



كلية الطب  
والصيدلة - مراكش  
FACULTÉ DE MÉDECINE  
ET DE PHARMACIE - MARRAKECH

Année 2022

Thèse N° 061

**Quelle place de la biologie moléculaire dans le  
diagnostic des méningites infectieuses en  
réanimation ?**

**THÈSE**

PRÉSENTÉE ET SOUTENUE PUBLIQUEMENT LE 14/07/2022

PAR

**Mme. Karima DAMIRI**

Née Le 13 /01/1991 à Casablanca

**POUR L'OBTENTION DU DOCTORAT EN MÉDECINE**

**MOTS-CLÉS**

Méningite infectieuse - Réanimation - PCR Multiplex - Filmarray  
- radiologie interventionnelle

**JURY**

**Pr. L. ARSALANE**

Professeur de bactériologie-virologie

**Pr. Y. Qamouss**

Professeur en Anesthésie-réanimation

**Pr. A. Belhadj**

Professeur en Anesthésie-réanimation

**PRESIDENT**

**RAPPORTEUR**

**JUGE**



بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

قَالُوا سُبْحَانَكَ لَا عِلْمَ لَنَا إِلَّا مَا عَلَّمْتَنَا إِنَّكَ أَنْتَ الْعَلِيمُ

الْحَكِيمُ ﴿٣٢﴾

صَدَقَ اللَّهُ الْعَظِيمُ

(سورة البقرة)

# *Serment d'hippocrate*

*Au moment d'être admis à devenir membre de la profession médicale,  
Je m'engage solennellement à consacrer ma vie au service de l'humanité.  
Je traiterai mes maîtres avec le respect et la reconnaissance qui leur sont dus.  
Je pratiquerai ma profession avec conscience et dignité. La santé de mes malades  
sera mon premier but.*

*Je ne trahirai pas les secrets qui me seront confiés.*

*Je maintiendrai par tous les moyens en mon pouvoir l'honneur et les nobles  
traditions de la profession médicale.*

*Les médecins seront mes frères.*

*Aucune considération de religion, de nationalité, de race, aucune considération  
politique et sociale, ne s'interposera entre mon devoir et mon patient.*

*Je maintiendrai strictement le respect de la vie humaine dès sa conception.*

*Même sous la menace, je n'userai pas mes connaissances médicales  
d'une façon contraire aux lois de l'humanité.*

*Je m'y engage librement et sur mon honneur.*

***Déclaration Genève, 1948***



*LISTE DES PROFESSEURS*



**UNIVERSITE CADI AYYAD**  
**FACULTE DE MEDECINE ET DE PHARMACIE**  
**MARRAKECH**

Doyens Honoraires

: Pr. Badie Azzaman MEHADJI  
: Pr. Abdelhaq ALAOUI YAZIDI

**ADMINISTRARATION**

Doyen

: Pr Mohammed BOUSKRAOUI

Vice doyen à la Recherche et la coopération

: Pr. Mohamed AMINE

Vice doyen aux affaires pédagogiques

: Pr. Redouane EL FEZZAZI

Vice doyen chargé de la Pharmacie

: Pr. Said ZOUHAIR

Secrétaire Général

: Mr. Azzeddine EL HOUDAIGUI

**Professeurs de l'enseignement supérieur**

Nom et Prénom	Spécialité	Nom et Prénom	Spécialité
ABKARI Imad	Traumato-orthopédie	ELOMRANI Abdelhamid	Radiothérapie
ABOUCHADI Abdeljalil	Stomatologie et chirurgie maxillo faciale	ESSAADOUNI Lamiaa	Médecine interne
ABOU EL HASSAN Taoufik	Anésthésie-réanimation	FADILI Wafaa	Néphrologie
ABOULFALAH Abderrahim	Gynécologie-obstétrique	FAKHIR Bouchra	Gynécologie- obstétrique
ABOUSSAIR Nisrine	Génétique	FAKHRI Anass	Histologie-embryologie cytogénétique
ADALI Imane	Psychiatrie	FOURAJI Karima	Chirurgie pédiatrique
ADMOU Brahim	Immunologie	GHANNANE Houssine	Neurochirurgie
AGHOUTANE El Mouhtadi	Chirurgie pédiatrique	GHOUNDALE Omar	Urologie
AISSAOUI Younes	Anésthésie-réanimation	HACHIMI Abdelhamid	Réanimation médicale
AIT AMEUR Mustapha	Hématologie	HAJJI Ibtissam	Ophtalmologie
AIT BENALI Said	Neurochirurgie	HAROU Karam	Gynécologie- obstétrique
AIT BENKADDOUR Yassir	Gynécologie-obstétrique	HOCAR Ouafa	Dermatologie
AIT SAB Imane	Pédiatrie	JALAL Hicham	Radiologie
ALJ Soumaya	Radiologie	KAMILI El Ouafi El Aouni	Chirurgie pédiatrique
AMAL Said	Dermatologie	KHALLOUKI Mohammed	Anésthésie- réanimation
AMINE Mohamed	Epidemiologie clinique	KHATOURI Ali	Cardiologie
AMMAR Haddou	Oto-rhino-laryngologie	KHOUCHANI Mouna	Radiothérapie
AMRO Lamyae	Pneumo-phtisiologie	KISSANI Najib	Neurologie
ANIBA Khalid	Neurochirurgie	KRATI Khadija	Gastro-entérologie
ARSALANE Lamiae	Microbiologie-virologie	KRIET Mohamed	Ophtalmologie
ASMOUKI Hamid	Gynécologie-obstétrique	LAGHMARI Mehdi	Neurochirurgie

ATMANE El Mehdi	Radiologie	LAKMICH Mohamed Amine	Urologie
BAIZRI Hicham	Endocrinologie et maladies métaboliques	LAKOUICHMI Mohammed	Stomatologie et chirurgie maxillo faciale
BASRAOUI Dounia	Radiologie	LAOUAD Inass	Néphrologie
BASSIR Ahlam	Gynécologie-obstétrique	LOUHAB Nissrine	Neurologie
BELBARAKA Rhizlane	Oncologie médicale	LOUZI Abdelouahed	Chirurgie générale
BELKHOU Ahlam	Rhumatologie	MADHAR Si Mohamed	Traumato-orthopédie
BENALI Abdeslam	Psychiatrie	MANOUDI Fatiha	Psychiatrie
BENCHAMKHA Yassine	Chirurgie réparatrice et plastique	MANSOURI Nadia	Stomatologie et chirurgie maxillo faciale
BEN DRISS Laila	Cardiologie	MAOULAININE Fadl mrahbi rabou	Pédiatrie
BENELKHAÏAT BENOMAR Ridouan	Chirurgie générale	MATRANE Aboubakr	Médecine nucléaire
BENHIMA Mohamed Amine	Traumato-orthopédie	MOUAFFAK Youssef	Anesthésie- réanimation
BENJELLOUN HARZIMI Amine	Pneumo-phtisiologie	MOUDOUNI Said Mohammed	Urologie
BENJILALI Laila	Médecine interne	MOUFID Kamal	Urologie
BENZAROUËL Dounia	Cardiologie	MOUTAJ Redouane	Parasitologie
BOUCHENTOUF Rachid	Pneumo-phtisiologie	MOUTAOUAKIL Abdeljalil	Ophtalmologie
BOUKHANNI Lahcen	Gynécologie-obstétrique	MSOUGAR Yassine	Chirurgie thoracique
BOUKHIRA Abderrahman	Biochimie-chimie	NAJEB Youssef	Traumato-orthopédie
BOUMZEBRA Drissi	Chirurgie Cardio-vasculaire	NARJIS Youssef	Chirurgie générale
BOURRAHOUEAT Aïcha	Pédiatrie	NEJMI Hicham	Anesthésie- réanimation
BOURROUS Monir	Pédiatrie	NIAMANE Radouane	Rhumatologie
BOUSKRAOUI Mohammed	Pédiatrie	OUALI IDRISSE Mariem	Radiologie
BSISS Mohammed Aziz	Biophysique	OUBAHA Sofia	Physiologie
CHAFIK Rachid	Traumato-orthopédie	OULAD SAIAD Mohamed	Chirurgie pédiatrique
CHAKOUR Mohammed	Hématologie	QACIF Hassan	Médecine interne
CHELLAK Laila	Biochimie-chimie	QAMOUSS Youssef	Anesthésie- réanimation
CHERIF IDRISSE EL GANOUNI Najat	Radiologie	RABBANI Khalid	Chirurgie générale
CHOULLI Mohamed Khaled	Neuro pharmacologie	RADA Noureddine	Pédiatrie
DAHAMI Zakaria	Urologie	RAIS Hanane	Anatomie pathologique

DAROUASSI Youssef	Oto-rhino-laryngologie	RAJI Abdelaziz	Oto-rhino- laryngologie
DRAISS Ghizlane	Pédiatrie	ROCHDI Youssef	Oto-rhino- laryngologie
EL ADIB Ahmed Rhassane	Anésthésie-réanimation	SAMKAOUI Mohamed Abdenasser	Anésthésie- réanimation
ELAMRANI Moulay Driss	Anatomie	SAMLANI Zouhour	Gastro-entérologie
EL ANSARI Nawal	Endocrinologie et maladies métaboliques	SARF Ismail	Urologie
EL BARNI Rachid	Chirurgie générale	SORAA Nabila	Microbiologie- virologie
EL BOUCHTI Imane	Rhumatologie	SOUMMANI Abderraouf	Gynécologie- obstétrique
EL BOUIHI Mohamed	Stomatologie et chirurgie maxillo faciale	TASSI Noura	Maladies infectieuses
EL FEZZAZI Redouane	Chirurgie pédiatrique	TAZI Mohamed Illias	Hématologie clinique
ELFIKRI Abdelghani	Radiologie	YOUNOUS Said	Anésthésie- réanimation
EL HAOURY Hanane	Traumato-orthopédie	ZAHLANE Kawtar	Microbiologie- virologie
EL HATTAOUI Mustapha	Cardiologie	ZAHLANE Mouna	Médecine interne
EL HOUDZI Jamila	Pédiatrie	ZAOUI Sanaa	Pharmacologie
EL IDRISSE SLITINE Nadia	Pédiatrie	ZEMRAOUI Nadir	Néphrologie
EL KARIMI Saloua	Cardiologie	ZIADI Amra	Anésthésie- réanimation
EL KHADER Ahmed	Chirurgie générale	ZOUHAIR Said	Microbiologie
EL KHAYARI Mina	Réanimation médicale	ZYANI Mohammad	Médecine interne
EL MGHARI TABIB Ghizlane	Endocrinologie et maladies métaboliques		

#### Professeurs Agrégés

Nom et Prénom	Spécialité	Nom et Prénom	Spécialité
ABDOU Abdessamad	Chirurgie Cardio-vasculaire	HAZMIRI Fatima Ezzahra	Histologie-embryologie-cytogénétique
ABIR Badreddine	Stomatologie et chirurgie maxillo faciale	JANAH Hicham	Pneumo-phtisiologie
ADARMOUCH Latifa	Médecine communautaire (médecine préventive, santé publique et hygiène)	KADDOURI Said	Médecine interne
AIT BATAHAR Salma	Pneumo-phtisiologie	LAFFINTI Mahmoud Amine	Psychiatrie
ALAOUI Hassan	Anésthésie-réanimation	LAHKIM Mohammed	Chirurgie générale
ALJALIL Abdelfattah	Oto-rhino-laryngologie	MARGAD Omar	Traumato-orthopédie
ARABI Hafid	Médecine physique et réadaptation fonctionnelle	MESSAOUDI Redouane	Ophtalmologie
ARSALANE Adil	Chirurgie thoracique	MLIHA TOUATI Mohammed	Oto-rhino-laryngologie

ASSERRAJI Mohammed	Néphrologie	MOUHSINE Abdelilah	Radiologie
BELBACHIR Anass	Anatomie pathologique	NADER Youssef	Traumato-orthopédie
BELHADJ Ayoub	Anesthésie-réanimation	NASSIM SABAH Taoufik	Chirurgie réparatrice et plastique
BOUZERDA Abdelmajid	Cardiologie	RHARRASSI Issam	Anatomie pathologique
CHRAA Mohamed	Physiologie	SALAMA Tarik	Chirurgie pédiatrique
EL HAOUATI Rachid	Chirurgie Cardio- vasculaire	SEDDIKI Rachid	Anesthésie-réanimation
EL KAMOUNI Youssef	Microbiologie-virologie	SERGHINI Issam	Anesthésie-réanimation
EL MEZOUARI El Mostafa	Parasitologie-mycologie	TOURABI Khalid	Chirurgie réparatrice et plastique
ESSADI Ismail	Oncologie médicale	ZARROUKI Youssef	Anesthésie-réanimation
GHAZI Mirieme	Rhumatologie	ZIDANE Moulay Abdelfettah	Chirurgie thoracique
HAMMOUNE Nabil	Radiologie		

#### Professeurs Assistants

Nom et Prénom	Spécialité	Nom et Prénom	Spécialité
AABBASSI Bouchra	Psychiatrie	EL JADI Hamza	Endocrinologie et maladies métaboliques
ABALLA Najoua	Chirurgie pédiatrique	EL-QADIRY Rabiyy	Pédiatrie
ABDELFETTAH Youness	Rééducation et réhabilitation fonctionnelle	FASSI FIHRI Mohamed jawad	Chirurgie générale
ABOUDOURIB Maryem	Dermatologie	FDIL Naima	Chimie de coordination bio- organique
ABOULMAKARIM Siham	Biochimie	FENANE Hicham	Chirurgie thoracique
ACHKOUN Abdessalam	Anatomie	GEBRATI Lhoucine	Chimie physique
AHBALA Tariq	Chirurgie générale	HAJHOUI Farouk	Neurochirurgie
AIT ERRAMI Adil	Gastro-entérologie	HAJJI Fouad	Urologie
AKKA Rachid	Gastro-entérologie	HAMRI Asma	Chirurgie Générale
AMINE Abdellah	Cardiologie	HAZIME Raja	Immunologie
ARROB Adil	Chirurgie réparatrice et plastique	IDALENE Malika	Maladies infectieuses
AZAMI Mohamed Amine	Anatomie pathologique	KHALLIKANE Said	Anesthésie-réanimation
AZIZ Zakaria	Stomatologie et chirurgie maxillo faciale	LACHHAB Zineb	Pharmacognosie
AZIZI Mounia	Néphrologie	LAHLIMI Fatima Ezzahra	Hématologie clinique
BAALLAL Hassan	Neurochirurgie	LAHMINE Widad	Pédiatrie
BABA Hicham	Chirurgie générale	LAMRANI HANCHI Asmae	Microbiologie- virologie
BELARBI Marouane	Néphrologie	LOQMAN Souad	Microbiologie et toxicologie



			environnementale
BELFQUIH Hatim	Neurochirurgie	JALLAL Hamid	Cardiologie
BELGHMAIDI Sarah	Ophthalmologie	MAOUJOURD Omar	Néphrologie
BELLASRI Salah	Radiologie	MEFTAH Azzelarab	Endocrinologie et maladies métaboliques
BENAMEUR Yassir	Médecine nucléaire	MILOUDI Mouhcine	Microbiologie-virologie
BENANTAR Lamia	Neurochirurgie	MOUGUI Ahmed	Rhumatologie
BENCHAFAI Ilias	Oto- rhino- laryngologie	MOULINE Souhail	Microbiologie-virologie
BENNAOUI Fatiha	Pédiatrie	NASSIH Houda	Pédiatrie
BENYASS Youssef	Traumatologie-orthopédie	OUERIAGLI NABIH Fadoua	Psychiatrie
BENZALIM Meriam	Radiologie	OUMERZOUK Jawad	Neurologie
BOUHAMIDI Ahmed	Dermatologie	RAGGABI Amine	Neurologie
BOUTAKIOUTE Badr	Radiologie	RAISSI Abderrahim	Hématologie clinique
CHAHBI Zakaria	Maladies infectieuses	REBAHI Houssam	Anesthésie-réanimation
CHEGGOUR Mouna	Biochimie	RHEZALI Manal	Anesthésie-réanimation
CHETOUI Abdelkhalek	Cardiologie	ROUKHSI Redouane	Radiologie
CHETTATI Mariam	Néphrologie	SAHRAOUI Houssam Eddine	Anesthésie-réanimation
DAMI Abdallah	Médecine légale	SALLAHI Hicham	Traumatologie- orthopédie
DARFAOUI Mouna	Radiothérapie	SAYAGH Sanae	Hématologie
DOUIREK Fouzia	Anesthésie réanimation	SBAAI Mohammed	Parasitologie-mycologie
DOULHOUSNE Hassan	Radiologie	SBAI Asma	Informatique
EL-AKHIRI Mohammed	Oto- rhino- laryngologie	SEBBANI Majda	Médecine Communautaire (Médecine préventive, santé publique et hygiène)
EL AMIRI Moulay Ahmed	Chimie de coordination bio-organique	SIRBOU Rachid	Médecine d'urgence et de catastrophe
ELATIQI Oumkeltoum	Chirurgie réparatrice et plastique	SLIOUI Badr	Radiologie
ELBAZ Meriem	Pédiatrie	WARDA Karima	Microbiologie
EL FADLI Mohammed	Oncologie médicale	YAHYAOUI Hicham	Hématologie
EL FAKIRI Karima	Pédiatrie	YANISSE Siham	Pharmacie galénique
EL GAMRANI Younes	Gastro-entérologie	ZBITOU Mohamed Anas	Cardiologie
EL HAKKOUNI Awatif	Parasitologie-mycologie	ZIRAOUI Oualid	Chimie thérapeutique
ELJAMILI Mohammed	Cardiologie	ZOUIA Btissam	Radiologie
EL KHAASSOUI Amine	Chirurgie pédiatrique	ZOUIZRA Zahira	Chirurgie Cardio- vasculaire
ELOUARDI Youssef	Anesthésie-réanimation		

Liste Arrêtée Le 03/03/2022



*DÉDICACES*



*Toutes les lettres ne sauraient trouver les mots qu'il faut...  
Tous les mots ne sauraient exprimer ma gratitude,  
Mon amour, mon respect, et ma reconnaissance...  
Aussi, c'est tout simplement que...*



*Je dédie cette thèse à...*



*Tout d'abord à Allah,*

اللهم لك الحمد حمداً كثيراً طيباً مباركاً فيه حمد ظلتك ورضى نفسك ووزنة  
عرشك ومداد كلماتك اللهم لك الحمد ولك الشكر حتى ترضى ولك الحمد ولك  
الشكر عند الرضى ولك الحمد ولك الشكر دائماً وأبداً على نعمتك

*Louange à Dieu, Le tout puissant et miséricordieux qui m'a donnée le courage et  
la force nécessaires pour mener à bout ce projet, et qui m'a permis de voir ce  
jour tant attendu.*



***A ma très chère mère : fatima ouaddigh***

*A l'être le plus cher de ma vie, la source inépuisable de tendresse , de patience et de sacrifice . Quoi que je fasse ou je dise je ne saurai point te remercier comme il se doit. Ta présence à mes côtés a toujours été ma source de force pour affronter les différents obstacles de la vie. J'espère que ce travail te rendra fière de moi . Puisse dieu tout puissant te préserver et t'accorder santé longue vie et bonheur..je t'aime mama.*

***A mon très cher papa: le colonnel DAmiri Mohammed***

*Mon précieux offre du dieu qui doit ma vie, ma réussite, et tout mon respect à celui qui a toujours été à mes côtés pour m'encourager. Ton soutien fut une lumière dans tout mon parcours. Pourriez-vous trouver dans ce travail le fruit de ttes vos peines et tous vos efforts. En ce jour j'espère réaliser l'un de tes rêves. Je t'aime baba (Ah ykhlík lia!*

***A la mémoire de ma grande mère maternelle Zahra ouaddigh (lhajja zahra dokkalia)***

*Tu étais mon pilier, tu étais une épaule sur laquelle je pouvais me reposer.. J'aurai tellement aimé que tu sois à mes côtés en ce jour, tu es toujours présente dans mon esprit et dans mon coeur. En hommage à l'amour l'affection et la force que tu m'avais toujours apporté je te dédie cet humble travail, lah yrhmeķ lmima !*

***A mon grand amour: dr.Karim Boularbah***

*Tu es pour moi le mari, l'ami, l'amoureux... tu as toujours été présent à mes côtés, tu m'as encouragé conseillé et consolé. Ta patience ta compréhension to aide précieuse et ta bonté exemplaire m'ont permis de surmonter les moments les plus difficiles. Quoique je fasse je ne serai pas en mesure de récompenser tous les sacrifices pour rendre notre foyer équilibré et comblé. Merci por ton amour et ton soutien. Je t'aime!*

*A mes adorables jumeaux:*

*Ghaly Mohamed Boularbah et Yacout Fatima Boularbah :*

*Mes petits bouts d'amour, mes enfants chéris vous êtes ce que la vie m'a donné de plus beau. Etre votre maman est une joie sans nom, rien au monde ne peut égaler mon amour pour vous.*

*Je t'aime ma princesse touta*

*Je t'aime mon amour ghaly*

*A mon cher beau père : Dr M'hamed Boularbah*

*Vous avez été , vous êtes et vous serez encore pour de nombreuses années un beau père exceptionnel, merci de m'avoir accueilli dans votre maison à bras grands ouverts en me considérant comme l'une des vôtres. Je vous dédie ce travail en témoignage de mon grand respect et mon estime envers vous . Je t'aime Papi.*

*A la mémoire de ma belle mère Dr Loughani Fatima :*

*Le destin ne m'a pas laissé la chance de te rencontrer mais je sais que si tu étais parmi nous, tu aurais été heureuse et fiers. Que ton âmes reposent en paix. Que dieu tout puissant vous accorde sa clémence et sa miséricorde.*

**JE T'AIME MAMI FATIMA**

***A mes très chères sœurs :***

***-A ma grande sœur Saida Damiri***

*A ma deuxième maman Je ne saurai traduire sur du papier l'affection que j'ai pour Toi , je n'oublierai jamais ces merveilleux moments passée ensemble, j'implore Allah de te réserver un avenir meilleur , Je t'aime*

*DADA*

***-A ma chère Amina***

*A ma jumelle , ma moitié , celle qui me comprend sans avoir besoin de parler , tu as toujours été a mes cotes , je te souhaites tout le bonheur dans ta vie professionnelle et personnelle .Je t'aime ma copine MINA*

***-A ma petite sœur AYA***

*A mon 1<sup>er</sup> bébé , la joie de toute la famille, merci pour Ta bonté, ton encouragement, ton amour et ton affection,. je te souhaite un avenir*

*radieux plein de réussite 사랑해요 AYOU*

***-A ma belle sœur Leila boularbah***

*A ma YAYA , a la seule et unique illy de papi . je n'oublierais jamais ton encouragement et ton soutien, tu comptes énormément pour moi, Ton bonheur me tiens a cœur et je t'aime lilou*

***Je vous dédie ce travail en témoignage de mon grand respect et mon estime envers vous.***

***A mon beau frère: le colonnel Salah Boukhari***

*J'espère que vous retrouvez dans la dédicace de ce travail, le témoignage de mes sentiments sincères et de mes vœux de santé et de bonheur.*

***A mon petit neveu Ryad:***

*Les mots et les phrases ne suffisent pour exprimer mes sentiments. Je t'aime mon trésor, et que le dieu , tout puissant , puisse te protéger et t'accorder bonheur, santé et réussite.*

*-A la mémoire de mon ami Hamza Chaib*

*Gone but never forgotten <3*

*-A mes amis et collègues :*

*Zaynab Charafi ,Hajar Benfadila ,Chiki Younes ,Leila Chemaou ,Younes  
Abaaquil ,soufiane ait essi ,Asmae Khaoua,soukaina casanova....*

*Nous avons vécu ensemble des moments inoubliable nos sourire et nos colères ,  
nos déceptions et nos motivations ,constitueront a jamais mes plus belles années  
je vous aime*





*REMERCIEMENTS*



A NOTRE MAITRE ET PRESIDENTE DE THESE PROFESSEUR  
ARSALANE LAMIAE: PROFESSEUR DE BACTERIOLOGIE-VIROLOGIE  
HOPITAL MILITAIRE AVICENNE MARRAKECH

*Nous vous remercions de l'honneur que vous nous avez fait en acceptant de présider notre jury. nous vous sommes très reconnaissant de bien vouloir porter intérêt à ce travail. veuillez trouver ici Professeur l'expression de nos sincères remerciements.*

A NOTRE MAITRE ET RAPPORTEUR DE THESE PROFESSEUR  
QAMOUS YOUSSEF: PROFESSEUR EN ANESTHESIE REANIMATION  
CHEF DE SERVICE D'ANESTHESIOLOGIE HOPITAL MILITAIRE  
AVICENNE MARRAKECH.

*Vous m'avez fait un grand honneur en acceptant de me confier ce travail . Je vous remercie de votre patience, votre disponibilité, de vos encouragements et de vos précieux conseils dans la réalisation de ce travail. Je suis tres fière d'avoir appris auprès de vous et j'espère avoir été a la hauteur de votre attente*

A NOTRE JUGE DE THESE DR.AYOUB BELHADJ ANESTHESISTE-  
REANIMATEUR:

*Vous m'avez fait l'honneur d'accepter de faire part de cet honorable jury. Nous vous prions d'accepter le témoignage de notre reconnaissance et l'assurance de nos sentiments respectueux,*



*ABBREVIATIONS*



## Liste des abréviations :

LCR : liquide céphalorachidien

HMA : hôpital militaire Avicenne

SSC : single strand conformation polymorphism

DGGE: denaturing gradient gel electrophoresis

HA : heteroduplex analysis

DHPLC : denaturing high performance liquid chromatography.

AN : acide nucléique

EDTA : Ethylènediamine- tétra-acétate

SDS : tensio-actifs comme le sodium-dodécyl-sulfate

PCR : Polymerase Chain Reaction

AND : Acide DésoxyriboNucléique

ARN : Acide ribonucléique

FRET : fluorescence resonance energy transfert

TMA : La Transcription-mediated amplification

SDA : La strand displacement amplification

CPT : cycling probe technology

l'HDA :helicase-dependent amplification

MLPA : multiplex ligation-dependent probe amplification

FISH : fluorescent in situ hybridization

CMV : cytomegalovirus

HHV : Human herpes virus

HSV : Herpes simplex virus



# *PLAN*



<b>INTRODUCTION</b>	<b>1</b>
<b>MATERIELS ET METHODES</b>	<b>3</b>
<b>RESULTATS</b>	<b>14</b>
<b>I. Epidémiologie</b>	<b>15</b>
1. Age	15
2. Sexe	15
3. Provenance	16
<b>II. Données cliniques</b>	<b>17</b>
1. Antécédents	17
2. Mode de début	18
3. Signes cliniques	19
4. Examen clinique à l'admission	19
<b>III. Diagnostic microbiologique</b>	<b>21</b>
1. Examen du LCR au laboratoire	21
2. Analyse du LCR par biologie moléculaire	22
<b>DISCUSSION</b>	<b>23</b>
<b>I. Techniques de biologie moléculaire appliquées en microbiologie</b>	<b>24</b>
1. Préparation des échantillons	25
2. Techniques d'amplification	29
<b>II. Epidémiologie</b>	<b>47</b>
1. Fréquence	47
2. Age	49
3. Sexe	50
<b>III. Démarche diagnostique</b>	<b>51</b>
1. Clinique	51
2. Etude du LCR	52
<b>IV. Prise en charge :</b>	<b>65</b>
1. Critères d'hospitalisation d'une méningite	65
2. Approche thérapeutique	67
<b>PREVENTION</b>	<b>70</b>
<b>CONCLUSION</b>	<b>73</b>
<b>RESUMES</b>	<b>76</b>
<b>ANNEXES</b>	<b>80</b>
<b>BIBLIOGRAPHIE</b>	<b>85</b>



---

# *INTRODUCTION*





La méningite est une inflammation des enveloppes cérébrales, entraînant des anomalies du liquide céphalorachidien (LCR). Ce processus s'étend dans tout l'espace sous-arachnoïdien du cerveau à la moelle épinière. De très nombreux agents infectieux ont été rapportés comme responsables d'une méningite [1].

Les formes bactériennes sont les plus graves en raison de leur létalité et des graves séquelles qu'elles peuvent engendrer (Surdité, épilepsie, déficits moteurs, retards mentaux, voire amputations). De ce fait, ce sont des urgences cliniques et thérapeutiques.

L'approche syndromique est une nouvelle méthode de diagnostic des maladies infectieuses qui permet de rechercher simultanément et en un seul test l'ensemble des microorganismes les plus fréquemment responsables d'une infection. Les techniques moléculaires actuellement développées (PCR simplex, multiplex) constituent un progrès important pour le diagnostic des infections respiratoires correspondant aux besoins et attentes des cliniciens.

La plateforme multiplex actuellement disponible (BioFire Filmarray Meningitis/Encephalitis) permet de distinguer rapidement les infections virales des infections bactériennes favorisant ainsi la mise en place d'une stratégie thérapeutique ciblée précocement sur le pathogène responsable avec pour conséquence une faible pression de sélection sur les antibiotiques et un meilleur pronostic pour le malade. [2]

Le but de notre travail est de rapporter l'expérience du service de réanimation de l'hôpital militaire Avicenne (HMA) de Marrakech dans le diagnostic étiologique des méningites par PCR multiplex.



---

*MATERIELS ET METHODES*



## **I. Patients :**

Notre travail est une étude rétrospective portant sur 30 cas de méningite infectieuse admis et hospitalisés au service de réanimation de l'hôpital militaire Avicenne (HMA) de Marrakech sur une période de 3 ans depuis janvier 2018 jusqu'au aout 2021 .

### **1. Critères d'inclusion :**

Nous avons inclus dans l'étude :

- Les patients adultes dont l'âge était  $\geq$  à 16ans.
- Les patients présentant une méningite bactérienne avec preuve bactériologique y compris la biologie moléculaire.
- Dossier exploitable.

### **2. Critères d'exclusion :**

Dossier non exploitable.

## **II. Méthodes :**

### **1. La collecte des données**

Les données ont été collectées à partir des dossiers des patients à l'aide d'une fiche d'exploitation (annexe1) incluant les données :

- ✚ Epidémiologiques
- ✚ Cliniques
- ✚ Paracliniques
- ✚ Thérapeutiques
- ✚ Et évolutifs

## 2. Analyse des données :

Les données ainsi recueillies ont été saisies et analysées avec le logiciel Microsoft Excel 2016.

## 3. Considérations éthiques :

Les dossiers ainsi que les données recueillis dans notre étude ont été gardés confidentiellement

## III. Analyse par PCR du LCR recueilli par ponction lombaire :

Le FilmArray Méningitis/Encephalitis Panel (panel méningite/encéphalite FilmArray) effectue simultanément les analyses de 14 virus, bactéries et levures (tableau I). L'instrument FilmArray intègre la préparation de l'échantillon, l'amplification, la détection et l'analyse dans un système simple

**Tableau I : Exemples de pathogènes pour lesquels une PCR peut être indiquée pour le diagnostic d'une méningite : [3]**

Bactéries	Virus	Levures
Escherichia coli K1 Haemophilus influenzae Listeria monocytogenes Neisseria meningitidis Streptococcus agalactiae Streptococcus pneumoniae	Cytomegalovirus (CMV) Enterovirus Herpes simplex virus 1 (HSV-1) Herpes simplex virus 2 (HSV-2) Human herpes virus 6 (HHV-6) Human parechovirus Varicella zoster virus (VZV)	Cryptococcus neoformans/gattii

## 1. Prélèvement :

L'étude se fait sur des prélèvements de LCR réalisés par des ponctions lombaires par trocart adapté (Figure 1), recueillis sur tubes stériles (figure 2).

Quelle place de la biologie moléculaire dans le diagnostic des méningites infectieuses en réanimation.



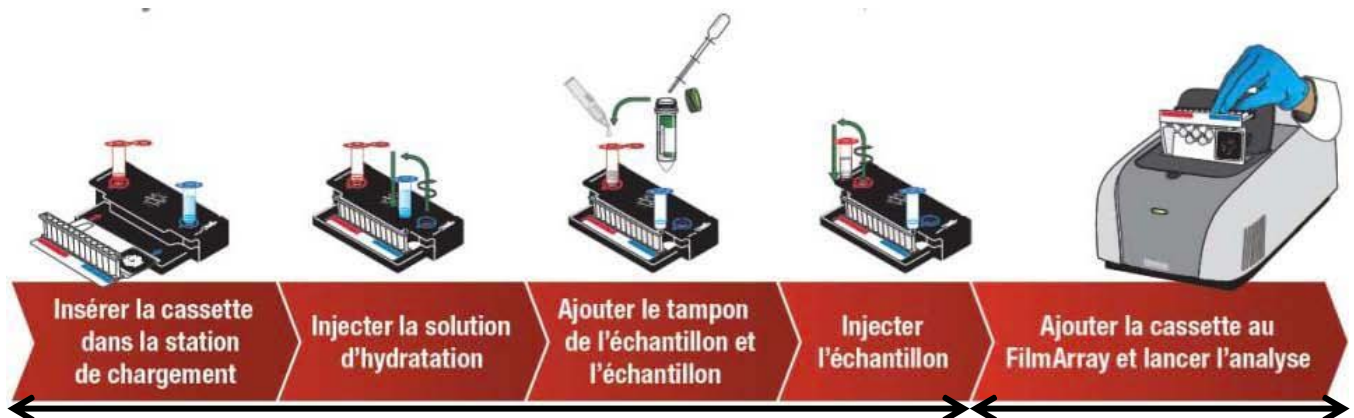
**Figure 1 : Trocart pour PL [10]**



**Figure 2 : Tube stérile à LCR [11]**

## 2. Principe :

### 2.1 Préparation :



Préparation de l'échantillon et de la cassette = 2 min à 60 min La cassette FilmArray (Figure 3) contient tous les réactifs sous forme lyophilisée nécessaires pour l'extraction, la PCR et la détection. L'échantillon est recueilli dans un milieu de transport viral. Avant l'analyse, on prépare la cassette en y injectant la solution d'hydratation et l'échantillon combiné avec son tampon.

La Station de chargement de la cassette (Figure 4) a été conçue pour éviter les erreurs, en fournissant des instructions et des indications visuelles sous la forme de flèches de couleur, afin de garantir le chargement correct de la cassette. Elle contient 2 puits : le bleu où on introduit le flacon d'injection d'hydratation et le rouge pour le flacon de l'échantillon.

Quelle place de la biologie moléculaire dans le diagnostic des méningites infectieuses en réanimation.

---

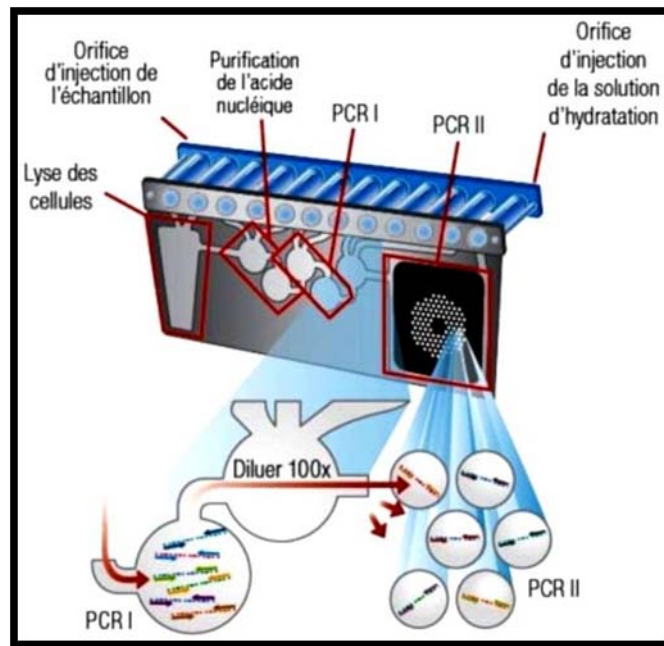
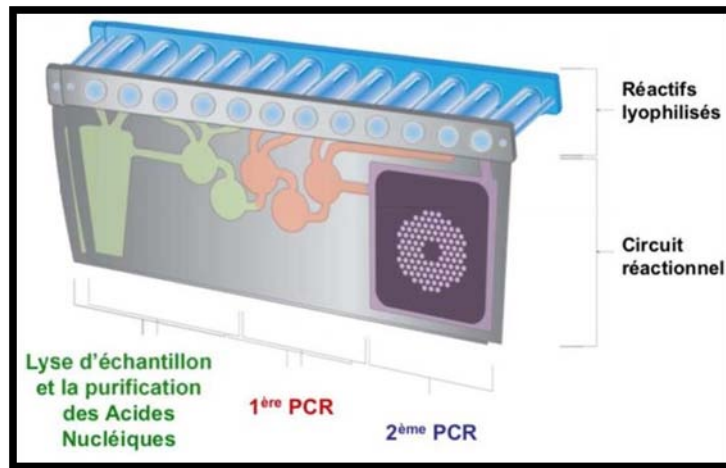


Figure 3 : cassette FilmArray®

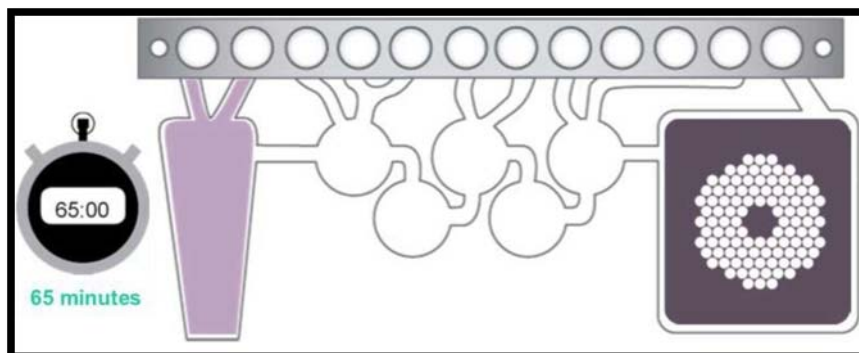


Figure 4 : station de chargement de la cassette Les étapes de préparation de l'échantillon et de la cassette sont les suivantes :

2.2 Extraction et purification :



Cassette Filmarray<sup>®</sup>



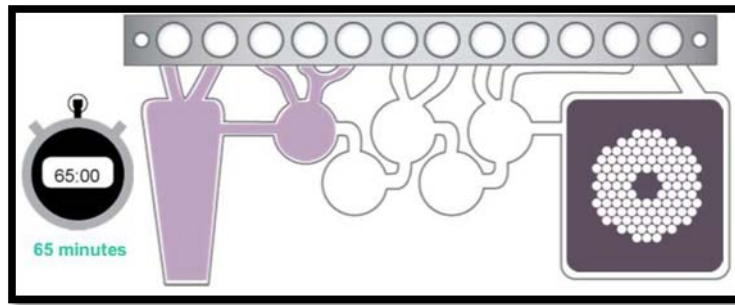
1. L'échantillon se déplace dans la chambre de lyse. Les cellules et les agents pathogènes sont lysés par broyage avec les billes céramiques, libérant des acides nucléiques.



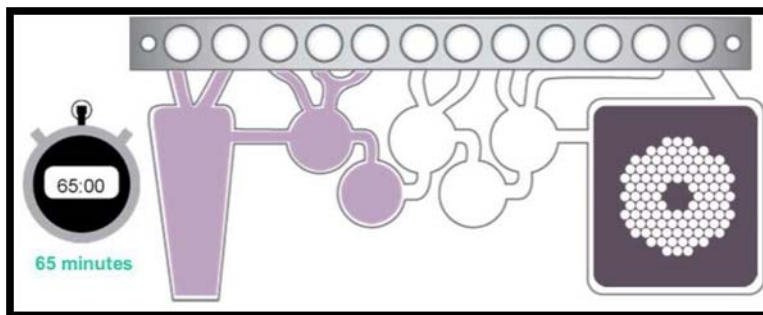
---

Quelle place de la biologie moléculaire dans le diagnostic des méningites infectieuses en réanimation.

---



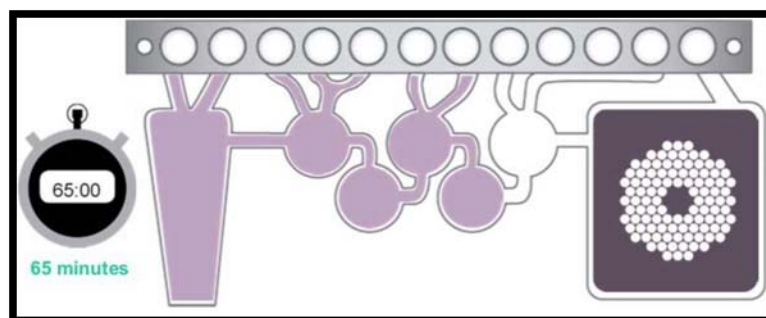
2. Les acides nucléiques capturés par les billes magnétiques se déplacent vers la chambre de purification. Les étapes de lavage permettent d'éliminer les débris cellulaires et



viraux.

3. Le tampon d'éluion permet de séparer les acides nucléiques purs des billes magnétiques.

**2.3 Amplification**



4. Les acides nucléiques se déplacent vers la chambre de la 1ère PCR. L'étape de la

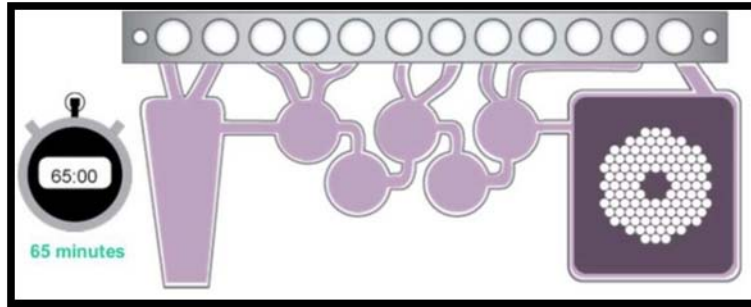
---

**Quelle place de la biologie moléculaire dans le diagnostic des méningites infectieuses en réanimation.**

---

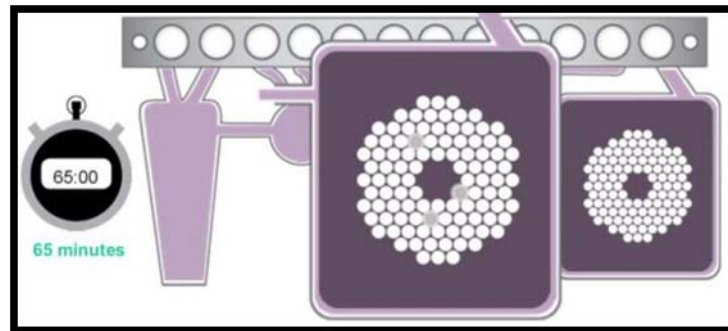
transcription reverse est suivie de la PCR multiplex avec des dizaines d'amorces.

5. Les produits de la première PCR sont dilués afin d'éliminer les amorces de PCR restantes.



6. Les produits dilués sont mélangés avec de nouveaux réactifs de PCR. Ce mélange est distribué dans chaque puits.

**2.4 Détection :**

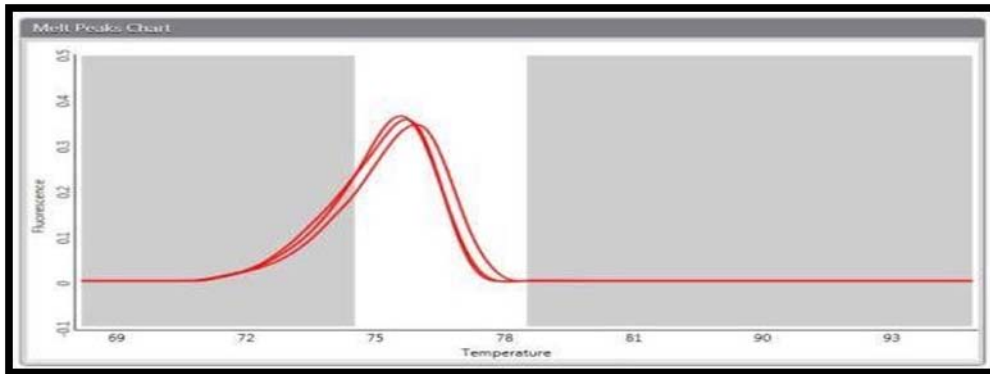


7. Chaque puits contient un couple d'amorces pour la deuxième PCR permettant l'amplification spécifique de l'ADN cible. Un agent intercalant fluorescent permet la détection de l'ADN double-brin amplifié.

**2.5 Interprétation :**

Trois critères sont nécessaires :

1. Au moins 2 des 3 courbes de fusion positives
2. Point de fusion dans la plage spécifique du test
3. Point de fusion d'au moins 2 des 3 courbes similaires (à 1°C).



**Figure 5: Courbes de fusion positives**

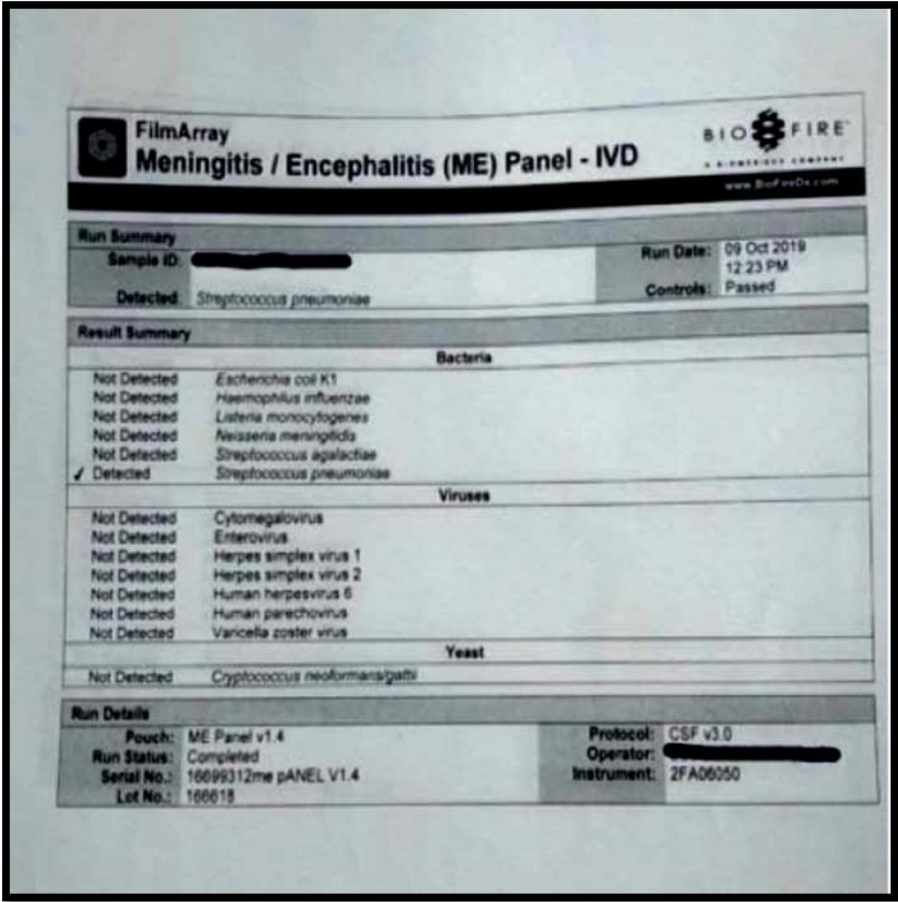


Figure 6 : Exemple de Résultat Filmarray



---

## *RESULTATS*



## I. Epidémiologie :

### 1. Age :

Dans notre étude l'âge moyen était de 38,6 ans avec des extrêmes allant de 18 à 75ans.

La tranche d'âge la plus fréquente était celle comprise entre 20 et 40 ans avec un taux de 55%.

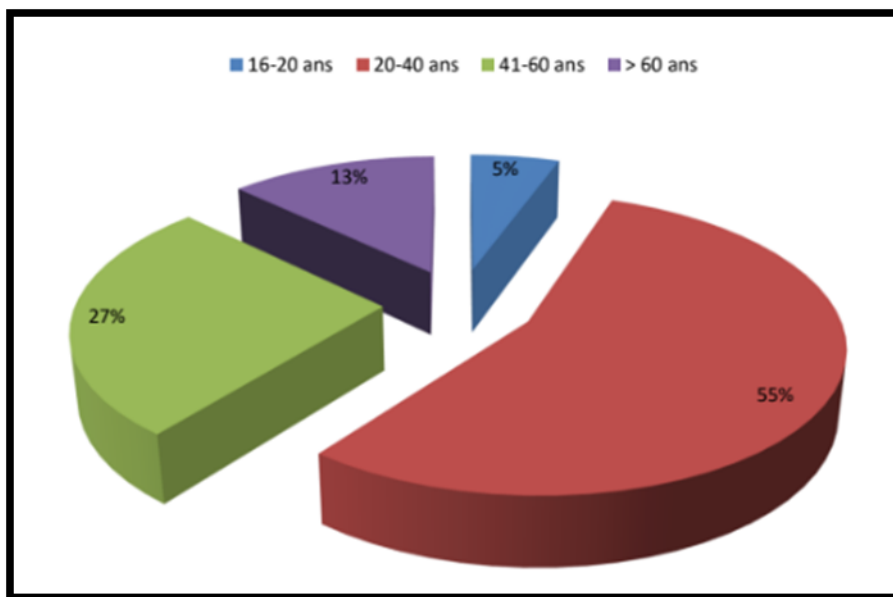
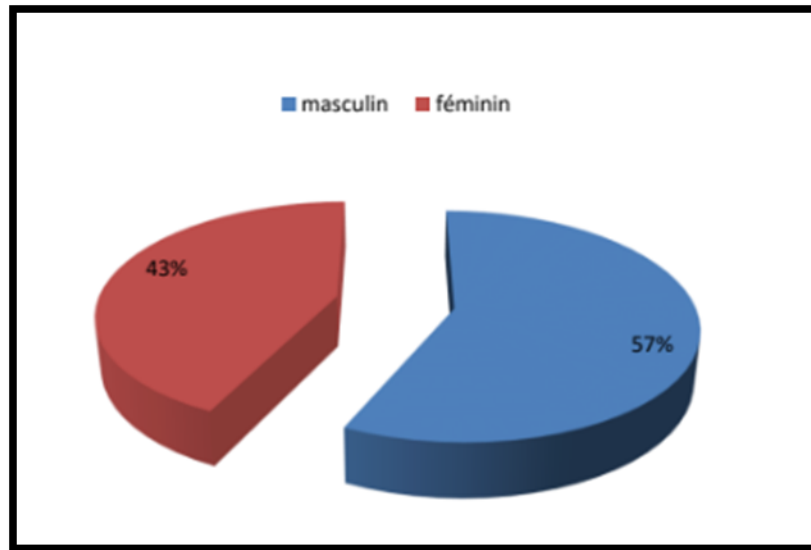


Figure 7 : répartition selon l'âge.

### 2. Sexe :

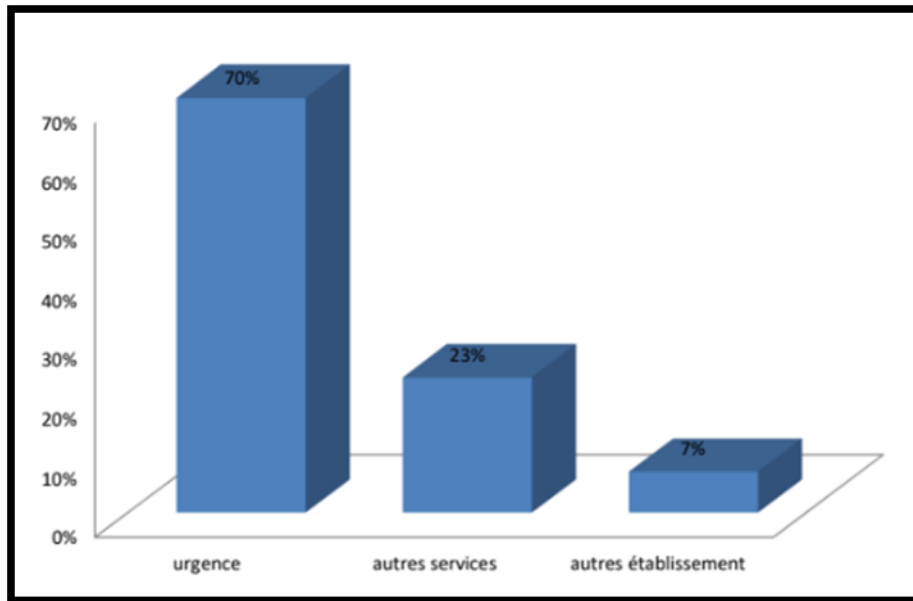
Dans notre étude 17 cas étaient de sexe masculin (57%) et 13 cas de sexe féminin (43%) avec un sexe ratio H/F= 1,3.



**Figure 8 : répartition selon le sexe.**

### **3. Provenance :**

Dans notre étude , 21 cas étaient admis aux urgences soit 70%, 7 cas étaient transférés d'autres services de l'hôpital (23%) et 3 cas provenaient d'autres structures sanitaires (7%).



**Figure 9 : répartition selon la provenance.**

## **II. Données cliniques :**

### **1. Antécédents :**

Dans notre étude , l'anamnèse a révélé les antécédents médicaux suivants :

- 4 cas d'hypertension artérielle (14%)
- 3 cas de pneumopathie (7%)
- 3 cas de cholécystectomie (7%)
- 3 cas de diabète (7%)
- 2 cas d'appendicectomie (6%)
- 2 cas d'otite-sinusite (6%)
- 1 cas méningite (3%)
- 1 cas brèche ostéo-méningée (3%)
- 1 cas de traumatisme crâne (3%)
- 1 cas de calcul rénal (3%)
- 1 cas tuberculose pulmonaire (3%)



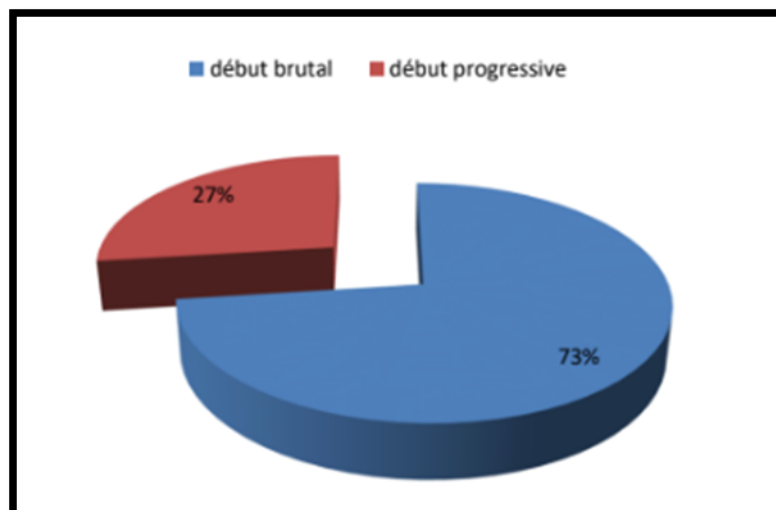
- 1 cas d'asthme (3%)
- 1 : répartition selon les antécédents.

**Tableau I : répartition selon les antécédents**

Antécédents	Effectif	Pourcentage
hypertension artérielle	4	14%
pneumopathie	3	7%
cholécystectomie diabète	3	7%
appendicectomie	3	7%
otite-sinusite	2	6%
méningite	2	6%
brèche ostéo-méningée	1	3%
traumatisme crâne	1	3%
calcul rénal	1	3%
tuberculose pulmonaire	1	3%
asthma	1	3%

## **2. Mode de début :**

Dans notre étude la symptomatologie était d'installation brutale dans 22 cas (73%) et progressive dans 8 cas (27%).



**Figure 10 : répartition selon le mode de début.**

### 3. Signes cliniques :

Dans notre étude les signes cliniques étaient comme suivant :

27 cas avaient des céphalées (90%) , la fièvre dans 25 cas (83%), les vomissements dans 17 cas (56%) ,photophobie dans 17 cas (56%),la confusion dans 19 cas (63%) et des convulsions dans 6 cas (20%).

**Tableau II : répartition selon les signes cliniques.**

Signes cliniques	Effectif	Pourcentage
Céphalées	27	90%
Fièvre	25	83%
Vomissements	17	56%
Photophobie	17	56%
Confusion	19	63%
Convulsion	6	20%

### 4. Examen clinique à l'admission :

#### a. Score de Glasgow :

Dans notre étude, le score de Glasgow était :

- Inférieur à 8/15 dans 9 cas (30%)
- Entre 8/15 et 12/15 dans 15 cas (50%)
- Supérieur à 12/15 dans 6 cas (**20%**)

**Tableau III : répartition selon le score de Glasgow.**

	Effectif	Pourcentage
Inférieur à 8/15	9	30%
8/15 -12/15	15	50%
Supérieur à 12/15	6	20%

**b. Signes physiques :**

=> Syndrome méningé :

Des signes méningés avaient été retrouvés chez 25 patients (83%), dont :

- ✓ Syndrome méningée typique : retrouvé chez 16 patients (53%).
- ✓ Syndrome méningée compliqué ou associé à :
  - des signes de focalisation chez 3 patients (10%).
  - Une convulsion chez 6 patients (20%).

=> *Signes associés :*

Dans notre étude, l'examen clinique a objectivé :

- Un foyer de pneumopathie dans 3 cas (7%)
- Otite dans 1 cas (3%)
- Sinusite dans 1 cas (3%)
- purpura dans 2 cas (6%).

**Tableau IV : répartition selon les signes physiques.**

	Signes physiques	Effectif	Pourcentage
Syndrome méningé	Typique	16	53%
	Complicé ou associé	9	30%
Signes associés	pneumopathie	3	7%
	Otite	1	3%
	Sinusite	1	3%
	purpura	2	6%

### III. Diagnostic microbiologique :

#### 1. Examen du LCR au laboratoire :

##### a. Aspect :

Le liquide céphalo-rachidien était d'aspect :

- Clair dans 7 cas soit 23,5%.
- Trouble dans 17 cas (56,5%)
- Purulent dans 5 cas (17%)
- Et hématique dans 1 cas (3%)

**Tableau V : répartition selon l'aspect macroscopique du LCR.**

Aspect	Effectif	Pourcentage
Clair	7	23 ,5%
Trouble	17	56,5%
Purulent	5	17%
Hématique	1	3%

##### b. Cytologie :

La cellularité moyenne à l'examen microscopique était de 4835 élément/mm<sup>3</sup>, avec des extrêmes allant de 10 éléments à 31000.

Une prédominance PNN était présente dans 70% des cas.

##### c. Biochimie :

###### c.1. Protéïnorachie :

Le taux moyen de la protéïnorachie était de 3,18g/l avec des extrêmes allant de 0,26 à 9,43g/l.

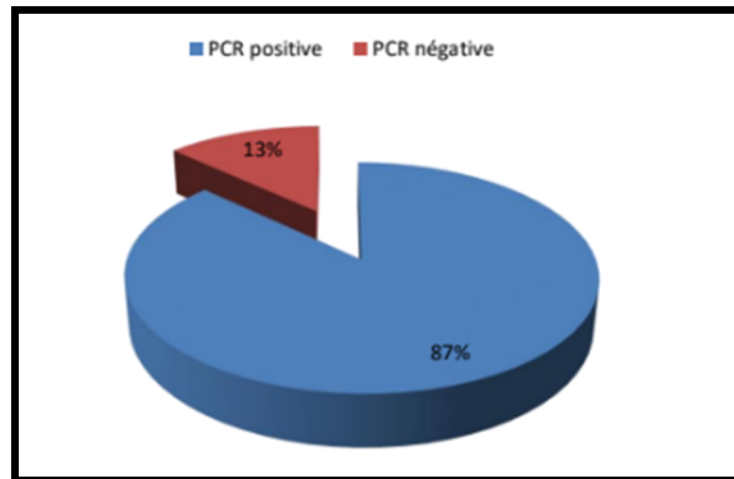
###### c.2. rapport glucorachie/glycémie :

Sa valeur moyenne est de 0,27 avec des extrêmes allant de 0,11 jusqu'à 0,63.

## 2. Analyse du LCR par biologie moléculaire :

### a. Taux de positivité :

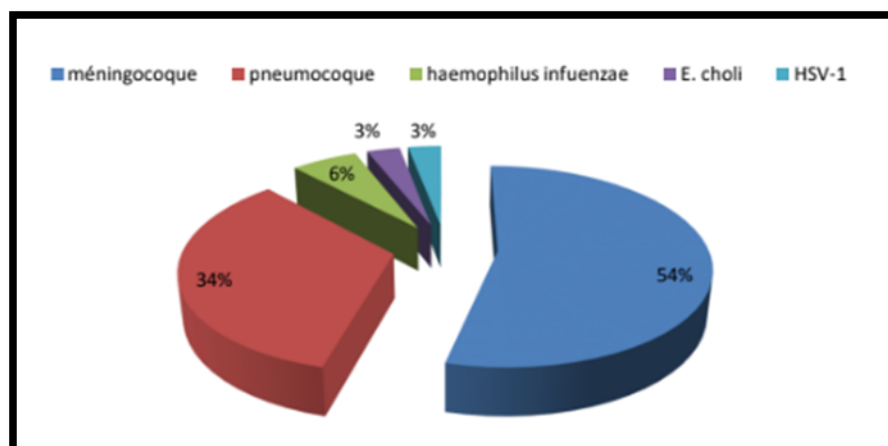
Dans notre étude le taux de positivité était de 87% soit 26 cas.



**Figure 11 : répartition selon le taux de positivité de la PCR.**

### b. Agent pathogène :

Le Méningocoque était le germe le plus fréquent avec un taux de 16 cas (54%) suivi du Pneumocoque dans 10 cas (34%), l'Haemophilus influenzae dans 2 cas (6%), Escherichia coli dans 1 cas (3%) et l'herpès virus (HSV) dans 1 cas (3%)



**Figure 12 : répartition selon l'agent pathogène détecté à la PCR.**

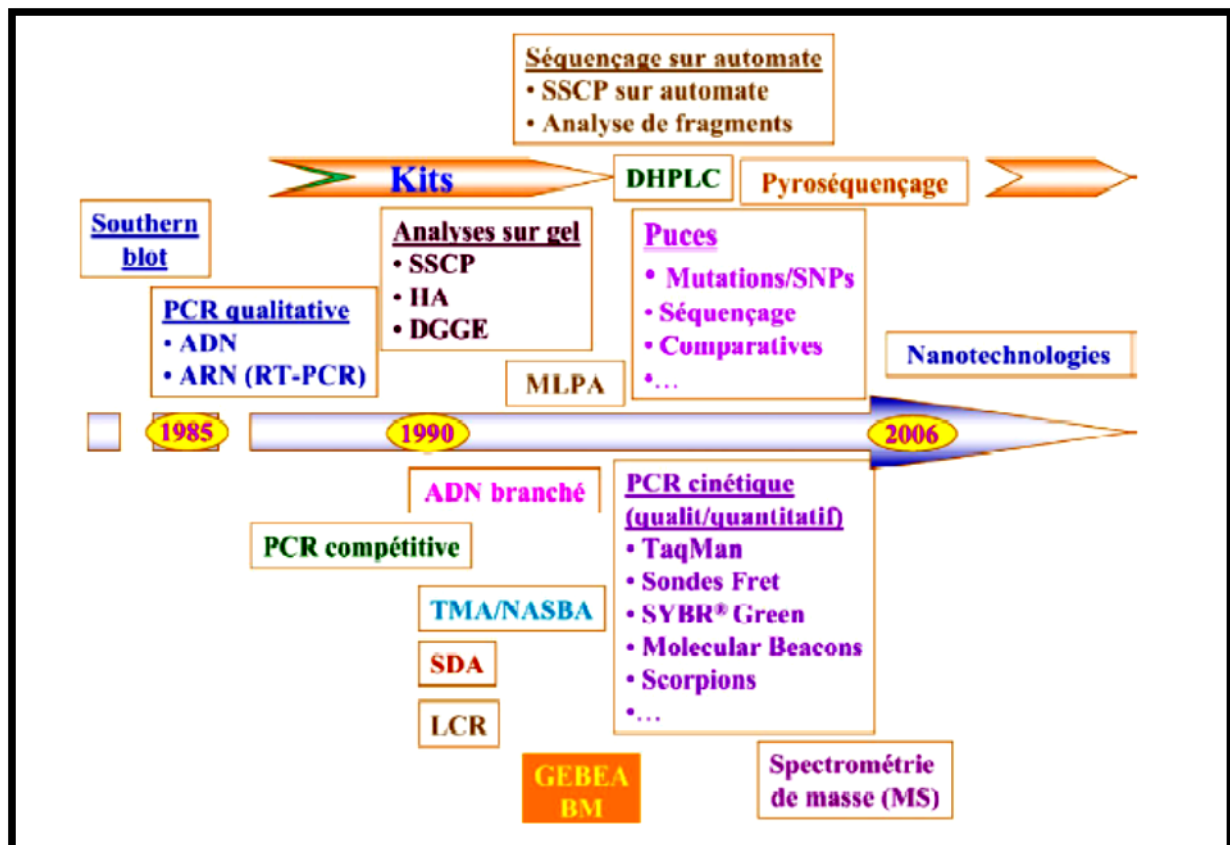


## *DISCUSSION*



## I. Techniques de biologie moléculaire appliquées en microbiologie :

Les techniques de biologie moléculaire évoluent rapidement (figure 13). Leurs principes et indications varient selon les applications. Bien que ces nombreuses techniques soient différentes, elles présentent toutes des avantages et des inconvénients communs.

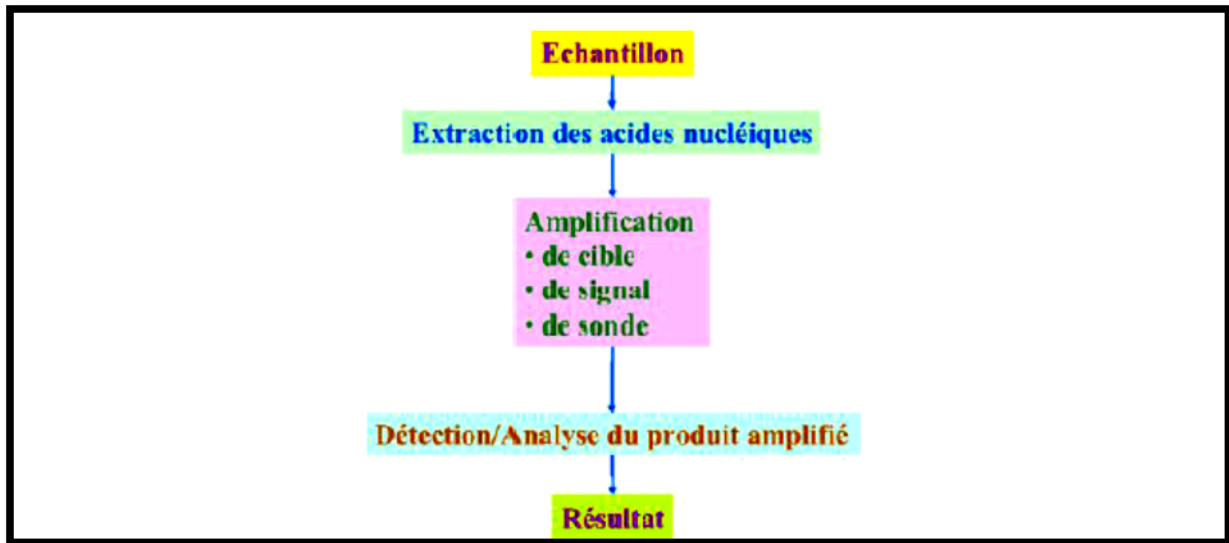


**Figure 13 : Évolution des techniques de biologie moléculaire depuis la PCR à nos jours [1].**

SSCP: single strand conformation polymorphism; DGGE: denaturing gradient gel electrophoresis;

HA: heteroduplex analysis; DHPLC: denaturing high performance liquid chromatography.

De manière générale, après l'extraction des AN, ces derniers doivent être amplifiés avant d'être analysés (figure 14). Nous allons donc brièvement rappeler les techniques d'extraction.



**Figure 14 : Principales étapes d'analyse d'un échantillon en biologie moléculaire [1].**

### **1. Préparation des échantillons [1, 2]**

Divers échantillons biologiques peuvent être utilisés en biologie moléculaire. La libération des AN des bactéries à détecter est un préalable indispensable. Par ailleurs, il faut empêcher la dégradation des AN libres, éliminer les inhibiteurs des réactions d'amplification ou d'hybridation et utiliser un tampon approprié aux réactions de biologie moléculaire à effectuer.

Il est nécessaire d'adapter le volume d'échantillon et de le concentrer éventuellement selon la sensibilité de la technique utilisée et selon le nombre de bactéries présentes dans l'échantillon s'il est connu.

- **Prélèvements sanguins** : L'anticoagulant généralement utilisé est l'éthylènediamine-tétra-acétate (EDTA) ou le citrate trisodique. Il faut éviter l'héparine qui inhibe les polymérases.
- **Urines** : Les urines contiennent fréquemment des inhibiteurs dont la nature exacte n'est pas connue.
- **Liquide céphalo-rachidien (LCR)** : Des inhibiteurs des ADN polymérases qui sont souvent présents dans ce type de prélèvement.
- **Selles**



- **Prélèvements respiratoires**
- **Autres prélèvements** : De nombreux autres prélèvements (biopsies, pus, abcès, ulcères...) peuvent faire l'objet d'une détection d'ADN spécifique. Il est possible de réaliser des tests de biologie moléculaire sur des prélèvements fixés, formolés ou paraffinés.

### **1.1 Techniques de lyse bactérienne [2]**

La procédure de lyse bactérienne doit être adaptée à l'espèce cible. Des techniques spécifiques doivent être utilisées pour les bactéries résistantes comme les mycobactéries ou pour certaines bactéries à coloration à Gram positif. Il faudra également tenir compte de la nature du matériel génétique cible, ARN ou ADN, et éviter les réactions non spécifiques en réalisant une extraction adaptée des AN, l'ébullition ou la lyse alcaline peut entraîner la formation d'ADN simple brin, plus sujet à se fixer de manière non spécifique dans des conditions de basse stringence.

#### **1.1-1 Méthodes physiques**

Le choc thermique est encore employé, les autres techniques comme les ultra-sons, les billes de verre ; le broyage en gel d'alumine, four à micro-ondes, presse de French restent anecdotiques.

#### **1.1-2 Méthodes chimiques**

La lyse alcaline permet en deuxième intention de lyser des bactéries résistantes par des protocoles utilisant la soude à basse molarité à des températures élevées.

#### **1.1-3 Méthodes enzymatiques**

Ces méthodes s'effectuent en utilisant plusieurs enzymes tels que la protéinase k, le lysozyme, l'achromopeptidase, la pronase, et la lysostaphine.

#### **1.1-4 Méthodes utilisant les tensioactifs**

Les tensio-actifs comme le sodium-dodécyl-sulfate (SDS) à 0,5%, le Tween 20 ou le Nonidet P40 sont utilisés dans les autres protocoles agissent en déstabilisant les édifices lipido-protéiques des enveloppes bactériennes et en sensibilisant les micro-organismes aux traitements lytiques.

## **1.2 Techniques d'extraction [3-6]**

Il est nécessaire de fournir au système d'analyse des AN dont la qualité est compatible avec les tests de biologie moléculaire à effectuer. Il n'existe pas de procédé universel et simple de préparation du spécimen : la méthode optimale n'est en fait qu'un compromis prenant en compte la nature de l'échantillon ainsi que celle de l'AN cible et la méthode d'analyse qui sera utilisée en aval. De plus, elle doit pouvoir garantir la sensibilité du test, ce qui est primordial dans les applications où l'on cherche à détecter de faibles concentrations d'AN (bactériologie, virologie, maladie résiduelle). Un certain nombre de facteurs jouent sur cette sensibilité en particulier la présence possible au sein du spécimen de substances à l'origine d'interférences, d'inhibiteurs des enzymes utilisées (inhibiteurs de la taq polymérase), de nucléases pouvant dégrader les AN, l'ARN y étant particulièrement sensible.

Un autre élément est essentiel dans ce domaine : il s'agit du volume (ou de la taille) de l'échantillon à analyser. En effet le nombre de copies obtenues après la phase de préparation du spécimen conditionne la sensibilité globale de la méthode. La procédure de lyse bactérienne doit être adaptée à l'espèce cible, des techniques spécifiques doivent être utilisées pour les bactéries résistantes comme les mycobactéries ou pour certaines bactéries à coloration Gram positif.

### **1.1-5 Méthodes manuelles**

Les protocoles manuels classiques d'extraction des AN développés aux laboratoires étaient généralement trop lents, difficiles à effectuer et sensibles à la contamination. Il est bien connu que la probabilité de résultats faussement positifs en raison de la contamination augmente par rapport au nombre de manipulations effectuées dans le traitement des échantillons. En outre ces protocoles impliquent des réactifs dangereux. Il existe plusieurs méthodes mais la plus utilisée est l'extraction au phénol-chloroforme, avec ou sans digestion par protéinase K, et l'alcool pour la précipitation. Si l'éthanol pour la précipitation des AN n'a pas été correctement éliminé, les résidus d'éthanol ont été responsables de l'inhibition de l'amplification ultérieure. Les protocoles d'extraction d'ARN ont été encore plus laborieux que ceux de l'ADN. Pour ces raisons ces protocoles ont ainsi été largement remplacés par des kits disponibles en commerce.

Les méthodes classiques d'extraction des AN sont nombreuses et chaque laboratoire choisi celle qui répond le plus à ces exigences, on citera seulement les méthodes les plus utilisées (Extraction au guanidinium–thiocyanate–phénol–chloroforme, Extraction alcaline,

Extraction à l'ethidium (EtBr)–Césium chloride (CsCl) et la Purification du Poly (A)+ ARN par chromatographie à l'Oligp (dt)–cellulose).

#### **1.1-6 Méthodes automatisées**

Aujourd'hui, on trouve l'extraction des AN en phase solide dans la majorité des kits commercialisés au marché. Comparées aux méthodes classiques, elles permettent une purification rapide et efficace. Elles fournissent une diminution significative du temps de manipulation, évitent les risques potentiels causés par des réactifs toxiques et montrent de manière significative une plus grande commodité et facilité d'utilisation. Idéalement, la plateforme automatisée permet d'éviter les tâches manuelles à partir du moment du chargement de l'échantillon du patient jusqu'à l'extrait complet de l'AN permettant à l'opérateur de faire d'autres tâches. Une préoccupation majeure dans la mise en oeuvre des plateformes d'extraction automatisées des AN est le risque potentiel de contamination croisée à la suite des aérosols, des fuites pipette, de la robotique défectueuse, ou d'erreur robotique.

Toutefois, les plateformes de dernière génération gardent la manipulation d'échantillon à un minimum et beaucoup d'entre eux offrent des conditions fermées, la preuve de la contamination croisée n'a pas été observée à ce jour. Dans la routine du diagnostic de laboratoire, les plateformes automatisées d'extraction des AN commercialement disponibles fournissent une fiabilité accrue et une répétitivité en comparaison avec les protocoles manuels.

Ces appareils font l'objet de nombreux achats car ils se substituent à une méthode manuelle pratiquée sous hotte, ils se caractérisent par quelques caractéristiques principales :

- Degré d'automatisation : certains modèles peuvent être qualifiés de « semiautomates » car ils ne permettent pas de travailler à partir du tube primaire et ils ne préparent pas le mélange de réactifs nécessaires à l'étape suivante (PCR grâce à un mix PCR).

- Volume d'échantillon autorisé : un volume faible (0,25 à 2 ml) est requis pour les extractions en infectiologie alors que des volumes plus élevés (5 à 10 ml) sont requis pour des applications sur les banques de cellules en génétique ou en hématologie.
- Importance de l'activité traitée : le nombre d'échantillon extrait en parallèle peut varier de 6 jusqu'à 96 (format microplaques) ; dans le groupe des appareils à microplaques, ceux dont les aiguilles de prélèvement sont indépendantes offrent une souplesse et une productivité plus importante.
- Polyvalence : certains appareils n'offrent pas le choix de la technologie d'extraction (billes de silice magnétiques ou gel de silice en colonne) ; dans le cas des colonnes, un module pompe à vide est requis afin d'assurer la dépression à travers la colonne.

## **2. Techniques d'amplification**

### **2.1 Amplification par cycles thermiques**

#### **2.1-1 Réaction de polymérase en chaîne ou PCR [1]**

La PCR (figure 15) déjà bien connue a été largement décrite dans de nombreux articles.

Cette technique est basée sur l'utilisation d'une enzyme thermorésistante, l'ADN polymérase (la plus connue étant la Taq ADN polymérase) qui recopie en de nombreux exemplaires l'ADN cible à l'aide de deux amorces complémentaires respectivement des brins sens et antisens. Le processus d'amplification est exponentiel. Chaque cycle aboutit à la formation de deux copies par brin.

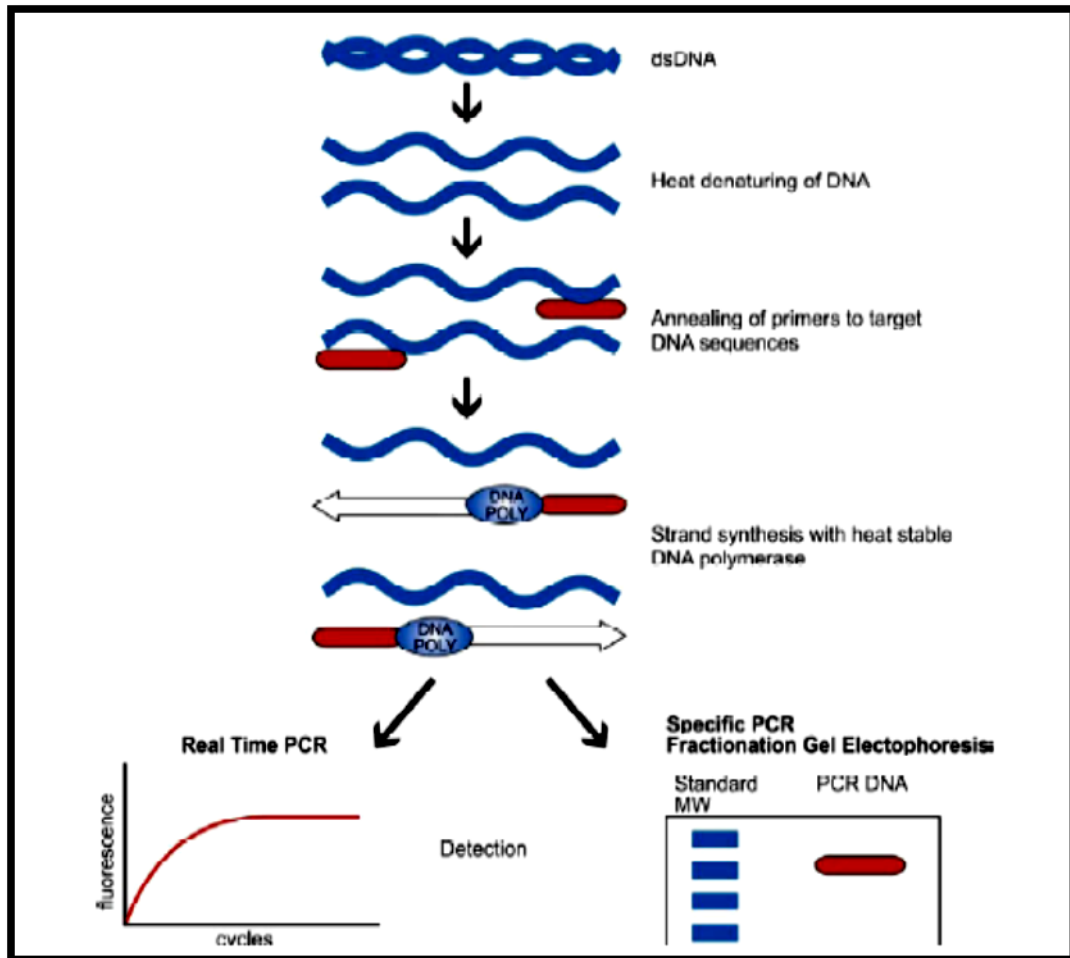


Figure 15 : Polymerase chain reaction. MW: Molecular weight marker [7].

La PCR a été déclinée de différentes manières. Nous donnerons quelques exemples sans être exhaustifs :

- ✓ La PCR classique : il s'agit de la PCR telle qu'elle a été initialement décrite. Après amplification, la cible est détectée sur un gel d'agarose après addition d'un agent intercalant (bromure d'éthidium) et exposition aux UV.
- ✓ La RT-PCR (reverse-transcription PCR) : après extraction d'un ARN, celui-ci est transformé en ADN complémentaire (ADNc) par transcription inverse. Dans un second temps, l'ADNc est amplifié par PCR.
- ✓ La nested-PCR (n-PCR) : il s'agit d'une PCR avec deux couples d'amorces, un couple d'amorces (couple externe) effectuant une première PCR suivie d'une seconde PCR à

l'aide d'un second couple d'amorces (couple interne) s'hybridant à l'intérieur du premier couple. Deux PCR successives sont donc réalisées. Cette PCR « nichée » (nested) permet d'augmenter la sensibilité du système mais augmente également considérablement le risque de contamination.

- ✓ La PCR multiplex : plusieurs couples d'amorces sont ajoutés dans un même tube et la PCR s'effectue en même temps pour chaque couple d'amorces. La PCR multiplex permet donc la mise en évidence de plusieurs cibles dans un seul tube. Elle peut être réalisée de manière conventionnelle (PCR classique), par PCR-ELISA ou par PCR en temps réel.
- ✓ La PCR-ELISA : le produit amplifié est marqué au cours de la PCR grâce à une des deux amorces marquées (par un résidu de digoxigénine). Après fixation en microplaque à l'aide d'une sonde capture, la révélation est effectuée à l'aide d'un anticorps spécifique (antidigoxigénine). La société BAG (Biologische Analysensystem GmbH) commercialise en Allemagne une PCR-ELISA multiplex.
- ✓ La PCR compétitive : il s'agit d'une technique de quantification des AN par PCR développée avant la description de la PCR en temps réel. Dans cette technique, la cible est coamplifiée en présence d'un AN titré de même nature et de séquence proche qui fait office de standard interne. Cette technique est encore utilisée dans certains kits de biologie moléculaire (par exemple, les kits de la gamme Amplicor™, société Roche).
- ✓ La PCR en temps réel : En sus des amorces utilisées pour la PCR proprement dite, une ou deux sondes (selon la technique utilisée) sont ajoutées(s) au milieu réactionnel. La/les sonde(s) est/sont marquée(s) par un fluorophore permettant la détection directe du produit amplifié. Plusieurs systèmes ont été décrits. Nous en citerons quelques-uns : les sondes FRET (fluorescence resonance energy transfert, sondes d'hybridation), le SYBR® Green (agent intercalant fluorescent), les sondes TaqMan® ou équivalent (appelées aussi sondes double marquage), les balises moléculaires (molecular beacons), les sondes Scorpion™, les sondes LightUp™.

La PCR en temps réel présente également l'intérêt de pouvoir être effectuée en PCR multiplex. Par ailleurs, la PCR en temps réel utilise un système fermé. Après addition du mélange réactionnel et de l'AN recherché, le tube reste fermé jusqu'à la détection. Le risque de contamination est donc diminué, avantage important par rapport aux autres techniques de PCR. Enfin, dans la majorité des cas, une enzyme l'uracile N-ADN glycosylase est ajoutée dans le tube ce qui diminue encore le risque de contamination. Cette technique a pris un essor considérable dans les laboratoires de biologie moléculaire depuis quelques années.

#### **2.1-2 Ligase Chain Reaction (figure 16) [1]**

La ligase chain reaction (LCRe) est une technique d'amplification de sondes. Après hybridation de quatre sondes adjacentes (deux sondes spécifiques du brin sens et deux spécifiques du brin antisens), les sondes sont collées à l'aide d'une ligase à condition que la complémentarité soit absolue (absence de misappariement). Plusieurs cycles permettent ainsi l'amplification des sondes « collées ». Ses performances sont similaires à celles de la PCR.

Cette technique n'existe plus en France (sa commercialisation par la société Abbott a été arrêtée en 2003). Elle est cependant encore décrite et utilisée dans d'autres pays.

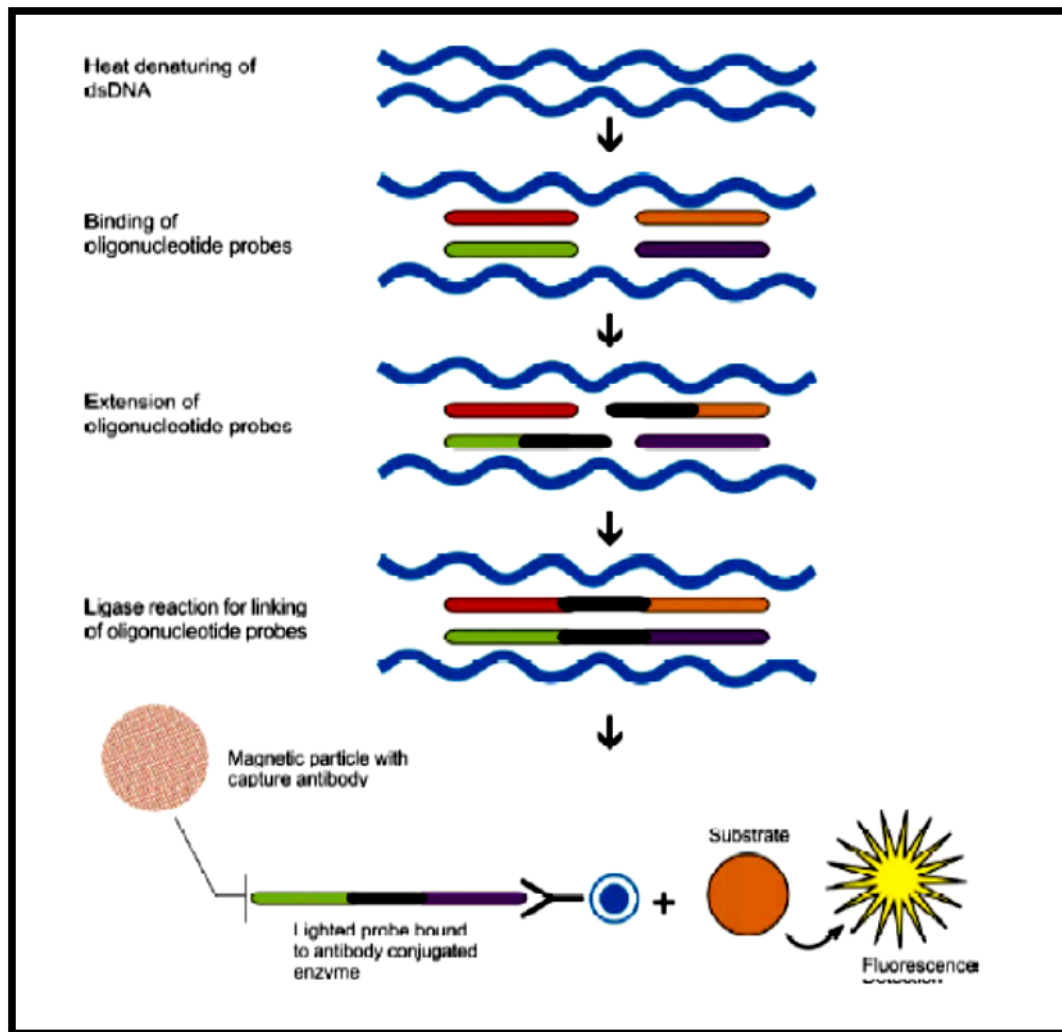


Figure 16 : Ligase chain reaction [7].

## 2.2 Techniques isothermes

### 2.2-1 Nucleic acid sequence-based amplification (figure 17) [1]

La Nucleic acid sequence-based amplification (NASBA) permet l'amplification à partir d'ADN ou d'ARN. Son principe est basé sur la transcription d'ARN produit en de nombreux exemplaires au cours de la réaction. Trois enzymes sont utilisées à cet effet, une transcriptase inverse, une RNase H et une T7 ARN polymérase. Cent à 1000 copies d'ARN sont obtenues à chaque cycle (la PCR ou la LCR en produisent deux à chaque cycle). La sensibilité de la NASBA est similaire à celle de la PCR. Cette technique a été couplée à la détection par des balises



moléculaires (molecular beacons) et commercialisée par la société Bio-Mérieux sous le nom EasyQ™

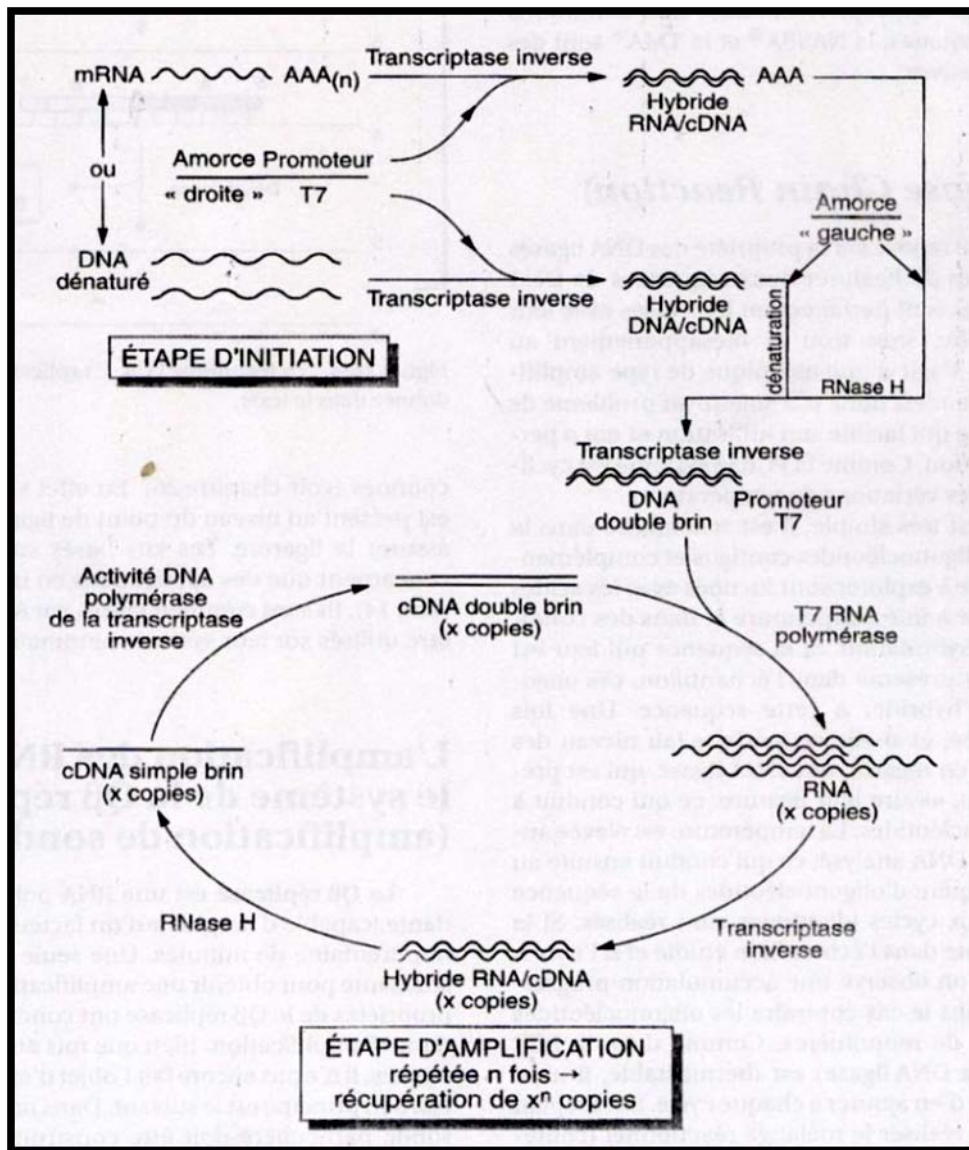
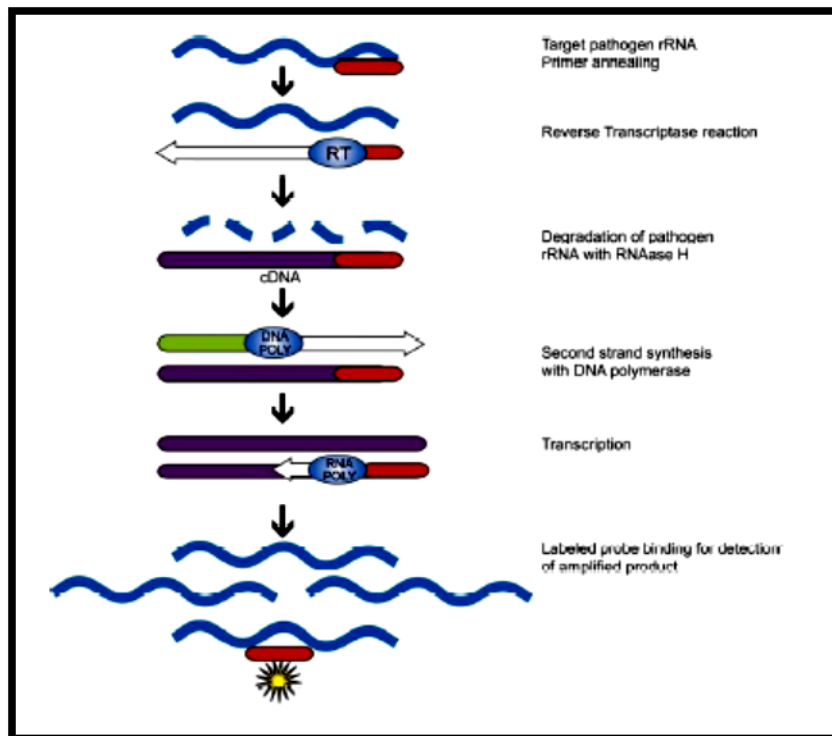


Figure 17 : La technique nucleic acid sequence-based amplification (NASBA) [8].

### 2.2-2 Transcription-mediated amplification (figure 18) [1]

La Transcription-mediated amplification (TMA) est proche de la NASBA et donne des performances similaires. Elle utilise le même principe, la différence résidant dans l'utilisation de deux enzymes au lieu de trois, la reverse transcriptase possédant aussi une activité RNase

H. Cette technique est commercialisée en France par Bayer sous la dénomination Gen-Probe®.



**Figure 18 : Transcription-mediated Amplification [7].**

#### 2.2-3 Strand displacement amplification [1]

La strand displacement amplification (SDA) est réalisée à l'aide de deux enzymes thermorésistantes, une enzyme de restriction et une ADN polymérase dépourvue d'activité exonucléasique. Le principe est complexe. Il est basé sur la coupure partielle de l'ADN par l'enzyme de restriction (après incorporation d'un phosphorothiate nucléotide qui n'existe pas à l'état naturel) puis le déplacement du brin ainsi formé par l'ADN polymérase. De nombreux brins sont ainsi néoformés de manière cyclique. À la fin de la réaction, environ 10<sup>9</sup> copies sont obtenues après amplification de l'ADN cible. Les résultats sont équivalents à ceux obtenus avec la PCR. La société Becton Dickinson a développé un automate et des tests basés sur cette technique sous le nom BD ProbeTec™.

#### 2.2-4 Rolling circle amplification [1]

Brièvement, la technique rolling circle amplification (RCA) est basée sur l'extension d'une amorce spécifique d'une cible en cercle « rolling circle » à l'aide d'une ADN polymérase. Cette

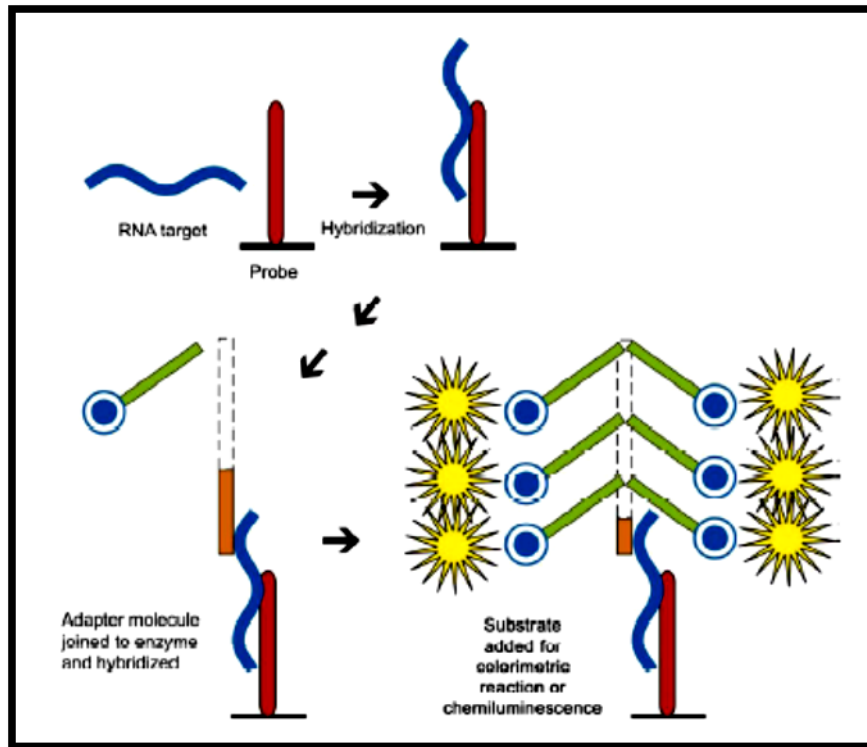
extension est associée à un déplacement du fragment recopié produisant alors une longue séquence constituée de nombreuses unités répétées et aboutit à la constitution de millions de copies de la séquence en cercle (RCA linéaire). Dans la RCA à caractère exponentiel, une paire d'amorces est utilisée. La seconde amorce s'hybride à l'ADN cible, produit amplifié à partir de la première amorce et initie la formation d'ADN « en branches » au cours de la réplication de l'ADN cible. Jusqu'à 10<sup>12</sup> copies peuvent être obtenues en une heure. De nombreuses variantes de ce principe d'amplification ont été décrites. Bien que le principe soit complexe, cette technique est beaucoup plus simple à réaliser que la PCR. Elle ne nécessite pratiquement pas d'optimisation, n'utilise pas d'instrumentation spécifique et présente peu de risques de contamination.

#### **2.2-5 Cycling probe technology [1]**

La cycling probe technology (CPT) est une technique d'amplification de signal. Dans son principe, elle amplifie l'ADN cible à partir d'une sonde chimérique ARN-ADN (une séquence ARN limitée de chaque côté par une séquence ADN). Sur chaque brin d'ADN adjacent à l'ARN se trouvent respectivement un fluorophore (appelé rapporteur) et un quencher (fluorophore répresseur). Ce dernier empêche l'émission d'un signal lumineux par le rapporteur. Cette sonde s'hybride à l'ADN cible et l'ARN hybridé à l'ADN est lysé par une RNase H (qui lyse l'ARN des duplex ARN/ADN). Après clivage de la sonde, le rapporteur émet un signal lumineux, le rapporteur étant séparé du quencher. Plus le nombre de sondes lysées est important, plus le signal fluorescent émis sera fort. Ce système initialement commercialisé par la société ID Biomedical aux États-Unis n'est plus commercialisé pour le moment.

#### **2.2-6 ADN branché ou b-DNA (figure 19) [1]**

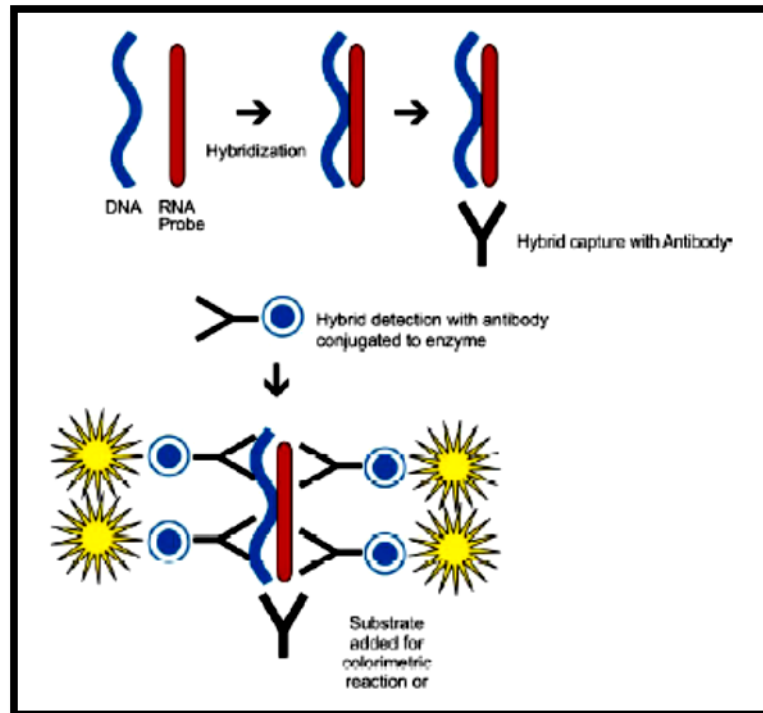
Autre technique d'amplification de signal, cette technique est basée sur l'hybridation spécifique à partir de l'ADN ou de l'ARN cible d'un certain nombre de sondes dont certaines sont chimiquement branchées (elles n'existent pas à l'état naturel). Le signal est révélé à l'aide de sondes marquées à la phosphatase alcaline. Ce système est commercialisé par la société Bayer sous la marque Versant®.



**Figure 19 : Technique d'ADN branché [7].**

#### 2.2-7 Système de capture d'hybrides (figure 20) [1]

Dans cette technique d'amplification de signal, l'ADN cible est hybridé à une sonde ARN spécifique. L'hybride ADN-ARN ainsi constitué est capturé par des anticorps spécifiques sur un support solide. L'hybride est détecté par un deuxième anticorps marqué à la phosphatase alcaline. Cette technique est commercialisée par la société Digene.



**Figure 20 : Système de capture d'hybrides [7].**

#### 2.2-8 Autres techniques [1]

D'autres techniques d'amplification ont été décrites pour la recherche d'agents infectieux, nous les citerons simplement :

- Amplification isotherme à l'aide d'une hélicase, l'HDA (helicase-dependent amplification)
- La MLPA (multiplex ligation-dependent probe amplification).
- Le tableau 6 rappelle les principales techniques d'amplification et les sociétés commercialisant celles-ci.

**Tableau VI : Principales techniques d'amplification et gammes de kits utilisées en microbiologie clinique [1].**

Techniques	Gamme de kits	Sociétés
PCR	Cobas Amplicor	Roche
RT-PCR	AmpliScreen	Roche
PCR compétitive		Roche
PCR en temps réel		
TaqMan	Cobas TaqMan	Roche
Sondes FRET	Real Art Artus	Qiagen/RealArt Artus
Sondes LightUP	LightCycler	Roche
NASBA	LightUp	LightUp Technologies
TMA	NucliSens	BioMérieux
ADN branché	Aptima	Gen-Probe
Hybrid Capture	Versant	Bayer
SDA	Hybrid capture	Digene
	BDProbeTec ET	Becton Dickinson

### 2.3 Techniques de détection

#### 2.3-1 Billes magnétiques [1]

La société Luminex commercialise une méthode de détection de séquences amplifiées par PCR multiplex sur billes magnétiques (système xMAP™). Ce système semble actuellement peu développé dans le domaine de la biologie moléculaire appliquée aux agents infectieux. Elle a été décrite pour le moment dans les applications de génétique humaine.

#### 2.3-2 Puces d'ADN [1,9]

Un microarray est une surface solide et généralement plane sur laquelle sont fixées des molécules. Ces molécules sont le plus souvent des AN : ARN, ADN, ADNc, ARNc.

L'appellation microarray, signifiant microalignement ou microarrangement, provient de la manière ordonnée de la répartition de sondes sur un support. Le mot ordonné est important: on sait ce que l'on fixe sur le support et où on le fixe (figure 16).

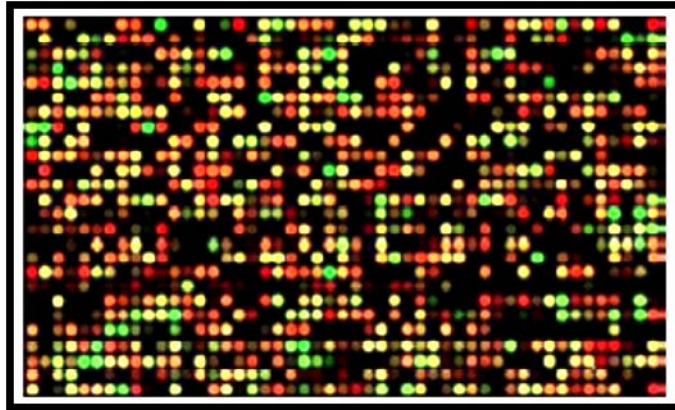
La nature du support est variable, mais il s'agit de verre dans la grande majorité des cas. Enfin, le fait que certains supports soient en silicium et que les systèmes d'hybridation soient miniaturisés ont amené les chercheurs à utiliser le terme « puces à ADN » (DNA chips) pour qualifier ces microarrays. Schématiquement, ces sondes peuvent être synthétisées et de petite taille environ 25 nucléotides (par exemple, celles commercialisées par la société Affymetrix (figure 21) ou de grande taille, environ 60–80 nucléotides (commercialisées par exemple par la société Nanogen). Certaines puces peuvent aussi être dessinées à façon et commandées. Les

---

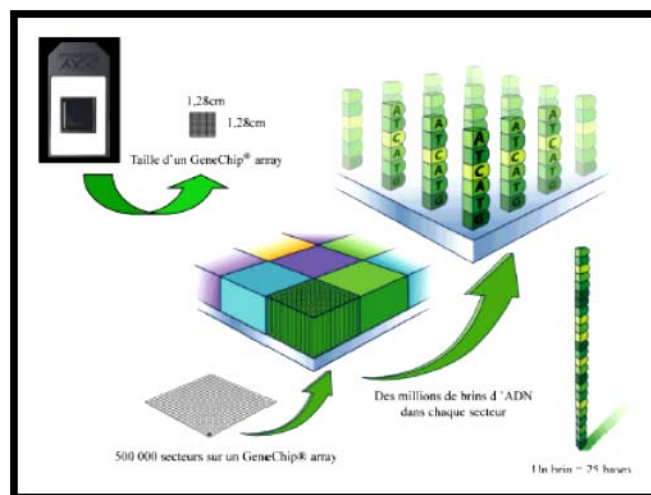
**Quelle place de la biologie moléculaire dans le diagnostic des méningites infectieuses en réanimation.**

---

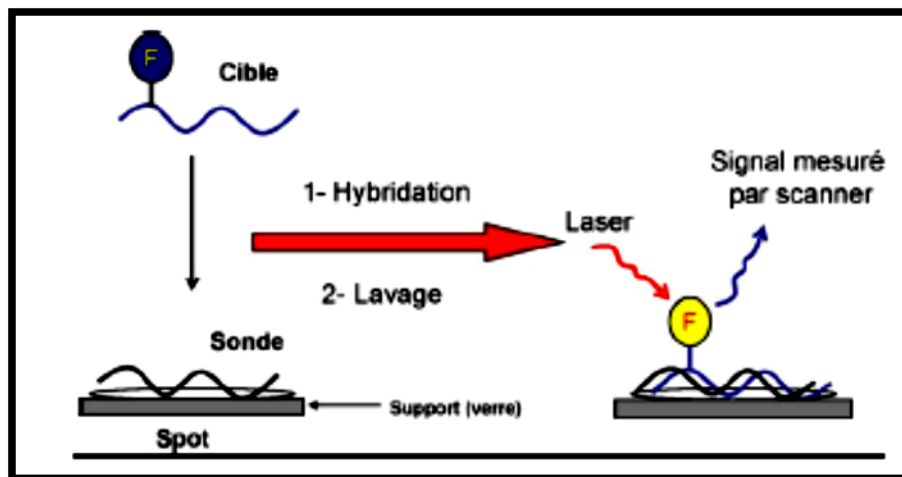
ADN cibles marqués sont hybridés à la puce puis révélés par un automate dédié et analysés par un logiciel adapté (figure 22). Les microarrays ne sont pas encore passés dans le domaine de la routine de biologie moléculaire. Le coût élevé de fabrication des puces, des appareils et logiciels, l'interprétation délicate, l'absence de contrôle de qualité rendent le passage à la routine encore difficile. Cette instrumentation est cependant promise à un bel avenir dans les laboratoires de microbiologie spécialisée.



**Figure 21 : Aspect d'un microarray. Sur cet exemple, 1248 (48×26) spots correspondent à autant de sondes différentes. Ce microarray a été réalisé avec la technologie du jet d'encre [9].**



**Figure 22 : Caractéristiques d'une puce GeneChip®. Commercialisée par Affymetrix, cette puce mesure 1,28 cm×1,28 cm. Elle comprend 500 000 secteurs. Chaque secteur contient des milliers de sondes identiques d'une longueur de 25 bases. C. Reproduit avec l'aimable autorisation d'Affymetrix [9].**



**Figure 23 : Principe d'analyse sur microarray. La technique consiste en une hybridation inverse : la sonde est fixée sur le support et la cible capturée est marquée par un fluorophore. L'excitation du fluorophore par un laser a pour effet l'émission d'un signal qui est quantifié, si la cible est présente dans le milieu analysé [9].**

### 2.3-3 Techniques de séquençage [1, 10]

Les deux premières techniques de séquençage de l'ADN, celle de Maxam-Gilbert (figure 24) et celle de Sanger (figure 25) ont été décrites en 1977, cette dernière a révolutionné le monde de la biologie moléculaire en permettant de décrypter différents génomes, Le séquençage est utilisé pour caractériser un agent infectieux notamment lorsque la culture est difficile, l'identification problématique ou dans certaines études épidémiologiques.

Dans le cas des bactéries, la cible est souvent constituée par un (ou plusieurs) gène(s) codant pour l'ARN 16S ou la région séparant les gènes codant pour les ARN 16S-23S « interspacer». D'autres régions ont parfois été utilisées par exemple, le gène codant pour une protéine de choc thermique, hsp65. La société Applied Biosystem commercialise le kit MicroSeq™ permettant l'identification bactérienne. Le séquençage dans cette indication est très efficace.

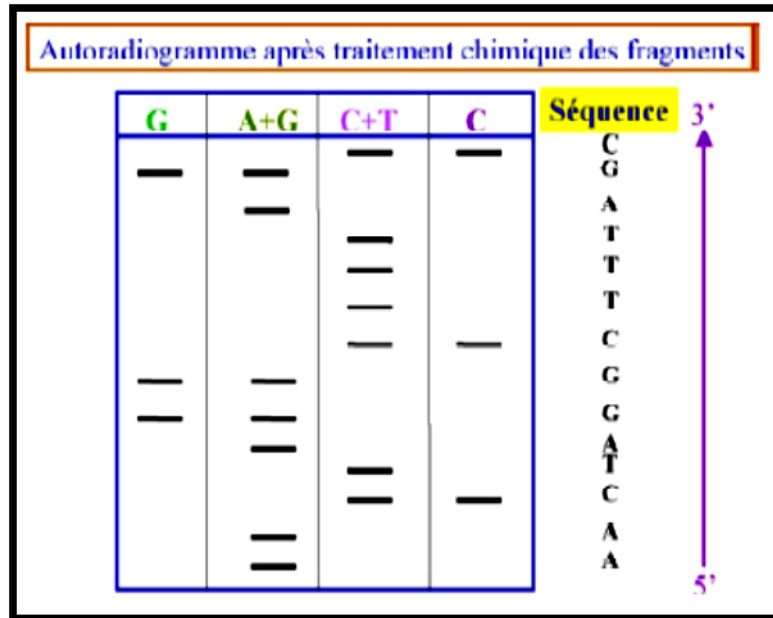
Cette technique présente cependant deux inconvénients. Les banques de données à partir desquelles sont effectuées les identifications par comparaison contiennent parfois des erreurs.

Par ailleurs, le gène ARN 16S étant ubiquitaire dans le monde bactérien, une contamination par une autre bactérie peut amener à une erreur de diagnostic. Le séquençage précédemment



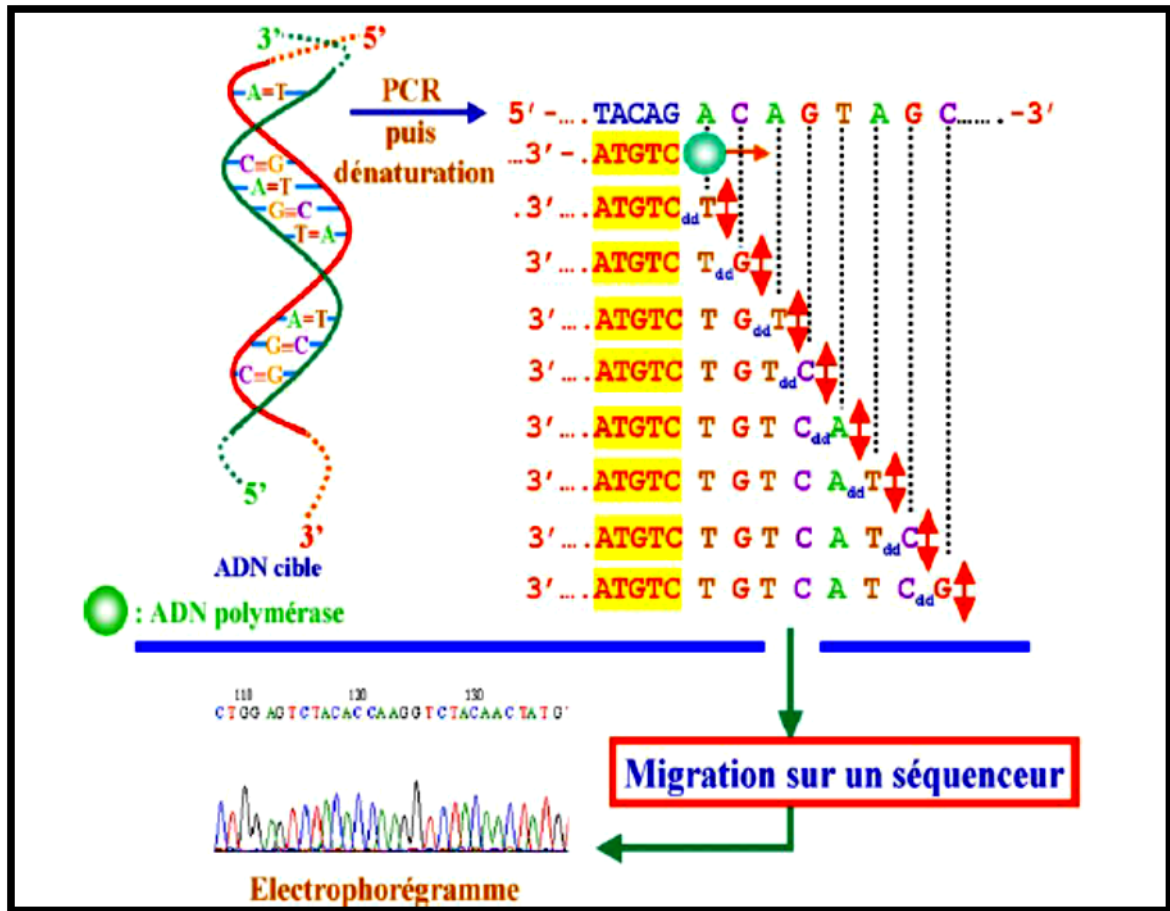
Quelle place de la biologie moléculaire dans le diagnostic des méningites infectieuses en réanimation.

évoqué utilise la plus courante des techniques de séquençage, la méthode de Sanger. Une autre technique plus récente est aussi utilisée dans ces indications, le pyroséquençage, commercialisée par la société Pyrosequencing.



**Figure 24 : Technique de Maxam–Gilbert. Dans quatre tubes différents, l'ADN cible est traité par chacun des produits de modification spécifique de base (hydralazine C+T; hydralazine C en milieu alcalin ; diméthyl sulfate G; acide formique A + G), suivi d'un traitement par la pipéridine.**

Les fragments coupés aléatoirement et au moins une fois après chaque base spécifique sur l'ADN cible sont de taille différente. La migration de ces derniers dans un gel d'acrylamide spécifique suivie d'une autoradiographie permet de déduire la séquence de l'ADN au cours de la lecture du gel dans le sens 5'→3' de bas en haut du gel [10].



**Figure 25 : Principe du séquençage selon la méthode de Sanger. Après dénaturation du produit amplifié par séquençage, l'un des deux brins (ici, le brin sens) s'hybride à une amorce spécifique. Le mélange réactionnel contient, outre les tampons et l'ADN polymérase, des déoxynucléotides triphosphates (dNTP, dA-, dC-, dG-, dT-TP) mais aussi des didéoxynucléotides triphosphates (ddNTP, ddA-, ddC-, ddG-, ddTTP).**

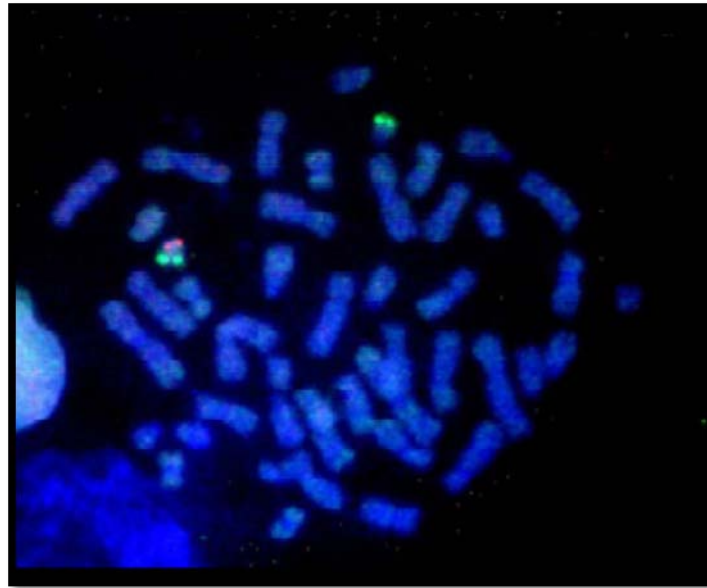
L'incorporation aléatoire d'un ddNTP à la place d'un dNTP ne permet plus la polymérisation par l'ADN polymérase. L'extension s'arrête. À la fin de la réaction de séquence effectuée selon des cycles thermiques identiques à ceux de la PCR (on parle de PCR asymétrique, une seule amorce étant utilisée au lieu de deux), nous avons des fragments de taille différente. Ces fragments sont soumis à migration dans un champs électrique. Il s'agit le plus souvent d'une électrophorèse capillaire. Chaque ddNTP étant marqué par un fluorophore différent, un signal lumineux sera généré, spécifique de la base didéoxy incorporée. Les fragments étant de taille

différente et la résolution allant jusqu'à une base de différence, il sera simple de recueillir ce signal et en déduire la séquence. Les signaux lumineux sont analysés par un logiciel spécifique, et le résultat de l'analyse peut être lu, par exemple, sous forme d'un électrophorégramme de lecture facile. Des logiciels d'interprétation des séquences sont également disponibles. Pour confirmer un résultat, toute réaction de séquence d'un fragment d'ADN est systématiquement faite sur le brin sens et le brin antisens [10].

#### **2.3-4 Techniques d'hybridation directe**

##### **a) Hybridation in situ (FISH) [1, 11]**

La technique FISH permet la détection des AN microbiens directement à partir de l'échantillon (ou échantillon de culture), sans amplification antérieure de l'AN. En bref, la technique consiste à la fixation d'un échantillon sur une lame de microscope, l'hybridation des échantillons préparés avec une sonde spécifique marquée par fluorescence, et visualiser la détection de l'hybridation avec un microscope à fluorescence (figure 26). Une technique dérivée de celle-ci a été développée, la PNA-FISH (peptide nucleic acid FISH). Les AN peptides (PNA) sont des analogues des AN. À la différence des AN, les PNA sont plus stables (hybrides ADN-PNA ou ARN-PNA), pénètrent la paroi bactérienne plus facilement et présentent une meilleure spécificité, leur température d'hybridation étant supérieure à l'ADN équivalent. La société AdvanDx commercialise des kits de PNA-FISH.



**Figure 26 : Exemple d'application de l'hybridation moléculaire : l'hybridation in situ ou FISH (fluorescent in situ hybridization) [12].**

**b) Reverse dot-blot (système line probe assay (LIPA)) [1]**

Des sondes spécifiques sont fixées sur une membrane de nitrocellulose. Les produits amplifiés cibles sont hybridés sur la membrane. La détection est effectuée par colorimétrie. La société InnoGenetics commercialise des kits de détection. Cette technique permet d'effectuer le génotypage d'agents pathogènes ou d'étudier des résistances aux antibiotiques (kits Inno-LIPA™).

**c) Technique Hybridization Protection Assay (HPA) [1]**

Cette technique utilise une sonde ADN sur laquelle est fixée une molécule d'ester d'acridinium. La sonde marquée est complémentaire de l'ARN ribosomal (ARNr) d'un agent pathogène. Lorsque la sonde s'hybride à l'ARN, un signal luminescent est émis. En milieu alcalin, s'il n'y a pas hybridation, la sonde est détruite et donc, aucun signal n'est observé.

Cette technique est utilisée par exemple dans les kits d'identification bactérienne AccuProbe™ (société Gen-Probe).

### 2.3-5 Spectrométrie de masse [1,13]

Cette technique, décrite pour la première fois en 1988, a d'abord été rapportée pour l'analyse des protéines. L'analyse des AN s'est fait dans un second temps (début des années 1990). La spectrométrie de masse est basée sur l'ionisation puis la fragmentation d'une cible en la bombardant d'électrons. Le ratio masse/charge des fragments moléculaires obtenus par désintégration de la cible est analysé dans un second temps, ce qui permet d'établir une signature moléculaire. L'identification bactérienne a souvent été réalisée par la signature protéique des bactéries. Depuis une quinzaine d'années, l'analyse des AN par spectrométrie de masse notamment grâce à la technique MALDI-TOF (matrix assisted laser desorption/ionization time of flight) (figures 27 et 28) permet l'analyse des AN en quelques secondes. Cette technique permet d'analyser des milliers d'échantillons chaque jour. Elle est réservée à l'heure actuelle aux laboratoires de recherche.

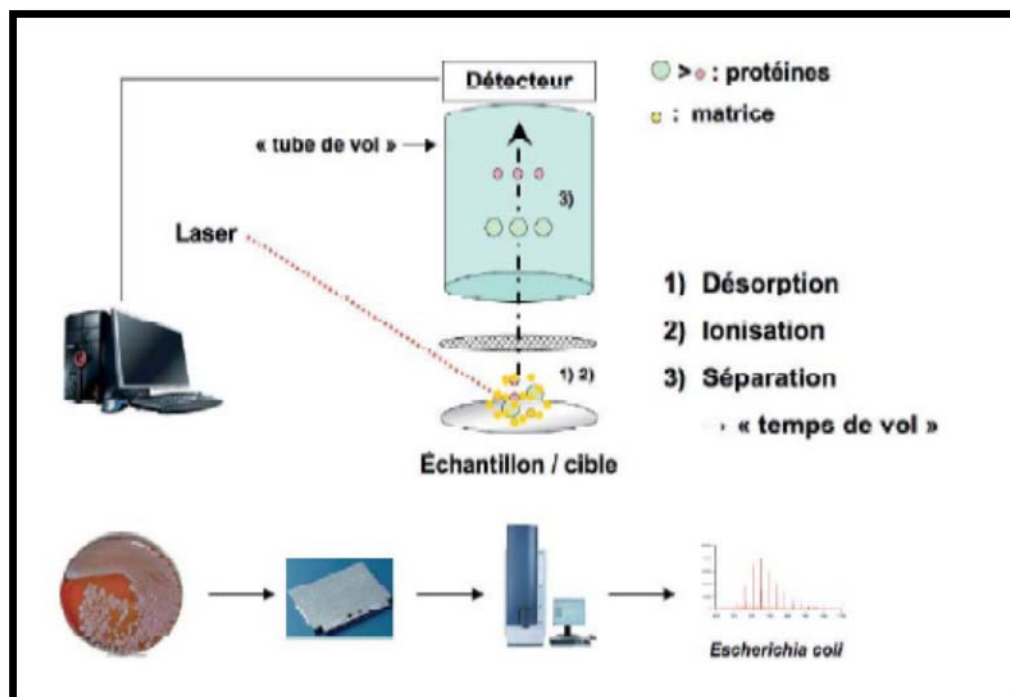


Figure 27 : Principe de la spectrométrie de masse de type MALDI-TOF [13].

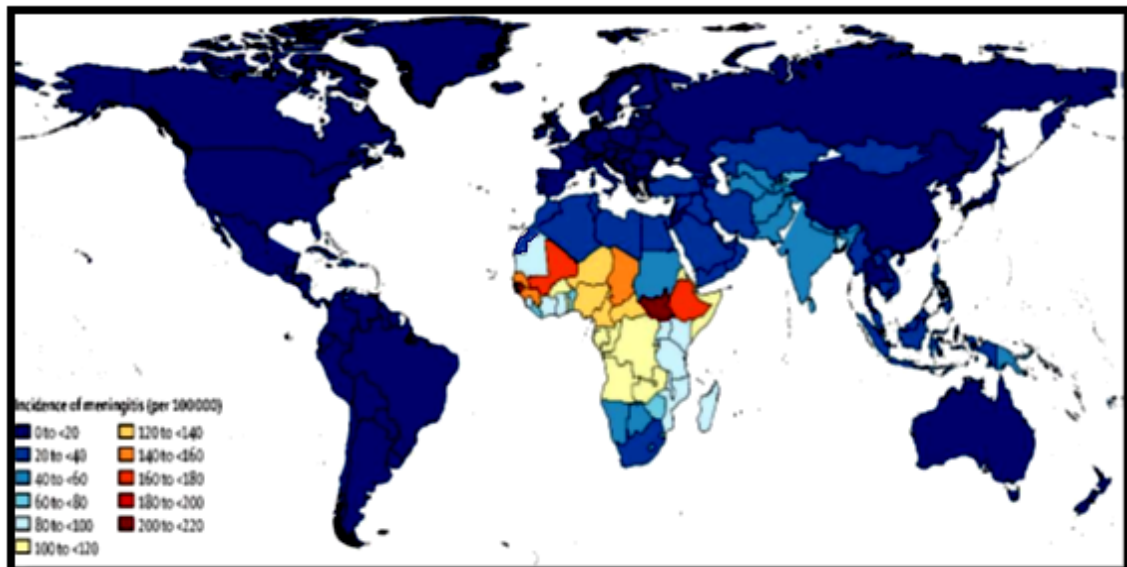


**Figure 28 : Spectromètre de masse MALDI-TOF [13].**

## **II. Epidémiologie :**

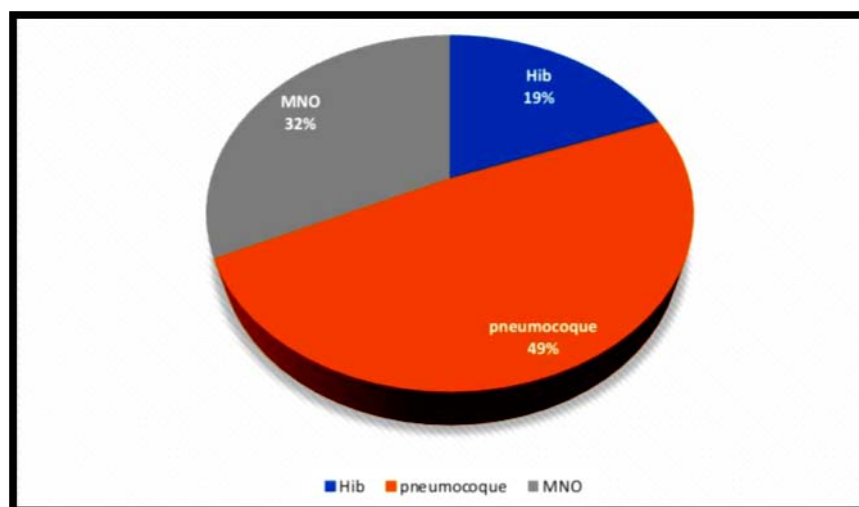
### **1. Fréquence :**

La méningite est une maladie dévastatrice avec un taux de mortalité élevé et de graves séquelles, reste un défi majeur de santé publique mondiale (14–17). Les cas et les épidémies constituent une menace dans tous les pays du monde, avec le fardeau le plus lourd en Afrique (Figure 30). La méningite, une inflammation des membranes qui entourent le cerveau et la moelle épinière, peut être causée par une infection par des bactéries, des virus, des protozoaires et des champignons. En 2015, on a estimé à 300 000 le nombre de décès dus à la méningite (14). La méningite et la septicémie liée à la méningite peut laisser de graves séquelles telles que la perte de l'audition, une déficience visuelle, des lésions cérébrales ou la perte d'un membre qui ont de lourdes conséquences émotionnelles, sociales et financières pour les individus, leurs familles et les communautés (18–20). Les épidémies de méningite soulèvent de graves difficultés pour les systèmes de santé, l'économie et la société. La méningite est une maladie à prévention vaccinale mais les progrès obtenus pour la vaincre sont bien moins rapides que ceux réalisés contre d'autres maladies à prévention vaccinale telles que le tétanos (21).



**Figure 30: Incidence de la méningite normalisée selon l'âge pour 100 000 habitants, selon la localisation géographique, pour les deux sexes, en 2016. (14)**

Au Maroc les germes les plus fréquemment rencontrés sont en premier le Pneumocoque (48,71%), vient ensuite le Méningocoque (32,05%) et l'Hib avec (19,23%). (22).



**Figure 31 : germes les plus fréquemment rencontrés au Maroc**

#### Méningites virales : [23]

Chez l'enfant et l'adulte jeune, les méningites virales sont plus fréquentes que les méningites bactériennes. Le ratio s'inverse chez le sujet > 65 ans. Les méningites virales sont en général bénignes. Les virus responsables des méningites sont dominés par : [24]

## Quelle place de la biologie moléculaire dans le diagnostic des méningites infectieuses en réanimation.

- ✓ Les entérovirus (Echovirus, Coxsackie) sont responsables d'environ 80 % des méningites virales identifiées. On retrouve aussi :
- ✓ Le virus des oreillons (Myxovirus parotidis). Sa fréquence diminue depuis la généralisation de la vaccination.
- ✓ Les virus du groupe herpès : les herpès 1 et 2, le Cytomégalovirus, le virus d'Epstein-Barr, les virus varicelle zona et le virus HHV6.
- ✓ Le VIH peut aussi être responsable de méningite lors de la primo-infection.

Dans notre étude le nombre de cas était 30, 30 cas dans l'étude de F. Medina [25], 969 dans l'étude de Bansidhar T [26], 171 cas dans l'étude de Sanou M [27], 77 cas dans l'étude de David C. [28], 695 cas dans l'étude de Adrián P. [29] et 15 cas dans l'étude de O. Kallala [30].

**Tableau VIII : les données épidémiologiques selon la littérature.**

Etudes	Pays	Année	Nombre de cas
F. Medina [25]	France	2018	30
Bansidhar T. [26]	Italie	2019	969
Sanou M. [27]	Burkina Faso	2013	171
David C. [28]	Etats unis	2018	77
Adrián P. [29]	Colombia	2020	695
O. Kallala [30]	Tunisie	2021	15
Notre étude	Maroc	2021	30

### **2. Age :**

Dans notre étude l'âge moyen était de l'ordre de 38,6 ans, 58 ans dans l'étude de F. Medina, 24 ans dans l'étude de David C., 24 ans dans l'étude de Adrián P. et 47 ans dans l'étude de Bansidhar T et 17.25 dans l'étude de O. Kallala.



**Tableau IX : répartition de l'âge selon la littérature.**

Etudes	Age moyen (ans)
Notre étude	38,6
F. Medina [25]	58
David C. [28]	24
Adrián P. [29]	24
Bansidhar T.[29]	47
O. Kallala [30]	17.25

### 3. Sexe :

Dans notre étude ainsi que dans les autres études de la littérature le sexe masculin était le plus dominant.

**Tableau X : répartition du sexe selon la littérature.**

Etudes	Masculin	Féminin
Bansidhar T. [26]	60.7%	39.3%
David C. [28]	54%	46%
Adrián P. [29]	83.4%	16,6%
O. Kallala [30]	100%	-
Notre étude	57%	43%

### III. Démarche diagnostique :

#### 1. Clinique :

##### a) Interrogatoire : [23]

- Interrogatoire du patient et de son entourage :
- Antécédents notamment de traumatisme crânien ou de neurochirurgie,
- Comorbidités.
- Voyages dans des zones d'endémie.
- Contage récent.
- Rechercher une porte d'entrée (ORL : otalgie, otoscopie)
- Rechercher un terrain particulier : immunodépression, grossesse... ;
- Rechercher des signes extra-méningés.
- Rechercher une antibiothérapie récente (risque de décapiter une méningite bactérienne).

##### b) Examen clinique : [31]

Les méningites se caractérisent par l'association d'un syndrome méningé et d'un syndrome infectieux. La présentation classique du patient est « couchée en chien de fusil », dos à la lumière. Les céphalées sont intenses, s'accompagnent de photo-phonophobie et de vomissements. La raideur méningée est caractérisée par une résistance invincible et douloureuse à la flexion passive de la nuque.

Les autres signes d'irritation méningée (signe de Kernig: résistance douloureuse s'opposant à l'extension passive des jambes, hanches préalablement fléchies sur le bassin; signe de Brudzinski : flexion involontaire des membres inférieurs à la tentative de flexion passive de la nuque) ont une sensibilité faible dans cette pathologie. La fièvre est rapportée dans 77 à 95 % des cas selon les séries et est parfois accompagnée de signes de sepsis sévère (hypotension, polypnée, encéphalopathie). Ces signes cliniques n'étant ni sensibles ni spécifiques, la ponction lombaire (PL) doit être pratiquée devant toute suspicion diagnostique, en l'absence de contre-indication Les signes neurologiques centraux sont possibles (trouble des fonctions supérieures,

## Quelle place de la biologie moléculaire dans le diagnostic des méningites infectieuses en réanimation.

trouble de vigilance, voire plus rarement signe de focalisation) si atteinte encéphalique dans le cadre d'une méningite purulente bactérienne, ou si choc septique. [14] Reconnaître les signes précoces d'une méningite bactérienne est essentiel et est le pivot central permettant d'en améliorer le pronostic Une importante étude publiée en 2004 par Van de Beek et al., portant sur 696 épisodes de méningites bactériennes communautaires non tuberculeuses suivis prospectivement d'octobre 1998 à avril 2002, constitue une référence aujourd'hui quant aux différentes manifestations cliniques (Tableau 9) [31].

**Tableau XI : Manifestations cliniques lors d'une méningite avérée. Étude Van de Beek et al. 2004**

[31]

Signes cliniques	Fréquences	
	Méningites non tuberculeuses	Méningites tuberculeuses
Triade fièvre, raideur de nuque, trouble de conscience	21-74 %	-
Fièvre	73-99 %	65-93 %
Raideur de nuque	24-98 %	68-100 %
Troubles de conscience	11-98 %	27-96 %
Céphalées	32-89 %	63-100 %
Signe de Kernig	18-61 %	65-67 %
Signe de Brudzinski	13-61 %	65-79 %
Signes de focalisation	9-37 %	22-83 %
Crises convulsives	5-31 %	6-32 %
Photophobie	8-25 %	-
Nausées, vomissements	22-83 %	27-81 %
Rash cutané	3-51 %	0-4 %
Durée moyenne d'évolution des symptômes avant l'admission (jours)	0-4	10-60

## **2. Etude du LCR :**

### a) **Indications : [32]**

Elle doit être pratiquée en première intention devant tout syndrome méningé et/ou encéphalique, fébrile en l'absence de signe de localisation neurologique.

La ponction lombaire est réalisée avant toute antibiothérapie, sauf dans trois situations :

## Quelle place de la biologie moléculaire dans le diagnostic des méningites infectieuses en réanimation.

- ✓ Purpura fulminans ;
- ✓ Prise en charge hospitalière ne pouvant pas être réalisée dans les 90 minutes ;
- ✓ Contre-indications à la PL.

### **b) Contre-indications à la PL : [32]**

Les contre-indications à la PL d'emblée :

- ✓ Anomalie connue de l'hémostase (coagulopathie dont hémophilie, plaquettes inférieures à 50 000/mm<sup>3</sup>), traitement anticoagulant efficace (sauf la prise d'antiagrégants plaquettaires), saignement actif faisant suspecter un trouble majeur de l'hémostase (PL à réaliser dès correction de l'hémostase) ;
- ✓ Instabilité hémodynamique ou respiratoire (PL à réaliser dès stabilisation) (hors cas du purpura fulminans) ;
- ✓ Infection cutanée étendue du site de ponction ;
- ✓ Signes d'engagement cérébral : mydriase unilatérale, hoquet, troubles ventilatoires, mouvements d'enroulement ;
- ✓ Risque élevé d'engagement cérébral après PL :
  - + Signes de focalisation neurologique (car peut témoigner d'une masse expansive) ;
  - + Troubles de la vigilance avec Glasgow  $\leq$  11 (car peut témoigner d'une hypertension intracrânienne).
- ✓ Crises convulsives récentes ou en cours.

Ces 3 dernières situations (signes de localisation, Glasgow  $<$  ou égal à 11, crises convulsives) font réaliser une TDM, sans et avec injection en urgence, avec PL par la suite, si la TDM ne montre pas de signes d'engagement.

### **c) Technique de la ponction lombaire : [32]**

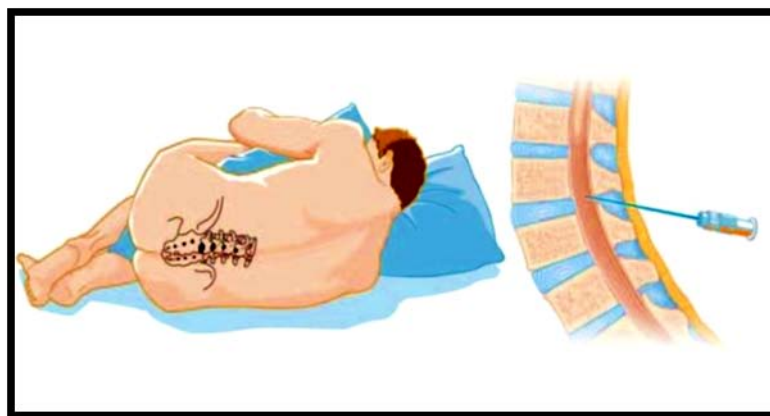
Le patient est installé dos nu à la lumière, bien maintenu, prévenu, couché sur le côté en chien de fusil, les genoux ramenés sur la poitrine, le dos fléchis (Figure 32). Ou assis au bord du lit, jambes pendantes, la portion supérieure du tronc enroulée sur un oreiller calé dans le creux du ventre, bras croisés, front reposant sur les bras (Figure 33).

La ponction lombaire est effectuée dans l'espace inter épineux de L3-L4, L4-L5 (Figure 34) ou de L5-S1. Chez la plupart des patients, il est facile de palper la partie postérieure des crêtes iliaques (Figure 35). Une ligne joignant les rebords supérieurs de la partie postérieure des crêtes iliaques traverse l'apophyse épineuse de L4. Le point médian de l'espace inter épineux L4-L5 est localisé comme site d'insertion de l'aiguille. Si l'aiguille ne peut être introduite à cet endroit, une tentative est faite à l'espace supérieur. Le patient devra rester allongé sur le dos, de 2 à 6 heures environ, afin d'assurer l'obturation de la brèche ménagée, provoquée par la ponction, sous stricte surveillance médicale, et pour prévenir les céphalées. Un massage, appuyé au point de ponction, pendant une minute, pourrait diminuer les céphalées post ponction, par chevauchement des différents plans sur le trajet de l'aiguille de ponction : ce qui diminuerait les fuites de liquide.

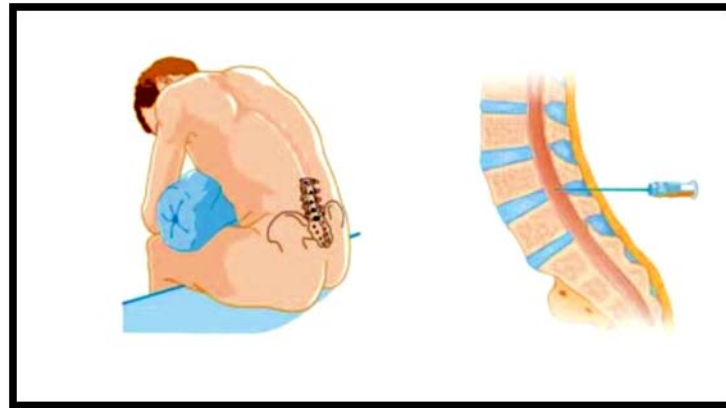
L'opérateur est installé, avec tout le matériel nécessaire à portée de main : (Masque et gants, anesthésique local, compresses de gaze, aiguille de calibre 25 et de calibre 22, aiguille à ponction lombaire, quatre tubes stériles de 5 ml avec bouchons pour l'analyse biochimique, cytologique et microbiologique du LCR, un container à déchets pour aiguilles usagées).

On prélève 4 tubes de 2 à 5 ml de LCR (minimum 10 gouttes par tube) dont 1 congelé à - 20°C pour biologie moléculaire si culture négative en 24h.

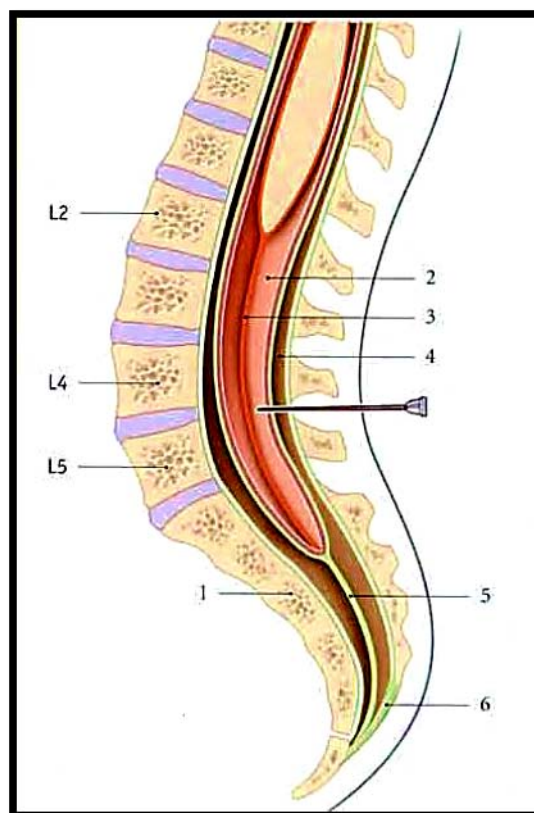
On réalise, de manière concomitante, une glycémie veineuse pour une interprétation correcte de la glycorachie.



**Figure 32 : Ponction lombaire chez le sujet fatigué ou inconscient [32].**



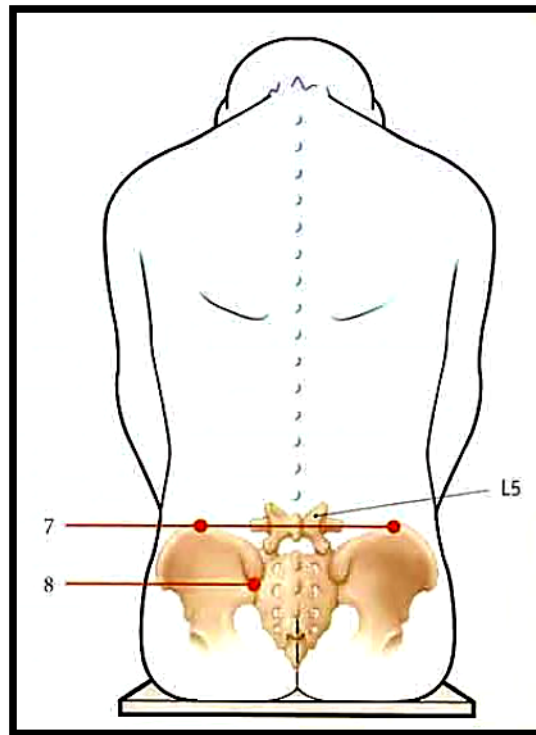
**Figure 33 : Ponction lombaire chez le sujet conscient [32].**



**1. Sacrum. 2. Espace subarachnoïdien. 3. Filum terminal (partie piaie). 4. Espace épidural.**

**5. Filum terminal (partie durale). 6. Ligament sacro-coccygien.**

**Figure 34 : Site de la ponction lombaire [33].**



**7. Crêtes iliaques 8. Epines iliaques postéro-supérieur**

**Figure 35 : Repères anatomiques du point de ponction lombaire [33].**

**d) Étude au laboratoire du LCR :**

**d.1. L'étude cytologique :**

Permet de compter les leucocytes et les hématies. Le LCR normale présente moins de 5 éléments figurés/mm<sup>3</sup>. Dans la méningite bactérienne, il existe une augmentation des éléments à prédominance de polynucléaires neutrophiles dans le LCR généralement supérieur à 100/mm<sup>3</sup>. Cette corrélation est de 67% dans les études [34]. Dans la méningite bactérienne et tuberculeuse il existe une augmentation des éléments à prédominance de lymphocytes

**d.2 L'étude microbiologique :**

***d.2.1. Les examens standards :***

La coloration de gram permet d'identifier la bactérie en cause. Elle a une sensibilité variant de 60 à 97% et une spécificité de 100% en l'absence de traitement antibiotique [35]. La sensibilité passe à 40% s'il y a eu traitement [36].

Même en l'absence de confirmation à la coloration de gram, le LCR doit être mis en culture afin d'affirmer le diagnostic et de mesurer sa sensibilité aux antibiotiques. Si toutefois, la présomption de méningite bactérienne est forte malgré un examen direct négatif, une PCR méningocoque et pneumocoque peut être effectué.

Dans notre étude le taux de positivité de la culture était de l'ordre de 60% ,95 dans l'étude de Bansidhar T,56% dans l'étude de Sanou M et 24% dans l'étude de Adrián P.

**Tableau XII : le taux de positivité de la culture selon la littérature.**

<b>Etudes</b>	<b>Culture positive</b>
<b>Bansidhar T. [26]</b>	95%
<b>Sanou M. [27]</b>	56%
<b>Adrián P. [29]</b>	24%
<b>Notre étude</b>	60%

***d.2.2. Apport de la biologie moléculaire dans le diagnostic des maladies infectieuses [37]***

Les méthodes moléculaires jouent désormais un rôle important pour le diagnostic des infections en pratique médicale. C'est surtout pour la détection de pathogènes difficilement cultivables, notamment les virus, que la PCR est devenue la méthode de référence. Si elle a remplacé les méthodes traditionnelles pour certaines indications, la PCR n'est pas applicable dans tous les cas, et elle n'est pas infaillible. Il est donc important de savoir quand employer les méthodes moléculaires, quelles sont leurs forces et leurs faiblesses, afin de pouvoir les prescrire



de façon rationnelle. Le diagnostic de laboratoire des maladies infectieuses se base sur deux approches :

- a) Détecter le microbe lui-même (directement par microscopie ou après culture) ou l'une de ses structures moléculaires (protéines ou acides nucléiques)
- b) Mesurer la réponse immunitaire humorale (anticorps spécifiques) ou cellulaire (stimulation lymphocytaire). Le choix de l'approche analytique dépend du questionnement clinique, du type de pathogène et de l'existence de tests de laboratoire pour le pathogène en question. Si les anticorps et les antigènes sont bien des structures moléculaires, le terme « diagnostic moléculaire » se réfère à des méthodes de détection et d'analyse du génome d'un organisme. Les premières méthodes d'analyse de l'ADN, comme le Southern blot, existaient déjà dans les années [38], mais c'est le développement de la PCR au milieu des années 1980 qui démocratisa leur utilisation. Très rapidement, la possibilité d'amplifier l'ADN et l'ARN (acide ribonucléique) fut utilisée pour la détection de pathogènes. Trente ans plus tard, la PCR est une méthode centrale du laboratoire de microbiologie.[39-42]

❖ **Fenêtre d'utilisation des méthodes moléculaires**

La détection par PCR est souvent opposée à la détection d'anticorps.

Les méthodes moléculaires, tout comme la détection d'antigènes, permettent un diagnostic dans la phase aiguë d'une maladie, avant l'apparition d'anticorps. La présence d'anticorps dans le sérum n'est en effet mesurable au plus tôt qu'après quelques jours (rubéole, varicelle), voire quelques semaines (virus respiratoires, maladie de Lyme) [42].

Dans la phase aiguë, une PCR positive démontre le plus souvent une infection, alors qu'une sérologie négative doit être répétée dans un délai adéquat pour mettre en évidence une séroconversion [42,43]. Il faut néanmoins rappeler que pour certaines maladies, par exemple la mononucléose infectieuse, les anticorps spécifiques sont présents au moment des symptômes. La détection d'anticorps suffit alors pour confirmer un diagnostic [44]. Les méthodes moléculaires peuvent servir au diagnostic de pratiquement toutes les infections aiguës. Elles ne

sont toutefois pas toujours nécessaires au diagnostic. Ainsi, un état fébrile avec des symptômes respiratoires en période de grippe ne justifie pas nécessairement une PCR.

De même, un tableau de varicelle chez un enfant ne requiert pas systématiquement une analyse de laboratoire. Par ailleurs, la PCR n'est pas utile au diagnostic de certaines infections, mais peut être utile dans leur suivi ou dans certaines situations.

❖ **Détection de pathogènes**

- **Virus**

En permettant la détection de pathogènes pas ou difficilement cultivables, les méthodes moléculaires ont révolutionné la microbiologie médicale, principalement pour le diagnostic des maladies virales. En effet, la culture de virus nécessite des lignées de cellules humaines ou animales immortalisées et peut prendre plusieurs semaines. Elle est de moins en moins utilisée et a été largement supplantée par la PCR, qui a également remplacé la sérologie pour de nombreuses indications, telles que l'infection aiguë à Herpès ou à Varicella zoster ou le zona.[43,45]

- **Bactéries et champignons**

Contrairement aux virus, les techniques moléculaires n'ont pas remplacé les cultures pour les bactéries ou les champignons. Elles ont toutefois pris une place importante pour la détection de pathogènes spécifiques tels que *Staphylococcus aureus* résistant à la méticilline (MRSA) ou *Clostridium difficile*. De plus, la détection de certaines bactéries à croissance lente ou requérant des conditions de cultures très particulières (mycobactéries, Chlamydia) a également été améliorée et simplifiée par le développement de PCR spécifiques.

La détection par PCR est disponible pour de nombreuses infections parasitaires comme la toxoplasmose, la leishmaniose, l'amibiase (distinction entre *Entamoeba histolytica* et *dispar*) ou la malaria [46]. Pour ces maladies, les méthodes traditionnelles (microscopie ou sérologie) restent encore très utilisées, mais il est vraisemblable que les méthodes moléculaires gagnent en importance dans les prochaines années.

❖ **Quantification de pathogènes**

## Quelle place de la biologie moléculaire dans le diagnostic des méningites infectieuses en réanimation.

Outre une simple détection, les méthodes moléculaires modernes permettent également de donner des indications quantitatives, par exemple pour suivre l'évolution de la charge virale des virus VIH ou de l'hépatite C sous thérapie, et de détecter ainsi l'émergence de souches résistantes. Cette quantification est également utile pour le diagnostic de réactivations de virus latents comme le polyomavirus BK ou le CMV (cytomégalovirus) chez les patients immunodéprimés.[46,47]

### ❖ Identification et caractérisation par séquençage

Bien que le séquençage de l'ADN ait été développé avant la PCR, toutes les méthodes modernes se basent désormais sur celle-ci. Son application la plus commune en microbiologie est la détection et l'identification de bactéries par le séquençage de l'ADN ribosomal. La séquence de ce gène étant spécifique à une espèce ou une famille, une identification est rendue possible, aussi lorsque la bactérie n'est pas ou plus cultivable. Cette méthode de PCR eubactérienne n'est cependant utile que pour des prélèvements normalement stériles, comme les implants ou le liquide céphalorachidien. La détection de mutations causant des résistances aux thérapies est une autre application du séquençage, utilisée par exemple pour la caractérisation des virus VIH ou CMV.

**Tableau XIII : Exemples de pathogènes pour lesquels une PCR peut être indiquée pour le diagnostic d'une méningite : [48]**

Bactéries	Virus	Levures
Escherichia coli K1	Cytomegalovirus (CMV)	Cryptococcus neoformans/gattii
Haemophilus influenzae	Enterovirus	
Listeria monocytogenes	Herpes simplex virus 1 (HSV-1)	
Neisseria meningitidis	Herpes simplex virus 2 (HSV-2)	
Streptococcus agalactiae	Human herpes virus 6 (HHV-6)	
Streptococcus pneumoniae	Human parechovirus	
	Varicella zoster virus (VZV)	

Dans notre étude ainsi que dans les autres études la PCR multiplex était la technique de biologie moléculaire utilisée sauf dans l'étude de Sanou M. la PCR en temps réel était la technique utilisée.

**Tableau XIII : la technique de biologie moléculaire utilisée selon la littérature.**

Etudes	Technique de biologie moléculaire utilisée
F. Medina [25]	PCR multiplex
Bansidhar T. [26]	PCR multiplex
Sanou M. [27]	PCR en temps réel
David C. [28]	PCR multiplex
Adrián P. [29]	PCR multiplex
O. Kallala [30]	PCR multiplex
Notre étude	PCR multiplex

- ✓ Dans notre étude *N. meningitidis* était l'agent infectieux le plus fréquent avec un taux de 54%.
- ✓ Dans l'étude de F. Medina, 4 agents infectieux ont été détectés (entérovirus, VZV, *Haemophilus influenzae*, *Streptococcus salivarius*) avec un taux égal d'ordre de 25%.
- ✓ Dans l'étude de Bansidhar T le *Streptococcus pneumoniae* était l'agent le plus fréquent avec un taux de 25,7%.
- ✓ Dans l'étude de Sanou M *N. meningitidis* type A était l'agent le plus fréquent avec un taux de 66%.
- ✓ Dans l'étude de David C. HSV-2 était l'agent le plus fréquent avec un taux de de 43%.
- ✓ Dans l'étude de Adrián P. *Streptococcus pneumoniae* était l'agent infectieux le plus fréquent avec un taux de 15%.
- ✓ Et dans l'étude de O. Kallala [30], l'entérovirus était le germe le plus fréquent avec un taux de 3 cas sur 15.

**Tableau XIV : les agents pathogènes selon la littérature.**

Etudes	Taux de positivité	Agents pathogènes
F. Medina [25]	12 cas (20%)	entérovirus : 3 cas VZV : 3 cas Haemophilus influenzae : 3 cas Streptococcus salivarius : 3 cas
Bansidhar T. [26]	101 cas (10.4%)	<b>1 seul agent :</b> Bactérie :Streptococcus pneumoniae :26 cas Haemophilus influenzae :6 cas Listeria monocytogenes :3 cas Streptococcus agalactiae :1 cas Neisseria meningitidis :1 cas E.coli K1 :1 cas Virus : Enterovirus :23 cas Varicella Zoster virus :14 cas HSV 1 :9 cas HSV 2 :4 cas HSV 6 :4 cas CMV :1 cas Champignons : Cryptococcus neoformans : 7 cas <b>Plusieurs agents :</b> VZV + Streptococcus pneumoniae : 1 cas
Sanou M. [27]	97 cas (56, 66%)	N. meningitidis A : 64 cas N. meningitidis X : 3 cas S. pneumoniae : 37 cas H. influenzae : 4 cas
David C. [28]	7 cas (9%)	HHV-6 : 2 cas HSV-2 : 3 cas S. pneumoniae : 1 cas Enterovirus : 1 cas
Adrián P. [29]	105 cas (15.2%)	<b>1 seul agent :</b> Streptococcus pneumoniae :16 cas Cryptococcus neoformans/gatti :11 cas HSV 1 :10 cas Varicella zoster virus :8 cas HHV 6 : 8 cas Escherichia coli K1 :7 cas Neisseria meningitidis :7 cas Enterovirus :7 cas Haemophilus influenzae :6 cas CMV :4 cas HSV 2 : 4 cas Listeria monocytogenes : 3 cas Parechovirus : 1 cas Streptococcus agalactiae : 1 cas <b>Plusieurs agents :</b> H. influenzae/CMV : 1 cas S. agalactiae + E. coli K1 : 1 cas Enterovirus + HHV 6 : 1 cas E.coli K1 + HSV 1 : 1 cas
O. Kallala [30]	33.3 %	Entérovirus : 3 cas HSV-1 : 1 cas HSV-2 : 1 cas VZV : 1 cas
Notre étude	87%	Méningocoque 54% Pneumocoque 34% Haemophilus influenzae 6% Escherichia coli 3% Herpès virus (HSV) 3%

**d.3 L'étude biochimique**

Permet d'apprécier la glycorachie. Sa valeur doit être à 2/3 de la glycémie capillaire. Lors d'une méningite bactérienne et tuberculeuse, le rapport est inférieur à 40% (Se 80% et Sp 98%) [49]. Lors d'une méningite virale le rapport est normal. La protéinorachie est également élevée dans ces méningites variant selon les études de 0,4g/L à 1,2g/L [27]. Enfin, le taux de lactates dans le LCR est depuis peu recommandé, taux élevé dans les cas de méningites bactériennes (Sp 89%) [50]

**Tableau XV : Résultat de l'examen du LCR [23]**

LCR	Aspect	Examen microscopique			Culture	PT (g/l)	Glu (mmol/l)	CRP PCT
		Cytologie/ mm <sup>3</sup>	Formule leucocytaire	Gram				
Normal	Eau de roche	< 2 < 30 (NN)	-	O		0,3	2/3 de glycémie	Normal
Méningite purulente	Trouble Louche Eau de riz	> 1000*	Polynucléaires 80-90 %*	Cg + Cg + Cg - Bg -	Pneumocoque SGB Méningocoque <i>Haemophilus</i> Etc.	> 1	< 2/3 de glycémie	CRP +++ PCT +++
Méningite à liquide clair	Clair ou louche	100-500	Panaché	Bg +	<i>Listeria</i>	> 1	< 2/3 de glycémie	CRP ++ PCT ++
Méningite à liquide clair	Clair ou louche	100-500	Lymphocytes	Ziehl BAAR	<i>M. tuberculosis</i>	> 1	< 2/3 de glycémie	
Méningite à liquide clair	Clair ou louche	10-100	Lymphocytes	O	Virus*	< 1	Normale	CRP ± PCT -

PT : protéinorachie, Glu : glycorachie, CRP : protéine C-réactive, PTC : procalcitonine plasmatique.  
\* Penser aux méningites à entérovirus.

**d.4. Autres examens complémentaires : [23]**

❖ **Bilan sanguin :**

Parallèlement au prélèvement de sang sur les flacons d'hémocultures, un prélèvement de sang sur deux tubes secs stériles doit être effectué. En effet, dans le sérum peuvent être pratiquées des recherches d'antigènes solubles et/ou des PCR : PCR ciblée sur le méningocoque le plus souvent, éventuellement le pneumocoque en cas de culture négative. La PCR peut être effectuée sur le sang total, le plasma ou le sérum, exclusivement à partir de tubes n'ayant pas été ouverts ou manipulés, afin d'éviter toute contamination.

❖ **Antigènes solubles :**

En dehors de l'aide apportée à l'observation de formes atypiques à l'examen direct, la détection d'antigènes solubles est précieuse lorsqu'une antibiothérapie est déjà instaurée, inhibant la culture. La sensibilité de cet examen est cependant assez faible : lorsqu'on n'observe pas de bactéries à l'examen direct, la recherche d'antigènes solubles est très souvent négative. Pour le méningocoque, la performance des réactifs agglutinants (détection des antigènes polysidiques capsulaires) est variable selon le sérotype en cause [51]. Pour le groupe B (le plus fréquent au Maroc), les résultats sont très décevants ; ils sont un peu meilleurs pour les groupes C, W135 et Y, respectivement 28 %, 3 % et 3 % des isolats [52], mais restent globalement modestes pour l'aide au diagnostic. La sensibilité pourrait être cinq fois supérieure en effectuant un traitement ultrasonique du mélange latex/LCR (ou latex/sérum), suivi d'une observation au microscope de la réaction, mais il faut disposer d'un équipement à ultrasons .[53] Il y a également des problèmes de spécificité, le plus connu étant la communauté antigénique du groupe B avec *Escherichia coli* K1, responsable de méningites néonatales.

Pour le pneumocoque, les antigènes solubles peuvent être recherchés dans le LCR, le sérum et l'urine, au moyen de tests agglutinants, basés sur les antigènes capsulaires. Ces dernières années, est apparu un réactif beaucoup plus sensible que les tests agglutinants : le test immunochromatographique Binax NOW®. Ce test repose sur la détection du polysaccharide C de la paroi bactérienne. La sensibilité et la spécificité de ce test sont proches de 100 % pour les méningites à pneumocoque, comparativement au diagnostic par culture et/ou PCR[54]. Ses performances sont indépendantes des sérotypes de pneumocoques en cause dans les méningites. D'utilisation très simple et rapide, adapté à l'urgence, l'inconvénient de ce test réside dans son coût. Pour *H. influenzae* de sérotype b, devenu exceptionnel depuis la vaccination, l'antigène soluble b peut être recherché par agglutination, dans le LCR, le sérum ou l'urine. Pour les tests urinaires, particulièrement intéressants en cas d'antibiothérapie préalable,

la spécificité du test peut être améliorée en diluant l'urine au 1/8 sans altération de la sensibilité (positivité persistante jusqu'au 1/32).[55]

❖ **Hémocultures.**

Lors d'une méningite, l'infection du LCR fait suite à une bactériémie élevée (> 10<sup>2</sup> UFC/ml pour le pneumocoque) et prolongée. Les hémocultures sont positives dans plus de 70 % des cas au cours des méningites à pneumocoque, dans 41 % des cas au cours des méningites à méningocoque. Pour ces dernières, les hémocultures sont particulièrement utiles car la culture du LCR est négative dans plus de 20 % des cas. La positivité des hémocultures, ainsi qu'un faible taux de leucocytes dans le LCR sont, avec divers paramètres cliniques, deux facteurs associés à un pronostic défavorable.[56]

❖ **Biopsie :**

Les lésions purpuriques, a fortiori ecchymotiques ou nécrotiques, doivent être prélevées par biopsie ou par aspiration à l'aiguille du centre de la lésion, pour rechercher un méningocoque (examen direct, culture et PCR)

❖ **Sérologie :**

VIH systématique (après information du patient). Sérologies VDRL-TPHA, Lyme, leptospirose (méningite lymphocytaire). [57]

## **IV. Prise en charge :**

### **1. Critères d'hospitalisation d'une méningite :**

Les malades atteints de méningite sont presque toujours hospitalisés et, s'il existe des signes de gravité, l'hospitalisation doit être assurée en réanimation. Les signes cliniques de gravité neurologiques, cardiorespiratoires (sepsis, état de choc, polypnée) ou cutanés (purpura extensif) doivent être systématiquement recherchés.

#### **1.1. Troubles neurologiques**

Les troubles de vigilance sont souvent expliqués par une atteinte encéphalique associée à la méningite. La production de cytokines dans les espaces sous-arachnoïdiens induit une inflammation du SNC qui contribue à une augmentation de la perméabilité de la barrière



hémato-encéphalique, induisant un oedème cérébral et une augmentation de la pression intracrânienne. Les troubles de vigilance rentrent alors dans le cadre d'un syndrome d'hypertension intracrânienne associant céphalées, vomissements, troubles visuels avec oedème papillaire au fond d'oeil et parfois paralysie de la sixième paire crânienne (sans valeur localisatrice). Le risque principal de ces complications est l'engagement cérébral secondaire à l'oedème ou à l'hydrocéphalie, mettant immédiatement en jeu le pronostic vital.

La constatation d'un déficit d'un membre ou d'un hémicorps, d'une aphasie est le plus souvent la conséquence d'un accident vasculaire ischémique secondaire à une vascularite infectieuse ou à une coagulation intra vasculaire dans les vaisseaux cérébraux (10-15 % des méningites bactériennes), tout particulièrement au cours des méningites à *S. pneumoniae*. L'imagerie cérébrale est alors indispensable. Les thrombophlébites cérébrales sont beaucoup plus rares et sont le plus souvent expliquées par un foyer infectieux de contiguïté (infection ORL par exemple).

Les signes focaux peuvent être expliqués par un déficit postcritique dans le cadre d'une épilepsie partielle. Certains signes focaux suggèrent un engagement temporal : mydriase unilatérale a réactive homolatérale, réactions de décérébration. Enfin, les signes de localisation peuvent être expliqués par un empyème sous-dural ou encore un abcès cérébral secondaires à la méningite. Ces complications rares (1% des méningites bactériennes) sont au mieux détectées par l'IRM cérébrale avec injection de gadolinium.

Liées à l'inflammation du cortex cérébral, elles sont présentes dans 15-20 % des cas et peuvent aggraver les troubles de conscience liés à la méningite (coma postcritique) ou évoluer vers un état de mal convulsif. Celui-ci a pour conséquences une hypoxémie (liée à l'encombrement des voies aériennes et à la dysfonction des muscles respiratoires), des troubles neurovégétatifs (instabilité hémodynamique, tachycardie) et une acidose métabolique lactique. Le traitement anticonvulsivant est également susceptible d'accroître la profondeur du coma.

### 1.2. Troubles cardiorespiratoires

L'hypotension, avec ou sans signes d'hypoperfusion tissulaire, est la conséquence d'une hypovolémie ou d'un état septique grave nécessitant alors une prise en charge spécifique (expansion volémique, vasopresseurs). Les troubles respiratoires (polypnée, désaturation) peuvent être dus à l'inhalation (conséquence des troubles de vigilance ou d'une atteinte des nerfs crâniens), au sepsis associé ou encore à la méningite elle-même (dyspnée périodique de Cheynes–Stokes, traduisant une souffrance diencéphalique ou mésencéphalique supérieure).

### 2. Approche thérapeutique :

La mise en route de l'antibiothérapie au cours des méningites bactériennes est une urgence absolue, le pronostic immédiat et à moyen terme dépendant de sa précocité. De nombreuses études retrouvent une relation statistiquement significative entre un délai d'administration des antibiotiques supérieur à trois heures après l'arrivée aux urgences et un pronostic défavorable [58–61]. Dans une étude danoise récente, le risque relatif de mortalité ou de séquelles est de 1,09 pour chaque heure supplémentaire de délai de mise en route de l'antibiothérapie[61].

Dans une étude française, un délai de plus de trois heures entre l'admission à l'hôpital et la mise en route de l'antibiothérapie est associé à un risque relatif de mortalité de 14,12 et un risque relatif de séquelles à trois mois de 2,84 [60]. L'antibiothérapie doit donc être instaurée au plus tard dans les trois heures, idéalement dans l'heure suivant l'arrivée à l'hôpital, quel que soit le temps déjà écoulé depuis le début présumé de la méningite (grade B).[36]

Trois situations justifient l'administration immédiate de Ceftriaxone à domicile : Purpura fulminans, suspicion de méningite bactérienne avec impossibilité d'une prise en charge inférieure à 90 min et un état de choc [36]. L'antibiothérapie doit être débutée avant la ponction lombaire s'il existe une contre-indication à sa réalisation, notamment, une anomalie connue de l'hémostase, un traitement anticoagulant efficace, un saignement actif [36]. Il est recommandé de pratiquer une hémoculture avant l'antibiothérapie lors de la prise en charge initiale de ces cas

## Quelle place de la biologie moléculaire dans le diagnostic des méningites infectieuses en réanimation.

particuliers [36]. La ponction lombaire sera réalisée dès que possible après correction des anomalies. Dans la mesure où la culture du LCR se négative très rapidement après le début de l'antibiothérapie, on peut utiliser les techniques complémentaires immunologiques et la PCR sanguine si besoin. Dans tous les autres cas, le traitement sera adapté à l'examen direct.

### **2.1 Antibiothérapie initiale des méningites : selon l'examen direct :**

L'antibiotique doit être adapté au germe retrouvé à l'examen direct. La 17e conférence de consensus en thérapeutique anti-infectieuse (tenu en 2008), préconise les différents antibiotiques présentés dans les tableaux V et VI [36]. L'antibiothérapie initiale des méningites bactériennes est guidée par l'examen direct du LCR après coloration de Gram, avec le délai d'une heure à l'obtention des résultats de cet examen direct. Dans les autres situations, l'antibiothérapie probabiliste initiale comporte une céphalosporine de troisième génération, soit Céfotaxime, soit Ceftriaxone, à doses élevées. La dose de céphalosporine est alors adaptée aux résultats de l'examen direct, en tenant compte d'une éventuelle mise en évidence de bacille Gram positif (remplacement par Amoxicilline et Gentamicine ou adjonction d'Amoxicilline et Gentamicine). [36]

**Tableau XVI : Antibiothérapie selon le germe suspecté retrouvé à l'examen direct :**

<b>Examen direct positif</b>	<b>Antibiothérapie</b>
<b>Suspicion de pneumocoque (Cocci Gram +)</b>	Céfotaxime : 300 mg/kg/j IV soit en 4 perfusions, soit en administration continue avec dose de charge de 50 mg/kg sur 1 heure OU Ceftriaxone : 100 mg/kg/j IV en 1 ou 2 perfusions
<b>Suspicion de méningocoque (Cocci Gram -)</b>	Céfotaxime : 200 mg/kg/j IV soit en 4 perfusions, soit en administration continue avec dose de charge de 50 mg/kg sur 1 heure OU Ceftriaxone : 75 mg/kg/j IV en 1 ou 2 perfusions
<b>Suspicion de listeria (Bacille Gram +)</b>	Amoxicilline : 200 mg/kg/j IV soit en 4 perfusions, soit en administration continue ET Gentamicine : 3 à 5 mg/kg/j IV en 1 perfusion unique journalière
<b>Suspicion de H. influenzae (Bacille Gram -)</b>	Céfotaxime : 200 mg/kg/j IV soit en 4 perfusions, soit en administration continue avec dose de charge de 50 mg/kg sur 1 heure OU Ceftriaxone : 75 mg/kg/j IV en 1 ou 2 perfusions

**Tableau XVII : Antibiothérapie si examen direct non contributif.**

<b>Examen direct négatif</b>	<b>Antibiotique</b>
<b>Sans arguments en faveur d'une listériose</b>	Céfotaxime : 300 mg/kg/j IV soit en 4 perfusions, soit en administration continue avec dose de charge de 50 mg/kg sur 1 heure OU Ceftriaxone : 100 mg/kg/j IV en 1 ou 2 perfusions
<b>Avec arguments en faveur d'une listériose (Terrain, apparition progressive de la symptomatologie, atteinte rhombocéphalique (atteinte des paires crâniennes et/ou syndrome cérébelleux).</b>	Céfotaxime : 300 mg/kg/j IV soit en 4 perfusions, soit en administration continue avec dose de charge de 50 mg/kg sur 1 heure OU Ceftriaxone : 100 mg/kg/j IV en 1 ou 2 perfusions ET Amoxicilline : 200 mg/kg/j IV soit en 4 perfusions, soit en administration continue ET Gentamicine : 3 à 5 mg/kg/j IV en 1 perfusion unique journalière

### **2.2 Antibiothérapie après la phase initiale :**

En cas d'évolution favorable, l'antibiothérapie doit être adaptée aux résultats microbiologiques définitifs selon les critères présentés dans le tableaux VII[36]. Lorsqu'aucune documentation microbiologique n'a pu être obtenue mais que le diagnostic de méningite bactérienne est très probable, l'antibiothérapie initiale est maintenue sur 14 jours tout en envisageant d'autres étiologies[27]. En cas de méningite à pneumocoque d'évolution clinique non favorable à 48-72 heures de traitement et en l'absence d'anomalie à l'imagerie cérébrale, une PL de contrôle est recommandée. La suite du traitement devra ensuite être discutée de manière multidisciplinaire. Dans ce cas, la C3G est poursuivie à dose maximale, associée éventuellement à de la Rifampicine (10 mg/kg toutes les 12 heures) ou de la Vancomycine (15 mg/kg sur une heure en dose de charge puis 60 mg/kg/j en continue)[36].



## *PREVENTION*



**Prévention : [62, 63,64]**

Les moyens préventifs de la méningite cérébro-spinale sont basés essentiellement sur :

- Précautions complémentaires de type gouttelettes initialement (masque), levées 24 heures après le début d'une antibiothérapie adaptée.
- Déclaration obligatoire, qui doit se faire à partir de la fiche d'investigation d'un cas de méningite aiguë, puis envoyée à la délégation du ministère de la santé à la province ou préfecture ; les heures qui suivent l'hospitalisation du patient, et la disponibilité des premiers éléments diagnostiques (clinique, aspect du LCR, examen direct...). Elle intéresse toutes les formes de méningite (cas suspects, probables ou confirmés).
- Éradication du portage du cas, inutile si antibiothérapie par ceftriaxone ou céfotaxime.
- Antibioprophylaxie des sujets contacts : sujet qui a été en contact direct (face à face) proche (moins d'un mètre) et prolongé (plus d'une heure d'affilée) avec les sécrétions oropharyngées d'un sujet infecté dans les 10 jours précédents.

**1. Délai de prise en charge :**

L'administration de l'antibioprophylaxie est urgente. Elle doit être débutée dans les 24-48 heures suivant le diagnostic, et au plus tard dans les 10 jours après le dernier contact avec le cas index.

L'antibioprophylaxie procure une protection immédiate et concerne tous les sujets contacts identifiés, quel que soit leur statut vaccinal.

L'antibiotique de référence est la rifampicine per os pendant 2 jours.

Il faut prévenir les femmes en âge de procréer de la diminution d'efficacité des contraceptifs oraux et de la nécessité d'utiliser une contraception mécanique pendant la durée du traitement et la semaine qui suit.

La rifampicine peut être administrée chez une femme enceinte ; il faut penser à supplémenter le nouveau-né en vitamine K si le traitement survient dans les 4 jours précédant l'accouchement.

En cas de contre-indication et/ou de résistance à la rifampicine, on peut utiliser la ceftriaxone, ou la ciprofloxacine orale en dose unique.

## **2. Posologies :**

Rifampicine 600 mg matin et soir pendant 2 jours ou en cas de contre-indication ceftriaxone 250 mg dose unique par voie injectable ou ciprofloxacine 500 mg dose unique par voie orale.

## **3. Vaccination :**

Dès que le sérotype est connu, s'il s'agit d'un méningocoque A, C, Y ou W135, il faut donc proposer le plus rapidement possible une vaccination préventive (en plus de l'antibioprophylaxie) aux sujets contacts. On utilisera les vaccins conjugués C ou ACYW135.

La vaccination méningocoque de sérotype B n'est à ce jour recommandée que dans le cadre de situations spécifiques notamment épidémiques et d'hyperendémie, sur décision des autorités sanitaires. Elle n'est pas recommandée pour les sujets contacts de cas sporadiques uniques d'infections de sérotype B.

Il n'y a pas d'indication à vacciner le cas index contre le sérotype en cause, la maladie induisant une immunité.



## *CONCLUSION*





La méningite est l'inflammation des membranes et du liquide protéogéant respectivement la moelle épinière et le cerveau.

C'est une urgence diagnostique et thérapeutique et en l'absence d'une prise en charge rapide, la méningite est à l'origine de graves complications neurologiques ou de décès en l'espace de quelques heures suivant sa contraction.

L'utilisation de la biologie moléculaire en matière de méningite permet, tout d'abord, un gain de temps réel ce qui devrait permettre un traitement adapté plus précoce, une diminution du nombre de jours d'hospitalisation et au total une baisse significative du coût.

Cette étude a permis de mettre en évidence de nombreux avantages liés au diagnostic des Méningites par approche syndromique en utilisant le Filmarray, tel :

- ✓ la Sensibilité analytiques élevées dans la détection des agents pathogènes.
- ✓ L'amélioration du diagnostic étiologique
- ✓ La meilleure maîtrise du risque infectieux viral (isolement, traitement antiviral)
- ✓ La diminution de l'exposition aux antibiotiques et la réduction du taux de résistance bactérienne en cas de méningite virale – Améliorer le parcours de soins
- ✓ La rapidité de l'analyse

Cependant, certains paramètres sont à prendre en compte afin d'exploiter au mieux les performances de cette technique :

- ✓ Risque de non détection d'un pathogène non ciblé par le Panel
- ✓ Non détermination du profil de sensibilité et de résistance des bactéries diagnostiquées
- ✓ Seuil de détection élevé pour certains virus par rapport aux autres plateformes de détection
- ✓ Coût élevé par rapport aux autres méthodes conventionnelles

**Quelle place de la biologie moléculaire dans le diagnostic des méningites infectieuses en réanimation.**

---

Le Panel BioFire Filmarray Meningitis/Encephalitis ne pourra remplacer la culture pour le diagnostic des méningites, mais leur synergie représentera un atout majeur dans le diagnostic rapide et la prise en charge des infections méningées



## *RESUMES*



## Résumé :

Notre travail est une étude rétrospective portant sur 30 cas de méningite infectieuse admis et hospitalisés au service de réanimation de l'hôpital militaire Avicenne (HMA) de Marrakech sur une période de 3 ans depuis janvier 2018 jusqu'au aout 2021.

Sur le plan épidémiologique, l'âge moyen était de 38,6 ans avec des extrêmes allant de 18 à 75 ans. sexe masculin était le plus dominant avec un taux de 57%.la plupart des patients étaient admises via les urgences avec un taux de 70%.

Sur le plan clinique , l'hypertension artérielle était l'antécédent le plus fréquent avec un taux de 14% , la symptomatologie était d'installation brutale dans 73% des cas, les céphalées étaient le symptôme le plus dominant avec un taux de 90% et le Syndrome méningée typique a été retrouvé chez 53% des cas.

Sur le plan biologique, l'examen macroscopique du LCR a objectivé un liquide trouble dans 56,5% , la cellularité moyenne à l'examen microscopique était de 4835 élément/mm<sup>3</sup>, avec une très extrêmes allant de 10 éléments à 31000 , Une prédominance PNN était présente dans 70% des cas ,le taux moyen de la protéinorachie était de 3,18g/l avec des extrêmes allant de 0,26 à 9,43g/l , la valeur moyenne du rapport glucorachie/glycémie est de 0,27 avec des extrêmes allant de 0,11 jusqu'à 0,63.

le taux de positivité de la PCR était de 87%, Le Méningocoque était le germe le plus fréquent avec un taux de 16 cas (54%) suivi de Pneumocoque dans 10 cas (34%), l'Haemophilus influenzae dans 2 cas (6%) , Escherichia coli dans 1 cas (3%) et l'herpès virus (HSV) dans 1 cas (3%)

### **Summary:**

Our work is a retrospective study of 30 cases of infectious meningitis admitted and hospitalized in the intensive care unit of the Avicenne military hospital (HMA) of Marrakech over a period of 3 years since January 2018 until August 2021.

Epidemiologically, the average age was 38.6 years with extremes ranging from 18 to 75 years. Male gender was the most dominant with a rate of 57%.

Clinically, arterial hypertension was the most frequent antecedent with a rate of 14%, the symptomatology was of sudden onset in 73% of cases, headaches were the most dominant symptom with a rate of 90% and the typical meningeal syndrome was found in 53% of cases.

Biologically, macroscopic examination of the CSF showed a turbid fluid in 56.5% of the cases. The average cellularity on microscopic examination was 4835 elements/mm<sup>3</sup>, with a wide range from 10 elements to 31000, A predominance of PNN was present in 70% of the cases, the average level of proteinorachy was 3,18g/l with extremes going from 0,26 to 9,43g/l, the average value of the ratio glucorachy/glycemia is 0,27 with extremes going from 0,11 to 0,63.

The PCR positivity rate was 87%, Meningococcus was the most frequent germ with a rate of 16 cases (54%) followed by Pneumococcus in 10 cases (34%), Haemophilus influenzae in 2 cases (6%), Escherichia coli in 1 case (3%) and herpes virus (HSV) in 1 case (3%)

## ملخص:

عملنا عبارة عن دراسة رجعية لـ 30 حالة من التهاب السحايا المعدي التي تم تسجيلها في وحدة العناية المركزة بالمستشفى العسكري ابن سينا بمراكش على مدى 3 سنوات منذ يناير 2018 حتى أغسطس 2021. من الناحية الوبائية ، كان متوسط العمر 38.6 سنة و تراوحت الاعمار من 18 إلى 75 سنة. شكل الذكور غالبية الحالات بنسبة 57٪.

سريريًا ، كان ارتفاع ضغط الدم الشرياني هو السابق الأكثر شيوعًا بمعدل 14٪ ، وكانت الأعراض تظهر بشكل مفاجئ في 73٪ من الحالات ، وكان صداع الرأس هو أكثر الأعراض تسجيلًا بنسبة 90٪ ووجدت المتلازمة السحائية النمذجية في 53٪ من الحالات.

من الناحية البيولوجية ، أظهر الفحص المجهرى للسائل النخاعي وجود سائل عكر في 56.5٪ من الحالات. كان متوسط الخلايا في الفحص المجهرى 4835 عنصرًا / مم مكعب ، وتراوح عدد الخلايا من 10 إلى 31000 ، كانت غلبة الخلايا متعددة النوايا موجودة في 70 ٪ من الحالات ، وكان متوسط مستوى البروتين 3.18 جم / لتر و تراوحت قيمته بين 0.26 إلى 9.43 جم / لتر ، كان متوسط قيمة اكليلوز في الدم / السكر في الدم هو 0.27 معقيم تراوحت بين 0.11 إلى 0.63.

كان معدل إيجابية تفاعل البوليميراز المتسلسل 87٪ ، وكانت المكورات السحائية هي الجرثومة الأكثر شيوعًا بمعدل 16 حالة (54٪) تليها المكورات الرئوية في 10 حالات (34٪) ، هيموفيليس انفلوانزي في حالتين (6٪) ، ايشيريشيا كولي في حالة واحدة (3٪) وفيروس الهربس في صندوق واحد (3٪).



## *ANNEXES*



**Fiche d'exploitation :**

**1. Identité:**

Nom : .....  
Prénom : .....  
âge : .....  
sexe : .....  
n° dossier : .....  
origine géographique: .....  
provenance : - malade référé d'un autre hôpital : oui  non   
- domicile : oui  non

**2. Motif d'admission:** .....

**3. Antécédents:**

**Médicaux:**

Méningite :   
Tuberculose :   
séroposivité VIH :

Facteurs prédisposant

otite ou sinusite :   
pneumopathie :   
traumatisme crânien :   
brèche ostéoméningée:

HTA :

Diabète :

Prise d'ATB : ou  non  si oui, lequel: .....

**Chirurgicaux :** .....

**4. Histoire de la maladie:**

Début: brutat  progressif

Délai entre les premiers symptômes et l'hospitalisation: .....

Fièvre :

Céphalées :

Vomissement :

Photophobie :

Troubles visuels :

Confusion :

Convulsion :

**5. Examen clinique:**

T°: .....SG: ..... PA: ..... FC: ..... FR: .....



Raideur méningée : oui  non   
Déficit neurologique : oui  non   
Purpura : oui  non

**6. Examens paracliniques :**

**TDM cérébrale:** .....

**Fond d'œil:** oui  non  si oui, résultat: .....

**PL :**

**aspect du liquide:** .....

**cytologie:** éléments/mm3: ..... PNN: ..... Lymph: .....

GR: .....

**chimie:** glucorachie :

proteinorrhée:

gluco/glycémie :

**bactériologie:** examen direct: .....

Culture : .....

**antigène soluble** : oui  non

**biologie moléculaire :**

+ méthodes : PCR classique  filmarray

+ Taux de positivité : ..... %

+ Pathogènes détectés :

Bactéries :

Escherichia coli K1

Haemophilus influenzae

Listeria monocytogenes

Neisseria meningitidis

Streptococcus agalactiae

Streptococcus pneumoniae

Virus :

Cytomégalovirus (CMV)

Entérovirus

Herpès simplex virus 1 (HSV-1)

Herpès simplex virus 2 (HSV-2)

Virus de l'herpès humain de type 6 (VHH-6)

Le virus varicelle-zona

Paréchovirus humain

Parasites :

Cryptococcus neoformans/gattii

**antibiogramme** : oui  non

interprétation: .....

---

---

Quelle place de la biologie moléculaire dans le diagnostic des méningites infectieuses en réanimation.

---

---

**IRM cérébrale:** oui  non  si oui, résultat : .....

**Bactériologie:** hémoculture : .....

ECBU : .....

prélèvement d'une porte d'entrée: .....

**Biologie:** NFS:

GB: .....

PNN: .....

Hb: .....

Ly: .....

PQ: .....

Ht: .....

urée: .....

créat: .....

glycémie: .....

TP/TCA: .....

CRP : .....

PCT: .....

ALAT: .....

ASAT: .....

ionogramme: .....

**Radiographie thoracique à l'admission:** .....

**7. Prise en charge thérapeutique:**

assistance ventilatoire: oui  non  durée : .....

produits vasoactifs : oui  non  durée : .....

remplissage: oui  non

héparinothérapie: oui  non

produits sanguins labiles: oui  non

anticonvulsivants: oui  non

corticothérapie: oui  non

antibiothérapie probabiliste: oui  non

décal entre l'admission et l'initiation des ATB:

avant la PL et la TDM :

avant la PL, après la TDM:

après les deux:

molécule et dose : .....

antibiothérapie efficace: délai d'initiation : .....

molécule et dose: .....

**Quelle place de la biologie moléculaire dans le diagnostic des méningites infectieuses en réanimation.**

---

**8. Evolution:**

- favorable:

- défavorable:

- complications: .....

.....

- décès: oui  non  ,si oui, la cause: .....



## *BIBLIOGRAPHIE*



1. **Lamoril J, Bogard M, Ameziane N, Deybach J C, Bouizegarène P. Biologie moléculaire et microbiologie clinique en 2007 Généralités –Partie 1. Immunoanalyse et biologie spécialisée 2007; 22: 5–18**
2. **Bogard M, Lamoril J.**  
Biologie moléculaire en biologie clinique, Tome I, coll Option bio. Editions Elsevier 1999
3. **Harald H Kessler.**  
Molecular diagnostics of infectious disease. De Gruyter; 2010; 47–9
4. **Siun C T, Beow C Y. DNA, RNA, and Protein Extraction: The Past and the Present.**  
Hindawi publishing corporation  
journal of biomedicine and biotechnology 2009;1–10
5. **Bourdé–vacher K, Khenfer D, Martin C, Pivert G, Sorel M, Vesseron S.**  
Nouveautés en biologie moléculaire. IRBM News 2009; 3: 17–23
6. **Elizabeth A M,**  
Anne M W. Nucleic acid–based methods for the detection of bacterial pathogens: Present and future considerations for the clinical laboratory. Clinica Chimica Acta 2006; 363: 206–20
7. **Kara K S, Gisela T, Peter R, Kley H T, Deborah A P, Stephen K T, Molecular diagnosis of infectious diseases in dermatology, J Am Acad Dermatol 2005; 53: 749–65**
8. **Jean–claude K, Marc D.**  
Biologie moléculaire et médecine. Flammarion 2007
9. **Bogard M, Ameziane N, Lamoril J.**  
Microarray d’ADN et profils d’expression des gènes Première partie : concept, fabrication et mise en oeuvre. Immuno–analyse et biologie spécialisée 2008; 23: 71–88
10. **Lamoril J, Ameziane N, Deybach JC, Bouizegarène P, Bogard M.**  
Les techniques de séquençage de l’ADN : une révolution en marche. Première partie. Immuno–analyse et biologie spécialisée 2008; 23: 260–79
11. **Satu K, David WG B.**  
Molecular diagnostic techniques. Medicine 2009; 37: 535–40
12. **Mornet E. ADN,**  
les 50 ans de la double hélice : du concept d’hybridation moléculaire aux biopuces. Gynécologie Obstétrique & Fertilité 2003; 31: 895–9
13. **René C.**  
Quelles utilisations de la spectrométrie de masse de type MALDI–TOF en microbiologie médicale. Revue Francophone Des Laboratoires 2009; 416 61–4

14. **Zunt JR, Kassebaum NJ, Blake N, Glennie L, Wright C, Nichols E, et al.**  
Global, regional, and national burden of meningitis, 1990–2016: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2016. *The Lancet Neurology*. 2018;17(12):1061–82.
15. **van de Beek D.**  
Progress and challenges in bacterial meningitis. *Lancet*. 2012;380(9854):1623–4.
16. **McIntyre PB, O'Brien KL, Greenwood B, van de Beek D.**  
Effect of vaccines on bacterial meningitis worldwide. *The Lancet*. 2012;380(9854):1703–11.
17. **WHO.**  
Defeating meningitis by 2030: baseline situation analysis Geneva WHO; 2019 [Available from: [https://www.who.int/immunization/research/BSA\\_20feb2019.pdf?ua=1](https://www.who.int/immunization/research/BSA_20feb2019.pdf?ua=1)].
18. **Edmond K, Clark A, Korczak VS, Sanderson C, Griffiths UK, Rudan I.**  
Global and regional risk of disabling sequelae from bacterial meningitis: a systematic review and meta-analysis. *Lancet Infect Dis*. 2010;10(5):317–28.
19. **Edmond K, Dieye Y, Griffiths UK, Fleming J, Ba O, Diallo N, et al.**  
Prospective cohort study of disabling sequelae and quality of life in children with bacterial meningitis in urban Senegal. *Pediatr Infect Dis J*. 2010;29(11):1023–9.
20. **Kohli-Lynch M, Russell NJ, Seale AC, Dangor Z, Tann CJ, Baker CJ, et al.**  
Neurodevelopmental Impairment in Children After Group B Streptococcal Disease Worldwide: Systematic Review and Meta-analyses. *Clin Infect Dis*. 2017;65(suppl\_2):S190–s9.
21. **Global, regional,**  
and national age–sex specific mortality for 264 causes of death, 1980–2016: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2016. *Lancet*. 2017;390(10100):1151–210.
22. **Hoogman M, van de Beek D, Weisfelt M, de Gans J, Schmand B.**  
Cognitive outcome in adults after bacterial meningitis. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 2007;78:1092–6.
23. **I. Pilly, L.**  
Cmit “Méningites, méningo-encéphalites chez l’adulte et l’enfant. 2016.
24. **D. Strasbourg,**  
“Méningites bactériennes,” pp. 1–28, 2012.
25. **F. Medina , A. Belkacem , J. Breuil , E. Hernandez , M. Tchir , A. Raffetin , S. Dellion , P. Caraux-Paz , O. Patey**  
Diagnostic rapide des méningites et encéphalites infectieuses par PCR multiplex : bilan dans un groupement hospitalier général  
19es Journées Nationales d’Infectiologie / Médecine et maladies infectieuses 48 (2018) S120–S122
26. **Bansidhar Tarai & Poonam Das**  
FilmArray® meningitis/encephalitis (ME) panel, a rapid molecular platform for diagnosis of CNS infections in a tertiary care hospital in North India: one-and-half-year review  
*Neurological Sciences* <https://doi.org/10.1007/s10072-018-3584-y>

- 27. Sanou M. et al.**  
Diagnostic moléculaire par PCR en temps réel  
d'agents bactériens responsables des méningites purulentes au Burkina Faso  
Médecine et Santé Tropicales 2013 ; 23 : 93–99
- 28. David Chang, MC USA\*;** Lt Col Jason F. Okulicz, USAF, MC\*;  
CPT Lindsey E. Nielsen, MC USA†; Lt Col Brian K. White, USAF, MC\*  
A Tertiary Care Center's Experience with Novel Molecular Meningitis/Encephalitis Diagnostics and Implementation with Antimicrobial Stewardship  
MILITARY MEDICINE, 183, 1/2:e24, 2018
- 29. Adrián Peñata et al.**  
Molecular diagnosis of meningitis and meningoencephalitis with an automated real-time multiplex polymerase chain reaction in a tertiary reference complex in Medellín, Colombia  
Rev Inst Med Trop São Paulo. 2020;62:e77
- 30. O. Kallala et al**  
Panel méningite-encéphalite de BIOFIRE® FILMARRAY®: Expérience du laboratoire de microbiologie de l'hôpital universitaire Sahloul à Souss.  
Le 30ème congrès national de la société tunisienne de pathologie infectieuse.
- 31. Van deBeek D, de Gans J, Spanjaard L, Weisfelt M, Reitsma JB, Vermeulen M.**  
Clinical features and prognostic factors in adults with bacterial meningitis. N Engl J Med 2004; 351:1849–59.”
- 32. Knein H.**  
Méningites bactériennes aiguës. Thèse de médecine N°203. Faculté de médecine et de pharmacie de Rabat, 2015.
- 33. Kamina P, Martinet C, Gouazé A.**  
Anatomie clinique. Tome 5, [Neuroanatomie]. 2ème édit. Maloine; 2013.
- 34. La Scolea LJ, Jr Dryja D.**  
Quantification of bacteria in cerebrospinal fluid and blood of children with meningitis and its diagnostic significance. J Clin Microbiol 1984; 19(2):187–90.”
- 35. Karandanis D., Shulman JA.**  
Recent survey of infectious meningitis in adults: review of laboratory findings in bacterial, tuberculous, and aseptic meningitis. South Med J 1976; 69(4):449–57.”
- 36. 17e Conférence de Consensus en Thérapeutique Anti-infectieuse. Prise en charge des méningites bactériennes aiguës communautaires (à l'exclusion du nouveau-né), SPILF.**  
Reanimation (2009) 18, 353—365
- 37. “Dumoulin, A.,**  
Diagnostic moléculaire des maladies infectieuses pour la pratique ambulatoire. Revue médicale Suisse, 2014. 10: p. 1866–1870.”
- 38. “Southern, E.M.,**  
Detection of specific sequences among DNA fragments separated by gel electrophoresis. J Mol Biol, 1975. 98(3): p. 503–17.”

39. **Saiki, R.K.**  
Enzymatic amplification of beta-globin genomic sequences and restriction site analysis for diagnosis of sickle cell anemia. *Science*, 1985. 230(4732): p. 1350-4."
40. **Mullis, K.,**  
Specific enzymatic amplification of DNA in vitro: the polymerase chain reaction. *Cold Spring Harb Symp Quant Biol*, 1986. 51 Pt 1: p. 263-73."
41. **"Pascal Cherpillod, L.K., Yves Thomas, Manuel Schibler,**  
Nouveaux virus : mythe, fantasme ou réalité ? *Revue médicale Suisse*, 2014. 10: p. 1004-1007."
42. **" Alexis Dumoulin,**  
A quoi sert la sérologie en pratique ambulatoire ? *Médecine & Hygiène*, 1999. 57: p. 747-753."
43. **Lienhard, R.,**  
Pièges en sérologie infectieuse. *revue médicale Suisse*, 2011. 7: p. 1964-1967."
44. **"Urs Karrer, D.N.,**  
Virus d'Epstein-Barr et mononucléose infectieuse. *Forum Médicale Suisse*, 2014. 14: p. 226-232. 171."
45. **"Meylan, P.,**  
Infections à virus de l'herpès simplex : mise à jour pour le praticien. *revue médicale Suisse*, 2011. 7: p. 886-893."
46. **"Dormond, L. Multiplex real-time PCR for the diagnosis of malaria: correlation with microscopy. Clin Microbiol Infect, 2011. 17(3): p. 469-75."**
47. **Egli, A.**  
Cytomegalovirus and polyomavirus BK posttransplant. *Nephrol Dial Transplant*, 2007. 22 Suppl 8: p. viii72-viii82."
48. **E. Biofire and C. Bernard, "A**  
ctualités performances et bénéfiques," vol. 1, no. Figure 2, pp. 6-13, 2018.
49. **Tunkel AR, Hartman BJ, Kaplan SL, Kaufman BA, Roos KL, Sceld WM et al.**  
Practice guidelines for management of bacterial meningitis. *Clin Infect Dis* 2004; 39: 1267-84."
50. **Viallon A, Pouzet V , Zeni F, Tardy B.,**  
Guyomarc'h S Rapid diagnosis of the type of meningitis (bacterial or viral) by the assay of serum procalcitonin. *Press Med* 2000 Mar 25; 29(11):584-8."
51. **"Taha MK, Alonso JM.**  
Le diagnostic microbiologique des infections à méningocoques. De l'identification rapide aux typages moléculaires. *Med Ther Pediatr* 2002;5:197-202."
52. **"Parent du Chatelet I, Taha MK, Lepoutre A, Lévy-Bruhl D.**  
Les infections invasives à méningocoques en France en 2006. *Bull Epidemiol Hebd* 2007;51-52:437-41."
53. **"Gray SJ, Sobanski MA, Kaczmarski EB, Guiver M, Marsh WJ, Borrow R, et al.**  
Ultrasound-enhanced latex immunoagglutination and PCR as complementary methods for non-culture based confirmation of meningococcal disease. *J Clin Microbiol* 1999;37:1797-801."



54. "Saha SK, Darmstadt GL, Yamanaka N, Billal DS, Nasreen T, Islam M, et al. Rapid diagnosis of pneumococcal meningitis. Implications for treatment and measuring disease burden. *Pediatr Infect Dis J* 2005;24: 1093–8."
55. "Saha SK, Baqui AH, El Areefin S, Qazi S, Billal DS, Islam M, et al. Detection of antigenuria for **diagnosis** of invasive *Haemophilus influenzae* type b disease. *Ann Trop Paediatr* 2006;26:329–36."
56. "van de Beek D, De Gans J, Spanjaard L, Weisfelt M, Reitsma JB, Vermeulen M. Clinical features and prognostic factors in adults with bacterial meningitis. *N Engl J Med* 2004;351:1849–59."
57. Lévy C., Bingen E, de La Rocque F, Varon E, Alonso JM, Dabernat H, et al. Méningites bactériennes de l'enfant : données de l'Observatoire national de 2001 à 2007. In : 27e Réunion Interdisciplinaire de Chimiothérapie Anti Infectieuse ; Paris ; 2007."
58. "Société de pathologie infectieuse de langue française (SPILF). Les méningites purulentes communautaires. 9e Conférence de consensus en thérapeutique anti-infectieuse. *Mal Infect* 1996 ; 26 : 952–73." 59. "Wolff M.
59. Traitement antibiotique des méningites purulentes de l'adulte. *Med Mal Infect* 1996 ; 26 : 1094–101."
60. Auburtin M, Wolff M, Charpentier J, Varon E, Le Tulzo Y, Girault C, et al. Detrimental role of delayed antibiotic administration and penicillin-nonsusceptible strains in adult intensive care unit patients with pneumococcal meningitis: the PNEUMOREA prospective."
61. Koster-Rasmussen R, Korshin A, Meyer CN. Antibiotic treatment delay and outcome in acute **bacterial** meningitis. *J Infect* 2008; 57: 449–54."
62. <https://www.who.int/fr/news-room/fact-sheets/detail/meningococcal-meningitis> (consulté le 05/08/2019).
63. Royaume du Maroc, Ministère de la Santé, Organisation mondiale de la Santé. Guide de la lutte contre les méningites bactériennes communautaires 2010;78:1–78.
64. ECN.PILLY 2018. [www.epopi.fr](http://www.epopi.fr) (consulté le 23/10/2019).



قسم الطبيب

أقسم بالله العظيم

أن أراقب الله في مهنتي.

وأن أصون حياة الإنسان في كافة أطوارها في كل الظروف

والأحوال باذلاً وسعي في إنقاذها من الهلاك والمرض

والألم والقلق.

وأن أحفظ للناس كرامتهم، وأستر عورتهم، وأكتم سرهم.

وأن أكون على الدوام من وسائل رحمة الله، باذلاً رعايتي الطبية للقريب والبعيد،

للصالح والطالح، والصديق والعدو.

وأن أثابر على طلب العلم، وأسخره لنفع الإنسان لا لأذاه.

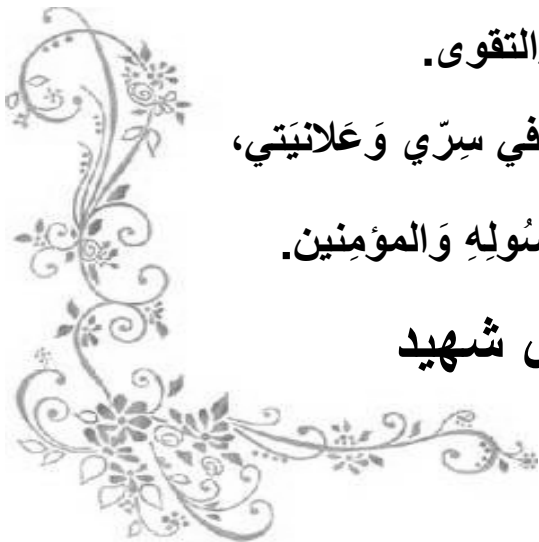
وأن أوقر من علمني، وأعلم من يصغرنني، وأكون أخاً لكل زميل في المهنة الطبية

مُتعاونين على البر والتقوى.

وأن تكون حياتي مصداق إيماني في سرّي وعلانيّتي،

نقيّة مما يشينها تجاه الله ورسوله والمؤمنين.

والله على ما أقول شهيد



أطروحة رقم 061

سنة 2022

## ما هو دور البيولوجيا الجزيئية في تشخيص التهاب السحايا و التهاب الدماغ

### الأطروحة

قدمت ونوقشت علانية يوم 2022/07/14  
من طرف

السيدة كريمة ضميري

المزودة في 1991/01/13 بالدار البيضاء

لنيل شهادة الدكتوراه في الطب

### الكلمات الأساسية:

التهاب السحايا التعفني – إنعاش – تشخيص-تفاعل البلمرة المتسلسل -  
فيلماراي

### اللجنة

الرئيس

ل. أرسلان

السيدة

المشرف

أستاذة في علم البكتيريا و الفيروسات

ي. قاموس

السيد

أستاذ في طب التخدير و الإنعاش

الحكم

أ. بلحاج

السيد

دكتور متخصص في طب التخدير و الإنعاش