

UNIVERSITÉ TOULOUSE III – PAUL SABATIER
FACULTÉS DE MÉDECINE

ANNÉE 2015

2015 TOU3 1594

THÈSE

POUR LE DIPLÔME D'ÉTAT DE DOCTEUR EN MÉDECINE
MÉDECINE SPÉCIALISÉE CLINIQUE

Présentée et soutenue publiquement

par

Pauline GENIEYS

le 08 octobre 2015

**Evaluation de la validité de la PCR en temps réel (test Gene
Xpert®) pour le diagnostic rapide des méningites nosocomiales à
germes résistants à la méticilline**

Directeur de thèse : Dr Nicolas MAYEUR

JURY

Monsieur le Professeur Olivier FOURCADE	Président
Monsieur le Professeur Thomas GEERAERTS	Assesseur
Monsieur le Professeur Jean-Christophe SOL	Assesseur
Madame le Docteur Marion GRARE	Assesseur
Monsieur le Docteur Nicolas MAYEUR	Suppléant



UNIVERSITÉ TOULOUSE III – PAUL SABATIER
FACULTÉS DE MÉDECINE

ANNÉE 2015

2015 TOU3 1594

THÈSE

POUR LE DIPLÔME D'ÉTAT DE DOCTEUR EN MÉDECINE
MÉDECINE SPÉCIALISÉE CLINIQUE

Présentée et soutenue publiquement

par

Pauline GENIEYS

le 08 octobre 2015

**Evaluation de la validité de la PCR en temps réel (test Gene
Xpert®) pour le diagnostic rapide des méningites nosocomiales à
germes résistants à la méticilline**

Directeur de thèse : Dr Nicolas MAYEUR

JURY

Monsieur le Professeur Olivier FOURCADE	Président
Monsieur le Professeur Thomas GEERAERTS	Assesseur
Monsieur le Professeur Jean-Christophe SOL	Assesseur
Madame le Docteur Marion GRARE	Assesseur
Monsieur le Docteur Nicolas MAYEUR	Suppléant



TABLEAU du PERSONNEL HU
des Facultés de Médecine de l'Université Paul Sabatier
au 1^{er} septembre 2014

Professeurs Honoraires

Doyen Honoraire	M. ROUGE D.	Professeur Honoraire	M. SALVADOR M.
Doyen Honoraire	M. LAZORTHES Y.	Professeur Honoraire	M. BAYARD
Doyen Honoraire	M. CHAP H.	Professeur Honoraire	M. LEOPHONTE
Doyen Honoraire	M. GUIRAUD-CHAUMEIL B	Professeur Honoraire	M. FABIÉ
Professeur Honoraire	M. COMMANAY	Professeur Honoraire	M. BARTHE
Professeur Honoraire	M. CLAUX	Professeur Honoraire	M. CABARROT
Professeur Honoraire	M. ESCHAPASSE	Professeur Honoraire	M. DUFFAUT
Professeur Honoraire	Mme ENJALBERT	Professeur Honoraire	M. ESCAT
Professeur Honoraire	M. GEDEON	Professeur Honoraire	M. ESCANDE
Professeur Honoraire	M. PASQUIE	Professeur Honoraire	M. PRIS
Professeur Honoraire	M. RIBAUT	Professeur Honoraire	M. CATHALA
Professeur Honoraire	M. ARLET J.	Professeur Honoraire	M. BAZEX
Professeur Honoraire	M. RIBET	Professeur Honoraire	M. VIRENQUE
Professeur Honoraire	M. MONROZIES	Professeur Honoraire	M. CARLES
Professeur Honoraire	M. DALOUS	Professeur Honoraire	M. BONAFÉ
Professeur Honoraire	M. DUPRE	Professeur Honoraire	M. VAYSSE
Professeur Honoraire	M. FABRE J.	Professeur Honoraire	M. ESQUERRE
Professeur Honoraire	M. DUCOS	Professeur Honoraire	M. GUITARD
Professeur Honoraire	M. GALINIER	Professeur Honoraire	M. LAZORTHES F.
Professeur Honoraire	M. LACOMME	Professeur Honoraire	M. ROQUE-LATRILLE
Professeur Honoraire	M. BASTIDE	Professeur Honoraire	M. CERENE
Professeur Honoraire	M. COTONAT	Professeur Honoraire	M. FOURNIAL
Professeur Honoraire	M. DAVID	Professeur Honoraire	M. HOFF
Professeur Honoraire	Mme DIDIER	Professeur Honoraire	M. REME
Professeur Honoraire	M. GAUBERT	Professeur Honoraire	M. FAUVEL
Professeur Honoraire	Mme LARENG M.B.	Professeur Honoraire	M. FREXINOS
Professeur Honoraire	M. BES	Professeur Honoraire	M. CARRIERE
Professeur Honoraire	M. BERNADET	Professeur Honoraire	M. MANSAT M.
Professeur Honoraire	M. GARRIGUES	Professeur Honoraire	M. BARRET
Professeur Honoraire	M. REGNIER	Professeur Honoraire	M. ROLLAND
Professeur Honoraire	M. COMBELLES	Professeur Honoraire	M. THOUVENOT
Professeur Honoraire	M. REGIS	Professeur Honoraire	M. CAHUZAC
Professeur Honoraire	M. ARBUS	Professeur Honoraire	M. DELSOL
Professeur Honoraire	M. PUJOL	Professeur Honoraire	M. ABBAL
Professeur Honoraire	M. ROCHICCIOLI	Professeur Honoraire	M. DURAND
Professeur Honoraire	M. RUMEAU	Professeur Honoraire	M. DALY-SCHVEITZER
Professeur Honoraire	M. BESOMBES	Professeur Honoraire	M. RAILHAC
Professeur Honoraire	M. GUIRAUD	Professeur Honoraire	M. POURRAT
Professeur Honoraire	M. SUC	Professeur Honoraire	M. QUERLEU D.
Professeur Honoraire	M. VALDIGUIE	Professeur Honoraire	M. ARNE JL
Professeur Honoraire	M. BOUNHOURE	Professeur Honoraire	M. ESCOURROU J.
Professeur Honoraire	M. PONTONNIER	Professeur Honoraire	M. FOURTANIER G.
Professeur Honoraire	M. CARTON	Professeur Honoraire	M. LAGARRIGUE J.
Professeur Honoraire	Mme PUEL J.	Professeur Honoraire	M. PESSEY JJ.
Professeur Honoraire	M. GOUZI		
Professeur Honoraire associé	M. DUTAU		
Professeur Honoraire	M. PONTONNIER		
Professeur Honoraire	M. PASCAL		

Professeurs Émérites

Professeur LARROUY	Professeur JL. ADER
Professeur ALBAREDE	Professeur Y. LAZORTHES
Professeur CONTÉ	Professeur L. LARENG
Professeur MURAT	Professeur F. JOFFRE
Professeur MANELFE	Professeur J. CORBERAND
Professeur LOUVET	Professeur B. BONEU
Professeur SARRAMON	Professeur H. DABERNAT
Professeur CARATERO	Professeur M. BOCCALON
Professeur GUIRAUD-CHAUMEIL	Professeur B. MAZIERES
Professeur COSTAGLIOLA	Professeur E. ARLET-SUAU
	Professeur J. SIMON

P.U. - P.H. Classe Exceptionnelle et 1ère classe		P.U. - P.H. 2ème classe	
M. ADOUE D.	Médecine Interne, Gériatrie	Mme BEYNE-RAUZY O.	Médecine Interne
M. AMAR J.	Thérapeutique	M. BIRMES Ph.	Psychiatrie
M. ATTAL M. (C.E)	Hématologie	M. BROUCHET L.	Chirurgie thoracique et cardio-vascul
M. AVET-LOISEAU H	Hématologie, transfusion	M. BUREAU Ch	Hépatogastro-entéro
M. BLANCHER A.	Immunologie (option Biologique)	M. CALVAS P.	Génétique
M. BONNEVIALLE P.	Chirurgie Orthopédique et Traumatologie.	M. CARRERE N.	Chirurgie Générale
M. BOSSAVY J.P.	Chirurgie Vasculaire	Mme CASPER Ch.	Pédiatrie
M. BRASSAT D.	Neurologie	M. CHAIX Y.	Pédiatrie
M. BROUSSET P. (C.E)	Anatomie pathologique	Mme CHARPENTIER S.	Thérapeutique, méd. d'urgence, addict
M. BUGAT R. (C.E)	<i>Cancérologie</i>	M. COGNARD C.	Neuroradiologie
M. CARRIE D.	Cardiologie	M. DE BOISSEZON X.	Médecine Physique et Réadapt Fonct.
M. CHAP H. (C.E)	Biochimie	M. FOURNIE B.	Rhumatologie
M. CHAUVEAU D.	Néphrologie	M. FOURNIÉ P.	Ophthalmologie
M. CHOLLET F. (C.E)	Neurologie	M. GAME X.	Urologie
M. CLANET M. (C.E)	Neurologie	M. GEERAERTS T.	Anesthésiologie et réanimation chir.
M. DAHAN M. (C.E)	Chirurgie Thoracique et Cardiaque	Mme GENESTAL M.	Réanimation Médicale
M. DEGUINE O.	O. R. L.	M. LAROCHE M.	Rhumatologie
M. DUCOMMUN B.	Cancérologie	M. LAUWERS F.	Anatomie
M. FERRIERES J.	Epidémiologie, Santé Publique	M. LEOBON B.	Chirurgie Thoracique et Cardiaque
M. FOURCADE O.	Anesthésiologie	M. MAZIERES J.	Pneumologie
M. FRAYSSE B. (C.E)	O.R.L.	M. MOLINIER L.	Epidémiologie, Santé Publique
M. IZOPET J. (C.E)	Bactériologie-Virologie	M. OLIVOT J-M	Neurologie
Mme LAMANT L.	Anatomie Pathologique	M. PARANT O.	Gynécologie Obstétrique
M. LANG T.	Biostatistique Informatique Médicale	M. PARIENTE J.	Neurologie
M. LANGIN D.	Nutrition	M. PATHAK A.	Pharmacologie
M. LAUQUE D. (C.E)	Médecine Interne	M. PAUL C.	Dermatologie
M. LIBLAU R. (C.E)	Immunologie	M. PAYOUX P.	Biophysique
M. MAGNAVAL J.F.	Parasitologie	M. PAYRASTRE B.	Hématologie
M. MALAVAUD B.	Urologie	M. PORTIER G.	Chirurgie Digestive
M. MANSAT P.	Chirurgie Orthopédique	M. PERON J.M.	Hépatogastro-entérologie
M. MARCHOU B.	Maladies Infectieuses	M. RONCALLI J.	Cardiologie
M. MONROZIES X.	Gynécologie Obstétrique	M. SANS N.	Radiologie
M. MONTASTRUC J.L. (C.E)	Pharmacologie	Mme SAVAGNER F.	Biochimie et biologie moléculaire
M. MOSCOVICI J.	Anatomie et Chirurgie Pédiatrique	Mme SELVES J.	Anatomie et cytologie pathologiques
Mme MOYAL E.	Cancérologie	M. SOL J-Ch.	Neurochirurgie
Mme NOURHASHEMI F.	Gériatrie		
M. OLIVES J.P. (C.E)	Pédiatrie		
M. OSWALD E.	Bactériologie-Virologie		
M. PARINAUD J.	Biol. Du Dévelop. et de la Reprod.		
M. PERRET B (C.E)	Biochimie		
M. PRADERE B. (C.E)	Chirurgie générale		
M. RASCOL O.	Pharmacologie	P.U.	
M. RECHER Ch.	Hématologie	M. OUSTRIC S.	Médecine Générale
M. RISCHMANN P. (C.E)	Urologie		
M. RIVIERE D. (C.E)	Physiologie		
M. SALES DE GAUZY J.	Chirurgie Infantile		
M. SALLES J.P.	Pédiatrie		
M. SERRE G. (C.E)	Biologie Cellulaire		
M. TELMON N.	Médecine Légale		
M. VINEL J.P. (C.E)	Hépatogastro-entérologie		

P.U. - P.H. Classe Exceptionnelle et 1ère classe		P.U. - P.H. 2ème classe	
M. ACAR Ph.	Pédiatrie	M. ACCADBLE F.	Chirurgie Infantile
M. ALRIC L.	Médecine Interne	Mme ANDRIEU S.	Epidémiologie
M. ARLET Ph. (C.E)	Médecine Interne	M. ARBUS Ch.	Psychiatrie
M. ARNAL J.F.	Physiologie	M. BERRY A.	Parasitologie
Mme BERRY I.	Biophysique	M. BONNEVILLE F.	Radiologie
M. BOUTAULT F. (C.E)	Stomatologie et Chirurgie Maxillo-Faciale	M. BUJAN L.	Uro-Andrologie
M. BUSCAIL L.	Hépto-Gastro-Entérologie	Mme BURA-RIVIERE A.	Médecine Vasculaire
M. CANTAGREL A.	Rhumatologie	M. CHAYNES P.	Anatomie
M. CARON Ph. (C.E)	Endocrinologie	M. CHAUFOUR X.	Chirurgie Vasculaire
M. CHAMONTIN B. (C.E)	Thérapeutique	M. CONSTANTIN A.	Rhumatologie
M. CHAVOIN J.P. (C.E)	Chirurgie Plastique et Reconstructive	M. DELOBEL P.	Maladies Infectieuses
M. CHIRON Ph.	Chirurgie Orthopédique et Traumatologie	Mme DULY-BOUHANICK B.	Thérapeutique
Mme COURTADE SAIDI M.	Histologie Embryologie	M. COURBON	Biophysique
M. DELABESSE E.	Hématologie	M. DAMBRIN C.	Chirurgie Thoracique et Cardiovasculaire
Mme DELISLE M.B. (C.E)	Anatomie Pathologie	M. DECRAMER S.	Pédiatrie
M. DIDIER A.	Pneumologie	M. DELORD JP.	Cancérologie
M. ELBAZ M.	Cardiologie	M. GALINIER Ph.	Chirurgie Infantile
M. GALINIER M.	Cardiologie	M. GARRIDO-STÖWHAS I.	Chirurgie Plastique
M. GERAUD G.	Neurologie	Mme GOMEZ-BROUCHET A.	Anatomie Pathologique
M. GLOCK Y.	Chirurgie Cardio-Vasculaire	M. GROLLEAU RAOUX J.L.	Chirurgie plastique
M. GOURDY P.	Endocrinologie	Mme GUIMBAUD R.	Cancérologie
M. GRAND A. (C.E)	Epidémi. Eco. de la Santé et Prévention	M. HUYGHE E.	Urologie
Mme HANAIRE H. (C.E)	Endocrinologie	M. LAFOSSE JM.	Chirurgie Orthopédique et Traumatologie
M. KAMAR N.	Néphrologie	M. LEGUEVAQUE P.	Chirurgie Générale et Gynécologique
M. LARRUE V.	Neurologie	M. MARCHEIX B.	Chirurgie thoracique et cardiovasculaire
M. LAURENT G. (C.E)	Hématologie	M. MARQUE Ph.	Médecine Physique et Réadaptation
M. LEVADE T.	Biochimie	Mme MAZEREEUW J.	Dermatologie
M. MALECAZE F. (C.E)	Ophtalmologie	M. MINVILLE V.	Anesthésiologie Réanimation
Mme MARTY N.	Bactériologie Virologie Hygiène	M. MUSCARI F.	Chirurgie Digestive
M. MASSIP P.	Maladies Infectieuses	M. OTAL Ph.	Radiologie
M. PLANTE P.	Urologie	M. ROLLAND Y.	Gériatrie
M. RAYNAUD J-Ph.	Psychiatrie Infantile	M. ROUX F.E.	Neurochirurgie
M. RITZ P.	Nutrition	M. SAILLER L.	Médecine Interne
M. ROCHE H. (C.E)	Cancérologie	M. SOULAT J.M.	Médecine du Travail
M. ROSTAING L. (C.E).	Néphrologie	M. TACK I.	Physiologie
M. ROUGE D. (C.E)	Médecine Légale	M. VAYSSIERE Ch.	Gynécologie Obstétrique
M. ROUSSEAU H.	Radiologie	M. VERGEZ S.	O.R.L.
M. SALVAYRE R. (C.E)	Biochimie	Mme URO-COSTE E.	Anatomie Pathologique
M. SCHMITT L. (C.E)	Psychiatrie		
M. SENARD J.M.	Pharmacologie		
M. SERRANO E. (C.E)	O. R. L.		
M. SOULIE M.	Urologie		
M. SUC B.	Chirurgie Digestive		
Mme TAUBER M.T.	Pédiatrie		
M. VELLAS B. (C.E)	Gériatrie		

M.C.U. - P.H.		M.C.U. - P.H	
M. APOIL P. A	Immunologie	Mme ABRAVANEL F.	Bactério. Virologie Hygiène
Mme ARNAUD C.	Epidémiologie	M. BES J.C.	Histologie - Embryologie
M. BIETH E.	Génétique	M. CMBUS J.P.	Hématologie
Mme BONGARD V.	Epidémiologie	Mme CANTERO A.	Biochimie
Mme CASPAR BAUGUIL S.	Nutrition	Mme CARFAGNA L.	Pédiatrie
Mme CASSAING S.	Parasitologie	Mme CASSOL E.	Biophysique
Mme CONCINA D.	Anesthésie-Réanimation	Mme CAUSSE E.	Biochimie
M. CONGY N.	Immunologie	M. CHASSAING N	Génétique
Mme COURBON	Pharmacologie	Mme CLAVE D.	Bactériologie Virologie
Mme DAMASE C.	Pharmacologie	M. CLAVEL C.	Biologie Cellulaire
Mme de GLISEZENSKY I.	Physiologie	Mme COLLIN L.	Cytologie
Mme DELMAS C.	Bactériologie Virologie Hygiène	M. CORRE J.	Hématologie
Mme DE-MAS V.	Hématologie	M. DEDOUIT F.	Médecine Légale
M. DUBOIS D.	Bactériologie Virologie Hygiène	M. DELPLA P.A.	Médecine Légale
Mme DUGUET A.M.	Médecine Légale	M. DESPAS F.	Pharmacologie
M. DUPUI Ph.	Physiologie	M. EDOUARD T	Pédiatrie
Mme FILLAUX J.	Parasitologie	Mme ESQUIROL Y.	Médecine du travail
M. GANTET P.	Biophysique	Mme ESCOURROU G.	Anatomie Pathologique
Mme GENNERO I.	Biochimie	Mme GALINIER A.	Nutrition
Mme GENOUX A.	Biochimie et biologie moléculaire	Mme GARDETTE V.	Epidémiologie
M. HAMDI S.	Biochimie	M. GASQ D.	Physiologie
Mme HITZEL A.	Biophysique	Mme GRARE M.	Bactériologie Virologie Hygiène
M. IRIART X.	Parasitologie et mycologie	Mme GUILBEAU-FRUGIER C.	Anatomie Pathologique
M. JALBERT F.	Stomato et Maxillo Faciale	Mme GUYONNET S.	Nutrition
M. KIRZIN S	Chirurgie générale	Mme INGUENEAU C.	Biochimie
Mme LAPEYRE-MESTRE M.	Pharmacologie	M. LAHARRAGUE P.	Hématologie
M. LAURENT C.	Anatomie Pathologique	M. LAIREZ O.	Biophysique et médecine nucléaire
Mme LE TINNIER A.	Médecine du Travail	M. LEANDRI R.	Biologie du dével. et de la reproduction
M. LOPEZ R.	Anatomie	M. LEPAGE B.	Biostatistique
M. MONTOYA R.	Physiologie	Mme MAUPAS F.	Biochimie
Mme MOREAU M.	Physiologie	M. MIEUSSET R.	Biologie du dével. et de la reproduction
Mme NOGUEIRA M.L.	Biologie Cellulaire	Mme PERIQUET B.	Nutrition
M. PILLARD F.	Physiologie	Mme NASR N.	Neurologie
Mme PRERE M.F.	Bactériologie Virologie	Mme PRADDAUDE F.	Physiologie
Mme PUISSANT B.	Immunologie	M. RIMAILHO J.	Anatomie et Chirurgie Générale
Mme RAGAB J.	Biochimie	M. RONGIERES M.	Anatomie - Chirurgie orthopédique
Mme RAYMOND S.	Bactériologie Virologie Hygiène	Mme SOMMET A.	Pharmacologie
Mme SABOURDY F.	Biochimie	M. TKACZUK J.	Immunologie
Mme SAUNE K.	Bactériologie Virologie	M. VALLET P.	Physiologie
M. SILVA SIFONTES S.	Réanimation	Mme VEZZOSI D.	Endocrinologie
M. SOLER V.	Ophtalmologie		
M. TAFANI J.A.	Biophysique		
M. TREINER E.	Immunologie		
Mme TREMOLLIERS F.	Biologie du développement		
M. TRICOIRE J.L.	Anatomie et Chirurgie Orthopédique		
M. VINCENT C.	Biologie Cellulaire		
			M.C.U.
		M. BISMUTH S.	Médecine Générale
		Mme ROUGE-BUGAT ME	Médecine Générale
		Mme ESCOURROU B.	Médecine Générale

Maîtres de Conférences Associés de Médecine Générale

Dr STILLMUNKES A.
Dr BRILLAC Th.
Dr ABITTEBOUL Y.
Dr CHICOULAA B.

Dr BISMUTH M
Dr BOYER P.
Dr ANE S.

Remerciements

A mon jury de thèse

A Monsieur le Professeur Olivier FOURCADE,

Vous me faites l'honneur de présider ce jury et de juger mon travail. Je suis honorée d'avoir travaillé à vos côtés et bénéficié de votre pédagogie pour mes 6 derniers mois d'internat.

A Monsieur le Professeur Thomas GEERAERTS,

Je te remercie d'avoir accepté de faire partie du jury et de juger ce travail. Tu es l'initiateur de ce projet.

A Monsieur le Professeur Jean-Christophe SOL,

Je vous remercie d'avoir accepté de prendre part à mon jury de thèse et de juger ce travail. C'est une chance pour moi d'avoir le regard expert de votre discipline.

A Monsieur le Docteur Nicolas MAYEUR,

C'était un grand plaisir et une vraie chance de t'avoir comme directeur de thèse, et c'est un honneur que tu fasses partie du jury. Tu m'as soutenu et aidé à chaque étape de ce travail, sans jamais baisser les bras. Je t'en suis très reconnaissante.

A Madame le Docteur Marion GRARE,

C'est un plaisir et un honneur que tu fasses partie du jury. Un immense merci pour tout ce que tu as fait et pour ce travail en collaboration.

A ma famille

A Mes parents,

Vous m'avez toujours soutenu dans mes projets, partagé mes joies, mes peines et mes moments difficiles, je vous remercie énormément pour cela. Vous m'avez poussé à faire ma vocation et c'est grâce à vous que je suis là aujourd'hui. Ca y est c'est terminé, mais c'est aussi le début, le début d'autre chose. Merci pour votre soutien infailible, vous savez l'importance que vous avez pour moi. Je vous aime.

A Mon frère, Benoît

Parce que tu me fais le plaisir d'être à mes côtés aujourd'hui et depuis toujours. A ma belle sœur, pour la relecture de dernière minute et pour le reste. J'espère pouvoir partagé plus de moments avec vous.

A Mes Grands-Parents,

A Mamie Graldier, il paraît que je suis ton portrait, mais pour moi tu es mon exemple : ton courage et ta ténacité dans la joie ou la difficulté sont exemplaires, j'espère te ressembler.

A Papi de Cordes, tu as fondé une famille soudée et nombreuse et tu as fait face à toutes les difficultés que la vie t'a fait traverser : quelle réussite !

A Mes oncles et tantes,

A ceux qui sont là aujourd'hui et à ceux qui n'ont pas pu venir. Vous comptez pour moi.

A Mes cousins et cousines,

Pour les Aveyronnais : vous avez participer au bonheur de mon enfance, beaucoup de genets, des débuts d'architecte d'intérieur, toute une organisation ... et surtout des nouvel ans de folie !!

Pour les Tarnais : Et oui ça y est je quitte enfin le monde étudiant... j'ai failli me faire doubler mais je sais que la relève est assurée.

D'un côté comme de l'autre j'espère qu'on perpétuera nos réunions annuelles traditionnelles, même si je risque de rater les prochaines.

A mes collègues, amis et co internes

A Tous ceux qui m'ont encadré,

M'ont appris avec patience à être un bon médecin. Merci de m'avoir transmis votre savoir.

A Mes amis de fac,

A Pom et Boulette, mes fidèles amis de Fac. Résumer en quelques phrases ces années est un peu difficile mais merci d'être là, merci d'être toujours là, même à 22 000 km et même encore pendant ces dernières années un peu chargées, les années passent mais vous comptez toujours autant. Je suis heureuse de votre bonheur, et j'espère pouvoir y participer.

A Caro, Marion, Pauline : pour les soirées limougeaudes, les révisions de partiels intensives et les vacances au ski !! Je vous revois toujours avec autant de plaisir.

A Paul : Ca y est notre chemin va se séparer après 15ans. On a eu le temps de se voir grandir, évoluer et te voilà même marié, j'espère que notre amitié perdurera encore autant d'années que celles qui viennent de passer.

A Mes amis toulousains,

A ma petite Chachou, on a partagé beaucoup de moments ensemble, des doutes, des interrogations, des passions, des vacances et beaucoup d'autres choses qui se vivent mais ne s'écrivent pas. Je suis heureuse de ton bonheur aujourd'hui, ton écoute est pour moi indispensable je t'en remercie.

A ma Foinfoin : ma 2^e confidente, parce que tu es un vrai rayon de soleil, c'est un plaisir d'être à tes côtés et d'être ton ami.

A Minette, Mathou, Vaness, Juju, Marion, Oubi,: pour tout ce qu'on a partagé ensemble.

A David et Caro, on s'est vu, on s'est plu le premier jour. J'espère qu'on ne se perdra pas de vu, merci pour tous ces moments partagés ensemble.

A ma petite clairette, c'est la passion des sports de glisse qui nous a réuni, mais tu es aussi une personne aux richesses exceptionnelles, merci pour tous ces bols d'air que tu m'as fait prendre, à mon tour de t'accueillir en NC !

A tous ceux que je n'ai pas pu mentionner pour que les remerciements ne soient pas aussi longs que la thèse : Gaëlle, Céline, Juliette, Thibaut, Emilie ...

A Mes co-internes,

A toute ma promo DESAR 2010 : parce que vous êtes tous différents mais tous aussi attachants les uns que les autres. Il est loin notre premier choix de stage à l'hôtel dieu, j'ai apprécié apprendre et évoluer à vos côtés, vous allez me manquer.

Merci également à tous ceux des autres promos avec qui j'ai travaillé, partagé des semestres et particulièrement ceux qui ont bien voulu m'échanger des gardes☺.

Merci à mes petites oilles de neurochir : promis je libère l'ordi de votre bureau.

A Mes amis calédoniens,

Merci aux habitants du Pacific Arcade, vous avez contribué en grande partie à faire de ce semestre un semestre inoubliable pour moi. Merci à Celinson, Juju, Chloenson, Soso, Tonton et Tata ... j'espère avoir l'occasion de vous revoir.

A Audrey, qui est arrivé en renfort...

Merci à Charlie, Erika, Cherif, Aude de m'avoir ouvert vos portes, j'ai hâte de vous retrouver.

A Pierre, tu n'es pas là aujourd'hui mais tu as ta place dans mes pensées. Merci de m'avoir supporter dans ces moments difficiles.

A ceux avec qui j'ai eu le plaisir de travailler,

IADE, infirmière, aide soignante, manip radio ... j'ai créé avec certains d'entre vous des liens du quotidien qui le rende meilleur.

TABLE DES MATIÈRES

RESUME	12
ABREVIATIONS	13
1. INTRODUCTION	14
1.1 Contexte	14
1.2 Problématique et objectifs de l'étude	16
2. MATERIEL ET METHODES	17
2.1 Le test	17
2.2 Critères d'inclusion	17
2.3 Méthode	18
2.4 Interprétation des résultats	18
2.5 Analyse statistique	19
3. RESULTATS	20
3.1 Résultats du test	20
3.2 Discordance entre le test GenXpert® et culture bactériologique	20
3.3 Population étudiée	20
3.3.1 Caractéristiques de la population	20
3.3.2 Facteurs de risques d'infection neuro méningée	21
3.3.3 Signes cliniques	21
3.3.4 Microbiologie	22
3.3.5 Biologie standard	23
3.3.6 Prise en charge thérapeutique	24
3.3.7 Devenir	24
4. DISCUSSION	26
5. CONCLUSION	29
6. BIBLIOGRAPHIE	30
7. ANNEXES	34
Annexe 1: Epidémiologie des méningites nosocomiales de 2008 à 2013 dans les hôpitaux de Toulouse.	34
Annexe 2: Etude préliminaire : validité in vitro du test Xpert MRSA/SA SSTI sur du LCR	36

Déclaration publique d'intérêts

L'étude a été financée pour moitié par les laboratoires Cepheid® sous forme de mise à disposition gratuitement de 100 tests de PCR en temps réel. L'autre moitié a été financée par le pôle d'anesthésie réanimation des hôpitaux de Toulouse.

Les résultats et les données médicales de cette étude appartiennent au Centre Hospitalier Universitaire (CHU) de Toulouse.

RÉSUMÉ

Introduction

La méningite nosocomiale (MN) est une pathologie compliquant les chirurgies intracrâniennes. Elles impliquent en premier lieu les Staphylocoques (aureus ou blancs) imposant la mise en place d'une antibiothérapie probabiliste active sur les germes résistants à la méticilline. Un test de diagnostic rapide de cette résistance permettrait de diminuer le spectre antibiotique probabiliste. Le but de notre étude est d'évaluer les caractéristiques prédictives diagnostiques d'un test de PCR en temps réel pour la détection de cette résistance dans le liquide céphalorachidien (LCR).

Patients et méthodes

Une étude observationnelle et prospective a été conduite dans les services de neurochirurgie du CHU de Toulouse de juin 2014 à septembre 2015. Les patients présentant une suspicion clinique et biologique de MN motivant l'introduction d'une antibiothérapie probabiliste étaient inclus. Un test de PCR en temps réel était réalisé sur le LCR prélevé pour la mise en culture. Les résultats du test ont été comparés aux résultats de la culture sur gélose.

Résultats

Trente deux prélèvements ont été inclus (31 patients). La sensibilité et la spécificité du test étaient de respectivement 67% et 96%. La valeur prédictive positive était de 80% et la négative de 93%. Deux prélèvements étaient positifs en culture à Staphylocoque à Coagulase négative résistant à la méticilline, alors que le test ne retrouvait pas la présence du gène *mecA* : un *Staphylocoque haemolyticus* peu abondant et un *Staphylocoque epidermidis* très faiblement abondant en culture. La médiane des éléments nucléés des prélèvements de LCR était de 360/mm³ et celle des taux de lactates de 6,37 mmol/l. Sur l'ensemble des prélèvements, 44% ont présenté une culture positive dont 19% à Staphylocoque résistant à la méticilline.

Conclusion

Notre étude retrouve des caractéristiques prédictives diagnostiques du test de PCR en temps réel dans la détection de germes résistants à la méticilline probablement insuffisantes pour permettre une modification de l'antibiothérapie probabiliste initiale. Ces données vont être complétées pour améliorer la puissance statistique de ce travail.

ABRÉVIATIONS

MN : Méningite Nosocomiale

ISO : Infection Site Opérateur

LCR : Liquide Céphalo-Rachidien

DVE : Dérivation Ventriculaire Externe

DLE : Dérivation Lombaire Externe

HSA : Hémorragie Sous Arachnoïdienne

SNC : Système Nerveux Central

SFAR : Société Française d'Anesthésie et de Réanimation

PCR : Polymerase Chain Reaction

CHU : Centre Hospitalier Universitaire

SAMR : Staphylocoque Aureus Résistant à la méticilline

SCN : Staphylocoque Coagulase Négative

MR : Résistant à la méticilline

IMC : Indice de Masse Corporel

Σ : Ecart type

EIQ : Ecart Inter Quartile

MS : Sensible à la méticilline

HTA : Hypertension Artérielle

PIC : Pression Intracrânienne

PNN : Polynucléaire Neutrophile

SAMS : Staphylocoque Aureus Sensible à la Méticilline

VPN : Valeur Prédictive Négative

BGN : Bacilles Gram Négative

1. INTRODUCTION

1.1 Contexte

La méningite nosocomiale (MN) est une pathologie appartenant aux infections de site opératoire (ISO). Son incidence est variable en neurochirurgie selon les équipes. Si McClelland et coll. ont décrit une incidence de 0,3% à la suite des procédures intracrâniennes (1), la revue de la littérature de Van de Beek et coll. en 2010 ou la méta-analyse de Barker et coll. en 2007 ont proposé une incidence de l'ordre de 2% de MN après craniotomie (2,3). Cette valeur corrobore les résultats français obtenus par l'équipe de la Pitié-Salpêtrière qui a objectivé en 1997 et 2006 une incidence de respectivement 1,9% (4) et 1,5% de MN (5). Cette variabilité d'incidence est également liée à la proportion d'interventions réalisées en urgence (6). Ainsi, l'intervention neurochirurgicale au risque infectieux le plus élevé est la mise en place d'un système de drainage du liquide céphalorachidien (LCR) par dérivation ventriculaire externe (DVE) ou par drain lombaire externe (DLE). Cette procédure est principalement réalisée en urgence dans le cadre d'hémorragie sous arachnoïdienne (HSA) ou d'hypertension intracrânienne réfractaire (7,8). Lors de la mise en place de la DVE, le flux de LCR est perturbé et les bactéries adhèrent au matériel par irrégularité de surfaces favorisant la colonisation puis l'infection. La majorité des études retrouvent un taux d'infection de DVE entre 2% et 27% (9–11). Les infections faisant suite à l'implantation définitive de valves de dérivation interne sont moins fréquentes que les infections à la suite de DVE (12). Enfin, les MN peuvent également faire suite à un traumatisme crânien en cas de fuite de LCR (13) et dans de très rares cas à une ponction lombaire (14).

Nous disposons de peu de données concernant la morbi-mortalité imputable aux MN. Elles sont au minimum à l'origine d'une augmentation de la durée de séjour (15) et imposent une antibiothérapie avec ses conséquences inhérentes. La gravité des MN est également liée aux pathologies sous jacentes des patients atteints de cette affection.

Le diagnostic clinique des MN est difficile : aucun symptôme n'est pathognomonique de cette infection (16–19). Dans ce contexte, les arguments biologiques sont indispensables. La cytologie du LCR permet souvent de suspecter le diagnostic de MN. Le LCR est un liquide normalement stérile qui ne contient aucun élément nucléé. La présence de leucocytes est donc en faveur d'une réaction inflammatoire au sein du LCR. Mais les constituants biologiques et cytologiques du LCR sont également perturbés dans un contexte post-traumatique, post-opératoire ou dans les suites d'une HSA, et ce même en l'absence d'infection. Dans ces situations, le LCR est fréquemment hémorragique et contient des leucocytes provenant du sang (environ 1 leucocyte pour 700 globules rouges). Le rapport du « cell index », défini comme le rapport $(GB_{LCR}/GR_{LCR}) / (GB_{sang}/GR_{sang})$, a donc été proposé afin d'identifier un recrutement méningé de leucocytes sans rapport avec le saignement. Il a cependant été

impossible d'obtenir une valeur seuil pertinente (20). L'analyse biochimique de ce liquide permet également de suspecter un processus infectieux actif en cas d'hypoglycorachie, d'hyperprotéinorachie, ou d'augmentation du taux de lactates. Ce dernier a fait l'objet de nombreuses études afin d'en déterminer une valeur seuil. La plupart des auteurs s'accordent autour d'une valeur de 4 mmol/L (pour une spécificité >95%) (21,22). Enfin, le diagnostic est d'autant plus complexe que la chirurgie intracrânienne peut induire de véritables méningites aseptiques : la chirurgie entraîne une réaction inflammatoire du système nerveux central (SNC) caractérisée par un LCR inflammatoire sans qu'il ne soit contaminé. La méningite aseptique est ainsi une entité définie comme une réaction inflammatoire mono-organique (du LCR) avec des signes cliniques de méningite liés à cette réaction. Elle n'a pas la pathogénicité de la méningite nosocomiale. Elle peut représenter jusqu'à 70% des méningites post-opératoires (18). En synthèse, la Société Française d'Anesthésie et de Réanimation (SFAR) souligne que « la plupart des études retiennent comme définition des MN la proposition de Lozier et coll. (10) : examen microbiologique direct positif ou une culture positive associée à un nombre de leucocytes dans le LCR $> 100/\text{mm}^3$, une protéinorachie $> 0,4\text{g/l}$ et un ratio glycorachie/glycémie $< 0,5$ ».

De part leur potentielle gravité, les MN sont traitées dès leur suspicion par une antibiothérapie probabiliste. Il n'existe pas de recommandations claires concernant l'antibiothérapie probabiliste à adapter face à une suspicion de MN. La SFAR a proposé en 2013 l'utilisation d'une association de céphalosporine 3^e génération et de vancomycine. L'alternative à cette dernière étant l'utilisation de linézolide. L'association de céfotaxime et de fosfomycine avait été proposée dès 1987 par Portier et coll. En effet, la fosfomycine est active sur les staphylocoques sensibles à la méticilline et sur les staphylocoques résistants à la méticilline (mais sensibles à la fosfomycine). Cette association avait été remise en cause par De Bels et coll. dans leur travail mettant en évidence une faible augmentation d'efficacité thérapeutique (de 70% à 78%) par l'ajout de la fosfomycine (23), mais ceci était probablement lié à la faible incidence des germes résistants à la méticilline dans leur centre. Certaines équipes ont proposé une antibiothérapie large d'emblée avec l'association méropénème et vancomycine (2). Le protocole des Hôpitaux de Toulouse concernant les infections neuro méningées post-opératoires prévoit l'administration de céfotaxime et de fosfomycine à dose méningée. Néanmoins, des problèmes fréquents et durables d'approvisionnement par fosfomycine imposent régulièrement l'utilisation préférentielle de la vancomycine ou du linézolide. En synthèse, l'attitude thérapeutique à adopter en probabiliste est donc fonction de l'écologie du service, de la disponibilité des thérapeutiques et de la colonisation du patient afin d'être rapidement efficace car un traitement inapproprié des MN entraîne une augmentation de la mortalité et des séquelles neurologiques (24). L'écologie des services de neurochirurgie des Hôpitaux de Toulouse a été appréciée en préambule à ce travail de thèse par une analyse rétrospective locale des méningites nosocomiales de 2005 à 2013. Elle a permis de mettre en évidence 144 méningites nosocomiales sur cette période dont 27% concernaient des germes résistants à la méticilline (Annexe 1).

Ces dernières années, une utilisation standardisée de la technique Polymerase Chain Reaction (PCR) a été développée. Cette analyse en temps réel, couple une PCR classique à une méthode de quantification fluorescente. La détection en temps réel du signal fluorescent et de son intensité est proportionnelle à la quantité de produit de PCR générée au cours de l'amplification. Cette nouvelle technologique permet donc de détecter un certain nombre de gènes ciblés en moins de 90 min grâce à une automatisation de la technique. Le laboratoire Cepheid® l'a développée pour la détection du gène *mecA* dans le test Gene Xpert® MRSA/SA SSTI. Ce gène est impliqué dans la résistance des Staphylocoques à la méticilline.

1.2 Problématique et objectif de l'étude

Les méningites nosocomiales dans notre institution bénéficient donc en probabilité d'une antibiothérapie par excès dans environ 70% des cas par fosfomycine ou glycopeptide. Cette antibiothérapie est maintenue pendant 5 jours jusqu'à obtention des résultats définitifs de la culture. Elle entraîne des effets indésirables, un surcoût, une disponibilité médicale (pose de voie veineuse centrale) et une pression sélective sur l'écologie bactérienne des services d'hospitalisation.

Un test de diagnostic rapide disponible en moins de 90 minutes détectant la résistance des germes à la méticilline permettrait de diminuer le spectre antibiotique chez les patients suspects de MN. En effet, seuls les patients exprimant un germe avec cette résistance pourraient nécessiter un traitement par fosfomycine ou glycopeptide. Cette accélération du diagnostic permettrait une épargne antibiotique.

Le but de notre étude était d'évaluer les caractéristiques prédictives diagnostiques d'un test de PCR en temps réel dans le cadre des méningites nosocomiales à Staphylocoque résistant à la méticilline.

2. MATÉRIEL ET MÉTHODES

Il s'agit d'une étude observationnelle, prospective qui s'est déroulée du 01/06/2014 au 15/09/2015 dans les services de neurochirurgie du centre hospitalier universitaire (CHU) de Toulouse. L'accord du comité d'Ethique de la recherche des Hôpitaux de Toulouse a été obtenu préalablement à la réalisation de notre étude sous la référence n°03-0114.

2.1 Le test

Le test Gene Xpert® MRSA/SA SSTI (Skin and Soft Tissue Infection) est l'objet de notre travail. Ce test dépiste la présence du gène *mecA* dans un échantillon de tissus en 90 minutes. Il est entièrement automatisé. Le gène *mecA* est impliqué dans la résistance des Staphylocoques à la pénicilline (25). Il s'exprime en modifiant la protéine PBP (Penicillin Binding Protein) en protéine PBP2a qui donne au staphylocoque une très faible affinité vis à vis de toutes les bêta-lactamines.

Cette étude a fait l'objet d'un travail préliminaire pour tester la validité de ce test *in vitro* sur du LCR (Annexe 2, thèse de la faculté des sciences pharmaceutiques, Dr Angèle Rolland sous la direction du Dr Marion Grare). La répétabilité et la reproductibilité étaient considérées comme bonnes. Le seuil de détection *in vitro* du gène *mecA* dans le LCR a été évalué à 10^3 UFC/ml pour les souches Staphylocoques résistantes à la pénicilline (SAMR) et pour les souches de Staphylocoques à Coagulase Négative (SCN) résistantes à la pénicilline (MR).

2.2 Critères d'inclusion

Les critères d'inclusion étaient les suivants :

- Patients admis dans les services des Hôpitaux de Toulouse
- Patients âgés de plus de 15 ans
- Patient présentant une suspicion de méningite nosocomiale.

La méningite était suspectée sur un faisceau d'arguments cliniques et para cliniques amenant le praticien à prescrire une antibiothérapie probabiliste à visée méningée. Le caractère nosocomial de la méningite était défini par : une hospitalisation depuis plus de 48H, une intervention chirurgicale dans les 30 jours précédents les signes cliniques ou dans l'année suivant la pose de matériel (Ministère de la santé, de la jeunesse et des sports DGS/DHOS, CTINILS en Mai 2007).

2.3 Méthode

Tous les patients inclus ont bénéficié d'un prélèvement de LCR par ponction lombaire, liquide de DVE, liquide de DLE, ou prélèvement per-opératoire dans le cadre de la pratique usuelle. Le prélèvement était envoyé au service de Bactériologie des Hôpitaux de Toulouse. Un ensemencement de façon qualitative sur une gélose GOS avec 100 µl était réalisé. Sur ce même échantillon était réalisé le test Gene Xpert® MRSA/SA SSTI par un bactériologiste formé à la technique.

Les données cliniques et biologiques ont été consignées anonymement, elles concernaient : l'âge, le sexe, l'index de masse corporel (IMC), les comorbidités, les facteurs de risque de MN tels que décrits dans la littérature (4,5,15), la prise de corticoïdes ou d'immunosuppresseurs au cours de l'intervention ou dans les jours précédents l'inclusion, les analyses biochimiques et cyto-bactériologiques sanguines et cérébro-méningées, la prise en charge thérapeutique (nature et durée de l'antibiothérapie, retrait du matériel), les signes cliniques méningés présentés à l'inclusion et le devenir du patient (mortalité, durée de séjour et durée de ventilation). Concernant le sous groupe de patients avec une DVE, le nombre de jours de drainage avant infection et le nombre de dispositifs mis en place ont été relevés.

2.4 Interprétation des résultats

L'interprétation du test était réalisée par un bactériologiste après examen des courbes de résultat. La présence d'un point d'inflexion (Ct) sur la courbe de détection du gène *mecA* était considérée comme un test positif.

Les résultats du test Gene Xpert® MRSA/SA SSTI étaient par la suite comparés aux résultats de la culture du LCR. L'interprétation des résultats est expliquée dans le tableau 1.

Tableau 1. Interprétation des résultats du test Gene Xpert® MRSA SSTI et de la culture bactériologique pour un échantillon de LCR/LCD.

		Résultat du test Gene Xpert® MRSA SSTI	
		Présence de gène <i>mecA</i>	Absence de gène <i>mecA</i>
Résultat de la culture	- Stérile - Germes autres que SCN MR ou SAMR	<i>Faux positif (FP)</i>	<i>Vrai négatif (VN)</i>
	- SAMR - SCN MR	<i>Vrai positif (VP)</i>	<i>Faux négatif (FN)</i>

2.5 Analyse statistique

Les variables qualitatives ont été exprimées en effectif et pourcentage ; elles ont été comparées à l'aide du test du chi 2 et du test exact de Fisher selon la taille de l'échantillon. La normalité des données quantitatives a été vérifiée à l'aide du test de Shapiro-Wilk. Le risque alpha a été établi à 5%. Les données quantitatives normales ont été décrites à l'aide des moyennes et des écarts types (σ), puis comparées à l'aide du test paramétrique t de Student. Les données quantitatives non normales ont été exprimées en médiane et écart interquartile (EIQ), puis comparées à l'aide d'un test non paramétrique de Mann Whitney. Pour évaluer la significativité des tests, un risque de premier ordre à 5 % a été choisi.

3. RÉSULTATS

Trente deux prélèvements de LCR (31 patients) ont été inclus sur une période de 15 mois. Un patient a bénéficié de 2 prélèvements de LCR différents à 4 jours d'intervalle pour la même suspicion de méningite nosocomiale.

3.1 Résultats du test

Le tableau 2 présente les caractéristiques du test dans notre étude

Tableau 2 : Résultats du test Gene Xpert® MRSA/SA SSTI pour la détection du gène *mecA* dans le LCR.

		Culture	
		Positif	Négatif
Test	Positif	4	1
	Négatif	2	25

Sensibilité : 67%
Spécificité : 96%
Valeur prédictive positive : 80%
Valeur prédictive négative : 93%

3.2 Discordance entre le test Gene Xpert® et culture bactériologique.

Pour 3 patients, le résultat du test n'était pas en accord avec le résultat de la culture. Pour 2 d'entre eux, il s'agissait d'un faux négatif : le test Gene Xpert® MRSA/SA SSTI a fourni comme résultat *mecA* négatif alors que la culture s'est révélée positive à SCN MR. Pour l'un, la culture a mis en évidence un *Staphylocoque haemolyticus* MR peu abondamment associé à un *Acinetobacter baumannii*. Le patient a bénéficié d'une antibiothérapie adaptée à ces deux germes par méronem et linézolide. Pour l'autre, le cas était plus litigieux, le test n'a pas été réalisé sur le même échantillon que la culture mais sur l'échantillon destiné à la biochimie. Les deux échantillons provenaient toutefois du même prélèvement et l'analyse de la culture a identifié un *Staphylocoque epidermidis* MR très faiblement abondant. Le patient a été traité par linézolide.

Pour l'un des résultats il s'agissait d'un faux positif. Le test a détecté la présence du gène *mecA* dans l'échantillon alors que la culture a révélé un *Staphylocoque epidermidis* sensible à la méticilline (MS). Aucun autre prélèvement ultérieur n'a été réalisé pour cette patiente.

3.3 Population étudiée

3.3.1 Caractéristiques de la population

Les caractéristiques et les comorbidités des patients inclus sont résumées dans le tableau 3.

Tableau 3. Caractéristiques et comorbidités des patients inclus. IMC : Indice de Masse Corporel, HTA : Hypertension artérielle, σ : écart type, EIQ : écart interquartile, n : nombre.

Caractéristiques de la population	Données (n=31)
Age moyen, années (σ)	49 (19)
Sexe Masculin, n (%)	17 (57)
IMC médian (EIQ)	24 (22-26)
Comorbidités, n (%)	
Absence de comorbidités	19 (61)
Diabète	2 (6)
Obésité	4 (13)
HTA	7 (23)
Insuffisance rénale chronique	0 (0)
Alcoolisme	1 (3)
Hospitalisation en soins critiques à l'inclusion, n (%)	16 (52)

3.3.2 Facteurs de risques d'infection neuro méningée

Les facteurs de risques individuels, et liés à la chirurgie ont été regroupés dans le tableau 4.

Tableau 4. Facteurs de risques d'infection neuro méningée de la population. LCR : Liquide Céphalo-Rachidien, DVE : Dérivation Ventriculaire Externe.

Facteur de risque	Données (n=31)
Fuite de LCR, n (%)	7 (23)
Utilisation de corticoïdes, n (%)	5 (16)
Radiothérapie locale, n (%)	2 (6)
Traitement immunosuppresseur, n (%)	0 (0)
Chirurgie, n (%)	
Ré intervention précoce (sauf DVE)	7 (23)
Intervention en urgence	21 (68)
Intervention en milieu septique	0 (0)
Temps opératoires > 4h pour les craniotomies	3 (33)
DVE	
Nombre jours médian de DVE avant inclusion (EIQ)	10,5 (8-19)
Nombre moyen de DVE (σ)	1,53 (0,83)

3.3.3 Signes cliniques

Les signes cliniques faisant suspecter une méningite nosocomiale ont été regroupés dans le tableau 5.

Tableau 5. Signes cliniques des patients inclus. PIC : Pression Intracrânienne, EIQ : écart interquartile, n : nombre.

Signes cliniques	Données	Nombre de données
<i>Fièvre, n (%)</i>	29 (93)	31
<i>Raideur méningée, n (%)</i>	7 (35)	22
<i>Aggravation neurologique, n (%)</i>	7 (27)	31
<i>Augmentation de PIC, n (%)</i>	1 (11)	9
<i>Céphalées, n (%)</i>	5 (25)	22
<i>Nausées, n (%)</i>	5 (25)	22
<i>Photophobie, n (%)</i>	3 (15)	22
<i>Score de Glasgow médian (EIQ)</i>	11,5 (10-14)	30

Pour 8 patients, l'examen neurologique n'était pas réalisable. Un traitement sédatif était encore administré pour 2 d'entre eux. Pour les 6 autres patients, le niveau de vigilance avant l'infection neuro méningée ne permettait pas un examen clinique fiable (score de Glasgow < 10). Un monitoring de la pression intracrânienne avait été mis en place pour tous ces patients : pour un seul patient la pression avait augmenté. La triade (fièvre, raideur méningée et aggravation neurologique) était présente chez 2 patients.

3.3.4 Microbiologie

Les principaux résultats microbiologiques sont présentés dans le tableau 6.

Tableau 6. Résultats microbiologiques de l'étude. SCN MR : *Staphylocoque à Coagulase Négatif Résistant à la Méricilline*, SAMS : *staphylocoque Aureus sensible à la méricilline*, SCN MS : *Staphylocoque Coagulase Négatif sensible à la méricilline*, n : nombre.

Résultats de la culture	Données (n=32)
<i>Stérile, n (%)</i>	18 (56)
<i>Culture positive, n (%)</i>	14 (44)
<i>SCN MR, n (%)</i>	6 (19)
<i>Mycoplasma hominis, n (%)</i>	2 (6)
<i>SAMS, n (%)</i>	2 (6)
<i>SCN MS, n (%)</i>	1 (3)
<i>Acinetobacter baumannii, n (%)</i>	1 (3)
<i>Enterobacter cloacae, n (%)</i>	1 (3)
<i>Escherichia coli, n (%)</i>	1 (3)
<i>Bacillus complex, n (%)</i>	1 (3)

Un prélèvement de LCR était en faveur d'une infection poly-microbienne avec une culture positive à *Staphylocoque haemolyticus* MR et à *Acinetobacter baumannii*. Concernant les 18 cultures stériles : 9 (50%) prélèvements avaient été réalisés sous antibiothérapie. Trois de ces patients se sont

compliqués d'une MN par la suite mais aucune à germes résistants à la méticilline. Aucune des cultures retrouvant un germe n'avait été réalisée sous antibiothérapie et aucune d'entre elles ne retrouvaient de SAMR. Concernant les 14 cultures positives : 43% étaient positives à SCN MR.

3.3.5 Biologie standard

Les principaux résultats biologiques sont présentés dans le tableau 7.

Tableau 7. Résultats biologiques de l'étude. LCR : Liquide Céphalo Rachidien, PNN : Polynucléaires neutrophiles, σ : écart type, EIQ : écart interquartile, n : nombre.

	Données	Données disponibles
Biochimie du LCR		
Protéinorachie médiane, g/L (EIQ)	1,77 (1-4,47)	27
Glycorachie moyenne, mmol/L (σ)	2,22 (1,33)	27
Taux de lactates médian, mmol/l (EIQ)	6,37 (5,24-8,04)	29
Cytologie du LCR		
Éléments /mm ³ , médiane (EIQ)	360 (75-3010)	32
Hématies /mm ³ , médiane (EIQ)	1605 (107-7750)	32
PNN /mm ³ , médiane (EIQ)	780 (371-2867)	25
Germes au direct, n (%)	3 (9)	32
Biologie sanguine		
Leucocytes médians, G/L (EIQ)	12,48 (9,69-16,91)	29

Biologie selon les résultats de la culture

Les résultats biologiques selon les résultats de la culture sont présentés dans le tableau 8.

Tableau 8. Biologie standard selon les résultats de la culture. LCR : Liquide Céphalo Rachidien, PNN : Polynucléaire neutrophile, σ : écart type, EIQ : écart interquartile, n : nombre.

	Culture positive	Culture négative	p
Chimie du LCR			
Protéinorachie médiane, G/L (EIQ)	1,079 (0,65-1,67)	4,47 (1,86-9,48)	0,012
Glycorachie moyenne, mmol/L (σ)	2,31 (1,086)	2,13 (1,46)	0,473
Taux de lactates médian, mmol/L (EIQ)	6,37 (5,3-7,03)	6,74 (5,27-8,53)	0,464
Cytologie du LCR (EIQ)			
Nombre d'hématies médian/mm ³	431 (113-2785)	4100 (500-80400)	0,116
Nombre de PNN médian/mm ³	329 (42-2827)	71,5 (56,75-80,75)	0,170
Biologie sang (σ)			
Nombre moyen de leucocytes/mm ³	12,49 (4,32)	15,86 (6,28)	0,054
Cell Index médian (EIQ)	0,95 (0,37-23,26)	0,06 (0,02-0,18)	0,045

Pour la biologie standard, la seule différence significative entre les patients avec une culture positive et les patients avec une culture négative concernait la protéinorachie, qui était plus importante chez ceux dont la culture était négative, le « cell index » était également moins élevé chez les patients non infectés.

3.3.6 Prise en charge thérapeutique

La prise en charge thérapeutique des patients inclus est présentée dans le tableau 9.

Tableau 9. Prise en charge thérapeutique. EIQ : écart interquartile, n : nombre.

Prise en charge thérapeutique	Données (n=31)
Nature de l'antibiothérapie probabiliste, n (%)	
Céfotaxime + Fosfomycine	23 (78)
Méropénème + Fosfomycine	3 (11)
Céfotaxime + Linézolide	2 (7)
Méropénème + Linézolide	2 (7)
Céfotaxime seul	1 (4)
Durée médiane de l'antibiothérapie probabiliste, jours (EIQ)	5 (3,5-7)
Patient avec culture positive, jours (EIQ)	4 (3-5,75)
Patient avec culture négative, jours (EIQ)	6 (5-8)
Changement ou retrait de matériel effectué, n (%)	21 (91)

Deux patients n'ont pas bénéficié du changement ou de l'ablation de leur matériel : il s'agissait d'une ostéosynthèse de rachis et d'une dérivation ventriculo-atriale non accessible à une exérèse totale.

3.3.7 Devenir

Le devenir des patients est présenté dans le tableau 10.

Tableau 10. Devenir des patients. EIQ : écart interquartile, n : nombre.

Devenir	Données	Nombre de données disponible
Mortalité hospitalière, n (%)	2 (7)	27
Durée de séjour médiane, jours (EIQ)	44 (27-62)	27
Durée de séjour médiane en réanimation, jours (EIQ)	21 (8-29)	27
Durée de ventilation mécanique médiane, jours (EIQ)	7 (0,5-19,5)	27

Les 4 derniers patients (inclus dans le dernier mois) ont été exclus de cette analyse, leurs données sont donc manquantes. La durée médiane de séjour des patients avec cultures positives était de 49 jours (32-73).

4. DISCUSSION

L'antibiothérapie probabiliste des MN doit être active sur les Staphylocoques MR de par leur prépondérance dans ce type d'infection. Une technique de diagnostic rapide de ces germes résistants permettrait une épargne antibiotique non négligeable. Notre étude a retrouvé une sensibilité de 64% et une valeur prédictive négative (VPN) de 93% pour la détection de ces germes dans le LCR par le test Gene Xpert® MRSA/SA SSTI.

Notre travail confirme le caractère peu contributif de la clinique pour permettre le diagnostic de MN. Ce faible intérêt est lié 1) au statut clinique préalable des patients : ils sont fréquemment sédatisés ou présentent une altération des fonctions cognitives 2) à la faible virulence des germes impliqués rendant la symptomatologie frustrante. La classique triade raideur méningée, fièvre et trouble de la conscience est retrouvée chez seulement deux patients dans notre travail et dans 22% des cas dans l'étude de Weisfelt et coll. (26). Le caractère asymptomatique des MN a même été décrit comme présent dans 36% des cas (12). La suspicion de MN est donc basée sur la fièvre, qui reste le signe le plus fréquent dans notre travail et dans la littérature (12,26), surtout en association à des facteurs de risques. Un certain nombre de ces facteurs ont déjà été identifiés et sont retrouvés dans notre population. La durée du drainage ventriculaire externe est un facteur de risque essentiel : le taux d'infections par jour de drainage de DVE atteint 0,86% dans l'étude prospective de Scheithauer et coll. (15). Concernant les craniotomies, l'analyse multi-variée de Korinek et coll. (4) sur les facteurs de risques d'ISO mettait en cause la fuite de LCR post-opératoire, les interventions itératives, l'intervention en urgence, les interventions en milieu septique, un temps opératoire de plus de 4h et les ré-interventions précoces (dans le mois suivant l'intervention). L'analyse uni-variée mettait également en cause un score de Glasgow < 10. Le sexe masculin du patient, le chirurgien et la durée de la chirurgie semblent aussi impliqués (5).

Dans notre étude, les résultats biochimiques et cytologiques étaient tous en faveur d'une méningite. La médiane du nombre de polynucléaire neutrophile (PNN) dans le LCR (750/mm³) et celle du taux de lactates (6,37 mmol/l) étaient plutôt élevées en comparaison à celles retrouvées dans la littérature : respectivement entre 458 et 775 éléments/mm³ et entre 4 et 7,8 mmol/l (12,22,26,27). Il n'existe pas de différences significatives biochimiques entre les prélèvements positifs et les prélèvements négatifs hormis pour la protéinorachie. Celle-ci était significativement plus élevée (4,47 g/l) pour les prélèvements négatifs contrairement à la littérature qui ne retrouve pas de différences concernant cette valeur (17,18). Cet effet est probablement en lien avec un échantillon réduit (n=18) et un nombre d'hématies médian anormalement élevé (4100 hématies /mm³) en comparaison avec ce qui est décrit habituellement (18). Le cell index est d'ailleurs significativement moins élevé (0,06) que dans le groupe avec culture positive (0,95).

Dans presque 50% des cas, le germe mis en cause dans notre étude était résistant à la pénicilline. La variabilité microbiologique des MN selon les centres est influencée par la pression sélective antibiotique mais les germes cutanés (staphylocoques aureus ou blanc) représentent fréquemment les pathogènes identifiés dans 2/3 des MN (9,24). Leur proportion est encore plus élevée dans le cadre des MN post DVE comme le suggère Lozier et coll (10). L'ensemble des bacilles à Gram négatif (BGN) est le deuxième groupe le plus impliqué dans notre travail. Ce résultat est conforme à l'analyse épidémiologique de notre centre (28)(annexe 1) et à celle d'autres équipes (9,10,26). Après exclusion des MN associées aux DVE, les BGN peuvent représenter jusqu'à 30% des pathogènes (5). Une des particularités de la microbiologie des MN est de retrouver fréquemment le *Propionibacterium acnes* (5% à 25% des cas). Au sein du CHU de Toulouse, son imputabilité varie de 0 à 25% selon les années (Annexe 1) avec une moyenne de 11% de 2008 à 2014 (28). Aucun cas n'a été retrouvé dans notre travail. Ceci est probablement lié à un effectif de MN trop petit. Ce biais de taille d'échantillon est également illustré par l'incidence des mycoplasmes dans notre travail (6%) alors que seulement quelques cas sont décrits dans la littérature (29–31).

Nous constatons une mortalité de 7% dans notre population, ce qui est faible en comparaison des données habituellement observées entre 7 et 33% (12,27,32). La durée de séjour est très légèrement inférieure avec une médiane de 49 jours chez les patients avec culture positive pour une durée observée dans la littérature de 56 jours (15). Les patients inclus au cours du dernier mois ont été exclus systématiquement de cette analyse (n=4) afin de ne pas sous estimer la durée de séjour par des données manquantes.

La reconnaissance des Staphylocoques MR par un test de diagnostic rapide permettrait une épargne antibiotique. Néanmoins, la potentielle gravité de cette pathologie impose d'obtenir une sensibilité la plus proche possible de 100%. Notre étude retrouve une sensibilité décevante et inattendue de seulement 67%. Aucune étude ne s'est, à notre connaissance, intéressée à la validité de la technique de PCR en temps réel pour la recherche des Staphylocoques MR dans le LCR. Par contre, l'utilisation de PCR en temps réel a déjà été étudiée dans le LCR à la recherche de germes non ciblés par des PCR multiplex (plusieurs amorces dans le même test) : pour le diagnostic des méningites bactériennes en néonatalogie ou pour le diagnostic des méningites aseptiques (33,34). La valeur prédictive négative (VPN) était de 90% mais ces études décrivaient quand même des faux négatifs. Ainsi Wang et coll. (34) ont montré une moindre sensibilité de cette technique avec un faux négatif concernant une méningite néonatale à staphylocoque corrigé par une autre technique de PCR (Multiplex PCR based-reverse line blot hybridization). La PCR en temps réel a également été évaluée pour la recherche d'ARN 16S dans le diagnostic de MN. Une sensibilité de seulement 47% a été obtenue sur des liquides de DVE pour des cultures essentiellement positives à SCN (35) confirmée par l'étude de Zarrouk et coll. (36). Pourtant cette technique séduisante a été appliquée avec succès dans d'autres types de prélèvements. Ainsi dans le cadre des dépistages d'hygiène plusieurs travaux ont montré une sensibilité supérieure à 85% (37–39) pour le dépistage du SAMR par écouvillonnage.

La méthode classique de PCR était également prometteuse avec une sensibilité de 100% pour la détection d'ARN 16S dans le LCR (40).

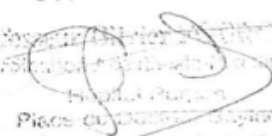
Il est possible, que les mauvais résultats de la PCR en temps réel dans les méningites nosocomiales, pour la plupart post-opératoires, soient liés à un inoculum plus faible pour lequel la PCR quantitative n'est pas assez sensible. Il faut évoquer également la possibilité, peu probable, que le phénotype de résistance à la méticilline des germes en cause soit l'expression d'une mutation du gène *mecA*. Pour preuve, des mutations du gène ont déjà été découvertes : la mutation LGA251 du *mecA* nommée *mecC* (25,41–43). Elle est proche du *mecA* mais à une homologie insuffisante pour être détectée par un test de diagnostic rapide. Il existe aussi des phénotypes très rares de résistance à la méticilline qui ne mettent pas en jeu le gène *mecA* : les BORSA (Borderline Oxacillin-Resistant Staphylocoque Aureus) qui correspondent à une hyperproduction de pénicillinase plasmidique (44) et les MODSA (Modified Staphylocoque aureus) qui correspondent à une modification des PLP. Nous ne pouvons pas non plus éliminer l'hypothèse que les faux négatifs soient en réalité liés à une colonisation des prélèvements et à un manque de spécificité de la culture. En effet, comme nous l'avons rappelé, aucun signe clinique ou biologique n'est spécifique de cette infection, et rien ne prouve que ces patients soient réellement infectés. Néanmoins, le risque potentiel impose à ce jour et en l'absence d'une meilleure discrimination de conserver l'attitude thérapeutique actuelle.

5. CONCLUSION

Le diagnostic de méningite nosocomiale repose sur un faisceau d'arguments cliniques, biologiques et microbiologiques. Elle est traitée de manière empirique par une antibiothérapie active sur les Staphylocoques résistants à la méticilline. L'utilisation de test de diagnostic rapide par PCR en temps réel permettrait, en théorie, de diminuer le temps nécessaire à l'obtention d'un diagnostic microbiologique. Notre étude retrouve une sensibilité de cette technique de 67% pour la recherche de germes résistants à la méticilline dans le LCR. Cette technique ne semble pas suffisamment fiable pour permettre une modification de l'antibiothérapie probabiliste initiale. Un plus grand nombre d'inclusions donnerait plus de puissance à nos résultats.

Vu permis d'imprimer
Le Doyen de la Faculté
de Médecine Purpan


J.P. VINEL

Bon jour impression
le 14/07/15
O. FOURCADE

Hôpital Purpan
Pièce de...
TSA 40031 - 31050 TOULOUSE Cedex 9

6. BIBLIOGRAPHIE

1. McClelland S, Hall W a. Postoperative central nervous system infection: incidence and associated factors in 2111 neurosurgical procedures. *Clin Infect Dis.* 2007;45(1):55–9.
2. Van de Beek D, Drake JM, Tunkel AR. Nosocomial bacterial meningitis. *N Engl J Med.* 2010;362(14):1346–7; author reply 1347–8.
3. Barker FG. Efficacy of prophylactic antibiotics against meningitis after craniotomy: A meta-analysis. *Neurosurgery.* 2007;60(5):887–94.
4. Korinek AM. Risk Factors for Neurosurgical Site Infections after Craniotomy: A Prospective Multicenter Study of 2944 Patients. *Neurosurgery.* 1997;41(5):1073–9; discussion 1079–81.
5. Korinek AM, Baugnon T, Golmard JL, Van Effenterre R, Coriat P, Puybasset L. Risk factors for adult nosocomial meningitis after craniotomy: Role of antibiotic prophylaxis. *Neurosurgery.* 2006;59(1):126–32.
6. Erdem I, Hakan T, Ceran N, Metin F, Akcay SS, Kucukercan M, et al. Clinical features, laboratory data, management and the risk factors that affect the mortality in patients with postoperative meningitis Ilknur. *Neurol India.* 2008;56(4):433–7.
7. SFAR. Hémorragie sous-arachnoïdienne grave Conférence d'experts. 2004;
8. Bouhours G, Minassian A Ter, Beydon L. Traumatismes crâniens graves : prise en charge à la phase initiale Severe head injury : initial management. 2006;15:552–60.
9. Beer R, Lackner P, Pfausler B, Schmutzhard E. Nosocomial ventriculitis and meningitis in neurocritical care patients. *J Neurol.* 2008;255(11):1617–24.
10. Lozier AP, Sciacca RR, D ES. Ventriculostomy-relate Infections: A Critical Review of the Literature. *Neurosurgery.* 2002;51(1):170–82.
11. Korinek a. M, Reina M, Boch a. L, Rivera a. O, De Bels D, Puybasset L. Prevention of external ventricular drain - Related ventriculitis. *Acta Neurochir (Wien).* 2005;147(1):39–46.
12. Conen A, Walti LN, Merlo A, Fluckiger U, Battagay M, Trampuz A. Characteristics and treatment outcome of cerebrospinal fluid shunt-associated infections in adults: a retrospective analysis over an 11-year period. *Clin Infect Dis.* 2008;47(1):73–82.
13. Baltas I, Tsoulfa S, Sakellariou P, Vogas V, Fylaktakis M, Kondodimou A. Posttraumatic meningitis: bacteriology, hydrocephalus, and outcome. *Neurosurgery.* 1994 Sep;35(3):422–6; discussion 426–7.
14. Warltier DC, Ph D, Baer ET. Post – Dural Puncture Bacterial Meningitis. *Anesthesiology.* 2006;105(2):381–93.

15. Scheithauer S, Bürgel U, Ryang Y-M, Haase G, Schiefer J, Koch S, et al. Prospective surveillance of drain associated meningitis/ventriculitis in a neurosurgery and neurological intensive care unit. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 2009;80(12):1381–5.
16. Ramos-Martínez A, de Las Heras-Carballo T, Fernández-Mateos C, de Reina L, Alvarez de Espejo-Montiel T, Escamilla-Fernández N, et al. [Postsurgical meningitis. Differential characteristics of aseptic postsurgical meningitis]. *Neurocirugia (Astur)*. 2009;20(2):103–9.
17. Forgacs P, Geyer C a, Freidberg SR. Characterization of chemical meningitis after neurological surgery. *Clin Infect Dis*. 2001;32(2):179–85.
18. Zarrouk V, Vassor I, Bert F, Bouccara D, Kalamarides M, Bendersky N, et al. Evaluation of the management of postoperative aseptic meningitis. *Clin Infect Dis*. 2007;44(12):1555–9.
19. Ross D, Rosegay H, Pons V. Differentiation of aseptic and bacterial meningitis in postoperative neurosurgical patients. *J Neurosurg*. 1988;69(5):669–74.
20. Pfausler B, Beer R, Engelhardt K, Kemmler G, Mohsenipour I, Schmutzhard E, et al. Cell index - A new parameter for the early diagnosis of ventriculostomy (external ventricular drainage)-related ventriculitis in patients with intraventricular hemorrhage? *Acta Neurochir (Wien)*. 2004;146(5):477–81.
21. Sakushima K, Hayashino Y, Kawaguchi T, Jackson JL, Fukuhara S. Diagnostic accuracy of cerebrospinal fluid lactate for differentiating bacterial meningitis from aseptic meningitis: A meta-analysis. *J Infect*. Elsevier Ltd; 2011;62(4):255–62.
22. Leib SL, Boscacci R, Gratzl O, Zimmerli W. Predictive value of cerebrospinal fluid (CSF) lactate level versus CSF/blood glucose ratio for the diagnosis of bacterial meningitis following neurosurgery. *Clin Infect Dis*. 1999;29(1):69–74.
23. De Bels D, Korinek a. M, Bismuth R, Trystram D, Coriat P, Puybasset L. Empirical treatment of adult postsurgical nosocomial meningitis. *Acta Neurochir (Wien)*. 2002;144(10):989–95.
24. Filka J, Huttova M, Kurak J, Tuharsky J, Kralinsky K, Sagat T. Inappropriately treated nosocomial meningitis is associated with higher mortality and more neurologic sequellae than appropriately treated meningitis. 1999;108–9.
25. International Working Group on the Classification of Staphylococcal Cassette Chromosome Elements. Classification of staphylococcal cassette chromosome mec (SCCmec): Guidelines for reporting novel SCCmec elements. *Antimicrob Agents Chemother*. 2009;53(12):4961–7.
26. Weisfelt M, van de Beek D, Spanjaard L, de Gans J. Nosocomial bacterial meningitis in adults: a prospective series of 50 cases. *J Hosp Infect*. 2007;66(1):71–8.

27. Van de Beek D, de Gans J, Spanjaard L, Weisfelt M, Reitsma JB, Vermeulen M. Clinical features and prognostic factors in adults with bacterial meningitis. *N Engl J Med*. 2004;351(18):1849–59.
28. Rolland A. Epidémiologie bactérienne des infections en Neurochirurgie au CHU de Toulouse 2010-2014 : traitement probabiliste des méningites à entérobactéries, et rôle de la biologie moléculaire dans le diagnostic des infections à staphylocoques (PCR Xpert MRSA/SA SS. Thèse d'exercice Univ III Paul Sabatier Fac des Sci Pharm. 2015;
29. Henao-Martínez AF, Young H, Nardi-Korver JJ, Burman W. *Mycoplasma hominis* brain abscess presenting after a head trauma: a case report. *J Med Case Rep*. 2012;6(1):253.
30. Pailhoriès H, Rabier V, Eveillard M, Mahaza C, Joly-Guillou M-L, Chenebault J-M, et al. A case report of *Mycoplasma hominis* brain abscess identified by MALDI-TOF mass spectrometry. *Int J Infect Dis*. 2014;29:166–8.
31. Hampshire N. *Mycoplasma hominis*. 2014;14(August):212–8.
32. Walti LN, Conen A, Coward J, Jost GF, Trampuz A. Characteristics of infections associated with external ventricular drains of cerebrospinal fluid. *J Infect*. Elsevier Ltd; 2013;66(5):424–31.
33. Schoch B, Adamzik M, Steinmann E, Buer J, Steinmann J. Value of multiplex PCR using cerebrospinal fluid for the diagnosis of ventriculostomy-related meningitis in neurosurgery patients. 2014;621–7.
34. Wang Y, Guo G, Wang H, Yang X, Shao F, Yang C, et al. Comparative study of bacteriological culture and real-time fluorescence quantitative PCR (RT-PCR) and multiplex PCR-based reverse line blot (mPCR / RLB) hybridization assay in the diagnosis of bacterial neonatal meningitis. 2014;1–8.
35. Deutch S, Ph D, Dahlberg D, Sc D. Diagnosis of Ventricular Drainage-Related Bacteriel Meningitis by Broad-range Real-time Polymerase Chain Reaction. 2007;61(2):306–12.
36. Zarrouk V, Leflon-Guibout V, Robineaux S, Kalamarides M, Nicolas-Chanoine MH, Sterkers O, et al. Broad-range 16S rRNA PCR with cerebrospinal fluid may be unreliable for management of postoperative aseptic meningitis. *J Clin Microbiol*. 2010;48(9):3331–3.
37. Schora DM, Ascp MLS, Peterson KE, Wright MO, Ascp MT, Peterson LR. Evaluation of Multiple Real-Time PCR Tests on Nasal Samples in a Large MRSA Surveillance Program. 2015;652–8.
38. Peterson LR, Liesenfeld O, Woods CW, Allen SD, Pombo D, Patel PA, et al. Multicenter Evaluation of the LightCycler Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) Advanced Test as a Rapid Method for Detection of MRSA in Nasal Surveillance Swabs. 2010;48(5):1661–6.

39. Laudat P, Demondion E, Jouannet C, Charron J, Chillou C, Salaun V, et al. Dépistage de *Staphylococcus aureus* résistant à la méthicilline (SARM) par biologie moléculaire (Cepheid GeneXpert IL, GeneOhm BD, LightCycler Roche, Hyplex Evigene I2A) versus dépistage par culture : stratégie économique-pratique pour le laboratoire. 2012;60:208–13.
40. Banks JT, Bharara S, Tubbs RS, Wolff CL, Gillespie GY, Markert JM, et al. Polymerase chain reaction for the rapid detection of cerebrospinal fluid shunt or ventriculostomy infections. *Neurosurgery*. 2005;57(6):1237–42.
41. García-álvarez L, Holden MTG, Lindsay H, Webb CR, Brown DFJ, Curran MD, et al. Meticillin-resistant *Staphylococcus aureus* with a novel *mecA* homologue in human and bovine populations in the UK and Denmark : a descriptive study. 2003;595–603.
42. Laurent F, Chardon H, Haenni M, Bes M, Reverdy M, Madec J, et al. *mec A* Variant *Gene*. 2012;18(9):1465–7.
43. Ito T, Hiramatsu K, Tomasz A, Lencastre H De, Perreten V, Holden MTG, et al. Guidelines for Reporting Novel *mecA* Gene Homologues. 2012;56(10):4997–9.
44. Liu H, Buescher G, Lewis N, Snyder S, Jungkind D. Detection of borderline oxacillin-resistant *Staphylococcus aureus* and differentiation from methicillin-resistant strains. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*. 1990 Oct;9(10):717–24.

7. ANNEXES

ANNEXE 1 : EPIDEMIOLOGIE DES MENINGITES NOSOCOMIALES DE 2008 A 2013 DANS LES HOPITAUX DE TOULOUSE

INTRODUCTION

Le but de l'étude était d'apprécier la microbiologie des méningites nosocomiales dans les Hôpitaux de Toulouse.

MATERIELS ET METHODE

Tous les prélèvements de liquide céphalorachidien (LCR) provenant des unités de neurochirurgie, des services de réanimation neurochirurgicale et des blocs opératoires de neurochirurgie de l'hôpital Purpan et de l'hôpital Rangueil, ont été inclus rétrospectivement sur la période allant du 1^{er} janvier 2009 au 31 décembre 2013, à l'aide du logiciel informatique du laboratoire des Hôpitaux de Toulouse (logiciel MOLIS® version 4.32).

Tous les prélèvements de LCR provenant de ces services, dont la culture était positive, ont été considérés comme des épisodes de méningites nosocomiales (MN). En cas de prélèvements multiples positifs pour le même patient dans le même mois, un seul épisode de MN était comptabilisé. Lorsque les antibiogrammes des Staphylocoques à Coagulase Négatif (SCN) n'avaient pas été réalisés, le prélèvement était considéré comme contaminé.

RESULTATS

Les Staphylocoques résistant à la méticilline.

Les principaux résultats concernant l'incidence des germes résistants à la méticilline dans les méningites nosocomiales sont présentés dans le tableau 1.

Tableau 1. Incidence des germes résistants à la méticilline dans les méningites nosocomiales au CHU de Toulouse de 2008 à 2013. MN : méningite nosocomiale. SCN : Staphylocoque à Coagulase négative, n : nombre.

	2008	2009	2010	2011	2012	2013	TOTAL
Patients prélevés, n	262	110	127	180	140	156	824
MN, n	26	24	17	22	29	26	144
<i>Méningites à Staphylocoque, n</i>	<i>17</i>	<i>17</i>	<i>11</i>	<i>16</i>	<i>16</i>	<i>7</i>	84
<i>SCN, n</i>	<i>13</i>	<i>13</i>	<i>9</i>	<i>13</i>	<i>15</i>	<i>7</i>	70
<i>Staphylocoque aureus, n</i>	<i>4</i>	<i>4</i>	<i>2</i>	<i>3</i>	<i>1</i>	<i>0</i>	14
<i>Germes résistants à la méticilline, n</i>	<i>7</i>	<i>6</i>	<i>6</i>	<i>10</i>	<i>6</i>	<i>4</i>	39

Cent cinquante deux patients ont eu une culture de LCR positive. Après exclusion des cultures considérées comme contaminées à SCN, 144 épisodes de méningites ont été inclus, soit une moyenne de 24 cas par an. Parmi les 39 germes résistants à la méticilline, 34 étaient des SCN et 5 des *Staphylocoques aureus*. Les SCN étaient résistants à 49% et les *Staphylocoques aureus* à 36%. Au total, l'incidence des MN à germes résistants à la méticilline était de 27% dans notre étude.

Autres germes

Les principaux résultats concernant les germes autres que les staphylocoques sont présentés dans le tableau 2.

Tableau 2. Microbiologie des méningites nosocomiales au CHU de Toulouse de 2008 à 2013, à l'exception des *Staphylocoques*.

	2008	2009	2010	2011	2012	2013	Total
Nombre de MN, n	26	24	17	22	29	26	144
Bacille Gram négatif, n (%)	5 (19)	11 (46)	3 (18)	7 (32)	7 (24)	9 (35)	42 (29)
<i>Propionibacterium acnès</i> , n (%)	1 (4)	0 (0)	3 (17)	1 (4)	4 (14)	7 (25)	16 (11)

L'incidence du *Propionibacterium acnès* varie de 0 à 25% selon les années. Les méningites à bacilles à Gram négatif ont une incidence de 29% dans cette étude.

DISCUSSION

Il est possible que l'incidence des MN soit majorée dans cette étude par l'inclusion de méningites communautaires (inclusions réalisées uniquement en fonction du service préleveur), mais l'effet est limité puisque l'hospitalisation dans un service de neurochirurgie implique la plupart du temps une chirurgie. Elle a pu également être faussée par l'inclusion de prélèvements contaminés chez des patients sans arguments cliniques de MN. Ce biais a tenté d'être limité par l'exclusion des prélèvements où l'antibiogramme n'avait pas été réalisé (considéré comme contaminé par le laboratoire). A l'inverse, l'incidence a également pu être sous estimée par la non inclusion de MN provenant d'autres secteurs d'hospitalisation. Malgré ces biais, notre étude nous permet d'estimer quelle est l'incidence des MN à *Staphylocoques* résistants à la méticilline dans nos services de neurochirurgie.

CONCLUSION

L'incidence des *Staphylocoques* résistants à la méticilline dans les services de neurochirurgie des Hôpitaux de Toulouse de 2008 à 2013 est de 27% (n=39).

ANNEXE 2 : ETUDE PRELIMINAIRE : validité in vitro du test Gene Xpert® MRSA/SA SSTI sur du LCR.

Cette étude préliminaire a fait l'objet d'une thèse d'exercice de biologie médicale par le Dr ROLLAND Angèle, sous la direction du Dr GRARE Marion : Epidémiologie bactérienne des infections en Neurochirurgie au CHU de Toulouse 2010-2014 : traitement probabiliste des méningites à entérobactéries, et rôle de la biologie moléculaire dans le diagnostic des infections à staphylocoques (PCR Xpert MRSA/SA SSTI), Université III Paul Sabatier Faculté des Sciences Pharmaceutiques. 2015.

Le test

Cette étude a évalué la validité du test Gene Xpert® MRSA/SA SSTI (Skin and Soft Tissue Infection).

Ce test a été conçu pour la détection du *Staphylocoque aureus* et du *Staphylocoque aureus* résistant à la méticilline (SAMR) sur écouvillon lors d'infection de la peau et des tissus mous. Il dépiste la présence du gène *mecA* dans ces échantillons. Le prélèvement est inséré dans une « cassette » entièrement automatisée. Il consiste en une réaction de PCR classique couplée à une technique quantitative par fluorescence. En effet, les produits de PCR générés au cours de l'amplification par PCR sont marqués par immunofluorescence puis détectés en temps réel. La détection en temps réel du signal fluorescent et de son intensité est proportionnelle à la quantité de produit de PCR générée au cours de l'amplification et donne donc une courbe avec en abscisse le nombre de cycle de PCR et en ordonnée l'intensité fluorescente. Le Ct est le point d'inflexion de la courbe qui correspond au nombre de cycles où le signal de fluorescence est statistiquement plus élevé que le bruit de fond.

Etude préliminaire

Test de répétabilité

Une souche patient de *Staphylocoque aureus* résistant à la méticilline (SAMR) à une concentration de 10^6 UFC/ml a été introduite dans 3 tests différents. Les Ct des 3 tests ont été comparés : le coefficient de variation pour le gène *mecA* était inférieur à 5%. La répétabilité du test a donc été considérée comme bonne.

Test de reproductibilité

Une souche de SAMR à une concentration de 10^4 UFC/ml et une souche de SAMR à une concentration de 10^3 UFC/ml ont fait l'objet de 6 tests chacune. Le gène *mecA* a été retrouvé dans 5 tests sur 6 pour une concentration à 10^4 UFC/ml soit une reproductibilité de 85% et dans 3 tests sur 6

pour une concentration à 10^3 soit une reproductibilité de 50%. Le coefficient de variance pour les Ct du gène *mecA* des 5 souches à une concentration de 10^4 UFC/ml était inférieur à 10% ce qui montre une bonne reproductibilité.

Une souche de Staphylocoque à coagulase négative résistant à la méticilline (SCN MR) à une concentration de 10^5 UFC/ml a été testée avec 9 tests et une souche de SCN MR à une concentration de 10^4 UFC/ml a été testée avec 7 tests. A une concentration de 10^5 le gène *mecA* a été retrouvé 9 fois sur 9, à une concentration de 10^4 UFC/ml il a été retrouvé 6 fois sur 7, et à une concentration de 10^3 UFC/ml il a été retrouvé 1 fois sur 2. Le coefficient de variance des Ct du gène *mecA* était inférieur à 10% pour les 2 plus grosses concentrations ce qui montre une bonne reproductibilité du test pour le gène *mecA* dans le SCN MR.

Seuil de détection

Volume de dilution de 100 µl

Une souche de SAMR a été testée à plusieurs concentrations. Le volume de dilution était de 100 µl. Le tableau 1 présente les résultats de cette souche.

Tableau 1. Résultats de l'interprétation de la PCR Xpert® SSTI par le système et par le technicien à des concentrations différentes d'une souche SAMR avec un volume de dilution de 100 µl.

		Interprétation système Xpert®	Interprétation par le technicien
Concentration	10^1 UFC/ml	0 test + / 3 tests total	0 test + / 3 tests total
	10^2 UFC/ml	0 test + / 3 tests total	0 test + / 3 tests total
	10^3 UFC/ml	1 test + / 3 tests total	3 tests + / 3 tests total
	10^4 UFC/ml	3 tests + / 3 tests total	3 tests + / 3 tests total

Une souche de SCN MR a été testée à plusieurs concentrations. Le volume de dilution était de 100 µl. Le tableau 2 présente les résultats de cette souche.

Tableau 2. Résultats de l'interprétation de la PCR Xpert® SSTI par le système et par le technicien à des concentrations différentes d'une souche SCN MR avec un volume de dilution de 100 µl.

		Interprétation système Gene Xpert®	Interprétation par le technicien
Concentration	10^3 UFC/ml	0 test + / 1 tests total	1 test + / 1 test total
	10^4 UFC/ml	0 test + / 2 tests total	1 test + / 2 tests total
	10^5 UFC/ml	0 test + / 2 tests total	2 tests + / 2 tests total

Une souche de SAMS a été testée à une concentration de 10^1 , 10^2 , 10^3 , et 10^4 UFC/ml. Trois tests ont été réalisés pour chaque concentration. Les 12 tests ne détectaient pas le gène *mecA*.

Une souche de SCN MS a été testée à une concentration de 10^6 UFC/ml. Les 3 tests réalisés à cette concentration ne détectaient pas le gène *mecA*.

Volume de dilution de 1 ml

Deux souches de SCN MR ont été testées à plusieurs concentrations. Le volume de dilution était de 1 ml. Le tableau 3 présente les résultats de cette souche.

Tableau 3. Résultats de l'interprétation de la PCR Gene Xpert® SSTI par le système et par le technicien à des concentrations différentes de 2 souches de SAMR avec un volume de dilution à 1ml.

		Interprétation système Gene Xpert®	Interprétation par le technicien
Concentration	10^3 UFC/ml	<i>0 test + / 1 tests total</i>	<i>1 test + / 1 test total</i>
	10^4 UFC/ml	<i>0 test + / 2 tests total</i>	<i>1 test + / 2 tests total</i>
	10^5 UFC/ml	<i>0 test + / 2 tests total</i>	<i>2 tests + / 2 tests total</i>

Dilution au sérum physiologique 100 µl

Une souche de SAMR a été testée à une concentration de 10^3 , 10^4 , 10^5 , et 10^6 UFC/ml. Le volume de dilution était de 100 µl au sérum physiologique. Chaque concentration a été testée une fois. Le seuil de détection par le système Xpert® et par le technicien était le même à 10^3 UFC/ml.

Une souche de SAMS a été testée à une concentration de 10^3 , 10^4 , 10^5 , et 10^6 UFC/ml. Le volume de dilution était de 100 µl au sérum physiologique. Chaque concentration a été testée une fois. Aucun des tests ne détectait de gène *mecA*.

Quatre souches de SEMS ont été testées à une concentration de 10^6 UFC/ml. Chaque souche a été testée une fois. Aucun des 4 tests n'a détecté le gène *mecA*.

Etude spécifique du SCN MR

Sept souches patient de SCN MR ont été testées à une concentration de 10^5 UFC/ml et 6 souches patient de SCN MR ont été testées à une concentration de 10^4 UFC/ml avec 100 µl de LCR poolé. Le tableau 4 présente les résultats de ces souches.

Tableau 4. Résultats de l'interprétation de la PCR Gene Xpert® SSTI par le système et par le technicien de 6 souches de SCN MR à une concentration de 10^4 UFC/ml et de 7 souches de SCN MR à une concentration de 10^5 UFC/ml.

		Interprétation système Gene Xpert®	Interprétation par le technicien
Concentration	10^4 UFC/ml	2 test + / 6 tests total	4 test + / 6 tests total
	10^5 UFC/ml	3 test + / 7 tests total	4 tests + / 7 tests total

Test MRSA/SA BC

Le test Gene Xpert® MRSA/SA BC a également été comparé afin de définir quel test était le plus performant pour notre étude. Les seuils de détection étaient plus élevés que pour le test Xpert® MRSA/SA SSTI.

Conclusion de l'étude préliminaire

L'examen de la courbe par un technicien permet de diminuer le seuil de détection pour le gène *mecA* à 10^3 UFC/ml que ce soit pour une souche SAMR ou pour une souche SEMR. La spécificité du test semble excellente puisque aucun des tests réalisés avec des souches SCN MS ou SAMS n'a identifié de gène *mecA*.

Evaluation de la validité de la PCR en temps réel (test Gene Xpert®) pour le diagnostic rapide des méningites nosocomiales à germes résistants à la méticilline

RESUME :

Etude observationnelle, prospective conduite dans les services de neurochirurgie des Hôpitaux de Toulouse de juin 2014 à Septembre 2015. Les patients présentant une suspicion clinique et biologique motivant l'introduction d'une antibiothérapie probabiliste pour méningite nosocomiale étaient inclus. La recherche du gène *mecA* par un test de PCR en temps réel était effectuée sur un prélèvement de liquide céphalorachidien. Le résultat du test était comparé à la culture. Sur 32 prélèvements inclus, la sensibilité et la spécificité du test étaient de respectivement 67% et 96%, la valeur prédictive positive et négative respectivement de 80% et 93%. Les caractéristiques prédictives diagnostiques de ce test ne permettent pas à l'heure actuelle une modification de l'antibiothérapie probabiliste initiale.

TITRE EN ANGLAIS : Assessing the validity of PCR real time for the rapid diagnosis of nosocomial meningitis bacteria methicillin resistant.

DISCIPLINE ADMINISTRATIVE : Médecine spécialisée clinique

MOTS-CLÉS : PCR temps réel, méningite nosocomiale, staphylocoque résistant à la méticilline, antibiothérapie probabiliste, biologie moléculaire, liquide céphalorachidien.

INTITULÉ ET ADRESSE DE L'UFR OU DU LABORATOIRE :
Université Toulouse III-Paul Sabatier
Faculté de médecine Toulouse-Purpan,
37 Allées Jules Guesde 31000 Toulouse

Directeur de thèse : Dr Nicolas MAYEUR