 24H	Echantillon déjà reçu au cours des dernières 24H
NC48H	Reçu 48H	Echantillon déjà reçu au cours des dernières 48H
NCDI	D.Ins.2 Pv	Délai insuffisant entre ce prélèvement et le précédent
NCRED	redondant	Prélèvement redondant
NCANR	N réa labo	Analyse non réalisée au laboratoire
NCANU	ANA N urg	Analyse non urgente demandée en urgence
EXOBS	Exa.obsole	Examen obsolète
EXINE	Exa.inexista	Examen inexistant, non réalisable

Annexe 11. Non-conformités pré-analytiques liées à la prestation de conseil

NCAD	Ac.Derogat	Demande d'examen acceptée avec dérogation.
NCARC	Ac.ap.R.C	Demande d'examen acceptée après remise en conformité.
NCAT	Annul.Tél.	Demande d'examen annulée. Service prévenu par téléphone.
NCAN	annulé	Demande d'examen annulée.
NCCBM	Attente BM	Les analyses ne seront réalisées qu'après réception du consentement.
NCDRC	Attente RC	Les analyses ne seront réalisées qu'après réception des renseignements cliniques. Service prévenu par téléphone. Au-delà d'un délai de 15 jours, la demande d'analyse sera annulée.
NCVRA	Cf rép.ANA	Se référer au répertoire des analyses ou au bon de demande pour savoir le nombre de tubes à prélever.
NCAAS	AN.par UF	analyse(s) non réalisée(s) à la demande du service de soins
NCAPO	AN.UF.pr.or	Examen annulé. Service prévenu oralement.

Annexe 12. Liste des décisions suite aux non-conformités pré-analytiques

VIROLOGIE-V01-03/17

Date de prélèvement

O B L I G A T O I R E

Heure de prélèvement

Prescripteur

Préleveur

Renseignements cliniques

Grossesse
 Immunodépression
 Transfusion / Ig IV

Éruption
 Cytolyse hépatique
 Protocole

Grefte (dabe) : / /
 Anévrisme :
 Hémiplégie
 Diabète

Bilans

Don de comée PNO Prégrefte de moelle Lactarium

SEROLOGIES VIRALES - Tube jaune sec gel - Un cadre = 1 tube

Sérologie Hépatite A
 Contrôle immunités - IgG
 Infection aigue (si cytolys) - IgM
Sérologie Hépatite B
 Dépistage (Ag HBs/Ac anti HBs/Ac anti HBc)
 Contrôle vaccination (Ac anti HBs)
 Femme enceinte - Dépistage (Ag HBs)
 Suivi sérociés (Ag HBs/Ac anti HBc)
 Quantification Ag HBs (traitement)

Sérologie Hépatite C
 Dépistage
 Confirmation (2ème sérum)
Sérologie VIH 1/2
 Dépistage
 Confirmation (2ème sérum)

Sérologie HTLV 1/2
 Sérologie Cytomegalovirus
 Avants Cytomegalovirus
Sérologie Virus Epstein Barr
 Sérologie Rubéole-immunité IgG

Sérologie Hépatite E
 Sérologie Herpès Simplex Virus 1/2 - IgG
Sérologie Virus Varicelle Zona
 Infection ancienne / immunité vaccinale - IgG
 Infection aigue - IgG + IgM
 Femme enceinte - IgG

Sérologie Rougeole
 Contrôle immunités - IgG
 Infection aigue - IgM
Sérologie Oreillons
 Contrôle immunités - IgG
 Infection aigue - IgM

Sérologie Parvovirus B19
 Sérologie Chlamydia trachomatis (genital/nouveaux né)
 Sérologie Mycoplasma pneumoniae

Analyses sous traitées
 Sérologie Hépatite Delta
 Sérologie Herpès Human Virus 8
 Sérologie Chlamydia pneumoniae
 Sérologie Chlamydia genital
 Sérologie akonoviruses (préciser laquelle) :

Zika virus Dengue Chikungunya Autres...

Etiquette patient

Etiquette UF

Réservé labo

VIROLOGIE MOLECULAIRE
Plasma sur tube EDTA
Attention ! Un cadre = 2 tubes

Quantification ARN Hépatite C
 Génotypage de Souche Hépatite C
 Quantification ARN VIH
 Génotypage de résistance VIH
 Quantification ARN Hépatite B
 Quantification ARN Hépatite E

VIROLOGIE MOLECULAIRE
Sang total sur tube EDTA
Un cadre = 1 tube

Détection ADN HSV1/2
 Détection ADN VZV
 Quantification ADN Herpès B19
 Quantification ADN BK virus
 Quantification ADN Adenovirus
 Quantification ADN proviral VIH-1
 Suivi métréfant
 Suivi de traitement

Détection ADN CMV
 Quantification ADN CMV
 Quantification ADN EBV
Analyses sous traitées :
 Génotypage Souche Hépatite B
 Génotypage résistance Hépatite C
 Génotypage résistance Hépatite C
 Quantification ARN Hépatite Delta
 Génotypage de résistance CMV
 Génotypage de résistance HSV
 Détection/Quantification ADN HHV8
 PCR Adenovirus (préciser laquelle)

VIROLOGIE RECHERCHE DIRECTE - Echantillons autres que sang

Attention !! Un prélèvement par pochette

Nature/Localisation du prélèvement (à cocher et remplir obligatoirement) :

Nasal LBA Pharynx Endocool
 Sheme Frotis Salles Urines
 Liquide arthroscopique Vésicule(localisation) : Biopsie(localisation) :
 Urinés LCRS Autres :

Urgences pédiatriques (Soita réalisée) :

VRS Entérovirus
 Grippe Parvovirus B19
 Parvovirus B19 Virus JC
 Adenovirus Virus BK
 Herpès Simplex Virus 1/2 HSV 1/2 Virus de Hépatite E
 Virus Varicelle Zona VZV Virus de la Rougeole
 Cytomegalovirus CMV Virus des Oreillons
 Epstein Barr Virus EBV Virus de la Rubéole
 Herpès Human Virus 6-HHV6 Virus de la Rubéole

Réserve laboratoire :

Non conformé refus Non conformé versé
 Erreur de tube Pas de nature échantillon
 Pas d'identité sur ppt Pas de date/heure
 Autre Acheminement > 72h

Horodatage :

Virologie V1
10/02/2017

BIOCHIMIE
Poste 4560

BIOCHIMIE URINES ET LIQUIDES
Poste 4560

BIOCHIMIE URINES ET LIQUIDES-V01-037

OBJETIF

Date de prélèvement : []/[]/[]

Heure de prélèvement : []h []m

Préscrip[]

P[]

Préleveur : []

Echantillon : []

Durée des 24h : []h []m []s

Poids : [] Kg

Taille : [] cm

Édificat[]

Temps de recueil : []

Volum[]

Protocoles : []

Renseignements cliniques : []

Recueil sur pot rouge (pas de tube urine)

Tests à la bandelette : []

pH : []

Densité : []

Recherche de sang : []

Recherche d'hémoglobine : []

Recherche de myoglobine : []

Recherche de cristaux : []

Dosages : []

Calcium : []

Phosphore : []

TmP/DFG : []

Acide urique : []

Alpha 1 microglobuline : []

Magnésium : []

Cuivre : []

Porphyrines : []

1 pot à l'abri de la lumière

Bien se reporter aux conditions de prélèvements spécifiques sur le site interne des analyses

Exploration métabolique

Mécon fraîche - 1 tube

Acide lactique / lactates : []

Recherche de sucres : []

Transport dans la glace fondante

Mécon fraîche - 2 tubes

Recherche de sucres : []

Chromato des acides aminés : []

Cytidine : []

Test au DNPH : []

Sulfite (tel labo) : []

Chromato des acides organiques : []

Acide orotique : []

Acide méthyl malonique : []

Acide mévalonique : []

Urinotéque : []

Autres : []

Durée des 24h obligatoire

Cortisol urinaire : 1 tube boraté + 1 tube urine

Quantité de la créatinine : []

Aux de rapport sur le phosphore : []

Recherche de sang : []

Recherche de myoglobine : []

Totaux des urines de 24h

Creat[]

Oxalat[]

Totaux des urines de 24h recueillies sur acide

Catecholamines (adrénaline + noradrénaline) : []

Dopamine : []

Dérivés méthoxylés (Métabolites) : []

Normétanéphines : []

AMM : []

HVA : []

SHAA : []

Reservé labo

Etiquette UF

Etiquette patient

BIOCHIMIE
Poste 4560

BIOCHIMIE URINES ET LIQUIDES
Poste 4560

BIOCHIMIE URINES ET LIQUIDES-V01-037

OBJETIF

Date de prélèvement : []/[]/[]

Heure de prélèvement : []h []m

Préscrip[]

P[]

Préleveur : []

Echantillon : []

Durée des 24h : []h []m []s

Poids : [] Kg

Taille : [] cm

Édificat[]

Temps de recueil : []

Volum[]

Protocoles : []

Renseignements cliniques : []

Recherche de sang dans les selles

Longoparame + trou comblable : []

Caprotectine : []

Carbazole de l'alpha l'arbutine (essai sur selles de J1-J2-J3)

Sonde un tube de sérum J1

Recherche de sucres : []

Elastase : []

Statoforme : []

Localisés des selles de J1-J2-J3

Autres : []

Biologie foetale

Liquide amniotique

Joncs la feuille de renseignements cliniques obligatoire : []

Acetyl choline-estérase : []

Enzymes digestives : []

Numaux : []

Infestans hyperechogènes (entre J0 et J5 SA) : []

7, déhydrocholestérol : []

Amniotique : []

Sang de cordon : []

1 tube de sang de la mère : []

Dialysat

Identification : []

Glucose : []

Creatinine : []

Uréa : []

Protéines : []

Aluminium : []

Biopsie

Localisation : []

Cuivre : []

Pathologies mitochondriales (Joindre un courrier) : []

LCR

Protéines : []

Glucose : []

Chlore : []

LDH : []

Lactates : []

112 microglobuline : []

Recherche de pigments (A l'abri de la lumière)

Joindre un tube de sérum

Albumine : []

IGG : []

Index des IGG : []

Isoélectrofoculation : []

ECA (angiotensinase) : []

Marqueurs de dépense

Tube en polypropylène

Protéine Tau, phospho Tau (amyloïde) : []

Protéine 14-3-3 : []

Joncs la feuille de renseignements cliniques disponible sur le repertoire + 1 tube EDTA

Autres : []

Exploration métabolique

Joncs la feuille de renseignements cliniques obligatoire : []

Acide pivalique : []

Chromatographie des acides aminés (transport dans la glace)

Joncs un tube de sang hépariné

Reservé laboratoire

Erreur de tube : []

Pis transport : []

Pis délai : []

Pis identifiés : []

Pis de date/heure : []

Autre : []

Liquides divers

Nature du liquide

Pleural : []

Ascite : []

Arachnoïdiale : []

Frodon : []

Autres : []

Salivette

Cortisol salivaire : []

Test de la sueur : []

Horodotage

1

Documents attachés

pot bouchon rouge

tube polypropylène

grand pot

tube

pot bouchon rouge

tube polypropylène

grand pot

tube

Annexe 15. Nouveau bon de demande d'analyses de Biochimie (Urines et Liquides) depuis l'Accueil Biologique Commun (avril 2017)

Pôle biologie / Hématologie cellulaire spécialisée
Accueil des prélèvements à l'ABC de 8h00 à 20h30 (poste 5368)

CHUCaen

HÉMATOLOGIE SPE ET CMF-V0-43017

Cytologie
Poste 5177

Pôle biologie / Hématologie cellulaire spécialisée
Accueil des prélèvements à l'ABC de 8h00 à 20h30 (poste 5368)

CHUCaen

Cytologie
Poste 5177

DATE **HEURE**

Date de prélèvement: [][] / [][] / [][] Heure de prélèvement: [][] : [][]

Prescripteur: [] Prélèveur: []

DIAGNOSTIC ET SUIVI DES HEMOPATHIES MALIGNES
Cytologie
Immunophénotypage des hémopathies malignes par cytométrie en flux (prendre RDV au 5330)

1/ RENSEIGNEMENTS OBLIGATOIRES
NATURE DU PRELEVEMENT: 1 bon de demande par nature de prélèvement

SANG TISSU
 MOELLE OSSEUSE LCR (1 flacon stérilisé 40 gouttes si cytométrie en flux)
 GANGLION TISSU (à préciser).....

A VISEE DIAGNOSTIQUE PRE-THERAPEUTIQUE SUSPICION DE RECHUTE MALADIE RESIDUELLE SUIVI

DIAGNOSTIC CONNU OU SUSPECTE:

Leucémie aigue Lymphome Non Hodgkinien Syndrome myéloprolifératif
 Sd myéloprolifératif chronique Lymphome de Hodgkin Syndrome myéloprolifératif
 Myéline Syndrome d'activation macrophagique Maladies de surcharge

Autres (à préciser):.....

RENSEIGNEMENTS CLINIQUES:

Syndrôme tumoral OUI NON
Autres renseignements:.....

TRAITEMENT:

Chimiothérapie/Radiothérapie Facteurs de croissance hématopoïétiques
 Greffe de moelle osseuse Immunothérapie à préciser (anti CD20, anti-TNF)

2/ PRESCRIPTIONS DE CYTOLOGIE-Poste 6648

MOELLE OSSEUSE

Myélogramme Illaqué Sternal
 Emprunt de BOM Nombre de ternesomes
 Ponction méduleuse étiquetée 2 3 4 5

GANGLION

Adénogramme LCR des HEMOPATHIES
 Appositions Numération-Cytologie
 Ponction

3/ PRESCRIPTIONS DE CYTOMETRIE EN FLUX-Poste 5330
RAPPEL: Sang 4 tubes EDTA/ Moelle osseuse: 1 tube EDTA (1ml)

Immunophénotypage des cellules anormales RDV + CP
 Congélation cellulaire (Tumoro-biologie) FR + CP
 Préparation et envoi de cellules pour maladie résiduelle des LAL (prendre RDV au 5330)
 Dissection et envoi de cellules pour maladie résiduelle des LAM (RDV + FR)
 Dosage des précurseurs LLC et LLC(LCR) Autre liquide RDV + FR
 Immunophénotypage mastocytose FR
Autre analyse:.....

SECTEUR D'HEMATOLOGIE CELLULAIRE SPECIALISEE- Poste 6648
Demandes spécifiques. Hémogramme
Etude du globe rouge
Cytologie des liquides biologiques (hors LCR)

RENSEIGNEMENTS CLINIQUES:.....

SANG: 1 tube EDTA (violet)

Morphologie des globules rouges
 Morphologie des globules blancs
 Morphologie des plaquettes

Rendement plaquettaire
 Contrôle Qualité Transfusion Auto-logue

Recherche de cellules de Sézary
 Recherche de cellules de surcharge

LIQUIDES BIOLOGIQUES

Numération - Cytologie

Liquide d'ascite
 Liquide de dialyse
 Liquide pleural gauche
 Liquide pleural droit
 Liquide de péricarde
 Autre liquide biologique

Préciser:.....

Culture des précurseurs hématopoïétiques
Moelle Osseuse (1 tube EDTA)
Sang (3 tubes EDTA) RDV - FR - CP

Protocole de recherche clinique
Nom:..... Joindre fiche de protocole

SANG: étude du globe rouge

1 tube EDTA (violet) + 1 tube sec gel (jaune)

Etude de l'hémoglobine FR
par électrophorèse et HPLC

2 tubes héparinés (vert) + 2 tubes EDTA (violet)

Résistance globulaire/Auto-hémolyse RDV - FR

2 tubes EDTA (violet)

Test à TEM (dépôtage de sphérocytose) RDV - FR
 Entacytométrie RDV - FR
 Etude génétique du globe rouge RDV - FR - CP

Autre analyse:..... RDV
Indication:.....

RDV: rendez-vous obligatoire/ FR: fiche de renseignements (cf répertoire des analyses)/ CP: consentement patient

Réservé laboratoire

Erreur de tube
 Quantité insuffisante
 Disconcordance nom bon tubes
 Pas identifié
 Pas de date/heure
 Autre

Horodatage

Etiquette patient Etiquette UF Réservé labo

tubes EDTA tubes héparinés tubes secs pot

Documents attachés

Annexe 16. Nouveau bon de demande d'analyses d'Hématologie cellulaire spécialisée depuis l'Accueil Biologique Commun (avril 2017)

ROUTINE STUDIES

CSF

Collect at least 20 cc fluid, if possible; freeze at least 5–10 cc fluid, if possible
Opening pressure, WBC count with differential, RBC count, protein, glucose
Gram stain and bacterial culture
HSV-1/2 PCR (if test available, consider HSV CSF IgG and IgM in addition)
VZV PCR (sensitivity may be low; if test available, consider VZV CSF IgG and IgM in addition)
Enterovirus PCR
Cryptococcal antigen and/or India Ink staining
Oligoclonal bands and IgG index
VDRL

SERUM

Routine blood cultures
HIV serology (consider RNA)
Treponemal testing (RPR, specific treponemal test)
Hold acute serum and collect convalescent serum 10–14 d later for paired antibody testing

IMAGING

Neuroimaging (MRI preferred to CT, if available)
Chest imaging (Chest x-ray and/or CT)

NEUROPHYSIOLOGY

EEG

OTHER TISSUES/FLUIDS

When clinical features of extra-CNS involvement are present, we recommend additional testing (eg, biopsy of skin lesions; bronchoalveolar lavage and/or endobronchial biopsy in those with pneumonia/pulmonary lesions; throat swab PCR/culture in those with upper respiratory illness; stool culture in those with diarrhea); also see below

CONDITIONAL STUDIES

HOST FACTORS

Immunocompromised—CMV PCR, HHV6/7 PCR, HIV PCR (CSF); *Toxoplasma gondii* serology and/or PCR; MTB testing^b; fungal testing^c; WNV testing^d

GEOGRAPHIC FACTORS

Africa—malaria (blood smear), trypanosomiasis (blood/CSF smear, serology from serum and CSF); dengue testing^d
Asia—Japanese encephalitis virus testing^d; dengue testing^d; malaria (blood smear); Nipah virus testing (serology from serum and CSF; PCR, immunohistochemistry, and virus isolation in a BSL4 lab can also be used to substantiate diagnosis)
Australia—Murray Valley encephalitis virus testing^d, Kunjin virus testing^d, Australian Bat Lyssavirus (ABLV) testing^a
Europe—Tick-borne encephalitis virus (serology); if Southern Europe, consider WNV testing^d, Toscana virus testing^d
Central and South America—dengue testing^d; malaria (blood smear); WNV, Venezuelan equine encephalitis testing^d
North America—Geographically appropriate arboviral testing (eg, WNV, Powassan, LaCrosse, Eastern Equine Encephalitis viruses^d, Lyme (serum ELISA and Western blot)

SEASON AND EXPOSURE

Summer/Fall: Arbovirus^d and tick-borne disease^f testing
Cat (particularly if with seizures, paucicellular CSF)—*Bartonella* antibody (serum), ophthalmologic evaluation
Tick exposure—tick borne disease testing^f
Animal bite/bat exposure—rabies testing^a
Swimming or diving in warm freshwater or nasal/sinus irrigation—*Naegleria fowleri* (CSF wet mount and PCR^g)

SPECIFIC SIGNS AND SYMPTOMS

Psychotic features or movement disorder—anti-NMDAR antibody (serum, CSF); rabies testing^a; screen for malignancy, Creutzfeldt-Jakob disease
Prominent limbic symptoms—Autoimmune limbic encephalitis testing^h; HHV6/7 PCR (CSF); screen for malignancy
Rapid decompensation (particularly with animal bite history or prior travel to rabies-endemic areas)—rabies testing^a
Respiratory symptoms—*Mycoplasma pneumoniae* serology and throat PCR (if either positive, then do CSF PCR); respiratory virus testingⁱ
Acute flaccid paralysis—Arbovirus testing^d; rabies testing^a
Parkinsonism—Arbovirus testing^d; *Toxoplasma* serology
Nonhealing skin lesions—*Balamuthia mandrillaris*, *Acanthamoeba* testing^g

Annexe 17. Algorithme diagnostic pour l'évaluation initiale des encéphalites chez les adultes

LABORATORY FEATURES

Elevated transaminases—Rickettsia serology, tick borne diseases testing^f

CSF protein >100 mg/dL, or CSF glucose <2/3 peripheral glucose, or lymphocytic pleocytosis with subacute symptom onset—MTB testing^b, fungal testing^c

CSF protein >100 mg/dL or CSF glucose <2/3 peripheral glucose and neutrophilic predominance with acute symptom onset and recent antibiotic use—CSF PCR for *S. pneumoniae* and *N. meningitidis*

CSF eosinophilia—MTB testing^b; fungal testing^c; *Baylisascaris procyonis* antibody (serum); *Angiostrongylus cantonensis* and *Gnathostoma* sp. testing^g

RBCs in CSF—*Naegleria fowleri* testing^h

Hyponatremia—anti-VGKC antibody (serum); MTB testing^a

NEUROIMAGING FEATURES

Frontal lobe—*Naegleria fowleri* testing (CSF wet mount and PCR^h)

Temporal lobe—VGKC antibodies (serum and CSF); HHV 6/7 PCR (CSF)

Basal ganglia and/or thalamus—Arbovirus^d testing; MTB testing^a

Brainstem—Arbovirus testing^d; Listeria PCR (if available); Brucella antibody (serum); MTB testing^b

Cerebellum—EBV PCR (CSF) and serology

Diffuse cerebral edema—Respiratory virus testingⁱ

Space occupying and/or ring-enhancing lesions—MTB testing^b; fungal testing^c; *Balamuthia mandrillaris* and *Acanthamoeba* testing^g; Toxoplasma serology

Hydrocephalus and/or basilar meningeal enhancement—MTB testing^b; fungal testing^c

Infarction or hemorrhage—MTB testing^b; fungal testing^c; respiratory virus testingⁱ

Abbreviations: ABLV, Australian bat lyssavirus; BSL4, biosafety level 4; CNS, central nervous system; CSF, cerebral spinal fluid; CT, computed tomography; EBV, Epstein-Barr virus; EEG, electroencephalography; ELISA, enzyme-linked immunosorbent assay; HHV, human herpesvirus; HIV, human immunodeficiency virus; HSV, herpes simplex virus; IgG, immunoglobulin G; IgM, immunoglobulin M; MRI, magnetic resonance imaging; MTB, *Mycobacterium tuberculosis*; PCR, polymerase chain reaction; VDRL, Venereal Disease Research Laboratory; VGKC, voltage gated potassium channel; VZV, varicella-zoster virus; RBC, red blood cell; WBC, white blood cell; WNV, West Nile virus.

^a This table is not intended to encompass all causes of encephalitis, nor all epidemiological or laboratory-based risk factors. We recommend using this table as a guideline for initial management of acute encephalitis in adults. For additional information, we recommend consulting Tunkel et al. 2008, Steiner et al. 2010, Solomon et al. 2012 (see references). Consultation with local health authorities is also recommended.

^b MTB testing includes CSF smear for acid-fast bacilli and CSF mycobacterial culture along with one or more of the number of MTB PCR tests for CSF now commercially available. Sensitivity of smear and culture increases with the volume of CSF analyzed; we recommend consulting with the laboratory regarding optimal volumes of CSF to be analyzed. Given the varying sensitivity of these tests, systemic MTB testing including tuberculin skin test (may be negative) or interferon gamma release assay, stains and cultures from sputum, and tissue from biopsies from any potential systemic sites of infection.

^c Fungal testing should be tailored to specific geographic region and prior travel history/place of residence, and typically consists of serology, antibody testing from urine and/or CSF, and cultures from blood and CSF.

^d Arbovirus testing should be tailored to specific geographic region and typically consists of IgG and IgM from serum and CSF; PCR (serum, CSF) can be performed for select arboviruses (ie, WNV, California serogroup viruses), and is particularly useful in immunocompromised patients.

^e Rabies/ABLV testing includes serologic analysis of serum and CSF; virus isolation or RT-PCR from saliva; tests for viral antigen or histopathology on either a brain biopsy or full-thickness biopsy of the nape of the neck. Testing should be conducted in concert with a local or regional public health department.

^f Tick borne disease testing should be tailored to specific geographic region and typically consists of serology (ie, *Borrelia*, *Ehrlichia*, *Rickettsia* sp., *Anaplasma phagocytophilum*, TBEV), and blood PCR (*Ehrlichia*, *Anaplasma*).

^g *Naegleria fowleri*, *Balamuthia mandrillaris*, and *Acanthamoeba* spp. testing is only available at specialized laboratories (eg, CDC) and includes serum immunofluorescence assay, immunohistochemistry on brain or other tissue and PCR testing on brain or other tissue and CSF. In addition, CSF wet mount is recommended for *Naegleria fowleri* testing. Brain tissue from affected region offers optimal sensitivity and specificity but other specimens can be tested.

^h Autoimmune limbic encephalitis evaluation includes testing for antibodies to VGKC (most commonly identified cause in adults), GAD, AMPA receptor, GABA_A receptor, mgluR5, Hu, CV2, Ma2, and amphiphysin.

ⁱ Respiratory virus testing includes either culture or respiratory PCR panel from respiratory specimens (eg, nasopharyngeal swab, nasal wash). Respiratory virus testing should include Influenza A and B (during influenza season). Testing for other respiratory viruses such as parainfluenza and adenovirus should be considered although their role in causing CNS illness is controversial.

^j Limited testing may be available through research laboratories, and includes examination of CSF or other affected tissues (ie, eye, muscle) for presence of parasite, or detection of antibody in serum or CSF.

Annexe 17 (suite). Algorithme diagnostic pour l'évaluation initiale des encéphalites chez les adultes

ROUTINE STUDIES

CSF^b

Collect at least 5 cc fluid, if possible; freeze unused fluid for additional testing

Opening pressure, WBC count with differential, RBC count, protein, glucose

Gram stain and bacterial culture

HSV-1/2 PCR (if test available, consider HSV CSF IgG and IgM in addition)

Enterovirus PCR

SERUM

Routine blood cultures

EBV serology (VCA IgG and IgM and EBNA IgG)

Mycoplasma pneumoniae IgM and IgG

Hold acute serum and collect convalescent serum 10–14 d later for paired antibody testing

IMAGING

Neuroimaging (MRI preferred to CT, if available)

NEUROPHYSIOLOGY

EEG

OTHER TISSUES/FLUIDS

Mycoplasma pneumoniae PCR from throat sample

Enterovirus PCR and/or culture of throat and stool

When clinical features of extra-CNS involvement are present, we recommend additional testing (eg, biopsy of skin lesions; bronchoalveolar lavage and/or endobronchial biopsy in those with pneumonia/pulmonary lesions; throat swab PCR/culture in those with upper respiratory illness; stool culture in those with diarrhea); also see below

CONDITIONAL STUDIES

HOST FACTORS

Age <3 y—Parechovirus PCR (CSF)

Immunocompromised—CMV PCR, HHV6/7 PCR, HIV PCR (CSF); cryptococcal antigen; *Toxoplasma gondii* serology and/or PCR; MTB testing^c; fungal testing^d; WNV testing^e

GEOGRAPHIC FACTORS

Africa—malaria (blood smear); trypanosomiasis (blood/CSF smear, serology from serum and CSF); dengue testing^e

Asia—Japanese Encephalitis Virus testing^e; dengue testing^e; malaria (blood smear); Nipah virus testing (serology from serum and CSF; PCR, immunohistochemistry, and virus isolation in a BSL4 lab can also be used to substantiate diagnosis)

Australia—Murray Valley encephalitis virus testing^e; Kunjin virus testing^e, Australian Bat Lyssavirus (ABLV) testing^f

Europe—Tick-borne Encephalitis Virus (serology); if Southern Europe, consider WNV testing^e, Toscana virus testing^e

Central and South America—dengue testing^e; malaria (blood smear)

North America—Geographically—appropriate arboviral testing (eg, WNV, Powassan, LaCrosse, Eastern Equine Encephalitis viruses,^e Lyme (serum ELISA and Western blot)

SEASON AND EXPOSURE

Summer/Fall: Arbovirus^e and tick-borne disease^g testing

Cat (particularly if with seizures, paucicellular CSF)—Bartonella antibody (serum), ophthalmologic evaluation

Tick exposure—Tick borne disease testing^g

Animal bite/bat exposure—rabies testing^f

Swimming or diving in warm freshwater or nasal/sinus irrigation—*Naegleria fowleri* (CSF wet mount and PCR^h)

SPECIFIC SIGNS AND SYMPTOMS

Abnormal behavior (eg, new onset temper tantrums, agitation, aggression), psychotic features, seizures or movement disorder—NMDAR antibody (serum, CSF), oligoclonal bands, IgG index, rabies testing^f

Behavior changes followed by myoclonic spasms/jerks: measles IgG (CSF and serum)

Vesicular rash—VZV PCR from CSF (sensitivity may be low; if test available, consider CSF IgG and IgM); VZV IgG and IgM from serum

Rapid decompensation (particularly with animal bite history or prior travel to rabies-endemic areas)—rabies testing^f

Respiratory symptoms—chest imaging (chest X-ray and/or CT scan); respiratory virus testingⁱ; *Mycoplasma pneumoniae* PCR (CSF)

Acute flaccid paralysis—Arbovirus testing^e; rabies testing^f

Parkinsonism—Arbovirus testing^e; *Toxoplasma* serology

Nonhealing skin lesions—*Balamuthia*, *Acanthamoeba* testing^h

Prominent limbic symptoms—Autoimmune limbic encephalitis testing^j, HHV6/7 PCR (CSF)

Annexe 18. Algorithme diagnostic pour l'évaluation initiale des encéphalites en population pédiatrique

LABORATORY FEATURES

If EBV serology is suggestive of acute infection, perform EBV PCR (CSF)
Elevated transaminases—Rickettsia serology, tick borne diseases testing ^g
CSF protein >100 mg/dL, or CSF glucose <2/3 peripheral glucose, or lymphocytic pleocytosis with subacute symptom onset—MTB testing ^c , fungal testing ^d , <i>Balamuthia mandrillaris</i> testing ^h
CSF protein >100 mg/dL or CSF glucose <2/3 peripheral glucose and neutrophilic predominance with acute symptom onset and recent antibiotic use—CSF PCR for <i>S. pneumoniae</i> and <i>N. meningitidis</i>
CSF eosinophilia—MTB testing ^c ; fungal testing ^d ; <i>Baylisascaris procyonis</i> antibody (serum and CSF); <i>Angiostrongylus cantonensis</i> , <i>Gnathostoma</i> sp. testing ^k
Hyponatremia—MTB testing ^c
<i>Mycoplasma pneumoniae</i> serology or throat PCR positive— <i>Mycoplasma pneumoniae</i> PCR (CSF)

NEUROIMAGING FEATURES

Frontal lobe— <i>Naegleria fowleri</i> (CSF wet mount and PCR ^h)
Temporal lobe—HHV 6/7 PCR (CSF)
Basal ganglia and/or thalamus—Respiratory virus testing ⁱ ; Arbovirus testing ^e ; MTB testing ^c
Brainstem—respiratory virus testing ⁱ ; Arbovirus testing ^e ; Listeria PCR (if available); Brucella antibody (serum); MTB testing ^c
Cerebellum—VZV PCR from CSF (sensitivity may be low; if test available, consider CSF IgG and IgM); VZV IgG and IgM from serum; EBV PCR (CSF)
Diffuse cerebral edema—respiratory virus testing ⁱ
Space occupying and/or ring-enhancing lesions—MTB testing ^c ; fungal testing ^d ; <i>Balamuthia mandrillaris</i> and <i>Acanthamoeba</i> testing ^h , <i>Toxoplasma gondii</i> serology
Hydrocephalus and/or basilar meningeal enhancement—MTB testing ^c ; fungal testing ^d ; <i>Balamuthia mandrillaris</i> testing ^h ; Infarction or hemorrhage—MTB testing ^c ; fungal testing ^d ; respiratory virus testing ⁱ
White matter lesions—Oligoclonal bands, IgG index, Lyme (serum ELISA and Western blot); Brucella (serology or CSF culture); Measles virus testing for SSPE; <i>Baylisascaris procyonis</i> antibody (serum and CSF); <i>Balamuthia mandrillaris</i> testing ^h

Abbreviations: ABLV, Australian bat lyssavirus; BSL4, biosafety level 4; CNS, central nervous system; CMV, cytomegalovirus; CSF, cerebral spinal fluid; CT, computed tomography; EBV, Epstein-Barr virus; EBNA, Epstein-Barr virus nuclear antigen; EEG, electroencephalography; ELISA, enzyme-linked immunosorbent assay; HHV, human herpesvirus; HIV, human immunodeficiency virus; HSV, herpes simplex virus; IgG, immunoglobulin G; IgM, immunoglobulin M; MRI, magnetic resonance imaging; MTB, *Mycobacterium tuberculosis*; PCR, polymerase chain reaction; RBC, red blood cell; HSV, herpes simplex virus; RBC, red blood cell; NMDAR, N-methyl-D-aspartate receptor; VCA, viral capsid antigen; VDRL, Venereal Disease Research Laboratory; VGKC, voltage gated potassium channel; VZV, varicella-zoster virus; SSPE, subacute sclerosing panencephalitis; WBC, white blood cell; WNV, West Nile virus.

* This table is not intended to encompass all causes of encephalitis, nor all epidemiological or laboratory-based risk factors. We recommend utilizing this table as a guideline for initial management of acute encephalitis in children beyond the neonatal period. For additional information, we recommend consulting Tunkel et al. 2008, Steiner et al. 2010, Kneen et al. 2012 (see references). Consultation with local health authorities is also recommended.

^b Although some members of the consortium recommended *M. pneumoniae* CSF PCR as routine testing for all children, a consensus was not reached given the challenges of establishing a diagnosis of encephalitis due to *M. pneumoniae* (see text).

^c MTB testing includes CSF smear for acid-fast bacilli and CSF mycobacterial culture along with one or more of the number of MTB PCR tests for CSF now commercially available. Sensitivity of smear and culture increases with the volume of CSF analyzed; we recommend consulting with the laboratory regarding optimal volumes of CSF to be analyzed. Given the varying sensitivity of these tests, systemic MTB testing including tuberculin skin test (may be negative) or interferon gamma release assay, stains and cultures from sputum, and tissue from biopsies from any potential systemic sites of infection.

^d Fungal testing should be tailored to specific geographic region and prior travel history/place of residence, and typically consists of serology, antibody testing from urine and/or CSF, and cultures from blood and CSF.

^e Arbovirus testing should be tailored to specific geographic region and typically consists of IgG and IgM from serum and CSF; PCR (serum, CSF) can be performed for select arboviruses (ie, WNV, California serogroup viruses), and is particularly useful in immunocompromised patients.

^f Rabies/ABLV testing includes serologic analysis of serum and CSF; virus isolation or RT-PCR from saliva; tests for viral antigen or histopathology on either a brain biopsy or full-thickness biopsy of the nape of the neck. Testing should be conducted in concert with a local or regional public health department.

^g Tick borne disease testing should be tailored to specific geographic region and typically consists of serology (ie, *Borrelia*, *Ehrlichia*, *Rickettsia* sp., *Anaplasma phagocytophilum*, TBEV), and blood PCR (*Ehrlichia*, *Anaplasma*).

^h *Naegleria fowleri*, *Balamuthia mandrillaris*, and *Acanthamoeba* spp. testing is only available at specialized laboratories (eg, CDC) and includes serum immunofluorescence assay, immunohistochemistry on brain or other tissue and PCR testing on brain or other tissue and CSF. In addition, CSF wet mount is recommended for *Naegleria fowleri* testing. Brain tissue from affected region offers optimal sensitivity and specificity but other specimens can be tested.

ⁱ Respiratory virus testing includes either culture or respiratory PCR panel from respiratory specimens (eg, nasopharyngeal swab, nasal wash). Respiratory virus testing should include Influenza A and B (during influenza season). Testing for other respiratory viruses including Parainfluenza 1–4, Adenovirus, and human metapneumovirus should be considered although their role in causing CNS illness is controversial.

^j Autoimmune limbic encephalitis evaluation includes testing for antibodies to VGKC, GAD, AMPA receptor, GABA_A receptor, mgluR5, Hu, CV2, Ma2, and amphiphysin.

^k Limited testing may be available through research laboratories, and includes examination of CSF or other affected tissues (ie, eye, muscle) for presence of parasite, or detection of antibody in serum or CSF.

Annexe 18 (suite). Algorithme diagnostique pour l'évaluation initiale des encéphalites en population pédiatrique

Case Definitions, Diagnostic Algorithms, and Priorities in Encephalitis Consortium Clinical Infectious Diseases 2013

Major Criterion (required):

Patients presenting to medical attention with altered mental status (defined as decreased or altered level of consciousness, lethargy or personality change) lasting ≥ 24 h with no alternative cause identified.

Minor Criteria (2 required for possible encephalitis; ≥ 3 required for probable or confirmed^a encephalitis):

Documented fever $\geq 38^{\circ}$ C (100.4° F) within the 72 h before or after presentation^b

Generalized or partial seizures not fully attributable to a preexisting seizure disorder^c

New onset of focal neurologic findings

CSF WBC count ≥ 5 /cubic mm^d

Abnormality of brain parenchyma on neuroimaging suggestive of encephalitis that is either new from prior studies or appears acute in onset^e

Abnormality on electroencephalography that is consistent with encephalitis and not attributable to another cause.^f

Abbreviations: CNS, central nervous system; CSF, cerebral spinal fluid; EEG, electroencephalogram; RBC, red blood cell; WBC, white blood cell.

^a Confirmed encephalitis requires one of the following: (1) Pathologic confirmation of brain inflammation consistent with encephalitis; (2) Defined pathologic, microbiologic, or serologic evidence of acute infection with a microorganism strongly associated with encephalitis from an appropriate clinical specimen (for examples, see references [1, 2]); or (3) Laboratory evidence of an autoimmune condition strongly associated with encephalitis.

^b Fever is a common finding in patients with acute encephalitis but is nonspecific. The requirement for objective documentation of fever within a restricted time frame of ≤ 72 h after hospitalization was chosen to exclude secondary health-care associated infections. It is recognized that fevers can occur as a result of a number of infections outside of the central nervous system that can cause encephalopathy, as well as with noninfectious entities that mimic encephalitis. It is also recognized that fever may fluctuate and, as such, objective fever may be lacking in patients with infectious encephalitis at the time of clinical assessment. Furthermore, immunosuppressed patients with encephalitis may not mount a fever.

^c Seizures associated with encephalitis may be generalized, suggestive of global CNS dysfunction, or focal, indicating a localized process. Subclinical seizures may also occur and can be a cause of altered sensorium. Seizures associated with high temperatures are relatively common in young children and, if occurring in isolation, do not mandate evaluation for encephalitis. The major requirement for at least 24 h of altered mentation was selected to exclude the post-ictal state seen in patients with febrile seizures.

^d CSF pleocytosis is suggestive of an inflammatory process of the brain parenchyma, meninges, or both (meningoencephalitis). The absence of CSF pleocytosis, however, does not exclude encephalitis. In particular, it is recognized that the CSF may be devoid of cells in immunocompromised patients (Fodor et al., *Neurology* 1998 51:554–59) or early in the course of infection (Weil et al., *Clin Infect Dis* 2002 34:1154–57; Mook-Kanamori et al., *J Am Geriatr Soc* 57:1514–15; Jakob et al., *Crit Care Med* 2012 40:1304–8). Conversely, the CSF profile with inflammation limited to the meninges may be indistinguishable from that in patients with encephalitis. In the majority of cases of encephalitis, however, the absolute number of leukocytes is $< 1000/\text{mm}^3$ and lymphocytes typically predominate. To ensure adequate sensitivity of the definition, the group defined CSF pleocytosis as ≥ 5 WBC/ mm^3 . In cases where there are large numbers of red blood cells in the CSF, such as with a traumatic lumbar puncture, the following formula may allow correction of the WBC count: True CSF WBC = actual CSF WBC—(WBC in blood \times RBC in CSF)/RBC in blood (Tunkel A. In Mandel ed., *Principles and Practice of Infectious Diseases*, 7th ed., 2010:1183–88; Bonadio *Pediatr Infect Dis J* 1992 11:423–31). Notably, rules for adjusting leukocytes in blood-contaminated CSF have not been well validated (Bonsu and Harper, *Pediatr Infect Dis J* 2006 25:8–11).

^e Neuroimaging plays a crucial role in the evaluation of patients with suspected encephalitis, as it may support the diagnosis of a specific etiology or identify alternate conditions that mimic encephalitis. Magnetic resonance imaging (MRI) is the radiologic modality of choice for evaluation of patients with suspected encephalitis. Multiple studies have confirmed MRI to be superior to computed tomographic (CT) scanning for demonstration of CNS abnormalities (Tunkel et al. *Clin Infect Dis* 2008 47:303–27; Glaser et al. *Clin Infect Dis* 2006 43:1565–77). MRI may aid in defining an etiology, as localization of inflammation may be suggestive of particular pathogens (eg, temporal lobe involvement in patients with herpes simplex virus encephalitis) or of an autoimmune phenomenon (eg, demyelination in patients with acute disseminated encephalomyelitis). A noncontrast CT scan is most useful in evaluating safety in the performance of a lumbar puncture and in excluding alternative diagnoses such as subarachnoid hemorrhage. We recognize that MRI or CT may not be available in resource-limited settings, in which case the diagnosis of encephalitis will need to rely on clinical and laboratory criteria.

^f EEG abnormalities reported in cases of encephalitis range from nonspecific generalized slowing to distinctive patterns suggestive of specific entities, including repetitive sharp wave complexes over the temporal lobes or periodic lateralizing epileptiform discharges in HSV-1 (Lai and Gragasin *J Clin Neurophysiol* 1988 5:87–103) and bilateral synchronous periodic sharp and slow waves associated with subacute sclerosing panencephalitis (Gutierrez et al. *Dev Med Child Neurol* 2010 52:901–7). EEG abnormalities are frequently nonspecific and may be attributable to medications or metabolic abnormalities. The EEG may identify epileptiform discharges in the absence of clinical evidence of seizure activity (subclinical or nonconvulsive status epilepticus) as a cause of obtundation.

Annexe 19. Critères diagnostique pour les encéphalites et encéphalopathies présumées infectieuses ou auto-immunes

Case Definitions, Diagnostic Algorithms, and Priorities in Encephalitis Consortium. *Clinical Infectious Diseases* 2013

Facteurs de risque / Caractéristiques	Agents infectieux potentiellement impliqués
Immunodéficience	Tous les agents pathogènes mais certains sont plus fréquemment impliqués que d'autres : EBV, CMV, HHV6, VZV, EV, <i>Listeria monocytogenes</i> , <i>Mycobacterium tuberculosis</i> , <i>Nocardia</i> , <i>Cryptococcus neoformans</i> , JC virus, WNV, LCMV, virus de l'hépatite E, virus de la rougeole, <i>Coccidioides</i> , <i>Histoplasma capsulatum</i> , <i>Aspergillus fumigatus</i> , <i>Toxoplasma gondii</i> , <i>Acanthamoeba spp.</i> , <i>Balamuthia mandrillaris</i>
Thérapie par anticorps monoclonaux	Infliximab, etanercept : VZV, <i>M.tuberculosis</i> , <i>Legionella pneumophila</i> , <i>L.monocytogenes</i> , <i>Nocardia</i> , <i>Histoplasma capsulatum</i> Rituximab: EV, JC virus Natalizumab: HSV, JC virus Tocilizumab: VZV, <i>M.tuberculosis</i>
Transplantation de cellules souches hématopoïétiques	HHV6, CMV
Transmission via transfusion, transplantation	WNV, virus de la rage, LCMV, EBV, CMV, HHV6, TBEV, HIV, JC virus, <i>Treponema pallidum</i> , <i>Anaplasma phagocytophilum</i> , <i>Rickettsia</i> , <i>Cryptococcus neoformans</i> , <i>Coccidioides</i> , <i>Histoplasma capsulatum</i> , <i>Toxoplasma gondii</i> , variant de la maladie de Creutzfeldt-Jakob
Patient non vacciné en zone d'endémie	Poliovirus, VZV, virus de la rougeole, des oreillons, de la rubéole, <i>Mycobacterium tuberculosis</i> , virus de la fièvre jaune, TBEV
Vaccination récente	Virus de la fièvre jaune, virus de la rougeole
Personne âgée	EEEV, WNV, VZV, HSV, <i>L.monocytogenes</i> , <i>Balamuthia mandrillaris</i>
Femme enceinte	LCMV, <i>L.monocytogenes</i>
Atteinte hépatique chronique	<i>L.monocytogenes</i>
Mode de vie Natation Spéléologie Exposition sexuelle	EV, <i>Naegleria fowleri</i> , Leptospirosis <i>Histoplasma capsulatum</i> HIV, <i>Treponema pallidum</i>
Voyages Amérique du Nord Amérique Centrale et du Sud Asie Australie/Océanie Europe Région méditerranéenne Afrique	WNV, La Crosse virus, SLEV, EEEV, WEEV, virus de l'encéphalite californienne, virus de la fièvre à tiques du Colorado, virus Powassan, virus Chikungunya, virus de la rage, EV71, <i>Rickettsia rickettsii</i> , <i>Anaplasma phagocytophilum</i> , <i>Borrelia burgdorferi</i> , <i>Coccidioides</i> , <i>Naegleria fowleri</i> , <i>Acanthamoeba spp.</i> , <i>Balamuthia mandrillaris</i> , <i>Baylisascaris procyonis</i> VEEV, WNV, EEEV, SLEV, virus Chikungunya, virus de la dengue, virus de la fièvre jaune, virus de la rage, <i>Bartonella bacilliformis</i> , <i>Rickettsia</i> , <i>Taenia solium</i> , <i>Plasmodium falciparum</i> JEV, TBEV, virus Chandirpura, virus Nipah, EV71, virus Chikungunya, virus de la rage, <i>Orientia tsutsugamushi</i> , <i>Plasmodium falciparum</i> , <i>Angiostrongylus sp.</i> MVEV, virus Kunjin, virus Hendra, ABLV, JEV TBEV, WNV, virus Toscana, virus de la rage, <i>Anaplasma phagocytophilum</i> , <i>Borrelia burgdorferi</i> Virus Toscana, WNV, virus de la dengue, virus de la rage Virus Chikungunya, virus de la dengue, virus de la fièvre jaune, WNV, virus de la rage
Piqûre Tiques Moustiques Phlébotomes Glossine (mouche tsétsé)	TBEV, virus Powassan, virus de la fièvre à tiques du Colorado, CTFV, <i>Borrelia burgdorferi</i> , <i>Rickettsia rickettsii</i> , <i>Ehrlichia chaffeensis</i> , <i>Anaplasma phagocytophilum</i> , <i>Francisella tularensis</i> JEV, WNV, virus de la dengue, virus de la fièvre jaune, virus Chikungunya, La Crosse virus, SLEV, EEEV, WEEV, VEEV, MVEV Virus Chandipura, virus Toscana, <i>Bartonella bacilliformis</i> <i>Trypanosoma brucei</i>
Saisons : été/automne	EV, infections par piqûres de tiques et moustiques, <i>Leptospira sp.</i>
Animaux (contact direct ou contamination environnementale) Chauve-souris Primates	Virus de la rage, virus Nipah, virus Hendra Virus B (Herpes virus Cercopithecine 1, ou Herpes simien)

Carnivores (chiens, chats, furets) Chevaux Porcs Ovins/Caprins	Virus de la rage, <i>Bartonella henselae</i> Virus Hendra Virus Nipah, virus Influenza <i>Coxiella burnetii</i> , <i>Brucella</i> (Pas en France)
Rongeurs (sauvages ou domestiques) Raton-laveur	EEEV, LCMV, La Crosse virus, virus Powassan, <i>Bartonella henselae</i> , <i>Rickettsia spp.</i> , <i>Francisella tularensis</i> , <i>Leptospira interrogans</i> <i>Baylisascaris procyonis</i> (en Amérique du Nord uniquement)
Exposition alimentaire Viande peu cuite ou crue Lait non pasteurisé Crudités Foie de porc	<i>Gnathostoma</i> , <i>Taenia solium</i> , <i>Toxoplasma gondii</i> TBEV, <i>Brucella</i> (pas en France), <i>L.monocytogenes</i> <i>Toxoplasma gondii</i> Virus de l'hépatite E

Annexe 20. Principaux agents infectieux à évoquer selon le contexte.

WNV (West Nile virus) ; LCMV (virus de la chorioméningite lymphocytaire) ; TBEV (Encéphalite à tiques) ; EEEV (virus de l'encéphalite équine de l'Est) ; SLEV (virus de l'encéphalite de Saint Louis) ; WEEV (virus de l'encéphalite équine de l'Ouest) ; VEEV (virus de l'encéphalite équine du Venezuela) ; JEV (virus de l'encéphalite japonaise) ; MVEV (virus de l'encéphalite de la Murray Valley) ; ABLV (Lyssavirus de la chauve-souris australienne) ; CTFV (virus de la tristezza des agrumes)

Epidemiology of infectious encephalitis causes in 2016. Médecines et Maladies Infectieuses 47(2017)221-235

Unité Fonctionnelle (UF)	Service	Unité Fonctionnelle (UF)	Service
0022	Institut Médico-Légal	1711	Commun Hébergement Rhumatologie Médecine Interne
0179	Urgences Adultes	1721	Rhumatologie Rattachée HDS
0180	Bloc Urgences	1728	Médecine Hospitalisation Semaine
0186	Anesthésie Urgences	1737	Médecine Hospitalisation Jour
0351	Anatomo-Pathologie	1811	Médecine Interne
0611	Réanimation Chirurgicale	1813	Médecine Interne orientation Médecine Polyvalente
0612	Réanimation Chirurgicale	1821	Médecine Gériatrique Aigüe
0620	Réanimation Chirurgicale	1826	Médecine Polyvalente Unité Saisonnière
0721	Chirurgie Hépato-Bilio-Pancréatique	1830	Médecine Physique Réadaptation
0722	Chirurgie Digestive Viscérale et Urologique	1910	Hépatogastro-Entérologie HC
0810	Urologie	1930	Hépatogastro-Entérologie Soins Intensifs
0827	Gériatrie UTAC HC	2110	Pneumologie
0836	Gériatrie Conventionnelle HC	2130	Médecine Polyvalente
0913	Chirurgie Cardiaque HC	6240	Hématologie Consultations
0930	Chirurgie Cardio-Thoracique Vasculaire	6300	Néphrologie
0946	Chirurgie Vasculaire Consultations	6500	Dermatologie
1014	Infectiologie Consultations	6600	Médecine Générale
1022	Ortho-Traumatologie	7210	Chirurgie Hépato-Bilio-Pancréatique
1036	Dermatologie Infectiologie HC	7262	Centre de Référence Mort Subite
1037	Infectiologie Rattachée HC	7301	Hématologie Clinique HC
1038	Dermatologie Rattachée HC	7321	Hématologie Hospitalisation Jour
1043	Onco-Hématologie Consultations	7325	Hématologie Soins Intensifs
1120	Ortho-Traumatologie HC	7328	Hématologie Clinique HDS
1129	Ortho-Neurochirurgie Hébergement HDS	7550	Urgences Médico-Chirurgicales Pédiatriques
1210	Neurochirurgie	7553	UHCD Médico-Chirurgicales Pédiatriques
1220	Neurochirurgie	7600	Néonatalogie
1233	Neurochirurgie Surveillance Continue	7605	Néonatalogie Soins Intensifs
1237	Bloc 12 Neurochirurgie	7610	Unité Kangourou
1243	Imagerie Interventionnelle	7620	Néonatalogie Réanimation
1310	Neurologie HC	7700	Pédiatrie Médicale Nourrissons
1320	Neurologie HPDD	7701	Pédiatrie Médicale Grands Enfants
1326	Neurologie Vasculaire Soins Intensifs	7716	Pédiatrie Médicale Surveillance Continue
1327	Neurologie Vasculaire HC	7732	Pédiatrie Médicale HDJ
1391	Neurologie HDJ	7800	Suite de Couches Pathologiques HC
1392	Neurologie HDS	7820	Gynécologie HC
1410	ORL	7855	Salle de Naissance
1511	UHCD Urgences	7901	Chirurgie Pédiatrique HC
1513	Médecine Post-UHCD	7910	Onco-Hématologie Pédiatrique HC
1520	Ophthalmologie	7911	Onco-Hématologie Pédiatrique Hospitalisation Jour
1540	Ophthalmologie Consultations	7915	Onco-Hématologie Pédiatrique Surveillance Continue
1545	Ophthalmologie Urgences	7920	Réanimation Médico-Chirurgicale Pédiatrique
1610	Réanimation Médicale	7925	SC Médico-Chirurgicale Pédiatrique
1620	Maladies Infectieuses	8201	ORL CMF Ophthalmologie HC
1630	Réanimation Médicale	8202	ORL CMF Ophthalmologie HDS
1710	Rhumatologie Rattachée HC		

Annexe 21. Liste des Unités Fonctionnelles et des Services correspondants

Echantillons	Ct du CI obtenus avec la technique routine	Ct du CI obtenus avec le kit Diagenode®	Delta Ct
1	29.68	25.44	-4.24
2	30.12	25.22	-4.90
3	29.29	25.18	-4.11
4	31.62	26.39	-5.23
5	29.94	25.41	-4.53
6	29.97	25.26	-4.71
7	31.18	25.39	-5.79
8	30.87	25.39	-5.48
9	33.25	26.02	-7.23
10	33.09	26.39	-6.70
11	33.30	25.62	-7.68
12	32.22	25.66	-6.56
13	32.03	25.43	-6.60
14	34.18	25.60	-8.58
15	32.76	25.43	-7.33
16	30.54	24.15	-6.39
17	30.61	24.46	-6.15
18	32.05	24.02	-8.03
19	30.23	24.55	-5.68
20	32.39	24.03	-8.36
21	30.83	24.11	-6.72
22	32.69	26.37	-6.32
23	32.36	26.35	-6.01
24	33.21	26.41	-6.80
25	33.21	25.23	-7.98
26	31.30	25.73	-5.57
27	31.14	25.95	-5.19
28	31.06	25.96	-5.10
29	30.96	25.70	-5.26
30	31.51	25.92	-5.59
31	34.09	25.90	-8.19
32	34.05	25.85	-8.20
33	32.50	25.57	-6.93
34	30.15	25.20	-4.95
35	30.54	24.67	-5.87
36	30.22	24.60	-5.62
37	28.28	26.10	-2.18
38	31.32	25.73	-5.59
39	30.01	25.67	-4.34
40	30.57	25.67	-4.9
41	28.73	28.38	-0.35
42	29.33	27.92	-1.41
43	29.32	28.00	-1.32
44	28.81	28.30	-0.51
45	28.85	27.91	-0.94
46	28.99	27.95	-1.04
Moyenne	31.16	25.79	-5.37
Ecart-type	1.58	1.10	2.17

Annexe 22. Ct du CI obtenus avec la technique de routine et le kit Diagenode® pour tous les échantillons testés (n=46)

N° série	Ct du CI des témoins positifs obtenus avec le kit Diagenode®	Ct du CI des témoins négatifs obtenus avec le kit Diagenode®
1	25.33	25.49
2	25.79	24.89
3	25.78	25.63
4	24.51	24.30
5	27.00	26.75
6	25.83	25.68
7	25.27	25.01
8	26.31	26.52
9	25.99	25.85
10	28.26	28.06
Moyenne	26.01	25.82
Ecart-type	1.03	1.07

Annexe 23. Ct du CI obtenus avec le kit Diagenode® pour les témoins positifs et négatifs de chaque série (n=10)

N° série	Ct obtenus avec la technique routine – 10 TCID50	Ct obtenus avec la technique routine – 1 TCID50	Ct obtenus avec le kit Diagenode® – Témoins positifs
1	27.74	30.77	29.90
2	29.05	32.33	31.59
3	28.48	32.39	32.62
4	28.74	32.08	31.69
5	27.88	31.1	31.80
6	29.51	33.33	32.11
7	28.20	32.31	30.80
8	28.85	29.80	29.18
9	28.22	31.74	31.81
10	29.78	33.39	33.60
Moyenne	28.65	31.92	31.51
Ecart-type	0.67	1.12	1.28

Annexe 24. Ct obtenus pour les témoins positifs avec la technique de routine et le kit Diagenode® pour chaque série (n=10)

Patients	Ct obtenus avec la technique routine 1	Ct obtenus rétrospectivement avec la technique routine 2	Delta Ct entre les 2 RT-PCR de routine
1	35,60	35,60	0
2	31,10	31,10	0
3	34,10	34,10	0
4	32,41	32,40	-0.01
5	31,70	31,70	0
6	37,80	37,80	0
7	31,80	31,80	0
8	38,06	38,10	0.04
9	30,67	30,70	0.03
10	33,60	33,60	0
11	35,20	35,20	0
12	31,10	31,10	0
13	32,07	32,10	0.03
14	36,70	36,70	0
15	31,40	31,40	0
16	30,20	30,20	0
17	33,90	33,90	0
18	33,10	33,10	0
19	33,40	33,40	0
20	33,70	33,70	0
21	33,25	33,30	0.05
22	31,90	31,90	0
23	32,40	32,40	0
24	34,80	34,90	0.10
25	37,50	37,50	0
Moyenne	-	-	0.01
Ecart-type	-	-	0.02

Annexe 25. Comparaison des Ct de la cible obtenus avec la technique de routine 1 (lors du prélèvement) et 2 (rétrospectivement)

BIBLIOGRAPHIE

- [1] Bonadio W. Pediatric Lumbar Puncture and Cerebrospinal Fluid Analysis. J Emerg Med 2014 Jan;46(1):141-50
- [2] Vibert JF. Le liquide céphalorachidien. Département de Physiologie, Faculté de Médecine Pierre et Marie Curie, M1 de Neurophysiologie 2007
- [3] Roy P.M, Bouhours G. Prévention et traitement du syndrome post-ponction lombaire. Médecine Thérapeutique 2004;10(4):224-2288
- [4] Méningites, Méningo-encéphalites chez l'adulte et l'enfant. ECN.PILLY 2016 4^{ème} édition pages 59 à 74
- [5] Prise en charge des méningites bactériennes aiguës communautaires (à l'exclusion du nouveau-né). 17^{ème} Conférence de Consensus en Thérapeutique Anti-Infectieuse. 19 Novembre 2008, Texte long
- [6] Dubos F, Chalumeau M et al. Serum procalcitonin and other biologic markers to distinguish between bacterial and aseptic meningitis. The Journal of Pediatrics 2006 Jul;149(1):72-6
- [7] Rozenberg F. Diagnostic des infections neuroméningées virales aiguës : apport des techniques de PCR. La Lettre du Neurologue 2002 Tome 6 n°7 p247-250
- [8] Parent I. Epidémiologie des Méningites Aiguës en France. InVS 11 avril 2012
- [9] Points sur les infections à entérovirus. InVS 20 juin 2017
- [10] Points sur les infections à entérovirus. InVS 20 juin 2016
- [11] Bégué P et Astruc J. Pathologie infectieuse de l'enfant. Masson edit. Paris 1999,243-247
- [12] Investigation of Viral Encephalitis and Meningitis. UK Standards for Microbiology Investigations. Clinical Guidance G4 Issue n°2.3 March 2014
- [13] Smith SD, Gemmill I. Mumps : resurgence of a vanquished virus. Case Report. Can Fam Physician 2011 Jul;57(7):786-790

- [14] Wootton SH, Aguilera E, Hasbun R et al. Enhancing pathogen identification in patients with meningitis and a negative Gram stain using the BioFire® FilmArray Meningitis/Encephalitis panel. *Ann Clin Microbiol Antimicrob.* 2016 Apr;21;15:26
- [15] Ibrahim W, Elzouki AN, Osman L et al. Varicella Zoster Aseptic Meningitis: Report of an Atypical Case and Literature Review. *Am J Case Rep* 2015 Sep 4;16:594-7
- [16] Maladies à prévention vaccinale : Varicelle. *InVS* Avril 2009
- [17] Echevarria JM, Casas I, Martinez-Martin P et al. Detection of varicella-zoster virus-specific DNA sequences in cerebrospinal fluid from patients with acute aseptic meningitis and no cutaneous lesions. *J Med Virol* 1994 Aug;43(4):331-5
- [18] Venkatesan A, Tunkel AR, Glaser CA et al. Case Definitions, Diagnostic Algorithms, and Priorities in Encephalitis: Consensus Statement of the International Encephalitis Consortium. *Clin Infect Dis* 2013 Oct;57(8):1114-28
- [19] Stahl JP, Azouvi P, Tattevin P et al. Guidelines on the management of infectious encephalitis in adults. *Med Mal Infect* 2017 May;47(3):179-194
- [20] Boucher A, Herrmann JL, Mailles A et al. Epidemiology of infectious encephalitis causes in 2016. *Med Mal Infect* 2017 May;47(3):221-235
- [21] Mailles A, Stahl JP. Infectious Encephalitis in France in 2007 : A National Prospective Study. *Clin Infect Dis* 2009 Dec 15;49(12):1838-47
- [22] Tunkal AR, Glaser CA, Whitley J et al. The Management of Encephalitis: Clinical Practice Guidelines by the Infectious Diseases Society of America. *Clin Infect Dis* 2008 Aug 1;47(3):303-27
- [23] De Broucker T, Mailles A, Stahl JP et al. Acute varicella zoster encephalitis without evidence of primary vasculopathy in a case-series of imager 20 patients. *Clin Microbiol Infect* 2012 Aug;18(8):808-19

- [24]** Encéphalites aiguës infectieuses de l'adultes. Recommandations SPILF 7 avril 2017
- [25]** Becerra JC, Sieber R, Bernasconi E et al. Infection of the central nervous system caused by varicella zoster virus reactivation: a retrospective case series study. *Int J Infect Dis* 2013 Jul;17(7):e529-34
- [26]** Fillet A, Sénéchal B, Cordonnier C et al. Infection à Cytomégalo­virus. *Hématologie* 2000;6(1):46-65
- [27]** Silva CA, Oliveira AC, Vidal JE et al. Neurologic Cytomegalovirus Complications in Patients with AIDS: Retrospective Review of 13 cases and Review of the Literature. *Rev Inst Med Trop Sao Paulo* 2010 Nov-Dec;52(6):305-10
- [28]** Bazeries P, Mellerio C, Plat M. Neuro-imagerie des infections opportunistes du système nerveux central chez les sujets VIH. Présentation service d'imagerie CH du Mans, et CH Saint-Anne (Paris) 2013
- [29]** Follet-Bouhamed C, Nassimi A, Oriot D et al. Une cause d'encéphalite aiguë: la primo­infection à virus d'Epstein-Barr. *Arch Pediatr* 1999 Mar;6(3):286–289
- [30]** Weinberg A, Bloch KC, Tyler KL et al. Dual Infections of the Central Nervous System with Epstein Barr Virus. *J Infect Dis* 2005 Jan 15;191(2):234-7
- [31]** Stahl JP, Pavese P, Brion JP. Infections aiguës graves à Epstein-Barr. *Reanimation* 14;(2005):245-247
- [32]** Muta T, Fukuda T, Harada M. Human herpesvirus-6 encephalitis in hematopoietic SCT recipients in Japan: a retrospective multicenter study. *Bone Marrow Transplant* 2009 Apr;43(7):583-5
- [33]** Ogata M, Satou T, Fukuda T et al. Human Herpesvirus 6 (HHV-6) Reactivation and HHV-6 Encephalitis After Allogeneic Hematopoietic Cell Transplantation: A Multicenter, Prospective Study. *Clin Infect Dis* 2013 Sep;57(5):671-81

- [34]** Trempe F, Morissette G, Flamand L et al. L'Herpèsvirus humain de type 6 et l'intégration chromosomique : conséquences biologiques et médicales associées. *Virologie* 2011 Nov-Dec;15(6):381-93
- [35]** De Broucker T. Atteintes neurologiques au cours de l'infection par le VIH chez l'adulte. *La Lettre du Neurologue* 2010 Tome 14 n°10 p328-338
- [36]** Bhaskaran K, Mussini C, Porter K et al. Changes in the incidence and predictors of human immunodeficiency virus-associated dementia in the era of highly active antiretroviral therapy. *Ann Neurol* 2008 Feb;63(2):213-21
- [37]** McCullers JA, Facchini S, Webster RG et al. Influenza B virus encephalitis. *Clin Infect Dis* 1999 Apr ;28(4) :898-900
- [38]** Encéphalites à Influenza, Japon, 2009. *InVS* 30 novembre 2009
- [39]** Morishima T, Togashi T, Okabe N et al. Encephalitis and Encephalopathy associated with an Influenza Epidemic in Japan. *Clin Infect Dis* 2002 Sep 1;35(5):512-7
- [40]** Neurologic Complications Associated with Novel Influenza A (H1N1) Virus Infection in Children – Dallas, Texas, May 2009. *MMWR Weekly* July 24, 2009/58(28);773-778
- [41]** Dina J, Freymuth F, Vabret A. La rougeole, une infection virale qui doit rester sous contrôle. *Feuillets de Biologie* 2013 Sep;54(314):5-13
- [42]** Baldolli A, Dargère S, Verdon R et al. Measles inclusion-body encephalitis (MIBE) in a immunocompromised patient. *Journal of Clinical Virology* 2016 Aug;81:43-46
- [43]** Freeman AF, Jacobsohn DA, Duerst RE et al. A new complication of stem cell transplantation: measles inclusion body encephalitis. *Pediatrics* 2004 Nov;114(5):e657-60
- [44]** Rubéole. Aide-Mémoire n°367, Mars 2017. OMS
- [45]** Bricout F, Grimpel E. *Guide de Virologie Médicale*. Edit Ellipses 1998

- [46]** Grangeot-Keros L, Vauloup-Felloups C. Rubéole. EMC - Maladies Infectieuses 2013;10(2):1-9 [Article 8-050-H-10]
- [47]** Kuroda Y, Matsui M. Progressive Rubella Pancencephalitis. Jap J Clin Med 1997 Apr;55(4) :922-5
- [48]** Abed Y, Boivin G. Human Parechovirus Infections in Canada. Emerg Infect Dis 2006 Jun;12(6):969-975
- [49]** Abed Y, Wolf D, Boivin G et al. Development of a Serological Assay Based on a Synthetic Peptide Selected from the VP0 Capsid Protein for Detection of Human Parechoviruses. J Clin Microbiol 2007 Jun;45(6):2037-2039
- [50]** Legay V, Chomel JJ, Khalfan S et al. Encephalomyelitis due to human parechovirus type 1. J Clin Virol 2002 Aug;25(2):193-5
- [51]** Britton PN, Dale RC, Jones CA et al. Parechovirus Encephalitis and Neurodevelopmental Outcomes. Pediatrics 2016 Feb;137(2):e20152848
- [52]** La Rage. Institut Pasteur Mars 2017. <https://www.pasteur.fr/fr/centre-medical/fiches-maladies/rage>
- [53]** Jane E. Brody. Boy, 6 May be First Victim of Rabies to Survive. The New York Times Archives 22 Décembre 1970
- [54]** Vaccination contre la rage et prophylaxie post-exposition. Recommandations. Haut Conseil de la Santé Publique. 22 Février 2013
- [55]** Boussioux C, Rousseau C, Legoff J et al. Comparison of FilmArray® Meningitis/Encephalitis (ME) Panel assay and conventionnal techniques on the TurnAround Time of cerebrospinal fluid microbiological testing. ECCMID 9-12 April 2016

- [56]** Gheuens S, Pierone G, Koralnik IJ et al. Progressive multifocal leukoencephalopathy in individuals with minimal or occult immunosuppression. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 2010 Mar;81(3):247-54
- [57]** Havez M, Bocquet J, Dousser V et al. Caractéristiques IRM de la Leucoencéphalite Multifocale Progressive : Revue de 11 cas. Service de neuro-imagerie diagnostique et thérapeutique, 2010. CHU Pellegrin, Bordeaux
- [58]** Brunot S. Leucoencéphalopathie multifocale progressive chez un patient immunocompétent. *La Lettre du Neurologue* 2011 Tome 15 n° 6 p226-228
- [59]** Aubry P, Gauzère BA. Maladies transmises à l'homme par les tiques. *Médecine Tropicale*, 18 décembre 2016
- [60]** Relevé épidémiologique hebdomadaire de l'OMS. 2011 Jun;84(24):241-256
- [61]** Lunt T, Slechta S, Hemmert AC et al. Comparison in Enterovirus Detection in Cerebrospinal Fluid Patient Samples with the FilmArray® Meningitis/Encephalitis System, Cepheid® Gene Xpert® EV, and ARUP® Laboratory Developed Test. Presented at the ASM General Meeting, May 2015
- [62]** Aubry P, Gauzère BA. Encéphalite japonaise, Actualités 2015. *Médecine Tropicale*, 5 mars 2016
- [63]** Aubry P, Gauzère BA. Arboviroses tropicales, Actualités 2016. *Médecine Tropicale*, 15 décembre 2016
- [64]** Zika. Institut Pasteur Avril 2016. <https://www.pasteur.fr/fr/centre-medical/fiches-maladies/zika>
- [65]** Carteaux G, Maquart M, Mekontso Dessap A et al. Zika Virus Associated with Meningoencephalitis. *N Eng J Med* 2016 Apr 21;374(16):1595-6

- [66]** Soares CN, Brasil P, Solomon T et al. Fatal encephalitis associated with Zika virus infection in an adult. *J Clin Virol* 2016 Oct;83:63-5
- [67]** Dengue. Institut Pasteur Juillet 2014. <https://www.pasteur.fr/fr/centre-medical/fiches-maladies/dengue>
- [68]** Srey VH, Sadones H, Reynes JM et al. Etiology of encephalitis syndrome among hospitalized children and adults in Takeo, Cambodia, 1999-2000. *Am J Trop Med Hyg* 2002 Feb;66(2):200-7
- [69]** Tassara MP, Guilarde AO, Martelli CMT et al. Neurological manifestations of dengue in Central Brazil. *Rev Soc Bras Med Trop* 2017 May-Jun;50(3):379-382
- [70]** Demogines A, Fouch S, Bourzac KM et al. Multi-Center Clinical Evaluation of a Multiplex Meningitis/Encephalitis PCR Panel for Simultaneous Detection of Bacteria, Yeast, and Viruses in Cerebrospinal Fluid Specimens. Presented at the ASM General Meeting, May 2015
- [71]** Doudier B, Ninove L, Brouqui P et al. Présentation inhabituelle d'une encéphalite à *Toscana* dans le sud de la France. *Med Mal Infect* 2011 Jan;41(1):50-1
- [72]** Bartels S, De Boni L, Heckmann JG et al. Lethal encephalitis caused by the Toscana virus in an elderly patient. *J Neurol* 2012 Jan;259(1):175-177
- [73]** Papa A, Paraforou T, Koukoubani T et al. Severe encephalitis caused by Toscana Virus, Greece. *Emerg Infect Dis* 2014 Aug;20(8):1417-1419
- [74]** Howell BA, Azar MM, Shaw AC et al. Toscana virus encephalitis in a traveler returning to the United State. *J Clin Microbiol* 2015 Apr;53(4):1445-1447
- [75]** Osborne JC, Khatamzas E, Breen DP et al. Toscana virus encephalitis following a holiday in Sicily. *Pract Neurol* 2016 Apr;16(2):139-141

- [76]** Bowman H, Amiott E, Kanack K et al. Evaluation of a Multiplex PCR Panel for the Rapid Detection of Viral, Bacterial and Fungal Pathogens in Cerebrospinal Fluid. Presented at the ASM General Meeting, May 2015
- [77]** Sonnevile R, Wolff M. Encéphalomyélite aiguë disséminée et encéphalites post-infectieuses graves. *Réanimation* 2007 Sep;16:452-462
- [78]** Sonnevile R, Klein I, Wolff M et al. Post-infectious encephalitis in adults : Diagnosis and management. *J Infect* 2009 May;58(5):321-8
- [79]** Willison HJ, Jacobs BC, van Doorn PA et al. Guillain-Barré syndrome. *Lancet* 2016 Aug 13;388(10045):717-27
- [80]** Liou LS, Chung CH, Chang CY et al. Epidemiology and prognostic factors of inpatient mortality of Guillain-Barré syndrome: A nationwide population study over 14 years in Asian country. *J Neurol Sci* 2016 Oct 15;369:159-64
- [81]** Orlikowski D, Sharshar T. Polyradiculonévrite aiguë: le syndrome de Guillain-Barré, diagnostic et traitements. *Médecine thérapeutique* 2011;17(1):3-10
- [82]** Orlikowski D, Porcher R, Gault E et al. Guillain-Barré syndrome following primary cytomegalovirus infection: a prospective cohort study. *Clin Infect Dis* 2011 Apr 1;52(7):837-44
- [83]** Gault E, Sivadon-Tardy V, Gaillard JL et al. Agents infectieux et syndrome de Guillain-Barré. *La Lettre de l'Infectiologue* 2011 Tome 26 n°6 p222-229
- [84]** Tam CC, O'Brien SJ, Rodrigues LC et al. Guillain-Barré syndrome and preceding infection with Campylobacter, influenza and Epstein-Barr virus in the general practice research database. *PLoS One* 2007 Apr 4;2(4):e344
- [85]** Tam CC, O'Brien SJ, Rodrigues LC. Influenza, Campylobacter and Mycoplasma infections, and hospital admissions for Guillain-Barré syndrome, England. *Emerg Infect Dis* 2006 Dec;12(12):1880-7

- [86]** CDC. Preliminary results: surveillance for Guillain-Barré syndrome after receipt of influenza A (H1N1) 2009 monovalent vaccine - United States, 2009-2010. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep* 2010 Jun 4;59(21):657-61
- [87]** Dub T, Fontanet A. Zika virus and Guillain-Barré syndrome. *Rev Neurol (Paris)* 2017 Jun;173(6):361-363
- [88]** Cerny T, Schwarz M, Keller E et al. The Range of Neurological Complications in Chikungunya Fever. *Neurocrit Care* 2017 May 25
- [89]** Balavoine S, Pircher M, Schepers K et al. Guillain-Barré Syndrome and Chikungunya: Description of All Cases Diagnosed during the 2014 Outbreak in the French West Indies. *Am J Trop Med Hyg* 2017 Aug;97(2):356-360
- [90]** Fournier A, Martin-Blondel G, de la Blanchardière A et al. Immune Reconstitution Inflammatory Syndrome Unmasking or Worsening AIDS-Related Progressive Multifocal Leukoencephalopathy : a Literature Review. *Front Immunol* 2017 May 23;8:577
- [91]** Mihai C, Jubelt B. Infectious Myelitis. *Curr Neurol Neurosci Rep* 2012 Dec;12(6):633-41
- [92]** Relevé épidémiologique hebdomadaire de l'OMS. 2017 Apr;92(14):165-180
- [93]** Peigue-Lafeuille H, Mirand A, Henquell C et al. Emergence et réémergence chez les entérovirus : de la poliomyélite à la maladie pieds-mains-bouche. *Virologie* 2014,18(2):87-104
- [94]** Yip CC, Lau S, Yuen KY. Human enterovirus 71 epidemics : what's next ? *Emerg Health Threats J.* 2013 Sep 10;6:19780
- [95]** Farès W, Rezig D, Triki H et al. Variabilité génétique des echovirus de type 3. *Ann Biol Clin* 2012;70(2):189-89
- [96]** Grimwood K, Huang QS, Pallansch MA et al. Acute Flaccid Paralysis from Echovirus Type 33 Infection. *J Clin Microbiol* 2003 May;41(5):2230-2

- [97]** Kesson AM, Choo CM, Roberts JA et al. Echovirus 19 associated with a case of acute flaccid paralysis. *J Paediatr Child Health* 2013 Mar;49(3):E239-42
- [98]** Rao CD, Yergolkan P, Shankarappa KS. Antigenic diversity of enteroviruses associated with nonpolio acute flaccid paralysis, India, 2007-2009. *Emerg Infect Dis* 2012 Nov;18(11):1833-40
- [99]** Bogovic P, Strle F. Tick-borne encephalitis: A review of epidemiology, clinical characteristics, and management. *World J Clin Cases* 2015 May 16;3(5):430-41
- [100]** Rodhain F. Encéphalite japonaise: une maladie virale en pleine évolution. *Bull Soc Pathol Exot* 2010;103(3):135-154
- [101]** Nash D, Mostashari F, Layton M et al. The outbreak of West Nile virus infection in the New York City area in 1999. *N Engl J Med* 2001 Jun 14;344(2):1807-14
- [102]** HTLV-1. Institut Pasteur, Novembre 2012. <https://www.pasteur.fr/fr/centre-medical/fiches-maladies/hltv-i>
- [103]** Aubry P, Gaüzère BA, Hoarau G. Infections par HTLV-1. *Actualités 2016. Médecine Tropicales* 19 Décembre 2016
- [104]** Jubelt B, Mihai C, Veerapaneni P et al. Rhombencephalitis/Brainstem Encephalitis. *Curr Neurol Neurosci Rep* 2011 Dec ;11(6):543-52
- [105]** Moragas M, Martinez-Yelamos S, Arbizu T et al. Rhombencephalitis. A Series of 97 Patients. *Medicine (Baltimore)* 2011 Jul;90(4):256-61
- [106]** Vallet S, Legrand-Quillien MC, Marcorelles P et al. Fatal Case of Enterovirus 71 Infection, France, 2007. *Emerg Infect Dis* 2009 Nov;15(11):1837-40
- [107]** Livorsi D, Anderson E, Franco-Paredes C et al. Brainstem encephalitis: an unusual presentation of herpes simplex virus infection. *J Neurol* 2010 Sep;257(9):1432-7
- [108]** Crawford JR, Kadom N, Lavenstein BL et al. Human Herpesvirus 6 Rhombencephalitis in Immunocompetent Children. *J Child Neurol* 2007 Nov;22(11):1260-8

- [109]** Rhein J, Bahr NC, Boulware D et al. Diagnostic performance of a multiplex PCR assay for meningitis in an HIV-infected population in Uganda. *Diagn Microbiol Infect Dis*. 2016 Mar;84(3):268-73
- [110]** Shin SY, Kwon KC, Koo SH et al. Evaluation of the Seeplex[®] Meningitis ACE Detection Kit for the Detection of 12 Common Bacterial and Viral Pathogens of Acute Meningitis. *Ann Lab Med* 2012 Jan;32(1):44-49
- [111]** Wolffs PF, Vink C, van den Brule AJ et al. Evaluation of MeningoFinder, a Novel Multiplex Ligation-Dependant Probe Amplification Assay for Simultaneous Detection of Six Virus Species Causing Central Nervous System Infections. *J Clin Microbiol* 2009 Aug;47(8):2620-2
- [112]** Leber AL, Everhart K, Bourzac KM et al. Multicenter Evaluation of BioFire FilmArray Meningitis/Encephalitis Panel for Detection of Bacteria, Viruses, and Yeast in Cerebrospinal Fluid Specimens. *J Clin Microbiol* 2016 Sep;54(9):2251-61
- [113]** Verstrepen WA, Kuhn S, Merthens H et al. Rapid Detection of Enterovirus RNA in Cerebrospinal Fluid Specimens with a Novel Single-Tube Real-Time Reverse Transcription-PCR Assay. *J Clin Microbiol* 2001 Nov;39(11):4093-6
- [114]** Gautheret-Dejean A, Manichanh C, Agut H et al. Development of a real-time polymerase chain reaction assay for the diagnosis of human herpesvirus-6 infection and application to bone marrow transplant patients. *J Virol Methods* 2002 Feb;100(1-2):27-35
- [115]** Hübschen JM, Kremet JR, Muller CP et al. A multiplex TaqMan PCR assay for the detection of measles and rubella virus. *J Virol Methods* 2008 May;149(2):246-50
- [116]** Rota JS, Rosen JB, Bellini WJ et al. Comparison of the Sensitivity of Laboratory Diagnostic Methods from a Well-Characterized Outbreak of Mumps in New York City in 2009. *Clin Vaccine Immunol* 2013 Mar;20(3):391-6

- [117]** Reiber H, Peter JB. Cerebrospinal fluid analysis : disease-related data patterns and evaluation programs. *J Neurol Sci* 2001 Mar 1;184(2):101-22
- [118]** Ameziane N, Bogard M, Lamoril J. Principes de biologie moléculaire en biologie clinique. Edit Elsevier 2006 p239
- [119]** Reyes-Andrade J, Sanchez-Cespedes J, Neth O et al. Meningoencephalitis due to adenovirus in a healthy infant mimicking severe bacterial sepsis. *Pediatr Infect Dis J* 2014 Apr;33(4):416-9
- [120]** Gaschignard J, Levy C, Boileau P et al. Neonatal Bacterial Meningitis: 444 Cases in 7 Years. *Pediatr Infect Dis J* 2011 Mar;30(3):212-7
- [121]** Direction générale de la santé, Comité technique des vaccinations. *Guide des vaccinations. Edition 2008*. Saint-Denis, coll. Varia, 2008 : 448p
- [122]** N Jourdan da Silva et al. Infections néonatales à streptocoque B en France : données d'incidence de 1997 à 2006 et pratiques de prévention en maternité. *BEH* 2008-14/15
- [123]** Cryptococcose. Institut Pasteur, Janvier 2013 <https://www.pasteur.fr/fr/centre-medical/fiches-maladies/cryptococcose>

VU, LE PRESIDENT DU JURY

CAEN, LE

VU, LE DIRECTEUR DE L'UFR

CAEN, LE

L'université n'entend donner aucune approbation ni improbation aux opinions émises dans les thèses et mémoires. Ces opinions doivent être considérées comme propres à leurs auteurs.