

**UNIVERSITE TOULOUSE III PAUL SABATIER
FACULTE DES SCIENCES PHARMACEUTIQUES**

ANNEE 2014

2015 TOU3 2024

THESE

POUR LE DIPLOME D'ETAT DE DOCTEUR EN PHARMACIE

Obtenu après soutenance

Du mémoire du diplôme d'études spécialisées de biologie médicale

ROLLAND Angèle

27/03/2015

**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)**

JURY

Directeur de thèse : Madame le Docteur Marion GRARE

Président : Pr Nicole MARTY, Laboratoire de Bactériologie, CHU Toulouse

1er assesseur : Pr Christine ROQUES-CESCHIN, PU-PH, Laboratoire de Bactériologie, CHU Toulouse

2ème assesseur : Dr Muriel ALVAREZ, PH, Service de Maladies Infectieuses et Tropicales, CHU
Toulouse

3ème assesseur : Dr Nicolas MAYEUR, PH, Service de Réanimation Neurochirurgicale, CHU Toulouse

4ème assesseur : Dr Marion GRARE, MCU-PH, Laboratoire de Bactériologie, CHU Toulouse

TABLE DES MATIERES

Table des matières	2
Remerciements	4
Abreviations	8
Tableaux et figures	9
1 Introduction	12
2 Généralités	14
2.1 Les différents types d'infections en neurochirurgie.....	14
2.1.1 Infections du site opératoire.....	14
2.1.2 Méningite et infections sur dérivation	15
2.1.3 Abscesses/empyèmes.....	24
2.2 Quelle prise en charge des patients et quelle antibiothérapie utiliser ?.....	32
2.2.1 Quelques données de la littérature.....	32
2.2.2 Les pratiques au CHU de TOULOUSE	39
2.3 Rappels : résistances bactériennes	39
2.3.1 Rappels : entérobactéries et résistance aux β -lactamines.....	39
2.3.2 Rappels : Staphylocoques et résistance à la pénicilline.....	41
2.3.3 Rappels : Staphylocoques et résistance à la fosfomycine.....	43
3 Matériels et méthodes.....	45
3.1 Recueils épidémiologiques 2008 à 2014	45
3.2 Etude de 17 dossiers patients : méningites à entérobactéries 2010-2014.....	46
3.3 Consommation des antibiotiques en neurochirurgie de 2010 à 2014.....	46
3.4 Etude sur l'apport de la PCR spécifique <i>S.aureus</i> et de la recherche du gène <i>mecA</i> dans les méningites nosocomiales	46
3.4.1 Objectifs de l'étude	46
3.4.2 Présentation du test Xpert® MRSA/SA SSTi	47
3.4.3 Critères d'inclusions, d'exclusions des patients.....	48
3.4.4 Validation de méthodes.....	48
4 Résultats	50
4.1 Épidémiologie des infections de neurochirurgie entre 2008 et 2014	50
4.1.1 Méningites nosocomiales	50
4.1.2 Prélèvements de pus profonds	66
4.2 Les consommations d'antibiotiques entre 2010 et 2013 en neurochirurgie	80
4.3 Etudes des 17 patients avec méningites à entérobactéries : révisions de l'antibiothérapie probabiliste des méningites à entérobactéries	82
4.4 Validations de méthodes du test Xpert MRSA/SA dans les LCR / LCD	85

5 Discussion	105
5.1 Epidémiologie	105
5.1.1 Les méningites	105
5.1.2 Les abcès cérébraux	108
5.1.3 Résistances retrouvées	109
5.2 Traitement probabiliste des méningites à entérobactéries	111
5.3 PCR sarm/sa Xpert	116
5.3.1 Sensibilité / Spécificité	116
5.3.2 Analyse des Cas de discordances OBSERVEES lors de la validation de méthode révélant la limite de la technique	118
5.3.3 Cas de discordance dans la littérature : faux positifs et faux négatifs	119
6 Conclusion	123
Bibliographie	124
Annexes	132
Annexe 1 : Protocole des infections neuroméningées - antibiothérapie	132
Annexe 2 : Synopsis à l'attention du Comité d'Éthique Régional	134
Annexe 3 : Accord du comité d'Éthique	139
Annexe 4 : Protocole mis en place pour l'étude au laboratoire de Bactériologie	140
Annexe 5 : Règles de validations techniques du système XPERT MRSA/SA SSTI® LCR/LCD	141

REMERCIEMENTS

A Madame le Professeur Nicole MARTY,

Vous me faites l'honneur de présider mon jury de thèse et de juger mon travail. Je vous en remercie très sincèrement.

A Marion Grare,

Pour m'avoir permis de réaliser ce travail. Ta motivation, ton efficacité, ta gentillesse sont vraiment sources d'inspirations. Travailler avec toi est aussi facile qu'enthousiasmant, je n'oublierais pas ton aide et tes conseils qui m'ont guidé tout au long de ce travail. Merci également pour ton implication dans la formation des internes. Soit assurée de ma profonde gratitude.

A Muriel Alvarez,

Votre présence me semblait indispensable aujourd'hui et vous m'avez fait l'honneur d'accepter. J'admire votre force et votre compétence; je n'oublierais pas notre rencontre et l'aide précieuse que vous m'avez accordée.

A Nicolas Mayeur,

C'est pour moi un réel honneur de vous compter parmi mon jury. J'espère profondément que vous puissiez trouver dans ce recueil, un intérêt pour la Neurochirurgie.

A Madame le Professeur Christine ROQUES-CESCHIN,

Vous avez accepté de participer à ce jury et je vous en suis extrêmement reconnaissante.

A Madame Prère

Merci de m'avoir permis de travailler dans le secteur de biologie moléculaire. Avec Laurent, vous avez toujours été d'une profonde gentillesse envers moi.

A Ricardo Gonzalez,

Merci Ricardo pour ton aide et ta disponibilité, tu as toujours répondu à mes interrogations et je t'en suis extrêmement reconnaissante.

A tous les biologistes et les techniciens, des services d'Hématologie, de Bactériologie, de Biochimie et de Parasitologie-Mycologie : Pour tout ce que vous m'avez appris, au plaisir que j'ai eu à venir travailler à vos cotés. En particulier merci à Jean-Marie, Samir, Christelle, Sophie pour l'attention que vous nous portez, Frédérique, Felipe, Julie, Pamela, Xavier, Damien... j'ai apprécié votre disponibilité, votre encadrement et votre gentillesse durant tout mon internat.

A mes très chers parents

Pour tout l'amour partagé, votre présence et votre soutien, incommensurables... je vous remercie de tout cœur.

A mes grands-parents chéris,

Je pense souvent à vous...

Mes chers frères,

Vous avez forgé mon caractère toutes ces années... Pour vos espiègleries (souvent) et votre tendresse (parfois), je vous remercie. J'ai besoin de vous (toujours...)

Tonton et Tata,

Que je suis heureuse que vous soyez là aujourd'hui ! Merci tonton pour ta relecture et tata pour ta peinture... Vous êtes tellement précieux à notre petite famille !

A mes chers cousins, vivement le prochain Noël ou peut être avant.... Et ma Pascale : Vive Paris !...

A ma marraine Monique, des colis par milliers... merci pour ta générosité.

Aux Amis du Nord,

A Charlotte, ma première rencontre à Amiral Lejeune, tellement de souvenirs partagés, ton bonheur si fort à présent, fait aussi le mien.

A Fred, mon cher voisin du lycée, toujours là.

Noune, Tiphaine, Gallou : quelle chance de vous avoir, toutes ces soirées faritas, ou au club... à très vite.
Ma chère Mathilde, pour ta vivacité et ta joie de vivre hors du commun... RDV le 6/05 !
Abdelou, inséparables sur les bancs de la fac, au square, ou au marott... A très vite pour de nouvelles retrouvailles.
A Stéph, pour cette complicité et Valou, ancienne binôme et nouvelle voisine, à nos points communs.
Marion et Clément, votre maison est devenue un lieu incontournable lors de mes retours sur Amiens, j'ai hâte de voir le petit bonhomme maintenant...
A Julie, tiote : place aux vacances !...
Et tous les autres que j'ai parfois le plaisir de voir, ma Lulu, Adèle, (il est temps de se retrouver...) Anoura, Philippe....

Aux amis Toulousains....

A Anne-so, je n'imagine plus Toulouse sans toi.
A ma Béné, à toutes ces courses, ces fous rires, ces sazzio.... vive l'internat !! Tu me manques.
A Nathal, à cette fameuse soiree de Purpan (t'as pas fini de m'entendre le répéter), tous ces weekends au soleil... Au mois d'Août maintenant !...
A Pauline (rencontre chanceuse et folle) et Cam (Saint Malo, la piscine de Saint Malo et Saint Malo encore..), mes clounis fous, à 3 au départ... et à 2 maintenant !.. Ca me réjouit tout ça.
A Céline, vivement nos prochaines randos !... et tes futures crèmes brûlées !... Merci de nous avoir présenté Charlène cool...
A Aurore mon pti, et Marie, mes collocs....deux ans déjà... merci d'être là, et à toi aussi Lucie de Saint Gau, grâce à qui je les ai rencontrés !!
....Immigrées et musiciennes : Louise, à quand la prochaine session maman ? Ornella, pour toutes nos remontés de la rue delpech.... et Merryyyyyy, quelle chance extra de te retrouver Et quel talent !... Aux prochains verres, aux prochains concerts....
A Sarah, au menu ce soir: quinoa ou rice-coker... merci pour ces bons souvenirs, et d'être là aujourd'hui.
A Yamen, Marion et moutmoutch, pour tous les bons moments passés et à venir..

A mes cointernes :

A Meriem, la bioch nous a unis. A Yvan et Guillaume, pour votre bonne humeur et votre complicité, ma ptite Anne, Arnaud, Jess, Romain, Valentine, Laura, Lulu, Alice-Anne et Shéshé (les inséparables), Benoît l'hygiéniste ensoleillé, Manu (et ça tranaille...), Thierry, PY, Gabriel, et Aude (pour avoir partagé avec moi la douche, la nourriture, le bureau, les draps... et la côte du vignet tant qu'à faire !), Caro et jef, Marie et Vincent les Séniors, Youssef (mon pneu est toujours crevé..), Thomas, Julien, Agnès la maman, Laurie, Barnabé, Christophe et Carole... A tous ces bons moments partagés

A Thomas brungs, (et coucou !), Baptiste et Sanaa heureusement que vous étiez là !

A tout ceux que j'ai eu la chance de rencontrer pendant ou à l'internat, dont David, Michal, Albertine et Pamela, Isa, puis la deuxième génération, Jen et Flo, la funky Léa et Jean fluffy, Serri la star, Jérôme, Ludo, Catherine....

Au Laboratoire de Saint Gaudens, aux secrétaires Cathy, Nono, Elodie, les femmes fortes !! A toutes les techniciennes pour votre simplicité et votre humour. Merci à François bien sur, Marie, Bénédicte et Véro pour votre accueil et votre confiance ! Cette année passée avec vous est inoubliable.

A tous les copains de Saint Gau, Emma (la plus belle), Helo, Céline, Clément (la famille), Toto, Guillaume mon voisin et aussi Anais, Marie,.... toutes ces soirées, mon transat.... Merci à vous et à bientôt !

ABREVIATIONS

ADN : acide désoxyribonucléique.

AT : aspiration trachéale

BC : Blood Culture

BGN : bacilles à Gram négatif

BLSE : Béta-Lactamase à Spectre Etendu

C1G, C2G, C3G, C4G : céphalosporines de 1^{ère}, 2^{ème}, 3^{ème} ou 4^{ème} génération

CDC : Centre for Disease Control

CEPD : céphalosporinase déréprimée

CGP : cocci à Gram positif

CIA : *Streptococcus constellatus-intermedius-anginosus*

CMI : Concentration Minimale Inhibitrice

COS : Gélose Columbia + 5% de sang de mouton

CTX : Céfotaxime

DVE ou EVD : Dérivation ventriculaire externe

FICI : Index de concentration inhibitrice fractionnée

FOS : Fosfomycine

GSC : Score de glasgow

HACCEK : Haemophilis aphrophilus, Actinobacillus actinomycetemcomitans, Cardiobacterium hominis, Capnocytophaga canimorsus, Eikenella corrodens, Kingella kingae

KP : *Klebsiella pneumoniae*

LCD : Liquide de dérivation

LCR : Liquide céphalorachidien

MICBSP : MICRObiologie Bactériologie Sans Papier (système de traçabilité en Bactériologie)

mL : millilitre

OR : Odds ratio

ORL : Otorhinolaryngée

PBP : « Penicillin Binding Protein »

PCNSI : Infection du système nerveux central post chirurgical

PLP : Protéine Liant les Pénicillines

PVX : gélose Chocolat PolyViteX

SA : *Staphylococcus aureus*

SARM : *Staphylococcus aureus* résistant à la méticilline

SCN : Staphylocoque à coagulase négative

SCNMR : Staphylocoque à coagulase négative résistant à la méticilline

SCNMS : Staphylocoque à coagulase négative sensible à la méticilline

SE : *Staphylococcus epidermidis*

SFAR : Société Française d'Anesthésie et de Réanimation

SIL : Système Informatique de Laboratoire

SMR : Staphylocoque résistant à la méticilline

SNC : Système Nerveux Central

SSTI : Skin et Soft Tissue Infection

UFC : Unité Formant Colonie

µL : microlitre

VAN : Vancomycine

VPN : Valeur prédictive négative

VPP : Valeur prédictive positive

VPS : Shunt ventriculopéritonéal

TABLEAUX ET FIGURES

TABLEAUX

<u>Tableau I</u> : Techniques neurochirurgicales pour minimiser les risques de méningites post opératoire	16
<u>Tableau II</u> : Quelques exemples de la littérature de l'épidémiologie bactérienne des méningites	20
<u>Tableau III</u> : Quelques exemples de la littérature de l'épidémiologie bactérienne des abcès	27
<u>Tableau IV</u> : Bactéries détectées chez 51 patients (séquençage de l'ADN 16S ribosomal)	28
<u>Tableau V</u> : Epidémiologie bactérienne et sensibilité aux différents antibiotiques chez 41 patients ^a sans matériels de dérivation, d'après Bels et al. ¹	33
<u>Tableau VI</u> : Epidémiologie bactérienne et sensibilité aux différents antibiotiques chez 65 patients ^a avec matériels de dérivation d'après Bels et al. ¹	33
<u>Tableau VII</u> : Recommandations du traitement antibiotique empirique des méningites nosocomiales selon l'origine de l'infections, d'après Thunkel et al. ^{2,3}	35
<u>Tableau VIII</u> : Proposition d'une antibiothérapie probabiliste des abcès cérébraux selon leur orgine ; d'après Arlotti et al. ⁴	37
<u>Tableau IX</u> : Profils de résistance naturelle et acquise des Entérobactéries aux bêta-lactamines	41
<u>Tableau X</u> : Nombre de prélèvements des LCR/LCD positifs par année entre 2008 et 2014	50
<u>Tableau XI</u> : Valeurs cytologiques et biochimiques des LCR	53
<u>Tableau XII</u> : Valeurs du CELL INDEX en fonction des bactéries responsables de la méningite.	54
<u>Tableau XIII</u> : Description des cas où la culture des SCN était supérieure à 72h	62
<u>Tableau XIV</u> : Nombre de prélèvements positifs des pus profonds par année entre 2008 et 2014	67
<u>Tableau XV</u> : Bactéries retrouvées dans les empyèmes entre 2008 et 2014	73
<u>Tableau XVI</u> : Type des prélèvements profonds dans lesquels a été retrouvé <i>S.aureus</i>	77
<u>Tableau XVII</u> : Consommation (en euros) entre 2011 et 2014 des formes injectables de cefotaxime, ceftriaxone, ceftazidime, cefepime, vancomycine, métronidazole, fosfomycine	81
<u>Tableau XVIII</u> : Biochimie des LCR des 10 patients inclus	82
<u>Tableau XIX</u> : Caractéristiques des 17 patients avec méningites à Entérobactéries entre 2010 et 2014	83

FIGURES

<u>Figure 1</u> : Principaux mécanismes de survenue des méningites nosocomiales et principaux sites d'infections	17
--	----

<u>Figure 2</u> : Composition de la cassette SCCmec et synthèse d'une nouvelle PLP : PLP2a (d'après Rybak et al., 2005, Pharmacotherapy).	42
<u>Figure 3</u> : Pourcentage des différents nombres de prélèvements retrouvés chez les patients entre 2008 et 2014	51
<u>Figure 4</u> : Pourcentage de patients infectés par catégories de bactéries principales par années	51
<u>Figure 5</u> : Représentation des valeurs de la protéinorachie selon le type de bactérie	54
<u>Figure 6</u> : Représentation des valeurs du rapport glycorachie/glycémie selon le type de bactérie.	55
<u>Figure 7</u> : Représentation des valeurs des lactates selon le type de bactéries	56
<u>Figure 8</u> : Représentation en pourcentage des éléments de la formule de tous les LCR pour lesquels une formule a été réalisé	56
<u>Figure 9</u> : Nombres de prélèvements positifs par années par bactéries principales dans les LCR/LCD	56
<u>Figure 10</u> : Nombres de prélèvements positifs par bactéries « autres » dans les LCR /LCD	57
<u>Figure 11</u> : Pourcentage de différentes espèces bactériennes retrouvées dans les prélèvements positifs de LCR /LCD parmi les patients infectés entre 2008 et 2014	58
<u>Figure 12</u> : Nombres des différentes espèces de Staphylocoques à coagulase négative entre 2008 et 2014 dans les LCR /LCD entre 2008 et 2014	59
<u>Figure 13</u> : Nombres de <i>S.aureus</i> et de SCN et leur sensibilité aux antibiotiques (mécilline, fosfomycine et vancomycine) entre 2008 et 2014	59
<u>Figure 14</u> : Evolution des résistances à la métiline et la fosfomycine chez les staphylocoques entre 2008 et 2014 dans les LCR /LCD	60
<u>Figure 15</u> : Evolution de <i>staphylococcus epidermidis</i> résistant à la métiline et à la fosfomycine entre 2008 à 2014	60
<u>Figure 16</u> : Pourcentage du temps de pousse des cocci à gram + entre 2008 et 2014 dans les LCR/LCD	61
<u>Figure 17</u> : Répartition des différentes entérobactéries entre 2008 et 2014 dans les LCR/LCD	63
<u>Figure 18</u> : Nombres d'entérobactéries et profils de résistances aux C3G entre 2008 et 2014 dans les LCR/LCD	63
<u>Figure 19</u> : Profils de résistances de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> entre 2008 et 2014 dans les LCR /LCD	64
<u>Figure 20</u> : Nombre de souches <i>P.acnes</i> selon leur temps de pousse entre 2008 et 2014 dans les LCR/LCD	66
<u>Figure 21</u> : Pourcentage de patients potentiellement infectés par catégories de bactéries principales par années dans les pus profonds	67

<u>Figure 22</u> : Nombres de prélèvements positifs par bactéries et par année dans les prélèvements monomicrobiens	68
<u>Figure 23</u> : Nombre des différentes espèces de bactéries retrouvées uniquement dans les infections monomicrobiennes entre 2008 et 2014	69
<u>Figure 24</u> : Nombres de prélèvements positifs par bactéries dans les infections mixtes des abcès entre 2008 et 2014	69
<u>Figure 25</u> : Nombres des différentes bactéries retrouvées uniquement dans les infections pluri microbienne des abcès entre 2008 et 2014	70
<u>Figure 26</u> : Répartition des streptocoques CIA par années dans les abcès	71
<u>Figure 27</u> : Répartition des staphylocoques à coagulase négative en fonction des années dans les abcès	72
<u>Figure 28</u> : Répartition des différentes entérobactéries par années dans les abcès	72
<u>Figure 29</u> : Nombres d'entérobactéries et profils de résistances aux C3G dans les abcès	73
<u>Figure 30</u> : Nombres de prélèvements positifs par bactéries et par année dans les prélèvements monomicrobien des pus autres (avec les prélèvements stériles et mixtes)	74
<u>Figure 31</u> : Pourcentage des bactéries retrouvées uniquement dans les infections monomicrobiennes entre 2008 et 2014 dans les pus autres	75
<u>Figure 32</u> : Nombres de prélèvements positifs par germes et par année entre 2008 et 2014 dans les prélèvements plurimicrobiens des pus autres	75
<u>Figure 33</u> : Pourcentage des bactéries retrouvées uniquement dans les infections plurimicrobiennes entre 2008 et 2014 des pus autres	76
<u>Figure 34</u> : Evolution des résistances à la méticilline entre 2008 et 2014 de <i>S.aureus</i> dans les pus autres	78
<u>Figure 35</u> : Répartition des différentes entérobactéries en fonction des années (M= monomicrobien P=Plurimicrobiens) dans les pus profonds « autres »	79
<u>Figure 36</u> : Nombres d'entérobactéries et profils de résistances aux C3G entre 2008 et 2014 dans les pus autres	79
<u>Figure 37</u> : Algorithme pour le management de patients suspectés de méningites ⁵	114
<u>Figure 38</u> : Diagramme de placement des bandes pour la méthode de synergie par E test ⁵	115
<u>Figure 39</u> : cas de discordance n°1 avec une souche de SARM.	118
<u>Figure 40</u> : Cas de discordance n°2 avec une souche de SARM.	119

1 INTRODUCTION

Les infections en Neurochirurgie ne sont pas fréquentes mais sont des pathologies à prendre en charge en Urgence et potentiellement graves. Elles posent des problèmes en termes de diagnostic et de traitement. Elles allongent la durée d'hospitalisation, sont responsables d'une morbidité importante, et imposent une antibiothérapie avec ses conséquences inhérentes.

Dans ce travail, nous avons d'abord étudié l'épidémiologie bactérienne concernant les prélèvements de méningites et d'abcès cérébraux, pour les prélèvements réalisés dans les différents services de Neurochirurgie du CHU de Toulouse, pour la période 2008-2014, à travers un recueil rétrospectif. Les objectifs principaux et indépendants qui en découlaient, étaient :

- **Connaitre la justification de l'utilisation du méropénème comme traitement probabiliste, notamment dans les méningites nosocomiales suspectées à Entérobactéries** à travers l'épidémiologie locale retrouvée et aussi à travers une étude rétrospective de 17 dossiers patients. Cette étude a ainsi été menée sur le traitement des méningites nosocomiales à Entérobactéries observées au CHU de Toulouse entre 2010 (date de la mise en place du protocole des infections probabilistes en Neurochirurgie) et 2014.

La consommation du méropénème ayant augmenté largement entre 2010 et 2014 sur l'ensemble du CHU de Toulouse, la question se posait de connaître la justification de son utilisation en traitement probabiliste en Neurochirurgie, notamment dans le traitement des méningites nosocomiales. A l'heure actuelle, chaque établissement de santé tente de mettre en place une stratégie d'épargne des carbapénèmes. Nous voulions donc savoir si le traitement probabiliste couvrant les Entérobactéries, était adapté à l'écologie locale et dans un deuxième temps, voir si la réévaluation de l'antibiothérapie était effectuée à 48-72 h après obtention de l'identification et/ou de l'antibiogramme de la bactérie en cause.

A travers le recueil épidémiologique, nous nous sommes aussi posé la question de la justification de l'utilisation de la vancomycine ou du linézolide comme traitement probabiliste dans les méningites nosocomiales suspectées à Staphylocoques. Depuis 2011, la fosfomycine était contingentée pour cause de difficulté de fabrication. Son utilisation avait été remplacé par la vancomycine pour couvrir les cocci à Gram positif, et parfois même par du linézolide.

- **Valider une méthode de biologie moléculaire automatisée, le test Xpert MRSA/SA SBTI (CEPHEID), pour la détection dans les LCR /LCD de *S.aureus* et du gène *mecA* de l'ensemble des staphylocoques. Puis évaluer l'intérêt de cette technique dans le diagnostic des méningites nosocomiales.** Cette évaluation a été menée suite à une étude réalisée en Neurochirurgie concernant le surcoût lié à l'antibiothérapie probabiliste active sur le SARM. En effet, le surcoût lié à l'antibiothérapie probabiliste par vancomycine sur un *S. aureus* résistant à la méticilline (SARM) ou un Staphylocoque à Coagulase Négative (SCN)

résistant à la méticilline (SCN-MR) pour une durée de 5 jours a été estimé à 25,20 euros. A cela, s'ajoute les 3 dosages réalisés lors de la première semaine à 56,70 euros, le coût de la pose de la voie veineuse centrale (VVC) à 16,5892 euros, la radiographie pulmonaire de contrôle de la VVC au minimum à 31,92 euros, soit un surcoût moyen de 130,40 euros tandis que le coût diagnostique par biologie moléculaire est d'environ 35 euros. L'intérêt potentiel réside aussi dans la rapidité de la réponse, en théorie en moins de 75 minutes. L'hypothèse est donc, que l'utilisation des techniques de biologie moléculaire pour la détection des bactéries résistantes à la méticilline, lors des infections nosocomiales du système nerveux central, permettrait de diminuer le surcoût d'une antibiothérapie probabiliste par glycopeptides.

Ainsi, nous présenterons dans ce document dans un 1^{er} temps une revue de la bibliographie sur les infections en Neurochirurgie (méningites nosocomiales, abcès cérébraux, empyèmes), les stratégies diagnostiques proposées ainsi que les antibiothérapies recommandées. Puis, dans un 2^{ème} temps, nous présenterons les résultats épidémiologiques obtenus pour la période 2008-2014 : type de bactéries retrouvées, fréquence, résistance aux antibiotiques... Dans une 3^{ème} partie, nous exposerons la validation de méthodes réalisées pour la PCR Xpert MRSA/SA SSTI sous forme du SH FORM44 recommandé par le COFRAC ; ainsi que les 1ers résultats obtenus pour les patients inclus dans l'étude. Enfin, nous finirons par une discussion/conclusion sur l'antibiothérapie probabiliste proposée au vu des résultats épidémiologiques ; et les avantages/inconvénients de la PCR dans le diagnostic des infections à staphylocoques.

BONNE LECTURE !

2.1 LES DIFFERENTS TYPES D'INFECTIONS EN NEUROCHIRURGIE

2.1.1 INFECTIONS DU SITE OPERATOIRE

On regroupe les infections (du) des site(s) chirurgical(aux) selon Korinek⁶, d'après les « guidelines of the Center for Disease Control » en **infection du scalp, ostéite du volet osseux, méningite, empyème (extra ou sous-dural) et abcès cérébral**. L'infection sous-cutanée n'a pas de caractéristiques spécifiques dans le cadre de la Neurochirurgie. On retrouve également en Neurochirurgie, les **infections dues aux matériels** tels que les ventriculites liés à la présence d'une dérivation ventriculaire externe ou aux dérivations internes. D'après la SFAR (Société Française d'Anesthésie et de Réanimation), les infections du site opératoire, survenant au décours d'une intervention neurochirurgicale, regroupent les **infections superficielles (abcès de paroi et ostéites du volet osseux) et les infections profondes (méningites postopératoires, ventriculites, abcès et empyèmes postopératoires)**. Le pronostic fondamentalement différent de ces deux entités impose de bien les différencier, même si leur physiopathologie est identique. En effet, l'infection neuroméningée est particulière dans ce contexte post-opératoire, de part sa potentielle gravité liée à la localisation dans ou au contact du système nerveux central.⁷

L'incidence des infections neuroméningées est relativement faible de l'ordre de 1,7 pour 10 000 admissions à l'hôpital. En service de Neurochirurgie, son incidence est variable selon les séries de la littérature et est de l'ordre de 1 à 10 %⁷. De façon synthétique, il est possible de distinguer les infections neuroméningées précoces qui surviennent dans les 10 premiers jours postopératoires, des infections tardives qui surviennent au-delà⁷. Une étude récente a cependant trouvé une incidence inférieure, avec une incidence totale de 0,8% pour l'ensemble des infections neurochirurgicales post-opératoires : 0,3% de méningite bactérienne et 0,2% d'abcès cérébraux,⁸ avec comme principaux pathogènes retrouvés *S. aureus* dans 50% des cas et *Propionibacterium acnes* dans 25% des cas.^{6,8}

Les facteurs de risques d'infection post opératoire après crâniotomie (analyses multivariées), sont le sexe masculin, les causes de l'intervention chirurgicale (méningiome et métastase cérébrale), le chirurgien, l'absence d'antibioprophylaxie, la durée de la chirurgie (> 4 h), la réintervention précoce, et la fuite du LCR.⁶ A noter que la fuite du LCR et le sexe masculin n'ont pas été retrouvés comme facteurs de risques dans une étude plus récente⁸.

Nous allons définir plus particulièrement les méningites d'une part et les abcès cérébraux d'autre part (mais aussi bien communautaires que post-opératoires car nous pouvons retrouver les 2 types en Neurochirurgie) qui sont les infections profondes pour lesquelles nous avons étudié l'épidémiologie au CHU de Toulouse, pour la période 2008-2014.

2.1.2 MENINGITE ET INFECTIONS SUR DERIVATION

Bien que l'incidence des méningites post-opératoires soit faible (de 0,3 à 4%), elles peuvent s'accompagner d'une mortalité importante (20 à 50%).^{6,8,9} Les méningites nosocomiales en Neurochirurgie sont retrouvées avec une incidence de 0,8% à 1,5% en post-crâniotomie^{8,10}; ces méningites sont rencontrées suite à une résection de tumeurs ou suite à un traumatisme avec plaie ouverte mais le plus souvent en présence d'une dérivation ventriculaire externe.^{10,11} Le taux d'infection liée à une dérivation varie de 1,8 à 27%^{8,12,13}. La haute variabilité des taux d'infections reflète partiellement les critères de définitions non standardisés, les populations de patients hétérogènes, et les variations des techniques des laboratoires pour la culture du LCR et des DVE. Les infections sur dérivation peuvent être classées en précoces ou tardives selon qu'elles surviennent avant ou après la première année de chirurgie. Les infections précoces sont souvent causées par des germes de la flore cutanée introduits lors de la chirurgie, et les infections tardives, moins fréquentes (1% annuellement) sont plutôt secondaires à une péritonite ou à une diffusion hémotogène des bactéries suite à une infection secondaire.¹⁴

2.1.2.1 ORIGINE ET FACTEURS PREDISPOSANTS

A. CRANIOTOMIE

Suite à une crâniotomie, en cas de méningites, les signes cliniques apparaissent dans un tiers des cas dans la 1^{ère} semaine après la chirurgie, un tiers dans la 2^{ème} semaine, et un tiers après la deuxième semaine avec quelques cas dans l'année suivant la chirurgie initiale. Le risque de méningites post-opératoires peut être minimisé par des techniques chirurgicales minutieuses (*Tableau I*) notamment celles qui diminuent la probabilité de fuite du LCR. Les autres facteurs associés avec le développement d'une méningite en post-crâniotomie sont une infection au site d'incision, et une durée de chirurgie de plus de 4 heures.¹⁰

B. CATHETER VENTRICULAIRE INTERNE

L'incidence des méningites liée à la mise en place d'un cathéter ventriculaire interne, souvent utilisé en cas d'hydrocéphalie, varie de 4 à 17%.^{15,16} Le facteur de risque le plus important est la colonisation du cathéter au moment de la chirurgie, la majorité des infections se manifestant dans un délai d'1 mois après la chirurgie.^{15,16}

C. CATHETER VENTRICULAIRE EXTERNE (OU DERIVATION VENTRICULAIRE EXTERNE, DVE)

Les cathéters ventriculaires externes sont utilisés pour le suivi de la pression intracrânienne ou la dérivation temporaire du LCR d'un système ventriculaire obstrué ou comme approche de traitement pour les cathéters internes infectés. Le taux d'infection lié à la présence d'une DVE est approximativement de 8%.¹⁷ Il est rapporté que le risque d'infections s'accroît avec l'augmentation de la durée de drainage, mais l'ampleur de l'augmentation par unité de temps est incertaine.¹⁷

Tableau I : Techniques neurochirurgicales permettant de minimiser les risques de méningite post-opératoire, d'après van de Beek et al.³

<p>Avant la chirurgie</p> <ul style="list-style-type: none"> • Laver les cheveux du cuir chevelu, enlever la saleté et les débris, et couvrir les plaies ouvertes avec un pansement propre • Couper les cheveux mais ne pas raser. • Utiliser de la chlorexidine ou une préparation à base d'iode • Draper le site chirurgical avec des champs adhésifs et un film adhésif transparent pour éviter au matériel implantable d'entrer en contact avec la peau exposée • Maintenir le champ stérile avec des techniques aseptiques rigoureuses • Administrer des antibiotiques en prophylaxie pour atteindre des concentrations tissulaires adéquates avant l'incision.
<p>Pendant la chirurgie</p> <ul style="list-style-type: none"> • Minimiser l'hémorragie et le traumatisme des tissus, éviter l'hypothermie à moins qu'elle ne soit volontairement induite. • Retirer les tissus dévitalisés, grossièrement contaminés et les petits fragments d'os • Utiliser une double paire de gants lorsque vous manipulez des dispositifs implantables • Irriguer le champ opératoire avec une solution physiologique stérile réchauffée • Effectuer une hémostase chirurgicale prudente, pour éviter les hématomes de plaies postopératoires • Positionner les dispositifs de drainage du LCR de façon à maintenir un écoulement continu du liquide ; faire en sorte que le site de sortie soit positionné pour qu'il n'y ait pas de fuite autour de l'écoulement du liquide céphalo-rachidien ; s'assurer que le cathéter passe par un tunnel à partir du site d'insertion et fixé sur la peau, de sorte qu'il ne puisse pas être délogé et qu'il soit relié solidement à un système de drainage stérile ; prélever le LCR dans des conditions stériles. • Fermer la peau avec soin, les bords de la plaie fixés pour empêcher la fuite de LCR, mais avec une bonne perfusion de la peau; éviter de passer le matériel directement sous l'incision
<p>Après chirurgie</p> <ul style="list-style-type: none"> • Utiliser des drains percutanés pour recueillir l'hémorragie post-opératoire; s'assurer que les drains soient tunnelisés de sorte qu'il n'y ait pas de fuite et qu'ils ne puissent pas être délogés. • Appliquer un pansement barrière si nécessaire, en particulier pour empêcher le patient d'ouvrir la plaie par inadvertance • Éviter de mettre une pression sur la plaie dans la période post-opératoire; prendre des mesures pour prévenir les escarres dans d'autres domaines.

Bien qu'une étude ait montré une augmentation du risque infectieux après 5 jours de drainage externe¹⁷ (avec un pic entre 9 et 11 jours), un essai randomisé et prospectif a montré que changer le cathéter tous les 5 jours n'était pas nécessaire et que le cathéter pouvait être laissé en place plus longtemps sans qu'il n'y ait d'augmentation du risque infectieux.¹⁸ Comme l'infection peut être acquise par l'introduction de bactéries après l'insertion d'un nouveau cathéter, changer un cathéter non infecté pourrait ainsi augmenter le risque infectieux. Les autres facteurs de risques sont les manipulations répétées du cathéter, la technique d'insertion, la durée de cathétérisation, la fuite du LCR, le blocage du drain, la survenue d'une hémorragie intraventriculaire.^{3,11}

D. CATHETERS LOMBAIRES EXTERNES

Les cathéters lombaires externes sont placés le plus souvent pour aider au diagnostic d'hydrocéphalie à pression normale et ils ont été associés aux méningites avec des taux allant jusqu'à 5%¹⁹. Les facteurs de risques associés à ce type de cathéters sont la déconnection avec le système de drainage externe et la présence d'autres infections. Mais une étude récente, incluant 233 patients, a trouvé un taux bas de 0,8%. Les investigateurs utilisaient un protocole très strict qui minimisait le risque d'infection (pas de ponction de surveillance du LCR, drainage du LCR pour un maximum de 5 jours, reconnection stérile après déconnection ou cassure du drain, et retrait permanent du cathéter après une seconde déconnection ou cassure).¹⁹

E. TRAUMATISME CRANIEN

L'incidence des méningites, après traumatisme crânien, modéré ou sévère, est estimée à 1,4%²⁰. Les fractures ouvertes sont des complications des blessures de la tête et ont été associées avec un taux de méningites allant de 2 à 11%.²¹. La majorité des patients qui développent une méningite, suite à une fracture fermée du crâne, ont une fracture au niveau basilaire qui est responsable d'une connection entre l'espace sous arachnoïdale et la cavité sinusale. Elle est associée à une augmentation du risque d'infection; taux d'infection qui est rapporté jusqu'à 25% avec un temps médian entre la blessure et le début de la méningite de 11 jours. La fuite du LCR est le principal facteur de risque, bien que la plupart des fuites après blessure ne soient pas reconnues.^{22,23} La plupart se résolvent spontanément dans les 7 jours, mais une intervention chirurgicale est indiquée si la fuite se poursuit. **Les traumatismes crâniens sont la cause la plus importante des méningites bactériennes récurrentes.**²⁴

F. PONCTION LOMBAIRE

Les méningites qui se développent après ponction lombaire surviennent avec une fréquence d'environ 1 pour 50 000 cas, avec environ 80 cas annuellement aux Etats Unis. La majorité des cas survient après une anesthésie ou une myélographie vertébrale. Une diminution du risque est constatée en cas de respect strict des conditions d'asepsie et si les opérateurs utilisent des masques et des chapeaux lors de la réalisation de l'anesthésie ou de la myélographie.²⁵

La *Figure 1* récapitule les principaux mécanismes de survenue des méningites nosocomiales.

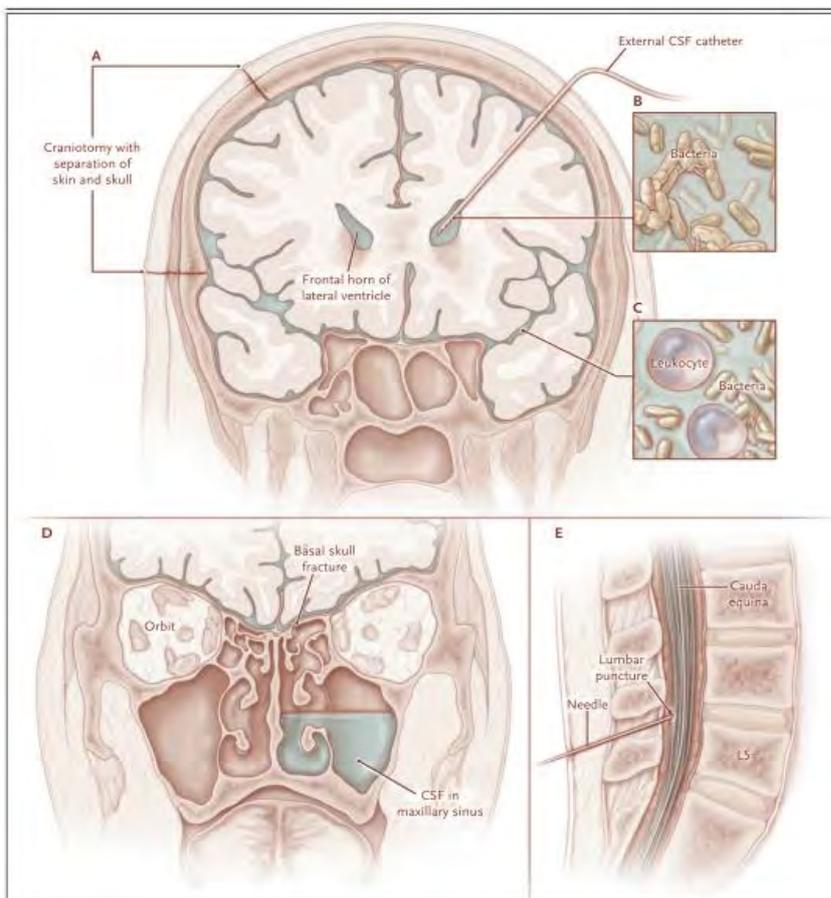


Figure 1 : Principaux mécanismes de survenue des méningites nosocomiales et principaux sites d'infection. A : infection après craniotomie ; B et C : infection sur dérivation ; D : infection par communication avec le nasopharynx après traumatisme crânien. Figure adaptée d'après³.

En résumé : les causes de méningites nosocomiales sont multiples. Les plus fréquentes sont liées aux gestes chirurgicaux, en particulier lorsque du matériel (dérivation interne ou externe) est posé.

2.1.2.2 CLINIQUE

La **fièvre et l'altération de la conscience** sont les deux signes les plus souvent retrouvés^{15,22,24-26} bien qu'ils soient non spécifiques et difficiles à reconnaître chez les patients sédatisés, qui viennent juste de subir une neurochirurgie, ou qui ont une maladie sous-jacente qui peut masquer les symptômes.²⁷ Dans une étude de 2007 sur 50 cas de méningites nosocomiales de l'adulte, la triade fièvre/raideur méningée/troubles de la conscience étaient présents dans 76% des cas, les céphalées dans 71% des cas, les nausées dans 74% des cas, la raideur méningée dans 83% des cas, une température >38°C dans 76% des cas et les troubles de la conscience dans 41% des cas.²⁸ Les infections associées à des dérivations peuvent causer des symptômes non spécifiques comme une fièvre peu élevée ou un malaise général. Les signes d'irritation méningée sont observés dans moins de 50% des cas. Symptômes et signes infectieux peuvent aussi être en rapport avec la partie distale de la dérivation (ex : péritonite ou bactériémie).

2.1.2.3 PATHOGENES

Les bactéries retrouvées dans les méningites nosocomiales varient selon la pathologie et le délai/site de l'infection primaire en cas de diffusion hémotogène.^{8,10,22,23,25} Les méningites se développant après neurochirurgie ou chez un patient ayant une hospitalisation prolongée pour traumatisme crânien ou fracture du crâne basilaire, peuvent être causées par des Staphylocoques ou des bacilles à Gram négatif aérobies strictes ou aérobies-anaérobies facultatifs. Concernant les patients pour lesquels un matériel a été introduit (ex : DVE), les méningites sont souvent causées par des bactéries de la flore cutanée comme les Staphylocoques à Coagulase Négative (SCN) et *Propionibacterium acnes*. La plupart des cas de méningites consécutives à une fracture du crâne basilaire ou précocement, après une chirurgie ORL, est causée par des bactéries qui colonisent le nasopharynx, comme le pneumocoque.³ Le lien cause de méningite/pathogène potentiellement impliqué est important à considérer dans l'approche de l'antibiothérapie probabiliste.

Thompson et Albright ont montré que *P. acnes* représentaient environ 15% des infections du LCR, avec une leucocytose très modérée voire absente et des valeurs de glycorachie et protéinorachie relativement normales. Ces infections sont peut-être sous-diagnostiquées car la culture est difficile et longue. Ainsi les cultures devraient être conservées jusqu'au 14^{ème} jour¹. Une étude originale³⁰ en 2013 utilisant une technique de pyroséquencage haut débit de l'ARN 16S a montré qu'il existait un microbiote dans les infections récurrentes sur dérivation externe chez les enfants, comprenant de nombreuses espèces bactériennes, dont des germes anaérobies, et des champignons. La composition du microbiote change au

fur et à mesure du traitement antibiotique et des interventions chirurgicales, mais la persistance d'un microbiote, malgré l'antibiothérapie, suggère la présence d'un biofilm ; reste à établir ultérieurement quels sont les liens entre ce microbiote, la réponse au traitement et les réinfections (fréquentes en pédiatrie).

Le *Tableau II* donne des exemples de l'épidémiologie retrouvée dans la littérature.

Tableau II : Quelques exemples de la littérature de l'épidémiologie bactérienne des méningites.

Titre	Auteur	Année	Résultats / Bactériologie	Techniques	type infection
The management of neurosurgical patients with postoperative bacterial or aseptic meningitis or external ventricular drain-associated ventriculitis	Anonymous	2000	<i>E. coli</i> , <i>K. pneumoniae</i> , <i>P. aeruginosa</i> , <i>Acinetobacter</i> spp (50 à 60%) puis <i>S. aureus</i> ,... Si fuite de LCR (= rhinorrhée ou othérée) et pas de ttt prophylactique : <i>S. pneumoniae</i> et moins fréquemment autres germes du tractus respiratoire supérieur	Culture	Méningite post-opératoire
Empirical Treatment of Adult Postsurgical Nosocomial Meningitis	D. De Bels	2002	SCN 32,1%, <i>S. aureus</i> 23,6%, Entérobactéries 20,6%, autres cocci 11,3%, <i>P. aeruginosa</i> + <i>Acinetobacter</i> spp 8,5%. Incidence des staphylocoques plus élevée dans le groupe avec matériel (64,6%) contre le groupe sans matériel (41,5%) (p<0,02) et incidence des entérobactéries plus élevée dans le groupe sans matériel (31,7%) que dans le groupe avec matériel (13,8%)	Culture	Méningite nosocomiale post chirurgicale de l'adulte
Risk factors for neurosurgical site infections after craniotomy: a critical reappraisal of antibiotic prophylaxis on 4578 patients	A.M Korinek	2005	Total : 81 avec 11 <i>S. aureus</i> , 18 SCN, 4 <i>P. acnes</i> , 4 <i>P. aeruginosa</i> , 20 Entérobactéries, 10 autres CG+, 1 anaérobie, 11 cultures négatives, 2 <i>Acinetobacter</i>	Culture	Méningite après craniotomie
Nosocomial ventriculitis and meningitis in neurocritical care patients	R. Beer	2008	<i>S. epidermidis</i> 70%, <i>S. aureus</i> 10%, bg- (<i>E. coli</i> , <i>KP</i> , <i>P. aeruginosa</i>) 15%, anaérobies rares, <i>Candida</i> spp très rare	Culture	Ventriculoméningite liée à DVE
Evaluation of Microbial Bacterial and Fungal Diversity in Cerebrospinal Fluid Shunt Infection	Tamara D. Simon	2013	8 patients. séquençage haut débit : présence d'un microbiote ! (les 3 plus fréquentes : <i>Paenibacillus</i> spp, <i>Bacillus</i> spp, <i>Methylobacterium jeotgali</i> etc... mais aussi des anaérobies et des champignons) et en culture : 5 <i>S. epidermidis</i> , 1 SA+SE, 1 <i>S. lugdunensis</i> , 1 <i>S. aureus</i>	séquençage haut débit : 16S rRNA et culture	Infections du LCR associées à une dérivation (enfants < 18 ans)
Characteristics of infections associated with external ventricular drains of cerebrospinal fluid	L. Walti	2013	Monomicrobienne n=27 : SCN (17) puis <i>P. acnes</i> (4), <i>S.aureus</i> (3), autres(3). Polymicrobienne n=10 (inclut SCN (9), <i>P. acnes</i> (4), <i>Acinetobacter</i> , <i>Corynebacterium amycolatum</i> , <i>Micrococcus</i> spp, <i>Mycoplasma hominis</i> and <i>Bacillus</i> spp (chacun 1)), 11 pas d'identification	Culture	Infections du LCR associée à DVE

2.1.2.4 DIAGNOSTIC

A. NEUROIMAGERIE

La neuroimagerie est indiquée chez la plupart des patients suspectés de méningite bactérienne nosocomiale puisqu'elle permet une évaluation de la taille du ventricule et fournit des informations sur l'existence d'un dysfonctionnement de la dérivation ou si un cathéter est potentiellement contaminé. Un MSCT scanner avec des capacités de reformatages multiplanaires peut être utilisé pour localiser les fuites de LCR. La neuroimagerie peut aussi montrer les expansions de masses (hydrocéphalie, hémorragie, empyème sous dural). Ces atteintes du cerveau devraient être identifiées avant qu'une ponction lombaire soit réalisée.³

B. BIOLOGIE STANDARD

Le LCR peut être obtenu par le cathéter, pour les patients ayant un cathéter ventriculaire externe ou interne, autrement une ponction lombaire est nécessaire. Cependant, chez les patients avec une hydrocéphalie obstructive, le liquide de ponction lombaire ne reflète pas l'infection du ventricule à cause du manque de communication entre le ventricule et le liquide lombaire.

A partir du LCR, **la numération des cellules et la formule, ainsi que le dosage du glucose et des protéines, et une coloration de Gram doivent être réalisés.** Le formule leucocytaire est établie après cyto centrifugation avec coloration de MGG, elle n'est interprétable qu'à partir de 10 éléments cellulaires par mm³.³¹ Généralement, dans les méningites bactériennes, on retrouve typiquement 80-95% de polynucléaires. Un faible pourcentage de patients avec une méningite bactérienne présente une prédominance lymphocytaire (définie par une lymphocytose ou une monocytose >50%)². Dans le cas d'un LCR hémorragique, il faut interpréter le nombre de leucocytes en fonction de la contamination provenant du sang (1 leucocyte pour 700 globules rouges).³¹ Une étude comparant la coloration de Gram et la culture pour la diagnostic des méningites nosocomiales, a montré que la coloration de Gram était plus spécifique mais moins sensible que la culture.³² **La plupart des études retiennent la définition proposée par Lozier et coll. en 2002 : examen microbiologique direct positif ou culture positive avec leucocytes dans le LCR >100/mm³, protéinorachie > 0,4 g/L et ratio glycorachie/glycémie < 0,5.**^{17,33} Le rapport glycorachie/glycémie en Neurochirurgie a une sensibilité de 77% avec une spécificité de 87% dans l'étude de Leib *et al.*³⁴ Une méningite aseptique (réaction inflammatoire uniquement) est définie par les résultats négatifs de l'examen direct du LCR et par une culture négative en 72h provenant d'échantillons où l'antibiothérapie n'a pas été commencée avant la réalisation du prélèvement ; elle peut représenter jusqu'à 70% des cas de méningites post-opératoires.³⁵

Pour les infections liées à une DVE, de nombreuses études concluent sur la variation des paramètres biochimiques et soulignent qu'aucun de ces paramètres n'a de bonnes valeurs prédictives négative ou

positive, sans seuil clair établi.^{17,27} Dans un contexte d'hémorragie sous arachnoïdienne post-traumatique ou post-interventionnelle, les critères biologiques habituels deviennent tous moins spécifiques du fait de la présence de sang dans le LCR. Pfausler et coll. ont donc proposé le calcul du «CSF cell index» qui établit un ratio entre les **rapports Leucocytes/Globules Rouges dans le LCR et dans le sang : $[\text{Leuco}_{\text{LCR}}/\text{GR}_{\text{LCR}}]/[\text{Leuco}_{\text{SANG}}/\text{GR}_{\text{SANG}}]$** ³⁶. Si la présence des leucocytes dans le LCR est en relation avec le saignement, la cellularité du LCR est proche de celle du sang et cet index proche de 1. L'index augmente s'il existe un recrutement méningé de leucocytes sans rapport avec le saignement, comme au cours d'une infection méningée. Comme la clairance du sang intraventriculaire est un processus physiologique, le niveau du cell index est sujet aux fluctuations ; pour cette raison il n'est pas possible d'établir une valeur cut-off absolue pour prouver l'infection. L'augmentation significative du cell index est hautement indicative d'une ventriculite liée à la DVE chez un patient ayant une hémorragie du LCR. Dans l'étude de Pfausler, l'augmentation précédait la capacité de diagnostic par les moyens standards (culture) d'environ 3 jours.³⁶ Une culture du LCR positive sans leucocytose ou hyperprotéïnorachie est en revanche évocatrice d'une contamination de l'échantillon.

La **concentration en lactates** dans le LCR semble un outil diagnostique supplémentaire intéressant : une concentration en lactates dans le LCR supérieure au seuil de 350 mg/L (3,85 mmol/L) permet le diagnostic de méningite avec une sensibilité de 93% et une spécificité de 96%.³⁷ Une thèse récente réalisée au CHU de Toulouse évaluant l'intérêt du dosage des lactates dans le liquide céphalorachidien pour le diagnostic des méningites bactériennes en neurochirurgie propose une valeur seuil de 4,2 mmol/L. (Pierrelé C., 2014)

Le diagnostic biologique se base sur le résultat de la culture aérobie et anaérobie (obligatoire). De plus, la culture doit avoir une période d'incubation prolongée avant d'être confirmée comme négative. Dans le cas général des LCR, le REMIC³¹ recommande d'ensemencer une gélose au sang cuit, supplémentée en facteurs de croissance, et une gélose au sang, incubée toutes les deux à 35°C sous une atmosphère de 5 à 10% de CO₂, ainsi qu'un milieu d'enrichissement (cœur cerveau ou équivalent) incubé à 35°C en atmosphère ambiante. Dans le cas particulier de contexte de chirurgie ORL, de neurochirurgie, ou de traumatisme crânien ou facial, il faut rechercher aussi les anaérobies (milieu liquide et gélose au sang) au minimum pendant 10 jours.

Ayant fait l'hypothèse que les bactéries forment un biofilm sur le cathéter, Walti *et al.* (52nd Interscience Conference of Antimicrobial Agents and Chemotherapy, Abstract 1577) ont testé la **sonication des DVE ou des drains**, comparée à la culture du LCR, dans le but d'améliorer la sensibilité. La culture de la DVE retirée et soniquée a permis une croissance bactérienne plus fréquente dans 13 cas sur 18 (72%) par rapport à la culture du LCR ventriculaire (7 cas sur 18, soit 39%) ($p < 0,001$)¹⁵. Jost *et al.* confirment aussi la supériorité de cette méthode (9 cas sur 14 soit 74% contre 2 sur 14 soit 14% avec $p < 0,05$)³⁸. Sur ces 14 patients, 5 présentaient une méningite selon les critères du CDC, soit 4 dont la culture du cathéter soniqué

était positive, contre 2 avec la culture du LCR standard. Neuf patients ne présentaient pas les critères de CDC pour la méningite ; cependant 5 de ces 9 patients avaient une culture de cathéter soniqué positive (pour 2 patients le traitement antibiotique était discuté). Deux de ces 5 patients sont restés asymptomatiques et les 3 autres ont subi un retrait du cathéter ou ont reçu une antibiothérapie. En conclusion, chaque culture positive avec plus de 50 CFU/mL devrait faire suspecter la manifestation ou le développement d'une méningite. **Les résultats de sonication pourraient améliorer le diagnostic des infections précoces liées à la DVE ou éliminer une méningite équivoque.**³⁸

Ainsi, un effort doit être fait pour définir ce qu'est une réelle infection du LCR, ce qu'est une ventriculo-méningite et différencier les infections d'une contamination et d'une colonisation de cathéter. La colonisation du cathéter de drainage ventriculaire externe est définie par de multiples cultures positives avec des résultats normaux de LCR, et l'absence de signes cliniques significatifs autres que la fièvre. Des résultats anormaux du LCR, comme une pléiocytose en l'absence de cultures positives caractérisent une suspicion d'infection liée à la DVE, tandis qu'une ventriculo-méningite est définie par une culture positive avec des résultats anormaux du LCR accompagnés de signes cliniques ou symptômes appropriés, ainsi qu'une confirmation par l'imagerie.^{17,11}

En résumé : les éléments biologiques du diagnostic d'une méningite nosocomiale sont les mêmes que pour une méningite communautaire, à savoir : numération/formule des leucocytes, rapport leucocytes/hématies, glycorachie/glycémie, protéinorachie. Le « CSF cell index » peut être utile, en particulier en cas d'hémorragie méningée ; et la concentration en lactates est un test complémentaire très intéressant.

C. PLACE DE LA BIOLOGIE MOLECULAIRE

Banks *et al.*³⁹ ont évalué la PCR pour la détection rapide des infections sur cathéter de dérivation ou dans les cas de ventriculostomie. Dix-huit prélèvements de LCD sur 86 étaient positifs en culture et en PCR avec des bactéries à Gram positif (cependant il n'y avait aucun cas de *S. epidermidis* alors qu'il est le fréquent dans l'épidémiologie) : ont été identifiées 1 souche de *Propionibacterium acnes* et 17 *S. aureus*. Quarante trois prélèvements étaient positifs en PCR mais négatifs en culture. Parmi ces 43, 35 correspondent à des situations cliniques où l'infection a été traitée avec succès par antibiothérapie (on peut considérer alors que la culture est négative car inhibée par les antibiotiques) et 8 ont été considérés comme de faux positifs. Ainsi se pose le problème des faux positifs en PCR ; cela rend important les circonstances cliniques dans lesquelles ont été obtenus ces résultats. Dans chacun des 35 cas de patients avec antibiothérapie, la PCR montre la présence d'ADN bactérien et est restée positive plus longtemps que la culture. Cette étude n'a pas testé de PCR pour la détection des bacilles à Gram négatif et comprenait peu de cas d'infections à SCN alors qu'il s'agit de germes principaux retrouvés dans les méningites nosocomiales. Les résultats de cette étude sont donc à considérer avec précaution. Une question reste

posée quant à la prise en charge si un prélèvement est PCR positif et culture négative : cela indique-t-il la présence d'ADN dans le cas d'une infection vraie qui justifie un traitement ou que ce patient a un LCR contaminé à cause de facteurs techniques ?⁴⁰ En effet, la présence d'ADN bactérien n'est pas nécessairement corrélée avec l'existence de microorganismes vivants. La charge bactérienne et la viabilité sont des critères déterminants de l'infection clinique que la PCR ne peut pas évaluer directement : ainsi, la culture doit donc être toujours réalisée non seulement pour évaluer la viabilité des bactéries, mais aussi pour réaliser l'antibiogramme et ainsi adapter l'antibiothérapie. A l'avenir, la PCR quantitative pourrait être utilisée pour quantifier l'ADN, quantification qui est peut-être nécessaire pour faire le diagnostic d'une véritable infection et effectuer le suivi sous traitement de la décroissance de cet ADN. Kupila *et al.* ont montré, comme les autres études, que l'approche par la PCR « large spectre » est la seule méthode permettant d'obtenir une étiologie diagnostic dans certaines situations spécifiques : pendant le traitement antibiotique ou quand l'agent est de culture difficile (ce qui n'est cependant pas le cas dans la plupart des méningites nosocomiales). Ils ont même montré qu'en cas de spondylite bactérienne, la PCR est positive plus de 12 semaines après antibiothérapie par voie parentérale.⁴¹

En résumé : pour le diagnostic des méningites nosocomiales, la PCR peut être d'une grande aide dans certaines situations spécifiques (au cours d'un traitement antibiotique ou si on recherche des bactéries à croissance difficile). Cependant, les techniques de PCR manquent encore de sensibilité et de spécificité sur le LCR ; et l'uniformisation des méthodes entre laboratoires est encore insuffisante. La culture reste le « gold standard ».

2.1.3 ABCES/EMPYEMES

L'abcès cérébral est défini comme une infection focale du parenchyme cérébral qui commence comme une aire localisée de cérébrite qui se transforme en une collection de pus encapsulée bien vascularisée.⁴² Les abcès cérébraux représentent environ 8% des masses intracrâniennes dans les pays en voie de développement et de 1 à 2% dans les pays occidentaux⁴³. D'autres publications rapportent une incidence de 0,3 à 1,3 pour 100 000 habitants par an, mais celle-ci peut être plus élevée dans certains groupes à risques, tels que les patients VIH⁴⁴. **L'abcès cérébral est encore aujourd'hui associé à un haut niveau de morbidité** (le plus élevée dans la quatrième décennie de la vie), avec comme principales conséquences : les convulsions (jusqu'à 80% des patients), une persistance de l'altération mentale et un déficit moteur focal⁴⁵. Malgré l'avancée des méthodes diagnostiques et des procédures neurochirurgicales, la mortalité reste élevée (8 à 32%) et les séquelles sont observées dans 9 à 36% des patients.

2.1.3.1 ORIGINE / PHYSIOPATHOLOGIE

L'origine des abcès reste non élucidée dans 40% des cas même si ils sont connus pour être fréquemment des complications de la chirurgie intracrânienne^{42,46}. Il existe 3 sources principales possibles :

1) La première correspond à la **propagation de l'infection à partir d'un foyer contigu péricrânien** dans 25 à 50% des cas (comme les sinus, l'oreille moyenne, ou les dents) : infections dentaires, sinusite frontale ou ethmoïdale (souvent propagation au lobe frontale), otite moyenne subaiguë ou chronique ou mastoïdite (propagation préférentiellement au lobe inférieur temporal et cervelet)

2) La deuxième source est une **dissémination hématogène** d'un point de départ distant (tel qu'un abcès du poumon ou empyème, endocardite, infection de la peau et infection intra-abdominale) dans 15 à 30% des cas. Chez certains patients avec un abcès cryptique, il est possible de retrouver une origine cardiaque, une maladie cardiaque congénitale, comme le foramen ovale perméable (FOP) ou une fistule pulmonaire artérioveineuse. Le FOP est un facteur contributif primaire aux abcès cérébraux en permettant au matériel infecté de by-passer les poumons, et d'entrer dans la circulation générale. De nombreux abcès de source hématogène sont multifocaux et localisés dans la distribution de l'artère cérébrale moyenne, spécialement lors de maladies congénitales cardiaques cyanotiques, et ceux qui proviennent d'un site contigu, cause généralement un abcès solitaire.^{42,43}

3) La troisième cause est une **inoculation directe** (comme un traumatisme crânien ou une neurochirurgie) dans 8 à 19% des cas.^{42,43,47,48}

En ce qui concerne les abcès cérébraux nosocomiaux, Yang *et al.*⁴⁹ retrouvent un pourcentage d'abcès cérébraux nosocomiaux post chirurgicaux de 18% sur une série de 1986 à 2004. Ce pourcentage augmente sur cette période et passe de 12% entre 1986 et 1995 et à 25% entre 1996 et 2004. Le taux d'infection global était de 0,17% (31 cas/18600 patients opérés) après procédures neurochirurgicales (crâniotomie, crâniectomie, ventriculostomie, placement d'un cathéter ventriculopéritonéal.) Dans cette étude, le délai moyen entre la procédure neurochirurgicale et la détection de l'abcès cérébral se situe entre 8 et 35 jours avec une moyenne de 20 jours.

2.1.3.2 CLINIQUE

Un abcès peut se présenter sous la forme de 4 syndromes principaux, à savoir : une expansion d'une masse locale, une hypertension intracrânienne, une destruction diffuse du tissu cérébral, et un déficit neurologique local.⁴³ Dans la plupart des cas, des facteurs de risques prédisposants, comme une maladie congénitale cyanogène, un déficit immunitaire, ou la présence d'un foyer septique peuvent être identifiés et doivent être recherchés. Il existe des variations marquées dans les signes cliniques et les symptômes. **La présentation clinique dépend de l'origine de l'infection, du site, de la taille, du nombre de lésions, de la structure cérébrale spécifique impliquée, des perturbations anatomiques voisines impliquant les citernes, les ventricules, les sinus veineux durs et toutes lésions cérébrales secondaires.**^{4,45} Les patients

présentent fréquemment des signes d'augmentation de la pression intracrânienne (céphalées, nausées/vomissements, altération de l'état mental), de déficit neurologique local, et de la fièvre (bien qu'elle puisse être absente entre 30 à 76 % des cas).^{50 4,43,50,51} Les convulsions ne sont pas rares, se produisant en moyenne dans environ 25-34% des cas.⁴³ Pour les abcès nosocomiaux, même si les signes cliniques peuvent être communs aux autres infections postopératoires de neurochirurgie, il est admis que devant l'apparition d'une fièvre, d'une altération progressive de la conscience ainsi que d'un nouveau déficit moteur local, un abcès cérébral devrait être suspecté. Nathoo *et al.* rapportent que les céphalées, la fièvre, la raideur de nuque sont les signes cliniques les plus communs. La durée des signes varie de 1 jour à 8 semaines.⁴⁷ Il faut prendre en compte que la prescription d'antibiotiques oraux ou d'analgésiques peut causer des reliefs temporaires des symptômes et prolonger l'évolution de la maladie. Ainsi le diagnostic d'abcès cérébral, notamment dans la population pédiatrique, peut parfois être retardé.⁵²

Tseng *et al.* ont montré en analyse multivariée que : être un homme (OR = 12, p=0,002), avoir un score de Glasgow (GSC) >12 (OR = 6,20; p = 0,019) et l'absence de signes de sepsis (OR= 761,49, p<0,001) sont les principaux facteurs d'évolution favorable (*Pour rappel, le GSC est un indicateur de l'état de conscience se basant sur 3 critères : l'ouverture des yeux, la réponse verbale et la réponse motrice L'échelle va de 3 (coma profond) à 15 (personne parfaitement consciente)*). Cette différence de sexe n'est pas retrouvée dans d'autres études. Les autres facteurs n'ont pas été retrouvés comme significatifs, à part la culture positive à cocci à Gram positif qui semble être un facteur pronostique positif d'issue favorable⁵⁰. Il a été montré que le décès est en premier lieu dû à l'infection systémique ou à la pathologie initiale (ex : stade du cancer) plutôt que directement à l'abcès cérébral en lui-même, suggérant que même si l'antibiothérapie pour contrôler l'abcès est hautement efficace, le facteur décisif de survie du patient reste dépendant de la capacité de l'hôte à combattre l'agent pathogène en cause.

En résumé : un patient avec un abcès cérébral se présente typiquement avec un ou plusieurs des symptômes suivants : fièvre, céphalée, conscience altérée ou signe neurologique locale incluant convulsions, déséquilibre, dysphagie ou déficit sensorimoteur.⁴⁵

2.1.3.3 PATHOGENES

La proportion de cultures mixtes est assez importante, et va jusqu' à 29%⁴⁹ voire 37% lorsque le diagnostic est effectué par des techniques de métagénomique⁴⁸. En analyse univariée, Masalma *et al.* ont trouvé un lien entre infection monomicrobienne et otite moyenne, et entre infection plurimicrobienne et sinusite ou infections dentaires.⁵³ La **tableau III** propose quelques exemples de l'épidémiologie retrouvée dans la littérature. Les bactéries les plus fréquentes sont les *Streptococcus (viridans* et du groupe milleri) et les anaérobies, ainsi que *S. aureus* et *S. epidermidis* ; et les entérobactéries pour les abcès secondaires à la chirurgie ou à un traumatisme crânien. L'ensemble de ces données montre cependant la distribution hétérogène selon l'origine de l'abcès.

Tableau III : Quelques exemples de la littérature de l'épidémiologie bactérienne des abcès.

Titre	Auteur	Année	Résultats / Bactériologie	Techniques	Types d'infection
Brain Abscess	Glenn E. Mathisen	1997	En fonction de la source de l'abcès (et de sa localisation) : ➔ sinus paranasal (lobe frontal) : <i>Streptococcus</i> (souvent groupe "milleri"), <i>Haemophilus spp</i> , <i>Bacteroides spp</i> (non-fragilis), <i>Fusobacterium spp</i> ➔ infections otogéniques (lobe temporal, cerebellum) : <i>Streptococcus spp</i> , <i>Enterobacteriaceae spp</i> , <i>Bacteroides spp</i> (inclut <i>B. fragilis</i>) ➔ dissémination métastatique (lésions multiples) dépend de la source : 1) Endocardite (<i>S. aureus</i> , <i>Streptococcus viridans</i>) ; 2) tractus urinaire (<i>Enterobacteriaceae</i> , <i>Pseudomonaceae</i>) ; 3) Intra-abdominal (<i>Streptococcus spp</i> , <i>Enterobacteriaceae</i> , Anaérobies) ; 4) abcès du poumon (<i>Streptococcus spp</i> , <i>Actinomyces spp</i> , <i>Fusobacterium spp</i>) ➔ Traumatisme pénétrant (dépend du site de la blessure) : <i>S. aureus</i> , <i>Clostridium spp</i> , <i>Enterobacteriaceae</i> ➔ Post-opératoire : <i>S. epidermidis</i> , <i>S. aureus</i> , <i>Enterobacteriaceae</i> , <i>Pseudomonaceae</i>	culture	abcès cérébral
Risk factors for neurosurgical site infections after craniotomy: a critical reappraisal of antibiotic prophylaxis on 4578 patients	A.M Korinek	2005	Total : 140 infections avec 28 <i>S. aureus</i> , 24 SCN, 52 <i>P. acnes</i> , 4 <i>P. aeruginosa</i> , 21 Entérobactéries, 5 autres CG+, 2 anaérobies, 4 cultures négatives	culture	Abcès/empyèmes après craniotomie
Brain abscess in 142 patients: factors influencing outcome and mortality	Tseng JH	2006	Pathogènes les plus communs : cocci à gram + (Staphylocoques et Streptocoques) suivi par les anaérobies et les Entérobactéries. Autres : <i>Haemophilus</i> , <i>Pseudomonas</i> , <i>Candida albicans</i> , <i>Aspergillus fumigatus</i> sont aussi retrouvés mais très rarement. 52% infection monomicrobienne et 16% infection plurimicrobienne et 32 culture stérile.	culture	abcès cérébral
Postneurosurgical Nosocomial Bacterial Brain Abscess in Adults	K.-Y. Yang	2006	52% avec un seul pathogène (50% de bacilles à Gram négatif : <i>E. cloacae</i> , <i>E. coli</i> , <i>P. mirabilis</i> , <i>Salmonella</i> , <i>K. pneumoniae</i> , <i>P. aeruginosa</i> ; 25% de streptocoques et 13% de staphylocoques). 29% environ d'infections mixtes (<i>E. cloacae</i> , <i>E. coli</i> , <i>P. mirabilis</i> , <i>S. aureus</i> , <i>S. epidermidis</i> , <i>A. baumannii</i> , <i>K. pneumoniae</i> , <i>C. koseri</i> , <i>Streptococcus viridans</i>). 19% de cultures stériles.	culture	abcès cérébraux nosocomiaux post chirurgicale
Brain Abscess: Management and Outcome Analysis of a Computed Tomography Era : Experience with 973 Patients	Nathoo.N	2010	Spectre des microorganismes chez 945 patients avec abcès cérébraux traités chirurgicalement : Culture stérile 284 (30%). Cocci gram + : <i>S. aureus</i> 136 (14,4%), <i>Streptococcus milleri</i> 94 (9,9%), <i>S. epidermidis</i> 64 (6,8%), autres <i>Streptococcus</i> 59, <i>S. pneumoniae</i> 25, <i>Streptococcus viridians</i> 13, <i>E. faecalis</i> 8. Bacille gram + : <i>Clostridium welchii</i> 5, <i>Nocardia</i> 3, <i>P. acnes</i> 1, autre bg+ non identifié 1. Mycobacterium tuberculosis 23. Bacille gram - : <i>Proteus mirabilis</i> 68 (6.8%) <i>Enterobacteriaceae</i> 15, <i>Pseudomonas aeruginosa</i> 13 <i>Bacteroides spp.</i> 31 (3.3) <i>E. coli</i> 23, <i>K. pneumoniae</i> 22, <i>E. cloacae</i> 15, <i>M. morgani</i> 9, <i>Citrobacter</i> 6, <i>A. baumannii</i> 4, <i>S. marcescens</i> 4. 23 Champignon 6 (0.6%), pas de données 15 (1.6%)	culture	Abcès cérébraux traités par chirurgie
Brain abscess: An overview	D.Muzumdar	2011	Selon les facteurs prédisposants, pour les patients ayant un abcès dont l'origine est cardiaque ou un shunt droit et gauche : <i>Streptococcus</i> , <i>Peptostreptococcus</i> , <i>Staphylococcus</i> . ➔ En cas d'intervention neurochirurgicale : <i>Staphylocoques</i> , <i>Streptococcus</i> . ➔ En cas de traumatisme crânien ouvert : <i>Staphylocoques</i> , <i>Streptocoques</i> , <i>Clostridium</i> et Entérobactéries. ➔ Une dissémination hémotogène ou métastatique est plus fréquente quand il y a augmentation de l'immunosuppression, de transplantation d'organe, chimiothérapie contre le cancer : patients VIH, sous chimiothérapie ou corticoïdes, et transplanté d'organes : champignons, <i>Pseudomonas spp</i> , <i>Toxoplasma</i> , <i>Staphylococcus</i> et <i>Streptococcus</i> .	culture	Abcès cérébral
Pyogenic brain abscess, a 15 year survey	J.Helweg-Larsen	2012	<i>Streptococcus spp</i> 55 (54%) (<i>Streptococcus milleri</i> 32, <i>Streptococcus oralis/sanguis</i> 3, <i>S. pyogenes</i> 1, <i>S. pneumoniae</i> 4, <i>S. bovis</i> 1, <i>Streptococcus spp</i> 14), <i>Staphylococcus</i> 16 (15%) (<i>S. aureus</i> 14, SCN 2), BGN 8 (8%) (<i>E. coli</i> 2, <i>Haemophilus spp</i> 5, <i>Pseudomonas</i> 1), Anaérobies 17 (17%) (<i>Fusobacterium</i> 4, <i>Actinomyces</i> 2, <i>Prevotella</i> 2, <i>Peptostreptococcus</i> 2, autres anaérobies 7), <i>Nocardia</i> 2 (2%), autres espèces 4 (4%)	culture	Abcès cérébral
Clinical characteristics and outcome of brain abscess	Matthijs C. Brouwer	2014	Culture positive 68% (monomicrobienne 77%, plurimicrobienne, 23%) <i>Streptococcus viridans</i> 13%, <i>S. pneumoniae</i> 2%, <i>Enterococcus</i> 0,8%, autres streptocoques non spécifiés 18%, <i>S. aureus</i> 13%, <i>S. epidermidis</i> 3%, autres staphylocoques non spécifiés 2%, <i>Proteus spp</i> 7%, <i>K. pneumoniae</i> 2%, <i>E. coli</i> 2, autres Enterobactéries 2%, <i>Pseudomonas spp</i> 2%, <i>Nocardia</i> 1%, <i>Corynebacterium</i> 0,8%, <i>Actinomyces spp</i> 0,8%, <i>M. tuberculosis</i> 0,7%, <i>Haemophilus spp</i> 2%, <i>Peptostreptococcus</i> 3%, <i>Bacteroides spp</i> 6%, <i>Fusobacterium spp</i> 2% Parasites 0,1% Fungi 1%, autres 13%	culture	Abcès cérébral

Dans l'étude de Masalma *et al.* utilisant la métagenomique, sur les 76 espèces détectées, 44 bactéries identifiées n'avaient jamais été retrouvées dans les abcès cérébraux dont 22 espèces non cultivables (*Tableau IV*). Ces bactéries non cultivables proviennent de la flore buccale ou sinusale et étaient retrouvées dans les abcès polymicrobiens.⁴⁸

*Tableau IV : Bactéries détectées chez 51 patients, en utilisant une technique de séquençage de l'ARNr 16S.*⁴⁸

Species Name	Phylum	No. of Patients/ No. of Clones
Previously reported taxa (GenBank accession no.)		
<i>Streptococcus intermedius</i>	Firmicutes	11/890
<i>Fusobacterium nucleatum</i>	Fusobacteria	8/234
<i>Micromonas micros</i>	Firmicutes	6/139
<i>Propionibacterium acnes</i>	Actinobacteria	5/402
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	Firmicutes	4/400
<i>Haemophilus aphrophilus</i>	Proteobacteria	4/134
<i>Staphylococcus aureus</i>	Firmicutes	3/300
<i>Escherichia coli</i>	Proteobacteria	2/103
<i>Enterobacter cloacae</i>	Proteobacteria	2/58
<i>Porphyromonas endodontalis</i>	Bacteroidetes	2/29
<i>Eubacterium brachy</i>	Firmicutes	2/6
<i>Citrobacter koseri</i>	Proteobacteria	1/100
<i>Haemophilus parainfluenzae</i>	Proteobacteria	1/100
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	Proteobacteria	1/100
<i>Nocardia abscessus</i>	Actinobacteria	1/95
<i>Porphyromonas gingivalis</i>	Bacteroidetes	1/33
<i>Streptococcus constellatus</i>	Firmicutes	1/30
<i>Bacteroides fragilis</i>	Bacteroidetes	1/30
<i>Prevotella baroniae</i>	Bacteroidetes	1/18
<i>Dialister pneumosintes</i>	Firmicutes	1/13
<i>Prevotella oris</i>	Bacteroidetes	1/12
<i>Prevotella buccae</i>	Bacteroidetes	1/10
<i>Peptostreptococcus stomatis</i>	Firmicutes	1/8
<i>Bilophila wadsworthia</i>	Proteobacteria	1/8
<i>Campylobacter gracilis</i>	Proteobacteria	1/6
<i>Actinomyces meyeri</i>	Actinobacteria	1/6
<i>Micrococcus luteus</i>	Actinobacteria	1/3
<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	Proteobacteria	1/2
<i>Campylobacter rectus</i>	Proteobacteria	1/1
<i>Mycoplasma faucium</i>	Tenericutes	1/5
<i>Treponema maltophilum</i>	Spirochaetes	1/1
Uncultured BA21 (GU592691)	Firmicutes	1/3
Taxa not reported previously (GenBank accession no.)		
<i>Enterobacter hormaechei</i>	Proteobacteria	3/138
<i>Nocardia cavia</i>	Actinobacteria	1/100
<i>Prevotella heparinolytica</i>	Bacteroidetes	1/96
<i>Clostridium clostridiforme</i>	Firmicutes	1/27
<i>Fusobacterium alocis</i>	Firmicutes	1/27
<i>Tannerella forsythensis</i>	Bacteroidetes	1/20
<i>Massilia timonae</i>	Proteobacteria	1/15
<i>Bacteroides heparinolyticus</i>	Bacteroidetes	1/15
<i>Bacteroides thetaotaomicronn</i>	Bacteroidetes	1/12
<i>Pseudomonas trivialis</i>	Proteobacteria	1/10
<i>Streptococcus parasanguinis</i>	Firmicutes	1/8

Species Name	Phylum	No. of Patients/ No. of Clones
<i>Campylobacter showae</i>	Proteobacteria	1/2
<i>Filifactor alocis</i>	Firmicutes	1/1
<i>Catonella morbi</i>	Firmicutes	1/1
<i>Pseudomonas lutea</i>	Proteobacteria	1/1
<i>Enhydrobacter aerosaccus</i>	Proteobacteria	1/1
<i>Petrobacter succinimandens</i>	Proteobacteria	1/1
<i>Tepidimonas aridensis</i>	Proteobacteria	1/1
Uncultured BA10 (GU592680)	Bacteroidetes	
Uncultured BA11 (GU592681)	Bacteroidetes	
Uncultured BA12 (GU592682)	Bacteroidetes	
Uncultured BA13 (GU592683)	Firmicutes	1/1
Uncultured BA14 (GU592684)	Synergistetes	1/1
Uncultured BA15 (GU592685)	Firmicutes	1/2
Uncultured BA16 (GU592686)	Bacteroidetes	1/1
Uncultured BA17 (GU592687)	Bacteroidetes	1/8
Uncultured BA18 (GU592688)	Bacteroidetes	1/8
Uncultured BA19 (GU592689)	Bacteroidetes	1/3
Uncultured BA20 (GU592690)	Firmicutes	1/1
Uncultured BA22 (GU592692)	Firmicutes	1/1
Uncultured BA23 (GU592693)	Firmicutes	1/1
Uncultured BA24 (GU592694)	Proteobacteria	1/2
Uncultured BA25 (GU592694)	Bacteroidetes	1/1
Uncultured BA26 (GU592696)	Bacteroidetes	1/2
Uncultured BA27 (GU592697)	Firmicutes	1/1
Uncultured BA28 (GU592698)	Firmicutes	1/4
Uncultured BA29 (GU592699)	Firmicutes	1/1
Uncultured BA30 (GU592700)	Bacteroidetes	1/1
Uncultured BA31 (GU592701)	Proteobacteria	1/8
Uncultured BA32 (GU592702)	Firmicutes	1/9

* Bacterial taxa were classified according to their previous identification (if any) in brain abscesses in the scientific literature.

<i>Eubacterium nodatum</i>	Firmicutes	1/4
<i>Burkholderia cenocepacia</i>	Proteobacteria	1/3
<i>Porphyromonas asaccharolytica</i>	Bacteroidetes	1/2
<i>Enterococcus raffinosus</i>	Firmicutes	1/2

La combinaison des 2 études de Masalma *et al.*^{48,53} ont permis de démontrer une forte association de l'immunodépression avec la toxoplasmose et la nocardiose ($p < 0,01$), de la chirurgie cérébrale avec les

entérobactéries et les bêta-protéobactéries ($p=0,02$), d'infection monomicrobienne (principalement le Pneumocoque) avec les otites ($p=0,04$), d'infections plurimicrobiennes avec les sinusites et les défauts dentaires ($p<0,01$) et les infections plurimicrobiennes avec *Streptococcus spp*, *Prevotella spp*, *Peptostreptococcus spp*, *Staphylococcus spp*, *Campylobacter spp*, *Fusobacterium spp*, *Porphyromonas spp*, autres anaérobies, *Mycoplasma faucium*, et bactéries non cultivables ($p<0,02$ pour tous ces microorganismes)⁴⁸. **Ceci suggère que les abcès cérébraux secondaires à une otite pourraient être traités en probabiliste par une antibiothérapie antipneumococcique tandis que les abcès secondaires à une sinusite ou à une infection dentaire par une antibiothérapie standard : métronidazole + β -lactamine.**

Parmi les patients ayant une sinusite ou une infection dentaire, 2 groupes microbiologiques ont été principalement identifiés (un composé de *Peptostreptococcus spp*, *Fusobacterium spp* et/ou *S. intermedius*, mais sans bactéries non cultivables, et un second groupe composé de *Bacteroides spp*, bactéries non cultivables, *M. faucium* et entérobactéries) sans spécificité clinique ou épidémiologique retrouvée. Cela serait à priori sans impact sur le management puisque l'antibiothérapie métronidazole + β -lactamines couvrirait la plupart des bactéries que l'on retrouve dans ces groupes.⁴⁸ Plusieurs études utilisant la métagénomique avaient déjà montré qu'environ 50% de la flore orale est non cultivable.⁵⁴⁻⁵⁷

Dans l'étude de Tseng *et al.*, 49 patients (sur 142) ont eu des hémocultures prélevées puisqu'ils présentaient des signes d'infection systémique (fièvre et leucocytose). Parmi eux, 13 (26,5%) ont eu une hémoculture positive dont 7 (14,2%) avec le même pathogène que dans l'abcès (il n'est cependant pas précisé de quel pathogène il s'agissait).⁵⁰ Vingt et un patients ont eu un prélèvement de LCR car ils présentaient des signes de méningites sans signe d'hypertension intracrânienne et pour 5 la culture était positive avec le même pathogène que dans l'abcès suggérant la rupture de l'abcès dans le ventricule⁵⁰.

En résumé : il est important, pour les abcès cérébraux, de connaître le foyer initial (sinusite, otite, brèche...) afin de mettre en place une antibiothérapie adaptée. La majorité des bactéries de la flore oropharyngée est non cultivable mais sensible au traitement classiquement recommandé : métronidazole + β -lactamines.

2.1.3.4 DIAGNOSTIC MICROBIOLOGIQUE

A. NEUROIMAGERIE

La neuroimagerie est bien sûr indispensable et inclut le CT scanner avec contraste et l'IRM. L'image typique est le plus souvent une lésion hypodense avec un anneau de réhaussement de contraste.⁴⁵ Le CT facilite la détection précoce, la localisation exacte, la caractérisation précise, la détermination du nombre, de la taille, du stade de l'abcès. Il détecte aussi l'hydrocéphalie, l'augmentation de la pression, l'œdème et les infections associées comme l'empyème sous dural, la ventriculite, et peut ainsi aider à planifier un traitement, et permettre l'évaluation de l'efficacité thérapeutique.⁴³ Les corticostéroïdes peuvent diminuer

le renforcement de la paroi de l'abcès. De nombreuses études décrivent l'intérêt des différents types d'imageries.^{43,45,47}

B. BIOLOGIE STANDARD

La détection des bactéries pathogènes est le plus souvent obtenue par culture, à partir du pus de drainage neurochirurgical. Mais **la culture reste stérile dans 9 à 63% des cas**,^{48,50} dépendant essentiellement de la qualité de la culture des germes anaérobies. Le REMIC recommande pour les abcès cérébraux de faire parvenir l'échantillon dans une seringue bouchée (sans l'aiguille) ou dans un milieu de transport permettant la conservation des bactéries. Il recommande aussi pour les suppurations intracrâniennes d'ensemencer les mêmes milieux que dans le cas général du LCR auxquels il faut rajouter, un milieu liquide et une gélose au sang pour la recherche d'anaérobies ; éventuellement une gélose sélective pour les bacilles à Gram négatif ou pour rechercher les streptocoques, en fonction du caractère polymicrobien de l'examen microscopique. Ces milieux doivent être conservés au moins 5 jours pour les aérobie et au minimum pendant 10 jours pour les anaérobies.³¹

Les abcès cérébraux sont la seule infection de système nerveux central pour laquelle une ponction lombaire n'est pas recommandée, voire peut être contre indiquée. Dans une étude avec 193 patients, l'analyse du LCR a montré une pléiocytose non spécifique avec augmentation des protéines et une culture négative dans 41,5% des cas (80 patients), une méningite bactérienne dans 36,8% des cas (71 patients) et un LCR normal chez 31 patients. Ce conseil de non réalisation n'est pas seulement dû à l'absence d'aide au diagnostic mais aussi parce que l'augmentation de la pression intracrânienne liée à l'effet de masse augmente le risque de hernie lors du geste compliquant l'état clinique du patient⁴⁷. Cependant, la ponction lombaire pourrait être justifiée en l'absence d'hypertension intracrânienne et si présence de signes de méningite ou de ventriculite comme l'ont montré Tseng *et al.*⁵⁰

C. ROLE DE LA BIOLOGIE MOLECULAIRE

La PCR combinée au séquençage de l'ADN est la seule technique utilisable pour le diagnostic étiologique des d'abcès cérébraux en cas d'antibiothérapie en cours ou de germe non cultivable,^{41,58} ce qui avait déjà été montré dans des études précédentes chez des patients avec d'autres types d'infections.

Finalement le séquençage de l'ARN 16s est plus sensible que les méthodes phénotypiques^{41,58} et permet notamment la détection d'organismes parfois difficile à obtenir en culture comme *Gemella morbillorum*, *Fusobacterium necrophorum*, *Aggregatibacter aphrophilus*.^{41,58} Des cas d'infections à *Mycoplasma hominis*, reconnu comme pathogène émergent, ont pu être identifié par PCR.^{41,53} *Mycoplasma faucium* a également été mis en évidence alors qu'il n'était jusque là pas répertorié dans la littérature.⁵³

Tsai *et al.* ont montré par exemple que sur 14 prélèvements, 10 cultures positives l'étaient aussi en PCR ARN 16S (7 en séquence totale et 3 en partielle) et que les méthodes phénotypiques d'identification et le séquençage étaient concordantes. Les 4 cultures négatives l'étaient aussi en PCR.⁵⁸ Une PCR spécifique

de *Streptococcus* spp a permis de détecter correctement les espèces de streptocoques dans une première étape.⁵⁸ La PCR ARN 16S peut aussi être appliquée sur des cultures pures pour permettre l'identification de bactéries difficiles à classer de part leurs propriétés phénotypiques. Ce fut le cas pour l'identification de *Nocardia otitidiscaviarum*⁵⁹ chez un transplanté rénal et de *Abiotrophia adiacens*⁶⁰ développé chez un patient après neurochirurgie

Le séquençage de la ARN 16S n'est pas cependant pas suffisant pour les échantillons qui contiennent des flores mixtes, car cette approche donne des séquences non interprétables mixtes.^{41,53,58} Dans l'étude de Masalma *et al.*⁴⁸, le séquençage mutiple a permis de résoudre ce problème en réalisant un séquençage par 2 techniques différentes qui sont l'analyse de banques de clones d'ADN 16S et le pyroséquençage à haut débit. Cette étude a permis d'identifier 72 espèces contre 22 en culture ($p=0,017$) et 14 en séquençage unique ($p=0,048$). Le pouvoir du séquençage multiple a été montré notamment chez 1 patient pour lequel la culture a permis d'obtenir 2 espèces bactériennes contre 6 en séquençage haut débit.⁵³ Jusqu'à 16 pathogènes pour 1 patient ont été retrouvés avec une méthode de séquençage multiple (contre 14 en culture)⁵³. Dans la deuxième étude de métagénomique de Masalma *et al.*⁴⁸ utilisant le clonage et le séquençage, 6 bactéries (provenant de 5 échantillons) ont été retrouvées en culture et pas en PCR; un tel écart résulte probablement d'un biais de clonage ou séquençage du gène codant l'ARN 16S. En particulier, il est peu probable que les méthodes utilisées pour la lyse cellulaire, l'extraction et la purification de l'ADN, le choix des primers, la PCR, les conditions de clonage, notamment la large gamme d'amorces utilisées, soient équitablement réparties à toutes les bactéries présentes dans l'échantillon plurimicrobien. Il faut noter que l'ADN de chaque bactérie entre en compétition avec les mêmes réactifs, donc celui présent avec la plus petite concentration pourrait être sous amplifié.⁶¹ Dans une autre étude, le pyroséquençage a permis d'analyser tous les germes présents dans l'abcès. Sur 51 patients, 19 ont présenté des infections polymicrobiennes, montrant que cette stratégie était plus discriminative et capable de retrouver des espèces non cultivables et non obtenues par le séquençage classique de l'ARN 16S ($p<0,01$). Le développement des techniques de biologie moléculaire pourrait aussi aider à la mise en évidence des bactéries anaérobies ; la plupart étant difficilement cultivables. Ainsi, 40% d'anaérobies ont pu être retrouvées dans des abcès cérébraux par PCR 16S.⁵³

En résumé : les techniques de PCR ARN 16S peuvent avoir un intérêt dans le cas de patients déjà sous antibiothérapie au moment du prélèvement mais peuvent s'avérer inefficaces dans le cas de flore mixte. Ils existent des techniques de séquençages multiples plus difficiles à mettre en œuvre et plus coûteuses mais dont la supériorité a été démontré. Reste à évaluer leur intérêt en pratique clinique.

2.2 QUELLE PRISE EN CHARGE DES PATIENTS ET QUELLE ANTIBIOTHERAPIE UTILISER ?

2.2.1 QUELQUES DONNEES DE LA LITTERATURE

2.2.1.1 MENINGITES

Le traitement probabiliste des méningites inclut généralement la vancomycine pour les bactéries à Gram positif et la ceftazidime, le céfépime, cefotaxime ou le méropénème pour couvrir les bactéries à Gram négatif.

Pour le traitement des infections à SARM, de nombreuses études ont démontré l'efficacité de l'association **céfotaxime + fosfomycine**.^{65,66} Il existe une synergie vraie car la fosfomycine restaure la sensibilité par inhibition de l'expression de la PLP2a, à condition que les souches soient sensibles à la fosfomycine. Concernant le suivi de l'efficacité de l'antibiothérapie, certaines équipes recommandent une ponction lombaire de contrôle pour contrôler la pénétration maximale de céfotaxime et de fosfomycine dans le LCR. Cette ponction devrait être effectuée une heure après la perfusion d'antibiotiques (concentration maximale à une heure).⁶⁷ De Bels *et al.*¹ ont montré (*Tableaux V et VI*) que la sensibilité des bactéries retrouvées dans les méningites à la combinaison céfotaxime + fosfomycine est de 70,8% dans le groupe avec matériel de dérivation et de 87,8% dans l'autre groupe sans matériel de dérivation ($p < 0,005$). **L'association *in vitro* avec la fosfomycine s'est révélée efficace avec d'autres antistaphylococciques, notamment avec le linézolide et la moxifloxacine.**⁶⁸

Place des glycopeptides

La vancomycine ou la teicoplanine peuvent être administrées avec de la rifampicine et en cas d'échec par traitement systémique, un traitement par instillation directe dans le ventricule pourrait être réalisée tous les 3 jours.⁶⁹ Dans l'étude de De Bels *et al.*, la sensibilité à la vancomycine est significativement plus faible dans le groupe sans matériel comparée à la sensibilité au céfotaxime ou à la combinaison céfotaxime + fosfomycine et elle est équivalente à céfotaxime + fosfomycine dans le groupe avec matériel (*Tableaux V et VI*). La sensibilité de l'association vancomycine + cefotaxime était significativement plus élevée que celle de l'association cefotaxime + fosfomycine dans le groupe avec matériel, mais cela est dû à la présence de 5 SCN résistants à la fosfomycine dans le groupe avec matériel. (*Tableaux V et VI*) Au vue de ces résultats, **les auteurs ont proposé pour le traitement des patients avec méningites en neurochirurgie, soit un traitement empirique par céfotaxime seul pour les patients sans matériel de dérivation et un traitement par cefotaxime + haute dose vancomycine pour les patients avec ventriculostomie ou matériel de dérivation.** Un relais par un traitement approprié doit avoir lieu dès que le microorganisme est isolé et que les résultats de l'antibiogramme sont connus. Ces propositions doivent être évaluées ultérieurement, en observant la mortalité et la morbidité.

Tableau V : Epidémiologie bactérienne et sensibilité aux différents antibiotiques chez 41 patients^a sans matériel de dérivation, d'après Bels et al.¹

BACTERIES	TOTAL	CTX	VAN	CTX-FOS	CTX-VAN
SAMS	11	11	11	11	11
SAMR	0	0	0	0	0
SCNMS	5	5	5	5	5
SCNMR	1	0	1	0	1
Autres cocci	5	3	5	3	5
Entérobactéries	13	13	0	13	13
<i>Pseudomonas</i> spp	2	0	0	0	0
<i>Acinetobacter</i> spp	0	0	0	0	0
<i>Corynebacterium</i> spp	3	3	3	3	3
Anaérobies	1	1	1	1	1
Total	41	36 (87,8%)	26 (63,4%)^b	36 (87,8%)	39 (95,1%)

^a Les 41 patients ont subi une chirurgie spinale ou craniotomie, sans matériel de dérivation insérés avant ou pendant la procédure.

^b $p < 0,05$ par comparaison entre VAN contre CTX, et VAN contre CTX+Fos. $P < 0,01$ pour VAN contre VAN+CTX. Pas de différence significative entre CTX, CTX+FOS et CTX+VAN

Tableau VI : Epidémiologie bactérienne et sensibilité aux différents antibiotiques chez 65 patients^a avec matériel de dérivation d'après Bels et al.¹

BACTERIES	TOTAL	CTX	VAN	CTX-FOS	CTX-VAN
SAMS	9	9	9	9	9
SAMR	5	0	5	3	5
SCNMS	18	18	18	18	18
SCNMR	10	0	10	5	10
Autres cocci	7	2	7	2	7
Entérobactéries	9	9	0	9	9
<i>Pseudomonas</i> spp	5	0	0	0	0
<i>Acinetobacter</i> spp	2	0	0	0	0
<i>Corynebacterium</i> spp	0	0	0	0	0
Anaérobies spp	0	0	0	0	0
Total	65	38 (58,5%)	49 (75,4%)^{b-c-d}	46 (70,8%)^e	58 (89,2%)^{f-g}

^a Les 65 patients comprennent 31 patients pour lesquels le matériel de dérivation était la seule procédure et 34 patients pour lesquels la procédure principale était une crâniotomie mais qui ont aussi eu une dérivation du LCR. Concernant ces 34 patients ils ont été classés pour les microorganismes, dans le groupe matériel de dérivation parce que la méningite était liée au matériel de dérivation.

^b $p < 0,05$ contre CTX, ^c non significatif contre CTX-FOS, ^d $p < 0,05$ contre CTX-VAN, ^e Pas de différence significative avec CTX, ^f $p < 0,001$ contre CTX, ^g $p < 0,01$ contre CTX-FOS

Place du linézolide

Il existe des cas rapportés de succès du traitement d'une méningite à SARM chez un patient transplanté allogénique de moelle par linézolide (3 autres cas seulement avant celui-ci décrivaient le succès du linézolide). L'utilisation de linézolide est également possible en cas d'échec d'un traitement précédent ou d'options thérapeutiques limitées⁷⁰. Une pénétration à 66% dans le LCR est retrouvée et les concentrations sont supérieures à la CMI dans le sérum et le LCR entre chaque injection. Toutefois, une variation importante de la pharmacocinétique est observée et un dosage du linézolide pourrait permettre d'optimiser les profils individuels de pharmacocinétique/pharmacodynamique⁷¹.

Pour le traitement des infections à bacilles à Gram négatif

Place du méropénème

Le méropénème est clairement l'antibiotique de choix parmi les carbapénèmes car il est 4 à 16 fois plus efficace que l'imipénème pour traiter une infection à Entérobactéries avec des CMI allant de 0,03 à 0,25 µg/mL et peut être actif sur 20% des souches de *Pseudomonas aeruginosa* résistants à l'imipénème par imperméabilité.⁷² De plus, il est maintenant bien reconnu que le méropénème induit moins d'effets secondaires de type convulsions que l'imipénème et pénètre bien tous les tissus et les liquides corporels incluant le LCR². Chez les patients ayant déjà reçu une antibiothérapie large spectre, la ceftazidime peut être proposée pour couvrir *Pseudomonas aeruginosa* et le méropénème est l'antibiotique de choix pour les Entérobactéries productrices de BLSE/hyperproductrices de céphalosporinases ou pour *Acinetobacter*. Pour les souches d'*Acinetobacter baumannii* multirésistantes, un traitement par colistine en intraveineux, ou intraventriculaire ou intrathécal a donné de très bonnes réponses, en particulier chez les 8 patients traités en intraveineux + intrathécal.^{73,74}

Place de la fosfomycine

Pour les entérobactéries, une revue récente montre que la fosfomycine est un agent antimicrobien actif de façon stable, dans le traitement des Entérobactéries BLSE.⁶² La fosfomycine a un faible poids moléculaire et une relativement longue demie vie ($5,7 \pm 2,8$ heures), elle pénètre donc facilement dans de nombreux tissus, dont le LCR, et atteint les CMI nécessaires pour inhiber la croissance des microorganismes.⁶³ Pfausler *et al.* rapportent que de hautes doses de fosfomycine (8 g trois fois par jour) pourraient fournir des concentrations antimicrobiennes adéquates dans le LCR pour la période entière de traitement et que la fosfomycine combinée avec d'autres classes d'antibiotiques diminuent le développement de résistance.⁶⁴ Effectivement une étude¹²⁸ a montré que la fosfomycine en combinaison avec les carbapénèmes a un effet synergique qui maximise l'activité antibactérienne et minimise le risque de résistance sur des souches de *K. pneumoniae* ou *E. coli* BLSE, *P. aeruginosa* multi résistant, et sur un pourcentage substantiel de *K. pneumoniae* produisant une carbapénémase. Par exemple un cas rapporté en 2014, chez un patient atteint d'une méningite associée à un shunt ventriculopéritonéal (VPS), due à une *K. pneumoniae* BLSE, fait état du succès du traitement par méropénème (1 g IV toutes les 8 heures) et fosfomycine haute dose (8 g IV toutes les 8 heures) après le retrait chirurgical du VPS. Des CMI par méthode E-test avaient été réalisées pour vérifier la sensibilité de la souche. La ponction lombaire réalisée après 10 jours de traitement était retrouvée stérile. Après 3 semaines de traitement, aucun trouble de la conscience ni aucune séquelle neurologique n'étaient retrouvés.

La synergie a aussi été retrouvée avec d'autres antibiotiques comme les aminosides, la tigécycline, la colistine.

Cas particulier des infections à *Propionibacterium acnes*

Pour les infections de dérivation liées à *P. acnes*, le retrait du cathéter, suivi d'une mise place temporaire d'une DVE et le traitement à haute dose par pénicilline G¹⁴ a été recommandé par certains auteurs. Pour les infections sévères à *P. acnes*, pénicilline G et ceftriaxone sont considérées comme les antibiotiques de choix, suivi par vancomycine et daptomycine en cas d'allergie aux β -lactamines ou de résistances antimicrobiennes.¹⁴ Selon la SFAR⁷, pour les infections post-opératoires, l'amoxicilline à forte dose (2 g, 6 ou 8 fois par jour) en association avec la clindamycine ou la rifampicine est généralement efficace.

Le **Tableau VII** résume les recommandations de traitement probabiliste des méningites nosocomiales en fonction du site de l'infection.

Tableau VII : Recommandations du traitement antibiotique probabiliste des méningites nosocomiales selon l'origine de l'infections, d'après Thunkel et al.^{2,3}

Origine	Bactéries pathogènes communes	Antibiotiques^a
Infection post neurochirurgicale	Bacille à Gram négatif aérobie facultatif et aérobie (incluant <i>P. aeruginosa</i>) <i>S. aureus</i> , SCN (spécialement <i>S. epidermidis</i>)	Vancomycine + céfépime, ceftazidime ou méropénème ^b
Cathéter ventriculaire ou lombaire externe	SCN (spécialement <i>S. epidermidis</i>), <i>S. aureus</i> , Bacille à Gram négatif aérobie facultatif et aérobie (incluant <i>P. aeruginosa</i>), <i>P. acnes</i>	Vancomycine + céfépime, ceftazidime ou méropénème ^b
Trauma pénétrant	<i>S. aureus</i> , SCN (spécialement <i>S. epidermidis</i>), bacilles à Gram négatif aérobie facultatif et aérobie (incluant <i>P. aeruginosa</i>).	Vancomycine plus céfépime, ceftazidime ou méropénème ^b
Fracture du crâne basilaire	<i>S. pneumoniae</i> , <i>H. influenzae</i> , <i>Streptococcus β hémolytique du groupe A</i>	Vancomycine + une céphalosporine de 3 ^{ème} génération (ceftriaxone ou cefotaxime)

^a Les doses quotidiennes recommandées pour les antibiotiques chez l'adulte avec une fonction rénale et hépatique normales sont les suivantes : Vancomycine 15 mg/kg toutes les 8 à 12 heures pour maintenir une concentration sérique de 15 à 20 μ g/mL ; céfépime 2 g toutes les 8 heures, ceftazidime 2 g toutes les 8 heures, ceftriaxone 2 g toutes les 12 heures, et céfotaxime 2 g toutes les 4 à 6 heures. Pour les patients avec allergie sévère à la pénicilline ou aux céphalosporines, aztréonam 2 g toutes les 6 à 8 heures ou ciprofloxacine 400 mg toutes les 8 à 12 heures peuvent être utilisés pour le traitement des infections causées par les BGN.

^b Le choix de l'agent spécifique devrait être basé sur la sensibilité des bacilles à Gram négatif aérobies.

L'IDSA recommande une antibiothérapie de 21 jours pour les méningites à bacilles à Gram négatif.

La SFAR recommande pour les ventriculites et les méningites post-opératoires une durée de 15 jours d'antibiothérapie pour les bactéries relativement sensible aux traitements (Staphylocoques métiS, Entérobactéries et *P. acnes*) à 3 semaines pour les autres. L'évolution favorable puis la guérison doivent être confirmées par des contrôles du LCR sous et éventuellement à l'arrêt du traitement. Et pourtant pour les méningites nosocomiales, la SFAR précise que l'évaluation de la réponse au traitement est avant tout clinique, et ne repose pas sur une surveillance systématique du LCR sous traitement, même si Il paraît

toutefois logique de proposer un contrôle microbiologique du LCR en cas de réponse clinique insatisfaisante (persistance de la fièvre ou déficit neurologique)³³.

L'antibiothérapie sera secondairement adaptée au(x) germe(s) identifié(s) et aux données de l'antibiogramme. Dans ce choix, il faut alors privilégier, selon la SFAR, les antibiotiques à bonne diffusion méningée comme les quinolones, la fosfomycine, le bactrim ou la rifampicine. Ainsi les associations fréquentes sont donc :

- quinolones + rifampicine ou fosfomycine pour les Staphylocoques méti S
- vancomycine, fosfomycine ou linézolide pour les Staphylocoques méti R
- céphalosporines de 3^e génération ± quinolones pour les Entérobactéries
- ceftazidime, le céfépime ou les carbapénèmes pour les *Pseudomonas*, *Acinetobacter* ou Entérobactéries BLSE/céphalosporinase déréprimée

En résumé : la base de l'antibiothérapie probabiliste des méningites nosocomiales doit comporter une C3G associée à la fosfomycine, ou à la vancomycine d'après les dernières recommandations. Après identification de la/des bactérie(s) responsable(s) et obtention de l'antibiogramme, l'antibiothérapie doit être réévaluée. Pour les infections à SARM ou SCNMR, le linézolide doit rester une alternative ; le méropénème est utile en cas d'Entérobactéries BLSE ou CEPD ou de bacilles à Gram négatif non fermentants en particulier.

2.2.1.2 ABCES CEREBRAUX

A. Traitement médical

L'antibiothérapie initiale doit être à large spectre et pouvoir traverser la barrière hémato-encéphalique. **Le traitement probabiliste doit couvrir les germes anaérobies : l'association principalement recommandée est C3G + métronidazole**, avec ajout de la vancomycine s'il existe une notion de traumatisme pénétrant ou d'intervention neurochirurgicale. En post-chirurgical, en particulier, il y a un risque d'infection à SMR et d'une résistance variable des bacilles à Gram négatif résistant aux C3G. Dans les formes post-chirurgicales, la possibilité d'utiliser des nouvelles molécules semblent attractive, étant donné leur spectre d'action et leur facilité d'administration (tigécycline, daptomycine, linézolide). Il n'y a pas encore d'expériences cliniques rapportées avec la daptomycine et la tigécycline. Pour le linézolide, il y a quelques évaluations cliniques de son efficacité⁷⁰ néanmoins avec des résultats contradictoires non expliqués dans 1 cas.⁷⁵ Certaines études ont démontré les qualités pharmacocinétiques de cet antibiotique.⁷¹

En fonction des facteurs prédisposants (en particulier du type d'abcès, cf. [tableau VIII](#)), cette antibiothérapie probabiliste peut être administrée jusqu'à ce que le pus soit drainé chirurgicalement et la sensibilité aux antibiotiques rendue par le laboratoire. Arlotti *et al.* recommandent (grade D) que le prélèvement d'abcès soit réalisé en dehors de toute antibiothérapie ou dans un délai de 3 jours suivant le

début de l'antibiothérapie. Si la culture est négative, l'antibiothérapie large spectre devra être poursuivie selon la cause prédisposante (étiologie) et la localisation anatomique de l'abcès.⁷⁶ Il a été montré que l'ampicilline, le céfuroxime, le cotrimoxazole, la ceftazidime, et le métronidazole atteignent les concentrations thérapeutiques nécessaires dans le pus intracranien, et ont été administrés avec succès dans plusieurs combinaisons.⁷⁷

Pénicilline et chloramphénicol ont longtemps été le traitement de référence en antibiothérapie probabiliste mais sont maintenant remplacés par Cefotaxime/Ceftriaxone/Ceftazidime, Vancomycine et métronidazole.⁴⁵ En ce qui concerne la durée de l'antibiothérapie, Arlotti *et al.* considèrent prudent (grade C) une **durée de 4 à 6 semaines pour le traitement des abcès traités chirurgicalement et 6 à 8 semaines pour le traitement intraveineux des abcès traités seulement médicalement.**⁴ Généralement, "des triples hautes doses" d'antibiotique intraveineux pendant 2 semaines suivies par 4 semaines de thérapie par voie orale sont recommandés ; dans le cas des patients immunodéprimés, le traitement est donné de 4 à 12 mois⁴³. Le métronidazole pénètre facilement les abcès cérébraux et les concentrations résiduelles sont de 40 mg/mL. Cet antibiotique a une parfaite activité bactéricide contre les anaérobies mais n'est pas actif contre les germes aérobies dont les streptocoques et contre les germes microaérophiles. Étant donné l'excellente concentration intralésionnelle et la grande probabilité d'anaérobies, beaucoup d'experts proposent de l'utiliser chez la plupart des patients avec un abcès cérébral.⁴³ Pour les abcès du cerveau en post-opératoires, la SFAR recommande une durée de l'antibiothérapie de l'ordre de 3 mois, avec un suivi scanographique nécessaire en complément de l'examen clinique pour juger de l'efficacité de l'antibiothérapie⁷.

Tableau VIII : Proposition d'une antibiothérapie probabiliste des abcès cérébraux selon leur origine d'après.⁴

Abcès post-traumatiques	Abcès post-chirurgicaux	Abcès venant de sinus paranasaux, de l'oreille moyenne et d'origine dentaire	Abcès métastatique ou cryptogénique **
Cefotaxime 2 g/6h + métronidazole 500 mg/8h +/- rifampicine 10mg/kg/j	Linézolide 600 mg/12h Ou vancomycine 40-60 mg/kg/j en perfusion continue (ajusté à la clairance à la créatinine) après une dose de charge de 15 mg/kg ou 10-15 mg/kg/6h jusqu'à une concentration sérique de 15-25 mg/L + rifampicine 10mg/kg/j + méropénème 2 g/8 h Ou Piperacilline-tazobactam 4,5 g/6h	Cefotaxime 2 g/6h + métronidazole 500 mg/8h Ou Pipéracilline/tazobactam 4,5 g/6h*	Cefotaxime 2g q6h +/- Métronidazole 500mg Ou Ampicilline/sulbactam 100/50 mg/kg q6h

Il a été montré que les carbapénèmes en monothérapie, pouvaient être une alternative au traitement cefotaxime + métronidazole quand ils sont utilisés en conjonction avec le traitement neurochirurgical pour traiter les abcès cérébraux bactériens⁷⁸ (mais la conception non randomisée de l'étude peut avoir introduit un biais).

Dans le Pily 2014, il est précisé qu'en attendant les données microbiologiques de la ponction neurochirurgicale, l'antibiothérapie probabiliste doit tenir compte de la porte d'entrée et du contexte :

- **origine locorégionale ou indéterminée** (Streptocoques, BGN, pneumocoque, anaérobies) : ceftriaxone ou céfotaxime + métronidazole

- **origine post-opératoire ou traumatique ouverte** (SAMR, BGN type *Pseudomonas*...) : vancomycine + céfépime ou ceftazidime ou méropénème

- **origine traumatique fermée** (pneumocoque, streptocoques, *H. influenzae*) : vancomycine + ceftriaxone ou céfotaxime + métronidazole ou fosfomycine+céfotaxime+métronidazole.

Il est précisé que la durée de l'antibiothérapie n'est pas consensuelle ; elle doit être d'un minimum de 3 semaines, par voie IV, dans tous les cas.

Cas particuliers

Pour les patients avec une immunité lymphocytaire diminuée, *Nocardia asteroides* et *Toxoplasma gondii* sont plus fréquents et pour eux, un traitement respectivement par méropénème pour le 1^{er} et par sulfonamide et pyriméthamine pour le 2nd est le plus efficace. Dans les cas spécifiques de déficit en lymphocyte T, *Cryptococcus neoformans* est commun, ainsi la 5 flucytosine et l'amphotéricine B peuvent être utilisés. Pour les patients atteints de lymphomes ou leucémies, l'infection par *P. aeruginosa* est commune et les carbénèmes et/ou aminosides sont les plus efficaces. Pour les transplantés rénaux, patients cancéreux et ceux sous corticothérapie, *Listeria* est plus commun et un traitement par amoxicilline est le plus efficace.⁴³

Intérêt des corticoïdes ?

En ce qui concerne l'utilisation des corticoïdes pour lutter contre l'œdème environnant, il n'existe pas de réelle étude contrôlée randomisée. Cependant, ils sont recommandés en périopératoire pour réduire la pression intracrânienne et éviter une hernie cérébrale aiguë mais uniquement chez les patients montrant des signes de méningites ou un œdème cytotoxique disproportionné mettant la vie en danger.⁴³

B. Traitement chirurgical

Les abcès pyogènes requièrent une intervention chirurgicale tandis que les abcès tuberculeux sont gérés de façon conservatrice. L'approche initiale est de drainer l'abcès à travers un forat pour crâniotomie. Si le pus est trop épais ou si un drainage insuffisant est suspecté, la procédure suivante serait d'utiliser un drainage avec un trou de trépan.⁴³

Bien que l'abcès soit une pathologie dont le traitement est essentiellement chirurgical, Arlotti *et al.* recommandent que le choix des patients pour une approche médicale soit réalisé sur une base personnelle. Ils considèrent que les meilleurs candidats sont ceux dont la taille de l'abcès est petit (<2,5 cm), en bonne

conditions cliniques initiales (GCS >12) et dont l'étiologie est bien connue (recommandations grade C) ou dans le cas de multiples abcès, après chirurgie de l'abcès (>2,5 cm) causant un effet de masse, ou chez les patients à risques sérieux de fonctionnement (ou d'opération), même si pour ces patients, la décision finale doit être considérée en fonction du (mauvais) pronostic de chaque cas (recommandations grade D).

En résumé : une approche multidisciplinaire est nécessaire entre le neurochirurgien, l'anesthésiste, l'infectiologue, le neuroradiologue et le microbiologiste pour le succès du management d'un abcès cérébral. Le drainage de l'abcès est souvent indispensable ; ainsi qu'une antibiothérapie au long cours.

2.2.2 LES PRATIQUES AU CHU DE TOULOUSE

Un protocole nommé « Infections neuroméningées - Antibiothérapie (après prélèvements bactériologiques) » est disponible au CHU de Toulouse depuis 2010 ([Annexe 1](#)). Ce protocole était appliqué uniquement au sein du service de Neurochirurgie de Rangueil. A Purpan, il n'existait pas de protocole. Nous avons constaté que le méropénème remplaçait de plus en plus le céfotaxime en couverture des bactéries à Gram négatif ; et qu'une dérive de prescription du linézolide était observée. Les services étant réunis au sein de l'hôpital Pierre Paul Riquet depuis mai 2014, une révision de ce protocole a été proposée pour une meilleure harmonisation des pratiques. **Ce protocole proposait un traitement probabiliste par céfotaxime + fosfomycine ou céfotaxime + vancomycine en cas de problème d'approvisionnement de la fosfomycine.**

Pour rappel, les spécialités « Fosfocine » injectable ont fait l'objet de difficultés de production et donc d'approvisionnement. De plus, l'importation de spécialités venant d'Espagne (« Fosfocina IV » – Lab. ERN SA) ont rencontré également des difficultés de même ordre pour des raisons industrielles. Aussi, un contingentement a été recommandé par l'ANSM (le 24/05/2011) ; l'antibiotique devant être strictement réservé aux méningites et autres infections sévères bactériologiquement documentées, à Staphylocoques résistants à la méticilline et/ou à bacilles à Gram négatif multirésistants, en l'absence d'alternatives thérapeutiques. Le laboratoire SANOFI-AVENTIS a informé le 28 mai 2014 que le contingentement était terminé et les spécialités référencées au CHU de Toulouse étaient donc à nouveau disponibles.

2.3 RAPPELS : RESISTANCES BACTERIENNES

2.3.1 RAPPELS : ENTEROBACTERIES ET RESISTANCE AUX B-LACTAMINES

Il existe 5 groupes d'entérobactéries, classées selon leur résistance naturelle aux β -lactamines^{79,80} :

GROUPE 0 : *Salmonella*, *Proteus mirabilis*. Ces bactéries sont naturellement sensibles à toutes les bêta-lactamines.

GROUPE 1 : *E. coli* et *Shigella* sécrètent naturellement une céphalosporinase constitutive de bas niveau (AmpC de la classe d'Ambler). Selon le niveau d'expression, le phénotype de résistance naturelle varie entre

sensibilité à toutes les β -lactamines et une sensibilité intermédiaire à l'amoxicilline +/-inhibiteurs et aux C1G.

GROUPE 2 : *Klebsiella* et *Citrobacter koseri* sécrètent naturellement une pénicillinase de bas niveau (type TEM ou SHV) qui leur confère une résistance à l'amoxicilline, à la pipéracilline et à la ticarcilline.

GROUPE 3 : *Enterobacter*, *Serratia marcesens*, *Hafnia alvei*, *Citrobacter freundii*, *Morganella morganii*, *Providencia*... Les bactéries composant ce groupe possèdent une céphalosporinase de type AmpC, inductible par les β -lactamines (notamment par l'imipénème, le céfoxitine et l'acide clavulanique, visibles *in vitro*) car régulée par un facteur de transcription AmpR. Le phénotype de résistance est marqué par une résistance aux aminopénicillines +/- aux inhibiteurs et aux C1G et aux C2G. Selon les espèces, il s'ajoute une résistance ou une sensibilité intermédiaire au céfuroxime.

GROUPE 4 : *Yersinia enterocolitica* et *Serratia fonticola*. Ces deux espèces sont caractérisées par la sécrétion de deux enzymes, une céphalosporinase inductible de classe C donc résistante aux inhibiteurs et une pénicillinase sensible aux inhibiteurs. Cette dernière est chez *Yersinia enterocolitica* une pénicillinase chromosomique de bas niveau et une BLSE chromosomique pour *Serratia fonticola* qui hydrolyse les pénicillines et des céphalosporines. Les phénotypes de résistance induit par ces deux couples d'enzymes sont assez proches : ils associent une résistance aux aminopénicillines, carboxypénicillines et C1G.

GROUPE 5 : Le groupe 5 comprend *Proteus vulgaris* et *Proteus penneri* qui expriment une céfuroximase leur conférant une résistance aux aminopénicillines, aux C1G et au céfuroxime ainsi qu'une sensibilité aux aminopénicillines + inhibiteurs.

Parmi les **phénotypes de résistances acquises** touchant les C3G, les plus importants sont :

- Le phénotype « **céphalosporinase de haut niveau ou déréprimée** » est principalement rencontré chez les Entérobactéries du groupe 3, en cas de dépression partielle ou totale du gène codant leur céphalosporinase. Cette hyperproduction confère une résistance à au moins une C3G, aux C2G, et aux céphamycines et aux pénicillines avec ou sans inhibiteurs. Les C4G restent le plus souvent sensibles. L'acquisition de céphalosporinase plasmidique peut engendrer le même phénotype de résistance.
- Depuis quelques années, des **céphalosporinases plasmidiques** (CMY-2, DHA...) confèrent des phénotypes de résistance comparables aux « céphalosporinases déréprimées » aux Entérobactéries des groupes I et II.
- Le phénotype **BLSE « bêta-lactamase à spectre étendu »**, rencontré chez toutes les Entérobactéries et conférant une résistance à toutes les bêta-lactamines sauf carbapénèmes et céfoxitine. Ce phénotype est caractérisé par une sensibilité accrue aux associations bêta-lactamines + inhibiteurs.

La fréquence croissante de ces résistances a entraîné une augmentation importante de la consommation des carbapénèmes ; y compris en antibiothérapie probabiliste. Cela a eu pour conséquence aussi de sélectionner de nouvelles résistances avec l'apparition des **carbapénémases**. Ces enzymes hydrolysent

toutes les β -lactamines, y compris les carbapénèmes et limitent ainsi drastiquement les alternatives thérapeutiques.

Le **tableau IX** résume les principaux phénotypes de résistance naturelle et acquise aux Bêta-lactamines des Entérobactéries.

En résumé : ces différents phénotypes de résistance sont à prendre en compte pour la mise en place d'un traitement antibiotique probabiliste ou documenté. Un des objectifs de ce travail était d'évaluer la fréquence de résistances chez les Entérobactéries afin de réévaluer la place du mérépénème. Une meilleure connaissance de l'épidémiologie locale nous permettrait d'assurer un usage plus raisonné de cette molécule.

Tableau IX : Profils de résistance naturelle et acquise des Entérobactéries aux bêta-lactamines.

ATB	0	1	2	3	4	5	BLSE	CEPD
Amoxicilline	S	S/I	R	R	R	R	R	R
Amoxicilline + Acide clavulanique	S	S/I	S	R	R	S	S/I/R	R
Pipéracilline	S	S	R	S	R	S	R	R
Piper + tazobactam	S	S	S	S	S	S	S/I/R	R
Céfalotine	S	S/I	S	R	R	R	R	R
Céfoxitine	S	S	S	S/I/R	S/I/R	S/I/R	S	R
Céfotaxime	S	S	S	S	S	S	S/I/R	R
Ceftazidime	S	S	S	S	S	S	S/I/R	R
Céfépime	S	S	S	S	S	S	S/I/R	S
Carbapénèmes	S	S	S	S	S	S	S	S

2.3.2 RAPPELS : STAPHYLOCOQUES ET RESISTANCE A LA METICILLINE

Le gène de résistance à la méticilline (*mecA*) code pour une PBP (« Penicillin Binding Protein ») additionnelle (en plus de PBP A à D ou PBP 1 à 4) ayant une faible affinité pour les β -lactamines. L'expression du gène *mecA* chez les SARM permet de poursuivre la synthèse de la paroi malgré l'inactivation des autres PBP par les bêta-lactamines⁸¹. Quatre classes de gènes faisant partie du complexe *mec* ont été décrits,⁸¹ ils diffèrent par leur organisation génétique (A à D). Cette résistance est portée par un chromosome et peut être transmise par un transposon transporté par un plasmide.⁸²

La cassette chromosomique *SCCmec* est un élément génétique mobile qui contient le gène *mecA* mais aussi les gènes *ccrAB* qui codent pour des recombinases agissant sur l'insertion et l'excision au niveau

du chromosome (Figure 2) .⁸³ Son site spécifique d'insertion ou d'excision est donc médiée par ces recombinases (*ccr*) et par la présence de séquences répétées directes et inversées (DR) aux extrémités de *SCCmec*. De plus la cassette SCC peut porter d'autres gènes de résistance ou des séquences d'insertion (IS431, IS1272), transposons (Tn4001, Tn554) ou plasmides (pUB110, pT181).

SCCmec est un fragment de 21-67 kb qui s'intègre dans un site unique proche de l'origine de réplication du chromosome de *S. aureus* (*orfX*). Cette cassette peut aussi être présente chez les SCN mais s'intégrer à une région du chromosome analogue.⁸⁴ La présence d'éléments *SCCmec* similaires chez les SARM et les SCN suggèrent fortement le transfert horizontal de la cassette *SCCmec*. Les souches de SAMS peuvent contenir des cassettes SCC sans le gène *mecA* ou des éléments *SCCmecA* ayant perdu la région contenant le gène *mecA*.⁸⁵ Pour *S. aureus*, 8 différents types de cassette ont été retrouvées^{81,86} et il existe probablement beaucoup de *SCCmec* non typables,^{87,88} ou de variants notamment pour le type IV⁸⁵. Ce dernier type est présent dans beaucoup plus de fonds génétiques que les autres types, incluant des souches épidémiques de SARM, acquises à l'hôpital et en communautaires, suggérant une mobilité accrue.

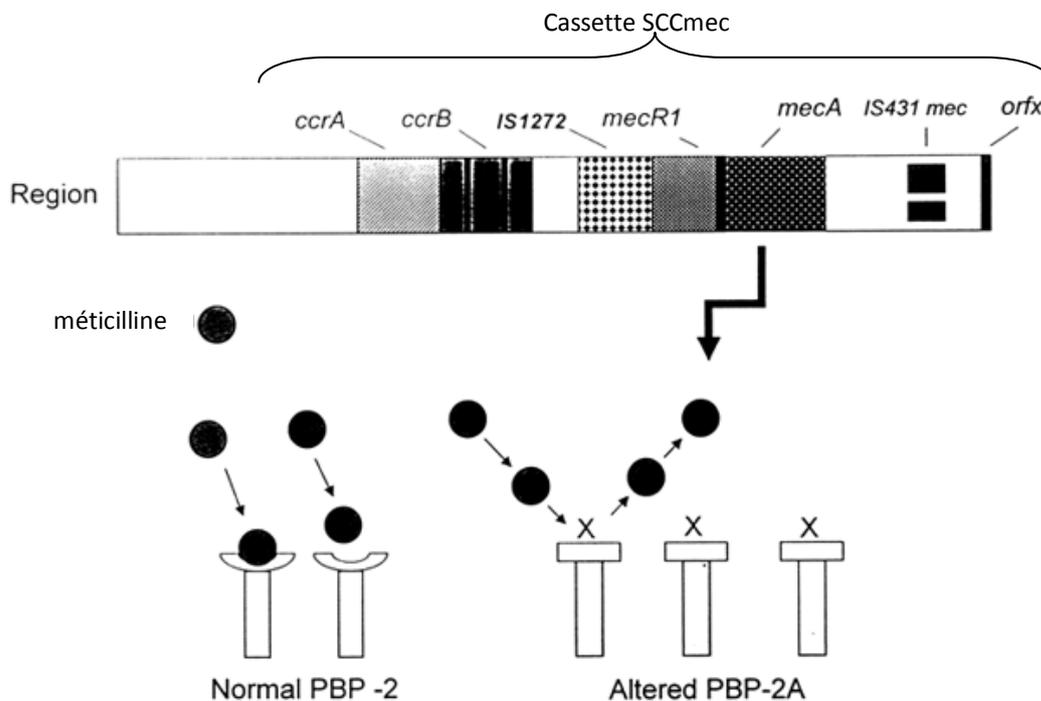


Figure 2 : Composition de la cassette *SCCmec* et synthèse d'une nouvelle PLP : *PLP2a* (d'après Rybak et al., 2005, *Pharmacotherapy*).

Pour détecter la résistance à la méticilline, on utilise en 1^{ère} intention, des tests phénotypiques : mesure des diamètres d'inhibition autour des diamètres de céfoxitine et moxalactam ; et/ou CMI de l'oxacilline (systèmes automatisés de CMI en milieu liquide, ex : Vitek2, bioMérieux). La céfoxitine est plus sensible pour la détection de la résistance à la méticilline chez *S. aureus* et le moxalactam chez les SCN

(recommandations CA-SFM, 2013). Pour les SARM, des PCR multiplex ciblent spécifiquement i) la jonction entre le cadre de lecture ouvert conservé *orfX* de *S. aureus* et la cassette SCC contenant le gène *mecA* ; ii) le gène *mecA* lui-même et parfois des séquences spécifiques de *S. aureus* pour le différencier des SCN. Des tests d'agglutination détectant la nouvelle PLP2a existent aussi (ex : Clearview PBP2a, Alère).

Un variant du gène *mecA*, *mecALGA251* ou *mecC* a été récemment mis en évidence dans les souches de SARM humaines et animales mais aussi dans des souches de SCN, dans un nouveau type de cassette, (type XI) en France et dans toute l'Europe^{89,90}. Ce nouveau variant est souvent détecté par les tests phénotypiques et le test d'agglutination PBP2a ; par contre, les kits commerciaux de PCR ne le détectent pas. Une PCR spécifique *mecC* est nécessaire.

2.3.3 RAPPELS : STAPHYLOCOQUES ET RESISTANCE A LA FOSFOMYCINE

La fosfomycine (acide phosphonique dérivé : acide L cis-1,2-époxypropyl phosphonique) inhibe la synthèse de la paroi bactérienne à un stade plus précoce que les β -lactamines, en inhibant la synthèse des acides muramiques et n'a pas de résistance croisée avec les β -lactamines. La fosfomycine est un analogue structural du PEP et se fixe de façon covalente à une cystéine du site actif de l'enzyme murA (ou UDP-N acétylglucosamine énoylpyruvyltransférase, enzyme responsable de la synthèse des acides muramiques)⁹¹. Son mode d'action est bactéricide. Par ailleurs cette enzyme étant intracytoplasmique, l'antibiotique doit pénétrer dans la cellule bactérienne et y parvient grâce à deux systèmes de transport actif : le système GlpT, partiellement constitutif, et le système UhpT, inductible par le glucose 6 phosphate (G6P), qui contrôlent les transports physiologiques respectifs du L- α -glycérophosphate et des hexoses phosphates.⁸⁰

2.3.3.1 RESISTANCE NATURELLE

Parmi les SCN, la résistance à la fosfomycine de *Staphylococcus saprophyticus* est bien connue, puisqu'il s'agit d'un agent fréquent d'infection urinaire en communautaire et que la fosfomycine est souvent donnée en probabliste. La première étude fut celle de Loulergue *et al.* en 1984, qui ont montré en étudiant la résistance à la fosfomycine chez *S. saprophyticus* et chez les autres espèces de SCN, les résultats suivants :

- Sur 45 souches de *S. saprophyticus* testées, 42 sont inhibées par une CMI >32 $\mu\text{g}/\text{mL}$, pour la fosfomycine, et 3 souches sont inhibées par une CMI=32 $\mu\text{g}/\text{mL}$.
- On observe une CMI>32 $\mu\text{g}/\text{mL}$ pour 5/26 souches de *S. cohnii* et *S. xylosus* et 1/24 souches de *S. epidermidis*. Parmi les 26 souches de *S. capitis*, *S. auricularis*, *S. hominis* et *S. warneri*, 18 répondent avec une CMI>32 $\mu\text{g}/\text{mL}$ (5/5 *S. capitis*, 1/3 *S. warneri*, 7/12 *S. hominis* et 5/6 *S. auricularis*).⁹²

Ainsi, on distingue les SCN considérés comme « résistants naturellement » comme *S. saprophyticus* et *S. capitis* de ceux qui sont « souvent résistants » comme *S. auricularis*, *S. warneri*, *S. haemolyticus* ou *S.*

hominis mais pour lesquels aucune donnée publiée ne permet de dire que c'est vraiment une résistance naturelle (et pour lesquels certains isolats apparaissent sensibles).^{80,92,93}

2.3.3.2 RESISTANCE ACQUISE

La résistance acquise à la fosfomycine est principalement chromosomique mais peut être plasmidique, elle n'est pas croisée avec les autres antibiotiques. La résistance chromosomique est souvent due à un défaut du transport de l'antibiotique par les systèmes GlpT et/ou UhpT. La résistance plasmidique s'explique par inactivation enzymatique de l'antibiotique par ouverture du noyau époxyde. FosB, enzyme magnésium dépendante inactivant la fosfomycine retrouvée chez les bactéries à gram positif tels que *S. aureus*, est l'un des 3 enzymes apparentés (fosA, fosB, fosX) confèrent la résistance à l'antibiotique⁸⁰. L'enzyme catalyse l'addition nucléophile de l'une des L-cystéine (L-Cys) ou bacillithiol (BSH), un thiol unique natif de bas poids moléculaires chez les bactéries à Gram positif, au C1 de la fosfomycine, résultant en un composé modifié sans propriétés bactéricides.⁹¹

Le gène *fosB* a une dispersion mondiale car il a été rapporté dans six endroits différents en France et aussi au Japon.⁹⁵ De plus, ce gène semble avoir une grande hétérogénéité chez certaines souches de *S. aureus*, *S. epidermidis*, *S. haemolyticus*, *S. saprophyticus* et *S. warneri* (variabilité de l'hybridation avec des amorces spécifiques).⁹⁵

Dans le traitement de *S. aureus*, la fosfomycine ne devrait jamais être utilisée en monothérapie (sélection rapide et fréquente de mutants résistants).⁸²

3 MATERIELS ET METHODES

3.1 RECUEILS EPIDEMIOLOGIQUES 2008 A 2014

L'extraction des données à partir du logiciel informatique de laboratoire (SIL) MOLIS® utilisé par les laboratoires de biologie médicale au CHU de Toulouse a permis de recueillir les paramètres suivants : le numéro du dossier, la nature du prélèvement, le service (Neurochirurgie Purpan/Rangueil), les nom/prénom/date de naissance du patient, la date du prélèvement, le type de prélèvement, le/les bactérie(s) retrouvée(s). Ce système d'extraction a été réalisé pour la période 2008-2014, pour les LCR/LCD d'une part et les prélèvements profonds (abcès cérébraux et autres) d'autre part. Pour chaque patient, nous avons obtenu le nombre de prélèvements réalisés, le nombre de prélèvements positifs et le genre et l'espèce bactérienne identifiée. Pour les patients ayant eu au moins un prélèvement de LCR/LCD positif, le profil de sensibilité à certains antibiotiques, les caractères biochimiques comprenant hématies et leucocytes dans le sang et le LCR, la glycémie, protéines/glucose/lactates dans le LCR et le temps de pousse ont été obtenus en se connectant sur chaque dossier via MOLIS®. Le temps de pousse a été retrouvé grâce au système de traçabilité de la MICBSP (MICrobiologie Bactériologie Sans Papier présente dans MOLIS). La sensibilité aux C3G a été relevée pour les Entérobactéries ; à la ceftazidime, aux carbapénèmes, à la ticarcilline, ticarcilline+acide clavulanique, aztréonam pour les bacilles à Gram négatif non fermentants (type *Pseudomonas*) ; et à la céfoxitine/moxalactam, fosfomycine, vancomycine pour les Staphylocoques. L'ensemble de ces données a été collecté sous Microsoft excel 2010, à partir duquel ont été réalisés les figures. Les statistiques descriptives ont été réalisées sous ce même logiciel.

Pour les pus profonds, notre intérêt s'est porté sur abcès cérébraux (et les empyèmes) ; en intégrant d'une part uniquement les pus nommés : abcès cérébraux et d'autres part les empyèmes (intraduraux, extraduraux, sous-duraux ou nommés « collection sous dural »). La difficulté d'identification de ces pus profonds était liée au bon remplissage du bon de demande avec indication de la nature exacte du prélèvement réalisé. Ainsi, nous avons dû éliminer un certain nombre de prélèvements pour lesquels les renseignements cliniques étaient manquants. Les abcès nommés duraux, intra ou extraduraux ont été exclus (sauf 2 où était noté en renseignement clinique qu'il s'agit d'empyèmes sous duraux) car ils sont le plus souvent associés à l'étage rachidien. Les abcès du cerveau ont été inclus dans les abcès cérébraux (bien qu'en théorie il puisse s'agir d'un empyème sous ou extradural). D'autre part, nous avons regroupé ensemble les autres pus ; la classification de ces prélèvements étant rendue difficile par la diversité des noms donnés avec l'idée que même regroupés ensemble, cela pourrait donner une idée de l'écologie générale. (exemple : [Tableau XIV](#) pour les prélèvements de *S. aureus*) Pour les empyèmes, seulement 12 prélèvements ont été inclus, 4 étaient nommés «collection intradurale ou sous-durale ou extra-durale), 2 autres étaient nommés « abcès crâniens » mais il était noté qu'il s'agissait d'empyèmes en renseignement

clinique. De rares prélèvements n'ont pas été exclus bien qu'il ne s'agisse pas tout à fait de prélèvements spécifiques de neurochirurgie mais conservés car réalisés dans le service. (des exemples sont donnés surlignés en jaune [Tableau XIV](#) pour le cas des *S. aureus*)

3.2 ETUDE DE 17 DOSSIERS PATIENTS : MENINGITES A ENTEROBACTERIES 2010-2014

La période d'observation va de 2010 (date d'instauration du protocole) à 2014 sur le CHU de TOULOUSE (Services de Neurochirurgie de RANGUEIL et PURPAN). Les patients ayant au moins 1 LCR positif à Entérobactéries ont été sélectionnés (seul critère d'inclusion).

Les paramètres suivants ont été relevés : pathologie neurochirurgicale, présence de matériel de dérivation, analyses biochimiques, cytologiques et bactériologiques y compris le temps de pousse, signes cliniques dont la fièvre, traitement antibiotique antérieur, colonisation ou infections antérieures, le traitement probabiliste et la réévaluation à 72h de l'antibiothérapie, le changement de matériel et enfin l'évolution du patient. Les données ont été obtenues à partir du dossier patient ou à partir du logiciel ORBIS®. Un dossier sur 17 était indisponible (patient décédé) mais certaines données ont pu être récupérées sur ORBIS®.

3.3 CONSOMMATION DES ANTIBIOTIQUES EN NEUROCHIRURGIE DE 2010 A 2014

Pour la consommation des antibiotiques, l'extraction a été réalisée entre 2011 et 2014 (données de 2010 non disponibles) par la Pharmacie selon l'année et les services. Ces données nous ont été fournies par la pharmacienne responsable du pôle de Neurologie (Pauline CLAVET). Les logiciels utilisés sont HYPERION qui permet d'obtenir les consommations des médicaments par secteur (ainsi que les antiseptiques et autres) et est interfacé avec COPILOTE (logiciel de production à Logipharma) et MAGH2, logiciel de commande des médicaments.

Les unités de service (UA) utilisées pour l'extraction de la consommation d'antibiotiques sont les suivantes: Neurochirurgie 2521, 2522, 2523, 2524, 2531, 2532, 2533, 2534, 2539). Pour les antibiotiques, uniquement les formes injectables étaient comptées. Le prix total était obtenu en multipliant le prix d'une unité (flacons) par le nombre totale d'unités.

3.4 ETUDE SUR L'APPORT DE LA PCR SPECIFIQUE S.AUREUS ET DE LA RECHERCHE DU GENE MECA DANS LES MENINGITES NOSOCOMIALES

3.4.1 OBJECTIFS DE L'ETUDE

L'objectif de cette étude est d'évaluer si la mise en place d'une technique de PCR rapide pour la détection de *S. aureus* et du gène *mecA* permettrait d'instaurer un traitement probabiliste par vancomycine uniquement chez les patients pour qui la détection du gène *mecA* serait positive. En effet, en

théorie si le gène *mecA* n'est pas présent, le céfotaxime permettrait de couvrir un SAMS. Pour cela, il faut donc une méthode sensible et spécifique, et obtenir si possible une valeur prédictive négative de 100%. Ainsi, si la PCR est négative, on ne doit pas retrouver de résistance à la méticilline sur l'antibiogramme. Cette étude a eu l'accord du Comité d'Éthique du CHU de Toulouse (cf [Annexes 2 et 3](#)).

Pour cette étude, nous avons choisi de tester les performances du kit Xpert MRSA/SA SSTI (Cepheid) qui permet d'obtenir un résultat environ en 1h. Nous allons dans la suite de ce paragraphe, présenter ce test, la validation de méthodes que nous avons réalisées (ce test n'étant pas validé sur les LCR/LCD par le fabricant), et les critères d'inclusion des patients.

3.4.2 PRESENTATION DU TEST XPERT® MRSA/SA SSTI

Le mécanisme de résistance à la méticilline peut être facilement détecté en utilisant soit le gène *mecA*, soit la cassette chromosomique staphylococcique *SCCmec-OrfX* jonction comme marqueur.⁹⁶ Bien que le gène *mecA* soit central pour la détermination de la résistance à la méticilline, il n'est pas spécifique des SARM ; on le retrouve aussi chez les SCN. Ainsi, les techniques de PCR basées sur la détection du gène *mecA* sont aussi positives pour les SCN. En revanche, les analyses basées sur la détection de la jonction *SCCmec-OrfX* sont spécifiques de *S. aureus*. L'avantage d'utiliser cette jonction comme molécule cible, et que (si l'intégration est correcte) une seule amorce ciblant la jonction avec des amorces spécifiques pour chaque type de *SCCmec* et 1 seule sonde englobant la jonction *SCCmec-Orf X* peuvent suffire pour identifier et confirmer la résistance à la méticilline dans une seule analyse⁹⁶.

Utilisation prévue par le fournisseur

Le test Xpert MRSA/SA SSTI (Skin and Soft Tissue Infection) de Cepheid réalisé sur le GeneXpert® Dx System est un test de diagnostic *in vitro* qualitatif conçu pour la détection de *S. aureus* et de *S.aureus* résistant à la méticilline (SARM) sur écouvillon lors d'infections de la peau et des tissus mous. Le test utilise la PCR en temps réel automatisée pour détecter l'ADN du SARM/SA. Ce test est conçu pour être utilisé en association avec d'autres tests de laboratoire, comme la culture qui sert à récupérer des souches pour la conservation (typage épidémiologique entre autres si besoin) et pour la réalisation de l'antibiogramme. Le test Xpert MRSA/SA SSTI n'est pas indiqué pour contrôler le traitement des infections à SARM/SA.

Quant au test Xpert MRSA/SA BC, il a été conçu pour la détection de *S.aureus* et du *S.aureus* résistant à la méticilline (SARM) dans les hémocultures positives.

Nous avons donc voulu adapter une méthode (portée B), c'est-à-dire modifier une méthode validée (ici sur la peau et tissu mou pour Xpert MRSA/SA SSTI et les hémocultures pour Xpert MRSA/SA BC) pour l'ajuster aux besoins du LBM/du client (patient/prescripteur) (ici sur les LCR/LCD de neurochirurgie)

Principe de la procédure

Le système GeneXpert automatise et intègre l'extraction d'échantillons, l'amplification de l'ADN et la détection de la séquence cible, en utilisant la PCR en temps réel. Ce système utilise des cartouches jetables

et à usage unique, qui contiennent les réactifs PCR. Le test Xpert MRSA/SA SSTI comprend des réactifs pour la détection du SARM et du SA, un contrôle du traitement de l'échantillon (CTE) pour contrôler l'extraction appropriée des bactéries ainsi que la présence d'inhibiteur(s) lors de la réaction PCR. Le CTE s'assure également que les conditions de réaction PCR (température et temps) sont appropriées pour la réaction d'amplification et que les réactifs PCR sont fonctionnels. Le contrôle de la sonde consiste à vérifier la réhydratation des réactifs, le remplissage des tubes de PCR dans la cartouche, l'intégrité de la sonde et la stabilité du fluorochrome. La présence de *S. aureus* est détecté par le gène *spa*. La résistance de *S. aureus* à la méticilline est détecté par le gène *mecA* et par la cassette *SCCmec*. La résistance des SCN à la méticilline est détecté par le gène *mecA*.

3.4.3 CRITERES D'INCLUSIONS, D'EXCLUSIONS DES PATIENTS

Les patients sont inclus par les médecins des services de Neurochirurgie de Ranguel (et ensuite par les services de Neurochirurgie de Pierre Paul RIQUET). Les critères d'inclusion sont les suivants :

- Adultes : âge > 18 ans
- Admis dans le service de neurochirurgie : en unité fonctionnelle, en surveillance continue ou en réanimation
- Présentant une suspicion d'infection du SNC :
 - méningite ou empyème (pas d'inclusion des abcès cérébraux car prélèvements de LCR non contributifs), pour lesquels le praticien sur un faisceau d'arguments cliniques, biologiques ou paracliniques décide de traiter une infection du SNC par une antibiothérapie probabiliste
 - nosocomiale : plus de 48h après leur admission ou dans les 30 jours suivants une intervention chirurgicale ou dans l'année suivant la pose de matériel.

Au total, à la date du 07/03/2014, 12 patients ont été inclus.

Les critères de non inclusion : Patient mineur et traitement antibiotique en cours au moment du prélèvement de LCR.

3.4.4 VALIDATION DE METHODES

Le résumé des souches utilisées, des dilutions effectuées et des tests utilisés est aussi présenté dans le SH-FORM 44 situé dans la partie Résultats.

A. Echantillons et souches utilisés

Tous les LCR et LCD de Neurochirurgie rendus stériles en culture ont été conservés à 5±3°C à partir du début de la période de validation de méthode. Les LCR/LCD ont ensuite été poolés (les liquides d'aspect hémétique n'ont pas été intégrés). Nous avons utilisé, selon les manipulations (1 à 4), la souche de référence *S. aureus* ATCC 25923 sensible à la méticilline, ainsi que des souches patients dont la sensibilité à

la méticilline était connue (antibiogramme standard réalisé \pm PCR *mecA*). Des dilutions différentes ont été réalisées selon les expérimentations.

B. Réalisation des différentes expérimentations

Expérimentation 1

Pour la souche de SARM, nous avons utilisé une souche patient (cefoxitine = 15 mm et moxalactam = 15 mm ; PCR *mecA* positive) et pour la souche de SAMS, nous avons utilisé la souche de référence *S. aureus* ATCC® 25923. Des dilutions ont d'abord été réalisées à partir d'une solution mère en sérum physiologique à 0,5 McFarland (=10⁸ UFC/mL, d'après CA-SFM 2013)⁹⁷. Les dilutions ont ensuite été réalisées dans les LCR/LCD poolés (les cultures des liquides poolés ont été vérifiées comme stériles). Chaque dilution (10⁴, 10³, 10², 10¹ UFC/mL) a été testée 3 fois avec le coffret Xpert MRSA/SA SSTI avec la souche de SARM et la souche ATCC et une fois avec le coffret Xpert MRSA BC, afin de comparer les performances des 2 kits. Pour la PCR, 100 μ L de chaque dilution ont été mis dans le tampon. Un LCD positif à *S. aureus* métiS a été testé avec 100 μ L et 10 μ L BC et avec 100 μ L le coffret SSTI. Au total, 35 tests ont été réalisés.

Une culture quantitative a été réalisée en parallèle sur gélose au sang incubé 24 h à 37°C (10 μ L en strie centrale puis étalement sur toute la boîte). La sensibilité à la céfoxitine et au moxalactam avait été testée sur gélose Mueller-Hinton selon les recommandations du CA-SFM 2013

Expérimentation 2

Au vu des résultats (dilutions à 10² et 10¹ UFC/mL négatifs lors de la manipulation 1), les dilutions suivantes 10⁶, 10⁵, 10⁴, 10³, ont été testées 2 fois (dilutions en sérum physiologique cette fois) avec deux souches de patients : une souche de SARM et souche de SA (uniquement 10⁵, 10⁴ UFC/mL avec SAMS pour le coffret BC). Au total, 14 tests ont été réalisés.

Expérimentation 3

Chaque dilution (10⁵, 10⁴, 10³, 10² UFC/mL) a été testée 1 fois avec ajout de 1 mL dans le tampon pour voir si une meilleure sensibilité était obtenue avec 2 souches de SARM de patients différents avec le coffret SSTI. Trois souches patients de SCN sensibles à la méticilline ont testées à 10⁶ UFC/mL avec 100 μ L dans le tampon. Deux souches patients de SCN métiR ont testés à 10⁵, 10⁴, et 10³ pour une et 10⁵, 10⁴ pour l'autre. Au total, 16 tests ont été réalisés.

Expérimentation 4

Quatre souches patients de SCN métiS à 10⁵ ont été testées avec 1 mL afin de s'assurer de la bonne spécificité du test. Six souches patients de SCN métiR à 10⁴ ont été testées avec 100 μ L et 7 souches patients de SCN métiR à 10⁵ ont été testées avec 100 μ L. Au total, 17 tests ont été réalisés.

4 RESULTATS

4.1 EPIDEMIOLOGIE DES INFECTIONS DE NEUROCHIRURGIE ENTRE 2008 ET 2014

4.1.1 MENINGITES NOSOCOMIALES

4.1.1.1 FREQUENCES DES INFECTIONS

Au total, 2823 LCR ont été prélevés entre 2008 et 2014 sur les 2 sites, 209 étaient positifs à cocci à Gram positif (soit 7,4%) (staphylocoques, entérocoques, streptocoques) et 97 à bacilles à Gram négatif (soit 3,4%) dont 39 à Entérobactéries (soit 1,38 %) (Tableau X).

Entre 2008 et 2014, 188 patients avaient au moins 1 LCR positif parmi les 1117 patients, ce qui correspond à 16,8% des patients prélevés (patient possiblement infecté = patient avec au moins un LCR positif à une bactérie donnée). Vingt quatre patients parmi eux ont présenté une méningite nosocomiale à Entérobactéries, soient 2,1 % (parmi les patients possiblement infectés, ils représentent 12,8%).

Tableau X : Nombre de prélèvements positifs par année.

Années	2008	2009	2010	2011	2012	2013	2014	TOTAL
Nombres de patients	153	148	147	150	172	156	191	1117
Nombres de LCR/LCD	479	420	333	430	364	344	453	2823
Nb moyen de LCR/LCD par patient	3,13	2,84	2,27	2,87	2,12	2,21	2,37	2,53
LCR/LCD positifs à CG+ (%)	42 (8,8%)	31 (7,4%)	13 (3%)	22 (5,1%)	27 (7,4%)	22 (6,4%)	52 (11,5%)	209 (7,4%)
LCR/LCD positifs à BG- (%)	19 (4%)	17 (4%)	5 (1,5%)	5 (1,2%)	9 (2,5%)	14 (4,1%)	28 (6,6%)	97 (3,4%)
LCR/LCD positifs à Entérobactéries	3 (0,6%)	8 (1,9%)	3 (0,9%)	2 (0,5%)	6 (1,6%)	13 (3,8%)	4 (0,8%)	39 (1,4%)
LCR/ LCD stériles (%)	414 (86,4%)	369 (87,9%)	311 (93,4%)	401 (93,3%)	321 (88,2%)	295 (85,8%)	272 (60%)	2383 (84,4%)

Ce tableau prend en compte tous les LCR, y compris les LCR de contrôle comme en témoigne le grand nombre de LCR stériles (>80%, à l'exception de l'année 2014 = 60%). Pour un même patient, plusieurs LCR sont parfois prélevés et positifs au même germe ou à un germe différent. En 2014, on constate une augmentation du nombre de LCR à CG+ (11,5%) et à BG- (6,6%) avec cependant moins d'Entérobactéries (0,8% en 2014 contre 3,8% en 2013). Cela est dû à une augmentation des bacilles à Gram négatif non fermentants avec notamment un patient avec 6 LCR positifs avec *Acinetobacter baumannii*, un autre avec 4 LCR positifs à *Pseudomonas aeruginosa*. A noter aussi en 2013, un pic de méningites à Entérobactéries (3,8% contre 1,4% en moyenne les autres années) (Tableau X, Figure 3).

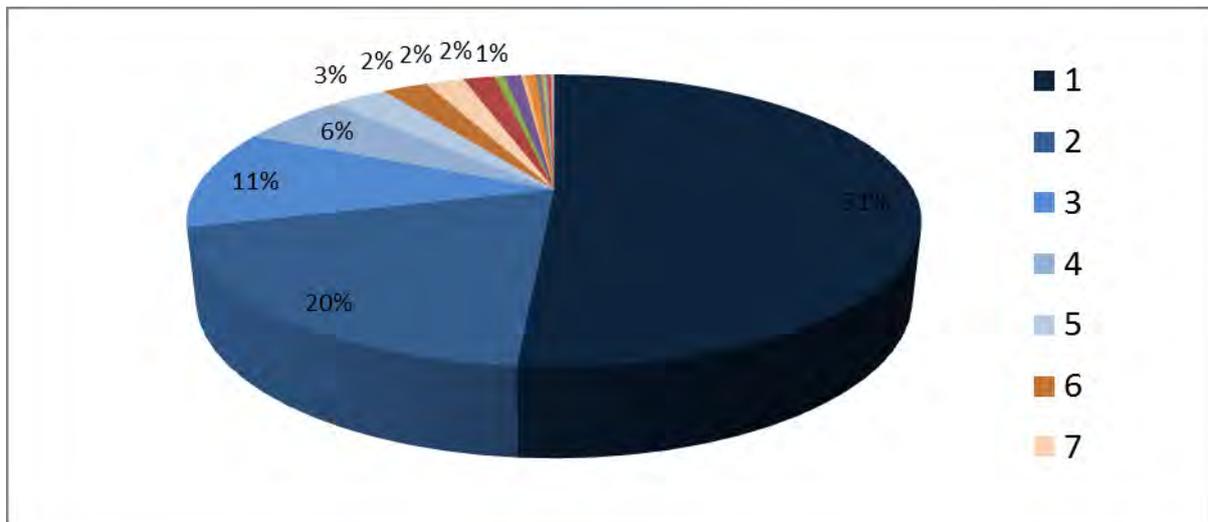


Figure 3 : Pourcentage des différents nombres de prélèvements retrouvés chez les patients entre 2008 et 2014.

Ainsi, 51%, 20%, 11%, 6% des patients ont eu respectivement 1, 2, 3, 4 prélèvements de LCR/LCD. Certains patients ont eu jusqu'à 17, 25 voir 32 prélèvements de LCR.

Le pourcentage de patients positifs (au moins un prélèvement positif [Figure 4](#)) varie par année (de 9% à 24% entre 2008 et 2014). A noter qu tous les staphylocoques ont été pris en compte (même ceux considérés comme potentiellement contaminants, nous avons donc probablement surestimé le nombre de patients infectés).

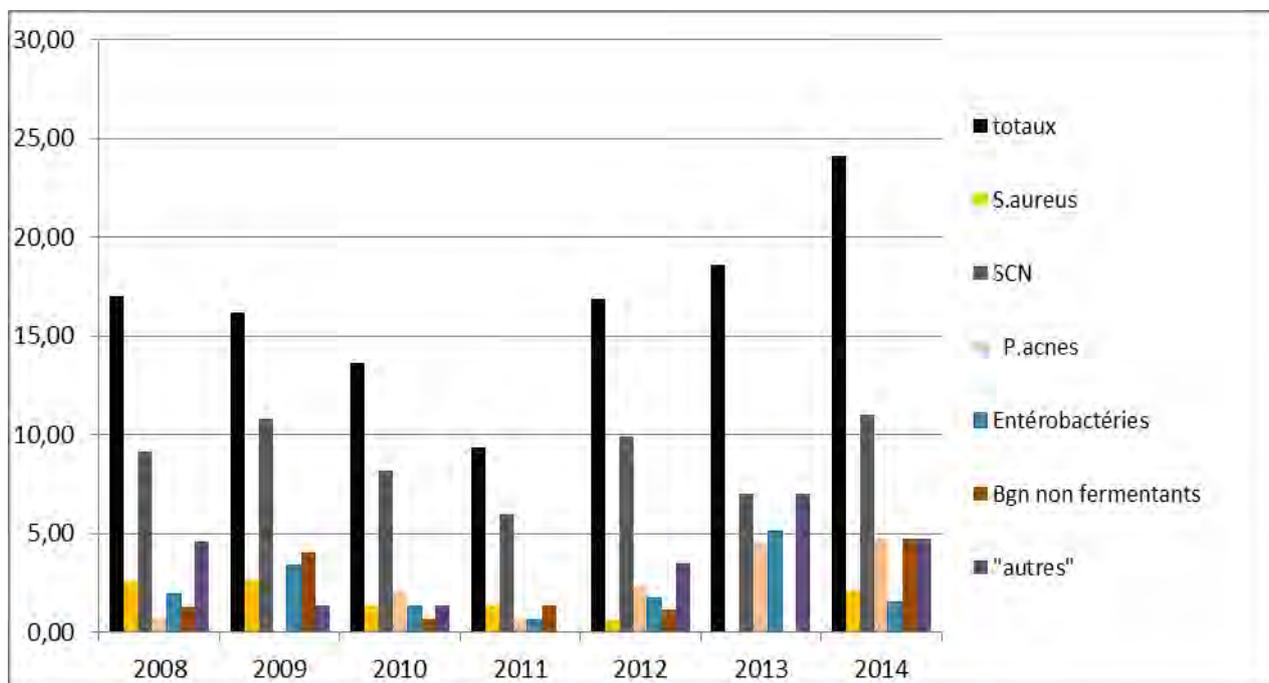


Figure 4 : Pourcentage de patients infectés par catégories de bactéries principales par années.

(« bactéries » = Nombre de patients avec au moins 1 prélèvement positif à « bactérie »/Nombres de patients prélevés dans l'année*100. Un patient n'est compté qu'une seule fois dans la catégorie « totaux » si plusieurs de ces LCR sont positifs dans la même année, mais si les bactéries sont différentes, il est compté ensuite dans chaque catégorie, ce qui explique que la somme des pourcentages de chaque catégorie de bactérie peut être supérieure à la catégorie « totaux »)

En 2013, on constate une augmentation des patients infectés à Entérobactéries (5,1%). En 2014, on constate au contraire une diminution de cette population mais une augmentation du nombre total de patients infectés (24%), due aux patients infectés par les SCN, et une augmentation d'infections à *P. acnes* (déjà observée en 2013), et également à bacilles à Gram négatif non fermentants .

Pour les patients avec au moins un LCR positif, nous nous sommes proposé de regarder également la biochimie des LCR. Les résultats globaux et puis par bactéries sont présentés ci-après.

4.1.1.2 BIOCHIMIE

Les [tableaux XI et XII](#) regroupent les paramètres biochimiques obtenus, en globalité et par types de germes.

- La valeur des protéines élevée pour les BGN non fermentants s'expliquent en partie par un patient qui a une valeur de protéine à 55 g/L.
- Pour les SCN, le rapport glycorachie/glycémie est en moyenne supérieur à 0,4.
- Pour *P. acnes*, le CELL index varie entre 0 et 10 pour 13 patients et 1 patient avait un CELL INDEX à 342. En remplaçant la valeur 342 par la valeur la plus haute de la série (9,42), la moyenne est de 3,38 et le CV de 100%. Le CELL INDEX est nettement plus bas pour *P.acnes*.
- Pour l'ensemble des bacilles à Gram négatif, la protéinorachie et les lactates semblent supérieures à celle des autres germes ; et la glycorachie inférieure.

Les CV sont très importants pour l'ensemble des ces paramètres, notamment pour les SCN et pour *P.acnes* qui parfois sont responsables d'infections et parfois de simples contaminants. Pour une représentation plus aisée, des diagrammes à moustaches ont été réalisés sauf pour le paramètre CELL INDEX car la dispersion des valeurs était trop importante (de 0 à 74460) ([Figures 5 à 8](#)).

Tableau XI : Valeurs cytologiques et biochimiques des LCR.

Paramètres biochimiques/ types de germes		CELL INDEX	Protéines	Glycorachie/Glycémie	Lactates
Tous les LCR positifs	Moyenne	4610,8 (114)	2,35 (177)	0,48 (82)	6,5 (74)
	Ecart-type	12193,6	4,83	0,28	4,5
	CV	2,6	2,06	0,58	0,7
LCR à Enterobactéries	Moyenne	4695,2 (9)	5,29 (17)	0,14 (5)	11,99 (10)
	Ecart-type	7485,4	3,99	0,14	4,52
	CV	1,6	0,75	1,02	0,37
LCR à <i>S.aureus</i>	Moyenne	3183,59 (9)	1,95 (14)	0,35 (6)	8,46 (4)
	Ecart-type	4529,39	2,04	0,26	3,09
	CV	1,42	1,05	0,73	0,37
LCR à SCN	Moyenne	4722,5 (51)	1,3 (80)	0,49 (42)	4,57 (33)
	Ecart-type	13137,5	1,6	0,18	2,31
	CV	2,8	1,2	0,38	0,50
LCR à BGN non fermentants	Moyenne	3878,25 (11)	5,32 (17)	0,36 (5)	9,25 (10)
	Ecart-type	8536,71	13,03	0,40	4,94
	CV	2,20	2,49	1,10	0,53
LCR à <i>P.acnes</i>	Moyenne	27,1 (14)	1,64 (24)	0,71 (11)	3,6 (14)
	Ecart-type	90,7	2,74	0,15	2,03
	CV	3,3	1,67	0,22	0,56

Entre parenthèse : nombres de patients pour lesquels le paramètre était disponible ou calculable. Le nombre est le même pour les 3 paramètres statistiques

Tableau XII : Valeurs du CELL INDEX en fonction des bactéries responsables de la méningite.

	Totaux	Entérobactéries	<i>S. aureus</i>	SCN	BGN non fermentants	<i>P. acnes</i>
valeur minimum	0,0	0,7	1,9	0,0	1,0	0,0
Q1	2,3	7,1	102,3	2,3	79,2	1,0
Médiane	35,3	382,6	381,8	22,2	317,1	2,3
Q3	1033,1	5556,5	7372,7	762,9	2854,8	4,4
valeur maximum	74460,2	20018,7	11519,3	65152,3	28585,7	342,2

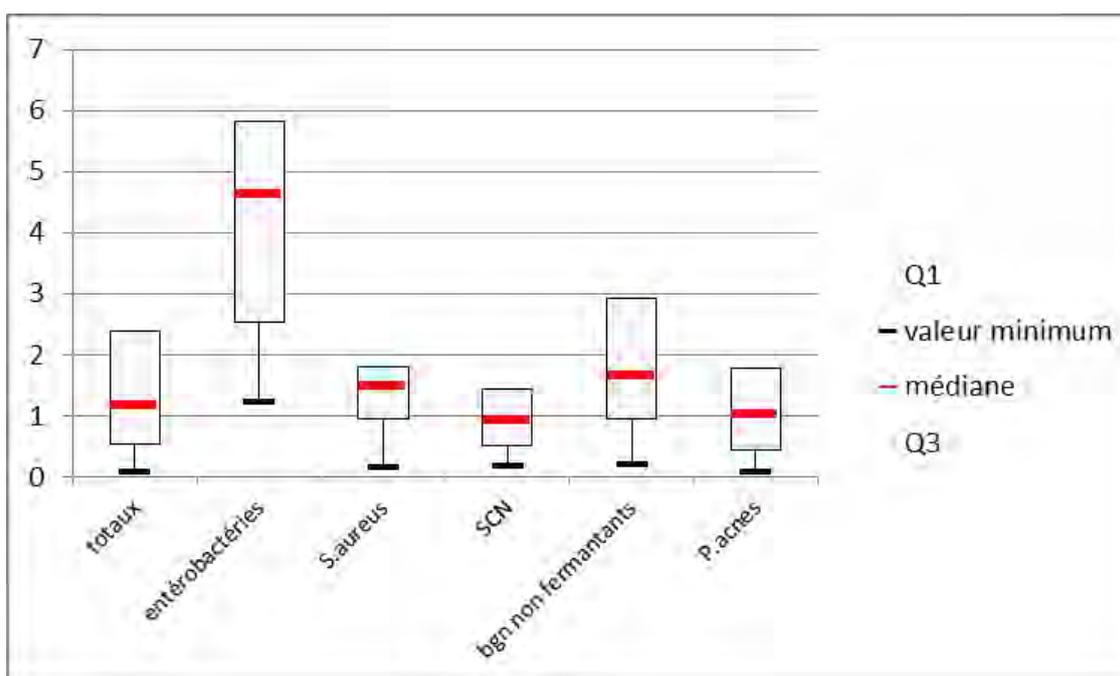


Figure 5 : Représentation des valeurs de la protéinurie selon le type de bactérie. Les valeurs maximums n'ont pas été intégrées car trop élevées, en particulier celle du patient avec méningite à BG- non fermentant à 55g/L.

Sur ce graphique, on constate que la protéinurie semble en général plus élevée pour les Entérobactéries, toutes les valeurs sont supérieures à 1 g/L. Pour les SCN et *P.acnes*, un quart des valeurs est inférieur à 0,4 g/L, ce qui correspond au seuil. Toutefois, il faut rappeler que pour les liquides hémorragiques, la protéinurie est d'interprétation délicate car la présence de 1000 globules rouges augmente approximativement la protéinurie de 0,1g/L.

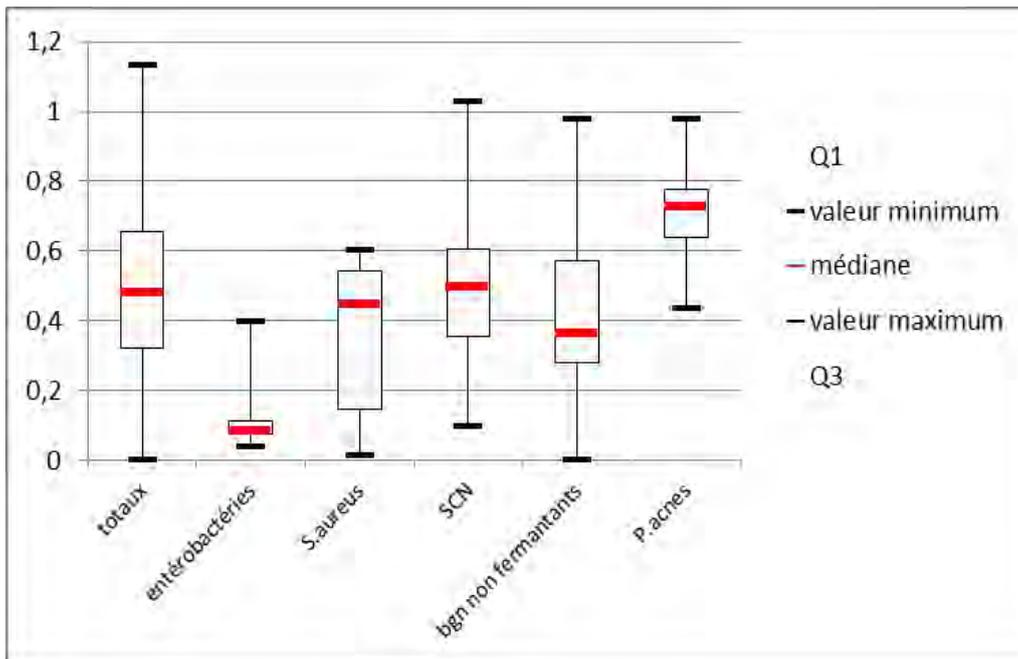


Figure 6 : Représentation des valeurs du rapport glycorachie/glycémie selon le type de bactéries.

Les Entérobactéries sont celles présentant le rapport le plus bas, avec une valeur maximum en dessus du seuil, de même que pour *S. aureus*. Pour *P. acnes*, le rapport est souvent normal. Pour SCN, la valeur seuil diagnostique (0,5) correspond à la médiane.

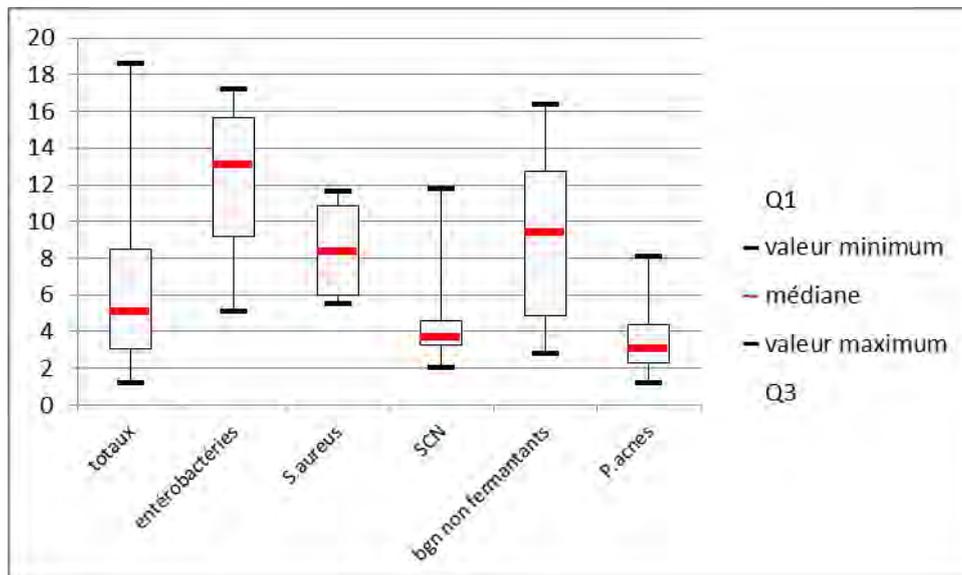


Figure 7 : Représentation des valeurs des lactates selon le type de bactéries.

Les lactates sont le plus bas pour les SCN et pour *P. acnes* (entre la moitié et les trois quarts des valeurs sont en dessous du seuil de 4 mmol/L) et les valeurs les plus élevées sont obtenues pour les Entérobactéries.

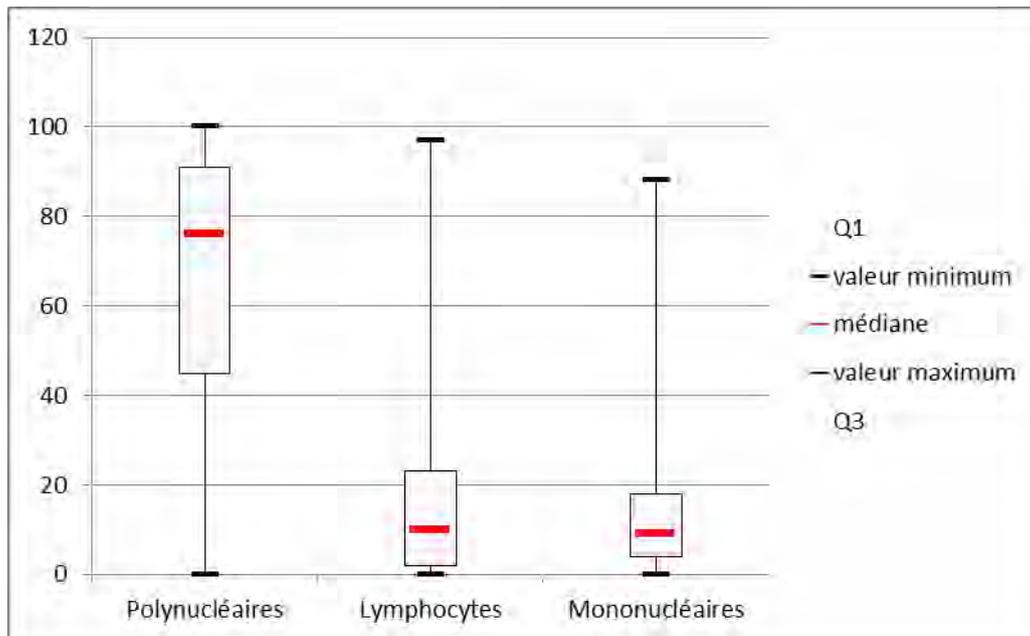


Figure 8 : Représentation en pourcentage des éléments de la formule de tous les LCR pour lesquels une formule a été réalisée.

On retrouve une médiane respectivement de 76, 10 et 9 pour les polynucléaires, lymphocytes et monocytes.

4.1.1.3 BACTERIES RETROUVEES

34,8% des LCR avec culture positive avaient un examen direct positif (pour 6,4% l'examen direct n'était pas réalisé). Parmi ces LCR, **47,8% des LCR avec culture positive à BGN avaient un examen direct positif** (pour 15% l'examen direct n'était pas réalisé), 34,6% des LCR avec une culture positive à CGP avaient un examen direct positif (pour 3.8% l'examen direct n'était pas réalisé). La Figure 9 présente le nombre de prélèvements positifs selon le type de germes.

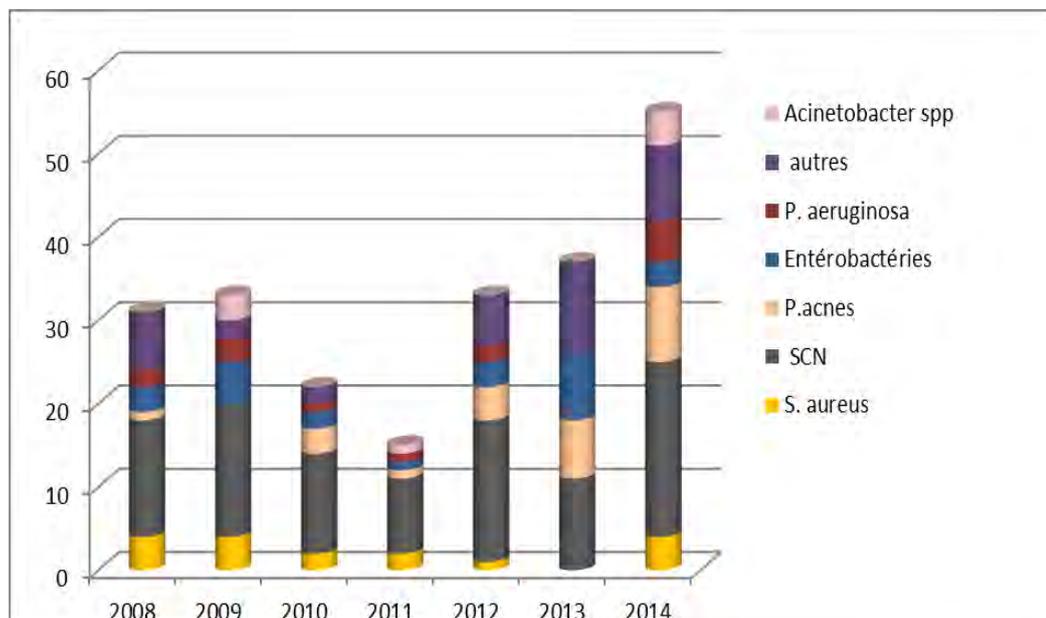


Figure 9 : Nombre de prélèvements positifs par année par type de bactéries dans les LCR/LCD (N.B. : 1 seul prélèvement positif par patient est pris en compte).

En 2013, aucun *Staphylococcus aureus* n'a été retrouvé mais on note une augmentation des « germes autres » et aussi des infections à Entérobactéries. En 2014, un nombre assez important d'infections à SCN (21 souches), 5 infections à *Pseudomonas aeruginosa* et 4 à *Acinetobacter spp* sont mises en évidence. On note également la présence non négligeable de *P. acnes* notamment en 2013 et 2014. En 2013 et en 2014, 8 patients étaient infectés à « germes autres » (Figure 10).

Parmi les germes « autres », *E.faecalis*, *Corynebacterium spp* et les streptocoques oraux sont les plus bactéries les plus fréquemment retrouvées. En 2013, 8 patients étaient infectés à bactéries autres, dont 1 patient qui avait une infection mixte à *Actinomyces meyeri* + *Haemophilus spp* + *Streptococcus intermedius* suivi d'un prélèvement ultérieur positif à *S. oralis*. En 2014, 8 patients étaient aussi infectés à bactéries autres, dont 4 infections mixtes, respectivement à :

- *E. faecalis* + *S. epidermidis* + *S. hominis* + *Corynebacterium spp*
- *A. baumannii* + *M. luteus* + *S. epidermidis*
- *S. salivarius* + *S. epidermidis*
- *Bacillus spp* + *P. acnes* + *P. aeruginosa*.

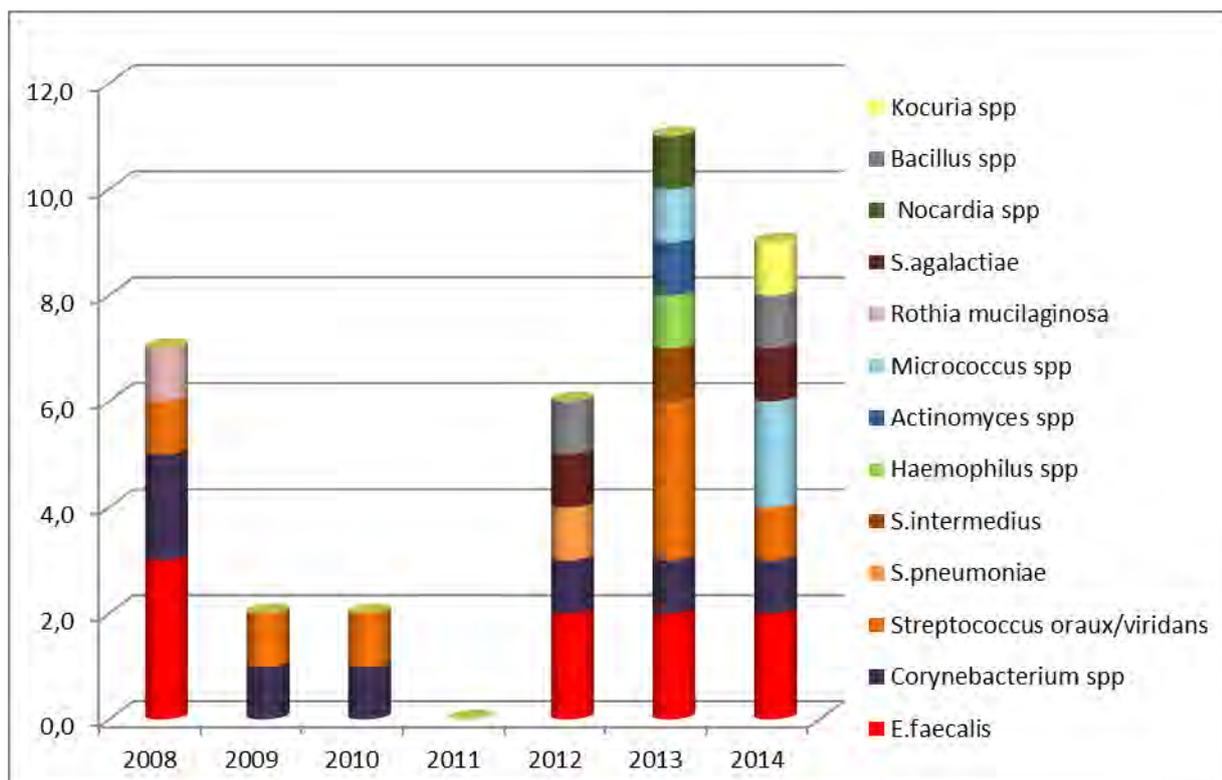


Figure 10 : Nombre de prélèvements positifs par bactéries « autres » dans les LCR /LCD (N.B. : 1 seul prélèvement positif par patient est pris en compte).

Au total, sur les 7 ans de l'étude épidémiologique, on retrouve environ **8% de *S. aureus***, **44% de SCN**, **11% de *P. acnes***, **11% d'Entérobactéries**, 10% de bacilles à Gram négatif non fermentants (6% de *P. aeruginosa*, 4% d'*A. baumannii*) et 16% d'autres germes (dont 3,8 % d'*E. faecalis*, 3,8% de *Streptococcus spp*, 3% de *Corynebacterium spp*, 1,3% de *Micrococcus spp*) (Figure 11).

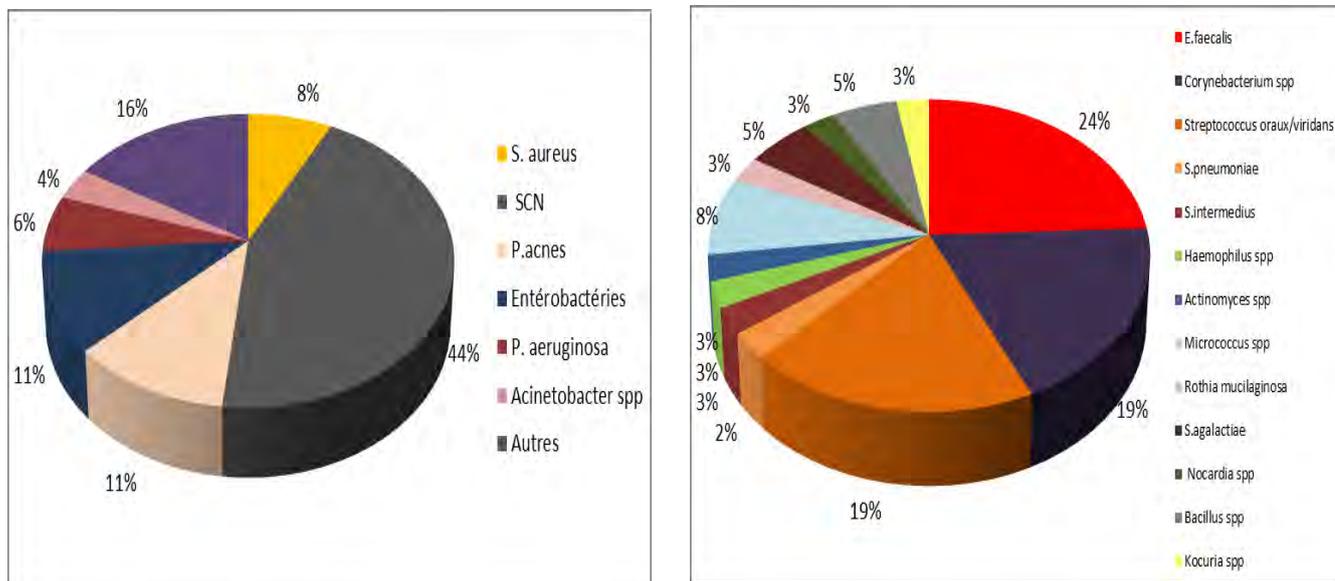


Figure 11 : Pourcentage de différentes espèces bactériennes retrouvées dans les prélèvements positifs de LCR /LCD parmi les patients infectés entre 2008 et 2014 (à gauche : bactéries principales et à droite bactéries « autres »).

4.1.1.4 DETAILS PAR BACTERIES ET TYPES DE RESISTANCE

A. STAPHYLOCOQUES

a) Résistance aux antibiotiques

Pour les staphylocoques à coagulase négative (SCN) (Figure 12) :

- 57,4% sont des *S. epidermidis*
- 14,8% ont été rendus SCN (ce qui veut dire que l'espèce n'a pas été identifiée car considérée comme contaminant)

Au total, on a retrouvé 102 souches de SCN mais seulement 87 souches pour lesquelles les données de l'antibiogramme étaient complètes (correspondent aux souches incluses dans cette figure) (pour 95 souches, nous avons une donnée sur la résistance à la méticilline). Au total, sur les 7 ans (Figure 12) :

- 57% des SCN sont résistants à la méticilline
- 39% des SCN sont résistants à la fosfomycine mais pour certaines espèces cette résistance est naturelle ou très fréquente.
- 44,8% ont une CMI à la vancomycine > ou égale à 2.

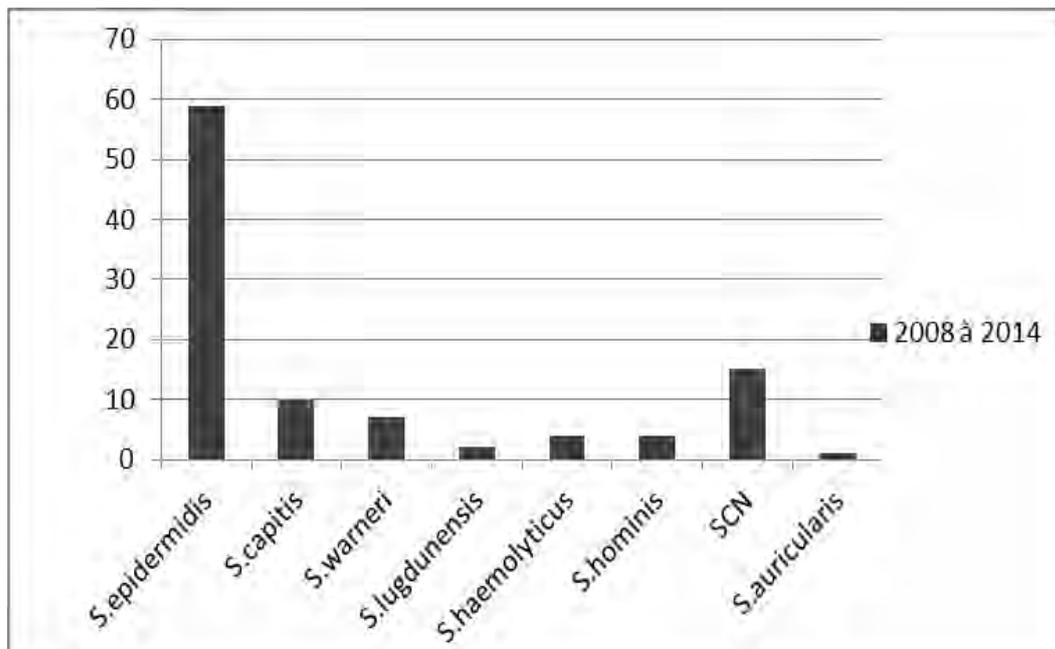


Figure 12 : Nombre des différentes espèces de SCN dans les LCR /LCD entre 2008 et 2014.

Pour les 17 souches de *Staphylococcus aureus* (Figure 13):

- 4 souches sont métiR
- une seule est résistante à la fosfomycine
- une seule a une CMI à la vancomycine ≥ 2 mg/L (résistante à la méticilline et CMI teicoplanine $< 0,5$ mg/L)

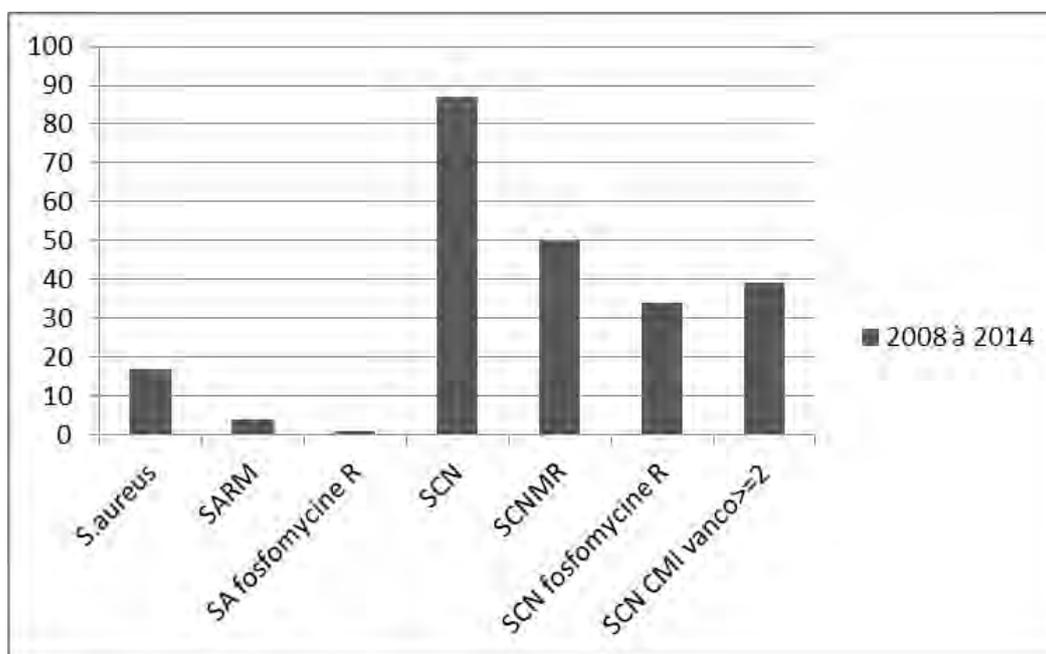


Figure 13 : Nombre de *S. aureus* et de SCN et leur sensibilité aux antibiotiques (méticilline, fosfomycine et vancomycine) entre 2008 et 2014.

En regardant l'évolution par année pour les staphylocoques à coagulase négative et *S. aureus* (Figure 14) on constate que le nombre de SARM est très faible (1 ou 0 chaque année), on ne peut pas conclure sur l'évolution de la résistance chez les SCN qui semble aléatoire, l'effectif est faible.

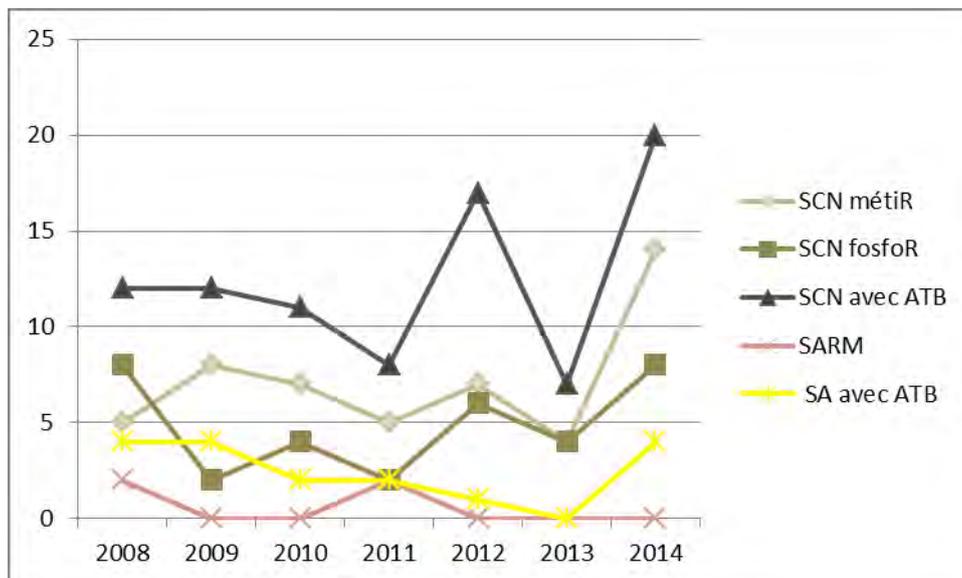


Figure 14 : Evolution des résistances à la méticilline et la fosfomycine chez les staphylocoques entre 2008 et 2014.

Les effectifs étant trop faibles pour pouvoir calculer un pourcentage, le nombre de souches de SCN et de SA pour lequel il y avait un antibiogramme (respectivement en gris foncé et jaune) a été intégré au graphique pour pouvoir comparer.

La résistance à la fosfomycine reste faible chez *S. epidermidis* (Figure 15). Au total sur les 7 ans, 16% de résistance (9 souches sur 56). On ne note pas d'augmentation ou de diminution notable au cours des années. Pour les autres espèces, la résistance à la fosfomycine était de 100% pour *S. warneri* (7/7), *S. hominis* (3/3) et *S. haemolyticus* (4/4) et de 89% pour *S. capitis* (8/9). Aucun antibiogramme n'a été fait pour l'espèce *S. auricularis*.

La résistance de *S. epidermidis* à la méticilline est en moyenne sur les 7 ans de 66%, il n'y pas d'évolution notable de cette résistance au cours des années (courbe parallèle entre celle représentant le nombre de souche de résistant à la méticilline avec celle représentant le nombre de souches total de *S. epidermidis* ayant un antibiogramme réalisé).

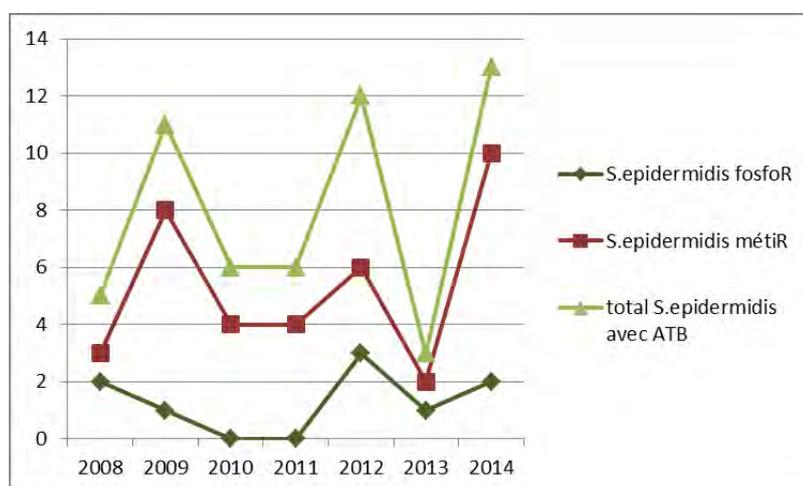


Figure 15 : Evolution de *S. epidermidis* résistant à la méticilline et à la fosfomycine entre 2008 à 2014.

b) Délai de pousse

Dans l'objectif de pouvoir arrêter l'antibiothérapie probabiliste à 72h en cas de culture négative, il a été observé le temps de pousse des cocci à Gram positif (Figure 16).

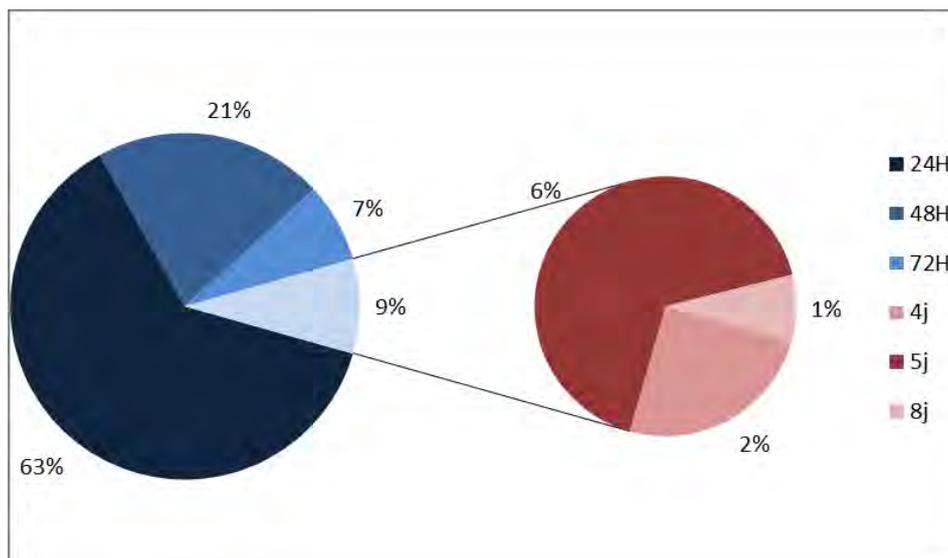


Figure 16 : Pourcentage du temps de pousse des cocci à Gram + entre 2008 et 2014 dans les LCR/LCD (*Staphylococcus spp*, *Streptococcus spp*, *Enterococcus spp*, *Micrococcus spp*). Tous ont été pris en compte, y compris ceux possiblement contaminants.

Au total, 9% (11 patients, 12 souches de SCN car 1 patient avaient 2 souches) ont mis plus de 72 h à pousser. Le [tableau XIII](#) décrit les cas où la culture était positive après 72 h.

- Un seul cas certain de SCN a été pris en compte et traité car il s'agissait d'une véritable suspicion de méningite nosocomiale. Pour les autres cas, il s'agissait probablement d'une contamination car le patient était cliniquement bien et/ou sortant et/ou le liquide étuvé repiqué stérile.
- Un autre cas a été traité mais le patient présentait une collection sous cutanée positive à *S. epidermidis* + *E.coli* + *S. condimentii*.
- On constate aussi qu'il n'y a qu'un seul *S. epidermidis* alors qu'il s'agit pourtant du SCN le plus fréquemment rencontré.

En conclusion, les souches de SCN responsables de méningite nosocomiale poussent dans les 72 premières heures. Au-delà de ce délai, il est important de repiquer le liquide étuvé afin de confirmer la positivité ; et de collecter les informations cliniques et radiologiques afin de confirmer ou non la suspicion de méningite nosocomiale.

Tableau XIII : Description des cas où le délai de culture des SCN était supérieur à 72 h.

Bactéries	Délais de pousse sur COS ou PVX	Délais de pousse sur thioglycolate	Quantité rendue	Commentaire	Conclusions
<i>S. capitis</i>	Stérile	5 j	très peu abondant	Liquide étuvé repiqué stérile. <i>S. epidermidis</i> dans liquide de drain et hémoculture	Contaminant probable
<i>S. warneri</i>	Stérile	5 j	très peu abondant	Liquide étuvé repiqué stérile. Vraie suspicion de méningite nosocomiale	Pris en compte
<i>S. epidermidis</i>	Stérile	5 j	Très peu abondant	Liquide étuvé repiqué stérile	Contaminant probable
SCN	Stérile	4 j	très peu abondant	Liquide étuvé repiqué stérile	Patient sortant. Contaminant probable.
<i>S. capitis</i>	Stérile	5 j	très peu abondant	Liquide étuvé repiqué stérile	Absence d'information. Contaminant probable.
SCN	Stérile	5 j	non rendue	Liquide étuvé repiqué stérile. 2 types différents de staphylocoques	Contaminant probable.
<i>S. haemolyticus</i> + <i>S. warneri</i>	Stérile	8 j	très peu abondant	Liquide étuvé repiqué stérile.	Contaminant probable.
	Stérile	8 j	très peu abondant		
<i>S. hominis</i>	Stérile	4 j	très peu abondant	Liquide étuvé repiqué stérile.	Contaminant probable.
SCN	Stérile	5 j	très peu abondant	Liquide étuvé repiqué stérile.	Contaminant probable.
SCN	Stérile	5 j	très peu abondant	Liquide étuvé repiqué stérile.	Contaminant probable.
<i>S. warneri</i>	4 j	Stérile	très peu abondant	Connu dans collection sous cutanée à <i>S. epidermidis</i> , <i>E. coli</i> , <i>S. condimentii</i> . Téléphoné et traité par linézolide + céfotaxime + rifampicine	Contaminant probable ? douteux

B. ENTEROBACTERIES

Les *Enterobacters spp* représentent environ la moitié des Entérobactéries dans les LCR/LCD, (mais cette proportion augmente au cours des années) suivis à égalité par *Klebsiella spp.* et *E. coli* (Figure 17).

On constate une augmentation des Entérobactéries en 2013, avec 5 souches d'*Enterobacter*.

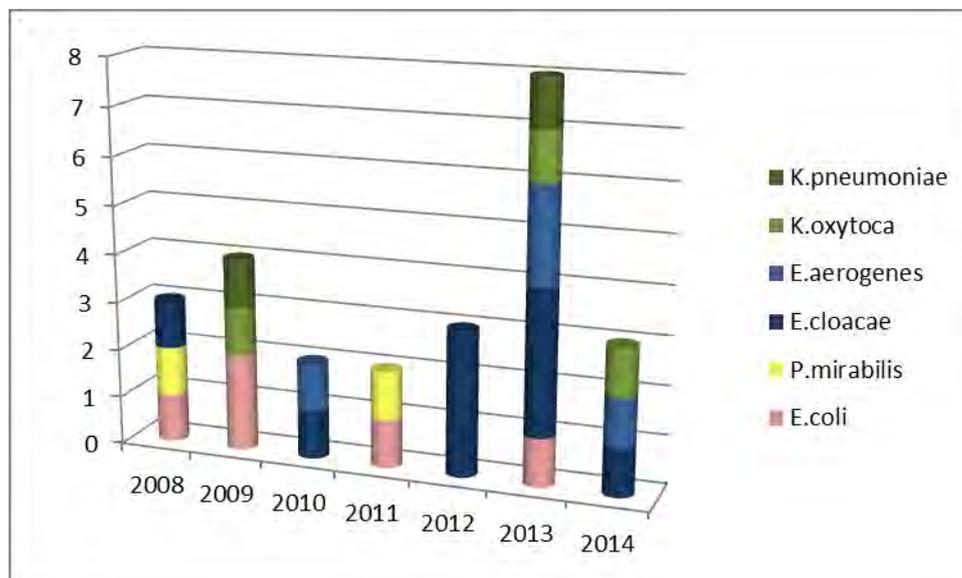


Figure 17 : Répartition des différentes entérobactéries entre 2008 et 2014 dans les LCR/LCD.

La Figure 18 présente la résistance des entérobactéries aux céphalosporines de troisième génération.

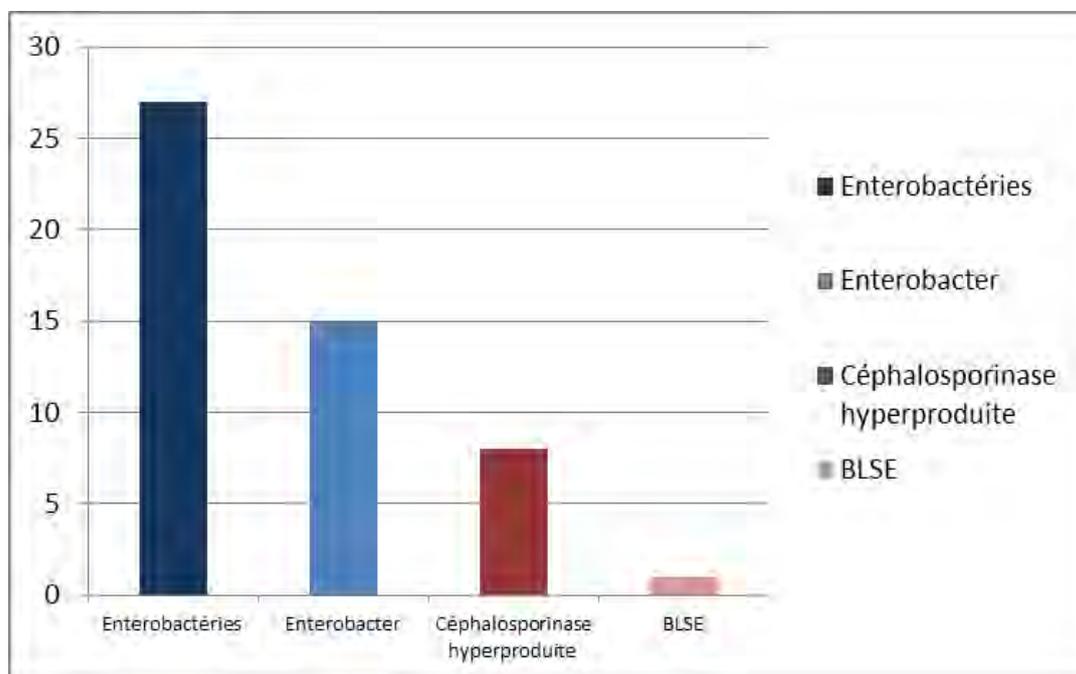


Figure 18 : Nombres d'Entérobactéries et profils de résistances aux C3G entre 2008 et 2014 dans les LCR/LCD.

Au total, 25 souches d'Entérobactéries ont été retrouvées, 27 souches sont intégrées dans la figure ci-dessus (2 *Enterobacter* sauvages au départ, ont exprimés ensuite une céphalosporinase hyperproduite (CEPD)). Huit *Enterobacter* sur 13 avaient une CEPD (ou plutôt sur 15 si on prend en compte le fait que 2 étaient sauvage au départ) Entre 2010 (date d'écriture du protocole d'antibiothérapie de neurochirurgie) et 2014, 7 souches sur 12 (ou sur 14) exprimaient une CEPD. En 2014, 1 *Enterobacter* sur les 2 retrouvés exprimait une CEPD. Une seule souche était BLSE (*K. pneumoniae*).

En ce qui concerne le temps de pousse, toutes les souches ont poussé en moins de 24 h.

C. PSEUDOMONAS AERUGINOSA

En ce qui concerne les résistances de *Pseudomonas* (Figure 19), pour 13 sur 14 souches l'antibiogramme était donné, 2 ATB ont été réalisés par diffusion en milieu gélosé (en 2014) (absence de CMI). Neuf souches sur 14 présentent une résistance (R ou I) à ticarcilline, ticarcilline + acide clavulanique et aztréonoam (aucune en 2014). Les autres types de résistances ont été rarement retrouvés : 1 seule souche est résistante à la ciprofloxacine, 1 seule est résistante à l'imipénème et intermédiaire au méropénème (dû à la perte ou déficit de la porine OprD) et enfin 1 seule souche exprimait une probable céphalosporinase (CMI CAZ > 68 et CMI FEP = 16). Cinq sont sauvages (dont 3 « intermédiaire » uniquement à l'aztréonam). Il s'agit des 5 souches de 2014.

Aucun *Pseudomonas* multi-résistant répondant à la définition suivante n'est retrouvé (souche résistante à au moins 3 des classes d'antibiotiques suivantes : aminosides (gentamicine, amikacine, tobramycine), carbapénèmes (impénème, méropénème), céphalosporines (ceftazidime), fluoroquinolones (ciprofloxacine), et pénicilline anti- *Pseudomonas* (pipéracilline +/- tazobactam)

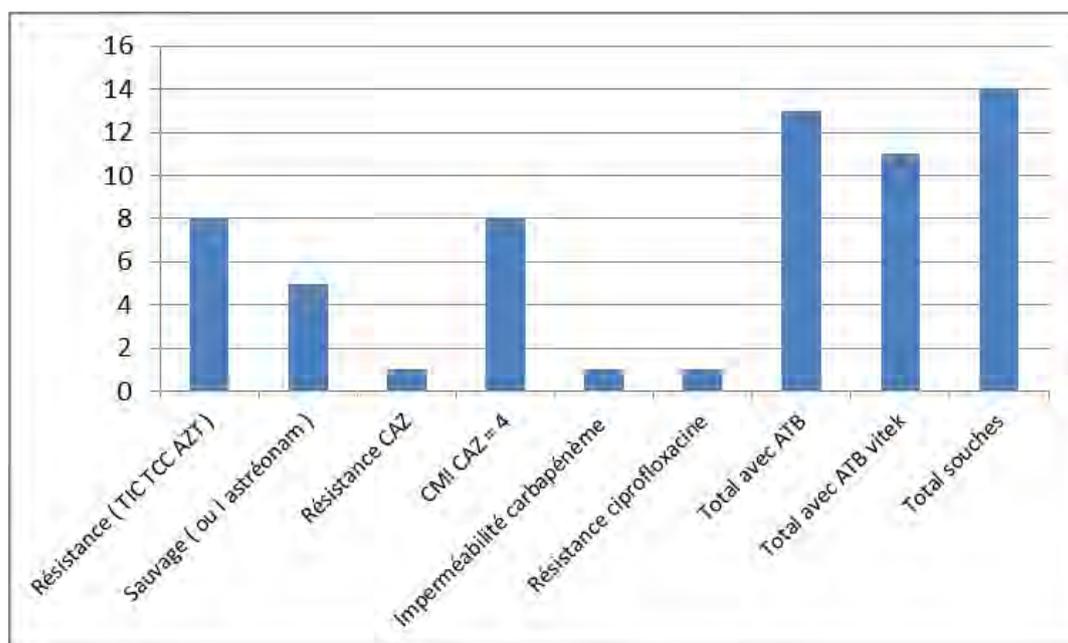


Figure 19 : Profils de résistances de *Pseudomonas aeruginosa* entre 2008 et 2014 dans les LCR /LCD.

Toutes les souches ont poussé en 24 h, sauf une en 48 h.

D. ACINETOBACTER

On retrouve 8 souches d'*Acinetobacter*, 2 correspondent à l'espèce *lwoffii* et les 6 autres à l'espèce *baumannii*. Aucune souche n'est résistante à l'imipénème (une souche l au méropénème et à l'imipénème mais antibiogramme réalisé par diffusion en milieu gélosé). Deux souches étaient résistantes à la ceftazidime dont une également intermédiaire aux pénèmes.

E. PROPIONIBACTERIUM ACNES

Vingt cinq souches ont été retrouvées. Toutes les souches sont sensibles à l'amoxicilline et aux C3G. Ce germe étant connu pour pouvoir être contaminant, il est proposé dans cette partie, de regarder si un diagnostic de méningite voire d'infection du système nerveux central était retenu ou non pour ces 25 souches. Dix prélèvements étaient stériles sur milieu COS anaérobie ou PVX sous CO₂ et ont donc poussé uniquement à partir du bouillon d'enrichissement thioglycolate. **Le temps moyen de pousse est de 4,8 jours** (CV = 31%) (Figure 20). Au total :

- **15 souches pour lesquelles il s'agit de probable contamination :**
 - 10 pour lesquelles il est noté dans le dossier « absence d'infections ou de méningites »
 - 5 pour lesquelles il existe un problème infectieux autre (exemple : 1 pneumopathie, 1 ventriculite à *Pseudomonas aeruginosa*, 1 infection urinaire...)
- **4 pour lesquelles il n'y a pas de conclusion** car pas assez d'argument mais il s'agit de possibles contaminations.
- **6 pour lesquelles il s'agit de véritables infections** où *Propionibacterium* a été pris en compte pour le traitement antibiotique. Si on regarde le temps de pousse de ces 6 souches, on constate qu'une seule a poussé en 24 h et trois en 48 h (sur gélose au sang CO₂ et thio) ; une autre a poussé en 10 jours (thio uniquement) mais le patient était déjà sous cefotaxime + linézolide car des prélèvements de collections étaient déjà positifs, et enfin 1 a poussé en 5 jours (thio positif en 5 jours), ce patient a été traité devant les résultats de ses prélèvements per-opératoires (*S. epidermis* + *S. caprae*) mais ne présentait pas de syndrome infectieux clinique après ablation du matériel infecté. Pour 3 patients, d'autres prélèvements avaient été réalisés et étaient aussi positifs (DVE, DVP, et collection frontale) à *P. acnes*. Parmi ces 6 patients, pour 2 le CELL index était calculable (4,8 et 345) ; ce sont les deux patients pour lesquels les CELL INDEX étaient les plus élevés dans cette catégorie. La protéinorachie était en moyenne à 0,84 g/L (dosée pour 6 patients, CV = 60%), le rapport glycorachie/glycémie n'était disponible que pour un patient et les lactates à 5,56 mmol/L (dosés pour 3 patients).

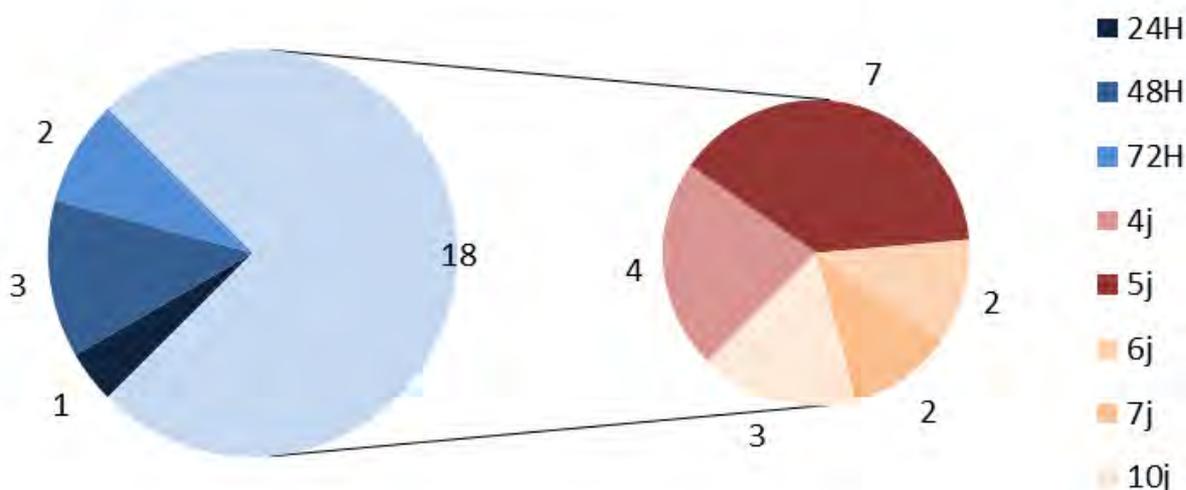


Figure 20 : Nombre de souches *P. acnes* selon leur temps de pousse entre 2008 et 2014 dans les LCR/LCD (1 souche n'a pas été intégrée puisqu'elle n'a poussé que après repiquage du thio qui était négatif).

Sur tous ces prélèvements, **seulement 3 examens directs étaient positifs**, et il s'agit bien de 3 cas d'infections vraies.

4.1.2 PRELEVEMENTS DE PUS PROFONDS

Les pus profonds en Neurochirurgie correspondent à de nombreux types de prélèvements différents, dont entre autres : les abcès cérébraux, les empyèmes, les abcès/ostéites des volets crâniens, les hématomes, les cicatrices peropératoires, les prélèvements de rachis... etc... Dans le [tableau XIV](#), sont répertoriés sans aucune distinction, le nombre total de patients, de pus profonds, selon le type de bactéries retrouvées et par année.

Au total, 578 patients ont été prélevés, parmi eux, 352 patients avaient au moins un prélèvement de pus positif, ce qui correspond à 61% des patients prélevés. En moyenne sur les 7 années ([Figure 21](#)) :

- 22% des prélèvements sont plurimicrobiens (ce taux est relativement stable au cours du temps)
- 46% des prélèvements sont positifs à cocci à Gram + et parmi eux 39% à *Staphylococcus spp.*. On note cependant un pic de la proportion des prélèvements positifs à CG+ et à *Staphylococcus spp.* en 2014 (respectivement 78% et 67% des prélèvements)
- 18% sont positifs à bacille à Gram négatif et parmi eux 12% à Entérobactéries. On observe, comme pour les prélèvements de LCR/LCD, un léger pic des infections à Entérobactéries en 2012-2013.

Tableau XIV : Nombre de prélèvements positifs des pus profonds par année.

Ce tableau prend en compte tous les pus profonds. Pour un même patient, plusieurs pus profonds sont parfois prélevés et positifs au même germe ou à un germe différents. Le nombre de patients a augmenté en 2012 et 2013.

Années	2008	2009	2010	2011	2012	2013	2014	TOTAL
Nombre de patients	65	66	59	73	113	120	82	578
Nombre de pus profonds	121	133	128	157	215	272	127	1153
Nombre de prélèvements/patient	1,86	2,02	2,17	2,15	1,90	2,27	1,55	1,99
Nombre de pus profonds positifs à CG+ (%)	50 (41%)	63 (47%)	44 (34%)	73 (46%)	85 (40%)	119 (44%)	99 (78%)	533 (46%)
Nombre de pus profonds positifs à <i>Staphylococcus</i> (%)	33 (27%)	48 (36%)	33 (26%)	67 (43%)	74 (34%)	105 (38%)	85 (67%)	445 (39%)
Nombre de pus profonds positifs à BG- (%)	32 (26%)	23 (17%)	15 (12%)	22 (14%)	36 (17%)	58 (21%)	26 (20%)	213 (18%)
Nombre de pus profonds + à Entérobactéries (%)	13 (11%)	7 (5%)	11 (9%)	10 (6%)	31 (14%)	48 (17%)	17 (13%)	137 (12%)
Nombre de pus profonds plurimicrobiens (%)	30 (25%)	30 (23%)	16 (13%)	29 (18%)	51 (24%)	62 (23%)	39 (31%)	257 (22%)
Nombre de pus profonds stériles (%)	47 (39%)	61 (46%)	67 (52%)	57 (36%)	82 (38%)	101 (37%)	60 (47%)	475 (41%)

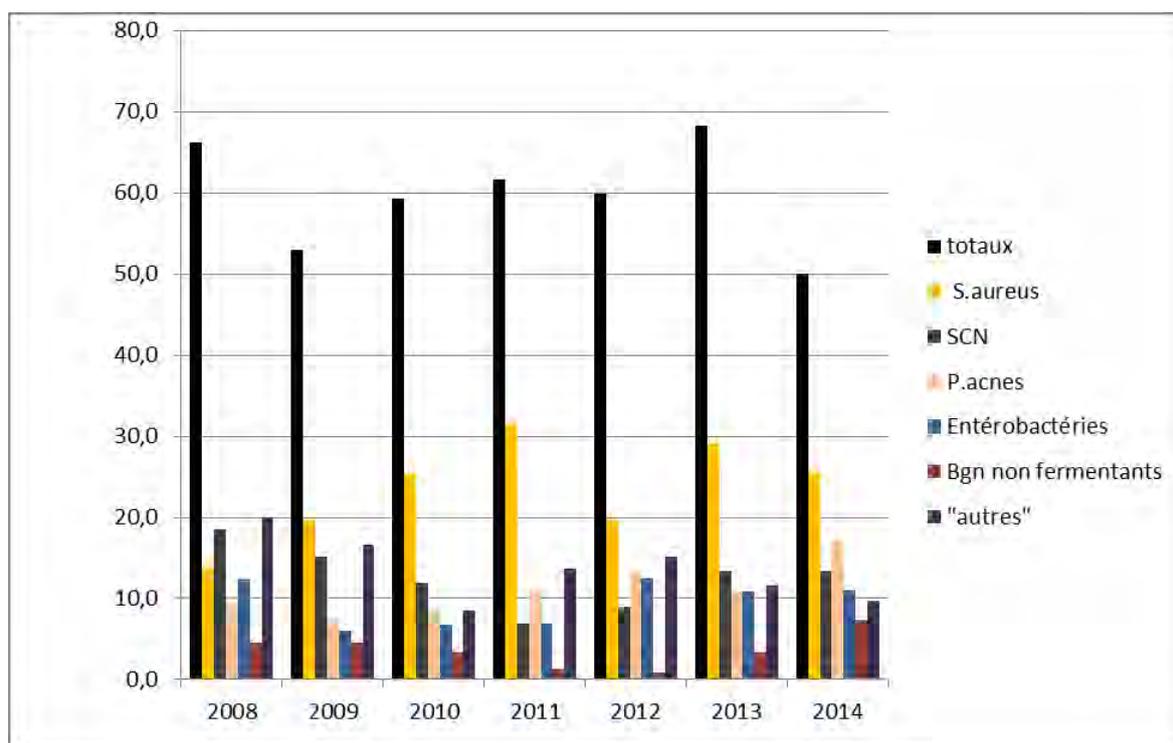


Figure 21 : Pourcentage de patients potentiellement infectés par catégories de bactéries par année dans les pus profonds.

« bactéries » = Nombre de patients avec au moins 1 prélèvement positif à « bactérie »/Nombres de patients prélevés dans l'année*100. Un patient n'est compté qu'une seule fois dans la catégorie « totaux » si plusieurs de ses prélèvements de pus profonds sont positifs dans la même année. Mais si les bactéries sont différentes, il est compté ensuite dans chaque catégorie. Dans un même prélèvement, si il y a plusieurs bactéries « autres », 1 seul cas est comptabilisé.

Cette figure montre la **place importante de *S. aureus***. En 2011 et 2014, la moitié des patients infectés l'étaient à *S. aureus*. **Les patients ayant une infection à bacilles à Gram négatif non fermentants ont augmentés : 1% en 2012 contre 7,3% en 2014**. Le nombre d'infections à Entérobactéries et SCN paraît assez stable bien que le nombre d'infectés totaux ait diminué en 2014. Le nombre d'infectés à *P. acnes* semble avoir augmenté en 2014 (bien peut être dû au fait que cette bactérie est depuis 2013 systématiquement recherchée).

4.1.2.1 ABCES CEREBRAUX

4.1.2.1.1 BACTERIES RETROUVEES

Une partie importante des prélèvements (27%) sont des infections mixtes (plurimicrobiennes) tandis que 31% ont des cultures stériles (Figure 22). Il est à noter aussi une part importante *Streptococcus* spp. dans ce type d'infections.

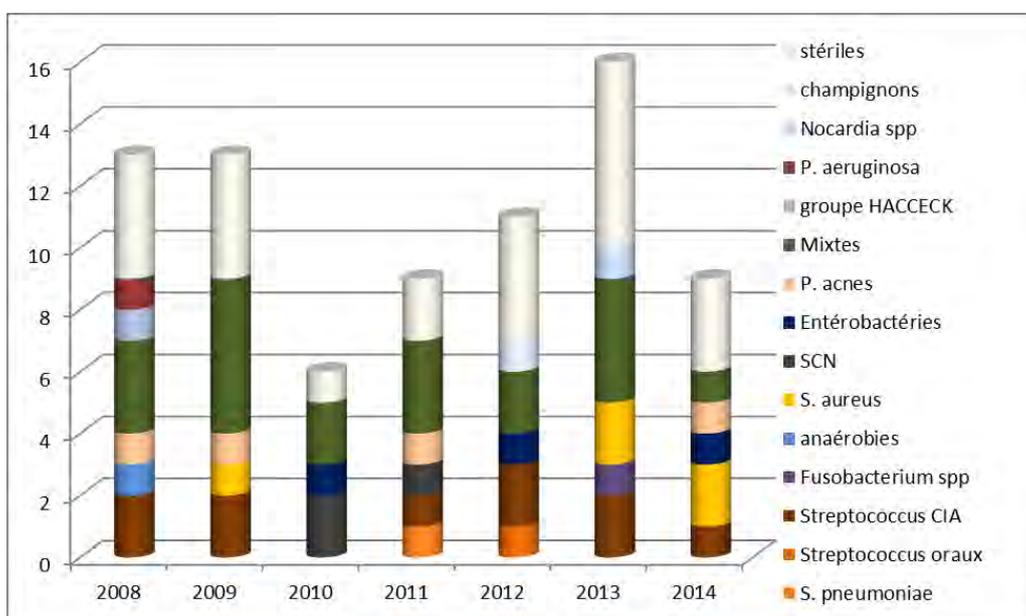


Figure 22 : Nombres de prélèvements positifs par bactéries et par année dans les prélèvements monomicrobiens pour les abcès cérébraux (ainsi que nombre de prélèvements stériles et mixtes)

La Figure 23 souligne cette **importance des streptocoques du groupe Milleri** (CIA : *S. constellatus*, *S. intermedius*, *S. anginosus*) retrouvés chaque année (sauf 2010), et qui représentent **environ 1/3 des souches** (10 souches sur 33), **suivis de *S. aureus*** (15%, 5 souches sur 33) retrouvés surtout en 2013 et 2014 puis avec une importance moindre : des Entérobactéries, de *P. acnes*, des SCN.

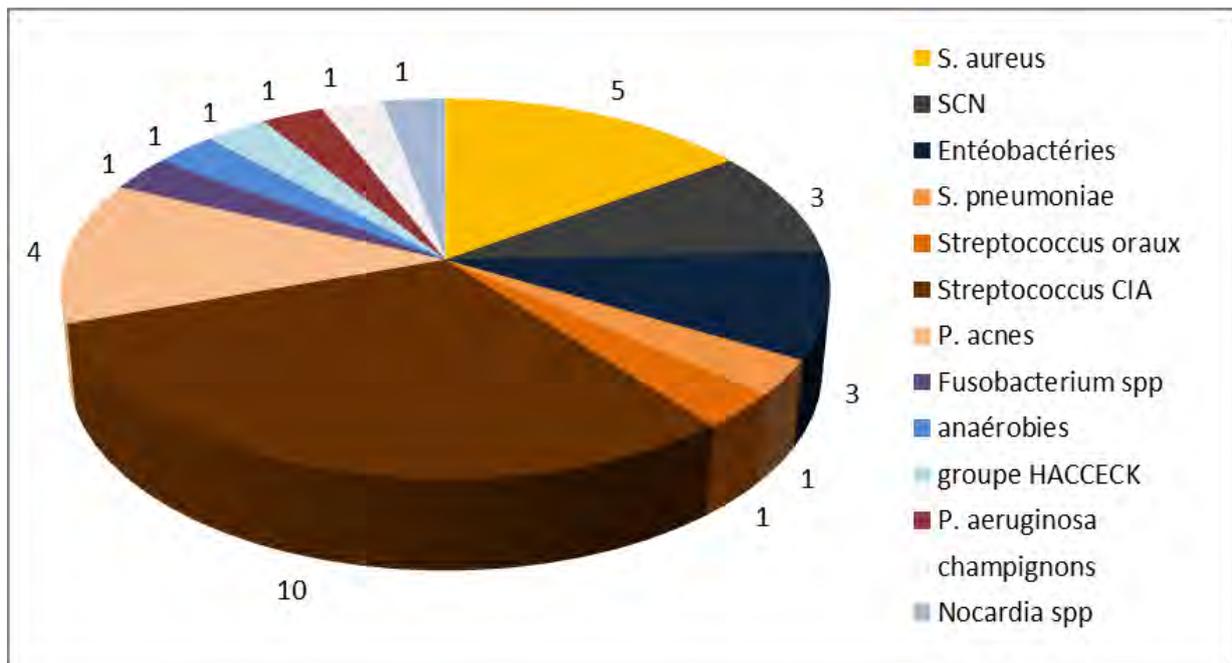


Figure 23 : Nombre des différentes espèces de bactéries retrouvées uniquement dans les infections monomicrobiennes (abcès cérébraux) entre 2008 et 2014.

La Figure 24 présente les bactéries retrouvées dans les infections mixtes des abcès cérébraux. On constate que dans ces infections mixtes, on retrouve essentiellement des SCN, des Entérobactéries et des anaérobies. Cela évolue très peu selon les années.

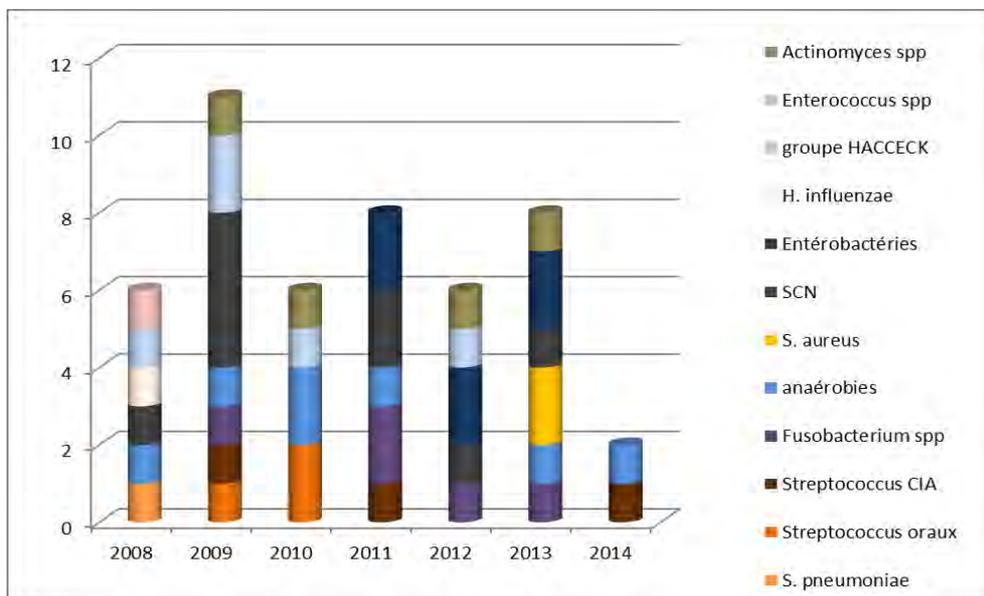


Figure 24 : Nombre de prélèvements positifs par bactéries dans les infections mixtes des abcès cérébraux entre 2008 et 2014. (Les souches d'anaérobies sont : 4 *Peptostreptococcus spp*, 1 *Peptococcus spp*, 1 *Prevotella spp*, 1 anaérobie non identifiée) A noter que les 3 SCN retrouvés en 2009 font partis de la même infection mixte.

La [Figure 25](#) confirme ces observations. Ainsi, on retrouve essentiellement des SCN (9/47, 19% contre 10% dans les infections monomicrobiennes), des Entérobactéries, mais des germes prédominants dans les infections mixtes par rapport au monomicrobiennes sont aussi **les anaérobies** (15%, *Peptostreptococcus* essentiellement et *Fusobacterium* 10,6%) ainsi que les bactéries du groupe HACCECK (essentiellement *Haemophilus aphrophilus* et *paraphrophilus*) et *Actinomyces spp* à 8,5%. La proportion de chaque bactérie est plus homogène dans les prélèvements plurimicrobiens.

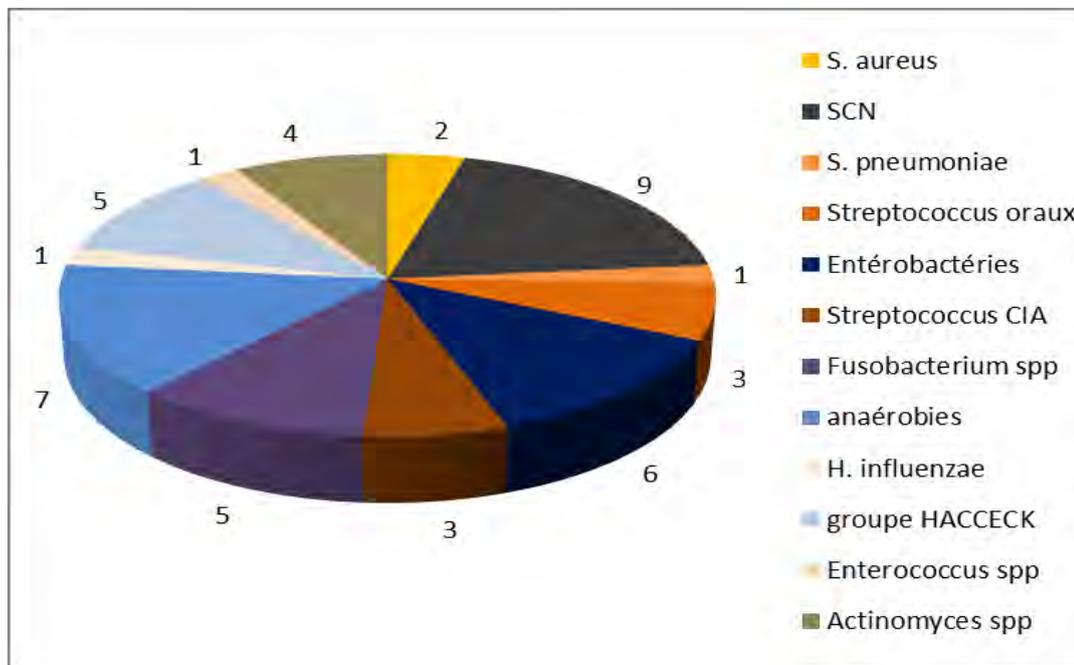


Figure 25 : Nombre des différentes bactéries retrouvées uniquement dans les infections plurimicrobiennes des abcès cérébraux entre 2008 et 2014.

4.1.2.1.2 DETAIL PAR BACTERIES ET TYPES DE RESISTANCE

A. STREPTOCOQUES CIA

Ces bactéries sont retrouvées plus fréquemment dans les prélèvements monomicrobiens que polymicrobiens ([Figure 26](#)). On constate que l'espèce la plus fréquemment retrouvée est *S. intermedius* et que l'espèce *S. constellatus* est toujours retrouvée en monomicrobien. Une seule souche de *S. anginosus* a été retrouvée. Toutefois l'effectif est faible et les techniques d'identification ne permettent pas de bien différencier ces différentes espèces.

Concernant les profils de résistance aux antibiotiques, aucune résistance particulière n'est à rapporter.

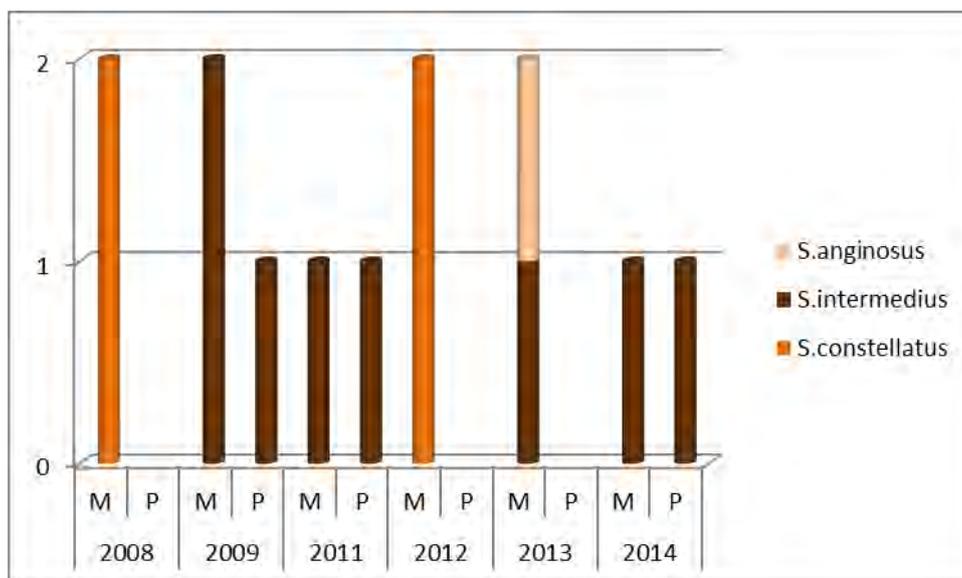


Figure 26: Répartition des streptocoques CIA par année dans les abcès cérébraux (M= monomicrobien P=Plurimicrobien).

B. STAPHYLOCOQUES

Pour les staphylocoques à coagulase négative (SCN) (Figure 27) :

- L'espèce *S. epidermidis* est la plus retrouvée (4 sur 12 dont 3 rendus SCN) suivi de l'espèce *S. hominis* (2 fois)
- Les 3 espèces entourées en 2009 font partie de la même infection mixte. Elles étaient significatives, car retrouvés 3 fois chacune dans 3 prélèvements.
- En 2010, un SCN (antibiogramme rendu multisensible) est retrouvé dans un abcès, mais est considéré comme contamination car une infection par *Pseudomonas aeruginosa* était suspectée (retrouvé dans le prélèvement d'écoulement d'oreille externe).
- Pour les 12 SCN (2 souches n'ont pas d'antibiogramme) :
 - * **3 souches sont métiR** (3 *S. epidermidis*), dont une est aussi fosfomycine résistante.
 - * **4 souches sont résistantes à l'érythromycine** et aucune à la clindamycine (mais probable résistance inductible).

Pour les 7 souches de *Staphylococcus aureus* :

- **2 souches sont métiR**
- Parmi les souches métiS, 3 sont erythroR et toutes sont clindaS (mais probable résistance inductible)
- **Aucune souche n'est résistance à la fosfomycine ni à la rifampicine ni au linézolide**
- **Aucune souche n'a de CMI à la vancomycine ≥ 2 .**

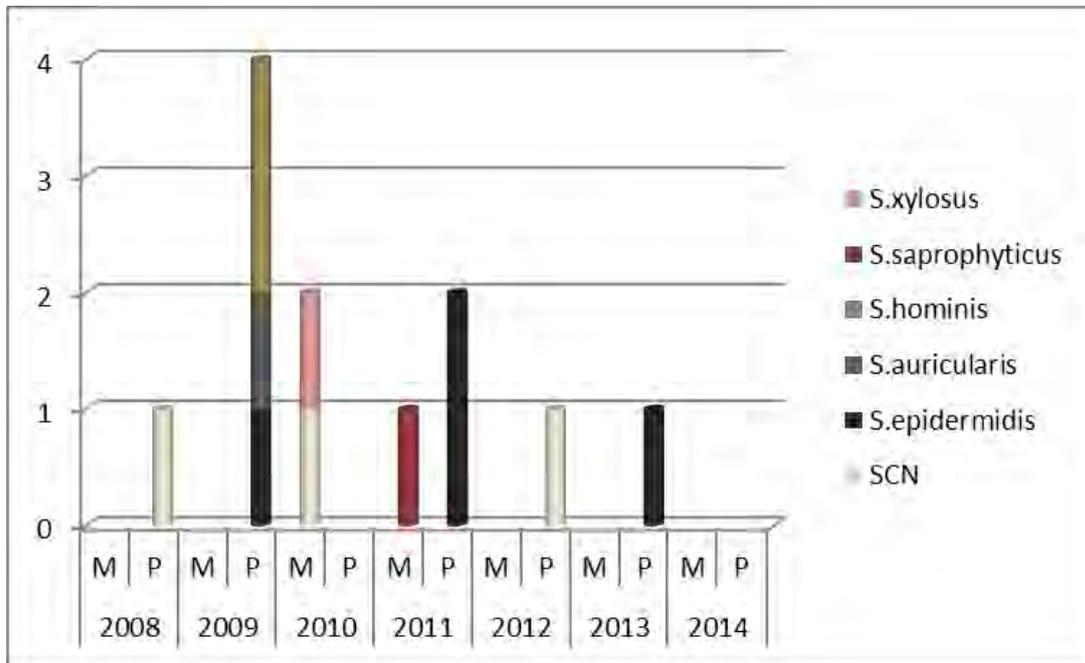


Figure 27: Répartition des SCN en fonction des années dans les abcès cérébraux (M= monomicrobien P=Plurimicrobien).

C. ENTEROBACTERIES

Les principales souches d'Entérobactéries retrouvées sont (Figure 28) :

- 2 *E. coli* et 1 *E. aerogenes* dans les infections monomicrobiennes
- 1 *E. coli*, 1 *E. aerogenes*, 1 *E. cloacae*, 1 *K. pneumoniae*, 1 *P. vulgaris* et 1 *P. mirabilis* dans les infections plurimicrobiennes.

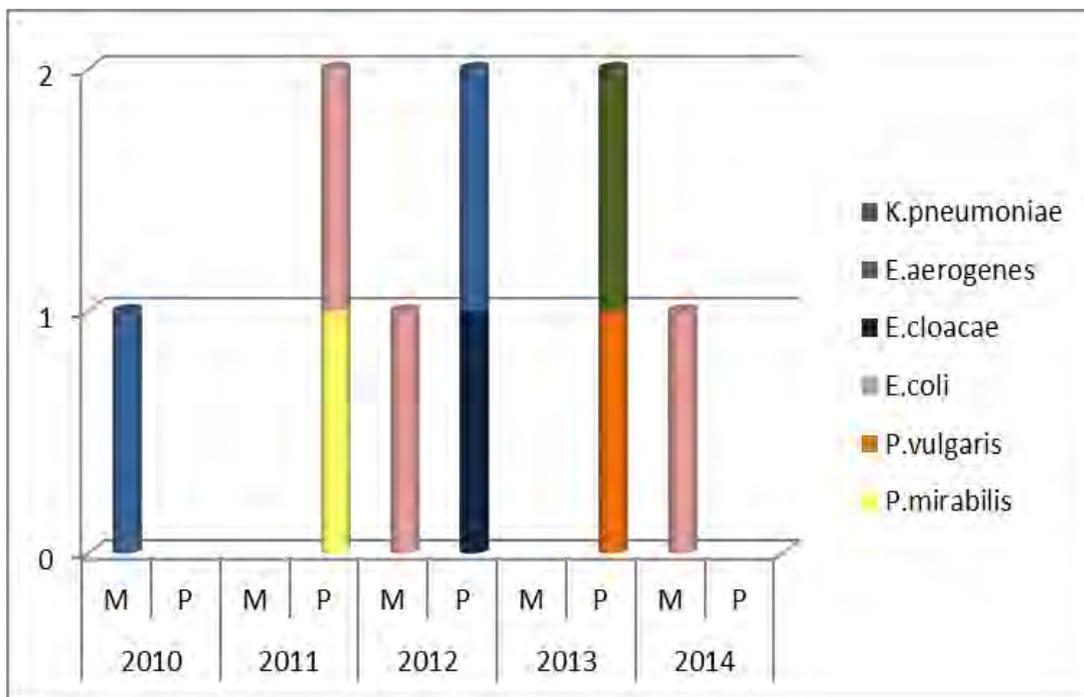


Figure 28: Répartition des différentes entérobactéries par année dans les abcès cérébraux (M= monomicrobien P=Plurimicrobien).

Dans une infection mixte, une souche de *E. cloacae* était retrouvée avec une souche de *E. aerogenes* qui avait une CEPD (2012). Une seule souche était BLSE (*K. pneumoniae*) (Figure 29).

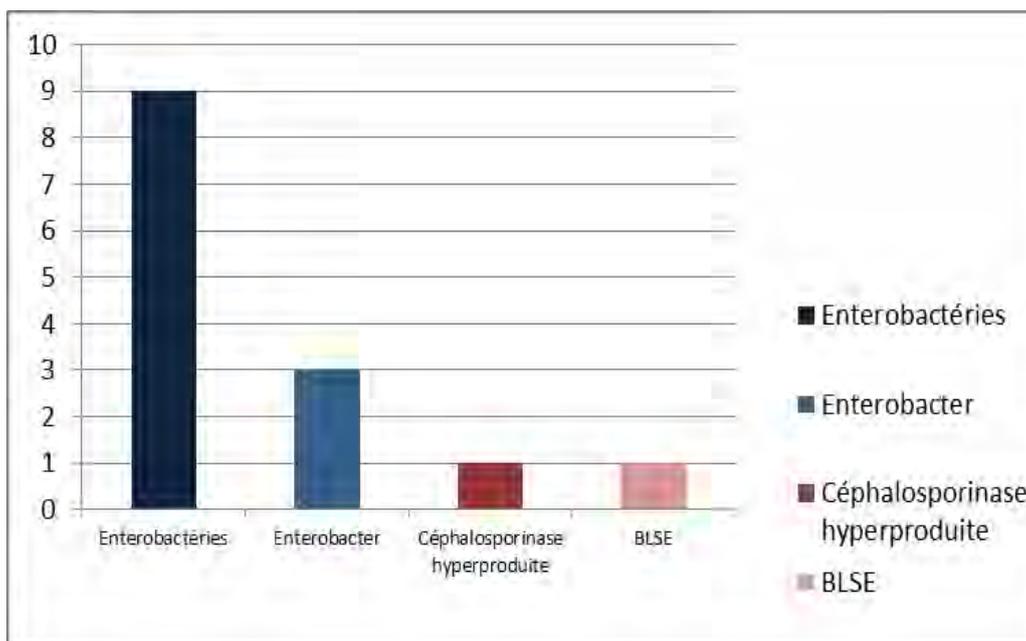


Figure 29 : Nombre d'Entérobactéries et profils de résistance aux C3G entre 2008 et 2014 dans les abcès cérébraux.

4.1.2.2 EMPYEMES

Le tableau XV résume l'épidémiologie des empyèmes (dans lesquels sont inclus les prélèvements intitulés collection extra ou sous-durale).

Tableau XV : Bactéries retrouvées dans les empyèmes entre 2008 et 2014.

Résultats culture	Nb de prélèvements
Stériles	3
<i>S. aureus</i>	3
<i>S. aureus</i> + <i>H. alvei</i>	1
<i>S. epidermidis</i>	1
<i>Ochrobactrum anthropi</i> et <i>P.acnes</i>	1
<i>Aerococcus</i> + <i>S. schleiferi</i> + <i>S. aureus</i> + levures	1
Entérobactéries	2

Pour les 5 souches de *Staphylococcus aureus* :

- Aucune souche n'est résistante ni à la méticilline, ni à la fosfomycine, ni à l'oxfloxacine, ni à la vancomycine.
- 3 souches sont résistantes à l'érythromycine et sensible à la clindamycine (probable résistance inductible)

Pour les 3 souches d'Entérobactéries :

- 1 *E. coli* sauvage
- 1 *K. pneumoniae* sauvage
- Et 1 *Hafnia alvei* (CEPD) ont été retrouvés.

4.1.2.3 « PUS AUTRES »

4.1.2.3.1 BACTERIES RETROUVEES

Quinze pour cent des prélèvements sont des infections mixtes (plurimicrobiennes) et 38% ont des cultures stériles. On constate immédiatement la place majoritaire de *S. aureus*

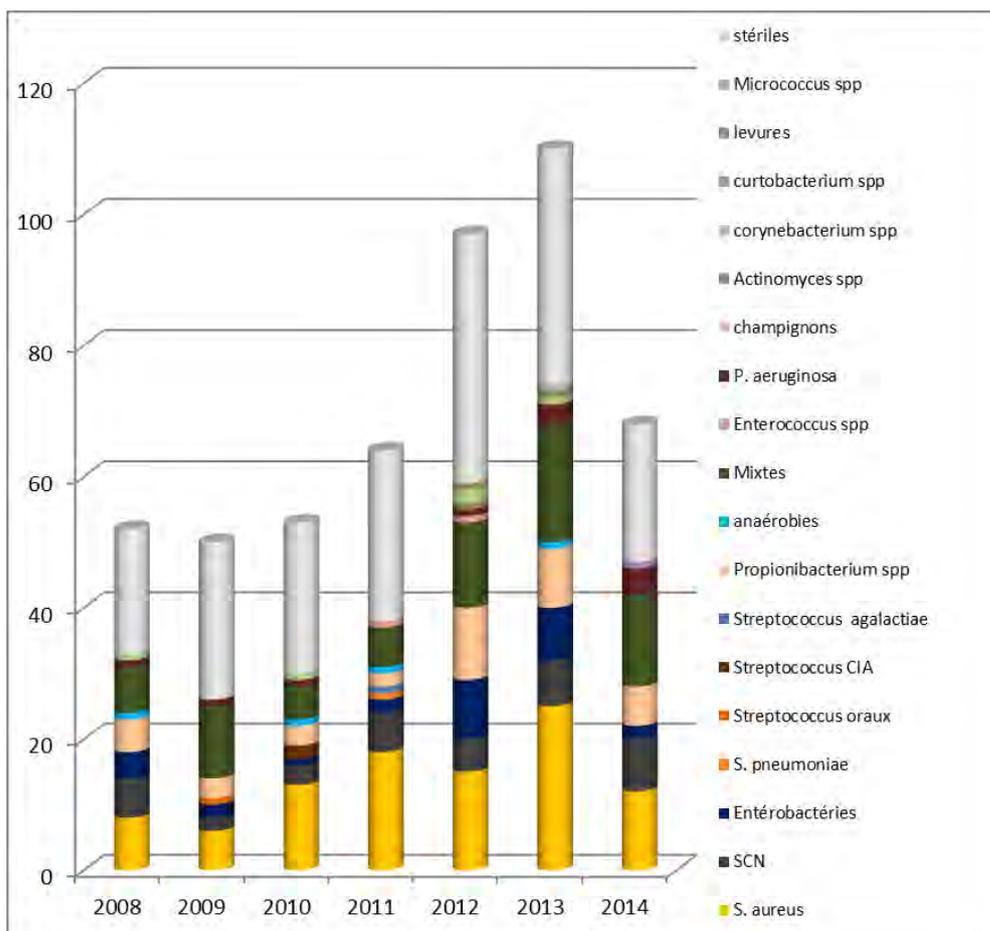


Figure 30: Nombre de prélèvements positifs par bactéries et par année dans les prélèvements monomicrobien des pus « autres » (avec les prélèvements stérils et mixtes) pour la période 2008 à 2014.

Sur les 7 ans, parmi les prélèvements positifs, on retrouve donc une proportion de 42% de *Staphylococcus aureus*, 17% de *Propionibacterium acnes*, 16% de SCN, 12% d'Entérobactéries et 5% *Pseudomonas aeruginosa* et environ 2% d'*Enterococcus faecalis*, *Streptococcus spp* et *Corynebacterium spp* (Figure 31).

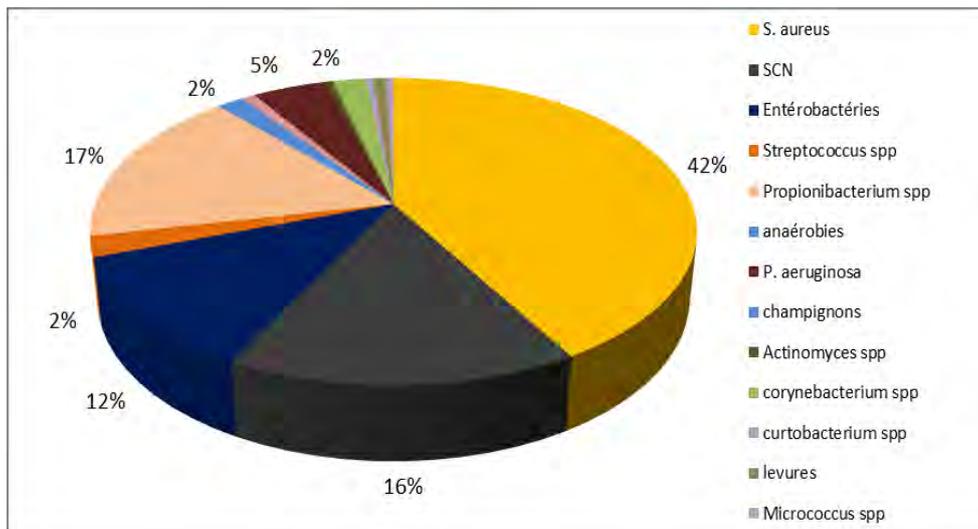


Figure 31 : Pourcentage des bactéries retrouvées uniquement dans les infections monomicrobiennes entre 2008 et 2014 dans les pus « autres ».

Dans les prélèvements plurimicrobiens, on constate toujours une part importante de *S. aureus* et de SCN. Comme pour les autres prélèvements, une augmentation de la part des Entérobactéries est observée en 2013-2014. La répartition des bactéries est cependant stable au cours des années (Figure 32).

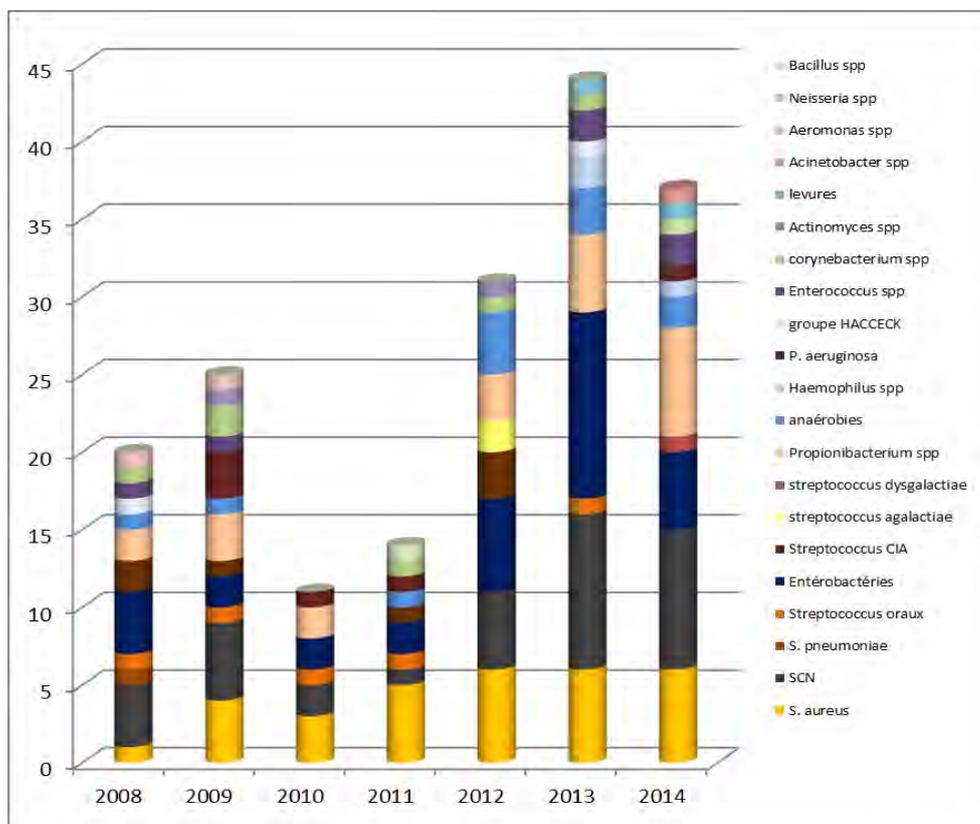


Figure 32 : Nombre de prélèvements positifs par bactérie et par année entre 2008 et 2014 dans les prélèvements plurimicrobiens des pus « autres ».

Les germes les plus fréquents et retrouvés de façon équitable sont *S. aureus*, les Entérobactéries et les SCN dans les prélèvements plurimicrobiens (Figure 33). *Pseudomonas aeruginosa* est retrouvé faiblement que ce soit dans les prélèvements mono (5%) ou plurimicrobiens (3%). Parmi les anaérobies :

- En 2008 : anaérobie S au flagyl associé à *Aeromonas veronii* + *E. corrodens* + *S. anginosus* + *S. oralis*
- En 2009 : *Prevotella spp* (associé à *Actinomyces spp*)
- En 2011 : *Peptostreptococcus* (*S. aureus* + *S. anginosus* + *B. uniformis*)
- En 2012 : *Peptostreptococcus* + *Veillonella* (dans le même prélèvement) / *Clostridium perfringens* et *Clostridium sordelii* dans le même prélèvement mixte associé à *S. aureus* et *Pantoea*
- En 2013 : *Peptostreptococcus* (associé à *P. mirabilis* + *E. avium*) / *Peptostreptococcus* (*S. aureus* + *Haemophilus* / *Peptostreptococcus* (*P. granulosum* + SCN)
- En 2014 : *B. thetaiotaomicron* + *F. magna* (dans le même prélèvement) associé à *H. parainfluenzae* et *S. aureus*

Au total, la moitié des bactéries anaérobies retrouvées sont des *Peptostreptococcus spp.* (*F. magna*, anciennement *Peptostreptococcus*).

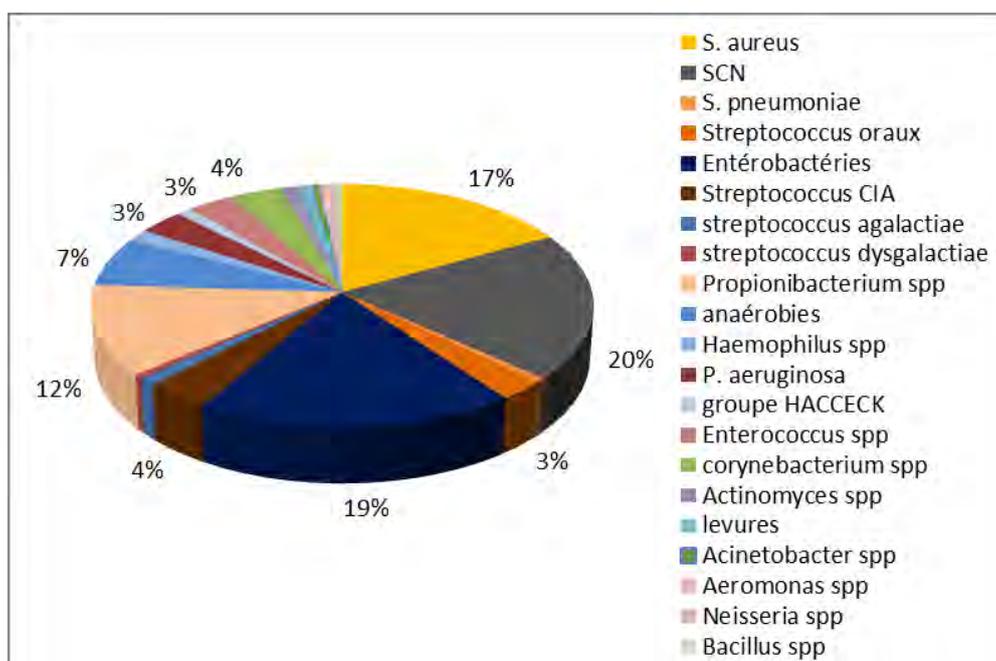


Figure 33 : Pourcentage des bactéries retrouvées uniquement dans les infections plurimicrobiennes entre 2008 et 2014 des pus « autres ».

4.1.2.1.2 DETAILS PAR BACTERIES PRINCIPALES ET LE TYPE DE RESISTANCE

A. STAPHYLOCOQUES

Parmi les prélèvements positifs à *S.aureus* (en dehors des prélèvements nommés abcès cérébraux ou empyèmes) 53% sont des abcès quelque soit leur nature (50% si on en exclut 4 qui ne sont pas purement de la Neurochirurgie : abcès veinite bras, abcès fesse, abcès dorsal, nécrose de la base de la verge), 20%

sont des prélèvements « pièces opératoires » et 5% des biopsies. Le [tableau XVI](#) résume ces types de prélèvements.

Tableau XVI : Type des prélèvements profonds dans lesquels a été retrouvé *S. aureus*, période 2008-2014.

Les prélèvements surlignés en jaune sont ceux qui n'ont pas été considéré comme des prélèvements de Neurochirurgie.

Type de prélèvements	Nb	Type de prélèvements	Nb
Abcès	2	Scalp	1
Abcès cicatrice lombaire	3	Collection sous cutanée	3
Abcès crâne	5	Abcès abdomen droit	1
Abcès duraux	2	Abcès colonne	1
Abcès extra-duraux	6	Abcès crête iliaque perop	1
Abcès dos+ matériel ostéosynthèse	1	Abcès de paroi	4
Abcès matériel rachis	1	Abcès paroi lombaire	1
Abcès para-vertébral	1	Abcès paroi thorax	1
Abcès plaie chirurgicale	1	Abcès paroi nuque	1
Abcès plaie dorsale nécrosée	1	Abcès disque vertébral	1
Abcès rachis	7	Abcès dorsal	1
Abcès région temporale / os	1	Abcès fesse	1
Abcès sous-duraux	4	Abcès os	1
Abcès tissus mous crâne	1	Abcès poche sous cutanée de la pompe	1
Abcès volet crânien	2	Abcès radioguidée-spondilodiscite	1
Biopsie ss cutané fosse post	1	Abcès sur neuro stimulateur	1
Crâniectomie	1	Abcès veinite bras	1
Collection œdème crâne	1	Abcès voie d'abord cerebelleux perop	1
Ecoulement plaie op lombaire	1	Abcès-tumeur vertébrale	1
Moelle osseuse L4 L6 / épидurite	1	Biopsie disque cervical dt	1
Ostéite volet crâne	1	Biopsie os L4	1
Pièces op ablation volet crânien	1	Biopsie os rachis	1
Pièces op cranioplastie	1	Biopsie paravertébral gauche T7	1
Pièces op granulome ss cutané	1	Cicatrice lombaire + écrou en regard du pertuis cutanée + écrou + pieces opératoires	1
Pièces op laminectomie C2 C7	1	Cicatrice crâne post op	1
Pièces op os crâne	5	Cortex	1
Pièces op os escarre T12	1	Crâne sous-dural.	2
Pièces op rachis	2	Fistule iliaque ghe	1
Pièces op tissu cérébral / dure mère	1	Hématome(?) sacrum	1
Pièces op volet	4	Liquide peri stimulateur	1
Pièces op reprise cicatrice fosse postérieure	1	Liquide superficiel cervical	1
Pièces opératoires cicatrice crane	1	Niveau fixateur externe av- bras poignet g	1
Pièces opératoires: os, crâne, hématome sous dural	1	Nécrose de la base de la verge	1
Pièces opératoires + fibrose tissu	1	Suture occipitale crâne	1
Profond rachis cervical	1	Pus point de ponction kt artériel	
Tissu osseux / Contact matériel	1	Pvt profond lombaire (dont 1 plaie)	6
Valve LCR + ss cutané crâne	1	Sous cutané sus aponevrotique colonne	1
Volet crânien, craniofix,	1	Pus tissus fibreux peri electrode crâne	1

La grande majorité sont donc des abcès, le plus souvent sous duraux, extraduraux, crâniens, rachidiens, de parois (cependant, sans précision du type de paroi dont il s'agit...). Au total, sur tous les prélèvements d'abcès (en dehors des cérébraux) entre 2008 et 2014, 34% sont positifs à *S. aureus*, ce qui confirme là encore la place majoritaire de cette bactérie.

Concernant les résistances observées pour *S. aureus* (Figure 34) :

- **14,7 % sont métiR** en moyenne sur les 7 ans
- Aucune souche n'est résistante à la fosfomycine ni à la rifampicine ni au linézolide
- Aucune souche n'a une CMI à la vancomycine ou à la teicoplanine supérieure ou égale à 2

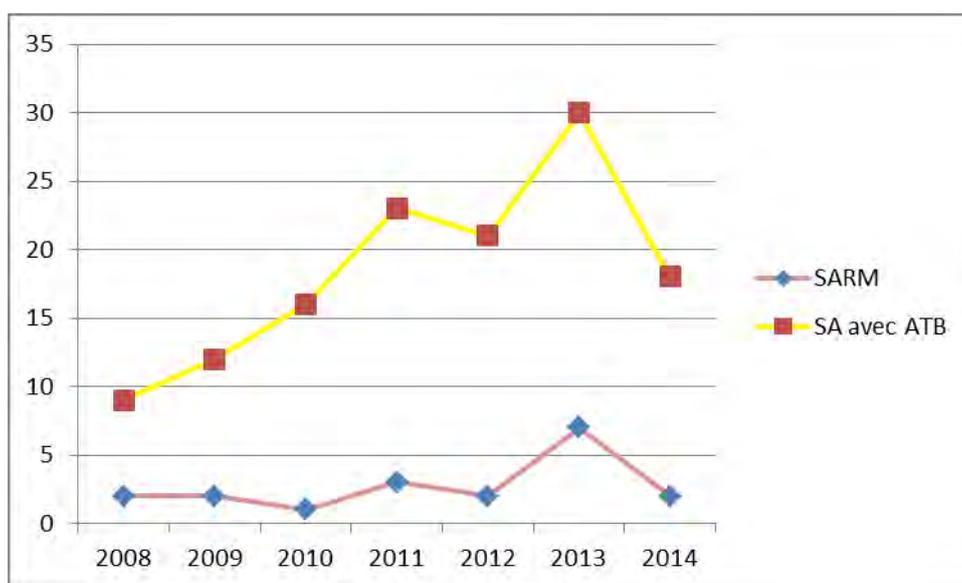


Figure 34 : Evolution des résistances à la méticilline entre 2008 et 2014 de *S.aureus* dans les pus « autres ».

Ainsi, on constate qu'il n'y a pas de réelle augmentation des SARM entre 2008 et 2012 alors que le nombre de *S. aureus* total est plus important (diminution de la résistance). Une augmentation apparaît en 2013 mais revient à 11% en 2014 (2 souches sur 18). Le faible nombre de souche rend difficile l'interprétation.

B. ENTEROBACTERIES

E. coli et *Enterobacter spp* sont majoritaires et retrouvés chacun à 30% (même proportion que dans les abcès cérébraux). *E. coli*, *Enterobacter spp*, *Proteus spp*, et *K. pneumoniae* représentent tous ensemble 80% des Entérobactéries retrouvées dans les pus « autres » (Figure 35).

En 2013, certaines espèces moins communes ont été retrouvées, tel que *P. vulgaris* (également aussi dans un prélèvement d'abcès cérébral) ou encore *S. liquefaciens* ou *C.koseri*.

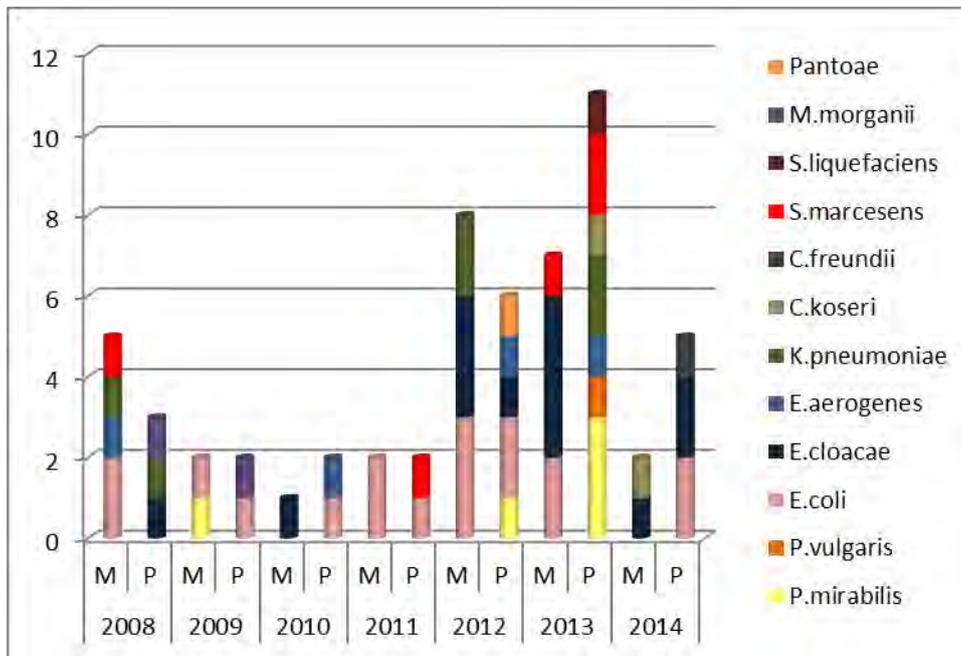


Figure 35 : Répartition des différentes Entérobactéries en fonction des années (M=monomicrobien P=Plurimicrobien) dans les pus profonds « autres », pour la période 2008-2014.

Dans les pus profonds, 7 souches avaient une céphalosporinase hyperproduite (sur 27 souches d'Entérobactéries du groupe 3, soit environ 26% de CEPD parmi le groupe 3) (Figure 36) :

- 2 *M. morganii* (sur 2 souches retrouvées)
- 4 *Enterobacter cloacae* (sur 13 souches retrouvées, aucun *Enterobacter aerogenes* n'avait de CEPD)
- 1 *C. freundii* (sur 1 souche retrouvée)

Trois souches exprimaient une BLSE (Figure 36) :

- 2 *K. pneumoniae* (sur 6 souches retrouvées)
- 1 *E. coli* (sur 17 souches retrouvées)

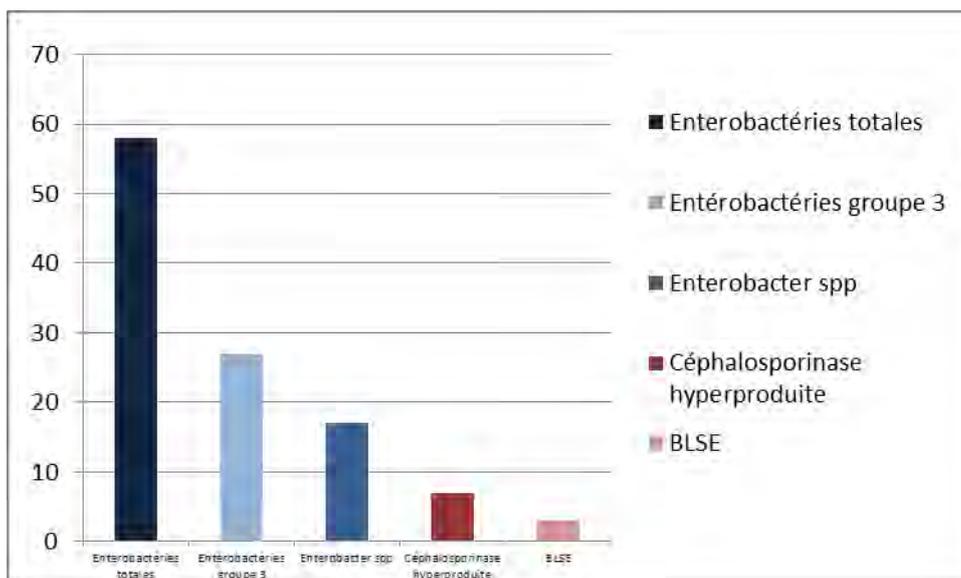


Figure 36 : Nombre d'Entérobactéries et profils de résistances aux C3G entre 2008 et 2014 dans les pus « autres ».

Au total, **17% des Entérobactéries étaient résistantes aux C3G** (12% de CEPD et 5% BLSE) dans l'ensemble des prélèvements de pus profonds (autres que abcès cérébraux et empyèmes). Ce nombre est beaucoup plus important que celui retrouvé dans les LCR/LCD ou dans les abcès cérébraux ou empyèmes.

4.2 LES CONSOMMATIONS D'ATB ENTRE 2010 ET 2013 EN NEUROCHIRURGIE

Entre 2011 et 2014, la consommation du méropénème a été multipliée par 10 dans le Pôle de Neurosciences et par 13 en Neurochirurgie. En parallèle, la consommation de l'imipénème a diminué de 7,5 fois et de 5,6 fois respectivement dans le pôle Neurosciences et en Neurochirurgie. En 2014, la consommation de méropénème + imipénème dans le pôle neurosciences représente 5% de la consommation globale des carbapénème de l'hôpital. Plusieurs explications peuvent être données :

- 1) D'une part, son utilisation remplace de plus en plus celle de l'imipénème car cette molécule présente moins d'effets indésirables au niveau neurologique (convulsions) et rénal et permet donc une augmentation des posologies.
- 2) L'augmentation de la fréquence des Entérobactéries avec un phénotype de type BLSE ou CEPD encourage l'utilisation des carbapénèmes en antibiothérapie probabiliste en attendant les résultats de l'antibiogramme.

Concernant les autres antibiotiques utilisés en Neurochirurgie :

- L'utilisation du **céfépime** a nettement augmenté entre 2011 et 2014 (x5 pour le pôle Neurosciences et x7 pour la Neurochirurgie), mais tend à rediminuer en 2014.
- La consommation de **ceftazidime** a également diminué en 2014 malgré l'augmentation des bacilles à Gram négatif non fermentants, probablement parce que c'est le méropénème qui a été utilisé dans ces cas. La consommation de C3G + C4G dans le pôle Neurosciences en 2014 correspond à 9,5% de la consommation globale de céphalosporines de l'hôpital.
- La fin du contingentement de la fosfomycine est sûrement la raison à la fois de la forte augmentation de consommation de fosfomycine en 2014 mais aussi de la diminution de celle de la vancomycine, bien que non proportionnelle. Sa consommation en neurochirurgie semble représenter environ 60% de la consommation globale de l'hôpital contre 2% pour la vancomycine.

Les consommations d'antibiotiques pour le Pôle Neurosciences et la Neurochirurgie sont présentées dans le [Tableau XVII](#).

Tableau XVII : Consommation (en euros) entre 2011 et 2014 des formes injectables de cefotaxime, ceftriaxone, ceftazidime, ceftépime, vancomycine, métronidazole, fosfomycine.

		2011	2012	2013	2014
C3G/C4G	Hôpital	152 769	150 178	186 423	198 756
Céfotaxime	Pôle Neurosciences	3 626,15	4 060,62	4 179,72	5 400,79
	Neurochirurgie	2 249,62	2 865,89	3 347,13	4 159,05
Ceftriaxone	Pôle Neurosciences	1 326,34	1 532,36	1 471,28	1 200,20
	Neurochirurgie	744,5	653	593,1	371,5
Ceftazidime	Pôle Neurosciences	1 170,63	1 702,28	2 543,47	1 638,48
	Neurochirurgie	616,28	940,24	1706,19	993,21
Céfépime	Pôle Neurosciences	2 715,40	6 937,70	14 004	10 577,20
	Neurochirurgie	1 679,20	8 022,58	12 036,20	9 185,10
Carbapénèmes	Hôpital	578 140	490 949	607 894	538 181
Méropénème	Pôle Neurosciences	2 513,37	9552	21 265,14	24 930,72
	Neurochirurgie	1552,2	6602,82	20 148,75	20 602,47
Imipénème	Pôle Neurosciences	15 321,57	9 321,18	7 576,25	2076,69
	Neurochirurgie	9 490,25	6271,54	5 840,89	1687,51
Vancomycine	Hôpital	84 878	79 733	43 316	76 517
	Pôle Neurosciences	2 535,30	2 581,82	4 300,89	2 223,59
	Neurochirurgie	2 022,53	2 007,61	3 632,74	1 534,15
Fosfomycine	Hôpital	23 574	7 503	11 622	35 264
	Pôle Neurosciences	13 343,40	990	306	22 479,40
	Neurochirurgie	9 753,60	1 069,20	198	22 037,40
Métronidazole	Hôpital	16 784	16 726	17 582	18 345
	Pôle Neurosciences	303,84	509,76	734,76	428,76
	Neurochirurgie	86,04	151,2	163,44	220,68

(Prix des antibiotiques : METRONIDAZOLE 500MG/100ML (0.5%) INJ FL BBRAUN ECOFLAC 0,36€, FOSFOCINE 1G INJ PERF FL*8,5€, FOSFOCINE 4G INJ PERF FL*19,8€, VANCOMYCINE 1G INJ IV FL MYLANREMPPLACE / 901476975 MYLAN PC 01, VANCOMYCINE 1G INJ IV FL SANDOZ 2,25€, VANCOMYCINE 250MG INJ IV FL MYLANREMPPLACE / 901486975 MYLAN PC 01, VANCOMYCINE 250MG INJ IV FL SANDOZ 1,15€, VANCOMYCINE 500MG INJ IV FL MYLANREMPPLACE / 901466975 MYLAN PC 01, VANCOMYCINE 500MG INJ IV FL SANDOZ 1,21€, CEFOTAXIME 0.5G INJ IM/IV FL PANPHARMA 0,47€, CEFOTAXIME 1G INJ IM/IV FL PANPHARMA 0,51€, CEFTRIAZONE 1G INJ IV/IM/SC FL PANPH 0,50€, CEFTRIAZONE 500MG INJ SC/IM/IV FL MYLAN 0,68€, CEFTAZIDIME 1G INJ IV/IM FL PANPH 1,02€, CEFTAZIDIME 2G INJ IV/IM FL PANPH 1,39€, CEFTAZIDIME 500MG INJ IV/IM FL PANPH 0,85€, AXEPIM 1G INJ FLSUITE RUPTURE 92153112 BRISTOL 01, CEFEPIME 1G INJ IV /IM FL PANPHARMA, 6,1€, CEFEPIME 2G INJ IV /IM FL PANPHARMA 11,9€, IMIPENEM/CILAST 500MG/500MG PERF FLPANPHARMA 3,19€, MEROPENEM 1G INJ FL MYLAN, MEROPENEM 1G INJ FL PANPHARMA*REMPPLACE / 92572PANPHARMA PT 01 5,97€)

4.3 ETUDES DES 17 PATIENTS AVEC MENINGITE A ENTEROBACTERIES : REVISION DE L'ANTIBIOTHERAPIE PROBABILISTE DES MENINGITES A ENTEROBACTERIES

Dix sept patients sur 816 prélevés ont fait une méningite à entérobactéries, soit environ 2%.

Nous avons sur les 17 patients : **8 hommes et 9 femmes**, avec une **moyenne d'âge de 49 ans** (29-73 ans).

Le temps de pousse n'était jamais supérieur à 24 h. Même les prélèvements ensemençés en fin d'après-midi avaient une culture positive le lendemain matin (sauf pour 1 patient qui était déjà sous antibiothérapie pour une infection à *Enterobacter* connue : le thio était positif en 5 jours, puis le repiquage en 1 jour). Les caractéristiques biochimiques des LCR sont résumées dans le [Tableau XVIII](#).

Tableau XVIII : Biochimie des LCR des 17 patients inclus.

	CELL INDEX	Protéïnorachie	Glycorachie/Glycémie	Lactates
valeur minimum	0,7	1,22	0,04	5,1
Q1	7,1	2,53	0,08	9,175
Médiane	382,6	4,63	0,08	13,1
Q3	5556,5	5,82	0,11	15,65
valeur maximum	20018,7	16,90	0,39	17,2

En ce qui concerne les pathologies neurologiques, les hémorragies (ou hématomes) étaient secondaires à une rupture d'anévrismes dans la majorité des cas ou secondaires à une malformation artério-veineuse dans 2 cas et spontanée dans 1 cas. Tous les patients présentaient au moins de la fièvre avec le plus souvent un trouble de consciences (et pour certains d'entre eux nausées, vomissements, céphalées ou raideur de nuque). Treize patients étaient porteurs d'un matériel (drain lombaire, DVE) au moment du prélèvement. Sur ces 13 patients, 10 ont eu un retrait de matériel, 1 pas de retrait et pour 2 nous n'avons pas de renseignements sur la prise en charge (dont 1 décès). Les patients sans matériel sont un post op de canal lombaire et une reprise de crâniectomie.

Parmi les bactéries retrouvées, la majorité sont des *Enterobacter cloacae* ou *aerogenes* (12 souches sur 17). On retrouve aussi des souches de *E. coli*, *K. pneumoniae* ou *oxytoca* et *P. mirabilis*. Parmi les 12 patients avec infection à *Enterobacter*, 6 ont eu une culture de leur DVE et elle était positive à *Enterobacter*.

Les caractéristiques des patients sont résumées dans le [Tableau XIX](#).

Tableau XIX : Caractéristiques des 17 patients avec méningites à Entérobactéries.

Caractéristiques	Nombres de patients
Pathologies neurologiques	
Hémorragie	9
Méningiome/Glioblastome/Tumeur (exérèse ou prises en charges de manifestations neurologiques)	5
Post op canal lombaire	1
AVC	1
Reprise de volet de craniectomie	1
Entérobactéries retrouvées	
<i>Enterobacter (cloacae ou aerogenes)</i>	12 (dont 7 avec enterobacter CEPD)
<i>Escherichia coli + Proteus mirabilis</i>	1
<i>Escherichia coli</i>	1
<i>Klebsiella (pneumoniae ou oxytoca)</i>	3 (dont 1 BLSE)
Matériels	
DVE	13
Drain lombaire	1
Aucun	2
DVE après prélèvement	1
Evolution	
Décès ou limitation thérapeutique	8
Rentré à domicile	6
Transfert dans autres services	2
Inconnu mais en vie	1
Traitement probabiliste anti BGN	
Méropénème	4
Céfotaxime	10
Ceftazidime	1
Aucun	2

Parmi les 7 patients avec une souche d'*Enterobacter* exprimant une CEPD :

- 6 avaient reçus un traitement probabiliste par cefotaxime (description des cas ci-dessous)
- 1 n'avait pas eu de traitement probabiliste mais avait uniquement été traité quand le résultat de la culture a été obtenu avec antibiogramme par méropénème. Ce patient avait été traité par tazocilline puis imipénème pour une pneumopathie à *Citrobacter koseri* 1 mois avant

Parmi les 10 patients traités en probabiliste par cefotaxime : 9 sont positifs à *Enterobacter* (6 ont une céphalosporinase déréprimée et 3 sont sauvages).

Parmi ces 6 *Enterobacters* avec CEPD,

- Deux étaient d'abord sauvage dans le LCR, puis le traitement par cefotaxime a été poursuivi en ajoutant de la ciprofloxacine. Dans les prélèvements suivants, on retrouvait une CEPD probablement sélectionnée par le traitement.
- Un était sauvage dans l'aspiration trachéale 20 jours auparavant. Le patient a reçu un traitement par pipéracilline-tazobactam + amiklin. La souche a été retrouvée hyperproductrice de céphalosporinase 8 jours plus tard, toujours dans les AT. Un traitement probabiliste de la méningite par Cefotaxime a quand même été initié.
- Une souche était déjà hyperproductrice de céphalosporinase dans les AT (aucune notion de traitement pour cette colonisation ou infection pulmonaire n'a été retrouvée dans le dossier).
- Un patient a été traité par méropénème devant l'examen direct positif à bgn. Trois jours plus tard un traitement en relais par bactrim + ciprofloxacine a été envisagé pour épargner le méropénème. Ce patient avait été traité la semaine précédente par cefotaxime + zyvoxid en probabiliste puis arrêté sur une bactériologie négative et une cellularité normale

Parmi les 3 *Enterobacters* avec phénotype sauvage, 2 ont été traités en relais par méropénème, 1 patient était décédé avant le résultat de la culture.

Parmi les 4 patients traités en probabiliste par méropénème (3 en 2013 et 1 en 2014) :

- Pour un patient, le traitement probabiliste par méropénème était justifié par la présence d'une *Klebsiella pneumoniae* BLSE dans les aspirations trachéales et l'urine.
- Pour un autre patient, le traitement probabiliste par méropénème était aussi justifié, devant la découverte d'un examen direct positif à bacille à Gram négatif chez cette personne connue pour ostéite récidivante à *Pseudomonas aeruginosa*.
- Pour 2 autres patients, (1 *enterobacter cloacae* sauvage et une *Klebsiella oxytoca* sauvage), la justification du traitement probabiliste par méropénème n'a pas été retrouvée au vu des données disponibles dans MOLIS et dans ORBIS.

En conclusion, pour les 7 patients avec une CEPD, on retrouve :

- soit une antécédence d'*Enterobacter* de phénotype sauvage traité par cefotaxime (+ quinolones) ou tazocilline,
- soit une antibiothérapie antérieure par cefotaxime ou tazocilline dans le mois précédent,
- soit déjà connu pour une souche CEPD dans un autre prélèvement (AT).

4.4 VALIDATIONS DE METHODES DU TEST TEST XPERT MRSA/SA DANS LES LCR / LCD

Les résultats sont présentés dans le SH FORM 44 ci-dessous.

Une aide à l'interprétation et la validation technique des différents cas pour l'interprétation a été réalisé à partir des cas de la validation de méthode (Annexe 5).

EXAMEN DE BIOLOGIE MEDICALE :	
Détection de <i>S.aureus</i> et de la résistance à la méticilline dans le liquide céphalorachidien (LCR et LCD)	
Portée A <input type="checkbox"/> ; Portée B <input checked="" type="checkbox"/>	

DESCRIPTION DE LA METHODE	
Analyte/Mesurande :	Détection rapide et simultanée de l'ADN de <i>Staphylococcus aureus</i> (SA) et de la résistance à la méticilline. Séquences cibles brevetées : <ul style="list-style-type: none"> - Protéine A staphylococcique (<i>spa</i>) - Gène de résistance à la méticilline (<i>mecA</i>) - Cassette chromosomique staphylococcique <i>mec</i> (<i>SCCmec</i>) insérée dans le site chromosomique <i>attB</i> du SA
Principe de la Méthode :	Amplification en chaine par polymérase (PCR) en temps réel
Type d'échantillon primaire :	Validé par fournisseur sur échantillons cutanés, pus, tissus mous Validé sur site pour Liquide céphalorachidien et liquide de dérivation
Type de récipient, additifs :	 Bouchons transparent pour liquide de ponction
Prétraitement de l'échantillon :	Aucun
Unités :	Détection / Absence de détection
Intervalles de référence / valeur d'interprétation¹ :	Les valeurs du cut-off qui permettent l'interprétation du système Xpert ne sont pas données par le fournisseur. Toutefois dans notre étude, chaque fois qu'un CT est détecté, il est considéré comme positif.
Marquage CE (Oui/Non) :	Oui
Portée (A/B)	Adaptation (B) de méthodes
Codage C.N.Q. (s'il existe) :	NA
Equipement (instrument, analyseur, etc.)	Genexpert DX 16 System - N° série : 704001 Annexe: Manuel d'utilisation
Référence du réactif :	Réactif : GXM RSA/SA-SSTI-CE-10 GXM RSA-SA-BC-CE-10
Matériau d'étalonnage (références) :	NA

MISE EN ŒUVRE	
Opérateur(s) habilité(s) ayant réalisé la vérification/validation de méthode :	ROLLAND Angèle, GRARE Marion, GARCIE Christophe
Procédure de validation/mode opératoire :	http://srv-kalilab/PG-BIO-MS-QUAL-019
Procédure de gestion de la portée flexible :	http://srv-kalilab/PG-BIO-MS-QUAL-018
Période d'étude* :	Période de validation : Janvier à mai 2014
Date de déclaration d'aptitude :	25/05/2014
Autorisation d'aptitude par :	GRARE Marion
Date de 1^{ère} utilisation :	1 ^{er} patient inclus dans l'étude en juin 2014 (test non utilisé actuellement en routine)

MAITRISE DES RISQUES (le laboratoire adaptera ses points critiques à maîtriser à partir du tableau ci-dessous)				
5M	Points critiques	Echelle de criticité	Éléments/moyens de maîtrise (formation du personnel, vérification expérimentale, jeux d'essai, ...)	Documents (procédure, instruction, enregistrement, ...)
Matière (échantillons)	Identitovigilance	5	Formation du personnel préleveur et du pré-analytique	Personnel habilité et présence de modes opératoires. Procédure d'identitovigilance du laboratoire : http://srv-kalilab/IT-PERI-PREA-002
	Préparation du patient	2	Information des patients et préleveurs sur les préconisations avant le prélèvement	Biologie du CHU de TOULOUSE http://chu-toulouse.manuelprelevement.fr
	Type de contenants	3	Formation des préleveurs	Gestion des navettes et température de transport http://srv-kalilab/PG-PERI-MS-PREA-002
	Nature et volume de l'échantillon	2	Contrôle à réception	Contrat avec logistique CHU : http://srv-kalilab/DE-BIO-MS-QUAL-011
	Délai et température avant traitement analytique	2	Gestion logistique (navettes, enceintes de transport)	Acheminement échantillons : http://srv-kalilab/PG-PERI-MS-PREA-002 Procédure de gestion des non conformités http://srv-kalilab/PG-BIO-MS-QUAL-003
	Interférences	2	Contrôle à réception (élimination des échantillons hémorragiques)	Enregistrement des non-conformités dans MOLIS http://srv-kalilab/IT-PTI-PREA-008
Milieu	Conditions de conservation des échantillons	1	Métrologie des frigos où les échantillons sont conservés (cartographie et suivi des températures avec Vigitemp). Réactifs conservés à température ambiante	Instructions de conservation des échantillons http://srv-kalilab/IT-PTI-BACT-049
	Conditions de conservation et d'utilisation des réactifs	2		Cartographie des enceintes minimum tous les 5 ans http://srv-kalilab/MT-BIO-MS-METR-013 Suivi des températures par des sondes, sur le logiciel Vigitemp Utilisation simplifiée du logiciel Vigitemp : http://srv-kalilab/IT-BIO-MS-METR-001
	Exigences environnementales pour le matériel	1	Suivi des conditions environnementales	Fonctionnement du GeneXpert entre 15 et 30 °C. Climatisation et suivi de température par un thermomètre mini-maxi Procédure de gestion des conditions environnementales http://srv-kalilab/PG-BIO-MS-QUAL-008

Matériel (équipements)	Surveillance des dérives	2	Pour les CIQ, chaque test inclut : -un contrôle du traitement de l'échantillon/contrôle interne (SPC/IC) -un contrôle de vérification de la sonde (Probe Check Control, PCC). Maintenance/méetrologie des équipements	Manuel utilisateur Procédure de validation technique*
	Contamination	1	Test unitaires – absence de risques de contamination	Test unitaires
Matériel (réactifs)	Conservation et conditions d'utilisation	1	Conservation des réactifs à température ambiante	NA
	Acceptation à réception des réactifs, gestion des stocks	1	Gestion des stocks par le personnel formé et habilité	Procédure de gestion des stocks http://srv-kalilab/MT-PTI-APPR-001 Utilisation du logiciel Kalilab pour gérer les stocks.
	Reconstitution des réactifs, étalons, contrôles	1	Test prêts à l'emploi	NA
Méthode	Limites de la méthode	2	Bibliographie Essai sur site	Documents fournisseur, Voir résultats des essais dans la rubrique « limite de détection »
	Causes d'incertitude de mesure	1	Non quantifiables en méthode qualitative	Enregistrement de l'essai sur site (cf. SH GTA 14) Bibliographie
Main d'œuvre	Compétence et maintien de compétence du personnel	3	Habilitation et qualification du personnel aux techniques	Enregistrements d'habilitation du personnel http://srv-kalilab/de-PTI-QUAL-004 Lecture des plaques API http://srv-kalilab/IT-PTI-BACT-045

*Cette procédure ne figure pas dans le système de gestion documentaire du laboratoire (Kalilab) mais a été intégré en dans la partie conclusion de ce document (elle a été rédigée uniquement dans le cadre de l'étude et ne sera diffusée que si la technique est employé de façon définitive)

EVALUATION DES PERFORMANCES DE LA METHODE

Echantillons utilisés : *S. aureus* ATCC 25923 et différentes souches de patient (*S. aureus* et différentes espèces de SCN métiR et métiS)

REPETABILITE							
Applicable <input checked="" type="checkbox"/> ; non applicable (à justifier) <input type="checkbox"/>							
Echantillons	Nombre de valeurs (N)	Moyenne	Ecart-type	CV (%)	CV (%) fournisseur	CV (%) retenu par le laboratoire	Conclusion
SARM	3 Gène mecA	27,4	0,3	1	NA	<5%	CONFORME
SARM	3 Gène SCC	28,6	0,4	1	NA	<5%	CONFORME
SARM	3 Gène Spa	27,3	0,3	1	NA	<5%	CONFORME

Commentaire : les tests de répétabilité ont été réalisés afin d'évaluer les performances de la méthode, même si non applicables pour une méthode qualitative de portée B, et surtout pour des tests unitaires. Pour réaliser ces tests, nous avons utilisé une souche patient de SARM à 10^6 UFC/MI dans 3 cassettes différentes passées en même temps dans l'automate. Pour évaluer la répétabilité, nous avons regardé les Ct des 3 gènes amplifiés par cette technique. Dans les 3 cas, le test Xpert SSTI a rendu comme résultat « SA positif, SARM positif ».

Les résultats ont permis de montrer une très bonne répétabilité des tests. La répétabilité est conforme aux attentes du laboratoire.

FIDELITE INTERMEDIAIRE							
Applicable <input checked="" type="checkbox"/> ; non applicable (à justifier) <input type="checkbox"/>							
Echantillons	Nombre de valeurs (N)	Moyenne (Ct)	Ecart-type	CV (%)	CV (%) fournisseur	CV (%) retenu par le laboratoire	Conclusion
Cf résultats dans les tableaux ci dessous							

Commentaire : les tests d'évaluation de la fidélité intermédiaire ont été réalisés afin d'évaluer les performances de la méthode, même si non applicables pour une méthode qualitative de portée B et non évaluables pour un test unitaire. Ce que nous avons souhaité regarder, c'est la reproductibilité de la détection (valeurs des Ct) des différents gènes et la reproductibilité de la réponse du test, en utilisant différentes souches de *S. aureus* et SCN résistants et sensibles à la méticilline. Les statistiques ne sont calculées que pour les dilutions 10^4 et 10^5 UFC/mL (10^3 étant la limite de détection de la technique).

Les résultats ont permis de montrer de très bonnes performances en terme de fidélité intermédiaire, y compris en évaluant la détection des gènes un par un, et les résultats en nombre de Ct. La fidélité intermédiaire est conforme aux attentes du laboratoire.

Résultats pour *S. aureus* MS et MR

Nb positifs/nb total testés	Niveau et souches testées (UFC/mL)	Moyenne	Ecart-type	% CV
Gène <i>mecA</i>				
5 sur 6	10 ⁴ SARM	31,92	1,39	4,34
3 sur 6	10 ³ SARM	NA	NA	NA
Gène <i>scc</i>				
6 sur 6	10 ⁴ SARM	33,70	2,09	6,20
4 sur 6	10 ³ SARM	36,5	1,5	4,0
Gène <i>spa</i>				
4 sur 4	10 ⁵ SA	30,1	0,53	1,76
12 sur 12	10 ⁴ SA	31,5	2,06	6,56
7 sur 11	10 ³ SA	35,2	1,46	4,14
5 sur 8	10 ² SA	38	1,41	3,72

Commentaires : les performances en termes de reproductibilité sont bonnes. A 10⁴ UFC/mL, la reproductibilité est de 83% (5/6) avec le gène *mecA*, de 100% (6/6) avec le gène *mecA*, de 100% (16 sur 16) avec le gène *spa* (à 10⁴ et 10⁵ UFC/mL). Les CV sont < 10% ce qui correspond aux exigences fixées par le laboratoire.

Résultats pour SCN MS MR

Le test Xpert MRSA/SA SST1 n'est validé par le fabricant que pour la détection du gène *mecA* chez *S. aureus*. Nous avons souhaité valider les performances de ce test pour la détection du gène *mecA* chez différentes souches de SCN.

Nb positifs/nb total testés	Niveau et souches testées (UFC/mL)	Moyenne	Ecart-type	% CV
Gène <i>mecA</i>				
9 sur 9	10 ⁵ SCNMR	31,26	2,12	6,78
6 sur 7	10 ⁴ SCNMR	33,89	1,13	3,34
1 sur 2	10 ³ SCNMR	NA	NA	NA

Commentaires : à 10⁵ et 10⁴ UFC/mL, la reproductibilité est de 93,7% (15 sur 16) pour le gène *mecA* chez différentes souches de SCN.. Les CV sont < 10% ce qui correspond aux exigences fixées par le laboratoire.

JUSTESSE (à partir des CIQ externalisés)								
Applicable <input type="checkbox"/> ; non applicable (à justifier) <input checked="" type="checkbox"/>								
Echantillons	Nombre de valeurs (N)	Valeurs Labo	Cible (groupe de pairs)	Biais (%) /groupe de pairs	Moyenne générale (toutes techniques)	Biais (%) / moyenne générale	Biais (%) limite	Conclusion
Echantillon CIQ niveau 1								Non applicable

Commentaire : méthode qualitative.

Incertitude de mesure
Prise en compte des composantes influentes sur la phase pré-analytique et analytique. Ces sources contribuant à l'incertitude ont été évaluées et sont : la qualité de l'échantillon (testés à l'occasion lors de l'étude), les équipements utilisés, les conditions expérimentales avec notamment la préparation de l'échantillon ainsi que les changements d'utilisateurs.

Commentaires : **LES INCERTITUDES DE MESURE SONT CONTROLÉES.**

LIMITE DE DETECTION (étude expérimentale indispensable en portée B) (étude expérimentale possible si pertinente en portée A) Applicable <input checked="" type="checkbox"/> ; non applicable <input type="checkbox"/>	
Limite de détection :	Avec 100 µL : 10 ⁴ UFC/mL voir 10 ³ en réinterprétant les courbes Avec 1000 µL : 10 ³ UFC/mL

Commentaires : La limite de détection a été déterminée en même temps que la comparaison de méthode. Les résultats sont présentés dans les tableaux ci-après.

COMPARAISON DE METHODES : Applicable <input checked="" type="checkbox"/> ; non applicable <input type="checkbox"/>	
Données bibliographiques (fournisseurs, publications,...) :	Manuel d'utilisation du fournisseur Xpert® MRSA/SA SSTI Biendo M, et al. Value of Xpert MRSA/SA blood culture assay on the Gene Xpert® Dx System for rapid detection of <i>Staphylococcus aureus</i> and coagulase-negative staphylococci in patients with staphylococcal bacteremia. <i>Diagn Microbiol Infect Dis</i> 2013 US Food and Drug Administration. Cepheid Xpert MRSA/SA Blood Culture Assay for Use with the GeneXpert Dx System. 2010 Ciardo DE, Burger S, Payer M, Lee C, McCallum N. GeneXpert Captures Unstable Methicillin-Resistant <i>Staphylococcus aureus</i> Prone to Rapidly Losing the <i>mecA</i> Gene
Méthode précédente, autre méthode utilisée dans le laboratoire, appareil en miroir ou back-up, EBMD :	Culture sur gélose au sang (en parallèle sur manip 1) et antibiogramme standard par méthode de diffusion (disque de cefoxitine et/ou moxalactam) de façon rétrospective sur des souches connues. La méthode du laboratoire est une culture qualitative mais ici nous avons réalisé une culture quantitative. Certaines souches ont été envoyées au CNR des Staphylocoques pour confirmation de la présence du gène <i>mecA</i> .
Nombre de mesures :	<u>Nombres de tests comparés à la culture* (manip 1)</u> <ul style="list-style-type: none"> • 16 SARM (100 µL) • 16 SAMS (100 µL) • 1 Liquide de dérivation positif : 3 tests réalisés <u>Nombres de tests* (manip 2)</u> <ul style="list-style-type: none"> • 8 SARM (1 mL) • 6 SAMS (2 tests en erreur) (1 mL) <u>Nombres de tests (manip 3)</u> <ul style="list-style-type: none"> • 8 SARM (100uL) • 5 SCNMR (100uL) • 3 SCNMS (100uL) <u>Nombres de tests (manip 4)</u> <ul style="list-style-type: none"> • 13 SCNMR (100uL) • 4 SCNMS (1mL) Somme des tests au total : <ul style="list-style-type: none"> • SARM : 32 • SA : 22 • SCNMR : 18 • SCNMS : 7 • 1 Liquide de dérivation positif : 3 tests Patients inclus dans l'étude : 12 (dont 2 patients qui ont eu 2 tests) *Au total : 94 tests utilisés (comparaison de méthode / limite de détection / patients de l'étude) 82 pour la validation de méthode + 15 tests pour les patients inclus
Concordance catégorielle	Présence / Absence de <i>S. aureus</i> Présence / Absence de la résistance à la méticilline

Commentaires : Nous avons réalisé une culture quantitative (10 µL en strie centrale) lors de la manipulation 1 pour vérifier notamment la justesse des dilutions. Pour les autres expérimentations, la culture n'a plus été réalisée, l'objectif étant de comparer cette technique de PCR aux résultats phénotypiques d'identification et de sensibilité à la méticilline (ce phénotype étant déjà connu nous avons choisi des souches patient pour lequel une méthode de sensibilité à la méticilline a été systématiquement réalisé selon les recommandations du CA-SFM).

Nous avons aussi souhaité comparer deux kits Xpert :

- le kit Xpert MRSA/SA SSTI validé pour la détection des infections de la peau et des tissus mous à partir de prélèvements sur écouvillons
- le kit Xpert BC SA/MRSA validé pour la détection des infections à SA/MRSA à partir de flacons d'hémocultures.

Cette comparaison avait pour objectif de choisir le test le plus sensible pour la détection de la résistance à la méticilline à partir de prélèvements de LCR/LCD.

Les résultats de cette comparaison de méthodes sont présentés dans les tableaux ci-après ([Tableaux A à J](#)).

Tableau A : Comparaison des résultats de la culture quantitative et des PCR Xpert SSTI et BC sur une souche de S. aureus MR et un LCD de patient positif à SAMS.

Echantillon : nb UFC/mL	Résultat Culture (n=3)	Interprétation Xpert SSTI (n=3)	Interprétation Xpert BC (n=1)
LCD positif (échantillon patient)	Positif	SPA+, mecA-	SPA+, mecA- (10 et 100 µL)
10	1-2 colonies	Négatif	Négatif
100	4-5 colonies	Négatif	Négatif
1000	10 colonies	SPA+ (3/3), mecA+ (1/3)	SPA+, mecA- (1/1)
10000	100 colonies	SPA+, mecA+ (3/3)	SPA+, mecA+ (1/1)

(/) : résultat pour un nombre de souches ayant ce résultat / nombre total de tests effectués

Commentaire : A 10^3 UFC/mL, le système Xpert interprète le résultat comme un SARM une seule fois (avec SSTI) sur 4 et comme un S.aureus pour les 3 autres cas (détection de spa uniquement sans détection de mecA ni SCC). A 10^4 UFC/mL, tous les tests sont positifs pour SA et pour la résistance à la méticilline. La PCR semble ainsi moins sensible que la culture.

Tableau B : Comparaison des résultats de la culture quantitative et des PCR Xpert SSTI et BC sur une souche de *S. aureus* MS et un LCD de patient positif à SAMS.

Echantillon : nb UFC/mL	Résultat Culture (n=3)	Interprétation Xpert SSTI (n=3)	Interprétation Xpert BC (n=1)
LCD positif (échantillon patient)	Positif : $>10^7$	SPA+, mecA-	SPA+, mecA-
10	1-2 colonies	Négatif	Négatif
100	4-5 colonies	Négatif	Négatif
1000	10 colonies	SPA+ (1/3), mecA- (3/3)	Négatif
10000	100 colonies	SPA+ (3/3) mecA- (3/3)	SPA+ mecA- (1/1)

(/) : résultat pour un nombre de souches ayant ce résultat / nombre total de tests effectués

Commentaire : A 10^3 UFC/mL, le système Xpert interprète le résultat comme un SASM une seule fois (avec SSTI) sur 4 et négatif pour les 3 autres. A 10^4 UFC/mL, tous les tests sont positifs pour SA et négatifs pour la résistance à la méticilline. La PCR semble ainsi moins sensible que la culture, et le test Xpert SSTI plus sensible que le test Xpert BC. C'est pour cela que pour la suite de la validation de méthode et pour l'étude, c'est le test Xpert SSTI qui a été choisi.

Tableau C : Comparaison des résultats de la culture (quantitative) et de la PCR Xpert SSTI pour 7 patients inclus dans l'étude, dont la culture était positive.

Echantillon : résultat culture (Nbre de positifs/ Nbre total)	Xpert SSTI (Nbre de positifs/ Nbre total)
SCN métiR : Très peu abondant (2/2)	mecA- (2/2)
SCN méti R : Abondant $>10^7$ UFC/mL (2/2) et moyennement abondant (2/2)	mecA+ (4/4) :
<i>S. aureus</i> métiS : Très rare (1/1)	Spa+ (1/1)

(/) : résultat pour un nombre de souches ayant ce résultat / nombre total de tests effectués

Commentaires : sur ces 7 échantillons patients, une concordance de **71,4 %** est obtenue entre la culture et le résultat de la PCR Xpert SSTI. Les 2 SCN métiR très peu abondant n'ont pas été retrouvés en PCR (ce sont de faux négatifs) (voir aussi en dessous le tableau sensibilité et spécificité diagnostique)

Conclusion concernant la comparaison culture/Xpert SSTI/Xpert BC

Les dilutions réalisées sont concordantes avec les résultats de la culture dans 100% des cas pour une concentration de 10^4 UFC/mL. Le système Xpert a ainsi effectué une interprétation des résultats positifs dans 100% des cas à une dilution de 10^4 UFC/mL à la fois avec le coffret SSTI et le coffret BC pour SARM et SAMS. A 10^1 UFC/mL et 10^2 UFC/mL, alors que la culture est positive, le système Xpert interprète les résultats négatifs dans 100% des cas. A 10^3 UFC/mL, le système Xpert interprète les résultats correctement dans 25% des cas (2 fois sur 8) (ce qui montre aussi que nous atteignons la limite de détection).

Dans les tableaux suivants, figurent la quantité d'échantillon mis dans le diluant, le type et nombre de souches testés, l'interprétation du système Xpert et la réinterprétation des courbes de PCR, en considérant chaque analyte comme positif si un Ct est rendu par l'automate à fin d'augmenter la sensibilité.

Résultats pour la détection du gène spa

Tableau D : Comparaison des résultats de la PCR Xpert SSTI et Xpert BC pour différentes souches patient de SASM et SARM (expérience n°1) avec un volume de 100 µL.

Quantité dans diluant	Souches testées	Nb UFC/mL	Interprétation système Xpert	Réinterprétation courbe spa
SARM				
100 µL	4* SARM	10 ⁴	4 positifs	4 positifs
100 µL	4* SARM	10 ³	4 positifs	4 positifs
100 µL	4* SARM	10 ²	4 négatifs	2 positifs (SSTI) / 2 négatifs
100 µL	4* SARM	10 ¹	4 négatifs	1 positif (SSTI) / 3 négatifs
SAMS				
100 µL	4* SAMS	10 ⁴	4 positifs	4 positifs
100 µL	4* SAMS	10 ³	1 positif (SSTI)/3 négatifs	2 positifs (SSTI) / 2 négatifs
100 µL	4* SAMS	10 ²	4 négatifs	3 positifs (SSTI) / 1 négatif
100 µL	4* SAMS	10 ¹	4 négatifs	1 positif (SSTI) / 3 négatifs

* 3 séries de dilutions avec le coffret SSTI pour SARM et SAMS +1 série de dilution avec le coffret BC pour SARM et SAMS

Tableau E : Comparaison des résultats de la PCR Xpert SSTI et Xpert BC pour différentes souches patient de SASM et SARM (expérience n°2) avec un volume de 100 µL.

Quantité dans diluant	Souches testées	Nb UFC/mL	Interprétation système Xpert	Réinterprétation courbe spa
SARM				
100 µL	2* SARM	10 ⁶	2 positifs	2 positifs
100 µL	2* SARM	10 ⁵	2 positifs	2 positifs
100 µL	2* SARM	10 ⁴	2 positifs	2 positifs
100 µL	2* SARM	10 ³	2 négatifs	1 positif / 1 négatif
SAMS				
100 µL	1* SAMS	10 ⁶	1 positif	1 positif
100 µL	2* SAMS	10 ⁵	2 positifs	2 positifs
100 µL	2* SAMS	10 ⁴	2 positifs	2 positifs
100 µL	1* SAMS	10 ³	1 négatif	1 négatif

* 1 série de dilutions avec le coffret SSTI pour SARM et SAMS + 1 série de dilution avec le coffret BC pour SARM et SAMS (pour SAMS uniquement à 10⁵ et 10⁴ UFC/mL)

Commentaire : En regardant attentivement les courbes d'amplification et les Ct obtenus avec le test Xpert SSTI et BC, nous améliorons les performances du test pour la détection du gène spa (« présence de S. aureus ») et diminuons la limite de détection.

Tableau F : Comparaison des résultats de la PCR Xpert SSTI pour différentes souches patient de SARM et SCNMR (expérience n°3) avec un volume de 1 mL ou 100 µL.

Quantité dans diluant	Souches testées	Nb UFC/mL	Interprétation système Xpert	Réinterprétation courbe spa
SARM				
1 mL	2 SARM	10 ⁵	2 positifs	2 positifs
1 mL	2 SARM	10 ⁴	2 positifs	2 positifs
1 mL	2 SARM	10 ³	2 positifs	2 positifs
1 mL	2 SARM	10 ²	2 négatifs	2 négatifs
SCNMR				
100 µL	2* SCNMR	10 ⁵	2 négatifs	2 négatifs
100 µL	2* SCNMR	10 ⁴	2 négatifs	2 négatifs
100 µL	1* SCNMR	10 ³	1 négatif	1 négatif
SCNMS				
100 L	3*SCNMS différent	10 ⁶	3 négatifs	3 négatifs

Commentaire : L'utilisation d'un volume de 1 mL permet à 10³ UFC/mL, l'interprétation positive du gène spa directement par le Système Xpert. Sur ces 2 essais, la limite de détection n'a pas atteint 10² UFC/mL, même en réinterprétant. Il est donc convenu, pour l'étude, d'utiliser un volume de 1 mL lorsque cela sera possible. Concernant la spécificité du test, nous avons montré que pour différentes souches de SCNMR et MS, le test ne détecte jamais la présence du gène spa. Ce test a donc une très bonne spécificité quel que soit le nb d'UFC/mL présent dans l'échantillon.

Résultats pour la détection des gènes mecA et SCC

Tableau G : Comparaison des résultats de la PCR Xpert SSTI et BC pour différentes souches patient de SARM et SAMS (expérience n°1) avec un volume de 100 µL.

Quantité dans diluant	Souches testées	Nb UFC/mL	Interprétation système Xpert	Réinterprétation courbe mecA et SCC
SARM				
100 µL	4* SARM	10 ⁴	4 positifs	4 positifs
100 µL	4* SARM	10 ³	1 positif (SSTI)/ 3 négatifs	3 positifs / 1 SCC+et mecA- (BC)
100 µL	4* SARM	10 ²	4 négatifs	4 négatifs
100 µL	4* SARM	10 ¹	4 négatifs	4 négatifs
SAMS				
100 µL	4* SAMS	10 ⁴	4 négatifs	4 négatifs
100 µL	4* SAMS	10 ³	4 négatifs	4 négatifs
100 µL	4* SAMS	10 ²	4 négatifs	4 négatifs
100 µL	4* SAMS	10 ¹	4 négatifs	4 négatifs

* 3 séries de dilutions avec le coffret SSTI pour SARM et SAMS +1 série de dilution avec le coffret BC pour SARM et SAMS

Tableau H : Comparaison des résultats de la PCR Xpert SSTI et BC pour différentes souches patient de SARM et SAMS (expérience n°2) avec un volume de 100 µL.

Quantité dans diluant	Souches testées	Nb UFC/mL	Interprétation système Xpert	Réinterprétation courbe <i>mecA</i> et SCC
SARM				
100 µL	2* SARM	10 ⁶	2 positifs	2 positifs
100 µL	2* SARM	10 ⁵	2 positifs	2 positifs
100 µL	2* SARM	10 ⁴	1 positif / 1 négatif	1 positif / 1 scc + et <i>mecA</i> - **
100 µL	2* SARM	10 ³	2 négatifs	2 négatifs
SAMS				
100 µL	1* SAMS	10 ⁶	1 négatif	1 <i>mecA</i> - et SCC+ (CT> 10 cycles de Spa) (SSTI)
100 µL	2* SAMS	10 ⁵	2 négatifs	2 négatifs
100 µL	2* SAMS	10 ⁴	2 négatifs	1 négatif / 1 <i>mecA</i> + SCC- (BC)
100 µL	1* SAMS	10 ³	1 négatif	1 négatif

* 1 série de dilutions avec le coffret SSTI pour SARM et SAMS + 1 série de dilution avec le coffret BC pour SARM et SAMS (pour SAMS uniquement à 10⁵ et 10⁴ UFC/mL)

** Il s'agit de la même situation que le cas décrit au-dessus.

*Commentaire : En regardant attentivement les courbes d'amplification et les Ct obtenus avec le test Xpert SSTI et BC, nous améliorons les performances du test pour la détection des gènes *mecA* et SCC (« présence de la résistance à la pénicilline ») et diminuons la limite de détection. Mais dans certains cas, seule la cassette SCC est détectée. Pour la détection de SCC et de *mecA* chez des SAMS, nous avons conclu qu'il s'agissait probablement d'une contamination, ou de signaux non spécifiques.*

Tableau I : Comparaison des résultats de la PCR Xpert SSTI pour différentes souches patient de SARM et SCNMR (expérience n°3) avec un volume de 1 mL ou de 100 µL.

Quantité dans diluant	Souches testées	Nb UFC/mL	Interprétation système Xpert	Réinterprétation courbe <i>mecA</i> et SCC
SARM				
1 mL	2 SARM	10 ⁵	2 positifs	2 positifs
1 mL	2 SARM	10 ⁴	2 positifs	2 positifs
1 mL	2 SARM	10 ³	1 positif / 1 négatif	2 positifs
1 mL	2 SARM	10 ²	2 négatifs	2 négatifs
SCNMR				
100 µL	2* SCNMR	10 ⁵	2 négatifs	2 positifs <i>mecA</i> +
100 µL	2* SCNMR	10 ⁴	2 négatifs	1 négatif / 1 positif <i>mecA</i> +
100 µL	1* SCNMR	10 ³	1 négatif	1 positif <i>mecA</i> +
SCNMS				
100 µL	3*SCNMS différents	10 ⁶	3 négatifs	3 négatifs

Tableau J : Comparaison des résultats de la PCR Xpert SSTI pour différentes souches patient de SCNMR (expérience n°4) avec un volume de 100 µL.

Quantité dans diluant	Souches testées	Nb UFC/mL	Interprétation système Xpert	Réinterprétation courbe <i>mecA</i> et SCC
SCNMR				
100 µL	7 * SCNMR	10 ⁵	4 négatifs	4 positifs <i>mecA</i> +
100 µL	6* SCNMR	10 ⁴	4 négatifs	4 positifs <i>mecA</i> +
SCNMS				
1 mL	4* SCNMS	10 ⁶	4 négatifs	4 négatifs

*Commentaire : L'utilisation d'un volume de 1 mL permet d'abaisser la limite de détection à 10³ UFC/mL mais pas à 10² UFC/mL. Il est donc convenu, pour l'étude, d'utiliser un volume de 1 mL lorsque cela sera possible. Concernant la sensibilité du test, nous avons montré que pour différentes souches de SCNMR, le test est capable de détecter la présence du gène *mecA*. Ce test a donc une très bonne sensibilité pour la détection de la résistance à la pénicilline, à la fois pour les souches de *S. aureus* et de SCN.*

Nous avons ensuite calculé les différences des Ct obtenues entre les 3 gènes détectés (boîte à moustache). Nous avons considéré tous les cas où les Ct étaient positifs même en dehors du cut-off fixé par le système Xpert. L'objectif était d'observer l'écart entre les Ct et de voir si un écart important pouvait nous aider dans l'interprétation (une possible contamination en cas d'écart important).

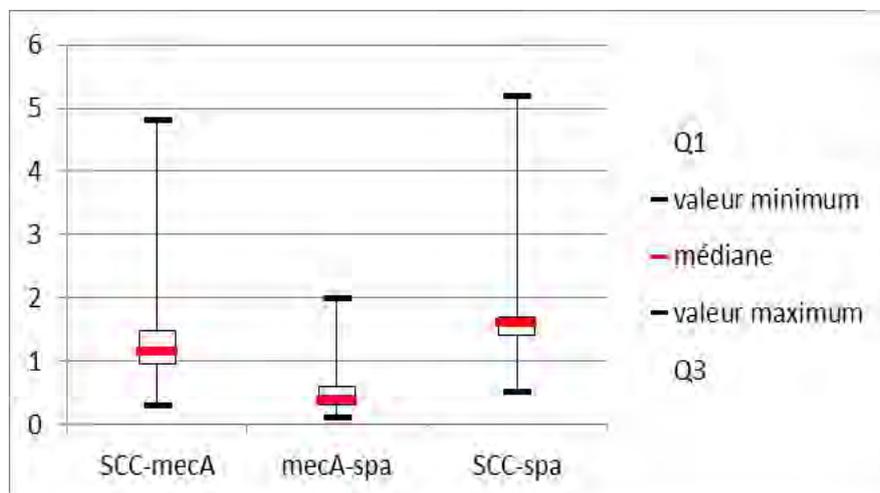


Figure A : Ecart de Ct entre les différents gènes détectés.

Ce graphique a été réalisé à partir des tests pour lesquels nous avons les 3 gènes détectés positifs.

Le gène *mecA* est sorti avant le gène *spa* 16 fois sur 18 et 17 fois sur 18 avant le gène *SCC*. Le gène *spa* est toujours sorti avant *SCC*. La médiane pour les 3 différences de Ct est respectivement de 1,15, 0,4 et de 1,6. Les maxima pour *SCC-mecA* et *SCC-spa* sont de 4,8 et de 5,2 et correspondent au même cas ; *SCC* était sorti

en dehors de son cut-off à 38,4. Au total dans 3 cas, nous avons un écart > 2 Ct, dans les trois cas la cassette SCC était autour du cut-off (37, 37,2 et 38,4).

En conclusion, l'écart de détection entre *spa* et *mecA* permet de suspecter la présence d'un *S. aureus* métiS et d'un SCN métiR en cas d'écart > 2 Ct. Le gène SCC semble toujours sortir plus tardivement que les deux autres.

SENSIBILITE et SPECIFICITE DIAGNOSTIC (étude expérimentale indispensable en portée B) (étude expérimentale possible si pertinente en portée A) Applicable <input type="checkbox"/> ; non applicable <input type="checkbox"/> (inclure plus de patients pour conclure)		
Vrais positifs : 5	Sb	0,71
Faux positifs : 0	Sp	1,00
Vrais négatifs : 5	VPP	1,00
Faux négatifs : 2	VPN	0,71

Commentaires :

D'après l'étude expérimentale :

- très bonne spécificité (100 %) : absence de détection du gène *spa* pour toutes les souches de SCN testées et absence de détection des gènes *mecA* et *SCC* pour toutes les souches MS testées ;
- Pour l'instant (inclusion de 12 patients), la sensibilité semble insuffisante : 71%
- L'objectif était surtout d'avoir une VPN de 100% ce qui n'a pas été atteint à ce stade des inclusions.

Dans le tableau ci-dessus, pour le calcul de la sensibilité, spécificité, VPP et VPN, nous avons utilisé les résultats obtenus pour les 12 patients inclus dans l'étude à la date du 09/03/2015. La culture est considérée comme le « Gold Standard ». Tous les patients inclus ont une méningite clinique et/ou radiologique.

Dans ce cas, les non malades sont les patients dont la culture est négative à Staphylocoque (ou seulement positive à SCNMS) mais pouvant être positive à une autre bactérie et les malades sont les patients dont la culture est positive à *Staphylococcus aureus* métiS ou métiR et Staphylocoque à coagulase négative métiR. Ainsi, nous avons défini :

- **Les vrais positifs (n=5)** : Un patient avait une culture positive à *S. epidermidis* métiR de façon abondante (>10⁷) et aussi à *Acinetobacter baumannii* de façon peu abondante (Ct *mecA* : 26,2). Un patient avait une culture positive à *S. epidermidis* métiR de façon abondante (>10⁷) (Ct *mecA* : 16,9). Un patient avait une culture positive à *S. aureus* sensible à la pénicilline (Ct *spa* : 25,1). Deux patients avaient une culture positive à *S. epidermidis* métiR de façon moyennement abondante. (Ct *mecA* : 26,2, Ct *mecA* : 37,2)

- **Les vrais négatifs (n=5)** : 1 patient avait une culture positive à *Bacillus simplex* très peu abondante et les 4 autres patients avaient un LCR stérile.

- **Les faux négatifs (n=2)** : 1 patient avait une culture positive à *S. haemolyticus* métiR peu abondante et *Acinetobacter baumannii* très peu abondante. Un patient avait une culture à *S. epidermidis* métiR. Pour ce

patient, la PCR *mecA* n'a pas pu être réalisée sur le LCR de bactériologie (il n'y avait plus de prélèvement) mais sur le LCR de cytologie (à 100 µL et 200 µL). La PCR s'est révélée négative, toutefois la culture sur le LCR de cytologie (réalisé en parallèle de la PCR) était aussi négative. Cependant, le test de biologie moléculaire Genotype MRSA (Hain LifeScience) a retrouvé un *S. epidermidis* *métiR* (bande faiblement positive).

Caractéristiques biochimiques des LCR des patients inclus dans l'étude

	CELL INDEX	Protéïnorachie	Lactates
valeur minimum	1,75	0,20	3,15
Q1	5,97	0,41	5,57
Médiane	1920,9	1,07	6,59
Q3	8472,45	3,32	8,76
valeur maximum	52408,14	10,70	16,60

INTERFERENCES (étude expérimentale indispensable en portée B) Applicable <input checked="" type="checkbox"/> ; non applicable <input type="checkbox"/>	
Interférences (données fournisseur)	SSTI : Une inhibition du test MRSA/SA SSTI a été observée avec les substances suivantes : StaphA +Septic (5 % m/v), hydrocortisone (5 % m/v) et désinfectant antibactérien pour les mains (5 % m/v). (manuel fournisseur, rubrique « substances parasites »). La présence de sang n'affecte pas les performances du test (manuel fournisseur). BC : aucune interférence avec le sang (manuel fournisseur, rubrique « substances parasites »)
Conclusion	Les LCR hémorragiques n'ont pas été inclus dans le poolage des LCR de la validation de méthode pour éviter de fausser l'ensemble des résultats en cas d'interférence. Tous les LCR ont été inclus dans l'étude, y compris les hématiques/hémorragiques.

Parmi les 5 LCR d'aspect hématiques (les 5 tests ont fonctionnés) :

- 3 étaient négatifs en culture (*sauf 1 à Bacillus simplex*) et en PCR
- 1 était positif en culture et PCR
- Parmi les 2 faux négatifs, aucun n'était hématique
- 1 était positif en culture et PCR mais était en erreur avec 1000 µL et a été retesté avec 500 µL

A noter aussi qu'un patient qui n'a pas pu être inclus dans l'étude avait aussi un LCR en erreur et il était hématique. Il ne restait pas assez de LCR pour refaire le test.

Ne pouvant exclure que la présence d'hématies est la cause des 2 tests en erreur, il sera proposé de refaire des tests de surcharge sanguine, si l'étude expérimentale se poursuit.

CONTAMINATION (étude expérimentale indispensable en portée B) (étude expérimentale possible si pertinente en portée A pour les paramètres sensibles) Applicable <input type="checkbox"/> ; non applicable <input checked="" type="checkbox"/>	
Inter échantillon pour les paramètres sensibles	Ce test étant un test unitaire (1 cartouche / patient) et chaque module étant indépendant, il a été défini qu'il n'y avait pas de risques de contamination inter échantillons
Inter réactif si nécessaire	Tous les réactifs sont embarqués dans la cartouche. Avant le début de la réaction PCR, le système procède à un contrôle de la sonde à la fois sur les cibles et sur le SPC/IC pour vérifier la réhydratation des billes de réactifs et le remplissage du tube de réaction. En cas de contamination inter-réactif, le test sera stoppé et un message d'erreur sera rendu. (manuel d'utilisation).

ROBUSTESSE (étude expérimentale indispensable en portée B) (étude expérimentale possible si pertinente en portée A pour les paramètres sensibles) Applicable <input checked="" type="checkbox"/> ; non applicable <input type="checkbox"/>	
Paramètres sensibles testés (t°, pH, position sur un support, ...)	Conserver les cartouches et les réactifs du test Xpert MRSA/SA SSTI et Xpert MRSA/SA BC à une température comprise entre 2 et 28 °C. Ne pas utiliser les réactifs ou les cartouches dont la date d'expiration est dépassée. N'utiliser aucun réactif devenu trouble ou décoloré. (manuel d'utilisation)
Stabilité des réactifs après ouverture, embarqués, ...	Ne pas ouvrir le couvercle de la cartouche avant d'être prêt à utiliser le test. Démarrer le test dans les 30 minutes suivant l'ouverture du couvercle de la cartouche (manuel d'utilisation)

VARIABILITE INTER-OPERATEURS Applicable <input type="checkbox"/> ; non applicable <input checked="" type="checkbox"/>	
Opérateur évalué 1	Test unitaire
Opérateur évalué 2	

Le test Xpert MRSA/SA SSTI (Cepheid) a montré de bonnes performances sur les LCR/LCD en terme de répétabilité, reproductibilité, et spécificité analytique. La limite de détection a été estimée à 10³ UFC/mL avec 100 µL (en réinterprétant les courbes), probablement un peu plus basse pour le gène *spa*. Un volume minimum de 100 µL est donc nécessaire. Dans le cas des liquides de dérivation, il est possible d'utiliser 1 mL (en enlevant dans ce cas 1 mL du tampon) pour augmenter la sensibilité.

Au total dans 3 cas, uniquement le gène *spa* et le gène *SCC* ont détecté autour du cut-off chez des souches de SARM lors de la validation de méthode, dont un cas considéré comme une contamination. L'écart entre les CT peut aider à l'interprétation de plusieurs souches dans l'échantillon.

En conclusion, le test Xpert MRSA/SA SSTI :

- peut détecter *spa* chez les *S. aureus* ; *SCC* et *mecA* chez les SARM et *mecA* chez les SCN sur la matrice LCR /LCD .
- a une limite de détection de l'ordre de 10³ UFC /mL.
- la sensibilité et la valeur prédictive négative semblent pour l'instant insuffisantes (mais seulement 12 patients inclus)

La mise en culture des LCR/LCD reste indispensable afin de confirmer la présence de SA/SCN, l'existence d'une résistance à la méticilline ; mais aussi pour obtenir un antibiogramme complet et détecter d'autres pathogènes.

Annexe A : Souches utilisées pour la validation de méthode

Expériences 1 et 2

SARM : souche patient n° molis : 4020 1649 (moxalactam: 15mm et céfoxitine: 15mm)

SAMS : Souche contrôle qualité **CIP 7625** (ATCC 25923) (diamètre céfoxitine : 28-35 mm)

Expérience 3

3 SCN métiS : souches patients (ces 3 souches ont été diluées à 10^6 UFC/mL) :

- n°MOLIS : 4033-1230 : *Staphylococcus capitis* (moxalactam 30 mm et céfoxitine : 30 mm)

- n°MOLIS : 4034-4752 : *Staphylococcus capitis* (moxalactam 24 mm et céfoxitine : 21 mm)

- n°MOLIS : 4032-0517 : *Staphylococcus epidermidis* (moxalactam 37 mm et céfoxitine 35 mm)

2 SCN métiR : souches patients (une à 10^5 , 10^4 , 10^3 UFC/mL et une à 10^5 , 10^4 UFC/mL)

- n°MOLIS : 4028-5251 : *Staphylococcus epidermidis* (moxalactam : 14 mm et céfoxitine : 14 mm)

- n°MOLIS : 4034-1375 : *Staphylococcus haemolyticus* (moxalactam : 7 mm et céfoxitine 7 mm)

2 SARM : souche patient (ces 2 souches ont été diluées à 10^5 , 10^4 , 10^3 , 10^2 UFC/mL)

- n°MOLIS : 4032-1333(moxalactam : 15 mm et céfoxitine 12 mm)

- n°MOLIS : 4036-4126 (moxalactam : 20 mm et céfoxitine :17 mm)

Expérience 4

4 SCN métiS souches patients (ces 4 souches a été diluées à 10^6 UFC/mL)

- n°MOLIS : 4344-1219 : *Staphylococcus caprae* (moxalactam : 31 mm et cefoxitine : 39 mm)

- n°MOLIS : 4344-4462 : *Staphylococcus epidermidis* (moxalactam : 32 mm et céfoxitine : 36 mm)

- n°MOLIS : 4345-2560 : *Staphylococcus epidermidis* (moxalactam : 31 mm et céfoxitine : 33 mm)

- n°MOLIS : 4345-3706 : *Staphylococcus epidermidis* (moxalactam : 30 mm et céfoxitine : 36 mm)

13 SCN métiR souches patients (souches 1 à 7 : dilutions à 10^5 / souches 8 à 13 : dilutions à 10^4 UFC/mL)

1) n°MOLIS : 4344-1342 : *Staphylococcus epidermidis* (moxalactam : 12 mm et céfoxitine : 23 mm)

2) n°MOLIS : 4344-1540 : *Staphylococcus epidermidis* (moxalactam : 13 mm et céfoxitine : 25 mm)

3) n°MOLIS : 4344-1488 : *Staphylococcus epidermidis* (moxalactam : 17 mm et céfoxitine : 22 mm)

4) n°MOLIS :4345-1619 : *Staphylococcus epidermidis* (moxalactam : 15 mm et céfoxitine : 19 mm)

5) n°MOLIS : 4345-4724 : *Staphylococcus epidermidis* (oxacilline : 24 mm et céfoxitine : 23 mm)

6) n°MOLIS :4331-4554_1 : *Staphylococcus epidermidis* (moxalactam/céfoxitine : R, Ø non précisé)

7) n°MOLIS :4331-4554_2 : *Staphylococcus haemolyticus* (moxalactam/céfoxitine : R, Ø non précisé)

8) n°MOLIS : 4346-1365 : *Staphylococcus epidermidis* (moxalactam : 15 mm et céfoxitine : 20 mm)

9) n°MOLIS : 4345-1937 : *Staphylococcus epidermidis* (moxalactam : 21 mm et céfoxitine : 26 mm)

10) n°MOLIS : 4346-2188 : *Staphylococcus epidermidis* (moxalactam : 13 mm et céfoxitine :17 mm)

11) n°MOLIS :4346-2297 : *Staphylococcus hominis* (moxalactam : 12 mm et céfoxitine :15 mm)

12) n°MOLIS :4347-1207 : *Staphylococcus epidermidis* (moxalactam : 20 mm et céfoxitine :22 mm)

13) n°MOLIS :4330-2178 :*Staphylococcus epidermidis* (moxalactam/céfoxitine : R, Ø non précisé)

Annexe B : Résultat des tests dans le système Xpert

Expérience 1

Dilution et test	Résultat	Technique	Statut	CT <i>mecA</i>	CT <i>SCC</i>	CT <i>spa</i>
R102L1	MRSA NÉGATIF SA NÉGATIF	Xpert MRSA-SA BC G3	Effectué	0	0	0
R103L1	MRSA NÉGATIF; SA NÉGATIF	Xpert MRSA-SA BC G3	Effectué	0	0	0
R104L1	MRSA NÉGATIF; SA POSITIF	Xpert MRSA-SA BC G3	Effectué		36.4	35.5
R105L1	MRSA POSITIF; SA POSITIF	Xpert MRSA-SA BC G3	Effectué	31.7	32.8	31.4
102L1	MRSA NÉGATIF; SA NÉGATIF	Xpert MRSA-SA BC G3	Effectué			
103L1	MRSA NÉGATIF; SA NÉGATIF	Xpert MRSA-SA BC G3	Effectué			
104L1	MRSA NÉGATIF; SA NÉGATIF	Xpert MRSA-SA BC G3	Effectué			
105L1	MRSA NÉGATIF; SA POSITIF	Xpert MRSA-SA BC G3	Effectué			30.2
LD POS 100 UL	MRSA NÉGATIF; SA POSITIF	Xpert MRSA-SA BC G3	Effectué			16.1
LD POS 10 UL	MRSA NÉGATIF; SA POSITIF	Xpert MRSA-SA BC G3	Effectué			21.3
LD POSITIF 100 UL	MRSA NÉGATIF; SA POSITIF	Xpert MRSA-SA SSTI G3	Effectué			16.7
R102L3	MRSA NÉGATIF; SA NÉGATIF	Xpert MRSA-SA SSTI G3	Effectué	0	0	0
Xpert M 012414153226	MRSA NÉGATIF; SA NÉGATIF	Xpert MRSA-SA SSTI G3	Effectué	0	0	0
R104L3	MRSA NÉGATIF; SA POSITIF	Xpert MRSA-SA SSTI G3	Effectué	36.1	36.5	35.7
R105L3	MRSA POSITIF; SA POSITIF	Xpert MRSA-SA SSTI G3	Effectué	31.6	32.7	31.3
R102L2	MRSA NÉGATIF; SA NÉGATIF	Xpert MRSA-SA SSTI G3	Effectué	0	0	39.5
R103L2	MRSA NÉGATIF; SA NÉGATIF	Xpert MRSA-SA SSTI G3	Effectué	0	0	36.7
R104L2	MRSA NÉGATIF; SA POSITIF	Xpert MRSA-SA SSTI G3	Effectué	33.6	38.4	33.2
R105L2	MRSA POSITIF; SA POSITIF	Xpert MRSA-SA SSTI G3	Effectué	30.7	31.9	30.1
R102L1	MRSA NÉGATIF; SA NÉGATIF	Xpert MRSA-SA SSTI G3	Effectué	0	0	0
R103L1	MRSA NÉGATIF; SA NÉGATIF	Xpert MRSA-SA SSTI G3	Effectué	0	0	39.5
R104L1	MRSA POSITIF; SA POSITIF	Xpert MRSA-SA SSTI G3	Effectué	33.3	34.8	33.2
R105L1	MRSA POSITIF; SA POSITIF	Xpert MRSA-SA SSTI G3	Effectué	31.3	32.2	30.9
102L2	MRSA NÉGATIF; SA NÉGATIF	Xpert MRSA-SA SSTI G3	Effectué			
103L2	MRSA NÉGATIF; SA NÉGATIF	Xpert MRSA-SA SSTI G3	Effectué			39

104L2	MRSA NÉGATIF; SA NÉGATIF	Xpert MRSA-SA SSTI G3	Effectué			
105L2	MRSA NÉGATIF; SA POSITIF	Xpert MRSA-SA SSTI G3	Effectué			30
102L3	MRSA NÉGATIF; SA NÉGATIF	Xpert MRSA-SA SSTI G3	Effectué			39.3
103L3	MRSA NÉGATIF; SA NÉGATIF	Xpert MRSA-SA SSTI G3	Effectué			37
104L3	MRSA NÉGATIF; SA POSITIF	Xpert MRSA-SA SSTI G3	Effectué			35.5
105L3	MRSA NÉGATIF; SA POSITIF	Xpert MRSA-SA SSTI G3	Effectué			28.1
102L1	MRSA NÉGATIF; SA NÉGATIF	Xpert MRSA-SA SSTI G3	Effectué			
103L1	MRSA NÉGATIF; SA NÉGATIF	Xpert MRSA-SA SSTI G3	Effectué			39.9
104L1	MRSA NÉGATIF; SA NÉGATIF	Xpert MRSA-SA SSTI G3	Effectué			36.9
105L1	MRSA NÉGATIF; SA POSITIF	Xpert MRSA-SA SSTI G3	Effectué			29.9

Expérience 2

Dilution et test	Résultat	Technique	Statut	CT <i>mecA</i>	CT SCC	CT <i>spa</i>
R103ED	MRSA NÉGATIF; SA NÉGATIF	Xpert MRSA-SA BC G3	Effectué			36.4
R104ED	ERREUR	Xpert MRSA-SA BC G3	Interrompu			
R105ED	MRSA POSITIF; SA POSITIF	Xpert MRSA-SA BC G3	Effectué	31.1	32.1	30.8
R106ED	MRSA POSITIF; SA POSITIF	Xpert MRSA-SA BC G3	Effectué	26.8	27.8	26.2
103ED	MRSA NÉGATIF; SA NÉGATIF	Xpert MRSA-SA SSTI G3	Effectué			
104ED	MRSA NÉGATIF; SA POSITIF	Xpert MRSA-SA SSTI G3	Effectué			33.7
105ED	MRSA NÉGATIF; SA POSITIF	Xpert MRSA-SA SSTI G3	Effectué			29.6
106ED	MRSA NÉGATIF; SA POSITIF	Xpert MRSA-SA SSTI G3	Effectué		36.5	26.1
R103ED	MRSA NÉGATIF; SA NÉGATIF	Xpert MRSA-SA SSTI G3	Effectué			
R104ED	MRSA POSITIF; SA POSITIF	Xpert MRSA-SA SSTI G3	Effectué	34.3	37	33.9
R106ED	MRSA POSITIF; SA POSITIF	Xpert MRSA-SA SSTI G3	Effectué	26.1	27.4	25.8
R105ED	MRSA POSITIF; SA POSITIF	Xpert MRSA-SA SSTI G3	Effectué	30.3	31.7	30.2
103ED	PAS DE RÉSULTAT	Xpert MRSA-SA BC G3	Interrompu			
104ED	MRSA NÉGATIF; SA POSITIF	Xpert MRSA-SA BC G3	Effectué	35.5		33.4
105ED	MRSA NÉGATIF SA POSITIF	Xpert MRSA-SA BC G3	Effectué			29.8
R104ED	MRSA NÉGATIF; SA POSITIF	Xpert MRSA-SA BC G3	Effectué		35.6	35

Expérience 3

Dilution et test	Résultat	Technique	Statut	CT <i>mecA</i>	CT SCC	CT <i>spa</i>
sbmr2 104	MRSA NÉGATIF; SA NÉGATIF	Xpert MRSA-SA SSTI G3	Effectué			
sbmr2105	MRSA NÉGATIF; SA NÉGATIF	Xpert MRSA-SA SSTI G3	Effectué	35.5		
SBMR1 103	MRSA NÉGATIF; SA NÉGATIF	Xpert MRSA-SA SSTI G3	Effectué	36.4		
SBMR1 104	MRSA NÉGATIF; SA NÉGATIF	Xpert MRSA-SA SSTI G3	Effectué	32.7		
SBMR1 105	MRSA NÉGATIF; SA NÉGATIF	Xpert MRSA-SA SSTI G3	Effectué	29.3		
SBMS3 106	MRSA NÉGATIF; SA NÉGATIF	Xpert MRSA-SA SSTI G3	Effectué			
SBMS2 106	MRSA NÉGATIF; SA NÉGATIF	Xpert MRSA-SA SSTI G3	Effectué			
SBMS 106	MRSA NÉGATIF; SA NÉGATIF	Xpert MRSA-SA SSTI G3	Effectué			
1ML SARM1 102	MRSA NÉGATIF; SA NÉGATIF	Xpert MRSA-SA SSTI G3	Effectué			
1ML SARM1 103	MRSA NÉGATIF; SA POSITIF	Xpert MRSA-SA SSTI G3	Effectué	36.6	36.3	34.7
1ML SARM1 104	MRSA POSITIF; SA POSITIF	Xpert MRSA-SA SSTI G3	Effectué	33.5	37.2	35.5
1ML SARM1 105	MRSA POSITIF; SA POSITIF	Xpert MRSA-SA SSTI G3	Effectué	29.1	30.4	28.6
1ML SARM2 102	MRSA NÉGATIF; SA NÉGATIF	Xpert MRSA-SA SSTI G3	Effectué			
1ML SARM2 103	MRSA POSITIF; SA POSITIF	Xpert MRSA-SA SSTI G3	Effectué	34.9	35.3	35.8
1ML SARM2 104	MRSA POSITIF; SA POSITIF	Xpert MRSA-SA SSTI G3	Effectué	31.2	32.1	30.4
1ML SARM1 105	MRSA POSITIF; SA POSITIF	Xpert MRSA-SA SSTI G3	Effectué	27.1	28.6	27

Expérience 4

n°MOLIS	Dilution et test	Résultat	Technique	CT <i>mecA</i>	CT SCC	CT <i>spa</i>
43462297	SCNMR 104 100UL	MRSA NÉGATIF; SA NÉGATIF	Xpert MRSA-SA SSTI G3	33,2	0	0
43302178	SCNMR 104 100UL	MRSA NÉGATIF; SA NÉGATIF	Xpert MRSA-SA SSTI G3	33,4	0	0
43314554_2	SCNMR 105 100UL	MRSA NÉGATIF; SA NÉGATIF	Xpert MRSA-SA SSTI G3	33,4	0	0
43314554_1	SCNMR 105 100UL	MRSA NÉGATIF; SA NÉGATIF	Xpert MRSA-SA SSTI G3	30,6	0	0
43461365	SCNMR 104 100UL	MRSA NÉGATIF; SA NÉGATIF	Xpert MRSA-SA SSTI G3	34,6	0	0
43451937	SCNMR 104 100UL	MRSA NÉGATIF SA NÉGATIF	Xpert MRSA-SA SSTI G3	36,1	0	0
43471207	SCNMR 104 100UL	MRSA NÉGATIF; SA NÉGATIF	Xpert MRSA-SA SSTI G3	32,8	0	0
43472188	SCNMR 104 100UL	MRSA NÉGATIF ;SA NÉGATIF	Xpert MRSA-SA SSTI G3	34,4	0	0

43451488	SCNMR 105 100UL	MRSA NÉGATIF; SA NÉGATIF	Xpert MRSA-SA SSTI G3	29,3	0	0
43441342	SCNMR 105 100UL	MRSA NÉGATIF; SA NÉGATIF	Xpert MRSA-SA SSTI G3	29,6	0	0
43454724	SCNMR 105 100UL	MRSA NÉGATIF; SA NÉGATIF	Xpert MRSA-SA SSTI G3	33,3	0	0
43441540	SCNMR 105 100UL	MRSA NÉGATIF; SA NÉGATIF	Xpert MRSA-SA SSTI G3	29,7	0	0
43451619	SCNMR 105 100uL	MRSA NÉGATIF; SA NÉGATIF	Xpert MRSA-SA SSTI G3	30,6	0	0
43452560	SCNMS 105 1ML	MRSA NÉGATIF; SA NÉGATIF	Xpert MRSA-SA SSTI G3	0	0	0
43453706	SCNMS 105 1ML	MRSA NÉGATIF; SA NÉGATIF	Xpert MRSA-SA SSTI G3	0	0	0
43441219	SCNMS 105 1ML	MRSA NÉGATIF; SA NÉGATIF	Xpert MRSA-SA SSTI G3	0	0	0
43444462	SCNMS 105 1ML	MRSA NÉGATIF; SA NÉGATIF	Xpert MRSA-SA SSTI G3	0	0	0

5 DISCUSSION

5.1 EPIDEMIOLOGIE

5.1.1 LES MENINGITES

Les méningites nosocomiales sont des pathologies relativement fréquentes, en particulier en post-chirurgical ou lorsque du matériel (dérivation) est présent. Dans notre série, au CHU de Toulouse, pour la période 2008-2014, nous avons retrouvé une fréquence de 16,8% (ce qui est élevé par rapport aux données de la littérature). Cependant, nous ne sommes pas allés rechercher les arguments cliniques, radiologiques et biochimiques pour tous les patients pour lesquels un LCR positif avait été détecté. Ce nombre élevé prend donc en compte les bactéries considérées comme des contaminants, en l'absence d'arguments pour une méningite vraie.

L'épidémiologie des méningites nosocomiales en Neurochirurgie est variable dans la littérature selon le type d'infection (méningite post-opératoire, post-traumatique, liée à une dérivation...). Ainsi, *S. epidermidis* (70%) et *S. aureus* (10%) sont souvent considérées comme les bactéries principales retrouvées dans les ventriculo-méningites liés à la DVE (2/3 des cas),¹¹ puisqu'il s'agit de bactéries de la flore cutanée. Dans notre étude, les Staphylocoques sont retrouvés dans environ la moitié des cas (SCN 44% et *S. aureus* 8%). De façon assez surprenante, *S. aureus* est peu fréquemment impliqué dans les méningites nosocomiales (aucune souche en 2013). Ce nombre important d'infections à SCN est aussi retrouvée par De Bels *et al.* dans les méningites nosocomiales post-chirurgicales de l'adulte, avec une fréquence variable selon la présence (41,5%) ou non de matériel (64,6%). Le pourcentage encore plus élevé de *S. epidermidis* dans l'étude de Beer *et al.*¹¹ (et sans aucune autre espèce de SCN) est probablement dû au fait que seules les vraies méningites et uniquement celles liées à la DVE ont été prises en compte. Dans notre étude, tous les types de méningites ont été intégrés, sans renseignement sur leur nature et sur la présence ou non de matériel. De plus, comme souligné en préambule, il est probable que certains SCN soient des contaminations (nous avons vu que c'était le cas pour certains des SCN ayant poussé après 72h). Un argument de plus en faveur de ce « caractère de contaminant » est le fait que 14,8% des SCN ont été rendus sans indication de l'espèce (ce qui est le cas quand il s'agit d'une probable contamination). En regardant plus attentivement parmi les bactéries dont le temps de pousse était supérieur à 72h, l'espèce *S. epidermidis* n'était retrouvée qu'une fois, alors qu'au total elle représente plus de 57% des SCN découverts. **Cela pourrait suggérer que les autres espèces de SCN, largement minoritaires, sont peut être à considérer comme des contaminants, tout au moins lorsque le temps de pousse est supérieur à 72h.**

En ce qui concerne les infections à bacilles à Gram négatif, les plus communément retrouvés sont les Entérobactéries, *Pseudomonas aeruginosa* et parfois *Acinetobacter spp* (augmentation des cas d'infections à *Acinetobacter spp.* en 2014, conséquence d'une épidémie durant l'été 2014). Dans littérature, quand il

s'agit de méningites ou infections liées à la DVE, les bacilles à Gram négatif sont peu fréquents (entre 0 et 10%).^{11,98} Il est intéressant de noter, toutefois, que chez nos 17 patients atteints de méningites à Entérobactéries, 13 avaient une DVE au moment de leur infection et ceux dont la DVE a été mise en culture, cette culture était aussi positive. Toutes les cultures de bacilles à Gram négatif ont poussé en moins de 72h. **Cela nous permet de proposer, en cas de culture stérile à 72h, une reconsidération de l'antibiothérapie probabiliste sur des arguments autres que bactériologiques.**

De façon intéressante, parmi les autres germes retrouvés, nous avons obtenu 11% de prélèvements positifs à de *P. acnes*. *P. acnes* est connu comme bactérie commensale de la flore cutanée, vivant au niveau des glandes sébacées, plutôt au niveau du tiers supérieur du corps. C'est un pathogène opportuniste bien connu pour sa capacité à coloniser les matériels implantés (cathéter, prothèse, dérivation) et à y former un biofilm. Cependant, étant un commensal de la flore cutanée, il est souvent difficile de différencier colonisation, contamination ou véritable infection. En regardant plus attentivement les cas d'isolement de *P. acnes*, nous avons constaté que cela correspond en réalité à 2,7% des cas en considérant uniquement les 6 cas vrais d'infections. (Un quart des isollements seulement correspondait à une vraie infection) Cette valeur est bien inférieure à 14,6%, valeur retrouvée par Thompson et Albright²⁹ pour les infections de dérivations du LCR par *P. acnes*. Ces infections sont peut être sous diagnostiquées dans certaines études car la culture est difficile et doit être observée jusque 14 jours²⁹ (ce qui est fait actuellement dans notre laboratoire). Korinek *et al.* ont retrouvé 4 infections sur 81 à *P. acnes* en post craniotomie, soit 4,9% ce qui est plus proche de notre résultat (le contexte de l'étude était aussi plus proche du nôtre). **Ainsi, pour *P. acnes*, comme pour la plupart des SCN, il est important de prendre en compte l'ensemble des arguments pour conclure au diagnostic de méningites, ces bactéries pouvant être de simples contaminants.**

Un des objectifs de notre étude était d'avoir une idée du pourcentage de souches résistantes nécessitant le recours à des antibiotiques de seconde ligne tels que le méropénème, la vancomycine ou le linézolide. Ainsi, pour les staphylocoques, nous avons montré que la majorité des souches de *S. aureus* étaient sensibles à la méticilline et à la fosfomycine. Concernant les SCN, plus de la moitié des souches sont méti-R et presque 40% sont résistantes à la fosfomycine. (mais seulement 16% des *S. epidermidis*) Cela a un impact direct sur l'antibiothérapie probabiliste, rendant inefficace la bi-thérapie céfotaxime-fosfomycine. Concernant la résistance à la vancomycine, de façon attendue, 44,8% des SCN ont une CMI ≥ 2 mg/L (essentiellement des *S. epidermidis*) et ces souches sont aussi métiR. Cela peut expliquer le recours au linézolide dans certains cas. Concernant la résistance des Entérobactéries dans les méningites, la moitié des souches d'*Enterobacter* exprimaient une céphalosporinase déréprimée ; une seule souche de *K. pneumoniae* était porteuse d'une BLSE. Ainsi, étant donné le faible nombre de patients atteints de méningites nosocomiales à Entérobactéries (2,1%), le recours au méropénème en systématique pour l'antibiothérapie probabiliste n'apparaît pas justifiée. Nous discuterons plus loin, avec l'étude des 17

patients, des différentes propositions d'antibiothérapie probabiliste, en fonction du contexte et des antibiothérapies préalables.

De façon globale, les bactéries responsables de méningites nosocomiales sont peu résistantes aux antibiotiques. (en dehors des SCN résistants à la méticilline)

Concernant les caractères biochimiques, les résultats du CELL INDEX sont très variables pour les patients de notre étude. Ce CELL INDEX, selon Pfausler *et al.* permet de faire un diagnostic précoce de ventriculite en cas de drainage ventriculaire externe. Ici, nous avons calculé le CELL INDEX uniquement pour les cultures positives, ce qui explique les valeurs très élevées (>3000). Le diagnostic est normalement porté sur la cinétique de cet index et non sur une valeur brute. L'augmentation de ce rapport, grâce à des prélèvements quotidiens, permettrait de prédire une infection de DVE jusqu'à 3 jours avant l'apparition des bactéries. Dans plusieurs études, la première valeur du CELL INDEX considérée comme pathologique est au alentour de 5.^{11,36} Les valeurs de ce CELL INDEX ne sont pas différentes, dans notre série, en fonction de la bactérie responsable de la méningite (absence de différence significative) ; à part pour *P. acnes* pour lequel la valeur est nettement plus faible (27,1 vs. >3000). Cela pourrait s'expliquer par le rôle important de contaminant de cette bactérie. Dans l'étude prospective de Weisfelt *et al.*, sur 50 cas de méningites bactériennes nosocomiales chez l'adulte, la médiane des protéines du LCR et du ratio glycorachie/glycémie était respectivement de 2,5 (1,0-3,6) et de 0,29 (0,06-0,48) contre 2,35 (0,53-2,39) et 0,48 (0,32-0,66) dans notre étude. Le calcul du CELL INDEX n'était pas réalisé dans cette étude mais le compte des leucocytes (par mm³) avait une médiane de 4580 (1438-12150) avec 48% des prélèvements se situant entre 1 000 et 10 000. **La protéinorachie (plus élevée : >4 vs 1-2), la glycorachie (très faible : <0,1) et les lactates (très élevés : >10) dans les méningites à Entérobactéries (et à un moindre degré, à bacilles à Gram négatif non fermentants) pourrait aider à nous orienter vers cette étiologie avant même le résultat de la culture.** Cependant, notre série étant très petite, cette observation nécessite d'être confirmée sur un nombre plus important de patients. Ainsi, les dosages du lactate, des protéines et le rapport glycorachie/glycémie présente un réel intérêt. Pour les *SCN* et *P. acnes*, ces dosages sont moins altérés mais pourraient aider à l'interprétation pour déterminer si il s'agit bien d'une véritable infection. Ainsi, parmi les 6 cas d'infections vraies à *P. acnes*, pour 3, le dosage des lactates était supérieur au seuil de 3,9 mmol/L. Pour cette bactérie, il est reconnu que les infections de dérivation sont généralement peu parlantes et avec une CRP sérique normale. Les patients présentent une faible numération leucocytaire initiale, un pic élevé du pourcentage d'éosinophile, et des valeurs de glycorachie et protéinorachie relativement normales. Dans notre étude, les patients avaient un CELL INDEX plus faible qu'avec les autres bactéries, aucun n'avait une éosinophilie, et la protéinorachie et le rapport glycorachie/glycémie étaient effectivement peu modifiés. **Ainsi, la culture reste l'outil indispensable pour le diagnostic d'infections liée à une dérivation.**¹⁴ Six prélèvements sur 15 ont été considérés comme méningites,²⁹ contre 6 prélèvements sur 25 dans notre étude ; *P. acnes* voit donc son rôle confirmé, en tant que pathogène et aussi en tant que contaminant.

5.1.2 LES ABCES CEREBRAUX

27% des abcès cérébraux ont une culture mixte et 31% sont stériles avec des résultats similaires dans la littérature, respectivement de 14 à 29% (37% en métagénomique) et 9 à 63%.^{44, 48,49,50,102} Il semblerait que les abcès cérébraux nosocomiaux (post-chirurgicaux) soient plus souvent associés aux Entérobactéries.^{42,47-49} Dans notre série, les Entérobactéries sont autant présentes dans les infections plurimicrobiennes que monomicrobiennes. La série de Nathoo *et al.* (la plus importante reportée), a pourtant montré que pour la majorité des patients de Neurochirurgie, une seule bactérie était isolée, le plus souvent un bacille à Gram négatif. Les espèces les plus communément retrouvées sont *E. cloacae*, *E. aerogenes*, *E. coli*, *P. mirabilis*, *K. pneumoniae*. *Proteus mirabilis* serait l'Entérobactérie la plus communément isolée des infections otogéniques.⁴⁷ Ce sont les bactéries que nous avons aussi retrouvées. Parmi les autres bactéries, on retrouve *S. aureus*^{42,102} mais aussi *S. epidermidis*, et *Pseudomonas spp.*⁴² (et éventuellement *Streptococcus spp.* et *A. baumannii* selon l'épidémiologie locale.⁴⁹ Les bactéries pathogènes dans les abcès post-neurochirurgicaux sont reconnues pour être souvent des germes habitant habituellement dans le nasopharynx et le canal auditif externe.⁴⁹ Les streptocoques CIA ont une place majoritaire puisque présents dans environ 1/3 des cas dans notre étude, proportion équivalente à celle retrouvée dans 2 autres séries.^{102,103} Ils étaient présents dans un tiers des cas des infections monomicrobiennes et 6% des plurimicrobiennes. Il est possible que la différence importante entre les deux soit due à l'absence de croissance de certaines bactéries anaérobies ou autres germes à croissance difficile dans les infections appelées de ce fait « monomicrobienne ». Dans la littérature, les *Streptococcus du groupe milleri* sont retrouvés prédominants chez les patients avec une sinusite paranasale.⁴⁷ Masalma *et al.* retrouvent également plus souvent l'espèce *S. intermedius* (8 en culture, 11 en PCR) contre 2 *S. constellatus* et aucun *S. anginosus*. De plus, ils ont associé *S. intermedius* (ainsi que *Peptostreptococcus spp.*, *Fusobacterium spp.*, et 39% de bactéries non cultivables) dans un groupe où la plupart des patients ont souffert d'infections dentaires ou de sinusites et ont une infection plurimicrobienne. En analyse univariée, Masalma *et al.* ont trouvé une association entre les infections plurimicrobiennes et les bactéries suivantes : *Streptococcus spp.*, *Prevotella spp.*, *Peptostreptococcus spp.*, *Staphylococcus spp.*, *Campylobacter spp.*, *Fusobacterium spp.*, *Porphyromonas spp.*, d'autres anaérobies, *Mycoplasma faucium*, et d'autres bactéries non cultivables (P<0,02 pour tous les microorganismes). Dans notre série, nous avons également trouvé 1/3 des infections plurimicrobiennes positives à anaérobies (*Peptostreptococcus spp.*, *Fusobacterium spp.*, et *actinomyces spp.*). Masalma *et al.* Retrouvent, avec une méthode de séquençage multiple : *Mycoplasma spp.* dans 25% des cas et dans 4 cas sur 5 il faisait partie de la flore mixte de l'abcès et n'était pas détecté en séquençage direct; en culture nous n'avons jamais retrouvé ce pathogène (mais nous ne mettons pas en culture les prélèvements d'abcès cérébraux sur les milieux spécifiques nécessaires à la croissance des Mycoplasmes).

Les différences retrouvées dans l'épidémiologie entre les différentes études, et notre propre série, peuvent probablement s'expliquer par le fait que la proportion d'abcès classés par origine est différente selon les études, et que nous avons vu que les germes retrouvés sont différents selon le type d'abcès, comme montré par Mathisen *et al.*⁴²

Par comparaison aux méningites nosocomiales, les staphylocoques à coagulase négative n'ont pas une place très importante dans les abcès (nous avons retrouvé environ 4% de *S. epidermidis* comme Brouwer *et al.*⁴⁴,) sauf en cas d'infections mixtes, surtout post chirurgicales.^{42, 49} Nous avons aussi retrouvé 15% de *P. acnes*. Masalma *et al.* ont rapporté 4 cas sur 51 patients (7,8%) en culture monomicrobienne (et 1 patient uniquement en biologie moléculaire en plurimicrobien)⁴⁸ et Korinek *et al.* retrouvent *P. acnes* dans 1/3 des abcès-empyèmes en post crâniotomie.⁶

En conclusion, les bactéries retrouvées dans les abcès cérébraux sont différentes de celles retrouvées dans les méningites nosocomiales. La part des infections à bactéries anaérobies, à *Streptococcus* du groupe *milleri*, mais aussi à Entérobactéries (en particulier dans les abcès post-chirurgicaux) est beaucoup plus importante.

5.1.3 RESISTANCES RETROUVEES

5.1.3.1 CHEZ LES STAPHYLOCOQUES

Peu d'études ont détaillé les résistances retrouvées parmi l'ensemble de ces germes, ce qui permet pourtant de justifier le choix de l'antibiothérapie probabiliste dans l'unité de Neurochirurgie. Dans une étude de Korinek *et al.*, étudiant l'influence de l'antibioprophylaxie ; les bactéries retrouvées responsables de méningites sont surtout des germes non issus de la flore cutanée pour les patients ayant reçu des antibiotiques en prophylaxie et des germes cutanés chez les patients sans antibioprohylaxie. Le taux de mortalité est plus important dans les méningites causées par des germes non cutanés que dans celles liées aux microorganismes cutanés.¹⁰ L'absence de données sur la résistance dans la littérature nous a poussé à explorer cette donnée, afin d'avoir une idée plus précise de l'épidémiologie locale, au CHU de Toulouse.

Approximativement 70% des souches de *S. epidermidis* isolées dans l'environnement hospitalier ont acquis une résistance à la méticilline et la majorité d'entre elles sont aussi résistantes aux autres classes d'antibiotiques.⁹⁹ Dans notre étude, nous retrouvons sensiblement les mêmes résultats avec une **résistance à la méticilline à 66% chez *S. epidermidis***. Par contre, la résistance de *S. aureus* à la méticilline est passée de 24,5% en 2008 à 17,1% en 2013 selon l'InVS (elle était de 25,4% en chirurgie et 31,8% en réanimation en 2012). Dans notre étude, peu de souches de *S. aureus* ont été isolées dans les LCR/LCD, ce qui rend difficile l'estimation de la résistance. Cependant, nous avons un taux de résistance à la méticilline légèrement plus faible avec une moyenne de **14,8% de SAMR** sur les 7 années consécutives et sur l'ensemble des prélèvements de neurochirurgie. Korinek *et al.*, dans l'étude des méningites nosocomiales après

crâniotomie constatent une prévalence moins importante de 9,47% (avec 27,27% des staphylocoques résistants à la méticilline)². Cette différence peut être due au fait que dans leur étude, la proportion totale des Staphylocoques est de 38,37% (contre 52% dans ce recueil).

Les résistances de *S. aureus* à la fosfomycine sont connues pour être faibles (<10% des souches). Entre 2002 et 2004 au CHU Henri Mondor, sur 3589 souches de *S. aureus*, 1,7% étaient résistantes, (4,7% pour les SARM contre 0,4% pour les SAMS).³ **Dans notre étude, une seule souche de *S. aureus* (il s'agissait d'un SARM) était résistante à la fosfomycine parmi celles responsables de méningites, et aucune parmi celles trouvées dans les prélèvements d'abcès d'empyèmes et de pus autres, soit au total moins de 1%. La résistance de *S. epidermidis* à la fosfomycine est de 15% dans notre étude.** Pour la résistance à la fosfomycine des SCN autres que *S. epidermidis*, les données retrouvés sont semblables à celles de la littérature, avec une résistance constante pour l'espèce *S. capitis* mais aussi *S. warneri* et *S. hominis* et très fréquente pour *S. haemolyticus*. En pratique, cette résistance peut ainsi être utile comme aide à l'identification. La détermination de l'activité *in vitro* de la fosfomycine est connue pour être délicate du fait de l'influence de nombreux facteurs extrinsèques et des conditions du test (antagonisée par la présence de glucose de phosphates ou de NaCl mais augmentée en cas de diminution du pH, de présence de sang humain ou d'addition de G6P). Ainsi, la concentration en G6P du milieu Mueller-Hinton (utilisé par la réalisation de l'antibiogramme) a été standardisée à 25 mg/L pour permettre une meilleure estimation d l'activité de l'antibiotique. En France, les concentrations critiques recommandées en 2014 sont toujours de 32 mg/L selon le CA-SFM 2014 et les diamètres restent à établir. Enfin, il est essentiel de rappeler que la résistance doit être homogène : la présence de micro-colonies dans la zone d'inhibition ne doit pas être prise en compte lors de l'interprétation (mutants sélectionnées *in vitro*).

5.1.3.2 CHEZ LES BACILLES A GRAM NEGATIF

Dans l'étude BMR Raisin de 2012, le nombre de cas incidents d'Entérobactéries BLSE était de 10778, dont 36% en médecine, 20% en chirurgie, 12% en réanimation. La proportion d'EBLSE était de 70% dans les urines, de 8% dans les hémocultures et de 5% dans les séreuses et les pus profonds. En 2012, *E. coli* était de loin la 1^{ère} espèce isolée parmi les EBLSE (59,2%) devant *K. pneumoniae* (20,2%). Dans notre étude, pour *K. pneumoniae*, 4 souches sur 10 (pus profonds autres+méningites+empyèmes+abcès cérébraux) étaient BLSE (soit 40% des souches), aucune n'était résistante aux carbapénèmes. La résistance de *E. coli* aux C3G est plus faible : nous avons retrouvé seulement 1 souche sur 26 BLSE (soit 3,8%) et aucune résistance aux carbapénèmes. Peu de données sont présentes dans la littérature concernant la fréquence et l'impact des bactéries productrices de céphalosporinases dérégimées (CEPD) (Entérobactéries du groupe 3) ou de céphalosporinases plasmidiques (Entérobactéries du groupe 1 ou 2). Dans notre étude, la moitié des enterobacter avaient une cephalosporinase, dont deux qui étaient sauvages au départ. Ces souches sont à prendre en compte pour la mise en place d'une antibiothérapie probabiliste, les C3G n'étant plus actives.

Selon l'InVS, sur l'année 2013, la résistance au *P. aeruginosa* à la ceftazidime (CMI>8 mg/L) est de 11,2%.¹⁰⁰ Aucune souche résistante à la ceftazidime n'a été obtenue dans notre étude. L'imperméabilité à l'imipénème touche environ 20 % des souches cliniques de *P. aeruginosa* isolées en France et s'explique le plus souvent (>90%) par une simple altération de la porine OprD, la voie de passage spécifique des carbapénèmes à travers la membrane externe.¹⁰¹ Dans notre étude, ces 2 types de résistance ont été observées seulement pour une souche sur 13 (environ 7,7%). La résistance ticarcilline/ticarcilline-acide clavulanique/aztréonam, qui correspond à une surexpression de la pompe d'efflux MexAB-OprM est retrouvée chez 17 à 23% des souches isolées.¹⁰¹ Dans notre étude, nous la retrouvons chez 8 souches sur 13 (61,5%, voir 11 sur 13 si on considère aussi les souches intermédiaires à l'aztréonam).

En ce qui concerne les abcès, seulement 4 souches (3 patients) étaient des BMR avec 2 SARM, 1 BLSE et 1 *Enterobacter cloacae* résistant aux C3G par une CEPD (sur 75 prélèvements). Pour ces 3 patients, il s'agissait d'abcès post-opératoire (crâniectomie). Trois autres patients avaient une souche de *S. epidermidis* résistant à la méticilline. Aucun Staphylocoque n'était résistant à la vancomycine. L'étude de Yang *et al.* sur les abcès post-chirurgicaux nosocomiaux retrouve peu de souches multirésistantes ; 4 souches sur 31 (13%) avec 2 *Enterobacter cloacae* résistant aux C3G et céfépime, 1 SARM et 1 *S.epidermidis* résistant à la méticilline.

En conclusion, la proportion des BMR (SARM, EBLSE, CEPD, *P. aeruginosa* résistant à la ceftazidime...) est faible (<6%), que ce soit dans les méningites nosocomiales ou les abcès cérébraux.

5.2 TRAITEMENT PROBABILISTE DES MENINGITES A ENTEROBACTERIES

Au vu de ces résultats, il semble qu'en cas de culture positive à Enterobactéries avec une céphalosporinase hyperproduite (ou de BLSE) un traitement en relais par méropénème soit le plus adapté. L'intérêt du méropénème est qu'il couvre l'ensemble des bacilles à Gram négatif (sauf des souches productrices de carbapénémase chez les Enterobactéries et avec imperméabilité pour *Pseudomonas*). Toutefois, il a été montré qu'il existait une hétérorésistance au méropénème, notamment sur des souches d'*Acinetobacter spp.* et que son utilisation pouvait sélectionner des souches de haute résistance. Dans le cas d'un LCR positif à *Acinetobacter spp.*, le laboratoire doit réaliser des CMI à la fois à l'imipénème et au méropénème (cela a été mis en place au laboratoire).¹⁰⁴

En ce qui concerne le céfépime, sa sensibilité *in vitro* est bien reconnue. Quelques études récentes^{105,106} montrent une efficacité clinique non inférieure aux carbapénèmes. Dans ces études il s'agit certes d'infections invasives mais autres que méningées. Dans la deuxième étude, il s'agit d'Entérobactéries du groupe 3 uniquement hyperproductrices de céphalosporinase avec en conclusion une utilisation possible du céfépime dans les infections invasives en particulier quand le contrôle de la porte d'entrée est obtenu. **Ainsi, le céfépime pourrait être une alternative aux carbapénèmes dans les infections à Entérobactéries productrices de CEPD ou de céphalosporinase plasmidique.**

Toutefois la question posée est de savoir si nous devons utiliser ces antibiotiques en probabiliste (dès le départ) dans ces infections, pour notamment couvrir les entérobactéries hyperproductrices de céphalosporinase. Nous avons vu plus haut que seulement 2% des patients prélevés suspectés de méningites étaient infectés à Entérobactéries avec qu'une seule souche BLSE. Par contre la moitié des souches retrouvées étaient des *Enterobacter* et environ une souche sur 2 exprimait une CEPD. De plus, nous avons vu que toutes les cultures étaient positives en 12-24h (sauf pour les prélèvements faits sous antibiothérapie). L'utilisation d'une nouvelle technique au laboratoire, la spectrométrie de masse permet maintenant une identification des bactéries dans la journée. Donc en pratique, une identification peut être rendue le jour même de la positivité de la culture. **Ainsi, le céfotaxime pourrait être maintenu en antibiothérapie probabiliste ; gardé ensuite en cas d'Entérobactéries autres que du groupe 3 (le plus souvent *E. coli*, *Proteus* ou *Klebsiella*), et un switch par méropénème ou céfépime proposé en cas d'Entérobactérie du groupe 3 (ou de bacilles à Gram négatif non fermentants).** Au total, en 24h, une identification peut être rendue puis en 48 h, une identification + un antibiogramme peuvent être rendus et en 72h si présence d'une bactérie BLSE ou CEPD (tests phénotypiques de confirmation) ; cela permet une réadaptation rapide du traitement antibiotique si nécessaire. Ainsi, le céfotaxime pourrait être arrêté en 24-48 h et le traitement réadapté.

Par ailleurs, au vu de nos résultats, si une antériorité récente d'infection ou de colonisation à *Enterobacter* dans les prélèvements respiratoires (et/ou les urines ?) est connue ou si un traitement par céfotaxime ou piperacilline-tazobactam a été administré dans le mois précédent, un traitement probabiliste par méropénème au lieu de cefotaxime est justifié.

Pour les méningites nosocomiales à Staphylocoques, nous avons constaté que peu de souches étaient résistantes à la fosfomycine (16% chez *S. epidermidis* et 1/17 pour *S.aureus*) et parmi les . En conséquence, le recours à la vancomycine ou au linézolide en antibiothérapie probabiliste ne semble pas justifié. **Comme pour les bacilles à Gram négatif, la majorité des souches responsables de méningites poussent en 24-48 h, ce qui permet une adaptation rapide de l'antibiothérapie initiale en cas de détection de résistances.**

Au final, le protocole suivant peut être proposé :

Traitement des méningites nosocomiales en Neurochirurgie :

1^{ère} intention : céfotaxime + fosfomycine

2^{ème} intention : méropénème si antériorité récente d'infection à *Enterobacter* (ou autre Entérobactérie du groupe 3) ou si traitement par C3G ou pipéracilline-tazobactam dans le mois précédent

Réévaluation à 24h (le lendemain de la date de la réalisation du prélèvement) :

- Si Entérobactéries du groupe 3 : remplacer par méropénème (ou céfépime). Il paraît risquer de laisser le céfotaxime même si la souche d'*Enterobacter* est de phénotype sauvage car il existe un risque de sélectionner un *Enterobacter* avec céphalosporinase dérégulée.

- Si Entérobactéries du groupe 1 ou 2 : laisser le céfotaxime (risque très faible de BLSE ou de céphalosporinase plasmidique)

Réévaluation à 48h :

- Si suspicion d'Entérobactéries BLSE ou confirmation d'une Entérobactérie du groupe 3 si non fait en 24h : remplacer céfotaxime par méropénème.

- Quelle que soit la bactérie : adaptation à l'antibiogramme.

Dans l'étude de Beer *et al.*, un algorithme pour le management des patients suspectés de ventriculite-méningite est proposé¹¹ (Figure 37). Le management prend en compte le changement ou non du cathéter, le type et la voie d'administration de l'antibiothérapie, basée sur le type de microorganismes suspectés et le profil de résistance et sur la durée de l'antibiothérapie. Dans la plupart des cas, le traitement est poursuivi pendant 15 jours mais quelques experts conseillent de réduire à 5-7 jours.¹¹ Selon leur expérience, le retrait ou le maintien du matériel est largement dépendant du type de microorganismes. Dans le cas de méningite causée par des bactéries à Gram négatif, le retrait et la réinsertion du cathéter de DVE associés à une antibiothérapie large spectre appropriée pendant 1 à 2 semaines sont largement recommandés depuis qu'il a été montré que les infections sur cathéters liées aux bacilles à Gram négatif étaient associées à une fréquence élevée de rechute si le cathéter était maintenu.

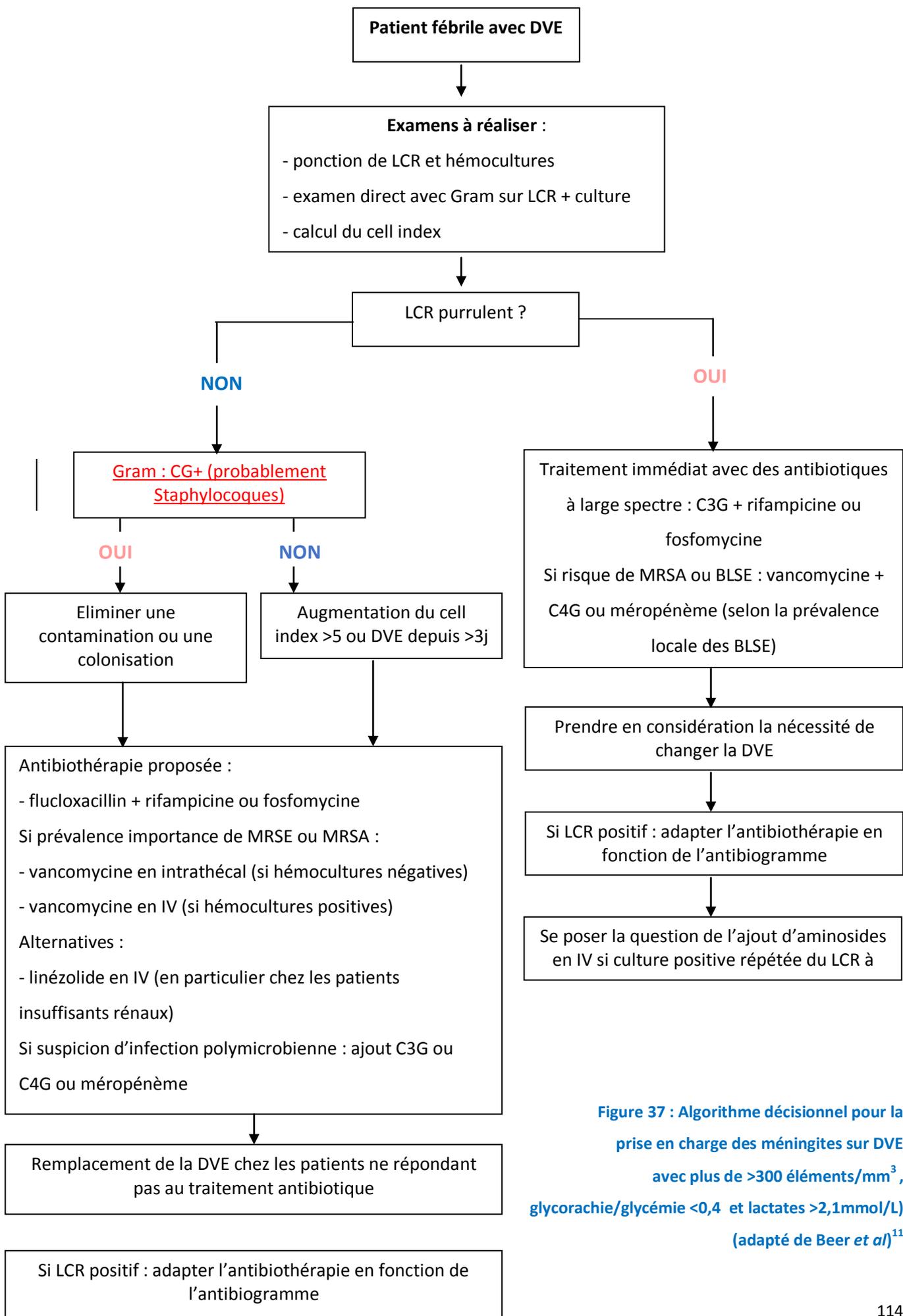


Figure 37 : Algorithme décisionnel pour la prise en charge des méningites sur DVE avec plus de >300 éléments/mm³, glycorachie/glycémie <0,4 et lactates >2,1mmol/L (adapté de Beer et al)¹¹

Enfin, en cas d'échec du traitement ou de bactéries multirésistantes, certains auteurs proposent de tester la synergie de deux antibiotiques en utilisant une technique simple, celle de la bandelette E-test avec l'aide de l'index fractionné de concentration inhibitrice (FICI). Sa formule est la suivante : (CMI de la fosfomycine en combinaison/CMI de la fosfomycine seule) + (CMI de l'autre antibiotique en combinaison/CMI de l'autre antibiotique seul). Une synergie est obtenue pour un FICI \leq 0,5, indifférence si FICI compris entre 0,5 et 4 et antagonisme si FICI $>$ 4.¹⁰⁷ Pour déterminer la CMI de l'antibiotique en combinaison, il faut croiser à 90 degrés, la bande E-test des 2 antibiotiques à tester au niveau de leur CMI prédéterminée pour chacun des isolats étudiés sur une gélose Muller Hinton, puis incuber 18H à 35 degré. La CMI de chaque antibiotique en association est interprétée comme la valeur à laquelle la zone d'inhibition intersecte la bande E test (Figure 38).

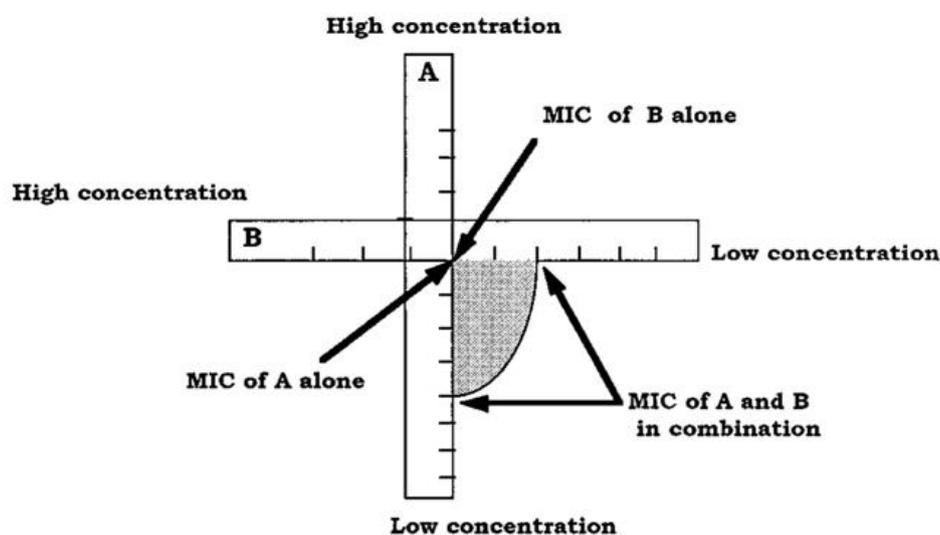


Figure 38 : Diagramme de placement des bandes pour la méthode de synergie par E test ⁵

Cette technique de synergie est peut être peu précise mais elle peut être cliniquement pertinente et facile à réaliser dans un laboratoire de Microbiologie mais des études supplémentaires devraient être réalisées pour affiner cette méthodologie.^{5,108}

Pour finir, quand faut-il considérer que la méningite est aseptique ? Les résultats de nos délais de pousse des différentes bactéries vont dans le sens d'un arrêt possible de l'antibiothérapie au bout de 72h, ce qui correspondrait à une méningite aseptique (la majorité des bactéries poussant au-delà de ce délai étant généralement des contaminants, à l'exception peut-être de *P. acnes*). Zarrouck *et al.*³⁵ ont montré, qu'on pouvait réduire la durée de l'antibiothérapie de 16 à 7 jours pour les patients avec une forme de méningite post-opératoire et de 11 à 3,5 jours pour les patients avec une méningite aseptique. En effet toutes les méningites aseptiques ont été guérites et le niveau de complication était très faible que la durée de traitement soit de 11 jours ou de 3,5 jours.

5.3 PCR SARM/SA XPERT

5.3.1 SENSIBILITE / SPECIFICITE

Nous l'avons vu dans notre étude épidémiologique, et dans la littérature, la plupart des bactéries des méningites nosocomiales ou des infections sur DVE sont de cultures faciles, la biologie moléculaire a un intérêt dans ce cas pour les patients sous antibiothérapie³⁹ et/ou pour détecter une résistance rapidement.

Dans le but d'effectuer un diagnostic rapide microbiologique sur les LCR en Neurochirurgie, une technique de biologie moléculaire spécifique automatisée, le système Xpert MRSA/SA SSTI (CEPHEID) a été proposé et évalué dans cette étude. En effet, nous l'avons vu dans la partie bibliographique, en ce qui concerne la PCR ciblant l'ARN 16S, sa réalisation prend beaucoup de temps au niveau analytique ce qui le rend impraticable au quotidien pour un diagnostic rapide et lorsqu'elle est positive, elle est parfois d'interprétation difficile. De plus, bien que cette technique puisse détecter toute bactérie (peu utile pour les méningites nosocomiales) sa sensibilité et spécificité sont plus faibles qu'une PCR spécifique et ne permet pas de détecter la résistance aux antibiotiques. Ainsi, la technique Xpert MRSA/SA SSTI peut présenter de nombreux avantages (rapidité, sensibilité, spécificité, facilité d'utilisation) dans ce contexte particulier. Cette technique n'avait cependant jamais été validée sur les LCR/LCD et n'était validée que pour la détection de la résistance à la méticilline chez *S. aureus* ; c'est ce que nous avons souhaité réaliser dans un 1^{er} temps dans ce travail.

Quelques données ont pu être collectées dans la littérature. Ainsi, une utilisation hors marquage CE du système Xpert ABG (Cepheid, US) basée sur une procédure modifiée, par la collecte de LCR avec un écouvillon stérile, puis en plaçant ce dernier dans la cartouche, a permis le diagnostic d'une méningite néonatale à *Streptococcus agalactiae* à début tardif (les hémocultures et la culture de LCR étaient négatives à cause du traitement empirique administré avant la réalisation du prélèvement).¹¹⁰ Les données sur LCR étaient peu nombreuses ; en revanche, plusieurs études^{111,112} avaient déjà validé la technique Xpert MRSA/SA SSTI pour la recherche de la résistance à la méticilline, pour des utilisations hors marquage CE, et également chez les SCN. Dubouix *et al.* ont ainsi testé cette technique sur des échantillons osseux péri-opératoires (135 patients) et ont trouvé pour les SAMS, SARM et SCNMR, une sensibilité et une spécificité de 100%/98,3%, 100%/100%, 100%/95,3%, respectivement. Aucune différence statistique avec la culture n'a été retrouvée ($p < 0,001$).¹¹² Titécat *et al.* ont évalué l'intérêt dans les infections articulaires, périprothétiques, chez 104 échantillons pour 30 patients, et ont retrouvé une sensibilité, une spécificité, une VPP et une VPN de respectivement 87,1%, 100%, 100%, and 94,5% pour les 104 échantillons et de 92,3%, 100%, 100%, 94,4% pour les 30 patients après réinterprétation des 9 résultats discordants. En effet, 4 faux négatifs ont été détectés, mais finalement pour deux, le gène *mecA* était bien présent mais avec un Ct en dehors de la limite d'interprétation de positivité du système Xpert. Les 5 faux positifs ont été

réinterprétés en 5 vrais positifs (en général parce que d'autres échantillons des patients étaient positifs à SMR). Avec le diagnostic rapide des SMR, l'utilisation de la vancomycine a pu être limitée à 17 patients (parmi les 30).¹¹¹

Dans notre étude (12 patients), nous avons retrouvé une sensibilité et une VPN de 71 %, et une spécificité et une VPP de 100%. Cependant, le calcul des performances du test est critiquable étant donné le faible nombre de patients inclus dans cette étude pour l'instant. Nous avons 2 faux négatifs dont un litigieux (gène *mecA* non détecté). En effet, pour un des cas nous n'avons plus assez de LCR de Bactériologie pour réaliser le test PCR et nous avons utilisé le LCR normalement réservé à la cytologie. La culture de ce LCR était aussi négative (alors qu'elle était positive avec le LCR de Bactériologie) mais un autre test PCR (GenoType MRSA, Hain LifeScience) était positif faiblement pour *S.epidermidis*. Nous avons ainsi considéré ce cas comme un faux négatif. Aucun cas de faux positifs n'a été détecté (comparaison avec la culture). Ceci est en particulier lié au fait qu'aucun patient n'était sous antibiotique avant le traitement, en effet les « faux positifs » de PCR par rapport à la culture, sont en général liés au traitement antibiotique antérieur au prélèvement qui ont négativé le résultat de culture.⁴¹

Les 4 patients positifs à *S. epidermidis* méti-R en culture et en PCR (gène *mecA*) avaient une charge bactérienne élevée pour 2 et moyennement élevée pour 2. Au contraire, le patient positif à *S. aureus* méti-S positif en culture et en PCR avait une charge bactérienne faible. Il est probable que le gène *spa* soit détecté plus souvent que le gène *mecA* et *SCC* dans le cas de culture quantitativement faible. Cette constatation a été faite aussi lors de la validation de méthode ou plusieurs cas de *S. aureus* métiS et métiR était positif uniquement pour le gène *spa* (à la limite ou au dessus du cut-off) à des concentrations allant de 10^1 à 10^3 UFC/mL. Les 2 patients positifs à *S. epidermidis* uniquement en culture, était rendu rare en culture. **En conclusion, il est nécessaire de poursuivre cette étude clinique afin d'avoir des arguments solides sur le réel apport de cette nouvelle technique dans la prise en charge des patients avec méningites nosocomiales à staphylocoques métiS ou métiR, car pour l'instant la VPN et la sensibilité semblent insuffisantes.** Les PCR ayant été réalisées parfois tardivement, elles n'ont pas permis d'améliorer le délai de diagnostic par rapport à la culture (positive en moins de 24h dans ces différents cas). La principale limite de cette étude pour l'instant, est bien sûr le nombre limité de patient inclus.

Pour augmenter la sensibilité, nous pourrions proposer d'incuber le LCR dans un milieu d'enrichissement tel que le bouillon thioglycolate en l'agitant pendant plusieurs heures (3-4 h) Toutefois, cette perspective n'a pas été testée, car dans l'objectif de réaliser ce test en routine, cette possibilité semble peu praticable et ferait perdre l'objectif premier qui est d'obtenir un résultat rapide.

5.3.2 ANALYSE DES CAS DE DISCORDANCES OBSERVEES LORS DE LA VALDATION DE METHODE REVELANT LA LIMITE DE LA TECHNIQUE

Les cas de discordances sont définis par une différence retrouvée entre le phénotype connu de la bactérie (métiS ou métiR) et le résultat de la PCR.

Lors des expérimentations 1 et 2 (Figure 39), 2 discordances surviennent à la dilution 10^3 (manip 1) et 10^4 (manip2) UFC/mL sur un SARM (coffret Xpert MRSA/SA BC). Dans les 2 cas, les gènes *SCCmec* et *spa* sont détectés positifs avec des valeurs de Ct respectivement de 36,4 et 35,5 dans un cas et des valeurs de Ct de 35,6 et de 35 dans le second cas. Le gène *mecA* est rendu négatif avec un Ct négatif les 2 fois. Il ne s'agit pas d'un variant à cassette vide puisque le phénotype connu est résistant et que à 10^5 UFC/mL et 10^4 UFC/mL le gène *mecA* était bien positif (Ct à 31,7 dans le cas 1 et à 31,1 dans le second cas). L'explication la plus probable est que nous sommes autour de la limite de sensibilité avec pour conséquence une absence de détection du gène *mecA*. Nous avons pourtant vu que dans 16 cas sur 18 le gène *mecA* sort avant le gène SCC. Une hypothèse possible sur cette constatation pourrait être le nombre de primers plus importants pour *SCCmec* (11) que pour *mecA* (2). Dans ce cas une accroche moins spécifique par les différents primers de *SCCmec* sur l'ADN cible pour une quantité faible d'ADN sera envisageable.

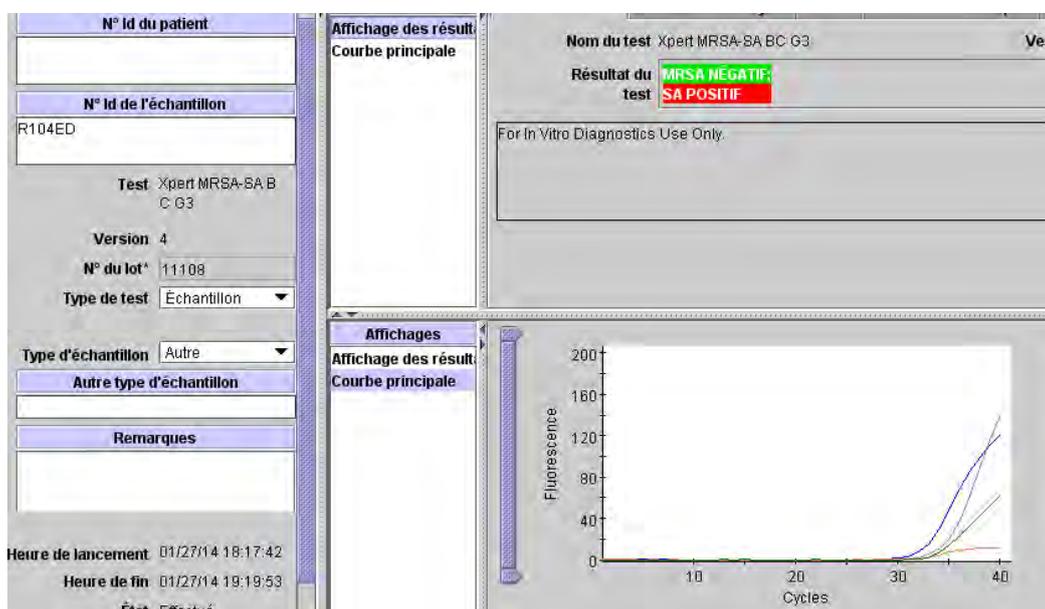


Figure 39 : cas de discordance n°1 avec une souche de SARM.

Toutefois en visualisant la courbe, on peut voir un début de courbe d'amplification pour le gène *mecA* (en rouge sur les courbes Figure 39). En pratique, dans un tel cas, la meilleure conduite à tenir semble d'avertir le clinicien sur la possibilité d'un SARM, et d'attendre le résultat de la culture. Un commentaire « Suspicion de SARM, à confirmer par détection phénotypique de la résistance à la métilcilline » pourrait accompagner le résultat de la PCR.

Trois autres cas similaires sont d'interprétations délicates (Figure 40). Il s'agit d'un SAMR (2 dilutions à 10^2 UFC/mL et 1 dilution à 10^1 UFC/mL). Seul, le gène *spa* était détecté. A 10^2 UCF/mL, les valeurs de Ct étaient de 39,5 et 36,7 et de 39,5 à 10^1 UCF/mL. Ni le gène *mecA* ni la cassette *SCCmec* n'étaient détectés alors que le phénotype était bien métIR. Ces valeurs de Ct pour le gène *spa* au dessus du cutt-off sont interprétées négatives par le système Xpert. Mais dans le cadre de notre étude il semble préférable d'accepter tous les Ct (d'autant mieux si on arrive à voir une inflexion de courbe) à fin d'augmenter la sensibilité. Là encore il semble qu'on observe un début de courbe pour *spa* (courbe bleu pâle sur la Figure 40).

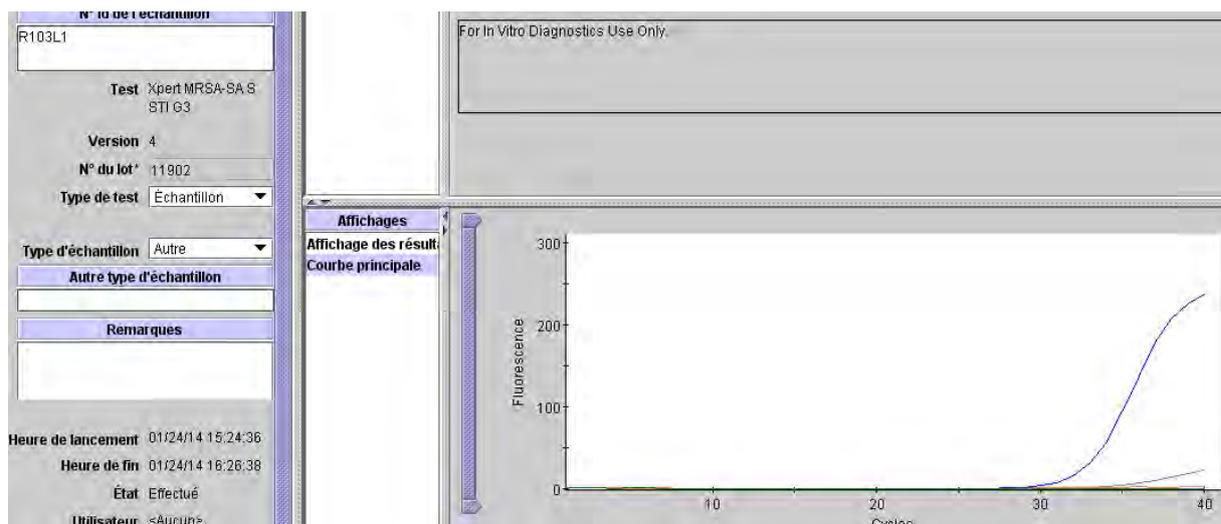


Figure 40 : Cas de discordance n°2 avec une souche de SARM.

L'ensemble de ces cas confirme la ligne de conduite suivante : autour de la limite de détection de la technique (déterminée entre 10^2 et 10^3 UCF/mL), quand le résultat de la détection d'un gène est positif avec un Ct autour de cut-off (déterminé par le fournisseur à 35 cycles), on peut le rendre positif (regarder si on distingue un début d'inflexion de la courbe d'amplification mais difficilement visible en pratique) mais on ne peut pas conclure sur l'absence des 2 autres gènes. **Dans une telle circonstance, l'interprétation doit être faite avec prudence et une culture est indispensable ; ce cas pouvant pourtant arriver pour les LCR dont la charge bactérienne est faible.** Dans le cas de l'étude, il n'y a eu aucune difficulté d'interprétation pour les 12 patients. Une aide à la validation technique a été rédigée et est disponible pour l'interprétation de ces cas difficiles (Annexe 5). Ce document a été validé par le fournisseur.

5.3.3 CAS DE DISCORDANCE DANS LA LITTÉRATURE : FAUX POSITIFS ET FAUX NEGATIFS

5.3.3.1 DIVERSITE GENETIQUE DE LA CASSETTE SCC

L'étude de Biendo *et al.* porte sur la valeur de l'analyse du système Xpert MRSA/SAXpert MRSA/SA Blood culture sur le système Xpert. Une culture a confirmé la mauvaise identification d'un SARM par le système Xpert comme une souche de SAMS. (une souche avec un phénotype SAMR et un génotype *spa+* ,

mecA+ mais *SCCmec*-). Les courbes de PCR montraient que le gène *spa* et le gène *mecA* étaient tous les deux détectés avec une valeur de Ct de 24,6 et 25,6 respectivement, mais le gène *SCCmec* avait un Ct égal à 0 et était rendu négatif.¹¹⁵ Contrairement aux cas de discordances de notre validation, nous n'étions pas ici à la limite de détection vu les valeurs des Ct. Etant donné le nombre important de cassettes *SCCmec* non typables et de nouveaux types de *SCCmec*, cela indique probablement un haut degré de diversité génétique parmi les *SCCmec* portés par les *Staphylococcus spp.*⁸⁷ De plus, plusieurs études ont montré un haut degré de variabilité observé dans la région spécifique d'intégration de *SCCmec* (*orfX*)⁸⁸ et un haut degré de diversité des différents types de *SCCmec* de *Staphylococcus spp.*; cela confirme la fréquente acquisition/perte de *SCCmec* par cette espèce.⁸⁴ Il est donc possible que ce taux élevé de recombinaison et d'acquisition de *SCCmec* dans cette espèce puissent générer des variations de la séquence cible de la PCR, qui expliquerait que la technique ne parviendrait pas à amplifier le gène correspondant. Une recommandation avait d'ailleurs été faite par le fabricant sur ces possibles faux négatifs (*spa*+ , *mecA*+ et *SCCmec*-, interprétés comme SAMS par le système Xpert) sur la réalisation en parallèle de la culture standard ainsi que la détermination de la résistance à la pénicilline par des méthodes phénotypiques.¹¹⁵ Aucun cas de ce type n'a pour l'instant été retrouvé dans notre étude.

5.3.3.2 CO-EXISTANCE DE DEUX SOUCHES

Dans l'étude de Biendo *et al.*,¹¹⁵ une autre souche était génotypiquement *spa*+ , *mecA*+ et *SCCmec*-. Les courbes de PCR montraient que le gène *spa* et le gène *mecA* étaient tous les deux détectés avec une valeur de Ct de 21,6 et 32 respectivement, mais le gène *SCCmec* avait un Ct égal à 0 et le système rendait le résultat suivant « MRSA-/SA+ ». Il a été confirmé qu'il s'agissait d'un SAMS en testant la sensibilité aux antibiotiques. La souche de SAMS était en fait accompagnée d'une souche de *S. epidermidis* métiR (détectée en culture ensuite). L'hémoculture fut considérée comme contaminée par cette souche. Cette discordance dans l'étude de Biendo *et al.*¹¹⁴ montre aussi **qu'un écart important des Ct entre les gènes peut être en faveur de la présence de 2 souches différentes dans le prélèvement. Cependant, il reste à déterminer de combien doit être l'écart entre les Ct pour montrer qu'il s'agit bien de 2 souches distinctes.** Dans notre étude, nous avons aussi retrouvé deux cas de contamination probable. Ces deux cas sont surlignés en orange dans le SH FORM (Tableau H)

Cas d'un SAMS contaminé par une souche de SARM :

Un SAMS dilué à 10⁶ UFC/mL avec le coffret SSTI pour lequel la valeur du CT est de 26.1 pour la protéine *Spa* mais on détecte aussi une cassette *SCC* avec une valeur de CT égal à 36.5. Il ne s'agit probablement pas d'un variant à cassette vide puisque la différence entre les CT (=10,4) est trop importante¹¹⁵. La cassette *SCC* n'a pas été détectée aux dilutions suivantes. L'explication la plus probable serait donc la contamination par un SARM (en quantité inférieur à celle du SAMS) dont nous aurions détecté uniquement la cassette *SCC* sans le gène *mecA* car nous sommes à la limite de la sensibilité.

Cas d'un SAMS contaminant par SCN méti-R :

Nous avons retrouvé un autre cas de discordance, le cas d'un SAMS dilué à 10^4 UFC/mL avec le coffret BC, pour lequel la valeur du CT est de 33.4 pour la protéine *spa* avec également une détection du gène *mecA* avec un CT de 35.5. Il ne peut s'agir que d'une contamination par un SCN résistant à la méticilline lors de cette dilution, puisqu'à 10^5 UFC/mL, aucun *mecA* n'était détecté et que la souche de *S.aureus* était phénotypiquement sensible. L'écart des cycles entre le gène *spa* du SAMS est faible (=2,1) puisque les CT sortent tardivement ce qui en pratique peut compliquer l'interprétation pour déterminer la présence de 2 souches différentes ou de contamination. Il faut noter que Biendo a utilisé le coffret BC pour lequel les valeurs des CT cut-off sont similaires pour les 3 analytes. Pour le coffret SSTI la valeur du CT cut-off de la cassette *SCCmec* est supérieur de 2 CT par rapport au gène *spa* et au gène *mecA*, ce qui peut expliquer probablement que les écarts de CT entre les analytes puissent être un peu supérieurs avec le coffret SSTI qu'avec le coffret BC, ce qui peut compliquer pour interpréter une souche comme contaminante. Les maxima constatés dans notre étude sont de 5,2 (Ct de *SCCmec* > 38) et de 3,7 (Ct de *SCC* < 38). Au total, dans 92,6% des cas la différence de Ct entre les analytes étaient inférieures à 2,1. Il sera nécessaire, si ce test devait être utilisé en routine, de définir cet écart de Ct entre *spa* et *mecA/SCCmec*, afin de faciliter l'interprétation.

5.3.3.3 VARIANT A CASSETTE VIDE

Un autre cas de discordance à envisager, serait la détection chez un *S. aureus* de phénotype sensible, de la protéine *spa* et de la cassette *SCCmec* sans détecter le gène *mecA*. Les régions ciblées du système Xpert MRSA sont les régions *orfX* et *SCCmec* qui sont normalement hautement conservées ; quelques souches de *S. aureus* et de *S. epidermidis* qui possèdent *SCCmec* peuvent perdre seulement la partie *mecA* par excision. Bien que la structure de base reste intacte, le gène *mecA* (1 kb sur les 23 à 56 kb de l'ADN qui constitue *SCCmec*) est perdu. Ainsi, la portion *mecA* de la cassette devient vide, au moins en ce qui concerne la capacité à conférer la résistance à la méticilline et donc ces souches sont sensibles à la méticilline puisqu'il leur manque le *mecA*¹⁰⁹ De telles souches sont appelées variants à « cassettes vides ». Une revue récente a montré que l'excision de la cassette *SCCmec* se produit à une fréquence extrêmement faible.¹¹⁷ La fréquence des variants à cassette vide varie selon les études de 3 à 12,9%.¹¹⁸⁻¹²⁰ En effet, des études ont montré que des souches de SAMS pouvaient provenir de souches de SARM à la fois *in vivo* et *in vitro* par la perte spontanée de *mecA*.^{109,118-126}

Un cas décrit par Ciardo *et al.* a montré que le screening par PCR Xpert a facilité la détection d'une souche instable de SARM en minimisant la pression de sélection additionnelle due à la perte de la cassette *SCCmec* par subcultures. Les tests de détection des résistances devraient donc être réalisés aussitôt que possible pour prévenir la perte de ces résistances. Mais La pertinence clinique des souches de SARM instables *in vitro* reste inconnue, de même que leur stabilité *in vivo*.¹²⁴

5.3.3.4 VARIANT DU GENE MECA

L'émergence d'un nouveau variant (*mecALGA251* ou *mecC*) soulève un certain nombre de questions. Tout d'abord, sa capacité de dissémination est inconnue. Les souches porteuses de ce gène doivent donc être étroitement surveillées. Un deuxième problème est posé par cette surveillance. En effet, bien que la résistance à la méticilline de ce variant soit détectée avec la méthode de diffusion (disques) recommandée par CA-SFM, les techniques de biologie moléculaire commerciales ne permettent pas toujours de le détecter de même que certaines techniques commerciales d'identification phénotypiques.⁹⁰ **Shore et al. ont ainsi démontré entre autres l'incapacité du système Xpert MRSA/SA SSTI à détecter les souches de *mecA* variants.**¹²³

En conclusion, l'ensemble des discordances observées, ainsi que les différents cas de faux positifs et faux négatifs rapportés dans la littérature, souligne l'importance d'une interprétation précautionneuse des résultats de PCR. L'inclusion d'un nombre plus important de patients dans cette étude devrait permettre d'affiner les critères d'interprétation, de faciliter le diagnostic et ainsi d'améliorer la prise en charge des patients.

6 CONCLUSION

Les objectifs de ce travail étaient triples.

Tout d'abord, nous souhaitions avoir une idée plus précise de l'épidémiologie des méningites nosocomiales et des abcès cérébraux pris en charge au sein des services de Neurochirurgie du CHU de Toulouse. Nous avons montré que l'épidémiologie était semblable à celle de la littérature, et surtout que la fréquence des BMR (SARM, BLSE, CEPD) était faible. Ainsi, le recours au méropénème, à la vancomycine ou au linézolide en antibiothérapie probabiliste ne nous est pas apparu justifié. Cependant, un switch par méropénème ou céfépime devrait être fait en 24h en présence d'une culture positive à Entérobactérie du groupe 3 et l'antibiothérapie réévaluée lorsque l'antibiogramme est disponible. Nous avons d'ailleurs montré dans cette étude que la réévaluation de l'antibiothérapie est bien effectuée à 72h, et à chaque fois qu'un matériel est présent, la question du retrait ou non est posée (avec la plupart du temps un retrait du matériel infecté). Le délai de pousse des bacilles à Gram négatif est toujours inférieur à 72h, et celui des cocci à Gram positif est souvent inférieur à 72h, ce qui est un argument pour stopper l'antibiothérapie après 72 h (diagnostic de méningite aseptique, en prenant en compte évidemment les arguments cliniques et radiologiques ; ainsi que la mise en place d'une antibiothérapie avant la réalisation du prélèvement. Le protocole d'antibiothérapie probabiliste proposé dans cette thèse a été présenté lors de la Commission des Anti-Infectieux (ComAI) de septembre 2014 et doit être validé.

Le second objectif était de valider (portée B) le test Xpert MRSA/SA SSTI dans les LCR/LCD, pour la détection de la résistance à la méticilline à la fois sur les *S. aureus* et les SCN. Nous avons montré que ce test a une limite de détection d'environ de 10^3 UFC/mL et qu'il nécessite un examen attentif des courbes d'amplification, avec parfois des difficultés d'interprétation pour les Ct autour ou au-delà du cut-off.

Le 3^{ème} objectif était d'évaluer l'apport de cette technique dans la réduction de l'utilisation de la vancomycine dans les méningites nosocomiales. Au vu du faible nombre de patients inclus pour l'instant, il est difficile de conclure. Cependant, la technique ne semble pour l'instant pas satisfaisante du fait d'un manque de sensibilité et surtout d'une valeur prédictive négative qui n'est que de 71%. Il est nécessaire d'inclure un plus grand nombre de patients afin d'évaluer l'impact réel de cette technique sur la prise en charge des patients.

BIBLIOGRAPHIE

- 1 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**: 989–95.
- 2 Tunkel AR, Hartman BJ, Kaplan SL, *et al.* Practice guidelines for the management of bacterial meningitis. *Clin Infect Dis Off Publ Infect Dis Soc Am* 2004; **39**: 1267–84.
- 3 Van de Beek D, Drake JM, Tunkel AR. Nosocomial bacterial meningitis. *N Engl J Med* 2010; **362**: 146–54.
- 4 Arlotti M, Grossi P, Pea F, *et al.* Consensus document on controversial issues for the treatment of infections of the central nervous system: bacterial brain abscesses. *Int J Infect Dis IJID Off Publ Int Soc Infect Dis* 2010; **14 Suppl 4**: S79–92.
- 5 White RL, Burgess DS, Manduru M, Bosso JA. Comparison of three different in vitro methods of detecting synergy: time-kill, checkerboard, and E test. *Antimicrob Agents Chemother* 1996; **40**: 1914–8.
- 6 Korinek A-M, Golmard J-L, Elcheick A, *et al.* Risk factors for neurosurgical site infections after craniotomy: a critical reappraisal of antibiotic prophylaxis on 4,578 patients. *Br J Neurosurg* 2005; **19**: 155–62.
- 7 B. Veber, F. Jégou, D. Jusserand. Infections neuroméningées post opératoires (SFAR). 2001. http://www.sfar.org/acta/dossier/archives/ca01/html/ca01_46/01_46.htm (accessed Sept 16, 2014).
- 8 McClelland S, Hall WA. Postoperative central nervous system infection: incidence and associated factors in 2111 neurosurgical procedures. *Clin Infect Dis Off Publ Infect Dis Soc Am* 2007; **45**: 55–9.
- 9 Blomstedt GC, Kytä J. Results of a randomized trial of vancomycin prophylaxis in craniotomy. *J Neurosurg* 1988; **69**: 216–20.
- 10 Korinek A-M, Bagnon T, Golmard J-L, van Effenterre R, Coriat P, Puybasset L. Risk factors for adult nosocomial meningitis after craniotomy: role of antibiotic prophylaxis. *Neurosurgery* 2008; **62 Suppl 2**: 532–9.
- 11 Beer R, Lackner P, Pfausler B, Schmutzhard E. Nosocomial ventriculitis and meningitis in neurocritical care patients. *J Neurol* 2008; **255**: 1617–24.
- 12 Lozier AP, Sciacca RR, Romagnoli MF, Connolly ES. Ventriculostomy-related infections: a critical review of the literature. *Neurosurgery* 2008; **62 Suppl 2**: 688–700.
- 13 Schade RP, Schinkel J, Visser LG, Van Dijk JMC, Voormolen JHC, Kuijper EJ. Bacterial meningitis caused by the use of ventricular or lumbar cerebrospinal fluid catheters. *J Neurosurg* 2005; **102**: 229–34.
- 14 Portillo ME, Corvec S, Borens O, Trampuz A. *Propionibacterium acnes*: an underestimated pathogen in implant-associated infections. *BioMed Res Int* 2013; **2013**: 804391.
- 15 Conen A, Walti LN, Merlo A, Fluckiger U, Battegay 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 Off Publ Infect Dis Soc Am* 2008; **47**: 73–82.
- 16 Vinchon M, Dhellemmes P. Cerebrospinal fluid shunt infection: risk factors and long-term follow-up. *Childs Nerv Syst ChNS Off J Int Soc Pediatr Neurosurg* 2006; **22**: 692–7.
- 17 Lozier AP, Sciacca RR, Romagnoli MF, Connolly ES Jr. Ventriculostomy-related infections: a critical review of the literature. *Neurosurgery* 2002; **51**: 170–81; discussion 181–2.
- 18 Wong GKC, Poon WS, Wai S, Yu LM, Lyon D, Lam JMK. Failure of regular external ventricular drain exchange to reduce cerebrospinal fluid infection: result of a randomised controlled trial. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 2002; **73**: 759–61.

- 19 Governale LS, Fein N, Logsdon J, Black PM. Techniques and complications of external lumbar drainage for normal pressure hydrocephalus. *Neurosurgery* 2008; **63**: 379–84; discussion 384.
- 20 Baltas I, Tsoulfa S, Sakellariou P, Vogas V, Fylaktakis M, Kondodimou A. Posttraumatic meningitis: bacteriology, hydrocephalus, and outcome. *Neurosurgery* 1994; **35**: 422–6; discussion 426–7.
- 21 Bullock MR, Chesnut R, Ghajar J, *et al.* Surgical management of depressed cranial fractures. *Neurosurgery* 2006; **58**: S56–60; discussion S1 – iv.
- 22 Baltas I, Tsoulfa S, Sakellariou P, Vogas V, Fylaktakis M, Kondodimou A. Posttraumatic meningitis: bacteriology, hydrocephalus, and outcome. *Neurosurgery* 1994; **35**: 422–6; discussion 426–7.
- 23 Choi D, Spann R. Traumatic cerebrospinal fluid leakage: risk factors and the use of prophylactic antibiotics. *Br J Neurosurg* 1996; **10**: 571–5.
- 24 Adriani KS, van de Beek D, Brouwer MC, Spanjaard L, de Gans J. Community-acquired recurrent bacterial meningitis in adults. *Clin Infect Dis Off Publ Infect Dis Soc Am* 2007; **45**: e46–51.
- 25 Baer ET, *Anesthesiology* 2006; 105:381–93. Post dural puncture bacterial meningitis. 2006. <http://ape.med.miami.edu/Doc/Resident%20Web%20Site%20Articles/Complications%20of%20regional%20anesthesia/post%20dural%20puncture%20bacterial%20meningitis%202006.pdf> (accessed Sept 16, 2014).
- 26 Vinchon M, Dhellemmes P. Cerebrospinal fluid shunt infection: risk factors and long-term follow-up. *Childs Nerv Syst ChNS Off J Int Soc Pediatr Neurosurg* 2006; **22**: 692–7.
- 27 Muttayyah S, Ritchie S, Upton A, Roberts S. Clinical parameters do not predict infection in patients with external ventricular drains: a retrospective observational study of daily cerebrospinal fluid analysis. *J Med Microbiol* 2008; **57**: 207–9.
- 28 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**: 71–8.
- 29 Thompson TP, Albright AL. *Propionibacterium* [correction of *Propionibacterium*] *acnes* infections of cerebrospinal fluid shunts. *Childs Nerv Syst ChNS Off J Int Soc Pediatr Neurosurg* 1998; **14**: 378–80.
- 30 Simon TD, Pope CE, Browd SR, *et al.* Evaluation of microbial bacterial and fungal diversity in cerebrospinal fluid shunt infection. *PLoS One* 2014; **9**: e83229.
- 31 Par le groupe Rémic de la Société Française de Microbiologie. Rémic : référentiel en microbiologie médicale 4ème édition 2010. http://www.sfm-microbiologie.org/page/page/showpage/page_id/178.html (accessed Jan 8, 2015).
- 32 Schade RP, Schinkel J, Roelandse FWC, *et al.* Lack of value of routine analysis of cerebrospinal fluid for prediction and diagnosis of external drainage-related bacterial meningitis. *J Neurosurg* 2006; **104**: 101–8.
- 33 Lukaszewicz. SFAR - Méningites nosocomiales. <http://www.sfar.org/article/1015/meningites-nosocomiales> (accessed Sept 17, 2014).
- 34 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 Off Publ Infect Dis Soc Am* 1999; **29**: 69–74.
- 35 Zarrouk V, Vassor I, Bert F, *et al.* Evaluation of the management of postoperative aseptic meningitis. *Clin Infect Dis Off Publ Infect Dis Soc Am* 2007; **44**: 1555–9.
- 36 Pfausler B, Beer R, Engelhardt K, Kemmler G, Mohsenipour I, Schmutzhard E. 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**: 477–81.

- 37 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* 2011; **62**: 255–62.
- 38 Jost GF, Wasner M, Taub E, Walti L, Mariani L, Trampuz A. Sonication of catheter tips for improved detection of microorganisms on external ventricular drains and ventriculo-peritoneal shunts. *J Clin Neurosci Off J Neurosurg Soc Australas* 2013; published online Aug 14. DOI:10.1016/j.jocn.2013.05.025.
- 39 Banks JT, Bharara S, Tubbs RS, *et al.* Polymerase chain reaction for the rapid detection of cerebrospinal fluid shunt or ventriculostomy infections. *Neurosurgery* 2005; **57**: 1237–43; discussion 1237–43.
- 40 Darnell RB. The polymerase chain reaction: application to nervous system disease. *Ann Neurol* 1993; **34**: 513–23.
- 41 Kupila L, Rantakokko-Jalava K, Jalava J, *et al.* Aetiological diagnosis of brain abscesses and spinal infections: application of broad range bacterial polymerase chain reaction analysis. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 2003; **74**: 728–33.
- 42 Mathisen GE, Johnson JP. Brain abscess. *Clin Infect Dis Off Publ Infect Dis Soc Am* 1997; **25**: 763–79; quiz 780–1.
- 43 Muzumdar D, Jhavar S, Goel A. Brain abscess: an overview. *Int J Surg Lond Engl* 2011; **9**: 136–44.
- 44 Brouwer MC, Coutinho JM, van de Beek D. Clinical characteristics and outcome of brain abscess: systematic review and meta-analysis. *Neurology* 2014; **82**: 806–13.
- 45 Alvis Miranda H, Castellar-Leones SM, Elzain MA, Moscote-Salazar LR. Brain abscess: Current management. *J Neurosci Rural Pract* 2013; **4**: S67–81.
- 46 Moorthy RK, Rajshekhar V. Management of brain abscess: an overview. *Neurosurg Focus* 2008; **24**: E3.
- 47 Nathoo N, Nadvi SS, Narotam PK, van Dellen JR. Brain abscess: management and outcome analysis of a computed tomography era experience with 973 patients. *World Neurosurg* 2011; **75**: 716–26; discussion 612–7.
- 48 Masalma MA, Lonjon M, Richet H, *et al.* Metagenomic Analysis of Brain Abscesses Identifies Specific Bacterial Associations. *Clin Infect Dis* 2012; **54**: 202–10.
- 49 Yang K-Y, Chang W-N, Ho J-T, Wang H-C, Lu C-H. Postneurosurgical nosocomial bacterial brain abscess in adults. *Infection* 2006; **34**: 247–51.
- 50 Tseng J-H, Tseng M-Y. Brain abscess in 142 patients: factors influencing outcome and mortality. *Surg Neurol* 2006; **65**: 557–62; discussion 562.
- 51 Muzumdar D. Central nervous system infections and the neurosurgeon: a perspective. *Int J Surg Lond Engl* 2011; **9**: 113–6.
- 52 Sankararaman S, Riel-Romero RMS, Gonzalez-Toledo E. Brain abscess from a peritonsillar abscess in an immunocompetent child: a case report and review of the literature. *Pediatr Neurol* 2012; **47**: 451–4.
- 53 Al Masalma M, Armougom F, Scheld WM, *et al.* The expansion of the microbiological spectrum of brain abscesses with use of multiple 16S ribosomal DNA sequencing. *Clin Infect Dis Off Publ Infect Dis Soc Am* 2009; **48**: 1169–78.
- 54 De Lillo A, Ashley FP, Palmer RM, *et al.* Novel subgingival bacterial phylotypes detected using multiple universal polymerase chain reaction primer sets. *Oral Microbiol Immunol* 2006; **21**: 61–8.
- 55 Socransky SS. Microbial agents and production of oral diseases. *J Dent Res* 1968; **47**: 923–4.
- 56 Dymock D, Weightman AJ, Scully C, Wade WG. Molecular analysis of microflora associated with dentoalveolar abscesses. *J Clin Microbiol* 1996; **34**: 537–42.

- 57 Munson MA, Banerjee A, Watson TF, Wade WG. Molecular analysis of the microflora associated with dental caries. *J Clin Microbiol* 2004; **42**: 3023–9.
- 58 Tsai J-C, Teng L-J, Hsueh P-R. Direct detection of bacterial pathogens in brain abscesses by polymerase chain reaction amplification and sequencing of partial 16s ribosomal deoxyribonucleic acid fragments. *Neurosurgery* 2008; **62 Suppl 2**: 547–55.
- 59 Hartmann A, Halvorsen CE, Jenssen T, *et al.* Intracerebral abscess caused by *Nocardia otitidiscaviarum* in a renal transplant patient--cured by evacuation plus antibiotic therapy. *Nephron* 2000; **86**: 79–83.
- 60 Biermann C, Fries G, Jehnichen P, Bhakdi S, Husmann M. Isolation of *Abiotrophia adiacens* from a brain abscess which developed in a patient after neurosurgery. *J Clin Microbiol* 1999; **37**: 769–71.
- 61 Kommedal O, Kvello K, Skjåstad R, Langeland N, Wiker HG. Direct 16S rRNA gene sequencing from clinical specimens, with special focus on polybacterial samples and interpretation of mixed DNA chromatograms. *J Clin Microbiol* 2009; **47**: 3562–8.
- 62 Falagas ME, Kastoris AC, Kapaskelis AM, Karageorgopoulos DE. Fosfomycin for the treatment of multidrug-resistant, including extended-spectrum beta-lactamase producing, Enterobacteriaceae infections: a systematic review. *Lancet Infect Dis* 2010; **10**: 43–50.
- 63 Falagas ME, Giannopoulou KP, Kokolakis GN, Rafailidis PI. Fosfomycin: use beyond urinary tract and gastrointestinal infections. *Clin Infect Dis Off Publ Infect Dis Soc Am* 2008; **46**: 1069–77.
- 64 Pfausler B, Spiss H, Dittrich P, Zeitlinger M, Schmutzhard E, Joukhadar C. Concentrations of fosfomycin in the cerebrospinal fluid of neurointensive care patients with ventriculostomy-associated ventriculitis. *J Antimicrob Chemother* 2004; **53**: 848–52.
- 65 Portier H, Kazmierczak A, Lucht F, Tremeaux JC, Chavanet P, Duez JM. Cefotaxime in combination with other antibiotics for the treatment of severe methicillin-resistant staphylococcal infections. *Infection* 1985; **13 Suppl 1**: S123–8.
- 66 Portier H, Armengaud M, Becq-Giraudon B, *et al.* [Treatment with a cefotaxime-fosfomycin combination of staphylococcal or enterobacterial meningitis in adults]. *Presse Médicale Paris Fr* 1983 1987; **16**: 2161–6.
- 67 Tremeaux JC, Portier H, Sautreaux JL, Pechinot A, Kazmierczak A. [Cerebrospinal fluid diffusion kinetics of cefotaxime and fosfomycin in *Staphylococcus aureus* meningitis with otorrhea]. *Pathol Biol (Paris)* 1984; **32**: 556–8.
- 68 Grif K, Dierich MP, Pfaller K, Miglioli PA, Allerberger F. In vitro activity of fosfomycin in combination with various antistaphylococcal substances. *J Antimicrob Chemother* 2001; **48**: 209–17.
- 69 Fang X, Wood KB. Management of postoperative instrumented spinal wound infection. *Chin Med J (Engl)* 2013; **126**: 3817–21.
- 70 Ntziora F, Falagas ME. Linezolid for the treatment of patients with central nervous system infection. *Ann Pharmacother* 2007; **41**: 296–308.
- 71 Myrianthefs P, Markantonis SL, Vlachos K, *et al.* Serum and cerebrospinal fluid concentrations of linezolid in neurosurgical patients. *Antimicrob Agents Chemother* 2006; **50**: 3971–6.
- 72 Recommandations de bon usage des carbapénèmes - 649.pdf. https://omedit.esante-poitou-charentes.fr/portail/referentiels-nationaux/gallery_files/site/80/532/649.pdf (accessed April 17, 2014).
- 73 Katragkou A, Roilides E. Successful treatment of multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii* central nervous system infections with colistin. *J Clin Microbiol* 2005; **43**: 4916–7.

- 74 Rodríguez Guardado A, Blanco A, Asensi V, *et al.* Multidrug-resistant *Acinetobacter* meningitis in neurosurgical patients with intraventricular catheters: assessment of different treatments. *J Antimicrob Chemother* 2008; **61**: 908–13.
- 75 Malacarne P, Viaggi B, Di Paolo A, Danesi R, Del Tacca M. Linezolid cerebrospinal fluid concentration in central nervous system infection. *J Chemother Florence Italy* 2007; **19**: 90–3.
- 76 De Louvois J. Bacteriological examination of pus from abscesses of the central nervous system. *J Clin Pathol* 1980; **33**: 66–71.
- 77 Infection in Neurosurgery Working Party of the British Society for Antimicrobial Chemotherapy. The rational use of antibiotics in the treatment of brain abscess. *Br J Neurosurg* 2000; **14**: 525–30.
- 78 Martin-Canal G, Saavedra A, Asensi JM, *et al.* Meropenem monotherapy is as effective as and safer than imipenem to treat brain abscesses. *Int J Antimicrob Agents* 2010; **35**: 301–4.
- 79 Jehl F. L'interprétation phénotypique de l'antibiogramme. *Rev Francoph Lab* 2012; published online Feb 10. <http://www.em-consulte.com/en/article/757791> (accessed Feb 15, 2015).
- 80 Patrice Courvalin et Roland leclercq. Antibiogramme -3ième édition. .
- 81 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**: 4961–7.
- 82 Smith TL, Jarvis WR. Antimicrobial resistance in *Staphylococcus aureus*. *Microbes Infect Inst Pasteur* 1999; **1**: 795–805.
- 83 Katayama Y, Ito T, Hiramatsu K. A new class of genetic element, staphylococcus cassette chromosome mec, encodes methicillin resistance in *Staphylococcus aureus*. *Antimicrob Agents Chemother* 2000; **44**: 1549–55.
- 84 Katayama Y, Takeuchi F, Ito T, *et al.* Identification in methicillin-susceptible *Staphylococcus hominis* of an active primordial mobile genetic element for the staphylococcal cassette chromosome mec of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *J Bacteriol* 2003; **185**: 2711–22.
- 85 Van der Zee A, Roorda L, Hendriks WD, Ossewaarde JM, Buitenwerf J. Detection of novel chromosome-SCCmec variants in Methicillin Resistant *Staphylococcus aureus* and their inclusion in PCR based screening. *BMC Res Notes* 2011; **4**: 150.
- 86 Chongtrakool P, Ito T, Ma XX, *et al.* Staphylococcal cassette chromosome mec (SCCmec) typing of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* strains isolated in 11 Asian countries: a proposal for a new nomenclature for SCCmec elements. *Antimicrob Agents Chemother* 2006; **50**: 1001–12.
- 87 Miragaia M, Carriço JA, Thomas JC, Couto I, Enright MC, de Lencastre H. Comparison of molecular typing methods for characterization of *Staphylococcus epidermidis*: proposal for clone definition. *J Clin Microbiol* 2008; **46**: 118–29.
- 88 Miragaia M, Couto I, de Lencastre H. Genetic diversity among methicillin-resistant *Staphylococcus epidermidis* (MRSE). *Microb Drug Resist Larchmt N* 2005; **11**: 83–93.
- 89 García-Álvarez L, Holden MTG, Lindsay H, *et al.* Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* with a novel *mecA* homologue in human and bovine populations in the UK and Denmark: a descriptive study. *Lancet Infect Dis* 2011; **11**: 595–603.
- 90 Laurent F, Chardon H, Haenni M, *et al.* MRSA harboring *mecA* variant gene *mecC*, France. *Emerg Infect Dis* 2012; **18**: 1465–7.
- 91 Thompson MK, Keithly ME, Goodman MC, *et al.* Structure and function of the genomically encoded fosfomycin resistance enzyme, FosB, from *Staphylococcus aureus*. *Biochemistry (Mosc)* 2014; **53**: 755–65.

- 92 Loulergue J, Pinon G, Laudat P, Audurier A. [Fosfomycin resistance in *Staphylococcus saprophyticus* and other species of coagulase-negative staphylococci]. *Ann Microbiol (Paris)* 1984; **135A**: 239–47.
- 93 Gayral JP, Albertini MT, Gallice E, Olléon M. [Sensitivity of 858 strains of staphylococci to 27 antibiotics]. *Pathol Biol (Paris)* 1986; **34**: 368–71.
- 94 Thompson MK, Keithly ME, Goodman MC, *et al.* Structure and Function of the Genomically Encoded Fosfomycin Resistance Enzyme, FosB, from *Staphylococcus aureus*. *Biochemistry (Mosc)* 2014; **53**: 755–65.
- 95 Etienne J, Gerbaud G, Fleurette J, Courvalin P. Characterization of staphylococcal plasmids hybridizing with the fosfomycin resistance gene *fosB*. *FEMS Microbiol Lett* 1991; **68**: 119–22.
- 96 Warren DK, Liao RS, Merz LR, Eveland M, Dunne WM. Detection of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* directly from nasal swab specimens by a real-time PCR assay. *J Clin Microbiol* 2004; **42**: 5578–81.
- 97 Société française de microbiologie (SFM). CA SFM 2013. <http://www.sfm-microbiologie.org/> (accessed Feb 26, 2015).
- 98 Walti LN, Conen A, Coward J, Jost GF, Trampuz A. Characteristics of infections associated with external ventricular drains of cerebrospinal fluid. *J Infect* 2013; **66**: 424–31.
- 99 Fluit AC, Schmitz FJ, Verhoef J, European SENTRY Participants. Multi-resistance to antimicrobial agents for the ten most frequently isolated bacterial pathogens. *Int J Antimicrob Agents* 2001; **18**: 147–60.
- 100 Institut national de veille sanitaire (INVS). Données par pathogène / Résistance aux anti-infectieux /. <http://www.invs.sante.fr/Dossiers-thematiques/Maladies-infectieuses/Resistance-aux-anti-infectieux/Donnees-par-pathogene> (accessed Jan 4, 2015).
- 101 Laboratoire de Bactériologie du Pr Plésiat (CHRU de Besançon). CNR résistance aux antibiotiques - Bilans d'activités. <http://www.cnr-resistance-antibiotiques.fr/bilans-dactivites.html> (accessed Jan 4, 2015).
- 102 Helweg-Larsen J, Astradsson A, Richhall H, Erdal J, Laursen A, Brennum J. Pyogenic brain abscess, a 15 year survey. *BMC Infect Dis* 2012; **12**: 332.
- 103 Brouwer MC, Tunkel AR, van de Beek D. Epidemiology, diagnosis, and antimicrobial treatment of acute bacterial meningitis. *Clin Microbiol Rev* 2010; **23**: 467–92.
- 104 Heteroresistance to Meropenem in Carbapenem-Susceptible *Acinetobacter baumannii*. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2786618/> (accessed April 17, 2014).
- 105 Tamma PD, Girdwood SCT, Gopaul R, *et al.* The use of cefepime for treating AmpC β -lactamase-producing Enterobacteriaceae. *Clin Infect Dis Off Publ Infect Dis Soc Am* 2013; **57**: 781–8.
- 106 Siedner MJ, Galar A, Guzmán-Suarez BB, *et al.* Cefepime vs Other Antibacterial Agents for the Treatment of *Enterobacter* Species Bacteremia. *Clin Infect Dis Off Publ Infect Dis Soc Am* 2014; **58**: 1554–63.
- 107 Odds FC. Synergy, antagonism, and what the checkerboard puts between them. *J Antimicrob Chemother* 2003; **52**: 1.
- 108 Di Bonaventura G, Picciani C, Spedicato I, Piccolomini R. E-test method for detecting antibiotic synergy against *Pseudomonas aeruginosa* from neutropenic patients: a cost-effective approach. *New Microbiol* 2004; **27**: 263–72.
- 109 Chlebowicz MA, Nganou K, Kozytska S, *et al.* Recombination between *ccrC* genes in a type V (5C2&5) staphylococcal cassette chromosome mec (SCCmec) of *Staphylococcus aureus* ST398 leads to conversion from methicillin resistance to methicillin susceptibility *in vivo*. *Antimicrob Agents Chemother* 2010; **54**: 783–91.
- 110 Savini V, Marrollo R, Coclite E, Fusilli P, D'Incecco C, Fazii P. Successful off-label use of the Cepheid Xpert GBS in a late-onset neonatal meningitis by *Streptococcus agalactiae*. *Int J Clin Exp Pathol* 2014; **7**: 5192–5.

- 111 Titécat M, Loiez C, Senneville E, *et al.* Evaluation of rapid *mecA* gene detection versus standard culture in staphylococcal chronic prosthetic joint infections. *Diagn Microbiol Infect Dis* 2012; **73**: 318–21.
- 112 Dubouix-Bourandy A, de Ladoucette A, Pietri V, *et al.* Direct detection of *Staphylococcus* osteoarticular infections by use of Xpert MRSA/SA SSTI real-time PCR. *J Clin Microbiol* 2011; **49**: 4225–30.
- 113 Schmitz FJ, Steiert M, Hofmann B, *et al.* Detection of staphylococcal genes directly from cerebrospinal and peritoneal fluid samples using a multiplex polymerase chain reaction. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis Off Publ Eur Soc Clin Microbiol* 1998; **17**: 272–4.
- 114 US Food and Drug Administration. Cepheid Xpert MRSA/SA Blood Culture Assay for Use with the GeneXpert Dx System. 2010. <http://www.fda.gov/MedicalDevices/Safety/ListofRecalls/ucm218002.htm> (accessed Dec 24, 2014).
- 115 Biendo M, Mammeri H, Pluquet E, *et al.* Value of Xpert MRSA/SA blood culture assay on the Gene Xpert® Dx System for rapid detection of *Staphylococcus aureus* and coagulase-negative staphylococci in patients with staphylococcal bacteremia. *Diagn Microbiol Infect Dis* 2013; **75**: 139–43.
- 116 Katayama Y, Robinson DA, Enright MC, Chambers HF. Genetic background affects stability of *mecA* in *Staphylococcus aureus*. *J Clin Microbiol* 2005; **43**: 2380–3.
- 117 Snyder JW, Munier GK, Johnson CL. Comparison of the BD GeneOhm methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) PCR assay to culture by use of BBL CHROMagar MRSA for detection of MRSA in nasal surveillance cultures from intensive care unit patients. *J Clin Microbiol* 2010; **48**: 1305–9.
- 118 Blanc DS, Basset P, Nahimana-Tessema I, Jaton K, Greub G, Zanetti G. High proportion of wrongly identified methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* carriers by use of a rapid commercial PCR assay due to presence of staphylococcal cassette chromosome element lacking the *mecA* gene. *J Clin Microbiol* 2011; **49**: 722–4.
- 119 Huletsky A, Giroux R, Rossbach V, *et al.* New real-time PCR assay for rapid detection of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* directly from specimens containing a mixture of staphylococci. *J Clin Microbiol* 2004; **42**: 1875–84.
- 120 Donnio P-Y, Oliveira DC, Faria NA, Wilhelm N, Le Coustumier A, de Lencastre H. Partial excision of the chromosomal cassette containing the methicillin resistance determinant results in methicillin-susceptible *Staphylococcus aureus*. *J Clin Microbiol* 2005; **43**: 4191–3.
- 121 Noto MJ, Fox PM, Archer GL. Spontaneous deletion of the methicillin resistance determinant, *mecA*, partially compensates for the fitness cost associated with high-level vancomycin resistance in *Staphylococcus aureus*. *Antimicrob Agents Chemother* 2008; **52**: 1221–9.
- 122 Shore AC, Deasy EC, Slickers P, *et al.* Detection of staphylococcal cassette chromosome mec type XI carrying highly divergent *mecA*, *mecI*, *mecR1*, *blaZ*, and *ccr* genes in human clinical isolates of clonal complex 130 methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Antimicrob Agents Chemother* 2011; **55**: 3765–73.
- 123 Shore AC, Rossney AS, O’Connell B, *et al.* Detection of Staphylococcal Cassette Chromosome mec-Associated DNA Segments in Multiresistant Methicillin-Susceptible *Staphylococcus aureus* (MSSA) and Identification of *Staphylococcus epidermidis* *ccrAB4* in both Methicillin-Resistant *S. aureus* and MSSA. *Antimicrob Agents Chemother* 2008; **52**: 4407–19.
- 124 Wong H, Louie L, Lo RYC, Simor AE. Characterization of *Staphylococcus aureus* isolates with a partial or complete absence of staphylococcal cassette chromosome elements. *J Clin Microbiol* 2010; **48**: 3525–31.
- 125 Ciardo DE, Burger S, Payer M, Lee C, McCallum N. GeneXpert Captures Unstable Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* Prone to Rapidly Losing the *mecA* Gene. *J Clin Microbiol* 2010; **48**: 3030–2.

- 126 Desjardins M, Guibord C, Lalonde B, Toye B, Ramotar K. Evaluation of the IDI-MRSA Assay for Detection of Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* from Nasal and Rectal Specimens Pooled in a Selective Broth. *J Clin Microbiol* 2006; **44**: 1219–23.
- 127 Rybak MJ, LaPlante KL. Community-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*: a review. *Pharmacotherapy* 2005; **25**: 74–85.
- 128 Samonis G, Maraki S, Karageorgopoulos DE, Vouloumanou EK, Falagas ME. Synergy of fosfomycin with carbapenems, colistin, netilmicin, and tigecycline against multidrug-resistant *Klebsiella pneumoniae*, *Escherichia coli*, and *Pseudomonas aeruginosa* clinical isolates. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis Off Publ Eur Soc Clin Microbiol* 2012; **31**: 695–701.

ANNEXE 1 : PROTOCOLE DES INFECTIONS NEUROMENINGEES - ANTIBIOTHERAPIE

 <p>Hôpitaux de Toulouse</p> <p>PÔLE NEUROSCIENCES</p>	<p>INFECTIONS NEUROMENINGEES ANTIBIOTHERAPIE (après prélèvements bactériologiques)</p>	<p>Code doc : XXXXXX Version : 1 Rédigé par : S. Sacrista, A. Ferrier Lewis, V. Ramonda, L. Porte Validé par : Comité anti infectieux de la COMEDIMS du 12/01/2010 Date de rédaction : Décembre 2009 Date d'application : JANVIER 2010 Date de validité : JANVIER 2010</p> <p style="text-align: right;">Page 132 sur 2</p>
---	---	---

**MENINGITE POSTOPERATOIRE OU SUR MATERIEL (DERIVATION
VENTRICULAIRE EXTERNE OU INTERNE), EN L'ABSENCE D'ALLERGIE AUX
BETA-LACTAMINES**

- Céfotaxime (Claforan®) 200 à 300 mg/kg/j en 4 à 6 perfs (sans dépasser 18 g par jour)
- Fosfomycine (Fosfocine®) 4 g IV 3 fois par jour
Puis adaptation à l'antibiogramme
Durée traitement :
 - ✓ 3 à 6 semaines
 - ✓ Peut être raccourcie à 2 semaines si staphylocoque sensible à la méticilline, évolution clinique favorable, ablation du matériel, et contrôle du LCR rassurant (ref : conférence d'actualisation 2001, SFAR)

Si difficulté d'approvisionnement en Fosfomycine :

Remplacer la fosfomycine par la vancomycine :

- dose de charge de 15 mg/kg
- puis 40 mg/kg/j IVSE ou en 2 perfusions de 90 minutes
- dosage vancocinémie à 48 h : objectif = 25 à 35 mg/L

**ABCES CEREBRAL, EMPYEME, EN L'ABSENCE D'ALLERGIE AUX
BETALACTAMINES**

Post-opératoire :

Céfotaxime (Claforan®) 200 à 300 mg/kg/j en 4 à 6 perfusions (sans dépasser 18 g par jour)

+

Fosfomycine (Fosfocine®) 4 g IV 3 fois par jour

Communautaire (porte d'entrée dentaire ou ORL):

Céfotaxime (Claforan®) 200 à 300 mg/kg/j en 4 à 6 perfusions (sans dépasser 18 g par jour)

+

Métronidazole (Flagyl®) 500 mg IV ou Per Os 3 fois par jour

Puis adaptation à l'antibiogramme

Traitement au moins 6 semaines (3 semaines pour le Flagyl®)

Si difficulté d'approvisionnement en Fosfomycine :

Remplacer la fosfomycine par la vancomycine :

- dose de charge de 15 mg/kg
- puis 40 mg/kg/j IVSE ou en 2 perfusions de 90 minutes
- dosage vancocinémie à 48 h : objectif = 25 à 35 mg/L

Si allergie vraie aux céphalosporines :

Vancomycine

+

Ciflox®

OU

Thiamphénicol : 50 mg/kg/jour en 2 perfs

PLACE DU Linézolide (ZYVOXID*)

Si contre-indication aux glycopeptides (allergie, difficultés d'accès veineux)

- IV ou Per Os : 600 mg X 2/jour
- 600 mg 2 fois par jour durée
- Contrôle hebdomadaire numération formule sanguine
- Ne pas dépasser 28 jours de traitement

ABCES A NOCARDIA :

Antibiotiques habituellement actifs : imipénème (Tienam*), Amikacine (Amiklin*), Ciprofloxacine (Ciflox*), triméthoprime/sulfaméthoxazole (Bactrim*)

A discuter selon antibiogramme, avec avis infectiologique

Bibliographie

- ✓ 17^e Conférence de consensus en thérapeutique anti-infectieuse de la Société de pathologie infectieuse de langue française (SPIILF). Prise en charge des méningites bactériennes aiguës (à l'exclusion du nouveau-né). Texte court. Med et Mal Inf 2009 ;39(3) ;175-86
- ✓ Veber B et al. Infections neuro-méningées post-opératoires. Conférence d'actualisation 2001, 43^e SFAR, 767-777.
- ✓ Beer R et al. Pharmacokinetics of intravenous linezolid in cerebrospinal fluid and plasma in neurointensive care patients with staphylococcal ventriculitis associated with external ventricular drains. Antimicrob Agents Chemother 2007;51:379-82
- ✓ Malacarne P et al. Linezolid cerebrospinal fluid concentration in central nervous infection. J Chemother 2007;19:90-3

TITRE : Diagnostic rapide des méningites nosocomiales par biologie moléculaire : étude de validation

MEDECIN PORTEUR DE L'ETUDE

Dr MAYEUR Nicolas (Pôle Anesthésie Réanimation, CHU de Toulouse)

MEDECINS ASSOCIES

Pr GEERAERTS Thomas (Pôle Anesthésie Réanimation, CHU de Toulouse)

Pr MARTY Nicole (Service de bactériologie, CHU de Toulouse)

Dr GRARE Marion (Service de bactériologie, CHU de Toulouse)

Dr DERUMEAUX Hélène (Département informatique médical)

AUTRES PARTICIPANTS

GENIEYS Pauline (Interne Anesthésie Réanimation)

CONTEXTE

Les méningites nosocomiales représentent une complication grave des interventions neurochirurgicales. En effet, leur mortalité attribuable varie entre 8% et 30%.¹ Elles conduisent également à une augmentation de la morbidité, de la durée et du coût moyen du séjour. De fait, elles constituent une urgence thérapeutique nécessitant une antibiothérapie adaptée le plus précocement possible. Le principal défi de leur prise en charge consiste en la difficulté du diagnostic : à ce jour aucun argument clinique n'est suffisamment sensible et spécifique. Ainsi dans une étude de 2013 évaluant 48 patients avec méningites nosocomiales, 79 % d'entre eux présentaient de la fièvre, 31% un syndrome méningé (céphalées, vomissements et/ou raideur méningée) et dans seulement 29 % des cas une diminution du score de Glasgow.² L'utilité des examens paracliniques est également limitée : le syndrome inflammatoire est peu spécifique, les résultats biochimiques du liquide céphalorachidien (LCR) (hyperprotéinorachie, hypoglycorachie, lactates augmentés) aident au diagnostic mais ne peuvent, à eux seuls, affirmer la présence d'une méningite nosocomiale. Le diagnostic de certitude ainsi que l'arrêt de l'antibiothérapie probabiliste nécessitent donc encore les résultats de la culture du LCR.

EPIDEMIOLOGIE

L'incidence des infections neuroméningées nosocomiales est de l'ordre de 2% en neurochirurgie. La mise en place d'une dérivation ventriculaire externe (DVE) et les interventions neurochirurgicales en urgence constituent les principaux facteurs de risque. Dans ces situations particulières l'incidence est significativement plus élevée (de 6 à 30%).³ Au CHU de Toulouse, les infections du SNC nosocomiales certaines (culture LCR positive) représentent 20 cas par an. Les souches en cause dans cette pathologie sont variées. Les germes résistants à la méticilline (Staphylocoque aureus ou Staphylocoque coagulase négative) représentent environ 30 % des méningites nosocomiales dans les services de neurochirurgie du

CHU de Toulouse (données de 2008 à 2012). Les études françaises retrouvent quant à elles une incidence de souches résistantes à la méticilline (SRM) d'environ 10%.³ L'incidence de ces SRM et la gravité des méningites nosocomiales imposent un traitement antibiotique probabiliste actif sur ces souches. Celui-ci est stoppé après obtention des résultats de la culture de LCR.

TEST DE BIOLOGIE MOLECULAIRE : la PCR temps réel (PCR-TR)

De nouveaux tests de dépistage bactériologique ont été développés grâce à l'utilisation de la Real Time PCR (RT-PCR). Ces techniques sont entièrement automatisées afin de réduire le temps nécessaire à l'obtention des résultats. Le temps de réalisation est ainsi de 60 minutes. Le laboratoire Cepheid® (l'un des laboratoires développant ces tests) propose ainsi la microplateforme automatisée genXpert™ permettant de dépister différents germes dans différents tissus ou liquides biologiques (Clostridium difficile, Streptocoque du groupe B, Mycobacterium tuberculosis, SMR...).^{4,5} L'Institut Fédératif de Biologie du CHU de Toulouse dispose déjà de cette microplateforme (dépistage entérovirus dans LCR) pour un coût de consommable estimé à 30 euros par patient. A ce jour, néanmoins, aucune information n'est disponible concernant le dépistage de SMR par une technique automatisée dans le cadre des méningites nosocomiales. Seule la sensibilité des techniques non automatisées de recherche de Staphylocoques Aureus Résistants à la méticilline par PCR a été évaluée dans le LCR. Cette sensibilité semble excellente (100%).⁶

OBJECTIFS

Principal : validation de la technique de dépistage par RT-PCR des SMR dans le LCR par la technique genXpert™ de Cepheid®.

Secondaire : analyse de l'intérêt médico économique en termes d'épargne théorique d'antibiothérapie apporté par un diagnostic précoce du germe en cause et de sa résistance aux antibiotiques.

SCHEMA D'ETUDE

Il s'agit d'une étude observationnelle, prospective et non interventionnelle.

CRITERES D'INCLUSION

- Patient majeur
- Consentement éclairé de participation à l'étude par la signature du patient (ou de la personne de confiance en cas de trouble de la vigilance).
- Patient admis dans les services de neurochirurgie du CHU de Toulouse (Rangueil et Purpan puis Pierre Paul Riquet)

- Patient suspect de méningite infectieuse sur un faisceau d'arguments cliniques tels que : fièvre, modification de l'état neurologique, liquide de DVE trouble, céphalée, raideur méningée motivant la mise en place de l'antibiothérapie probabiliste en urgence par le praticien. Il pourra être aidé au diagnostic si besoin par des arguments paracliniques tels que les résultats d'analyse biochimique et cytologiques du LCR.

- L'infection répondra à la définition de nosocomiale telle que décrite par le Ministère de la santé, de la jeunesse et des sports DGS/DHOS, CTINILS – Mai 2007 :

- Patient hospitalisé depuis plus de 48H
- Patient porteur de matériel étranger mis en place depuis moins d'un an
- Si mise en place d'une DVE, un délai de 24 h est nécessaire depuis la pose

CRITERES DE NON INCLUSION

- Patient mineur
- Refus de participation à l'étude de la part du patient
- Traitement antibiotique en cours au moment du prélèvement de LCR

PROCEDURE DE L'ETUDE

- Les patients inclus bénéficient d'un prélèvement de LCR (ce prélèvement est systématiquement effectué en cas de doute sur une méningite, il s'agit donc d'un acte de soins courant) : un tube est envoyé en biochimie (glucose, protides, lactates), un en cytologie (décompte éléments nucléés et globules rouges), deux en bactériologie (pour mise en culture et examen direct, et un pour le test de diagnostic rapide).

- Le résultat du test de biologie moléculaire est tenu secret jusqu'à la fin de l'étude.

- Le prélèvement devra être réalisé avant la mise en place de l'antibiothérapie probabiliste.

- Le patient reçoit, après les prélèvements, l'antibiothérapie probabiliste à visée méningée, selon le protocole actuel du service validé par le service de maladie infectieuse du CHU de Toulouse

- à l'inclusion, les données suivantes seront recueillies afin de caractériser la population de patient :

- Identité (avec NOM, Prénom, date de naissance, sexe)
- Comorbidités (telle que HTA, insuffisance rénale ..).
- Date d'hospitalisation, date des interventions chirurgicales éventuelles.
- Présence de matériel et date de pose.
- Présence et localisation d'une voie veineuse centrale (VVC).
- Signes cliniques faisant suspecter le diagnostic de méningite nosocomiale : fébricule, détérioration de l'état de vigilance, céphalées, liquide de DVE trouble, dégradation de l'état hémodynamique.
- Les résultats des examens biologiques des 24 premières heures seront également relevés.
- Les traitements antibiotiques en cours, les antibiothérapies reçues au cours des derniers mois, l'histoire bactériologique du patient, le portage de bactéries multi résistantes seront notés.

- Données recueillies au cours de l'étude à J3, J7, J14, J21 :

- Examen biologique du LCR (non systématique) : examen biochimique (glycorachie/glycémie, protéinorachie, lactates du LCR), examen cytologique, présence de germes à l'examen direct, résultat de la culture du LCR.
- Examen biologique sanguin : évolution du syndrome inflammatoire.
- Signes cliniques : amélioration des signes cliniques présents à l'inclusion.
- Type d'antibiothérapie probabiliste débutée, dosages de contrôle effectués, mise en place de VVC pour administration des antibiotiques.
- Complication des traitements antibiotiques : survenue d'évènements indésirables imputables aux traitements antibiotiques, dégradation de la fonction rénale, manifestations allergiques.
- Mortalité au cours de l'étude.

CRITERES DE JUGEMENTS

Principal : sensibilité, spécificité, valeur prédictive positive (VPP) et négative (VPN) du test de diagnostic rapide RT-PCR Genexpert™ commercialisé par le laboratoire Cepheid® *in vitro* et *in vivo* sur des prélèvements de LCR (gold standard : mise en culture du prélèvement de LCR)

Secondaire : diminution du coût lié à l'utilisation du test de dépistage par rapport à l'utilisation systématique d'un antibiotique actif sur les souches résistantes à la méticilline.

NOMBRE DE PATIENTS

Validation *in vitro* du test : 60 échantillons de LCRensemencés ou non par SMR (effectués au laboratoire de bactériologie) puis inclusion au fil de l'eau de 100 patients.

METHODES STATISTIQUES

La comparaison du critère principal sera réalisée en fonction de la distribution des résultats par un test de Mann Whitney ou un test t de Student. L'impact médico économique sera réalisé grâce à l'estimation du coût moyen de la prise en charge des malades présentant une infection neuroméningée en neurochirurgie durant cinq jours. Cette partie du travail est réalisée avec le Dr Derumeaux.

RETOMBEES ATTENDUES

- validation interne du test.

- impact médico économique :

- le coût de 5 jours d'antibiothérapie par Vancomycine est approximativement de 99,95 euros par patient hors « temps médecin »

✓ molécule : 28,70 euros

- ✓ Coût de 3 dosages de vancocinémie pour adaptation de la posologie : 56,70 euros
- ✓ pose de VVC : moyenne de 16,58 euros + RP de contrôle : 31,92 euros soit 48,50 euros
- ✓ on estime que 70 % des patients ont déjà une VVC pour une autre raison que la méningite nosocomiale
 - Coût de 5 jours de Linézolide : 630 euros par patient
 - Pour l'étude, on estime que seulement 3/5 des patients seront traités par Linézolide soit un surcoût moyen de l'antibiothérapie probabiliste de 400 euros par patient suspect de méningite nosocomiale
 - Lutte contre l'antibiorésistance

Ce travail pourrait être préliminaire à une étude avec une puissance plus élevée (essai thérapeutique).

INFORMATION DES PATIENTS ET CONSENTEMENT

Les patients seront informés par une feuille d'information et le consentement sera recueilli par signature. Dans le cas où les patients présenteraient un état neurologique ne permettant pas d'obtenir le consentement éclairé, celui-ci pourra être obtenu auprès de la personne de confiance.

CONFLITS D'INTERETS

L'étude sera financée pour moitié par les laboratoires Cepheid® sous forme de mise à disposition gratuitement de 100 tests de RT PCR et par 100 tests financés par le pôle AR.

Les résultats et les données médicales de cette étude appartiennent au CHU de Toulouse.

Bibliographie

1. Weisfelt, M., et al. Nosocomial bacterial meningitis in adults: a prospective series of 50 cases. *J Hosp Infect* 2007 66(1): 71-78.
2. Walti, L. N., et al. Characteristics of infections associated with external ventricular drains of cerebrospinal fluid. *J Infect* 2013 66(5): 424-431.
3. Korinek, A. M., et al. Risk factors for adult nosocomial meningitis after craniotomy: role of antibiotic prophylaxis. *Neurosurgery* 2006 59(1): 126-133.
4. Valour F, et al. Rapid detection of *Staphylococcus aureus* and methicillin resistance in bone and joint infection samples: evaluation of the GeneXpert MRSA/SA SSTI assay. *Diagn Microbiol Infect Dis*. 2013 (Epub ahead of print)
5. Nhu N.T., et al. Evaluation of GeneXpert MTB/RIF for Diagnosis of Tuberculous Meningitis. *J Clin Microbiol*. 2014 52(1): 226-33.
6. Yang, S. and R. E. Rothman. PCR-based diagnostics for infectious diseases: uses, limitations, and future applications in acute-care settings. *The Lancet Infectious Diseases* 2004 4(6): 337-348.



COMITE D'ETHIQUE DE LA RECHERCHE

Toulouse,
Le 12 Février 2014

A l'attention de

Monsieur le Docteur Nicolas MAYEUR
Monsieur le Professeur Thomas GEERAERTS
Madame le Professeur Nicole MARTY
Madame Pauline GENIEYS

Lors de la séance du 28 Janvier 2014, le comité d'éthique de la recherche des Hôpitaux de Toulouse a examiné le projet (n° 03- 0114) intitulé « **Diagnostic rapide des méningites nosocomiales par biologie moléculaire : étude de validation** » que vous lui avez soumis en tant qu'investigateurs.

Etaient présents: Dr JM CONIL – Dr ME LLAU – Pr P PAYOUX - Mme D ARAVIT –
Dr C PIENKOWSKI - Mme MC VALLEJO – Mme N MARCILHAC - Pr JM LAFFOSSE –
Pr F LAUWERS – Dr F LORENZINI.

Après examen du dossier et des modifications demandées, le comité émet un avis favorable à la mise en œuvre de cette recherche.

Je vous prie d'agréer Madame, Monsieur, l'assurance de ma considération distinguée.

Dr Jean-Marie CONIL

Président du Comité d'Ethique de la Recherche des Hôpitaux de Toulouse
PH - Service de Réanimation - Hôpital de Rangueil
Département d'Anesthésie et de Réanimation – CHU Toulouse
☎ 05 61 32 24 86 ou 05 61 32 27 99
✉ conil.jm@chu-toulouse.fr

- Enregistrement préalable par le préanalytique : MLCR ou MLCD (pas de particularité d'enregistrement)
- Les LCR/LCD concernés par ce protocole monteront au secteur ensemencement, avec le bon de demande, sur lequel est présent l'étiquette suivante :

PROTOCOLE **SA / SARM CEPHEID**

LIQUIDE CEPHALORACHIDIEN / LIQUIDE DE DERIVATION

SERVICES DE NEUROCHIRURGIE

- Ensemencement :
 - **Ensemencer de façon quantitative** (sur COS uniquement)
 - **100 µL (à la pipette) sur COS ; faire une strie et ensemencer comme une urine.** Incuber sous CO₂.
 - Ensemencer les autres géloses (sans particularité)
 - Mettre 200 µL de LCR dans un tube Eppendorf étiqueté avec une étiquette patient MOLIS, le mettre dans le frigo de l'ensemencement (en dessous des centrifugeuses, dans le pot avec l'étiquette protocole)
PROTOCOLE **SA / SARM CEPHEID**
LIQUIDE CEPHALORACHIDIEN / LIQUIDE DE DERIVATION
SERVICES DE NEUROCHIRURGIE

Si insuffisamment de liquide, prévenir Marion ou Angèle.

- le reste du LCR suit le prélèvement comme habituellement
- Appeler Angèle ou Marion (Christophe si aucune n'est disponible) qui viendront ensuite chercher le prélèvement dans le frigo pour lancer le test **SA / SARM CEPHEID en BM.**

Résultat culture : Pour tout prélèvement positif, la technicienne rajoute en remarque dans la BSP la quantité en UFC/mL.

Généralités

- **Pour être valide, le contrôle de processus SPC doit toujours être positif.** Dans le cas d'un échantillon positif, il peut y avoir compétition et la courbe du contrôle difficilement visible.
- **Le contrôle de la Sonde doit être également valide (Probe Check)**
- **Le gène détecté peut être considéré comme positif si le Ct est rendu par l'automate, même au delà du cut-off (c'est-à-dire même si le système interprète ce résultat comme négatif)**
 - Le Ct est consultable dans l'onglet résultats de l'analyse.
 - La courbe doit présenter un point d'inflexion, parfois difficilement visible quand le Ct est tardif.
- **S'il existe un décalage de plusieurs Ct (absence de données sur le nombres précis de cycles) entre les courbes *spa*, *scc* ou *mecA*, penser qu'il peut s'agir de bactéries différentes.**

Cas les plus fréquents

Cas 1 :

- SPC : positif
- SPA, *mecA*, SCC : négatif

Conclusion : Absence de détection du gène *spa* et du gène *mecA* : **absence de *S.aureus***

Cas 2 :

- SPC, SPA, *mecA*, SCC : positifs

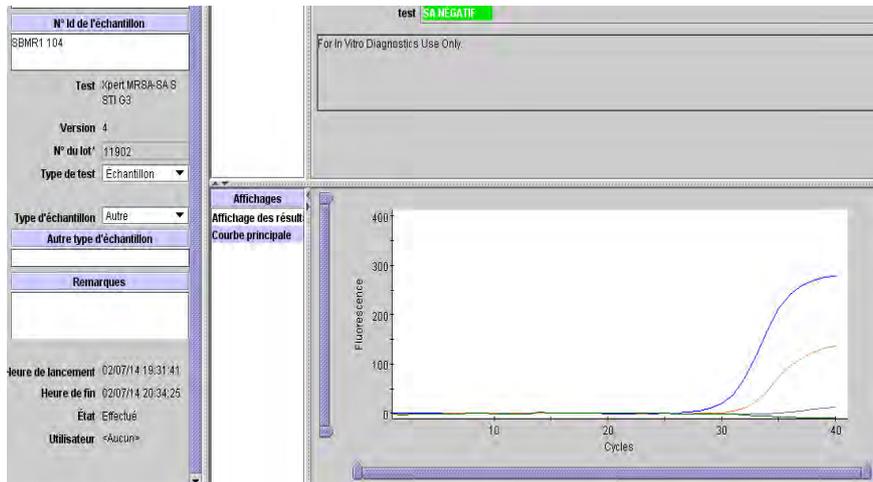
Conclusion : Détection du gène *spa* et du gène *mecA* : Probable présence d'un *S. aureus* résistant à la méticilline : **SARM positif**

Cas 3 :

- SPC, SPA : positifs
- SCC, *mecA* : négatifs

Conclusion : Détection du gène *spa*, absence de détection du gène *mecA* : probable présence d'un *S. aureus* sensible à la méticilline : **SAMS positif**

Cas 4 :



- SPC, mecA : positifs
- SCC, spa : négatifs

Conclusion : Détection du gène *mecA* uniquement : Présence probable d'un **SCN méti-R** , à confronter au test phénotypique de détection de la résistance à la méticilline qui sera réalisé pour le confirmer.

Cas difficiles

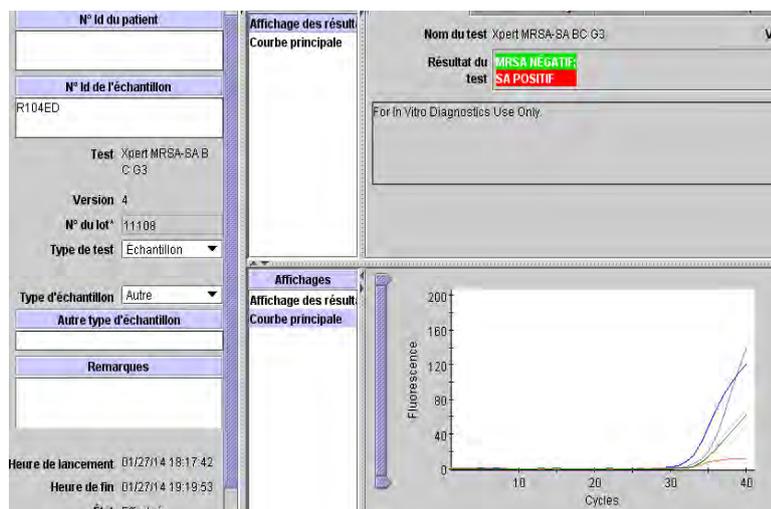
Cas 5 :

- SPC, Spa, SCC : positifs
- mecA : négatif
 - cycles entre 20 et en dessous du cut-off

Conclusion : Détection du gène *spa* et du gène *SCC*, mais absence de détection du gène *mecA* : **Présence possible d'un *Staphylocoques aureus* variant dit à « cassette vide »**. La plupart de ces staphylocoques sont sensibles à la méticilline, à confronter au test phénotypique de sensibilité à la méticilline qui sera réalisé pour le confirmer.

- cycles > 35

Conclusion : Détection du gène *spa* et du gène *SCC* tardif, mais absence de détection du gène *mecA*, possiblement par défaut de sensibilité. Il peut s'agit d'un SARM, mais il faut attendre le test phénotypique de sensibilité à la méticilline qui sera réalisé pour le confirmer.



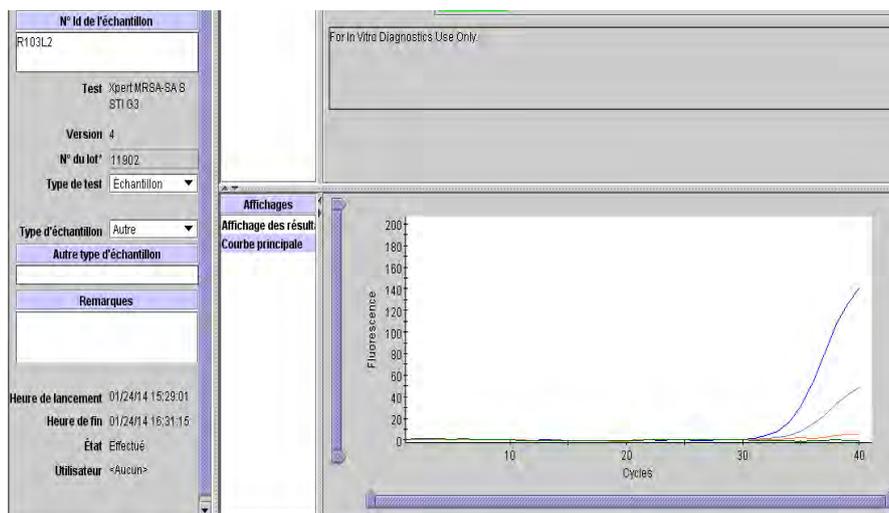
Cas 6 :

- Spa, mecA : positifs mais avec une différence de cycle (>2,1)
- SCC : négatif

Conclusion : Détection du gène *spa* et du gène *mecA*, mais absence de détection du gène *SCC* : la différence de cycle retrouvé suggère qu'il s'agit probablement d'un *S.aureus* sensible à la métiline et d'un SCN résistant à la *méticilline* ; à confronter au test phénotypique de sensibilité à la métiline qui sera réalisé pour le confirmer

Présence d'un SAMS et d'une SCN méti-R

Cas 7 :



- SPC, SPA : positifs
- SCC , mecA : négatifs

Conclusion : Détection du gène *spa* du *S. aureus* au-delà du cut-off, absence de détection du gène *mecA*. L'absence du gène *mecA* doit obligatoirement être confirmée par un test phénotypique de sensibilité à la métiline.

Commentaire : En réalité, il s'agissait bien d'une SARM.

RESUME

Les infections en neurochirurgie sont rares mais peuvent être graves. Le diagnostic et le traitement de ces infections sont donc des enjeux majeurs. Dans ce cadre, nous avons en premier lieu établi l'épidémiologie des infections bactériennes entre 2008 et 2014 en Neurochirurgie. A partir des 17 patients atteints de méningite à Entérobactéries entre 2010 (date de mise en service du protocole de traitement probabiliste des méningites) et 2014, nous avons évalué les différentes possibilités de traitement probabiliste des méningites à Entérobactéries et la justification ou non du recours au méropénème. Dans un second temps, nous avons validé la PCR Xpert MRSA/SA SSTI (CEPHEID) pour la détection dans les LCR /LCD de *S. aureus* et du gène *mecA* de l'ensemble des staphylocoques et évaluer l'intérêt de cette technique dans la prise en charge optimale des patients (nécessité ou pas d'utiliser la vancomycine). Sur les 7 années de suivi, on retrouve environ 8% de *S. aureus*, 44% de *Staphylocoque à coagulase négative*, 11% de *P. acnes*, 11% d'Entérobactéries, 10 % de bacilles à Gram négatif non fermentants dans les prélèvements de LCR/LCD. Parmi les 17 patients atteints de méningites à Entérobactéries, 12 avaient un *Enterobacter* dont 7 avec CEPD. Pour ces patients, on retrouvait une antériorité de traitement par cefotaxime ou tazocilline ou un antécédent d'infection à *Enterobacter* avec CEPD. Sur l'ensemble des données de résistance obtenue, un protocole d'antibiothérapie probabiliste a été proposé et présenté en ComAI. Le protocole proposé du traitement probabiliste des méningites en Neurochirurgie reste cefotaxime + fosfomycine. La réévaluation de l'antibiothérapie à 72h était bien effectuée. La PCR MRSA/SA SSTI a été validée sur LCR/LCD. Les performances (12 patients inclus) sont : sensibilité 71%, VPN 71%, spécificité/VPP 100%. Le test MRSA/SSTI semble avoir une sensibilité insuffisante pour permettre l'absence de prescription de la vancomycine si le gène *mecA* n'est pas retrouvé.

Epidemiology of bacterial infections in Neurosurgery in Toulouse, 2010-2014: empirical antibiotic therapy of meningitis due to enterobacteria and the role of PCR in the diagnosis of meningitis due to Staphylococci (MRSA/SA PCR) on CSF

ABSTRACT

Neurosurgical infections are rare but can be serious. Diagnosis and treatment of these infections are major issues. In this context, we first established the epidemiology of bacterial infections for the 2008-2014 period in Neurosurgery. For the 17 patients with meningitis due to Enterobacteriaceae, between 2010 (beginning of the probabilistic antibiotic therapy protocol) and 2014, we evaluated the treatment possibilities. In a second step, we validated the Xpert MRSA/SA SSTI PCR (CEPHEID) for the detection in CSF of *S. aureus* and of the *mecA* gene of all Staphylococci and evaluate the performances of this technique and its capacity to improve the care of patients (use or not of vancomycin in probabilistic therapy). For the 7 years-period, we observed 8% of *S. aureus*, 44% of coagulase-negative Staphylococci, 11% of *P. acnes*, 11% of Enterobacteriaceae, 10% non-fermenting gram-negative bacilli CSF samples. Among the 17 patients with meningitis due to Enterobacteriaceae, 12 had an infection with *Enterobacter* (7 with EDPS). For those, we noticed a previous treatment by cefotaxime or tazocilline or previous known infection with *Enterobacter* with EDPS. A protocol was proposed and presented at the ComAI: it was still probabilistic therapy by cefotaxime + fosfomycin. A re-evaluation was performed to 72h for all patients. The MRSA/SA SSTI PCR (12 patients included) has: sensitivity 71%, VPN 71%, specificity/PPV 100%. This method seemed to have too poor performances to allow no prescription of vancomycin if the *mecA* gene is not found.

DISCIPLINE administrative : Pharmacie

MOTS-CLES : Méningite - abcès cérébraux – épidémiologie – neurochirurgie –SARM – mecA – SCCmec – traitement - antibiothérapie - probabiliste – CEPHEID – PCR – post-opératoires – entérobactéries – méropénème-cefotaxime - vancomycine – infections post opératoires – fosfomycine- S.aureus – Enterobacter-Staphylocoque à coagulase négative

Université Paul Sabatier Toulouse 3-Faculté des sciences Pharmaceutiques
35 chemin des maraîchers
31062 Toulouse CEDEX 9

Directeur de thèse: GRARE Marion