



Université
de Limoges

UNIVERSITÉ DE LIMOGES

Faculté de Pharmacie

Année 2014

Thèse n° 3309

Mémoire du Diplôme d'Études Spécialisées de Biologie Médicale tenant lieu de
Thèse pour l'obtention du
DIPLÔME D'ÉTAT DE DOCTEUR EN PHARMACIE

Présenté et soutenu publiquement le 20 juin 2014 à Bordeaux par

Antoine MARTENOT

Né le 27 janvier 1987 à Bergerac

**PLACE DES ANALYSES VIROLOGIQUES DANS
L'INVESTIGATION DES DÉCÈS INATTENDUS
RÉFLEXION À PARTIR DE 21 CAS AUTOPSIÉS AU CHU DE
BORDEAUX**

Directeur de thèse

Monsieur le Professeur Hervé FLEURY

Jury

Madame le Professeur Sylvie ROGEZ

Président

Monsieur le Professeur Hervé FLEURY

Juge

Monsieur le Professeur Christian DOUTREMEPUICH

Juge

Madame le Professeur Véronique DUBOIS

Juge

Monsieur le Docteur Jean HIQUET

Membre invité



DOYEN DE LA FACULTÉ : Monsieur le Professeur Jean-Luc **DUROUX**
1^{er} VICE-DOYEN : Madame Catherine **FAGNÈRE**, Maître de Conférences
2^{ème} VICE-DOYEN : Monsieur le Professeur Serge **BATTU**

PROFESSEURS :

BATTU Serge	CHIMIE ANALYTIQUE
BENEYTOU Jean-Louis	BIOCHIMIE ET BIOLOGIE MOLÉCULAIRE
BOTINEAU Michel	BOTANIQUE ET CRYPTOLOGAMIE
BROSSARD Claude	PHARMACOTECHNIE
BUXERAUD Jacques	CHIMIE ORGANIQUE ET THÉRAPEUTIQUE
CARDOT Philippe	CHIMIE ANALYTIQUE ET BROMATOLOGIE
DELAGE Christiane	CHIMIE GÉNÉRALE ET MINÉRALE
DESMOULIÈRE Alexis	PHYSIOLOGIE
DUROUX Jean-Luc	BIOPHYSIQUE, BIOMATHÉMATIQUES ET INFORMATIQUE
MAMBU Lengo	PHARMACOGNOSIE
ROUSSEAU Annick	BIOSTATISTIQUE
VIANA Marylène	PHARMACOTECHNIE

PROFESSEURS DES UNIVERSITÉS – PRATICIENS HOSPITALIERS DES DISCIPLINES PHARMACEUTIQUES :

LACHÂTRE Gérard	TOXICOLOGIE
MOESCH Christian	HYGIÈNE HYDROLOGIE ENVIRONNEMENT
ROGEZ Sylvie	BACTÉRIOLOGIE ET VIROLOGIE

MAÎTRE DE CONFÉRENCES DES UNIVERSITÉS – PRATICIEN HOSPITALIER DES DISCIPLINES PHARMACEUTIQUES : (en détachement)

PICARD Nicolas	PHARMACOLOGIE
-----------------------	---------------

MAÎTRES DE CONFÉRENCES :

BASLY Jean-Philippe	CHIMIE ANALYTIQUE ET BROMATOLOGIE
BEAUBRUN-GIRY Karine	PHARMACOTECHNIE
BILLET Fabrice	PHYSIOLOGIE
CALLISTE Claude	BIOPHYSIQUE, BIOMATHÉMATIQUES ET INFORMATIQUE
CLEDAT Dominique	CHIMIE ANALYTIQUE ET BROMATOLOGIE
COMBY Francis	CHIMIE ORGANIQUE ET THÉRAPEUTIQUE
COURTIOUX Bertrand	PHARMACOLOGIE, PARASITOLOGIE
DELEBASSÉE Sylvie	MICROBIOLOGIE-PARASITOLOGIE-IMMUNOLOGIE
DEMIOT Claire-Elise	PHARMACOLOGIE
FAGNÈRE Catherine	CHIMIE ORGANIQUE ET THÉRAPEUTIQUE
FROISSARD Didier	BOTANIQUE ET CRYPTOLOGAMIE
JAMBUT Anne-Catherine	CHIMIE ORGANIQUE ET THÉRAPEUTIQUE
LABROUSSE Pascal	BOTANIQUE ET CRYPTOLOGAMIE
LÉGER David	BIOCHIMIE ET BIOLOGIE MOLÉCULAIRE
LIAGRE Bertrand	BIOCHIMIE ET BIOLOGIE MOLÉCULAIRE
MARION-THORE Sandrine	CHIMIE ORGANIQUE ET THÉRAPEUTIQUE

MARRE-FOURNIER Françoise
MILLOT Marion
MOREAU Jeanne
PASCAUD Patricia
POUGET Christelle
SIMON Alain
TROUILLAS Patrick
VIGNOLES Philippe

BIOCHIMIE ET BIOLOGIE MOLÉCULAIRE
PHARMACOGNOSIE
MICROBIOLOGIE-PARASITOLOGIE-IMMUNOLOGIE
PHARMACIE GALÉNIQUE
CHIMIE ORGANIQUE ET THÉRAPEUTIQUE
CHIMIE GÉNÉRALE ET MINÉRALE
BIOPHYSIQUE, BIOMATHÉMATIQUES ET INFORMATIQUE
BIOPHYSIQUE, BIOMATHÉMATIQUES ET INFORMATIQUE

PROFESSEUR de LYCEE PROFESSIONNEL :

ROUMIEUX Gwenhaël

ANGLAIS

ATTACHÉ TEMPORAIRE D'ENSEIGNEMENT ET DE RECHERCHE :

MAMMARI Nour (1/10/13 au 31/08/14)
VEDRENNE Nicolas (1/11/13 au 31/08/14)

MICROBIOLOGIE
CHIMIE ANALYTIQUE

REMERCIEMENTS

A Madame le Professeur Sylvie ROGEZ

Professeur des Universités, Praticien Hospitalier

Laboratoire de Bactériologie – Virologie – Hygiène, CHU de Limoges

Vous m'avez fait l'honneur de venir à Bordeaux pour assurer la présidence de cette thèse. Je vous remercie pour toute l'attention que vous savez porter aux internes en Biologie Médicale. Veuillez trouver ici l'expression de ma sincère gratitude et de tout mon respect.

A Monsieur le Professeur Hervé FLEURY

Professeur des Universités, Praticien Hospitalier et Chef de service

Laboratoire de Virologie, CHU de Bordeaux

Je tiens à vous exprimer toute l'expression de ma reconnaissance pour m'avoir proposé ce travail et pour tout le soutien et la confiance qui m'ont permis de mener à bien cette étude. Vos qualités professionnelles et humaines imposent l'admiration.

A Monsieur le Professeur Christian DOUTREMEPUICH

Professeur des Universités, Directeur. Laboratoire d'Hématologie Médico-Légale, Bordeaux.

Je suis très sensible à l'honneur que vous me faites en acceptant de juger ce travail. Soyez persuadé de mon plus profond respect.

A Madame le Professeur Véronique DUBOIS

Professeur des Universités, Praticien Hospitalier

Laboratoire de Bactériologie, CHU de Bordeaux

Merci d'assister à cette thèse et de m'accorder votre attention et votre écoute

A Monsieur le Docteur Jean HIQUET

Assistant Hospitalo-Universitaire. Institut de Médecine Légale, CHU de Bordeaux.

Merci d'avoir relevé le défi de m'accompagner tout au long de ce travail. Je te remercie pour ton encadrement, ta disponibilité, ta motivation et ton efficacité.

A l'ensemble du personnel des services hospitaliers qui m'a accueilli pendant mon internat, en particulier à l'équipe du laboratoire de virologie du CHU de Bordeaux et surtout au Dr P. Trimoulet et à Marie-Jo pour votre aide lors de la rédaction de ce travail.

A mes parents : Maman, Papa. Merci pour tout l'amour que vous m'apportez. Vous me faites confiance et m'avez transmis cette envie de réussir avec des valeurs qui font de moi la personne que je suis. Je vous remercie pour vos encouragements et pour m'avoir permis d'effectuer des études qui me passionnent.

A ma Mamie et en l'honneur de **mes grands-parents.**

A ma fratrie : 001, 002 et 004. Magnifique enfance avec de nombreux moments de joie, d'amour, de complicité et de solidarité. A chaque fois, c'est avec un immense plaisir que l'on se retrouve pour des week-ends aux quatre coins de la France.

A tous les autres membres de ma famille : Martenot, Quantin, Fouchard, Fiardet, Miroux. Je suis très fier d'appartenir à cette famille qui m'inspire bonheur et respect.

A Ju, pour ton amour, ta présence et ton soutien permanents depuis le premier jour de notre rencontre. Tu as toujours cru en moi lorsque je doutais. Je suis plus qu'heureux de devenir ton mari dans quelques mois et de continuer à explorer le monde ensemble. La vie est belle à tes côtés, tu es formidable.

A mes amis from Paris : Alex, Vianney, Fred, Thomas, David, Pédo et Rémi. Mes potes depuis maintenant de nombreuses années avec qui j'ai pu partager tant de bons moments et les plaisirs simples de la vie... Nous avons tous choisi des voies différentes mais notre amitié reste intacte malgré la distance.

A MS, Guillaume et Cécile : mes partenaires sur les bancs de la fac. Entre révisions et détente, nous avons trouvé le juste milieu qui nous a permis de profiter de ces longues années d'étude et d'en être sortis !

Aux limougeauds : Noiro, Pascal, Soso, Judas, Tété, Emilie, Paki, Guilbal, Caro, Guillaume. Pour toutes nos péripéties à l'internat et pour toutes ces tentatives de conquérir le monde qui sont maintenant enseignées dans toutes les écoles du Limousin.

A mes amis bordelais : Vincent et Simon. Ainsi qu'à l'ensemble des internes avec qui j'ai pu sympathiser au labo ou en soirée...

A tous les judokas à qui j'ai pu mettre une raclée sur les tatamis et aussi à ceux qui m'ont battu...

A la SNCF et à EasyJet, pour les heures incalculables de retard qui m'ont permis de trouver le temps pour la rédaction de ce travail.

A Carlotta, pour toutes ces siestes réparatrices.

LISTE DES ABRÉVIATIONS

Ac	Anticorps
ADN	Acide désoxyribonucléique
ADNc	Acide désoxyribonucléique complémentaire
Ag	Antigène
ARN	Acide ribonucléique
ATLL	Adult T-cell leukemia lymphoma
CD	Cluster de différenciation
CHU	Centre hospitalier universitaire
CLIA	Chemiluminescence immunoassay
CML	Chorioméningite lymphocytaire
CMV	<i>Cytomégalovirus</i>
CRP	Protéine C-réactive
CSH	Cellule souche hématopoïétique
CSP	Code de la Santé Publique
Ct	Cycle seuil (Threshold cycle)
dNTP	Déoxyribonucléotide triphosphate
EBV	Virus d'Epstein-Barr
ELFA	Enzyme linked fluorescence assay
ELISA	Enzyme linked immunosorbent assay
FRET	Fluorescence resonance energy transfer
HAS	Haute Autorité de Santé
HHV-6	<i>Human Herpes Virus 6</i>
HSV	<i>Herpes Simplex Virus</i>
HTLV	Human T-lymphotropic virus
IgA	Immunoglobuline de type A
IgG	Immunoglobuline de type G
IgM	Immunoglobuline de type M
IHA	Insuffisance hépatique aiguë
IL	Interleukine
IFN- γ	Interféron gamma
LCR	Liquide céphalo-rachidien
Le	Lewis antigen
LEMP	Leucoencéphalite multifocale progressive
LPS	Lipopolysaccharide
MIN	Mort inattendue du nourrisson
MNI	Mononucléose infectieuse
NFS	Numération formule sanguine
NO	Monoxyde d'azote
OMS	Organisation mondiale de la Santé
ORL	Oto-rhino-laryngée
PCR	Polymerase chain reaction
PCT	Procalcitonine
PESS	Panencéphalite subaiguë sclérosante
Poly(I)	Polydeoxyionisine
PTBM	Plateau technique de biologie moléculaire

RT-PCR	Reverse transcription polymerase chain reaction
SAM	Syndrome d'activation macrophagique
SDRA	Syndrome de détresse respiratoire aiguë
SIDA	Syndrome d'immunodéficience acquise
SIDS	Sudden infant death syndrome
SNP	Single nucleotide polymorphism
SRAS	Syndrome respiratoire aigu severe
T _m	Température de fusion
TNF- α	Tumor necrosis factor alpha
VHA	Virus de l'hépatite A
VHB	Virus de l'hépatite B
VHC	Virus de l'hépatite C
VIH	Virus de l'immunodéficience humaine
VRS	Virus respiratoire syncytial
VZV	Virus de la varicelle et du zona

SOMMAIRE

REMERCIEMENTS	4
LISTE DES ABRÉVIATIONS	6
SOMMAIRE	8
INTRODUCTION.....	10
PREMIÈRE PARTIE : GÉNÉRALITÉS ET REVUE BIBLIOGRAPHIQUE	12
I. <i>Mort naturelle et mort subite</i>	12
I.1. Définitions	12
I.2. Épidémiologie et facteurs de risque	14
I.3. Autopsie	21
II. <i>Infections virales, grands syndromes et décès inattendus</i>	26
II.1. Infections respiratoires.....	26
II.2. Atteintes cardiaques	30
II.3. Atteintes neurologiques	31
II.4. Syndromes fébriles.....	34
II.5. Gastro-entérites	37
II.6. Atteintes hépatiques	37
II.7. Atteintes rénales.....	39
II.8. Infections fœtales et néo-natales	39
II.9. Infections virales de l'immunodéprimé.....	40
II.10. Virus et cancer	42
II.11. Syndrome d'activation macrophagique	42
II.12. Prévention des infections virales	43
DEUXIÈME PARTIE : MATÉRIEL ET MÉTHODES	44
I. <i>Population étudiée</i>	44
II. <i>Les échantillons</i>	45
II.1. Nature et choix des échantillons	45
II.2. Analyses virologiques.....	46
II.3. Conservation des échantillons.....	46
III. <i>Diagnostic virologique</i>	47
III.1. Techniques sérologiques.....	47
III.2. Techniques de biologie moléculaire	51
IV <i>Dossiers de médecine légale</i>	65
IV.1. Dossiers d'expertise virologique	65

IV.2. Rapports d'autopsie médico-légale	65
IV.3. Traitement des données médico-légales.....	66
TROISIÈME PARTIE : RÉSULTATS.....	68
I. <i>Implication du virus dans les décès inexplicables de dossiers de médecine légale.....</i>	68
II. <i>Données cliniques et biologiques.....</i>	69
II. 1. Caractéristiques démographiques des patients.....	69
II.2. Investigations entourant ces décès inattendus.....	71
III. <i>Données virologiques.....</i>	75
III.1. Virus mis en évidence et sites anatomiques infectés	75
III.2. Co-infections virales.....	76
QUATRIÈME PARTIE : DISCUSSION.....	78
I. <i>Commentaires sur les résultats observés</i>	78
I.1. Implication virale	79
I.2. Caractéristiques démographiques des patients.....	80
I.3. Comorbidités et états physiologiques particuliers.....	80
I.4. Syndrome infectieux et pris en charge initiale	80
I.5. Résultats des analyses complémentaires	81
II. <i>Commentaires sur les limites de l'étude</i>	85
III. <i>Perspectives</i>	87
III.1. Techniques diagnostiques :.....	87
III.2. Etude prospective envisagée.....	88
CONCLUSIONS.....	90
BIBLIOGRAPHIE	91
ANNEXES	105
TABLE DES MATIÈRES	123
LISTE DES TABLEAUX.....	126
LISTE DES FIGURES ET GRAPHIQUES.....	127
SERMENT DE GALIEN	128

INTRODUCTION

La mort subite est définie par l'Organisation mondiale de la Santé (OMS) comme un décès inattendu de cause naturelle ou inexplicée survenant après qu'une période de 24h se soit écoulée entre le décès et la constatation d'un état de bonne santé d'un individu [1].

La mort inattendue du nourrisson (MIN), une des causes les plus fréquentes de mortalité des nouveau-nés dans les pays développés [2], est un trouble d'étiologie inconnue [3]. De nombreuses études ont ainsi été réalisées sur les morts subites chez les enfants. Les infections sont considérées comme étant une cause importante de décès inattendus chez les enfants. Le rôle des virus dans ce contexte est encore un mystère, bien que de nombreuses découvertes inculpent l'infection virale comme possible cause entraînant le décès.

Lors de la survenue d'un décès suspect ou inexplicé, une investigation médico-légale est effectuée sur réquisition du procureur de la République afin de déterminer les causes de la mort et d'exclure une infraction pénale. Cette recherche passe par une autopsie médico-légale qui est un acte médical pratiqué par un ou plusieurs spécialistes de médecine légale.

Les virus, agents infectieux possédant des pouvoirs pathogènes très variés ont également une mortalité dépendante de plusieurs facteurs. Bien que la majorité des maladies virales soit bénigne, certains virus auront une mortalité très élevée alors que d'autres auront des mortalités différentes en fonction de la souche, de la pathologie et des comorbidités du patient.

Le laboratoire de virologie du Centre hospitalier universitaire (CHU) de Bordeaux sous la direction du Pr Fleury est en charge des expertises virologiques de médecine légale mandatées par le tribunal de grande instance de Bordeaux. Ces expertises ont lieu sur des prélèvements effectués à l'institut de médecine légale au CHU de Bordeaux lors des autopsies judiciaires lorsque l'histoire clinique et environnementale du décès oriente le médecin légiste vers une cause infectieuse du décès.

Le premier objectif de ce travail de thèse est l'étude de l'ensemble des dossiers d'expertise virologique au CHU de Bordeaux entre 2001 et 2013 afin de mettre en évidence l'implication des virus dans la survenue des décès inattendus au sein de cette population.

Dans un second temps, cette étude aura un but épidémiologique en évaluant une population cible et en permettant de définir les virus à rechercher en pratique courante en fonction des prélèvements effectués lors des autopsies de décès inexplicés ainsi que le moyen de détection optimal.

Enfin ce travail de compilation de données sera comparé aux diverses études effectuées dans le domaine et justifiera la mise en place d'un protocole standardisé de prélèvements et d'analyses à visée virologique lors des autopsies de décès inexplicés.

Les recommandations pour les analyses microbiologiques ont besoin d'être mises à jour pendant que de nouveaux pathogènes sont découverts ou de nouvelles techniques sont mises en œuvre afin de clarifier des cas de décès non résolus.

PREMIÈRE PARTIE : GÉNÉRALITÉS ET REVUE BIBLIOGRAPHIQUE

I. Mort naturelle et mort subite

I.1. Définitions

I.1.1. Mort naturelle

La mort est définie juridiquement par le Code de la Santé Publique (CSP). Elle consiste, soit dans l'arrêt cardiaque, soit dans l'état de mort cérébrale qui désigne l'arrêt irrémédiable de toutes les activités du cerveau bien que la respiration et les battements du cœur puissent être maintenus artificiellement.

Le CSP dispose que « si la personne humaine présente un arrêt cardiaque et respiratoire persistant, le constat de la mort ne peut être établi que si les trois critères cliniques suivants sont simultanément présents :

- absence totale de conscience et d'activité motrice spontanée ;
- abolition de tous les réflexes du tronc cérébral ;
- absence totale de ventilation spontanée » [4].

La mort naturelle est un décès résultant de l'évolution d'un état pathologique d'un individu ou au terme de son vieillissement.

I.1.2. Mort subite

En 1893, Paul Brouardel définit la mort subite comme « l'accident imprévu dans une maladie inconnue qui a évolué sans éveiller l'attention » [5].

Cette définition est peu différente de celle de Jean-Baptiste Morgagni (1820) : « Mort qui, prévue ou non, emporte promptement le sujet contre toute attente. » [6].

Selon l'OMS, la mort subite est définie comme une mort inattendue de cause naturelle ou inexplicquée survenant après qu'une période de 24h se soit écoulée entre le décès et la constatation d'un état de bonne santé d'un individu [1]. De nombreux auteurs trouvant cette estimation temporelle trop large, notamment s'agissant des morts subites d'origine cardiaque, ont limité cette durée à une heure [7]. Néanmoins, la majorité des morts subites est constatée suite à une période inconnue en milieu extra-hospitalier, en raison d'un caractère par définition inattendu. Il est estimé que 40% des morts subites surviennent en l'absence de témoin [8]. Le critère temporel de 24h défini par l'OMS ne semble alors plus adapté à ces décès extra-hospitaliers. Quoiqu'il en soit, cette définition n'est pas unanimement retenue [9–12].

Deux situations doivent être distinguées : la mort subite du nourrisson et la mort subite de l'adulte. Si la mort subite du nourrisson est clairement définie et bénéficie en France d'une prise en charge organisée, il n'en est pas de même pour l'adulte. En effet, le concept de mort subite du nourrisson a évolué, notamment sous l'impulsion de la Haute Autorité de Santé (HAS) et la formule « Mort Inattendue du Nourrisson » (MIN) a été retenue [13]. Des centres de référence de la MIN ont été créés pour que la prise en charge de la quasi-totalité de ces décès soit complète et structurée : les modalités techniques (autopsie, transport des corps) et organisationnelles (personnels dédiés, organisation et suivi des proches) y sont prévues et financées [14].

En accord avec les consensus internationaux, le diagnostic du sudden infant death syndrome (SIDS) se fait seulement pour les enfants âgés de moins de 1 an. Ceci étant établi par la San-Diego definition of SIDS [2].

Ainsi, il s'agit d'une mort secondaire à une pathologie ne mettant en cause aucun élément extérieur condamnable. Cela exclut donc toutes les morts traumatiques ou toxiques qu'elles soient accidentelles, criminelles ou suicidaires.

Ces décès sont imprévisibles et surviennent chez des sujets apparemment en bonne santé. Cela suppose donc que le sujet puisse être sain ou porteur d'une pathologie n'engendrant pas un risque de mort rapide ou atteint de lésions importantes mais méconnues.

Les cas de mort subite peuvent se subdiviser en deux catégories, en fonction des résultats des premières constatations macroscopiques :

- Les constatations macroscopiques expliquent à l'évidence la raison de la mort subite (accident vasculaire cérébral hémorragique, infarctus du myocarde...).
- Les constatations ne permettent pas de retenir avec certitude un mécanisme physiopathologique létal. Les cas appartenant à cette catégorie nécessitent d'exclure un certain nombre d'hypothèses, des investigations toxicologiques et histologiques sont nécessaires. C'est le cas notamment de la mort subite du nourrisson. Dans ce cas, il est essentiel de se référer à un protocole d'investigation plus complet et systématique.

Sur le plan de la démarche médico-légale, la mort subite doit rester un diagnostic d'exclusion : il faut éliminer d'abord les possibilités d'une cause traumatique, toxique ou suicidaire.

I.2. Épidémiologie et facteurs de risque

Chaque année en France, près de 40 000 nouveaux cas de mort subite de l'adulte surviennent contre 250 cas de mort subite du nourrisson [15,16].

La mortalité par MIN varie beaucoup entre les pays de l'Union Européenne. Mais la politique de santé n'est pas homogène et on peut également évoquer les possibles différences d'enregistrement des décès. La France fait ainsi partie des pays à fort taux de MIN.

En 2005 le taux moyen de MIN en Europe est de 25/100 000 naissances vivantes. La France, avec un taux de 31,9/100 000, se situe derrière des pays tels que la Lettonie au plus fort taux de décès (79,1/100 000), l'Allemagne, la Lituanie, mais nettement devant le Royaume-Uni (26,2). La Bulgarie, la Roumanie et la Grèce sont en sous-mortalité (moins de 10/100 000). Par ailleurs, le Portugal et la Slovénie n'enregistrent quasiment pas de décès par MIN en 2005. Globalement, la carte des taux de décès fait ressortir un gradient de forte mortalité dans les pays de l'Europe centrale et du Nord [16].

Alors que l'incidence des morts subites décline considérablement, la MIN reste une des principales causes de décès chez les enfants de moins d'un an après les affections

périnatales et les malformations génitales. Ce déclin est dû aux campagnes de sensibilisation de la population plutôt que le résultat de changements dans les pratiques diagnostiques : conseils simples de couchage (position en décubitus dorsal) et d'environnement (lutte contre le tabagisme passif) donnés aux parents [17–19].

De nombreux mécanismes possibles ont été incriminés pour expliquer ce syndrome incluant des théories microbiologiques et immunologiques [3]. Ces causes sont essentiellement cérébrales, cardiaques, pulmonaires, métaboliques ou infectieuses.

Dans la population adulte, l'étiologie cardiaque est la plus fréquente, tandis que les infections sont également importantes, particulièrement chez les enfants [18]. Plusieurs études ont démontré la détection fréquente de virus dans des échantillons *post mortem* suggérant leur participation dans la pathogénie de MIN [19–22]. Chez les enfants, les syndromes infectieux les plus fréquents sont les infections de voies respiratoires supérieures, les méningites, les septicémies, les myocardites et les gastro-entérites [23].

Tableau 1 : Fréquence des morts subites d'origine cardiaque [24,25]

Entre 1 et 13 ans : 20% des morts subites
Entre 14 et 21 ans : 30% des morts subites
Adultes d'âge moyen et sujets âgés : 88% des morts subites

Dans le cadre des morts subites d'origine cardiaque, on distingue deux profils. Chez le sujet âgé, le décès est lié le plus souvent à une cardiopathie ischémique. Alors que chez le sujet jeune, ce sont des atteintes cardiaques d'origine génétique qui prédominent [26].

De plus, des médicaments à dose thérapeutique peuvent être impliqués dans des décès inattendus. Comme la dompéridone, utilisée depuis le début des années 1980 pour soulager les nausées et vomissements, ainsi que divers troubles digestifs, qui est chimiquement apparenté aux neuroleptiques et peut ainsi entraîner des troubles du rythme cardiaque. En 2005, des études canadienne et néerlandaise ont démontré une augmentation de la fréquence des morts subites multipliée par un facteur allant de 1,6 à 3,7 chez les personnes exposées à la dompéridone [27–30].

En 1972, Wedgwood a introduit un « modèle des trois risques » pour les SIDS suggérant que les morts subites et inattendues peuvent se produire seulement si les trois conditions suivantes sont réunies simultanément [31] :

- un enfant à un stade de développement vulnérable ;
- un ou plusieurs facteurs endogènes prédisposant ;
- un déclencheur extérieur initiant le processus léthal.

Dans les années 70, la théorie de l'apnée du sommeil [32] est devenue la base théorique de la surveillance des enfants présentant des affections respiratoires atypiques. A la fin des années 80 et 90, les recherches sur les SIDS sont devenues de plus en plus pluridisciplinaires intégrant des études génétiques et moléculaires pour investiguer les bases génétiques des perturbations fonctionnelles.

Les MIN affectent plus les garçons que les filles [33–35]. Ceci est expliqué par le fait que de manière générale les garçons contractent plus d'infections virales que les filles. Par exemple, les infections par le virus respiratoire syncytial (VRS), les virus de la grippe et les virus *Parainfluenza* sont plus fréquentes chez les garçons [36,37].

La catégorie des enfants âgés entre 2 et 3 mois correspond à la période de vie la plus à risque de mort subite. En 2005, on enregistre en France métropolitaine 247 décès par MIN. Le taux de décès global par MIN est alors de 31,9/100 000 dont 92% sont survenus pendant la période post-néonatale (Période du 29^e jour de vie à 1 an). En effet, le taux passe de 1/100 000 chez les plus jeunes à 29,3 chez les enfants de plus de 29 jours. L'âge de survenue du décès est, en moyenne à 2,5 mois. Il est maximum entre 2 et 3 mois et 90 % des cas se produisent avant 6 mois [16]. A cette période il y a une baisse de l'immunité due à la combinaison d'évènements : l'immaturité du système immunitaire et la diminution des anticorps (Ac) transmis par la mère au cours de la grossesse. De nombreuses études ont montré que l'allaitement est protecteur vis à vis des MIN [38–40]. Les oligosaccharides contenus dans le lait humain ont montré une activité antivirale [41–43].

La majorité des MIN ont lieu pendant l'hiver lorsque les infections virales sont plus fréquentes [44–48]. En effet, il apparaît que les MIN se produisent généralement deux à trois fois plus pendant l'hiver ou les saisons froides que pendant les mois chauds aussi bien dans l'hémisphère Nord que Sud [49].

Les MIN affectent le plus souvent les populations avec un niveau socio-économique défavorisé dans les pays développés [17,50–53], populations chez lesquelles les maladies infectieuses sont également plus fréquentes. Il est également probable que les messages de prévention y sont difficiles à faire appliquer.

A la suite d'études internationales montrant que les morts inattendues d'aujourd'hui diffèrent de celles observées jusque-là, Bloch et al. réalisent entre 2007 et 2009 une étude épidémiologique dans dix-sept départements français volontaires représentant près de 40% des naissances en France et les treize centres de référence s'y rattachant. Ils recensent au total 281 MIN. Finalement, 220 MIN, survenues chez des nourrissons de moins de 1 an, sont étudiées. Le taux moyen de MIN est de 40,1/1000 000 naissances vivantes [54]. Comme dans des études antérieures, les auteurs retrouvent une forte prédominance de garçons avec un sexe ratio M/F = 1,86, un âge médian de 3 mois (86 % avant 6 mois) et un pic hivernal. La répartition géographique du taux de MIN est identique à celle retrouvée en 2005 : un taux plus important dans le Nord de la France et plus bas en Ile de France et dans les départements du Sud. Ils retrouvent les facteurs de risque connus que sont la prématurité (17% contre 6% en population générale) et l'hypotrophie (19% contre 7,2% en population générale). Les deux tiers des décès sont survenus au domicile. Les examens *post mortem* permettent d'identifier une cause au décès dans 33,8 % (n=72) des cas (Tableau2).

Tableau 2 : Étiologies des MIN retrouvées dans l'étude de Bloch et al. [54]

Étiologie retrouvée	Nombre	Pourcentage
Infection	32	44,4%
Accidents de couchage	18	25%
Inhalation massive de lait	12	16,7%
Maladies métaboliques	9	12,5%
Maltraitance	1	1,4%

Durant ces dernières années, des hypothèses diverses ont été proposées pour expliquer les morts subites. Il a été suggéré que des réponses incontrôlées par le biais de sécrétions élevées des cytokines pro-inflammatoires comme l'interleukine de type 1 (IL-1), le tumor necrosis factor alpha (TNF- α) et l'interféron gamma (IFN- γ) suscitées par des infections entraîneraient une série d'évènements à l'origine de ces morts inexplicables [55–63]. Ces graves perturbations physiologiques sont l'hypoxie et l'apnée, la fièvre élevée, l'hypoglycémie, l'hypotension, la somnolence, l'arythmie cardiaque ou la combinaison de ces facteurs [49]. Dans ces cas, les patients succombent d'une réaction excessive du système immunitaire suite à des infections passées inaperçues.

La figure 1 proposée par Blackwell et al. représente une série d'évènements qui pourrait être à l'origine d'une production excessive de médiateurs inflammatoires. Une infection virale entraîne une augmentation de la colonisation de la muqueuse respiratoire par à la fois des bactéries à Gram positif et à Gram négatif. De plus, les réponses inflammatoires aux virus sont le résultat de la production d'IFN- γ qui a été démontrée par l'augmentation de l'expression de l'antigène (Ag) de différenciation 14 ou cluster de différenciation 14 (CD14) sur les monocytes. L'adhésion de lipopolysaccharides (LPS) présent dans le tractus respiratoire sur les monocytes ou les macrophages alvéolaires via le CD14 induit la production de TNF- α et par la suite une fièvre. Les effets synergiques entre les endotoxines et les toxines pyogènes causent une libération rapide des médiateurs inflammatoires. De plus l'IL-1 prolongerait les périodes d'apnée. La mort pouvant survenir rapidement alors que les signes habituels de choc septique ou toxique n'ont pas eu le temps de se développer [58].

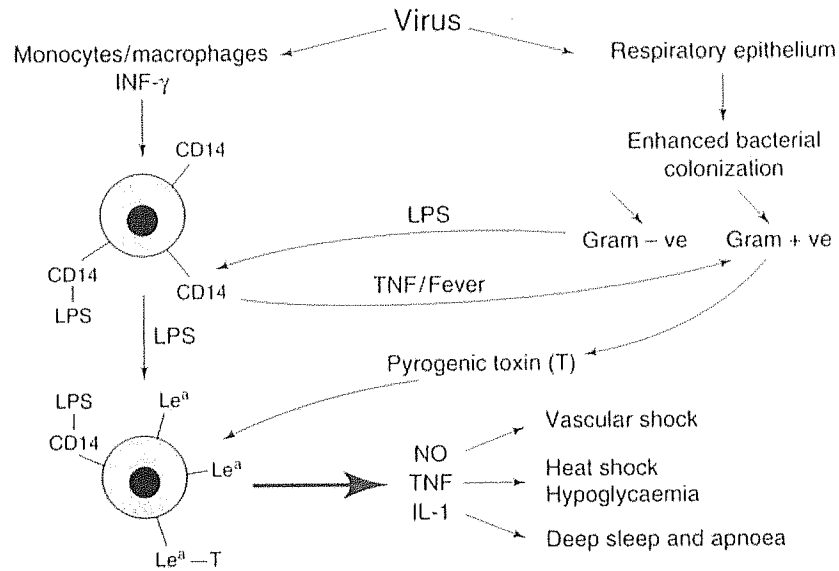


Figure 1 : Schéma proposé pour l'interaction synergique entre infections virales, endotoxines et toxines pyogènes entraînant une production excessive de médiateurs inflammatoires [58]

Une autre inégalité concernant l'incidence des MIN apparaît dans la littérature : l'ethnie. En effet l'incidence des MIN varie significativement entre les différents groupes ethniques [64,65]. Par exemple, en Angleterre, l'incidence des MIN parmi les familles d'origine indienne, pakistanaise et bangladaise est inférieure à celle de la population caucasienne [66]. Dans d'autres pays, ce sont les populations indigènes (indiens d'Amérique, natifs d'Alaska et aborigènes) qui ont des incidences de MIN les plus élevés [35,67]. Les facteurs environnementaux et culturels contribuent en partie à expliquer ces différences. Les réponses immunitaires ont été rapportées comme différentes entre plusieurs groupes ethniques [68,69].

La génétique des cytokines inflammatoires est un nouveau champ de recherche sur les morts subites. Lors d'études, il a été rapporté un polymorphisme individuel avec une relation significative entre une composante génétique et l'induction des cytokines pro-inflammatoires (TNF- α) et anti-inflammatoires (IL-10) [70,71]. Aucune étude sur les différences de réponses pro- et anti-inflammatoires lors d'infections virales n'a été conduite entre différents groupes ethniques. Il y a plusieurs résultats rapportés en faveur d'une association entre SIDS et Single nucleotide polymorphism (SNP) du gène de l'IL-10 [72,73].

Les infections virales peuvent augmenter la colonisation bactérienne et entraîner une surinfection en amorçant les réponses inflammatoires aux endotoxines [74,75]

Un important nombre de virus a été suspecté comme potentiel agent responsable de MIN. La persistance de virus provenant d'une infection antérieure dans les tissus a longtemps été considérée comme un facteur prédisposant à une réactivité immunologique [76–81], laquelle peut entraîner une réaction plus sévère lors d'une seconde infection par le même ou un autre virus.

Lors d'infections virales, les complications entraînant la mort sont dues à la coexistence de trois éléments :

- le virus : virulence de la souche, organe infecté ;
- le patient : âge, ethnie, pathologies préexistantes... ;
- les surinfections, principalement bactériennes.

Concernant les méthodes diagnostiques, les outils moléculaires comme la polymérase chain reaction (PCR) ont été utilisés dans plusieurs protocoles *post mortem* pour diagnostiquer des infections virales dans les décès inexplicables et ont révélé plus de virus qu'avec des méthodes moins sensibles comme l'immunofluorescence ou la culture cellulaire [20]. Les études publiées ont aussi montré que les PCR qualitatives étaient insuffisantes pour déterminer le rôle des virus dans les morts subites et qu'il faut privilégier l'analyse quantitative [20,21,82–84].

L'absence d'isolement ou l'absence de détection de virus peuvent être dus aux prélèvements microbiologiques trop tardifs ou inappropriés [85]. Ceci est d'autant plus vrai en période *post mortem*, car le taux de détection virale par les techniques conventionnelles (immunofluorescence et culture virale) est très diminué.

I.3. Autopsie

L'autopsie est un acte médical consistant à examiner de manière détaillée un cadavre et pratiqué par un ou plusieurs médecins légistes afin de déterminer la cause et les circonstances du décès ou toute autre anomalie susceptible d'y avoir contribué et, dans certains cas, dans le but d'établir l'identité du défunt.

Les autopsies et toutes autres mesures liées à celles-là, doivent être réalisées conformément aux principes de l'éthique médicale et en respectant la dignité de la personne décédée. Les autopsies ont été définies par les lois de Bioéthique de 1994 puis précisées par leur révision en 2004 [86].

Deux types d'autopsie coexistent en France : l'autopsie médico-légale (ou judiciaire) et l'autopsie médicale (ou scientifique).

I.3.1. Autopsie médicale

Les autopsies médicales définies par l'article L.1211-2 du CSP intéressent la détermination des causes de la mort d'un malade en dehors d'un contexte judiciaire [87]. Elles sont réalisées après avoir vérifié l'absence d'opposition du sujet, exprimée du temps de son vivant notamment en interrogeant le registre national informatisé.

Ses objectifs sont :

- la détermination des causes du décès ;
- la corrélation anatomo-clinique ;
- l'observation de l'efficacité ou de l'échec de la thérapeutique appliquée ;
- l'étude de l'évolution naturelle de la maladie et l'amélioration de sa compréhension dans un but scientifique et pédagogique.

Le nombre de ces autopsies médicales est en constant déclin depuis la seconde moitié du 20^e siècle. En 2013, une étude retrouve 2% d'autopsies médicales sur l'ensemble des décès en milieu hospitalier contre 40% au milieu du 20^e siècle [88].

I.3.2. Autopsie médico-légale

I.3.2.1. Contexte de réalisation

Lors du constat de décès, le professionnel dépêché sur place a le pouvoir de s'opposer à l'inhumation du corps s'il constate d'emblée des signes de violence ou bien si les conditions du décès renvoient à une indication d'autopsie comme définie par la recommandation européenne R99.3 [89]. Ces différentes conditions imposent la saisie du procureur de la République. Le médecin doit alors prendre attache avec le service de police ou de gendarmerie compétent après avoir coché sur le certificat de décès délivré la présence d'un obstacle médico-légal. La famille ne peut s'opposer à cette procédure, le corps du défunt devenant temporairement une pièce à conviction mise à disposition de la justice. Ces autopsies médico-légales sont financées par la justice.

Les autopsies médico-légales devraient être réalisées dans les cas suivants [89] :

- homicide ou suspicion d'homicide ;
- mort subite inattendue, y compris la mort subite du nourrisson ;
- violation des droits de l'Homme, telle que la suspicion de torture ou de toute autre forme de mauvais traitement ;
- suicide ou suspicion de suicide ;
- suspicion de faute médicale ;
- accident de transport, de travail ou domestique ;
- maladie professionnelle ;
- catastrophe naturelle ou technologique ;
- décès en détention ou associé à des actions de police ou militaires ;
- corps non identifié ou restes squelettiques.

I.3.2.2. Objectifs de l'autopsie médico-légale

Ses objectifs et ses spécificités sont en particulier :

- la détermination de la cause du décès ;
- l'étude du délai *post mortem* ;
- le recueil éventuel des éléments d'identification du défunt ;
- la découverte, l'identification et le prélèvement de microtraces utiles à l'enquête judiciaire et notamment à l'étude des indices permettant de remonter jusqu'à l'auteur éventuel des faits ;
- le recueil de liquides biologiques en vue d'analyses toxicologiques et infectieuses ;
- la distinction entre mort naturelle et mort violente (avec intervention d'une force ou d'un agent extérieur à la personne) ;
- l'établissement d'un rapport médico-légal destiné au magistrat.

I.3.2.3. Technique de l'autopsie

Il est systématiquement procédé au préalable à un radio-balayage du cadavre et à la prise de clichés si nécessaire. L'étape suivante consiste à réaliser un examen externe du cadavre avec étude des phénomènes cadavériques (rigidité, lividités, putréfaction). En cas de doute sur une agression sexuelle, on réalise des prélèvements à la recherche de matériel biologique pouvant contenir de l'acide désoxyribonucléique (ADN), notamment des spermatozoïdes. Les prélèvements de cheveux sont réalisés en début d'autopsie au niveau de la région occipitale pour études toxicologiques. En cas de suspicion d'infection, des prélèvements bactériologiques par ponction lombaire et/ou hémocultures sont réalisés après désinfection soigneuse et utilisation de gants stériles. Il est procédé à l'ouverture de la paroi thoracique et abdominale par une incision mento-sus pubienne. Dès l'ouverture du corps, il est procédé aux différents prélèvements toxicologiques au niveau des organes et des fluides biologiques. Les prélèvements sont réalisés à la seringue et à l'aiguille stériles, afin d'éviter les contaminations et ainsi les faux-positifs.

Chaque organe est ensuite individualisé, pesé et disséqué : l'intestin est désolidarisé et disséqué, de la région anale à la région duodéno-gastrique. L'absence d'élément obstructif est vérifiée au niveau des canaux biliaires et pancréatiques. La jonction gastro-œsophagienne est clampée puis l'appareil digestif est enlevé. La rate est prélevée. Les reins sont prélevés ensuite, après vérification des uretères (nombre, abouchement, trajet), vérification des veines et artères rénales (dissection et section). Les surrénales sont disséquées à la recherche d'anomalie macroscopique. Le foie est prélevé après avoir réalisé éventuellement des prélèvements sanguins sous-hépatiques ou iliaques (à visée toxicologique). La région cervicale est abordée par voie antérieure. Il est procédé à l'ablation des muscles sterno-cléido-mastoïdiens et des autres muscles antérieurs. La recherche d'hématome est systématique. En cas de doute, un prélèvement est effectué pour une confirmation histologique. La glande thyroïde est prélevée en bloc et sectionnée à la recherche d'anomalie macroscopique. Les veines jugulaires, les artères carotides sont désolidarisées des plans profonds et superficiels et sectionnées à leur partie la plus haute. Il est procédé à la séparation des plans profonds pré-vertébraux et des plans rétro-œsophagiens. Le cartilage thyroïde et l'os hyoïde sont vérifiés sur place, avant qu'il ne soit procédé à leur ablation et dissection. La langue est désolidarisée du plancher buccal. L'ensemble des voies aériennes supérieures est alors prélevé avec les poumons et bronches, après avoir clampé la partie inférieure du larynx pour éviter toute pénétration d'éléments intra-trachéo-bronchiques. Il est procédé à la dissection de l'œsophage et du larynx. Les bronches sont ensuite abordées par voie postérieure, avec ouverture de la lumière bronchique le plus loin possible au niveau pulmonaire. Ouverture de l'artère pulmonaire et de ses branches de division afin de vérifier l'absence de lésion embolique. Le parenchyme pulmonaire est ensuite examiné et disséqué, à la recherche de lésions œdémateuses, expansives... L'aorte est ouverte de haut en bas jusqu'à ses branches de division. En cas de besoin (pendaison), il est procédé à un prélèvement pour une analyse histologique. A défaut, les vaisseaux (carotides, tronc brachio-céphalique droit...) sont abordés et il est vérifié l'état athéromateux. Le cœur est examiné macroscopiquement : il est vérifié notamment l'absence de lésion pouvant évoquer une dysplasie du ventricule droit (effondrement de l'infundibulum pulmonaire, finesse de la paroi ventriculaire droite, transillumination possible...). En cas de doute, un prélèvement est effectué à ce niveau. Les artères coronaires sont examinées. La dissection du parenchyme cardiaque est effectuée à la recherche de processus infarctoïdes anciens ou récents. Le cuir chevelu est ensuite récliné par une section transversale et il est recherché des hématomes sous-cutanés. L'abord crânien est réalisé par une section à la scie électrique aspirante de manière circulaire. Il est procédé à

l'ablation de la dure-mère. Le parenchyme cérébral est prélevé en bloc puis examiné ou fixé en entier dans du formol. La colonne vertébrale est vérifiée de manière soigneuse et étagée, de même que le bassin.

En fin d'autopsie, tous les organes sont positionnés dans la cavité thoraco-abdominale, il est procédé ensuite à la fermeture de la peau et des muscles thoraco-abdominaux et à une restauration tégumentaire soigneuse dans le respect du corps humain.

I.3.2.4. Prélèvements pendant l'autopsie

- Prélèvements à titre systématiques conformément à la réquisition judiciaire

- Prélèvements en vue d'analyses toxicologiques

Kit toxicologique complet comprenant :

- un fragment de chaque organe suivant : cerveau, cœur, poumon, foie et rein ;
- un échantillon de : cheveux, humeur vitrée, sang cardiaque, sang périphérique, contenu gastrique, bile, urines et gaz du sang.

- Prélèvements en vue d'analyses anatomopathologiques

En fonction du contexte : prélèvements sélectifs directement conditionnés dans le formol

- Prélèvements effectués en fonction du contexte

- Prélèvements en vue d'analyses virologiques et/ou bactériologiques

En fonction du contexte : prélèvements sélectifs selon un protocole défini avec les laboratoires d'analyses concernés.

- Prélèvements en vue d'analyses de biologie moléculaire

En cas de suspicion d'agression sexuelle et/ou de mécanismes de défense et/ou de lutte des prélèvements sélectifs doivent être réalisés : écouvillonnage de la bouche, des ongles, des mains et de la sphère génito anale.

II. Infections virales, grands syndromes et décès inattendus

Les infections virales chez l'homme sont à l'origine de manifestations cliniques très diverses en fonction des organes cibles du virus et de la réponse de l'hôte à l'infection. Les principaux tableaux cliniques rencontrés, les virus qui en sont responsables et leur mortalité sont décrits dans ce chapitre.

II.1. Infections respiratoires

Les infections respiratoires virales sont extrêmement fréquentes, surtout chez les enfants. Les formes bénignes sont limitées à la sphère oto-rhino-laryngée (ORL) et aux voies respiratoires supérieures. L'atteinte pulmonaire peut être sévère. Le tableau 3 récapitule les virus retrouvés dans les pathologies pulmonaires communes.

Tableau 3 : Syndromes respiratoires et virus associés

Syndromes	Virus
Rhinite, rhino-pharyngite	<i>Rhinovirus, Coronavirus, VRS, Adénovirus, virus Parainfluenza</i>
Angine	<i>EBV, HSV, Adénovirus, Coxsackie A</i>
Otite moyenne aiguë	<i>VRS, Rhinovirus, Adénovirus, Entérovirus, virus Influenza</i>
Laryngite	<i>VRS, virus Parainfluenza, virus Influenza</i>
Trachéo-bronchite	<i>VRS, virus Parainfluenza, virus Influenza</i>
Bronchiolite	<i>VRS, Métapneumovirus, virus Parainfluenza, virus Influenza</i>
Pneumonie	<i>VRS, virus Influenza, Adénovirus, Morbillivirus, CMV, VZV</i>

Les virus à tropisme respiratoire sont transmis par voie aérienne et sont responsables d'une atteinte localisée. En ce qui concerne les pneumonies à *Morbillivirus* (rougeole), au

*Cytomégalo*virus (CMV) et au virus de la varicelle et du zona (VZV) il s'agit d'une atteinte du parenchyme pulmonaire secondaire à une infection généralisée.

De nombreux rapports suggèrent que les infections respiratoires d'origines virales sont associées à certains cas de MIN [90,91].

Certaines morts subites peuvent avoir pour origine le développement rapide d'une bronchiolite entraînant la mort avant que les symptômes d'une maladie grave soient observés [92]. Les enfants décédant brutalement ont souvent une inflammation des voies aériennes [93–95]. Alors que le VRS reste la principale cause de bronchiolites, des rapports incriminent également le *Métapneumovirus* humain [96–98].

Une exposition à la fumée de cigarette augmente la susceptibilité d'une infection virale [44]. Le tabagisme actif et passif de femmes enceintes est significativement associé aux MIN [34,38,99–105].

Les principaux virus rapportés comme le VRS, les *Adénovirus*, les virus de la grippe (*Influenza virus*) et les virus *Parainfluenza* sont responsables d'inflammation des muqueuses respiratoires, de destruction de l'épithélium, d'hypersécrétion du mucus, d'apnée et d'hypoxie qui peuvent exceptionnellement entraîner le décès du patient. Ces virus à tropisme respiratoire ont été mis en évidence dans les décès inexplicables dans de nombreuses études cas/témoin [20,21,106–124].

De nombreux indices suggèrent que les virus respiratoires, tels que VRS et *Adénovirus*, sont impliqués dans la genèse de plus de 50% des MIN comme dans les cas d'enfants en bas âge exposés aux infections des voies respiratoires supérieures [113,115,125,126] ou aux pneumonies interstitielles précédant le décès [110,112]. En effet, VRS et *Adénovirus* sont bien connus pour leurs capacités à entraîner des atteintes respiratoires aiguës [127–130], particulièrement chez les enfants [112,113]. Certaines études soutiennent l'hypothèse que les infections virales respiratoires, incluant celles dues aux *Adénovirus*, peuvent agir comme déclenchant dans les MIN par le biais d'une surinfection bactérienne [110].

Le virus de la grippe sévit sous trois formes : sporadique, épidémique et pandémique. Les cas sporadiques évoluent, par propagation à l'ensemble d'une région, en épidémie. Le virus est considéré comme pandémique lorsqu'il a atteint l'ensemble de la population mondiale avec une contagiosité rapide. Parmi les virus de la grippe seuls ceux de type A

peuvent subir également des modifications antigéniques majeures, appelées cassures antigéniques (ou shift) [131,132] à l'origine de pandémies. Le siècle dernier compta 3 pandémies : la « grippe espagnole » de 1918 qui provoqua 40 à 50 millions de morts dans le monde, la « grippe asiatique » de 1957 avec plus de 2 millions de décès et la « grippe de Hong Kong » de 1968 entraînant 1 million de morts à travers le monde [133,134]. Le dernier virus grippal responsable d'une pandémie est de type A H1N1 en 2009. Les complications les plus fréquemment retrouvées sont pulmonaires et peuvent se différencier en 4 catégories : la pneumopathie grippale primitive, les pneumopathies bactériennes secondaires, les pneumopathies dues aux bactéries inhabituelles et l'exacerbation d'affections pulmonaires chroniques [135]. Les patients avec une pneumopathie grippale primitive révèlent des atteintes des voies respiratoires inférieures qui peuvent évoluer vers un syndrome de détresse respiratoire aiguë (SDRA), également appelé « grippe maligne ». Les atteintes respiratoires incluent des bronchites nécrosantes, des hémorragies, des œdèmes intra-alvéolaires et un syndrome interstitiel. Dans les cas sévères, un SDRA associé à une défaillance multi-viscérale peut être observé, voire précéder le décès [135,136]. Le SDRA est un syndrome défini par un œdème pulmonaire lésionnel conduisant à une altération des échanges gazeux. Ce syndrome est caractérisé par le début brutal d'une insuffisance respiratoire aiguë, une hypoxémie sévère et des infiltrats radiologiques bilatéraux. Le taux de mortalité est de 40 à 60%. Récemment, au cours de l'épisode de grippe aviaire dû au virus H5N1, le taux de décès était de l'ordre de 60% impliquant le plus souvent une défaillance respiratoire [137]. Les bactéries les plus fréquemment responsables des pneumopathies bactériennes secondaires sont : *Streptococcus pneumoniae*, *Staphylococcus aureus* et *Haemophilus influenzae* et plus occasionnellement des bacilles à Gram négatif [135,138]. Cependant des pathogènes moins communs tels que *Chlamydia pneumoniae*, des streptocoques β -hémolytiques ainsi que des champignons tels que les *Aspergillus*, sont décrits comme pouvant être responsables de pneumonies secondaires [139–142]. La pneumonie bactérienne secondaire est la plus fréquente des complications entraînant une hospitalisation. Une amélioration clinique précède le plus souvent l'apparition de ces pneumopathies secondaires qui surviennent à J5-J7. Ces surinfections bactériennes sont favorisées par les lésions de l'épithélium respiratoire provoquées par la multiplication virale [135,143].

Parmi les cas de grippe maligne, celui d'un enfant de 23 mois a été diagnostiqué en *post mortem* après étude des échantillons prélevés [144]. Dans une étude épidémiologique, Nelson et al. [145] ont montré une association entre mort subite du nourrisson et infection par

le virus de la grippe de type A. Les études de Drescher et al. et de Zink ont repris des cas autopsiques de grippe à partir d'une série de morts brutales non expliquées de l'adulte et de l'enfant [146–148] : le virus grippal a été mis en évidence dans 20% des cas même en période interépidémique.

D'autres virus impliqués dans des pathologies fréquentes chez l'enfant comme l'*Herpes Simplex Virus* (HSV), le virus d'Epstein-Barr (EBV), le CMV, le *Human Herpes Virus 6* (HHV-6) et les *Entérovirus* ont également été détectés dans les poumons, le cœur et les glandes salivaires d'enfants décédés subitement [82,83,112,116–118,149–152].

Le VZV a également été impliqué dans deux cas rapportés. Le premier cas révélant une infection disséminée à VZV impliquant la peau, les poumons, le foie, la rate et le tractus gastro-intestinal [153]. Le deuxième cas présentant une co-infection pulmonaire à VZV et CMV avec de fortes charges virales [154].

Le virus *Parainfluenza* est un important pathogène respiratoire et est responsable de toux sévères, bronchiolites et de pneumonies chez les enfants et les nourrissons [155]. Ils sont estimés à 40% des affections aiguës du tractus respiratoire chez les enfants [156].

Le *Coronavirus* infecte essentiellement les voies digestives et respiratoires supérieures. Le plus connu des *Coronavirus* étant celui à l'origine du syndrome respiratoire aigu sévère (SRAS) caractérisé par une pneumonie sévère potentiellement mortelle, apparu en novembre 2002 dans la province de Guangdong en Chine qui a diffusé jusqu'en avril 2003, touchant plus de 8 000 personnes. En 2012, une nouvelle souche de *Coronavirus* a été mise en évidence lors de syndromes respiratoires semblables au Moyen-Orient.

Une association temporelle entre les épidémies de virus à tropisme respiratoire et l'incidence maximale des MIN a été reconnue, les deux ayant lieu en hiver [48].

Afin d'attribuer le décès aux infections virales, une mesure quantitative par PCR est nécessaire. En effet les charges virales élevées mesurées dans les poumons et associées aux lésions inflammatoires nécrosantes suggèrent l'hypoxie infra-clinique comme le mécanisme possible de la mort [109].

Dans le diagnostic de la grippe, l'utilisation de la PCR a permis d'augmenter d'environ un tiers les résultats positifs par rapport aux techniques conventionnelles d'immunofluorescence et de culture cellulaire [21].

II.2. Atteintes cardiaques

Une myocardite désigne une atteinte inflammatoire du myocarde. Au niveau histologique, on retrouve un infiltrat cellulaire et une myolyse. Une péricardite est une inflammation du péricarde séreux aboutissant le plus souvent à l'apparition de liquide entre ses deux feuillets, dans la cavité virtuelle qui les sépare. La plupart des péricardites sont d'origine infectieuse.

Les étiologies des myocardites sont infectieuses, auto-immunes, toxiques où liées à un mécanisme d'hypersensibilité. Les études *post mortem* ont montré que les myocardites sont les causes principales de mort subite inattendue chez les enfants et les jeunes adultes [157–161].

La majorité des myocardites est due à des infections virales liées à leur fort potentiel arythmogène. Les péricardites exsudatives et obstructives sont également principalement d'origine virale. De façon générale, l'infection à *Entérovirus* est considérée comme la cause de myocardite la plus fréquente [157]. En 1999, Paushinger et al. ont rapporté 40% (18 patients) de myocardite à *Entérovirus* dans leur étude [162]. En 1997, Baboonian et Treasure ont détecté l'acide ribonucléique (ARN) viral d'*Entérovirus* dans le myocarde de 23% des cas [163]. D'autres études rapportant des myocardites à *Entérovirus* ont également été publiées [164,165].

Le genre *Entérovirus* regroupant *Poliovirus*, *Coxsackievirus* et *Echovirus* ont des propriétés communes.

Plus particulièrement, le virus *Coxsackie B3* a été identifié comme l'agent causal le plus fréquent dans les myocardites aiguës et chroniques [166–169]. Des cas ont été rapportés de myocardites létales associées au virus *Coxsackie B3*, notamment chez un jeune athlète [170].

Depuis quelques années, le *Parvovirus B19* est incriminé dans de nombreux cas de myocardites et péricardites potentiellement mortelles [171–180]. Dans la majorité des cas, les patients ne présentaient pas de signes cliniques associés à l'infection par le *Parvovirus B19*, comme un rash cutané ou une fièvre. De plus, 50% des infections à *Parvovirus B19* chez l'enfant sont asymptomatiques. Dans le cas rapporté par Zack et al. l'inflammation cardiaque provoquant la mort fut attribuée au *Parvovirus B19*, même si le virus n'a pas été détecté dans le myocarde mais seulement dans la biopsie trachéale [180].

Les autres virus à tropisme cardiaque responsables de myocardites sont le CMV, l'EBV, HHV-6, le virus de la grippe et les différents types d'*Adénovirus* (types 2, 3, 5...) [149].

Selon les critères de Dallas, le diagnostic définitif d'une myocardite virale n'est possible qu'avec un examen histologique étendu [181].

Dans les myocardites fulminantes, *Entérovirus* et *Parvovirus B19* sont à envisager d'emblée. Le diagnostic direct par PCR doit être privilégié. Papadogiannakis et al. ont rapporté une myocardite fulminante et létale associée au *Parvovirus B19*, prouvée par microscopie électronique sur le tissu myocardique et PCR alors que la sérologie n'était pas contributive avec des immunoglobulines de type G (IgG) spécifiques positives et des immunoglobulines de type M (IgM) spécifiques négatives [182].

On retiendra également les virus à tropisme respiratoire (VRS, *Adénovirus*, virus de la grippe, *Rhinovirus*, *Métapneumovirus*, *Coronavirus* et virus *Parainfluenza*) et les virus de la famille des *Herpesviridae* (HSV, CMV, EBV et VZV) qui peuvent également entraîner des atteintes cardiaques.

II.3. Atteintes neurologiques

II.3.1. Méningites

Les méningites correspondent à une inflammation des méninges et du liquide cébrospinal qu'elles contiennent entre leurs feuillets.

De nombreuses affections peuvent s'accompagner d'une réaction inflammatoire des méninges, comme les maladies cancéreuses ou les maladies systémiques (lupus érythémateux, sarcoïdose...). Cependant, les méningites les plus fréquentes sont infectieuses et classées en deux groupes selon que le liquide cébrospinal est purulent ou clair.

Les méningites virales représentent la majorité des méningites à liquide cébrospinal clair. Elles sont habituellement bénignes. Elles sont dues essentiellement aux *Entérovirus* (*Coxsackie A* et *B*, *Echovirus*) et au virus ourlien (constituant une complication fréquente des oreillons).

II.3.2. Encéphalites

Les encéphalites virales se caractérisent par leur relative rareté (tout au moins en France), leur sévérité majeure (variable selon le virus en cause) et le grand nombre de virus pouvant en être la cause. Les encéphalites virales s'accompagnent souvent d'une atteinte méningée (méningo-encéphalite) et parfois d'une atteinte médullaire (encéphalomyélite).

Les encéphalites virales peuvent résulter de la réplication du virus dans l'encéphale avec atteinte de la substance grise (polio-encéphalites) ou d'encéphalites post-infectieuses, résultant d'un mécanisme immunopathologique affectant la substance blanche (leucoencéphalites) avec démyélinisation périveineuse. Les encéphalites virales peuvent être aiguës (les plus fréquentes) ou subaiguës.

En France, l'encéphalite virale la plus fréquente est l'encéphalite herpétique due à HSV de type 1 qui est une encéphalite aiguë nécrosante, à localisation temporale préférentielle [183]. On peut observer des encéphalites post-infectieuses : rougeole, rubéole, oreillons, varicelle, mononucléose infectieuse (MNI)... Certaines encéphalites virales sont transmises par les arthropodes (arbovirus) et sévissent sous forme épidémique dans certaines régions du monde : encéphalite japonaise (Asie), encéphalite américaine, encéphalite à tiques (Europe).

La rage est une encéphalomyélite animale touchant les mammifères, transmise accidentellement à l'homme par inoculation transcutanée, en général par morsure. La rage humaine, une fois les signes cliniques apparus, est toujours mortelle. Cependant, elle comporte une incubation en général suffisamment longue pour avoir le temps, après une morsure contaminante, de faire une sérovaccination du sujet et de le protéger de la maladie avant que le virus n'ait atteint le cerveau. Toutefois, dès que le cerveau est atteint et qu'apparaissent les signes d'encéphalite rabique, la mort est inéluctable. Ainsi, aucun progrès majeur n'a été fait en matière de traitement de la rage depuis Louis Pasteur (rendu célèbre par la vaccination de Joseph Meister en 1885). Seuls la tolérance des vaccins et le contrôle de la rage animale ont été améliorés, du moins dans les pays développés.

Tableau 4 : Encéphalites et virus associés

Encéphalites aiguës
HSV-1, HSV-2 (nouveau-né) VZV CMV (immunodéprimés) rougeole, rubéole, oreillons entérovirus virus de la chorioméningite lymphocytaire virus de la rage Arbovirus: virus de l'encéphalite à tiques virus West-Nile virus de l'encéphalite japonaise virus de l'encéphalite de St-Louis virus de l'encéphalite californienne... virus Nipah, virus Chandipura
Encéphalites sub-aiguës
Virus JC (LEMP) Virus de la rougeole (PESS) VIH

Lors de grippe maligne, des convulsions ont été rapportées, voire des syndromes méningés sans réelle méningite [184]. La fréquence des signes neurologiques dans les cas de grippe maligne se situe entre 15 et 20% [185]. Un large spectre d'atteinte du système nerveux central a été rapporté avec les virus de la grippe de type A [186,187]. Les signes principaux comprennent une somnolence, un syndrome parkinsonien transitoire et des encéphalites de deux types : aiguës virales ou postvirales apparaissant à distance. Le virus de la grippe de type A a un tropisme cérébral très sélectif pour certains groupes de neurones. Les lésions cérébrales sont morphologiquement discrètes. Dans l'observation de Takahashi et al. [187] où les prélèvements ont été faits rapidement en *post mortem*, le virus a été mis en évidence par PCR dans le cerveau, le poumon et le foie fournissant des arguments pour une propagation virale par voie hématogène.

L'utilisation de la PCR semble intéressante pour rechercher les virus de la grippe dans le liquide céphalo-rachidien (LCR) lorsque surviennent des manifestations neurologiques [188,189].

II.3.3. Myélites

Les *Poliovirus* sont spécifiquement responsables de la poliomyélite. Cette maladie était en voie d'éradication dans le monde jusqu'aux événements épidémiques récents en Afrique.

Les principaux virus en cause sont les virus de la rougeole, de la rubéole, VZV, CMV, EBV, le virus de la chorioméningite lymphocytaire (CML), le virus de la grippe, les *Entérovirus*.

II.3.4. Polyradiculonévrite aiguë

Atteinte inflammatoire des racines nerveuses, également appelée syndrome de Guillain-Barré, résultant d'un conflit immunologique, faisant le plus souvent suite à une infection.

Les infections virales les plus souvent en cause sont dues à des virus de la famille des *Herpesviridae*: CMV, EBV, VZV.

II.4. Syndromes fébriles

La fièvre est présente avec une intensité variable dans pratiquement toutes les maladies aiguës d'origine virale. Elle est cependant l'élément prédominant dans certaines affections.

II.4.1. Syndrome mononucléosique

Le syndrome mononucléosique est défini sur le plan hématologique par l'apparition dans le sang de grands lymphocytes hyperbasophiles qui sont des lymphocytes T CD8+ activés.

Ce syndrome mononucléosique résulte généralement d'une infection le plus souvent virale. La fièvre, souvent prolongée, est habituellement le signe d'appel conduisant à la recherche du diagnostic hématologique.

Le virus à rechercher en priorité est l'EBV responsable de la MNI qui est caractérisée par la triade : fièvre, angine et adénopathies. En deuxième en terme de fréquence, on retrouve le CMV. Parmi les autres syndromes mononucléosiques d'origine virales, il faut également penser à une primo-infection par le virus de l'immunodéficience humaine (VIH). Un syndrome mononucléosique généralement discret peut s'observer au cours de diverses infections virales: herpès, varicelle, *Adénovirus*, rubéole...

Dans des cas extrêmes, la MNI peut aboutir à une rupture splénique non traumatique entraînant le décès du patient.

EBV et CMV ont été détectés dans plusieurs cas de MIN [84,151,190]. Dans l'étude menée par Alavarez-Lafuente et al., l'EBV est retrouvé plus fréquemment dans les MIN que chez les enfants sains alors que le CMV a été retrouvé avec une prévalence élevée mais identique dans les deux groupes [82].

II.4.2. Fièvres éruptives

II.4.2.1. Éruptions maculo-papuleuses

Les éruptions maculo-papuleuses sont liées aux virus de la rougeole, de la rubéole, au *Parvovirus B19* (mégalérythème épidémique) ou au HHV-6 (exanthème subit du nourrisson). Ces éruptions peuvent également survenir au cours d'infections à *Adénovirus*, *Entérovirus* (*Echovirus*), de la MNI ou d'hépatites virales.

II.4.2.2. Éruptions vésiculeuses

Les éruptions vésiculeuses sont représentées surtout par l'herpès labial ou génital dus aux HSV de type 1 et 2 et par les infections à VZV. Les *Entérovirus*, en particulier les virus *Coxsackie A*, peuvent également être à l'origine d'éruptions vésiculeuses fébriles: syndrome pieds-mains-bouche ou herpangine.

A cause de la latence et la persistance des capacités des *Herpesviridae* [191], un résultat de PCR positif doit être interprété avec précaution et toujours avec l'appui des résultats histologiques [192]. La plupart des cas de HHV-6 est apparemment autolimité [193–

195], mais quelques cas de MIN ont été rapportés [196,197]. Selon Álvarez-Lafuente et al., le HHV-6 a été retrouvé plus fréquemment dans les MIN que chez les enfants sains [82].

Prenant en compte la nature multifactorielle des MIN, certains auteurs ont postulé que l'interaction entre les infections à *Herpesviridae*, les autres facteurs de risque environnementaux et les risques génétiques (en rapport avec les réponses immunes aux infections) peuvent augmenter le risque de décès inattendu dont le mécanisme fondamental reste à déterminer. Différentes hypothèses ont été proposées pour expliquer l'implication des *Herpesviridae* dans les décès inexpliqués : mimétisme moléculaire des protéines pro-inflammatoires [80,81], augmentation de l'activité d'une toxine bactérienne [198] ou toute sorte de dérèglement immunitaire [199].

II.4.3. Syndrome fébrile et algique

Ce syndrome associe une fièvre élevée et des algies importantes (céphalées, myalgies, arthralgies...) également appelé pseudo-grippal. Ce tableau clinique se retrouve dans la grippe, associé à des manifestations respiratoires. Il est également retrouvé dans un grand nombre d'infections virales, bactériennes, ou parasitaires (paludisme).

Ce tableau est typique de certaines arboviroses (virus de la Dengue, Chikungunya...) au retour de régions tropicales. La Dengue est l'arbovirose la plus fréquente actuellement dans le monde où elle est très largement répandue.

II.4.4. Fièvres hémorragiques

Les fièvres hémorragiques sont des affections souvent redoutables dues à divers virus. Les complications de la Dengue sont la survenue d'un syndrome hémorragique ou d'un syndrome de choc, principalement chez les enfants, entraînant la mort dans 5 à 10% des cas. On en observe 10 millions de cas par an dans le monde.

Il faut citer en particulier le virus Ebola pour lequel on enregistre au cours des flambées un taux de létalité pouvant atteindre 90% et le virus de la fièvre de Lassa.

Une forme bénigne de fièvre hémorragique avec syndrome rénal existe en France métropolitaine et est due au virus Puumala.

II.5. Gastro-entérites

Les gastro-entérites d'origine virale sont les plus fréquentes et se manifestent essentiellement par une diarrhée et des vomissements et, en règle générale, évoluent rapidement vers la guérison. Les formes graves, potentiellement mortelles, sont liées au risque de déshydratation chez le nourrisson. Les virus responsables des gastroentérites sont essentiellement les *Rotavirus* (gastroentérites du nourrisson), certains types d'*Adénovirus*, les *Norovirus*, les *Astrovirus* et certaines souches de *Coronavirus*.

Lors d'immunodépression importante, HHV-6 peut être responsable d'une gastro-entérite pouvant s'aggraver d'une nécrose intestinale. Bien qu'exceptionnellement impliqué dans des gastro-entérites, on note également les virus du genre *Entérovirus* dans les infections du tube digestif.

II.6. Atteintes hépatiques

Les hépatites virales représentent 40 à 70% des insuffisances hépatiques aiguës (IHA), mais le risque et le pronostic varient selon l'agent causal [200,201]. L'hépatite A se complique d'IHA dans moins de 1% des cas et son évolution est plus favorable que celle des autres étiologies virales. Les risques sont majorés chez les toxicomanes et les plus de 40 ans. Le virus de l'hépatite B (VHB) est impliqué dans 25 à 75% des hépatites fulminantes ou subfulminantes. L'acutisation, survenant à la phase aiguë de l'hépatite, peut s'accompagner d'une disparition de l'Ag HBs (30-50% des cas), avec augmentation du taux de survie (47 vs 17%). La co-infection par le virus de l'hépatite D est présente dans plus de 30% des hépatites fulminantes B [202]. L'apparition d'une hépatite fulminante chez un porteur du VHB est favorisée par les traitements antimitotiques ou antituberculeux [203–205]. La responsabilité isolée du virus de l'hépatite C (VHC) dans la survenue d'une IHA reste rare et controversée [206,207]. Des épidémies d'hépatites E, avec incidence élevée de formes fulminantes et surmortalité chez la femme enceinte, ont été récemment observées en Asie du Sud-Est et en Afrique. La responsabilité des virus du groupe herpes (CMV, EBV, HSV de type 1 et 2) est

rare mais grave. L'IHA survient habituellement chez un nouveau-né, un patient immunodéprimé ou une femme enceinte et la mortalité dépasse 90% en l'absence de traitement par l'aciclovir [208,209]. Les infections à *Adénovirus*, *Paramyxovirus*, *Coxsackie* et arbovirus sont des causes exceptionnelles, essentiellement observées dans un contexte d'immunosuppression.

Le virus de l'hépatite A (VHA) et VHB sont les causes les plus fréquentes d'hépatite virale fulminante et l'ensemble des virus cités précédemment peut également entraîner des hépatites fulminantes. L'hépatite aiguë grave ou fulminante est une nécrose, massive ou submassive du parenchyme hépatique. Bernuau et al. définissent l'hépatite fulminante par un délai de deux semaines entre le début de l'ictère et l'encéphalopathie. Le caractère subfulminant est retenu pour un intervalle de deux à douze semaines [210]. La conséquence directe de cette destruction est l'impossibilité pour le foie d'assurer sa fonction de synthèse et de détoxification. Le tableau clinico-biologique est celui de la survenue d'une insuffisance hépatique sévère (défaut de synthèse de facteurs de la coagulation) associée à des troubles neurologiques (encéphalopathie hépatique, coma). L'évolution peut se faire vers l'amélioration spontanée (avec ou non une phase d'aggravation) ou vers l'aggravation irréversible, pouvant entraîner le décès du patient. Le seul traitement, à ce stade, est la transplantation hépatique.

Seuls VHB et surtout VHC peuvent aboutir à une infection chronique dont les complications peuvent entraîner le décès du patient. Ces décès en rapport avec une infection virale chronique ne correspondent pas aux cas de morts inattendues étudiées dans le travail qui suit.

En dehors de ces contextes d'hépatites primitives, on observe également des hépatites lors d'infections liées à *Herpesviridae* (HSV, CMV, EBV, VZV), du *Parvovirus B19*, des arbovirus (Dengue et la fièvre jaune) et des virus responsables de fièvres hémorragiques (Ebola).

La fièvre jaune est la forme la plus complète de l'infection à virus amaril, la majorité des infections étant inapparentes ou réduites à un syndrome fébrile douloureux. Ces formes inapparentes sont la règle chez les autochtones, partiellement protégés par des infections à d'autres arbovirus apparentés au virus amaril mais non pathogènes. La fièvre jaune évolue en deux phases : après une incubation de 3 à 6 jours, la phase rouge est faite de fièvre, douleurs, nausées, et d'un aspect congestif du visage avec des douleurs diffuses. La fièvre disparaît

souvent transitoirement avant la deuxième phase qui est marquée par une hépatonéphrite : phase jaune.

Dans les formes graves apparaissent des hémorragies, notamment digestives, avec vomissements de sang noir (vomito negro). La mortalité de la fièvre jaune varie de 10% à 20%. La marque histologique est une nécrose hépatique médiolobulaire sans réaction inflammatoire.

II.7. Atteintes rénales

Peu d'infections virales ont une incidence notable sur le rein. On peut citer la fièvre hémorragique avec syndrome rénal due au virus Puumala en Europe de l'Ouest, l'insuffisance rénale aiguë (hépatonéphrite) due au virus de la fièvre jaune et les atteintes rénales des autres fièvres hémorragiques.

Le VHB peut induire une glomérulonéphrite membrano-proliférative. Le VHC peut induire une glomérulonéphrite associée à une cryoglobulinémie.

Chez les transplantés rénaux, l'infection à CMV peut favoriser les réactions de rejet et le virus BK peut être responsable de néphropathies. Plus récemment, des études ont montré que le VIH peut se répliquer au niveau du rein transplanté et entraîner un rejet du greffon [211].

II.8. Infections fœtales et néo-natales

Deux types de contaminations sont à envisager :

- Infections congénitales : les virus, transmis de la mère à l'enfant par voie transplacentaire, peuvent entraîner une pathologie fœtale plus ou moins sévère : le CMV, le virus de la rubéole, le *Parvovirus B19* et plus rarement le VZV. De façon générale, pour les infections à récurrence, seule la primo-infection est potentiellement transmissible au fœtus. De plus, la transmission de ces infections congénitales est plus rare en début de grossesse mais a des conséquences plus graves alors qu'une

transmission en fin de grossesse sera plus fréquente mais avec des conséquences moindres pour le fœtus.

- Infections périnatales : les virus sont transmis au nouveau-né lors de l'accouchement. Il s'agit essentiellement du VIH, du HSV et du HBV.

II.9. Infections virales de l'immunodéprimé

Les déficits immunitaires congénitaux ou acquis (transplantés, syndrome d'immunodéficience acquise (SIDA)) favorisent la survenue de certaines affections virales qui présentent souvent dans ce contexte une sévérité particulière. De manière générale, l'immunodépression cellulaire particulière à ces situations est associée à une modification qualitative et parfois quantitative de la réponse humorale et favorise les infections virales dans leurs formes graves et leur persistance.

Lors du stade SIDA, l'immunodépression cellulaire majeure due au VIH de type 1 et plus rarement au VIH de type 2 est majeure. Les infections opportunistes surviennent lorsque le taux de lymphocytes T CD4+ est inférieur à 100/mm³. Les infections liées à l'immunodépression induite par un traitement anti-rejet lors de transplantations dépendent également du degré d'immunodépression. Ces infections peuvent être différentes selon le type de greffe : organe ou de cellules souches hématopoïétiques (CSH). Les principaux virus entraînant des pathologies spécifiques de l'immunodéprimé sont représentés dans le tableau 5.

Tableau 5 : Pathologie chez l'immunodéprimé et virus associés

Virus	Pathologie chez l'immunodéprimé
HSV-1, HSV-2	Lésions persistantes et extensives Atteintes viscérales
VZV	Varicelle maligne Zona (fréquence ↗)
CMV	Syndrome fébrile neutropénique Atteintes viscérales diverses
EBV	Lymphomes
HHV-8	Sarcome de Kaposi (SIDA+++)
Virus BK	Néphropathie Cystite hémorragique
Virus JC	LEMP (SIDA+++)
Papillomavirus	Condylomes, carcinomes
Adénovirus	Pneumonies
VRS	Pneumonie
Parvovirus B19	Anémie chronique

Le cas particulier du CMV qui est un pathogène opportuniste majeur lors d'immunodépression. En plus d'une fièvre persistante associée à une leuconeutropénie, on retiendra des particularités en fonction du type d'immunodépression :

- au cours du SIDA : principalement rétinite et encéphalite ;
- chez les patients greffés : pneumopathie interstitielle du greffé de CSH et colite en greffe d'organe.

Parmi les cas de varicelle maligne chez l'immunodéprimé, on retiendra celui d'un patient traité par corticoïdes au long cours pour une sclérose en plaque chez lequel le VZV a été retrouvé par PCR sur les échantillons de peau, de l'œsophage et du tissu hépatique. Le patient a présenté un œdème cérébral associé à l'insuffisance hépatique et une coagulopathie [212]. Le VZV est souvent associé à une hépatite asymptomatique bénigne. Alors que l'insuffisance hépatique est rarement décrite lors des infections à VZV, elles sont la plupart du temps fatales [213].

II.10. Virus et cancer

A l'origine des infections cancérogènes, on trouve le plus souvent des virus. Environ un cancer humain sur sept a pour origine une infection virale, bactérienne ou parasitaire. Deux tumeurs rassemblent à elles seules 80% des cas observés dans les pays en développement : le cancer du col de l'utérus dû à des *Papillomavirus* et le cancer primitif du foie (hépatocarcinome) dû aux VHB et VHC.

Les *Papillomavirus* sont surtout associés au cancer du col de l'utérus mais également à des tumeurs des voies aérodigestives supérieures (amygdales) en fonction de leur génotype.

Les hépatites chroniques dues aux VHB et VHC induisent une cirrhose pouvant se compliquer d'un hépatocarcinome.

L'EBV est associé à divers types de lymphome dont le lymphome de Burkitt et au carcinome du naso-pharynx. HHV-8 est l'agent étiologique du sarcome de Kaposi.

Human T-lymphotropic virus (HTLV) de type 1 est responsable de la leucémie à lymphocytes T de l'adulte ou adult T-cell leukemia lymphoma (ATLL).

L'immunodépression induite par le VIH favorise la survenue de certains cancers (lymphomes, col de l'utérus).

II.11. Syndrome d'activation macrophagique

Kashiwagi et al. ont rapporté le premier cas d'un syndrome d'activation macrophagique (SAM) fatal déclenché par un virus *Parainfluenza* de type 2. Ce dernier a été mis en évidence par reverse transcription polymérase chain reaction (RT-PCR) au niveau du nasopharynx, de la moelle osseuse et du tissu hépatique [214].

Chen et al. ont rapporté une série de 10 décès au décours de SAM impliquant une forme atypique d'infection par l'EBV [215].

Dans les SAM, l'activation des lymphocytes T entraîne l'activation secondaire des macrophages et cette réponse immunitaire anormale avec hypersécrétion de cytokines est induite par divers facteurs déclenchant comme les infections virales ou bactériennes [216].

II.12. Prévention des infections virales

L'hygiène et les vaccinations restent des éléments essentiels de la lutte contre les virus. Les mesures de prévention dépendent du type de virus et de son mode de contamination.

Les mesures d'hygiène sont cruciales. Ayant fait preuve d'une efficacité incontestable, indépendamment des vaccins et des chimiothérapies antivirales, elles restent à la base de la lutte contre les infections virales. Ce sont la fourniture en eau potable, une alimentation quantitativement et qualitativement suffisante, le lavage des mains, la lutte et la protection contre les moustiques, l'éducation sexuelle, les bonnes pratiques de soins et notamment la désinfection du matériel et le contrôle des dons de sang.

De tout temps, les vaccins ont été accusés d'augmenter le risque de MIN. Ceci provient du fait qu'il existe une coïncidence chronologique entre le début de la vaccination et l'âge où le risque de MIN est maximum. De nombreuses études, menées tant en France qu'à l'étranger, ont toujours innocenté, au plan statistique, la vaccination. La méta-analyse de Vennemann et al. en 2007, regroupant neuf études de cas/témoins, confirme même que les vaccinations ont un effet protecteur vis-à-vis de la MIN, puisque les enfants complètement vaccinés ont deux fois moins de risque que ceux non vaccinés [217].

DEUXIÈME PARTIE : MATÉRIEL ET MÉTHODES

I. Population étudiée

Cette étude rétrospective porte sur l'ensemble des dossiers d'expertise virologique du CHU de Bordeaux en médecine légale entre 2001 et 2013 qui ont pu être mis à disposition et consultés, soit 113 dossiers.

Certains dossiers ont été exclus car en rapport avec des suspicions de contamination lors de transfusions, d'accidents d'exposition au sang, de viols et d'homicides. De plus les dossiers où des corps putréfiés ont été retrouvés n'ont pas été retenus, la putréfaction entraînant un risque élevé de contamination. L'investigation des décès inexplicables autopsiés au CHU de Bordeaux concerne 87 dossiers d'expertise virologique.

Les dossiers retenus sont ceux pour lesquels au moins un virus a été détecté. 21 dossiers ont pu être ainsi identifiés et les rapports médico-légaux correspondants ont pu être consultés.

Certains dossiers n'ont pu être consultés en totalité et d'autres dossiers sont apparus incomplets (prélèvements manquants ou analyses non effectuées...). Un numéro est attribué à chaque dossier afin de les anonymiser, il s'agit d'un ordre chronologique en fonction de l'année de décès des patients.

II. Les échantillons

Les prélèvements sont effectués par le médecin légiste et les analyses à réaliser sont décidées par les experts de chaque discipline.

II.1. Nature et choix des échantillons

Les échantillons sont choisis et prélevés lors des autopsies en respectant les règles d'asepsie rigoureuses : masque chirurgical, gants, tubes et seringues stériles, avec des instruments désinfectés et changés pour chaque incision et organe.

Divers types d'échantillons sont collectés en fonction des circonstances du décès, des renseignements fournis par les enquêteurs, de l'examen externe du cadavre ainsi que de l'aspect macroscopique des organes (présence d'un épanchement liquidien au niveau d'une séreuse...).

- Atteinte neurologique (épilepsie...) : LCR, biopsie cérébrale
- Atteinte pulmonaire (pneumopathie...) : biopsie pulmonaire, liquide pleural, LBA, sécrétions bronchiques
- Atteinte cardiaque (péricardite...) : biopsie cardiaque, liquide péricardique
- Atteinte digestive (diarrhée, hépatite...) : selles, biopsie intestinale, liquide péritonéal, sang périphérique
- Signes centraux : sang périphérique

Ces échantillons sont ensuite transmis au laboratoire de virologie et analysés au plus vite (sérologies) ou stockés à -80°C avant extraction s'ils sont programmés pour la biologie moléculaire.

II.2. Analyses virologiques

Le choix des virus à rechercher est fait par l'expert en virologie mandaté par le tribunal de grande instance, dans notre étude il s'agit du Pr Fleury. Ce choix dépend des circonstances du décès, des premières constatations du médecin légiste lors de l'autopsie et des prélèvements effectués par ce dernier. Ainsi en se basant sur le tropisme des virus et les comorbidités du patient lors de son décès, le choix s'opère en fonction des probabilités d'implication des différents virus :

- Atteinte neurologique: HSV, *Entérovirus (Coxsackie A et B, Echovirus, Poliovirus, Entérovirus 71)*, *Adénovirus*, VZV, CMV, EBV et JC virus
- Atteinte pulmonaire: Virus de la grippe A (H1N1pdm et H3N2) et B, VRS, *Adénovirus, Bocavirus, Coronavirus, Entérovirus, Métapneumovirus, Parainfluenza, Rhinovirus*, HSV, CMV, EBV, VZV et HHV-6
- Atteinte cardiaque: *Entérovirus (Coxsackie A et B, Echovirus, Poliovirus, Entérovirus 71), Parvovirus B19, Adénovirus*, virus de la grippe (dans un contexte d'atteinte pulmonaire), CMV, EBV
- Atteinte digestive: *Adénovirus, CMV, Entérovirus (Coxsackie A et B, Echovirus, Poliovirus, Entérovirus 71), Rotavirus, Norovirus, VHA, VHB et VHC*
- Contexte en général spécifique: VIH, HTLV, VHB et VHC

II.3. Conservation des échantillons

Après analyse, les sérums, les échantillons primaires (biopsies et liquides divers) et les éluats résultant de l'extraction de ces échantillons sont stockés à -80°C. Cette température permet une conservation optimale des protéines (Ac) et des acides nucléiques (ADN et ARN viraux). Une autorisation de la justice est indispensable afin de procéder à la destruction des échantillons, ce qui aboutit à des temps de conservation longs et indéterminés ainsi qu'une logistique importante.

III. Diagnostic virologique

Le Laboratoire de virologie du CHU de Bordeaux utilise plusieurs outils pour effectuer le dépistage, le diagnostic et le suivi thérapeutique des infections virales. Les deux groupes techniques principaux pratiqués dans le cadre des autopsies légales sont les sérologies et la biologie moléculaire.

III.1. Techniques sérologiques

La sérologie est un outil de diagnostic indirect et consiste en la mise en évidence et/ou le dosage d'Ac spécifiques d'un agent infectieux donné. Le but est d'évaluer l'état d'immunité du patient vis-à-vis de d'un pathogène.

Les Ac recherchés peuvent être, suivant les techniques, des IgG ou des IgM et plus rarement des immunoglobulines de type A (IgA). Les tests de détection sont généralement qualitatifs et font appel aux Ac totaux voire plus souvent aux IgG.

Les Ac sont détectables au minimum 8 à 10 jours après le début de l'infection. Pendant ces 8 à 10 jours de délai, l'infection est sérologiquement inapparente, il s'agit de la fenêtre sérologique. D'une manière générale, les IgG perdurent toute la vie ou décroissent lentement. Les IgM ne sont présentes qu'à proximité de la primo-infection ou dans certains cas lors d'une réactivation (Figure 2). Toutefois, certaines personnes gardent des IgM persistantes à vie. Les sérologies sont interprétées sur l'évolution du taux des Ac à quelques semaines d'intervalle. Ainsi une montée du taux des Ac, notamment des IgG, objective une infection récente. Celle-ci doit être franche (multipliée par 2 à 4 en 15 jours).

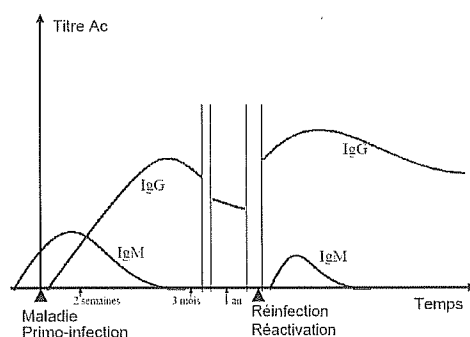


Figure 2 : Évolution du taux d'Ac au cours d'une infection virale

Dans le cas d'une expertise médico-légale, un seul prélèvement sérologique est disponible et l'interprétation d'une cinétique n'est donc pas possible.

III.1.1. Automate Beckman Coulter UniCel® DxI 800

L'analyseur UniCel® DxI 800 est un système d'immunoanalyse multiparamétrique. Tous les paramètres sont mesurés par chimiluminescence.

Plusieurs techniques utilisant la technologie enzyme linked immunosorbent assay (ELISA) permettent la détection et le dosage de nombreux marqueurs :

- Technique « sandwich » directe pour la détection d'Ag (Figure 3)

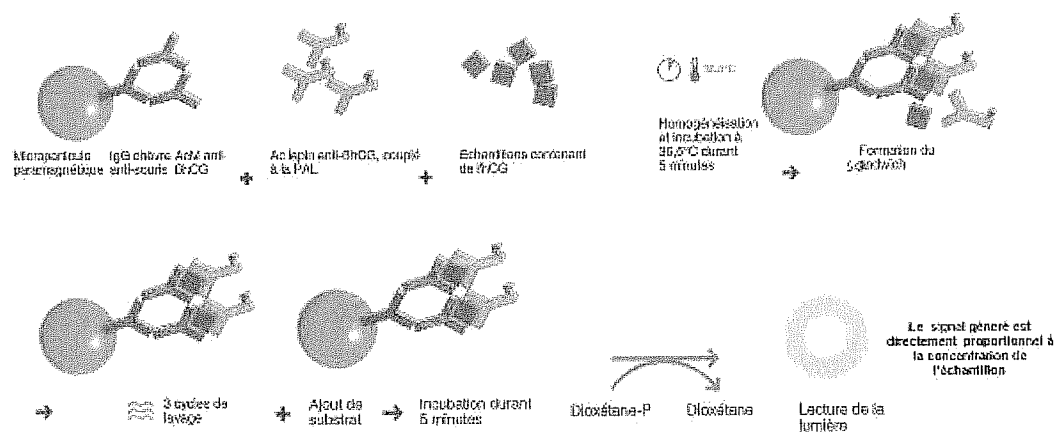


Figure 3 : Technique sérologique « sandwich » [218]

- Technique indirecte pour la détection d'Ac (Figure 4)

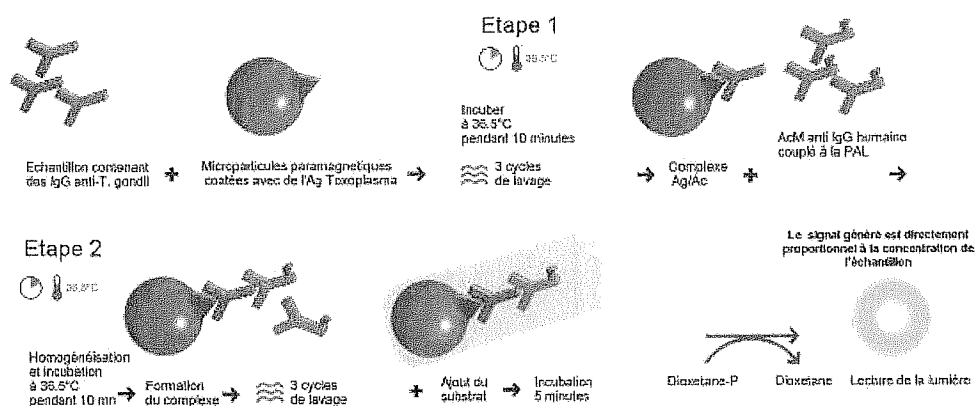


Figure 4 : Technique sérologique indirecte [218]

- Technique par compétition (Figure 5)

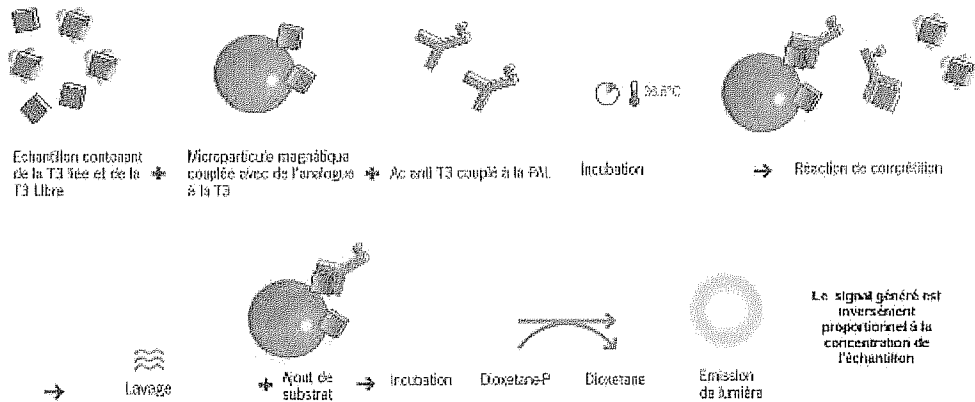


Figure 5 : Technique sérologique par compétition [218]

- Technique par immunocapture (Figure 6)

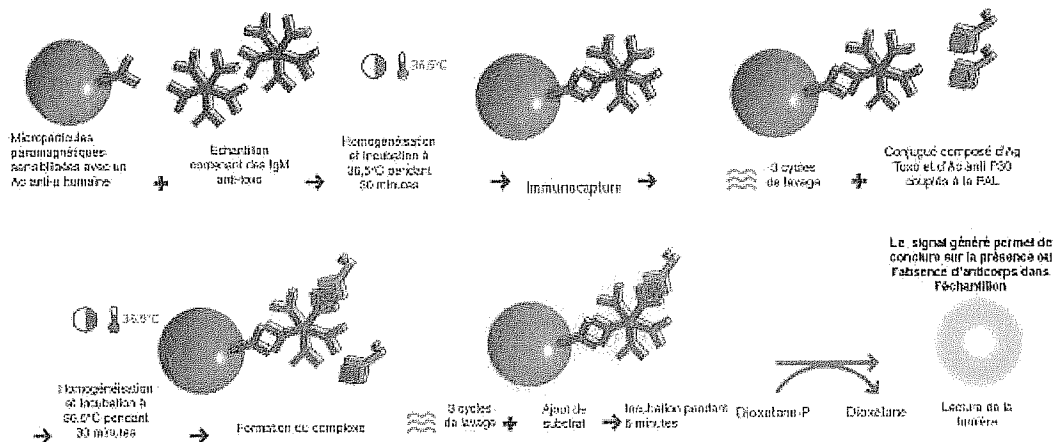


Figure 6 : Technique sérologique par immunocapture [218]

Détection : Chaque conjugué obtenu est couplé à une enzyme, la phosphatase alcaline. Cette enzyme transforme un substrat, le dioxétane phosphorylé, en un ester excité. La fluorescéine est à son tour excitée par l'énergie émise par l'ester de dioxétane. La fluorescéine émet ainsi de la lumière qui est mesurée par un spectromètre et dont l'intensité est proportionnelle à la quantité de dioxétane phosphorylé transformé, donc à la quantité de conjugué fixé (Figure7).

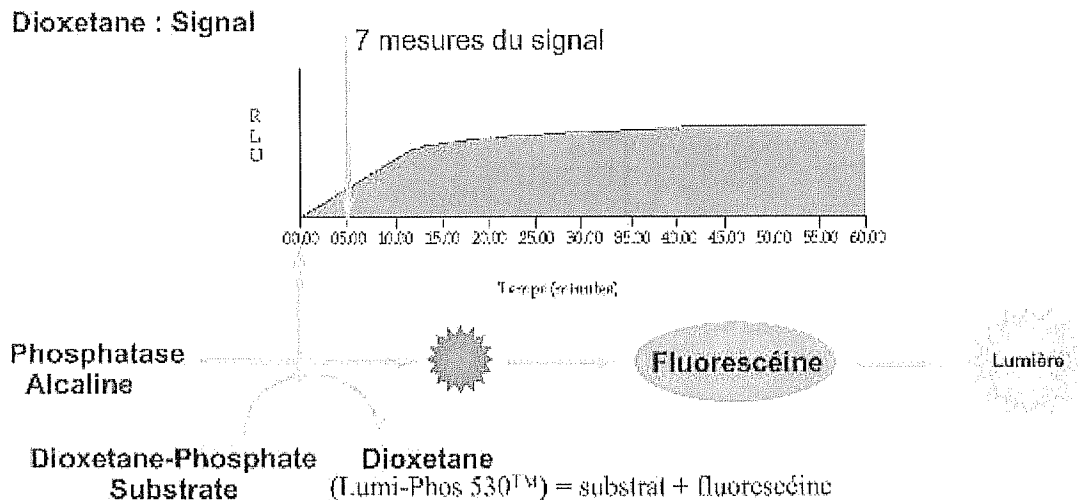


Figure 7 : Système de détection de l'automate Beckman Coulter UniCel® DxI800 [218]

III.1.2. Automate BioMérieux Vidas®

Le Vidas® développé par la firme BioMérieux est un automate multiparamétrique très utilisé. Sa conception originale consiste en l'utilisation de cartouches individuelles. Cet automate utilise la technologie enzyme linked fluorescence assay (ELFA) qui possède une très bonne sensibilité.

Le principe de la réaction est le suivant : l'échantillon, déposé manuellement dans le premier puits, est aspiré et refoulé à plusieurs reprises dans un cône revêtu d'Ag et/ou d'Ac selon le marqueur recherché (Ac et/ou Ag). Le cône tient lieu à la fois de phase solide et de système de pipetage. Le marqueur recherché se lie aux Ac ou Ag fixés et après des étapes de dilution et de lavage, un conjugué est aspiré dans le cône (le conjugué est constitué par exemple pour le titrage des Ac rubéole par des Ac anti-IgG conjugués à la phosphatase alcaline). Lors de l'étape finale de révélation, après avoir éliminé le conjugué non fixé par lavage, le substrat, 4-méthyl-ombelliferyl phosphate, est aspiré. L'enzyme du conjugué catalyse la réaction d'hydrolyse du substrat en 4-méthyl-ombelliférol dont la fluorescence émise est mesurée à 450 nm. Son intensité est proportionnelle à la quantité du marqueur recherché présent dans l'échantillon [219].

Pour la recherche de l'Ag p24 du VIH de type 1, la détection est rendue plus sensible par l'utilisation d'Ac anti p24 biotinylés et d'un conjugué constitué de streptavidine associée à la phosphatase alcaline.

III.1.3. Automate DiaSorin Liaison XL®

L'analyseur Liaison XL® adopte une technologie par chemiluminescence immunoassay « Flash » (CLIA) avec des microparticules magnétiques (phase solide) [220].

Plusieurs techniques permettent la détection et le dosage de nombreux marqueurs :

- technique « sandwich » directe pour la détection d'Ag ;
- technique indirecte pour la détection d'Ac ;
- technique par compétition.

Les pages 1 à 3 du tableau « IN-LAB 047 : Répertoire des analyses de virologie - CHU Bordeaux » récapitulent les sérologies virales réalisées au CHU de Bordeaux avec leur technique de mesure et l'index permettant l'interprétation (Annexe 1).

III.2. Techniques de biologie moléculaire

Les techniques de biologie moléculaire ont pour but de mettre en évidence les acides nucléiques spécifiques des virus recherchés. Il s'agira d'un diagnostic direct en recherchant le matériel génétique propre aux virus, l'ADN par PCR ou l'ARN par RT-PCR.

Ces techniques de biologie moléculaire, comme la PCR, sont maintenant largement acceptées et reconnues comme le nouveau « gold standard » pour identifier de nombreux agents infectieux [21,221].

Ces techniques de biologie moléculaire sont réalisées après extraction des acides nucléiques à partir des échantillons (biopsies, liquides divers et plasma).

III.2.1. Principe de l'extraction des acides nucléiques

Les échantillons doivent être extraits avant toute amplification génique afin d'éliminer tout le matériel (protéines, lipides, polysaccharides, anticoagulants...) qui pourrait inhiber l'ADN polymérase et donc la PCR ainsi que d'augmenter la sensibilité de l'analyse. C'est une étape indispensable impliquée dans les performances techniques pour la détection d'ADN ou

d'ARN. L'extraction d'acides nucléiques consiste à les isoler des cellules ou tissus, les purifier et les concentrer dans un éluat.. Les acides nucléiques ainsi extraits peuvent être utilisés pour des analyses de biologie moléculaire comme la PCR, le séquençage ou encore le clonage...

L'extraction de l'ADN peut être manuelle grâce à l'utilisation de kits spécifiques prêts à l'emploi ou automatique (ex MagNA Pure[®] Roche).

III.2.1.1. Extraction manuelle : technique de référence

La technique manuelle de référence utilise l'extraction par le couple phénol-chloroforme. Tout d'abord, il y a une étape de lyse composée par le couple détergeant-protéinase K qui dissocie les cellules et les tissus et libère ainsi les acides nucléiques. Ensuite, le phénol, qui est un excellent agent dénaturant des protéines, va permettre de séparer efficacement les protéines des acides nucléiques. Son addition à une phase aqueuse a pour effet de dénaturer les protéines en solution dans le milieu puis après centrifugation, ces protéines se situent à l'interface entre la phase aqueuse et la phase organique. Après élimination de la phase aqueuse, les acides nucléiques sont traités par un mélange chloroforme-alcool isoamylique. Les acides nucléiques se retrouvent, après centrifugation, dans la phase aqueuse.

III.2.1.2. Extraction automatique

Le CHU de Bordeaux est doté d'extracteurs automatiques de la firme Roche : MagNA Pure 96[®] et MagNA Pure[®] Compact. Ces automates permettent une extraction par fixation des acides nucléiques à des billes magnétiques. Le MagNA Pure 96[®] permet une extraction de 96 échantillons en même temps et un meilleur suivi des échantillons grâce au système exclusif mis en place au plateau technique de biologie moléculaire (PTBM) du CHU de Bordeaux de chaînes de PCR par transmission des données à l'automate de distribution des échantillons en plaques Epimotion[®] puis aux automates de PCR en temps réel (Light cycler[®] 480 System). Le MagNA Pure[®] Compact élimine plus efficacement les inhibiteurs de PCR mais ne peut extraire que des séries de 8 échantillons.

Le volume de prélèvement nécessaire est de 100 à 200µL. Les échantillons sont incubés avec un tampon contenant des agents dénaturants et de la protéinase K. Des billes magnétiques sont ajoutées à ce mélange pour que les acides nucléiques s’y fixent tandis que les substances non retenues sont éliminées par des lavages successifs. Les acides nucléiques sont finalement élués par une solution tampon spécifique (Figure 8).

L’intérêt de l’extracteur automatique est d’une part, le gain de temps car une extraction pour huit échantillons dure seulement 30 minutes, et d’autre part une reproductibilité optimale puisque tout est automatisé.

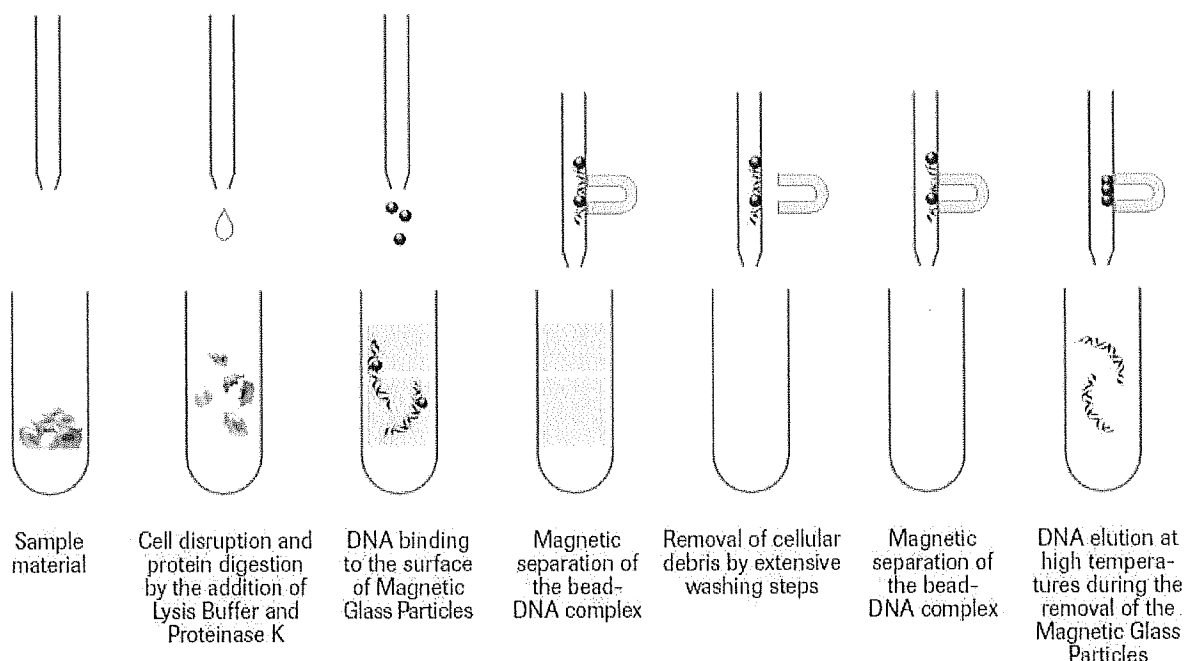


Figure 8 : Principe de l'extraction automatique par le MagNA Pure[®] Compact [222]

III.2.2. La technique de PCR

III.2.2.1. Principe de la PCR

La réaction de PCR est une méthode de biologie moléculaire permettant de cibler un segment d'ADN particulier dans le génome, de le recopier puis de l'amplifier. Tout ceci est réalisé grâce à une enzyme, l'ADN polymérase capable de synthétiser le brin ADN complémentaire (ADNc) à partir d'un ADN servant de matrice.

Deux types de PCR existent: la PCR conventionnelle et la PCR en temps réel.

III.2.2.2. Principe de la PCR conventionnelle

Le principe, illustré par la figure 9, est simple : il consiste à réaliser une succession de réactions de réplication, appelées cycles, à partir d'une matrice double brin d'ADN. Chaque réaction utilise deux amorces oligonucléotidiques qui encadrent la séquence à amplifier.

Avant la réaction, tous les « acteurs » de la PCR doivent être présents : l'ADN à amplifier, les amorces pour cibler le segment d'ADN voulu, l'enzyme permettant la réplication du brin d'ADN appelé ADN polymérase thermorésistante (ou Taq polymérase) et les quatre types de déoxyribonucléotide triphosphate (dNTP) constitutifs de l'ADN (dCTP, dGTP, dATP, dTTP).

La PCR est réalisée dans un thermocycleur (ou bloc thermique) dans lequel les tubes contenant le mix de PCR sont insérés. Il a pour fonction d'amener l'échantillon à des températures voulues pendant une durée programmée en effectuant des cycles. Le programme de PCR comprend une succession d'environ 40 cycles.

Chaque cycle est divisé en trois phases : dénaturation, hybridation et élongation (Figure 10). A chaque phase correspond une température définie :

- La dénaturation consiste à rompre les liaisons faibles de la double hélice d'ADN pour donner deux simples brins d'ADN. La température est en général de 95°C.
- L'hybridation repose sur le principe de l'appariement des amorces à la séquence d'ADN qui lui correspond. La température est inférieure à celle de la dénaturation

et dépend des amorces choisies. En effet, chaque amorce a une température de fusion (T_m) propre qui correspond à la température où 50% de l'ADN est sous forme simple brin. Pour avoir une idée de la température d'hybridation, il faut soustraire 5 degrés au T_m des amorces.

- L'élongation correspond à la polymérisation du brin d'ADNc de l'ADN matrice par la Taq polymérase. Elle se fait par ajouts successifs de dNTP à la température d'environ 72°C.

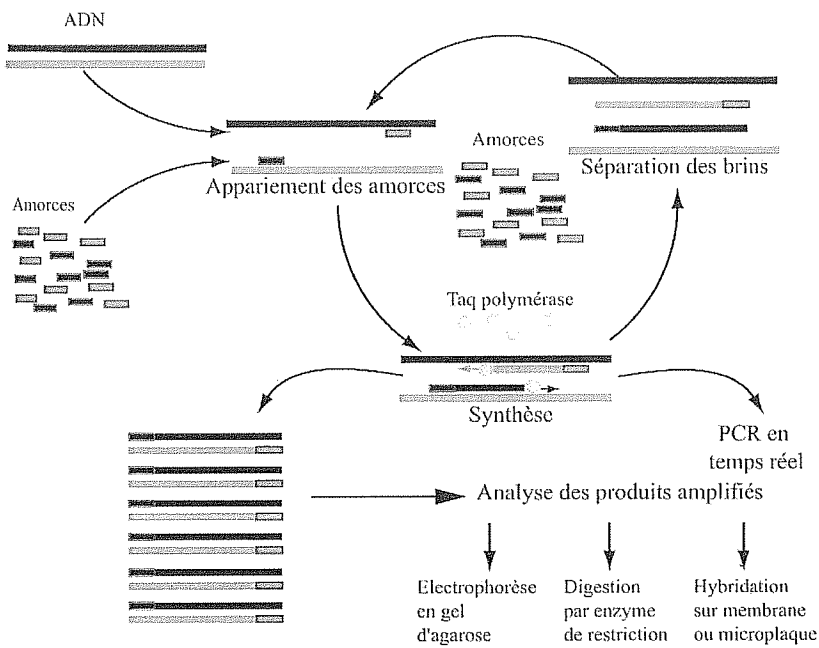


Figure 9 : Principe de la PCR [223]

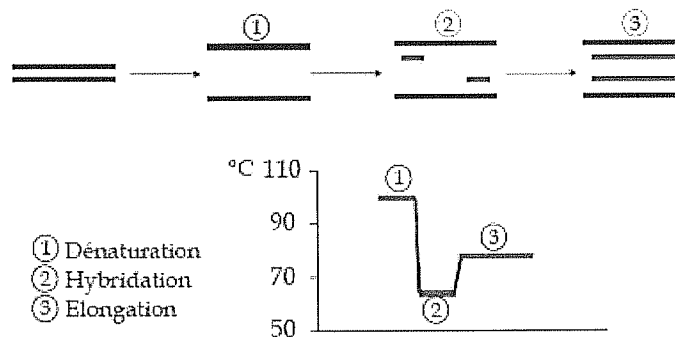


Figure 10 : Étapes de la réaction de PCR

Les produits d'amplification ou amplicons sont ensuite déposés sur un gel d'électrophorèse contenant un agent intercalant de l'ADN (le bromure d'éthidium) et soumis à un champ électrique constant. Afin de déterminer le poids moléculaire des amplicons, un marqueur de poids moléculaire connu est déposé. La séparation des fragments d'ADN se fait selon le poids moléculaire et donc la taille de l'ADN. Les acides nucléiques sont rendus fluorescents grâce au bromure d'éthidium et le gel est analysé sous une lampe à ultraviolet. La contamination des produits amplifiés lors de la manipulation est le risque majeur de cette technique.

III.2.2.3. Principe de la PCR en temps réel

La PCR en temps réel combine une amplification comme décrite dans la PCR conventionnelle avec une détection simultanée des produits amplifiés. L'intensité du signal de fluorescence est proportionnelle à la quantité de produits formés pendant la PCR. L'évolution de cette cinétique peut être représentée par une courbe dont l'allure est celle d'une sigmoïde (Figure 11).

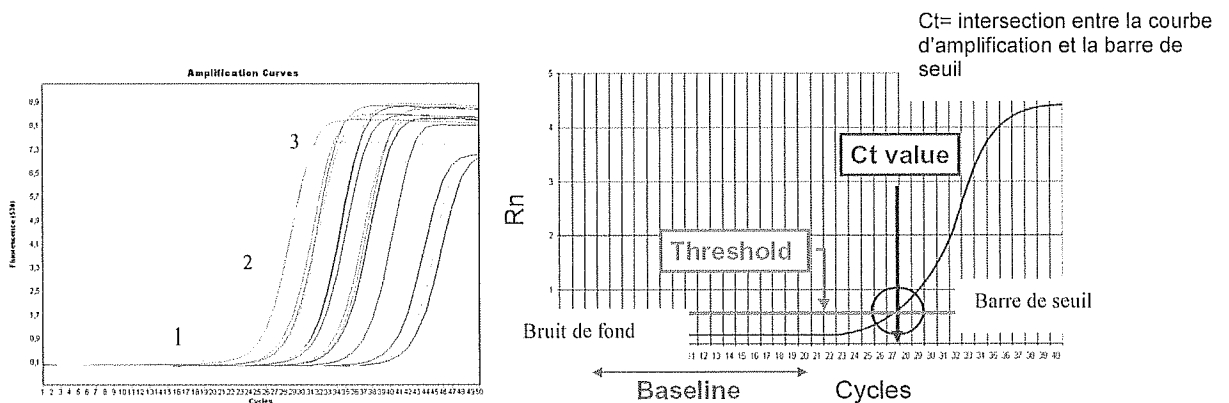


Figure 11 : Exemple de courbes de PCR en temps réel (à gauche) ; Détermination du cycle seuil Ct (à droite)

Cette courbe peut être divisée en 3 phases (Figure 11) :

- phase 1 : la fluorescence ne se démarque pas du bruit de fond ;
- phase 2 : augmentation de la fluorescence avec une phase exponentielle pendant laquelle la quantité de produit de PCR obtenue est directement proportionnelle au nombre de copies initiales du fragment d'ADN amplifié ;
- phase 3 : phase en plateau avec un ralentissement de l'amplification dû le plus souvent à l'épuisement d'un des différents réactifs de la PCR comme les amorces ou à une compétition entre l'ADNc formé et les amorces.

Le cycle seuil (Ct) ou threshold cycle est défini comme le moment du cycle où le signal émis par le produit formé au cours de la PCR, mesuré par fluorescence, se distingue du bruit de fond de fluorescence du mélange réactionnel. Ce Ct marque l'apparition du produit et le début de la phase exponentielle : il est inversement proportionnel au logarithme décimal du nombre de copies initialement présent dans le milieu et soumis à l'amplification. Donc, plus le milieu est riche en ADN matrice, plus le Ct sera précoce. La mesure du Ct est utilisée dans les méthodes de quantification (Figure 11).

Contrairement à la PCR conventionnelle, la PCR en temps réel a permis, en une seule étape, de réduire considérablement les risques de contamination entre chaque échantillon. De plus, la PCR en temps réel est dotée d'une plus grande sensibilité et spécificité.

Il existe principalement deux systèmes permettant la détection et la quantification de ce signal en temps réel : les agents intercalants et les sondes d'hybridation.

III.2.2.3.1. Agents intercalants

Très peu toxique, le SYBR[®] Green est l'agent intercalant le plus fréquemment utilisé en PCR en temps réel. Il est capable de se lier à l'ADN double brin. Au cours de l'hybridation des amorces, puis de l'extension réalisée par l'ADN polymérase, il s'intercale entre les deux brins d'ADN nouvellement synthétisés et émet une fluorescence. Cette émission de fluorescence décroît complètement à l'étape de dénaturation du cycle suivant (Figure 12).

En pratique, la spécificité est définie par les couples d'amorces mais cette technique n'est cependant pas spécifique à 100% car la liaison de l'agent intercalant peut se faire à

d'autres molécules d'ADN présentes dans le milieu réactionnel (produits d'amplification non spécifiques ou dimères d'amorces hybridées entre elles en fin d'amplification).

Pour améliorer la spécificité en fin d'amplification, une courbe de fusion est réalisée. En soumettant les amplicons à une température allant de 70 à 90°C, on pourra alors mesurer la variation de fluorescence en fonction de la température. Il est alors possible de déterminer leur T_m . Celle-ci étant identique pour un fragment d'ADN spécifique donné.

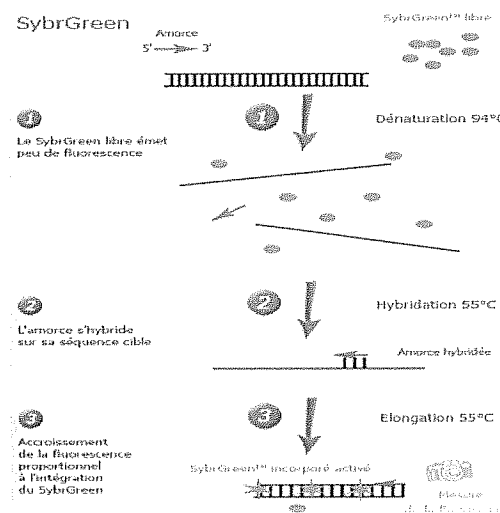


Figure 12 : Principe de la chimie SYBR[®] Green [224]

III.2.2.3.2. Sondes d'hybridation

Différentes sondes d'hybridation existent : les sondes d'hydrolyse Taqman[®], les sondes par fluorescence resonance energy transfer (FRET), les sondes Beacon[®] et Scorpion[®].

III.2.2.3.2.1. La chimie Taqman[®]

La chimie Taqman[®] utilise une sonde oligonucléotidique spécifique d'une région interne de la séquence à amplifier en plus des deux amorces oligonucléotidique spécifiques de la séquence d'intérêt. Elle est marquée par deux fluorophores dont l'un est reporter (ou donneur) en 5' et l'autre quencher (ou receveur) en 3'. Le quencher, à proximité du reporter, inhibe l'émission de fluorescence de ce dernier [224].

Le principe de cette technique (Figure 13) est basé sur l'activité exonucléasique 5'→3' de la Taq polymérase [224]. Lors de la phase d'amplification, la sonde hybridée au brin d'ADN est hydrolysée et le quencher ne peut plus inhiber le reporter. La température d'élongation des amorces doit donc être compatible avec la température d'hybridation de la sonde. La fluorescence émise par le quencher est alors mesurée au cours de l'élongation de chaque cycle de PCR. L'augmentation du signal fluorescent est proportionnelle au nombre de copies polymérisées à chaque cycle de PCR [224]. Le clivage de la sonde étant irréversible, le système TaqMan® ne permet pas l'établissement d'une courbe de fusion post-PCR [225].

La spécificité de la réaction est liée à la fois à celle des amorces et à celle de la sonde, ce qui réduit significativement l'émission de fluorescences non spécifiques. Le T_m d'une sonde TaqMan® doit être élevé et voisin de 70 °C, ce qui impose une conception rigoureuse des amorces mais facilite l'application d'un profil de thermocyclage standard [225].

Cependant, le risque d'avoir des faux négatifs est beaucoup plus élevé qu'avec les agents intercalants. Des mutations dans la région reconnue par la sonde risquent d'entraîner un défaut d'hybridation et donc l'absence de détection. [224].

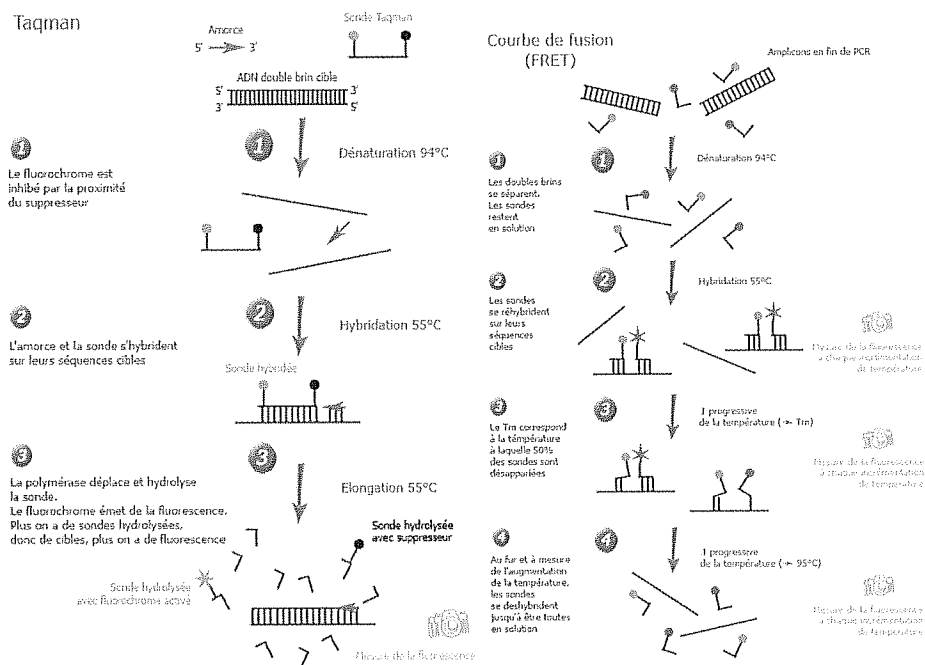


Figure 13 : Principe de la chimie Taqman® (à gauche) et la chimie FRET (à droite)

[224]

III.2.2.3.2.2. La chimie FRET

La chimie FRET utilise deux sondes oligonucléotidiques spécifiques d'une région interne de la séquence à amplifier en plus des deux amorces d'oligonucléotides spécifiques de la séquence d'intérêt [224].

Le principe est illustré sur la (Figure 13) : l'une des deux sondes est porteuse en 3' d'un fluorophore émetteur et l'autre en 5' d'un fluorophore accepteur. Elles sont choisies dans le but que l'hybridation à leur séquence cible ne soit séparée que de une à cinq bases seulement, ceci afin d'augmenter le phénomène de transfert d'énergie entre les fluorophores des deux sondes. En l'absence d'hybridation, le fluorophore en 3' n'émet qu'un bruit de fond de fluorescence. On mesure alors l'acquisition de la fluorescence, proportionnelle à la quantité d'ADN synthétisée, au moment de l'hybridation [224].

Pour les sondes restant intactes (contrairement aux sondes Taqman[®] qui sont hydrolysées), il est possible de réaliser une courbe de fusion en fin de PCR. Son obtention se fait juste après l'amplification. C'est une étape de dénaturation progressive, qui peut être réalisée afin de s'assurer de l'identité du produit amplifié en mesurant le T_m.

III.2.2.3.2.3. Les sondes Beacon[®]

Les sondes Beacon[®] ont une structure dite en épingle à cheveu et sont marquées par un reporter à l'une des extrémités et par un quencher à l'autre extrémité. Cette structure rend impossible l'émission de signal en l'absence d'hybridation. Lors de l'hybridation, l'éloignement suffisant des deux fluorochromes libère le reporter permettant ainsi l'émission d'une fluorescence. Les sondes restent intactes en fin de réaction, avec le même avantage que pour les sondes FRET, mais leur conception est plus délicate. Ces sondes présentent une grande spécificité permettant de détecter une variation de l'ordre d'un nucléotide mais leur prix est très élevé [224]

III.2.2.3.2.4. Les sondes Scorpion[®]

C'est une variante des sondes Beacon[®] avec une structure en épingle à cheveu complétée après le quencher d'une molécule d'hexéthylène glycol sur laquelle est fixée une

amorce. L'hexéthylène glycol empêche l'extension de cette sonde par l'ADN polymérase et l'amorce permet d'intégrer la sonde dans le nouvel amplicon. La boucle change de conformation (retournement rappelant la queue d'un scorpion) lors d'une renaturation, pour s'hybrider à sa séquence complémentaire sur l'amplicon, permettant ainsi l'éloignement du quencher et l'émission du reporter. Ces sondes présentent une grande sensibilité et une grande spécificité. Ce système est préféré lors de PCR comportant des cycles courts mais leur conception est délicate et leur prix élevé [224].

Tableau 6 : Résumé des caractéristiques des différentes techniques de PCR [224]

	PCR classique	PCR temps réel				
		Sybr Green	Taqman	FRET	Molecular Beacons	Scorpions
Principe	Amplification cyclique d'un fragment d'ADN basée sur une réaction enzymatique					
Détection	Finale	A chaque élongation		A chaque hybridation		
Spécificité	* Amorces * Taille des amplicons	* Amorces * Tm des amplicons	* Amorces * Sondes	* Amorces * Sondes * Tm des amplicons		
Rapidité	1 à 2 H sans la révélation	30 à 60 mn		1H30 à 2 H		30 à 60 mn
Reproductibilité	Bonne	Excellente				
Quantification	Non	Oui				
Avantages		* Insensible aux mésappariements * Economique * Facile	* Sensibilité élevée * Grande spécificité * Rapide * Multiplexage	* Excellente sensibilité * Grande capacité de multiplexage	Grande spécificité	* Rapidité supérieure * Grande sensibilité * Grande spécificité * Efficacité supérieure * Augmentation de l'intensité du signal fluorescent
Inconvénients	Risque élevé de contaminations	Pas de spécificité de la fluorescence	* Hydrolyse des sondes * Manque d'efficacité et de flexibilité pour certaines mutations	* Prix élevé * Pas de reconnaissance des mutations avec le même Tm	* Conception délicate * Prix très élevé	* Conception délicate * Prix très élevé
Applications	Détection de produits amplifiés	Détection et quantification de produits amplifiés	* Mutations ponctuelles * Polymorphismes bi-alléliques * Quantification des gènes et d'agents pathogènes	* Génotypage * Mutations ponctuelles * Etude des allèles * Détection et quantification d'agents pathogènes * Quantification de l'expression des gènes		* Mutations ponctuelles ou polymorphismes bi-alléliques à grande échelle * Quantification d'acide nucléique ou d'agents pathogènes

III.2.2.4. Principe de la RT-PCR

Pour la mise en évidence des virus à ARN par biologie moléculaire, il faut une étape préliminaire afin d'obtenir, à partir d'un ARN, de l'ADNc. Cette technique est une succession de deux étapes :

- une étape de rétrotranscription qui consiste à synthétiser l'ADNc de l'ARN à partir d'une amorce oligonucléotidique grâce à une enzyme à activité ADN-polymérase ARN-dépendante : la transcriptase inverse (reverse transcriptase) ;
- cet ADNc nouvellement synthétisé est ensuite amplifié au cours d'une réaction de PCR comme décrite précédemment.

III.2.2.5. Principe de la PCR multiplex

La PCR multiplex est l'amplification simultanée de plusieurs séquences cibles dans un même tube d'amplification. Chaque amplification doit être indépendante des autres, le résultat devant être identique à celui obtenu isolément dans un tube avec un seul couple d'amorces. Cette technique permet de mettre en évidence les co-infections virales. La détection peut se faire en point final ou en temps réel.

- o Exemple d'une PCR multiplex en point final : Gastro-entérites virales

Le laboratoire de virologie du CHU de Bordeaux emploie en routine une technique « Seeplex[®] Diarrhea ACE Detection ». Cette méthode de RT-PCR multiplex permet la détection simultanée des principaux virus responsables de gastro-entérites. La trousse commerciale contenant cinq amorces différentes autorise l'identification des : *Rotavirus*, *Adénovirus*, *Astrovirus*, *Norovirus* des groupes I et II.

Les amorces sont conçues sur la structure brevetée DPO[™]. Chaque amorce est constituée de deux segments dont l'un est plus long que l'autre et dont les extrémités 5' et 3' sont séparées par un linker polydeoxyionisine (Poly(I)) sensible à la température (Figure 14). Le linker est activé à une certaine température et sépare l'amorce en deux régions fonctionnelles. Puis deux étapes sont nécessaires à la reconnaissance de l'amorce spécifique. Dans un premier temps, la région la plus longue en 5' se lie sur la matrice en cas de

reconnaissance. Dans un second temps, la région la plus courte en 3' se lie à la zone cible uniquement si la première étape se déroule sans mésappariement. Ces amorces permettent d'améliorer la sensibilité et la spécificité de la PCR tout en évitant les faux positifs [226] (Annexe 2).

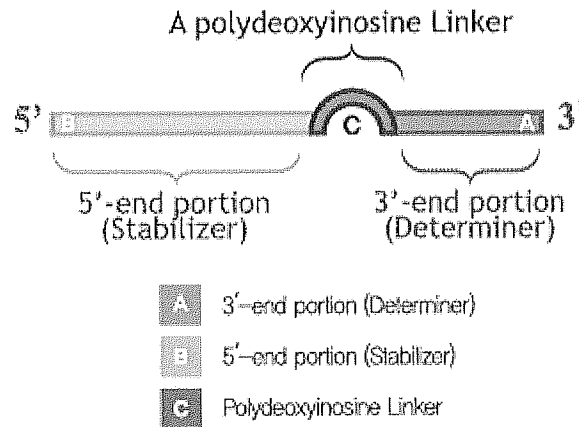


Figure 14 : Structure DPO [226]

La détection des produits de PCR est automatisée. Un automate d'électrophorèse capillaire de la société Bionobis permet la lecture des amplicons sur gel d'agarose contenu dans les capillaires. L'interprétation des résultats est réalisée avec le système « ScreenTape system ».

o Exemple d'une PCR multiplex en temps réel : Virus respiratoires

Le laboratoire de virologie du CHU de Bordeaux emploie en routine une technique « Anyplex[®] II RV16 Detection ». Cette méthode de RT-PCR Multiplex permet la détection simultanée de seize virus respiratoires. La trousse commerciale, contenant seize amorces différentes, autorise l'identification des : virus grippaux de type A et B, virus *Parainfluenza* de type 1, 2, 3 et 4, VRS de type A et B, *Bocavirus* 1/2/3/4, *Métapneumovirus*, *Coronavirus* 229E, NL63 et OC43, *Adénovirus*, *Entérovirus* et *Rhinovirus* A/B/C.

Cette technique est basée sur la technologie brevetée DPO[™] comme décrite précédemment associée à la méthode d'analyse des courbes de fusion TECO[™]. La

technologie TOCE™ rend possible la détection de plusieurs virus avec un seul canal de fluorescence.

Les éléments clés de la technologie TOCE™ sont les paires d'amorces DPO™, les pitchers (lanceurs) et les catchers (receveurs). Les amorces DPO™ sont très spécifiques de la région à amplifier. Le pitcher est un oligonucléotide de marquage qui s'hybride spécifiquement à la région cible. Le catcher est une matrice artificielle marquée avec un fluorochrome.

Tout d'abord, les amorces DPO™ et le pitcher sont hybridés spécifiquement à la séquence cible. La tagging portion (partie marquée) du pitcher est conçue pour ne pas s'hybrider avec la séquence cible. Ensuite lors de l'extension des amorces DPO™, la tagging portion du pitcher est libérée suite à l'activité exonucléasique de l'ADN polymérase. Cette tagging portion vient s'hybrider sur le catcher qui a une séquence complémentaire. Enfin l'extension de la tagging portion sépare le reporter du quencher présents sur le catcher entraînant la génération d'un signal fluorescent [226] (Annexe 3).

Elle fournit ainsi une sensibilité aussi bonne voire meilleure que la PCR en temps réel simplex. Cette technique est une solution rapide (~3,5h), fiable et quantitative pour la détection, la différenciation et la quantification des infections virales respiratoires.

Les pages 4 à 5 du tableau « IN-LAB 047 : Répertoire des analyses de virologie - CHU Bordeaux » récapitulent les techniques de biologie moléculaire réalisées au laboratoire de virologie du CHU de Bordeaux et l'index permettant l'interprétation (Annexe 1).

IV Dossiers de médecine légale

IV.1. Dossiers d'expertise virologique

Un dossier d'expertise virologique est un document confidentiel composé de quatre éléments :

- la réquisition du Tribunal de grande instance aux fins d'examen virologique ;
- la fiche de transmission du service de médecine légale contenant les informations démographiques du patient décédé, les circonstances médico-légales du décès et la nature des échantillons envoyés au laboratoire ;
- le résultat des analyses virologiques,
- la conclusion de l'expert en virologie.

Dans un premier temps, une sélection a été effectuée afin d'exclure les cas ne correspondant pas à des décès inexplicables. Ensuite, les dossiers avec au moins un virus détecté ont pu être identifiés et les rapports définitifs d'autopsie correspondants ont été consultés.

IV.2. Rapports d'autopsie médico-légale

Les rapports d'autopsie sont confidentiels, doivent obéir à des règles conventionnelles de formes et doivent surtout répondre aux questions posées [89]. Ces rapports devront être complets, détaillés, objectifs, clairs et compréhensibles (non seulement par d'autres médecins, mais aussi pour des lecteurs qui n'ont pas de formation médicale). La teneur de ces rapports doit comprendre :

- Une partie administrative avec une préface juridique et les informations personnelles de la personne décédée.
- Une partie descriptive du lieu du décès et du cadavre : sexe, taille, poids, âge, corpulence, rigidité, lividités, constatations négatives et positives externes.

- L'examen interne, par système anatomique, accompagné d'un commentaire sur chaque organe.
- Une liste de tous les échantillons conservés aux fins toxicologiques, d'histologie et de microbiologie et le résultat de ces examens.
- Une discussion évaluant la signification de l'ensemble des constatations effectuées. Les médecins légistes doivent interpréter l'ensemble de leurs constatations de manière à pouvoir fournir le plus d'informations possibles d'avis possible.
- Des conclusions précisant les circonstances et les causes du décès (selon le système de la Classification internationale des maladies). Lorsque plusieurs causes de décès existent, et que les faits ne permettent pas de trancher, le médecin légiste doit décrire ces causes et, si possible, les classer par ordre de probabilité. Si cela n'était pas possible, il y aurait lieu de certifier que la cause du décès « n'a pas été établie ».

Ces conclusions doivent, quand cela est possible, permettre de classer le décès dans l'une des catégories vues précédemment.

IV.3. Traitement des données médico-légales

Afin d'analyser les données des dossiers pour lesquels au moins un virus a été détecté, celles-ci sont réparties en quatre catégories :

- Caractéristiques démographiques des patients décédés et circonstances médico-légales du décès :
 - âge, sexe, ethnie ;
 - comorbidités et états physiologiques particuliers ;
 - contexte clinique et environnemental du décès : symptômes précédant le décès, position lors de la découverte du corps, manœuvres de réanimation, médicaments administrés...
- Observations lors de l'autopsie :
 - examen externe du cadavre ;

- examen macroscopique des différents organes.
- Examens complémentaires éventuels :
 - étude radiologique ;
 - anatomopathologiques : recherche d'infiltrats lymphocytaires ;
 - toxicologiques ;
 - bactériologiques et virologiques ;
 - hématologiques avec la numération formule sanguine (NFS) ;
 - biochimiques avec la protéine C-réactive (CRP) et la procalcitonine (PCT).
- Discussion et conclusions médico-légales.

L'implication d'un agent viral dans le décès d'un patient est déterminée par le contexte de survenue du décès, par les observations lors de l'autopsie, par les résultats des examens complémentaires (anatomopathologie, toxicologie, bactériologie...), par la pathogénicité du virus, par le site anatomique où la présence du virus a été détectée. Nous avons fait le choix de classer les patients en trois groupes en fonction du degré d'implication du virus dans la survenue du décès : certaine, probable ou nulle.

TROISIÈME PARTIE : RÉSULTATS

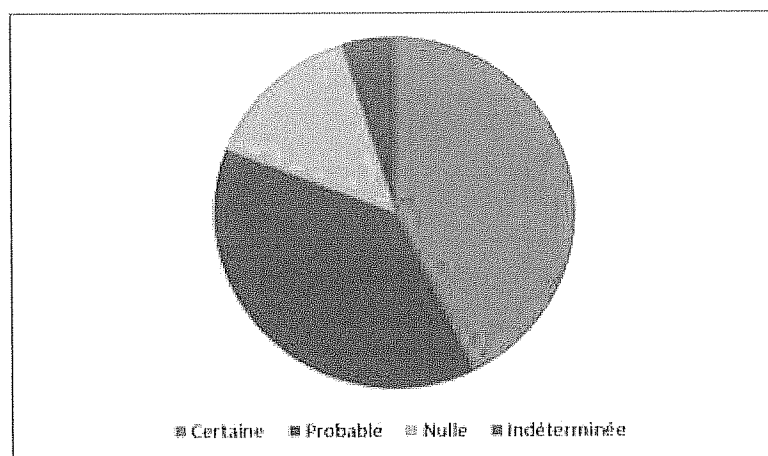
Les dossiers retenus pour cette étude sont ceux pour lesquels au moins un virus a été détecté. 21 dossiers de médecine légale ont pu être ainsi identifiés et les rapports définitifs d'autopsie médico-légale correspondants ont pu être étudiés. Les caractéristiques de ces dossiers de médecine légale sont résumées dans le tableau des résultats (Annexe 4).

I. Implication du virus dans les décès inexplicés de dossiers de médecine légale

Le classement des patients est organisé en quatre groupes en fonction du degré d'implication du virus dans la survenue du décès : certaine, probable, nulle ou indéterminée (Graphique 1). Sur ces 21 dossiers, la mise en cause de l'agent viral est :

- certaine pour neuf patients ;
- probable pour huit patients ;
- nulle pour trois patients.

Il n'a pas été possible de conclure sur l'implication de l'agent viral détecté pour le patient 2 car seul le dossier d'expertise virologique était disponible au moment de l'étude.



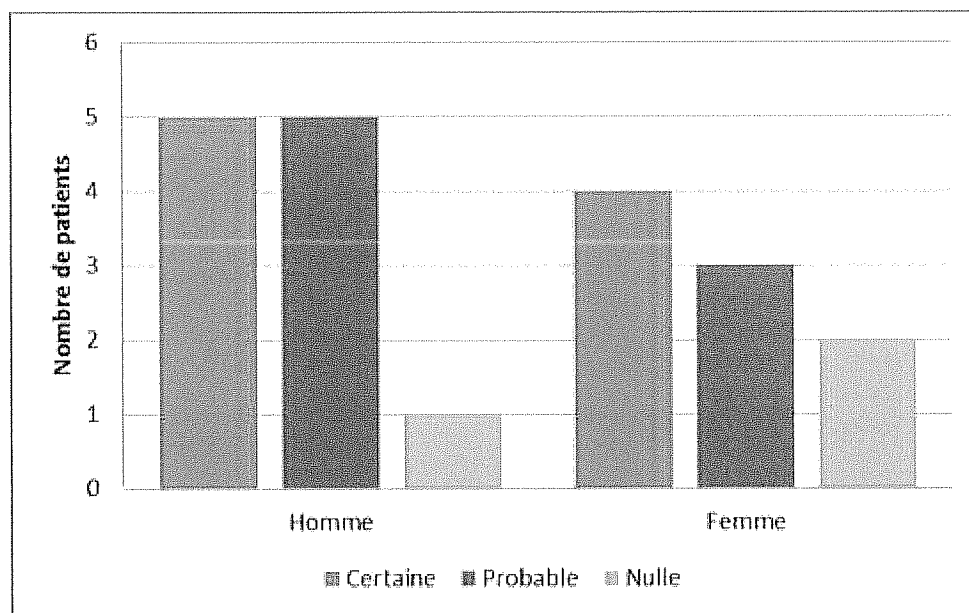
Graphique 1 : Répartition des cas selon l'implication du virus

II. Données cliniques et biologiques

II. 1. Caractéristiques démographiques des patients

II.1.1 Sexe

La répartition selon le sexe est de cinq hommes pour quatre femmes dans le cas d'une implication certaine du virus dans la survenue du décès. Cette répartition est de cinq hommes pour trois femmes dans le cas d'une implication virale probable et d'un homme pour deux femmes dans le cas de non implication du virus (Graphique 2).

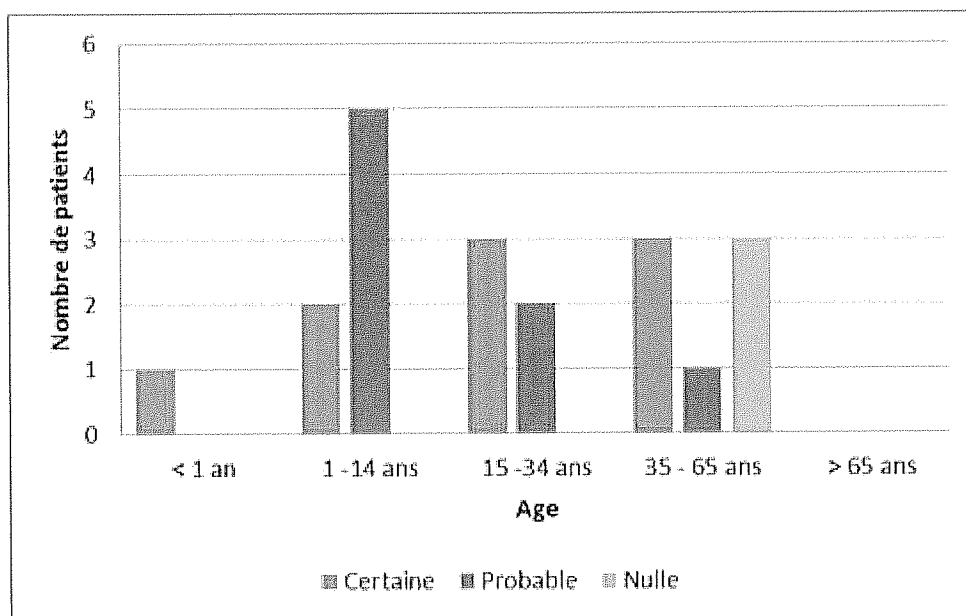


Graphique 2 : Répartition des cas selon l'implication du virus et le sexe du patient

II.1.2. Age

Parmi les 21 dossiers, le décès d'un nourrisson (< 1 an) s'est conclu par une implication certaine du virus. La tranche d'âge correspondant aux enfants (2 – 14 ans) représente deux cas avec une implication virale certaine et cinq cas avec une implication virale probable. Pour les jeunes adultes (15 – 34 ans), on retrouve respectivement trois et deux

patients avec une implication certaine et partielle du virus dans la cause du décès. Concernant les adultes (36- 65 ans), trois cas d'implication virale certaine, un cas d'implication probable et les trois cas d'implication nulle des virus détectés (Graphique 3).



Graphique 3 : Répartition des cas selon l'implication du virus et l'âge du décès

II.1.3 Comorbidités et états physiologiques particuliers

Parmi les 21 sujets, sept cas soit un tiers des patients présentaient des comorbidités au moment de leur décès

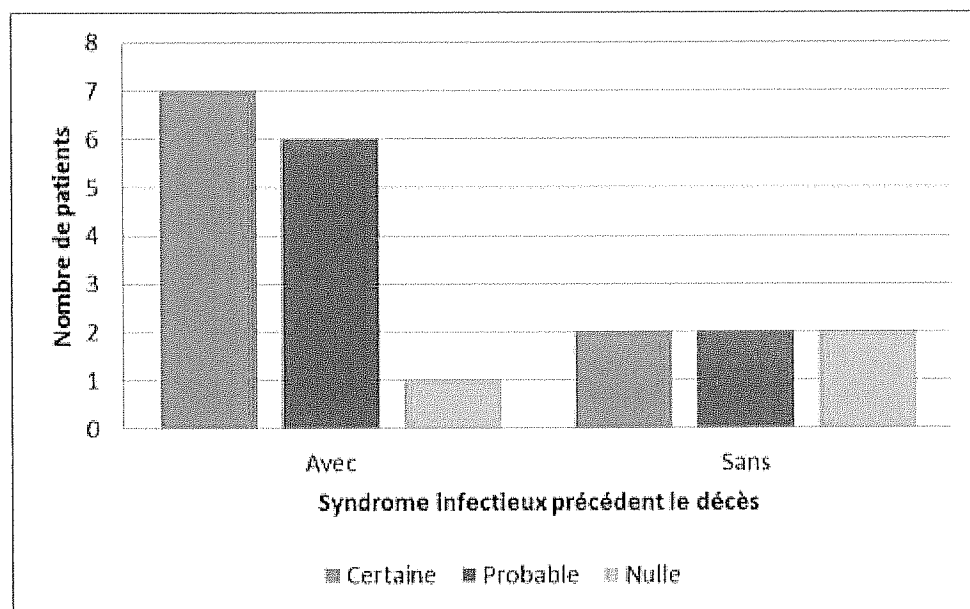
- la patiente 3 était une ancienne toxicomane et souffrait d'une pathologie rénale grave ;
- le patient 5 avait pour comorbidités de l'hypertension artérielle, de l'asthme, une obésité et une allergie aux crustacés et au dextropropoxyphène ;
- le patient 9 présentait une tétraplégie suite à une blessure par balle ;
- la patiente 15 avait pour comorbidités de l'hypertension artérielle, une insuffisance rénale et dans ces antécédents un cancer de l'utérus (14 ans auparavant), une hémorragie cérébrale (trois ans auparavant) et des phlébites ;

- le patient 16 présentait un *situs invertus* ;
- la patiente 17 était connue pour des troubles du comportement alimentaire (anorexique et boulimie) avec antécédents de tentatives de suicide ;
- le patient 20 souffrait d'une hyperplasie congénitale des surrénales.

II.2. Investigations entourant ces décès inattendus

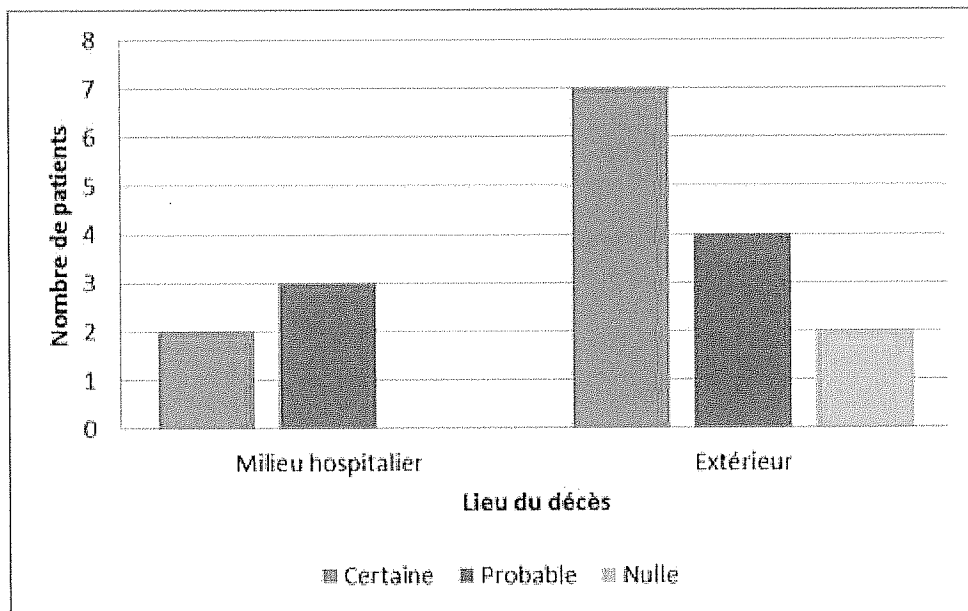
II.2.1. Lieu de décès et éléments cliniques antérieurs au décès

La répartition des cas en fonction de l'existence ou non d'un syndrome infectieux avant le décès montre que sept cas sur neuf lors d'une implication certaine, six cas sur huit pour une implication probable et un cas sur trois pour une non implication ont présenté un syndrome infectieux dans les jours précédents leur décès (Graphique 4). Il s'agit de syndromes pseudo-grippaux dans la majorité des cas, de gastro-entérites, de varicelles et d'un syndrome méningé.



Graphique 4 : Répartition des cas selon l'implication du virus et la présence d'un syndrome infectieux antérieur le décès

En s'intéressant au lieu de décès, on constate que sept décès sur neuf avec implication virale certaine, quatre décès sur sept avec implication virale probable et deux décès sur trois avec implication virale nulle ont eu lieu en dehors d'un milieu hospitalier. Absence de données pour les patients 4 et 13 (Graphique 5).



Graphique 5 : Répartition des cas selon l'implication du virus et le lieu du décès

Parmi les patients décédés en dehors d'une structure médicalisée, trois patients ont consulté un pédiatre la veille de leur décès :

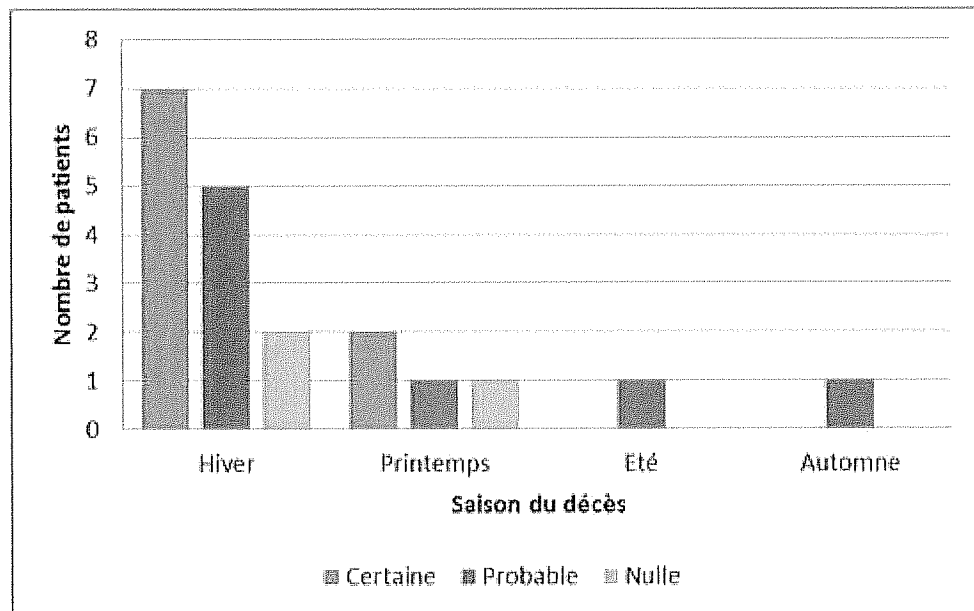
- la patiente 10 pour une bronchite ;
- le patient 14 pour syndrome pseudo-grippal ;
- le patient 20 pour une varicelle associée à des douleurs abdominales

On retrouve également une hospitalisation une semaine avant le décès pour la patiente 18 pour une infection pulmonaire.

De plus deux décès sont survenus sans prodrome :

- le patient 11 a été retrouvé sans vie dans une salle de son lycée après un malaise ;
- le patient 12 décédait subitement lors d'un effort.

En s'intéressant à la saison pendant laquelle a lieu ces décès, on remarque que sept cas d'implication virale certaine et cinq patients avec implication virale probable ont eu lieu au cours de la saison hivernale (Graphique 6).



Graphique 6 : Répartition des cas selon l'implication du virus et la saison de survenue des décès

II.2.2. Constatations autopsiques

Les constatations externes et internes lors des autopsies étudiées sont récapitulées dans l'annexe 4. Il n'a pas été possible de récupérer cinq rapports d'autopsie (patients 1, 2, 4, 12 et 13).

Un œdème pulmonaire important, caractérisant une défaillance cardio-vasculaire, est retrouvé dans six cas d'implication virale certaine, dans deux cas d'implication virale probable et deux cas d'implication virale nulle.

Au niveau pulmonaire, un épanchement pleural est retrouvé pour deux cas d'implication virale certaine, trois cas d'implication virale probable et un cas d'implication virale nulle. La présence de sécrétions importantes dans les voies aériennes supérieures a été

décrite pour quatre cas d'implication virale certaine et un cas d'implication virale probable et aucun cas d'implication virale nulle. Une corrélation entre les constatations autopsiques et l'implication du virus peut être retenue pour les patients 5, 10, 17, 18 et 20.

Au niveau cardiaque, un épanchement péricardique est découvert dans deux cas d'implication virale probable (patients 8 et 14). Pour lesquels, il existe une corrélation entre les constatations autopsiques et l'implication du virus.

Au niveau cérébral, un œdème est retrouvé pour deux cas d'implication virale certaine et trois cas d'implication virale probable. Seul le cas 9 présentait une corrélation entre les observations lors de l'autopsie et l'implication du virus dans le décès.

Au niveau digestif, deux dossiers avec implication virale certaine présentaient une corrélation entre les constatations autopsiques et l'implication du virus (patients 7 et 19)

II.2.3. Résultats anatomopathologiques et toxicologiques

Afin de réaliser des analyses anatomopathologiques et toxicologiques, des prélèvements sont effectués de façon systématique au cours d'une autopsie.

Ces analyses anatomopathologiques ont été contributives pour six dossiers d'implication virale certaine et pour quatre dossiers d'implication virale probable. Il est mis en évidence des lésions inflammatoires broncho-pulmonaires et des voies aériennes supérieures pour les patients 5, 10 et 17 associées à une infection par des virus à tropisme respiratoire.

Il a également été mis en évidence des lésions de myocardite non visibles lors de l'autopsie pour les patients 11 et 21, décédés d'une myocardite à *Parvovirus B19*.

Une association de lésions broncho-pulmonaires et myocardiques a été décrite par l'examen anatomopathologique pour la patiente 8, 14 et 18 sans mise en évidence du virus au niveau cardiaque.

Il a été retrouvé une concordance entre les résultats anatomopathologiques, les observations autopsiques et l'implication de virus à tropisme digestif pour les patients 7 et 19.

Une atteinte multiviscérale aspécifique est observée pour le cas 16 au cours de l'analyse anatomopathologique.

Les examens anatomopathologiques n'ont pas mis en évidence de lésions microscopiques sur les organes pour les patients 12 et 20 malgré l'implication virale dans ces décès.

Concernant les analyses toxicologiques, on retrouve une exposition au cannabis pour la patiente 17, une prise massive de carbamazépine pour la patiente 18 et une exposition à la buprénorphine, au tétrazépam, à l'alcool et au cannabis pour la patiente 21.

II.2.4. Agents pathogènes associés

Dans le cas du patient 9, en plus du HSV de type 1 détecté dans le LCR, on retrouve des hémocultures positive à *Escherichia coli* et *Acinetobacter baumannii*.

Le patient 20 est décédé d'une varicelle maligne avec une pneumopathie varicelleuse associée à une surinfection par *Streptococcus pyogenes*.

III. Données virologiques

III.1. Virus mis en évidence et sites anatomiques infectés

III.1.1. Implication virale certaine

Parmi les neuf cas où une implication certaine du virus a été retenue, cinq patients sont décédés suite à des complications pulmonaires avec une grippe maligne de type A (patient 5), une infection respiratoire à VRS (patiente 15) et une autre à *Rhinovirus* (patiente 17), une infection poly-virale broncho-pulmonaire (patiente 10) avec positivité pour les pools 1 (incluant *Adénovirus*, *Bocavirus* et *Parainfluenza* 1,2,3) et 2 (incluant *Coronavirus*, *Rhinovirus* et *Métapneumovirus*) ainsi qu'une poly-infection pulmonaire associée à une infection digestive à *Entérovirus* (patient 19).

Deux décès étaient en rapport avec des complications cardiaques avec myocardite à *Parvovirus B19* (patients 11 et 21) et un décès survenait avec une nécrose intestinale par HHV-6 (patient 7).

III.1.2. Implication virale probable

Dans les huit cas où une implication virale probable a été retenue, il a été retrouvé une primo-infection au VZV (patient 1), une infection broncho-pulmonaire par le virus de la grippe de type B (patient 4), une virose respiratoire (patient 12) avec positivité pour le pool 2 (incluant *Coronavirus*, *Rhinovirus* et *Métapneumovirus*), deux infections broncho-pulmonaires à *Adénovirus* (patients 8 et 14), une encéphalite à HSV de type 1 (patient 9), une réactivation tissulaire à deux sortes d'*Herpesviridae* : EBV et HHV-6 (patient 16) ainsi qu'une co-infection pulmonaire par l'EBV et le *Métapneumovirus* (patiente 18).

III.1.3. Implication virale nulle

Enfin concernant les trois patients où une implication virale nulle a été retenue, il a été retrouvé deux infections chroniques par le VHC dont un décès traumatique (patient 6) et une défaillance cardiaque avec un caillot retrouvé dans l'oreillette gauche (patiente 3). Une infection pulmonaire à VRS a été mise en évidence dans un dossier où le décès est consécutif à une rupture de la paroi cardiaque (patiente 13).

III.2. Co-infections virales

Parmi les 21 dossiers, les co-infections virales représentent deux cas (patients 10 et 19) où l'implication virale est certaine et deux cas (patients 16 et 18) d'implication virale probable. Il s'agit dans trois cas d'infections respiratoires :

- la patiente 10 est décédée d'une complication suite à une infection broncho-pulmonaire associant une positivité pour les pools 1 (incluant *Adénovirus*, *Bocavirus* et *Parainfluenzae* 1,2,3) et 2 (incluant *Coronavirus*, *Rhinovirus* et *Métapneumovirus*) ;
- la patiente 18 a présenté une infection à EBV associée au *Métapneumovirus* détectés dans les poumons dans un contexte d'intoxication massive à la carbamazépine ;
- le patient 19 pour qui une infection pulmonaire poly-virale à *Bocavirus*, *Coronavirus* et *Entérovirus* est associée à une nécrose intestinale due à *Entérovirus*.

Le patient 16 est décédé dans un contexte de réactivation tissulaire d'EBV et de HHV-6 détectés dans le cœur, les poumons, le foie, la rate, l'intestin grêle et le colon. L'EBV a été détecté seul dans le sang total et le liquide péritonéal.

QUATRIÈME PARTIE : DISCUSSION

A partir des observations faites dans ce travail et en tenant compte des données de la littérature scientifique sur le sujet, il est possible de retenir les points suivants :

I. Commentaires sur les résultats observés

Il semble qu'au moment de la rédaction de ce travail, seule la prise en charge diagnostique des cas de MIN soit bien codifiée, notamment grâce à l'apport des nombreux travaux de recherche sur le sujet et à la création des centres de références régionaux. Ainsi, à côté des facteurs de risque clairement identifiés de MIN (tabagisme maternel, absence d'allaitement, saison hivernale, position en décubitus ventral pour dormir, environnement du couchage et les vaccinations...) [227], il est admis qu'un certain nombre d'agents viraux, majoritairement à tropisme respiratoire, peuvent être à l'origine de décès. Au moment de l'autopsie, peu de renseignements sur ces facteurs de risque sont à la disposition du médecin légiste et donc non renseignés dans les rapports, de ce fait il n'a pas été possible de les vérifier.

La majorité des cas (17 dossiers) de notre étude avec implication virale certaine et probable ont eu lieu pendant l'hiver. Ce qui est comparable aux observations effectuées dans la littérature qui met en évidence une recrudescence hivernale des cas de MIN [49].

De nombreuses études suggèrent que certains cas de MIN sont en lien avec des infections virales surtout respiratoires avec notamment: le virus de la grippe [145], le VRS, [113], le *Rhinovirus* [117], le *Adénovirus*, le CMV [112], le *Rotavirus* [119], l'*Entérovirus* [118] et le virus *Parainflenza*. Blackwell et al. [57] proposent que suite à une infection virale, une réponse immunitaire incontrôlée avec de fortes sécrétions de cytokines peuvent mener à des décès inexplicables.

Actuellement, il est très difficile d'avoir une vue d'ensemble des multiples investigations concernant les différents champs de la recherche sur les SIDS. Par exemple une

recherche sur le serveur PubMed utilisant le terme « SIDS » rend à peu près 10500 publications dont 1300 de 2008 à 2013.

L'utilité de l'analyse microbiologique *post mortem* dans l'étude des morts subites inexplicées est un sujet débattu par de nombreux spécialistes. Les résultats de ces analyses ont pu être attribués par certains rapports à une contamination ou à un développement de la flore normale en *post mortem* mais ceux-ci ne concernent que les investigations bactériologiques [228]. En effet, les virus de par leur nature et leur mode de réplication ne peuvent pas être des contaminants et ne peuvent être considérés comme secondaire à un développement *post mortem*.

Dans les cas de morts inattendues chez les enfants et les nourrissons, les investigations bactériologiques et virologiques sont indispensables. Lorsque l'anatomopathologie met en évidence un syndrome infectieux comme avec la présence d'infiltrats lymphocytaires, ces recherches microbiologiques peuvent en déterminer l'étiologie. Une discussion autour des différents résultats peut être nécessaire pour en permettre une interprétation correcte. Les questions importantes auxquelles il faut répondre sont :

- Le virus détecté est-il le reflet d'un portage asymptomatique ?
- Existe t-il d'autres éléments contextuels ou observationnels compatibles avec une implication virale dans le mécanisme de décès ? (histoire clinique, constatations autopsiques, anatomopathologie)
- Quel est le niveau d'implication du virus dans la survenue du décès ? (cause directe, cause partielle ou aucun lien)

I.1. Implication virale

Dans plus de 24% (21 dossiers) des cas de décès inexplicés ayant fait l'objet d'analyses virologiques entre 2001 et 2013 (87 dossiers), on retrouve des résultats virologiques positifs. Mais après analyse des observations macroscopiques lors de l'autopsie et des résultats anatomopathologiques, la confirmation ou la suggestion de l'implication d'un virus dans la mort a été mise en cause dans 17 cas soit 19,5% des décès inexplicés. Les résultats de Fernandez-Rodriguez et al. retrouvent 14,1% de détection virale avec seulement

deux cas d'implication virale sur 64 cas de SIDS [82]. De plus, dans notre étude, lorsque la détection virale est positive, son implication dans le décès est certaine et probable dans la majorité des cas, soit 17 dossiers sur 21 détections.

I.2. Caractéristiques démographiques des patients

Alors que les MIN sont plus fréquents chez les garçons [33–35], il n'est retrouvé aucune tendance des morts subites dans notre étude en rapport avec le sexe des patients et ceci quel que soit l'âge.

Comme vu précédemment, malgré le fait que les morts subites soient plus fréquentes chez les adultes, l'étiologie virale est plus fréquemment rapportée chez les enfants [18–22]. Il est également admis que les enfants âgés de 2 à 3 mois sont les plus à risque de morts subites or il n'a pas été retrouvé une majorité de patients appartenant à ce groupe. Les patients pour lesquels le décès est imputable de façon certaine aux virus détectés sont répartis de manière homogène du nourrisson à l'adulte. Du côté des décès attribuables de façon probable à une infection virale, la majorité des patients est âgé de 1 à 14 ans. Aucun patient de plus de 65 ans n'est présent parmi les cas où au moins un virus a été détecté, cela peut être expliqué par le fait que la population la plus à risque correspond aux enfants et aux jeunes adultes.

I.3. Comorbidités et états physiologiques particuliers

Parmi les 21 sujets de l'étude, sept cas soit un tiers des patients présentaient des comorbidités au moment de leur décès. Aucun dossier ne présentait d'immunodépression connue pouvant expliquer la gravité des infections dont ils ont été victimes.

I.4. Syndrome infectieux et pris en charge initiale

La plupart des morts subites avec implication virale certaine et probable ont eu lieu en dehors d'une structure médicalisée. Ainsi les prodromes sont faibles dans la majorité des cas, ne nécessitant pas d'hospitalisation de ces derniers dans un premier temps. Certains patients ont consulté leur médecin traitant la veille de leur décès (patients 10, 14 et 20) dont les

pathologies respectives avaient été évaluées comme bénignes (bronchite, syndrome pseudo-grippal et varicelle) puis avec une dégradation rapide de l'état clinique jusqu'au décès.

De plus pour l'ensemble des décès, on retrouve une corrélation entre les signes d'un syndrome infectieux lors des constatations autopsiques, les résultats anatomopathologiques et l'implication des virus dans les causes de la mort. Mais ces constatations macroscopiques lors de l'autopsie et les résultats des analyses anatomopathologiques restent aspécifiques.

Ainsi les tableaux cliniques ne sont pas spécifiques d'une infection virale et il n'est pas possible de prédire le caractère péjoratif et très rapidement évolutif du tableau.

I.5. Résultats des analyses complémentaires

I.5.1. Atteintes respiratoires

Parmi les neuf cas où une implication certaine du virus a été retenue, la majorité des patients sont décédés suite à des complications pulmonaires. Il a été retenu dans les études précédentes que les complications respiratoires sont les causes les plus fréquentes de MIN alors que ce sont les complications cardiaques qui sont les causes prédominantes dans les décès inattendus de l'adulte [18,23]. Alors que le VRS, les *Adénovirus* et le virus de la grippe sont les virus les plus fréquemment impliqués dans la genèse des MIN [110,112,145], seul le VRS et le virus de la grippe ont été retenus avec une implication certaine dans ces décès avec une grippe maligne de type A (patient 5) et une infection respiratoire grave à VRS (patiente 15). Le *Rhinovirus* n'est pas classiquement à l'origine de décès car couramment responsable de pathologies bénignes mais une infection respiratoire à *Rhinovirus* est retrouvée chez la patiente 17 probablement fragilisée par une anorexie et une consommation de cannabis. On retrouve également une infection grave poly-virale broncho-pulmonaire chez la patiente 10 vue en consultation la veille pour une bronchite et une poly-infection pulmonaire associée à une infection digestive à *Entérovirus* (patient 19). La varicelle maligne est une pathologie potentiellement mortelle comme dans le dossier 20.

Concernant les huit dossiers où une implication probable des virus détectés a été retenue, l'incrimination des virus est douteuse car certains éléments essentiels à l'interprétation sont manquants ou non retrouvés. En effet, on retrouve une primo-infection au

VZV chez le patient 1 mais l'accès au rapport complet du médecin légiste n'a pu être réalisé. Il a été également impossible de récupérer les différents éléments et la conclusion définitive pour le patient 4 atteint d'une infection broncho-pulmonaire par le virus de la grippe de type B potentiellement mortelle.

1.5.2. Atteintes cardiaques

Les autres cas d'implication virale certaine sont deux décès en rapport avec des myocardites à *Parvovirus B19* pour le patient 11 dans son lycée sans antécédent et la patiente 21 probablement fragilisée par une exposition à diverses drogues chez lesquels des lésions de myocardite ont été mises en évidence par les examens anatomopathologiques mais non visibles lors de l'autopsie. Le *Parvovirus B19* n'a que récemment été incriminé dans de nombreux cas de myocardites et de péricardites potentiellement mortelles [171–180].

Le principal agent de myocardite infectieuse étant les *Entérovirus* avec en chef de file le virus *Coxsackie B3* [166–169] n'a pas été retrouvé dans cette étude. D'autres virus comme le CMV, l'EBV, les *Adénovirus* et les virus à tropisme respiratoires peuvent également entraîner des lésions cardiaques [149]. Ainsi dans les cas d'implication virale probable avec la patiente 8 et le patient 14, une infection broncho-pulmonaire à *Adénovirus* a été mise en évidence mais les patients sont décédés suite à une défaillance cardiaque. Or les prélèvements cardiaques en étant négatifs n'ont pas apporté la preuve de l'implication des *Adénovirus* dans ces décès bien que les atteintes cardiaques constatées le suggéraient. Il n'a pas non plus été possible de récupérer le dossier complet pour le patient 2 pour qui on retrouve une détection d'EBV dans les prélèvements pulmonaires du CMV dans les prélèvements cardiaques sans pouvoir quantifier leur degré d'implication dans ce décès.

Malheureusement, à cause des limites organisationnelles et économiques des autopsies, aucun patient n'a pu avoir un protocole microbiologique *post mortem* complet. Il est relativement courant que les études microbiologiques *post mortem* soient limitées par les permissions médico-légales et les limitations d'échantillonnage [22]. Comme le patient 12 (21 ans) atteint d'une virose respiratoire et la patiente 18 chez qui une co-infection pulmonaire par un EBV et un *Métapneumovirus* ont été détectés, leur décès est consécutif à une atteinte cardiaque avec signes de myocardite aucun prélèvement cardiaque n'a été effectué à la

recherche de virus. De plus la patiente 18 a présenté une intoxication massive à la carbamazépine, ce qui rend difficile l'interprétation correcte des résultats.

1.5.3. Atteintes digestives

Enfin le patient 7 a présenté un décès suite à une infection de l'estomac et du foie par HHV-6 avec un début de nécrose intestinale. Aucun élément du dossier médico-légal ne montre que le sujet présentait une immunodépression expliquant l'atteinte multiviscérale par HHV-6.

1.5.4. Atteintes multiviscérales

Dans certains cas de notre étude, il y a eu détection de virus sans preuve d'infections bactériennes et/ou virales, ni observation d'un infiltrat inflammatoire. Ces résultats sont en concordance avec les précédents rapports et suggèrent que la détection moléculaire des virus par PCR n'est pas toujours associée avec la présence d'un infiltrat lymphocytaire dans les tissus. Comme les infections virales sont fréquentes chez les enfants, le décès peut être lié à d'autres causes. La détection de virus dans les MIN n'implique pas nécessairement sa mise en cause dans le décès. Le lien entre infection virale et décès doit être mis en évidence par la présence de changements pathologiques sévères [109].

Ainsi le patient 16 où une réactivation tissulaire de deux sortes d'herpès virus : EBV et HHV-6 ont été détectés au niveau du cœur, poumon, foie, rate, intestin grêle et colon. EBV a été détecté seul dans liquide péritonéal et le sang total. Le décès est consécutif à une défaillance multiviscérale terminale due à une nécrose surrénalienne dans un contexte probable d'état de choc. L'implication virale n'a pas pu être mise en cause de façon certaine dans ce dossier. Ces résultats microbiologiques indiquent seulement que l'agent pathogène était présent au moment du décès et que les réactions observées dans les tissus et organes reflètent sa présence. Il n'y a pas de preuve directe que l'agent infectieux ait une responsabilité dans le décès du patient. Néanmoins comme vu dans la littérature, la persistance d'un virus lors d'une infection antérieure comme pour les cas des virus appartenant à la famille des *Herpesviridae* est un facteur prédisposant de décès inattendu [76–81].

1.5.5. Surinfections

Alors que les infections virales peuvent être la cause du décès dans un nombre restreint de cas chez les enfants, celles-ci peuvent augmenter la colonisation bactérienne et entraîner une surinfection en amorçant les réponses inflammatoires aux endotoxines [74,75]. Dans ce travail, seul le patient 20 présentant une varicelle maligne avec pneumopathie et épanchement pleural, qui s'est compliquée d'une infection bactérienne à *Streptococcus aerogenes*, soutient cette théorie. Ce patient âgé de 4 ans appartenait à une population à risque et présentait un terrain de susceptibilité avec une hyperplasie congénitale des surrénales traitée et équilibrée par des corticoïdes de synthèse.

Dans le cas du patient 9, souffrant de paraplégie, l'autopsie retrouve un LCR purulent avec 850 éléments/mm³ (dont 98% de PNN) mais avec des résultats bactériologiques négatifs pour ce LCR et des hémocultures positives à *Escherichia coli* et *Acinetobacter baumannii*. Le laboratoire de virologie met en évidence un HSV de type 1 dans ce LCR. L'encéphalite à HSV de type 1 est comme vu précédemment [183] potentiellement mortelle et il s'agit de la plus fréquente des encéphalites virales en France avec un LCR clair. De plus il s'agit de la seule atteinte neurologique mise en évidence dans notre étude. Suite à la discordance entre la présentation clinique du décès et les résultats de l'analyse virologique, il a été décidé de classer ce cas en implication virale probable et non certaine.

1.5.6. Dossiers avec implication virale nulle

Lors de l'interprétation des résultats, trois dossiers ont suggéré une implication virale nulle dans les décès. En effet, on retrouve un décès par rupture de la paroi du cœur qui ne peut être attribué au VRS détecté dans les prélèvements respiratoires (patiente 13). Un autre décès fait suite à une défaillance cardiovasculaire avec suspicion d'endocardite par la présence d'un caillot au niveau d'une valvule dans l'oreillette gauche (patiente 3) mais seule une infection chronique au VHC a été mise en évidence. Enfin, le dernier décès est traumatique consécutif à de potentiels coups (patient 6).

A part les virus de la grippe, il ne s'agit que de virus pour lesquels il n'existe pas de vaccin. Le seul moyen de prévention applicable était le respect des mesures d'hygiène afin d'éviter le contagio.

II. Commentaires sur les limites de l'étude

Plusieurs éléments ne nous permettent pas de déduire le niveau d'implication des virus dans les morts subites mais seulement une approximation par cette étude rétrospective. Tout d'abord, le recrutement des patients est fait de façon rétrospective par consultation des dossiers d'expertise virologique entre 2001 et 2013 au CHU de Bordeaux. Ainsi l'ensemble des patients décédés subitement pour lesquels aucune analyse virologique n'a été effectuée n'a pas été pris en compte.

Des restrictions administratives n'ont pas permis la consultation de trois rapports d'autopsie parmi ceux sélectionnés pour ce travail. D'autres dossiers étaient incomplets : indisponibilités des observations autopsiques ou non réalisation d'examens complémentaires (hors virologie).

Certaines données ne sont pas présentes dans les dossiers de médecine légale comme l'ethnie du patient, les examens complémentaires d'hématologie et de biochimie dans le cas des patients décédés dans une structure médicalisée. Ces derniers apporteraient des arguments pour interpréter et conclure sur les causes du décès en mettant en évidence un syndrome inflammatoire. De plus comme vu dans la bibliographie, la susceptibilité de décéder subitement est fonction de l'ethnie et de l'environnement du patient [17,50–53,64,65].

L'ensemble de la démarche d'exploration des décès inattendus est ordonné et financé par la justice. Cette investigation a pour but de savoir si le décès réside dans une infraction pénale. Ainsi en cette période de crise économique, la justice est contrainte à engager uniquement les frais nécessaires à la qualification d'une infraction pénale. Les investigations ne sont donc pas approfondies jusqu'à la cause prouvée et dans certains cas ne permettent pas de connaître le degré d'implication des virus.

L'absence de signes prémonitoires spécifiques témoigne de la difficulté de prévenir la mort subite. Un autre inconvénient des études sur l'implication des virus dans les décès inattendus est qu'en absence de signes macroscopiques orientant vers un processus infectieux, il arrive que les seuls échantillons de tissus prélevés lors des autopsies soient fixés dans le formol, ce qui compromet la qualité et l'intégrité des acides nucléiques et rend leur analyse difficile [229].

Au cours de l'étude, nous observons que dans les cas où des lésions cardiaques sont retrouvées, aucun prélèvement cardiaque n'a été adressé au laboratoire de virologie pour analyse (patients 12, 13 et 18), empêchant une interprétation correcte des dossiers.

L'ensemble de ces observations est en faveur d'une sous-estimation des cas d'implication virale dans les décès inattendus au cours de cette étude. Il est tout de même mis en évidence une tendance et une quantité non négligeable d'implication virale dans les morts subites. Ces éléments justifieraient la mise en place d'une étude prospective avec le déblocage d'un financement et l'établissement d'une procédure de prélèvements systématiques à la recherche de virus dans les décès inattendus.

La conclusion qu'un décès est inexpliqué ne peut être valide lorsqu'aucune investigation microbiologique n'a été pratiquée. Devant un tableau de décès non expliqués et surtout chez le nourrisson et le jeune enfant, les causes infectieuses, en particulier virales, doivent être recherchées soigneusement par PCR, les autres techniques pouvant rester négatives.

III. Perspectives

III.1. Techniques diagnostiques :

Certains cas de décès inexplicés avec des résultats microbiologiques négatifs montraient des signes d'infection (observations autopsiques ou résultats anatomopathologiques). Puisque ces signes ne sont pas spécifiques, il y a un intérêt à utiliser des techniques avec une très bonne sensibilité pour détecter les infections virales ou bactériennes qui restent non diagnostiquées jusqu'à maintenant.

Dans le cas des décès inexplicés, les analyses virologiques doivent être effectuées sur divers prélèvements : essentiellement des biopsies, des liquides séreux et du sang total. De plus, sur un même prélèvement, de nombreux virus doivent être recherchés pour l'investigation des décès inattendus.

Actuellement en cours de développement par la société Abbott, l'automate Next-PLEX[®] est un système innovant qui permet la détection d'agents infectieux (bactéries, virus, parasites et champignons) grâce à une technologie basée sur le principe de la PCR multiplex couplée à la spectrométrie de masse moléculaire par électro-ionisation. Son application dans le domaine de la médecine légale présenterait un grand intérêt puisque comme nous l'avons vu, les prélèvements sont variés et la gamme de virus à rechercher est large. Cet équipement particulièrement performant pourrait s'intégrer au PTBM pour une utilisation en routine dans le diagnostic médical.

Ainsi, en se basant sur le tropisme des virus et les comorbidités du patient lors de son décès, le choix des virus à détecter s'opère en fonction des probabilités de leur implication :

- Atteinte SNC : HSV, *Entérovirus (Coxsackie A et B, Echovirus, Poliovirus, Entérovirus 71)*, *Adénovirus*, VZV, CMV, EBV et JC virus.
- Atteinte pulmonaire : Virus de la grippe de type A (H1N1pdm et H3N2) et B, VRS, *Adénovirus*, *Bocavirus*, *Coronavirus*, *Entérovirus*, *Métapneumovirus*, *Parainfluenza*, *Rhinovirus*, HSV, CMV, EBV, VZV et HHV-6.
- Atteinte cardiaque : *Entérovirus (Coxsackie A et B, Echovirus, Poliovirus, Entérovirus 71)*, *Parvovirus B19*, *Adénovirus*, virus de la grippe (dans un contexte d'atteinte pulmonaire), CMV, EBV.

- Atteinte digestive : *Adénovirus*, CMV, *Entérovirus* (*Coxsackie A* et *B*, *Echovirus*, *Poliovirus*, *Entérovirus 71*), *Rotavirus*, *Norovirus*, VHA, VHB et VHC.
- Contexte en général spécifique: VIH, HTLV, VHB et VHC.

III.2. Etude prospective envisagée

Afin d'obtenir un reflet réel de l'implication virale, une étude prospective spécialement conçue, avec un échantillonnage plus important et un panel complet de virus à rechercher par PCR quantitative est nécessaire pour confirmer les résultats de ce travail. Une étude idéale devrait avoir les caractères suivants :

- choix des cas de manière prospective et non sélective ;
- analyse standardisée des circonstances de la mort par un spécialiste expérimenté de médecine légale et/ou un officier de police ;
- autopsie standardisée de tous les cas ;
- procédure standardisée des prélèvements pour analyses microbiologiques (Annexe 5) ;
- information complète de l'histoire clinique et des témoignages ;
- information complète des résultats complémentaires :
 - anatomopathologie ;
 - toxicologie ;
 - hématologie (NFS) ;
 - biochimie (CRP, PCT) ;
 - infectieux : bactériologie et virologie ;
- sélection adéquate de contrôles ;
- critères de diagnostic uniformes ;
- tous les résultats devront être transcrits dans une base de données de l'étude pour un examen approfondi tout au long des résultats épidémiologiques.

En priorité avant le début d'une étude, les investigateurs doivent définir la région, la population à étudier, les critères d'inclusion et d'exclusion pour les cas et les contrôles ainsi que le mode de recrutement des cas.

Un protocole *post mortem* adéquat doit inclure une large gamme d'analyses microbiologiques pour s'assurer que les infections ne sont pas négligées [111,112,144,230,231].

Cette étude prospective serait une base pour un protocole de prélèvements systématiques à la recherche d'une étiologie infectieuse dans les morts subites.

CONCLUSIONS

Les décès dans les cas de morts inattendues sont en général plurifactoriels. Bien que certains facteurs de risque soient clairement identifiés, l'infection virale n'est pas reconnue en tant que tel. Cependant, un certain nombre d'observations suggèrent leur rôle dans les décès inattendus.

Nos résultats sont en faveur d'une implication virale dans les décès inattendus et ce quel que soit l'âge du patient. Il semblerait que l'absence de standardisation des recherches virales explique le nombre exceptionnel de dossiers. Les analyses virologiques devraient être systématiques dans les protocoles de prélèvements *post mortem* dans les cas de morts subites, notamment chez les sujets jeunes.

Afin de favoriser ce type de recherche, il paraît nécessaire de développer une collaboration étroite entre médecins légistes et biologistes afin d'adapter les techniques de prélèvement, les techniques d'analyse et la recherche sur la pathogénicité des virus.

Ces résultats ouvrent de nouvelles perspectives dans le domaine de la recherche et plus spécifiquement de la détection moléculaire des virus en *post mortem*.

BIBLIOGRAPHIE

1. Tunstall-Pedoe H, Kuulasmaa K, Amouyel P, Arveiler D, Rajakangas AM, Pajak A. Myocardial infarction and coronary deaths in the World Health Organization MONICA Project. Registration procedures, event rates, and case-fatality rates in 38 populations from 21 countries in four continents. *Circulation*. 1994 Jul;90(1):583–612.
2. Krous HF, Beckwith JB, Byard RW, Rognum TO, Bajanowski T, Corey T, et al. Sudden infant death syndrome and unclassified sudden infant deaths: a definitional and diagnostic approach. *Pediatrics*. 2004 Jul;114(1):234–8.
3. Gleeson M, Clancy RL, Cox AJ, Gulliver SA, Hall ST, Cooper DM. Mucosal immune responses to infections in infants with acute life threatening events classified as “near-miss” sudden infant death syndrome. *FEMS Immunol Med Microbiol*. 2004 Sep 1;42(1):105–18.
4. Article R1232-1. Code de la santé publique.
5. Brouardel P. La mort et la mort subite / par P. Brouardel,... [Internet]. J.-B. Baillière et fils (Paris); 1893 [cited 2014 May 15]. Available from: <http://gallica.bnf.fr/ark:/12148/bpt6k769668>
6. Morgagni GB. De sedibus et causis morborum per anatomen indagatis libri V. Tomus 1 / ... 9a editio, auctoris vita... illustrata, curantibus F. Chaussier,... et N.-P. Adelon,... [Internet]. M. C. Compère juniorem (Lutetiae); 1820 [cited 2014 May 15]. Available from: <http://gallica.bnf.fr/ark:/12148/bpt6k76466w>
7. Goldstein S. The necessity of a uniform definition of sudden coronary death: witnessed death within 1 hour of the onset of acute symptoms. *Am Heart J*. 1982 Jan;103(1):156–9.
8. De Vreede-Swagemakers JJ, Gorgels AP, Dubois-Arbouw WI, van Ree JW, Daemen MJ, Houben LG, et al. Out-of-hospital cardiac arrest in the 1990's: a population-based study in the Maastricht area on incidence, characteristics and survival. *J Am Coll Cardiol*. 1997 Nov 15;30(6):1500–5.
9. Tan HL, Hofman N, van Langen IM, van der Wal AC, Wilde AAM. Sudden unexplained death: heritability and diagnostic yield of cardiological and genetic examination in surviving relatives. *Circulation*. 2005 Jul 12;112(2):207–13.
10. Morentin B, Aguilera B, Garamendi PM, Suarez-Mier MP. Sudden unexpected non-violent death between 1 and 19 years in north Spain. *Arch Dis Child*. 2000 Jun;82(6):456–61.
11. Morentin B, Suárez-Mier MP, Aguilera B. Sudden unexplained death among persons 1-35 years old. *Forensic Sci Int*. 2003 Aug 27;135(3):213–7.
12. Topaz O, Edwards JE. Pathologic features of sudden death in children, adolescents, and young adults. *Chest*. 1985 Apr;87(4):476–82.
13. Briand-Huchet E. Recommandations de la Haute autorité de santé pour la prise en charge en cas de mort inattendue du nourrisson. *Bull Épidémiologique Hebd*. 2008;3-4:29–32.
14. Briand-Huchet E. Actualités de la mort inattendue du nourrisson en 2011. *Arch Pédiatrie Organe Off Société Fr Pédiatrie*. 2011 Sep;18(9):1028–32.
15. Empana J, Ducimetière P, Jouven X. Facteurs de risque de mort subite de l'adulte en population générale. *MT Cardio*. 2008;4(2):153–62.

16. Aouba A, Péquignot F, Bovet M, Jouglu E. Mort subite du nourrisson□: situation en 2005 et tendances évolutives depuis 1975. *Bull Épidémiologique Hebd.* 2008;3-4:18–21.
17. Blair PS, Fleming PJ, Bensley D, Smith I, Bacon C, Taylor E, et al. Smoking and the sudden infant death syndrome: results from 1993-5 case-control study for confidential inquiry into stillbirths and deaths in infancy. Confidential Enquiry into Stillbirths and Deaths Regional Coordinators and Researchers. *BMJ.* 1996 Jul 27;313(7051):195–8.
18. Arnestad M, Vege A, Rognum TO. Evaluation of diagnostic tools applied in the examination of sudden unexpected deaths in infancy and early childhood. *Forensic Sci Int.* 2002 Feb 18;125(2-3):262–8.
19. Prtak L, Al-Adnani M, Fenton P, Kudesia G, Cohen MC. Contribution of bacteriology and virology in sudden unexpected death in infancy. *Arch Dis Child.* 2010 May;95(5):371–6.
20. Weber MA, Hartley JC, Ashworth MT, Malone M, Sebire NJ. Virological investigations in sudden unexpected deaths in infancy (SUDI). *Forensic Sci Med Pathol.* 2010 Dec;6(4):261–7.
21. Fernández-Rodríguez A, Ballesteros S, de Ory F, Echevarría JE, Alvarez-Lafuente R, Vallejo G, et al. Virological analysis in the diagnosis of sudden children death: a medico-legal approach. *Forensic Sci Int.* 2006 Aug 10;161(1):8–14.
22. Rambaud C, Guibert M, Briand E, Grangeot-Keros L, Coulomb-L'Herminé A, Dehan M. Microbiology in sudden infant death syndrome (SIDS) and other childhood deaths. *FEMS Immunol Med Microbiol.* 1999 Aug 1;25(1-2):59–66.
23. Byard RW. Sudden death – an overview. in: RW Byard, SD Cohle (Eds), *Sudden Death in Infancy, Childhood, and Adolescence*, Cambridge University Press. 1994;1–4.
24. Huikuri HV, Castellanos A, Myerburg RJ. Sudden death due to cardiac arrhythmias. *N Engl J Med.* 2001 Nov 15;345(20):1473–82.
25. Stoupel E, Jottrand M. La mort subite cardiaque. *Rev Médicale Brux.* 2001 Dec;22(6):488–96.
26. Fontaine A, Barraine P, Pavic C, Parent P, Marcorelles P, L'Her E. Le médecin légiste et la mort subite du sujet jeune. *Rev Médecine Légale.* 2013 Mar;4(1):3–7.
27. Straus SMJM, Sturkenboom MCJM, Bleumink GS, Dieleman JP, Lei J van der, Graeff PA de, et al. Non-cardiac QTc-prolonging drugs and the risk of sudden cardiac death. *Eur Heart J.* 2005 Oct 1;26(19):2007–12.
28. De Bruin ML, Langendijk PNJ, Koopmans RP, Wilde AAM, Leufkens HGM, Hoes AW. In-hospital cardiac arrest is associated with use of non-antiarrhythmic QTc-prolonging drugs. *Br J Clin Pharmacol.* 2007 Feb;63(2):216–23.
29. Van Noord C, Dieleman JP, van Herpen G, Verhamme K, Sturkenboom MCJM. Domperidone and ventricular arrhythmia or sudden cardiac death: a population-based case-control study in the Netherlands. *Drug Saf Int J Med Toxicol Drug Exp.* 2010 Nov 1;33(11):1003–14.
30. Johannes CB, Varas-Lorenzo C, McQuay LJ, Midkiff KD, Fife D. Risk of serious ventricular arrhythmia and sudden cardiac death in a cohort of users of domperidone: a nested case-control study. *Pharmacoepidemiol Drug Saf.* 2010 Sep;19(9):881–8.
31. Wedgewood RJ. Review of USA experience. in: FE Camps, RG Carpenter (Eds), *Sudden and Unexpected Death in Infancy (cot death)*, Wright, Bristol. 1975;28.
32. Guilleminault C, Anders TF. The pathophysiology of sleep disorders in pediatrics. Part II. Sleep disorders in children. *Adv Pediatr.* 1976;22:151–74.

33. Hatton F, Bouvier-Colle MH, Barois A, Imbert MC, Leroyer A, Bouvier S, et al. Autopsies of sudden infant death syndrome--classification and epidemiology. *Acta Paediatr Oslo Nor* 1992. 1995 Dec;84(12):1366-71.
34. Sanghavi DM. Epidemiology of sudden infant death syndrome (SIDS) for Kentucky infants born in 1990: maternal, prenatal, and perinatal risk factors. *J Ky Med Assoc*. 1995 Jul;93(7):286-90.
35. Alessandri LM, Read AW, Stanley FJ, Burton PR, Dawes VP. Sudden infant death syndrome in aboriginal and non-aboriginal infants. *J Paediatr Child Health*. 1994 Jun;30(3):234-41.
36. La Via WV, Grant SW, Stutman HR, Marks MI. Clinical profile of pediatric patients hospitalized with respiratory syncytial virus infection. *Clin Pediatr (Phila)*. 1993 Aug;32(8):450-4.
37. Winter GF, Hallam NF, Hargreaves FD, Molyneaux PJ, Burns SM, Inglis JM. Respiratory viruses in a hospitalized paediatric population in Edinburgh 1985-1994. *J Infect*. 1996 Nov;33(3):207-11.
38. Golding J. Breast-feeding and sudden infant death syndrome. In: Report of the Chief Medical Officer's Expert Group on the Sleeping Positions of Infant and Cot Death, HMSO, London. 1993;77-82.
39. Mitchell EA, Taylor BJ, Ford RP, Stewart AW, Becroft DM, Thompson JM, et al. Four modifiable and other major risk factors for cot death: the New Zealand study. *J Paediatr Child Health*. 1992;28 Suppl 1:S3-8.
40. Ford RP, Taylor BJ, Mitchell EA, Enright SA, Stewart AW, Becroft DM, et al. Breastfeeding and the risk of sudden infant death syndrome. *Int J Epidemiol*. 1993 Oct;22(5):885-90.
41. Bauchner H, Leventhal JM, Shapiro ED. Studies of breast-feeding and infections. How good is the evidence? *JAMA J Am Med Assoc*. 1986 Aug 15;256(7):887-92.
42. Victora CG, Smith PG, Vaughan JP, Nobre LC, Lombardi C, Teixeira AM, et al. Evidence for protection by breast-feeding against infant deaths from infectious diseases in Brazil. *Lancet*. 1987 Aug 8;2(8554):319-22.
43. Peterson JA, Patton S, Hamosh M. Glycoproteins of the human milk fat globule in the protection of the breast-fed infant against infections. *Biol Neonate*. 1998;74(2):143-62.
44. Omenaas E, Bakke P, Haukenes G, Hanoa R, Gulsvik A. Respiratory virus antibodies in adults of a Norwegian community: prevalences and risk factors. *Int J Epidemiol*. 1995 Feb;24(1):223-31.
45. Bishop RF. Natural history of human rotavirus infection. *Arch Virol Suppl*. 1996;12:119-28.
46. Noah ND. Cyclical patterns and predictability in infection. *Epidemiol Infect*. 1989 Apr;102(2):175-90.
47. Surveillance of respiratory syncytial virus infection: England and Wales 1988-91. *CDR Lond Engl Wkly*. 1991 Jul 5;1(27):119.
48. Uren EC, Williams AL, Jack I, Rees JW. Association of respiratory virus infections with sudden infant death syndrome. *Med J Aust*. 1980 May 3;1(9):417-9.
49. Raza MW, Blackwell CC. Sudden infant death syndrome, virus infections and cytokines. *FEMS Immunol Med Microbiol*. 1999 Aug 1;25(1-2):85-96.

50. Fleming K. Upper respiratory tract inflammation and detection of viral nucleic acids. *J Clin Pathol Suppl.* 1992;45:17–9.
51. Schluter PJ, Ford RP, Mitchell EA, Taylor BJ. Housing and sudden infant death syndrome. The New Zealand Cot Death Study Group. *N Z Med J.* 1997 Jul 11;110(1047):243–6.
52. Wolkind S, Taylor E, Waite A, Dalton M, Emery J. Recurrence of unexpected infant death. *Acta Pædiatrica.* 1993 Nov 1;82(11):873–6.
53. Davies DP. Cot death in Hong Kong: a rare problem? *Lancet.* 1985 Dec 14;2(8468):1346–9.
54. Bloch J, Denis P et Jezewski-Serra D et le comité de pilotage. Les morts inattendues des nourrissons de moins de 2 ans – Enquête nationale 2007-2009 – Synthèse.
55. Thrane PS, Maehlen J, Stoltenberg L, Brandtzaeg P. Retrograde axonal cytokine transport: a pathway for immunostimulation in the brain inducing hypoxia and sudden infant death? *Med Hypotheses.* 1995 Feb;44(2):81–4.
56. Sayers NM, Drucker DB, Grecnis RK. Cytokines may give insight into mechanisms of death in sudden infant death syndrome. *Med Hypotheses.* 1995 Oct;45(4):369–74.
57. Blackwell CC, Weir DM, Busuttill A, Saadi AT, Essery SD, Raza MW, et al. The role of infectious agents in sudden infant death syndrome. *FEMS Immunol Med Microbiol.* 1994 Aug;9(2):91–100.
58. Blackwell CC, Weir DM, Busuttill A. Infectious agents, the inflammatory responses of infants and sudden infant death syndrome (SIDS). *Mol Med Today.* 1995 May;1(2):72–8.
59. Blackwell CC, Weir DM, Busuttill A. Infectious agents and SIDS: analysis of risk factors and preventive measures. *J SIDS Infant Mortal.* 1997;2:61–76.
60. Howat WJ, Moore IE, Judd M, Roche WR. Pulmonary immunopathology of sudden infant death syndrome. *Lancet.* 1994 Jun 4;343(8910):1390–2.
61. Vege A, Rognum TO. Inflammatory responses in sudden infant death syndrome -- past and present views. *FEMS Immunol Med Microbiol.* 1999 Aug 1;25(1-2):67–78.
62. Forsyth KD. Immune and inflammatory responses in sudden infant death syndrome. *FEMS Immunol Med Microbiol.* 1999 Aug 1;25(1-2):79–83.
63. Howatson AG. Viral infection and alpha interferon in SIDS. *J Clin Pathol.* 1992 Nov;45(11 Suppl):25–8.
64. Hilder AS. Ethnic differences in the sudden infant death syndrome: what we can learn from immigrants to the UK. *Early Hum Dev.* 1994 Sep 15;38(3):143–9.
65. Nelson EAS. Sudden Infant Death Syndrome and Childcare Practices. EAS Nelson, Hong Kong. 1996;25–8.
66. Balarajan R, Soni Raleigh V, Botting B. Sudden infant death syndrome and postneonatal mortality in immigrants in England and Wales. *BMJ.* 1989 Mar 18;298(6675):716–20.
67. Bulterys M. High incidence of sudden infant death syndrome among northern Indians and Alaska natives compared with southwestern Indians: possible role of smoking. *J Community Health.* 1990 Jun;15(3):185–94.
68. Rudwaleit M, Tikly M, Khamashta M, Gibson K, Klinke J, Hughes G, et al. Interethnic differences in the association of tumor necrosis factor promoter polymorphisms with systemic lupus erythematosus. *J Rheumatol.* 1996 Oct;23(10):1725–8.

69. Gallagher G, Eskdale J, Oh HH, Richards SD, Campbell DA, Field M. Polymorphisms in the TNF gene cluster and MHC serotypes in the West of Scotland. *Immunogenetics*. 1997;45(3):188–94.
70. Westendorp RG, Langermans JA, de Bel CE, Meinders AE, Vandenbroucke JP, van Furth R, et al. Release of tumor necrosis factor: an innate host characteristic that may contribute to the outcome of meningococcal disease. *J Infect Dis*. 1995 Apr;171(4):1057–60.
71. Westendorp RG, Langermans JA, Huizinga TW, Elouali AH, Verweij CL, Boomsma DI, et al. Genetic influence on cytokine production and fatal meningococcal disease. *Lancet*. 1997 Jan 18;349(9046):170–3.
72. Summers AM, Summers CW, Drucker DB, Hajeer AH, Barson A, Hutchinson IV. Association of IL-10 genotype with sudden infant death syndrome. *Hum Immunol*. 2000 Dec;61(12):1270–3.
73. Opdal SH, Opstad A, Vege A, Rognum TO. IL-10 gene polymorphisms are associated with infectious cause of sudden infant death. *Hum Immunol*. 2003 Dec;64(12):1183–9.
74. Blackwell CC, Weir DM. The role of infection in sudden infant death syndrome. *FEMS Immunol Med Microbiol*. 1999 Aug 1;25(1-2):1–6.
75. Vege A, Ole Rognum T. Sudden infant death syndrome, infection and inflammatory responses. *FEMS Immunol Med Microbiol*. 2004 Sep 1;42(1):3–10.
76. Casey JL, Coley AM, Street G, Parisi K, Devine PL, Foley M. Peptide mimotopes selected from a random peptide library for diagnosis of Epstein-Barr virus infection. *J Clin Microbiol*. 2006 Mar;44(3):764–71.
77. Mocarski ES Jr. Immune escape and exploitation strategies of cytomegaloviruses: impact on and imitation of the major histocompatibility system. *Cell Microbiol*. 2004 Aug;6(8):707–17.
78. Mocarski ES Jr. Immunomodulation by cytomegaloviruses: manipulative strategies beyond evasion. *Trends Microbiol*. 2002 Jul;10(7):332–9.
79. Molina V, Shoenfeld Y. Infection, vaccines and other environmental triggers of autoimmunity. *Autoimmunity*. 2005 May;38(3):235–45.
80. Poole BD, Scofield RH, Harley JB, James JA. Epstein-Barr virus and molecular mimicry in systemic lupus erythematosus. *Autoimmunity*. 2006 Feb;39(1):63–70.
81. Tejada-Simon MV, Zang YCQ, Hong J, Rivera VM, Zhang JZ. Cross-reactivity with myelin basic protein and human herpesvirus-6 in multiple sclerosis. *Ann Neurol*. 2003 Feb;53(2):189–97.
82. Álvarez-Lafuente R, Aguilera B, Suárez-Mier MP, Morentin B, Vallejo G, Gómez J, et al. Detection of human herpesvirus-6, Epstein-Barr virus and cytomegalovirus in formalin-fixed tissues from sudden infant death: A study with quantitative real-time PCR. *Forensic Sci Int*. 2008 Jul 4;178(2–3):106–11.
83. Grangeot-Keros L, Broyer M, Briand E, Gut JP, Turkoglu S, Chretien P, et al. Enterovirus in sudden unexpected deaths in infants. *Pediatr Infect Dis J*. 1996 Feb;15(2):123–8.
84. Dettmeyer R, Baasner A, Schlamann M, Padosch SA, Haag C, Kandolf R, et al. Role of virus-induced myocardial affections in sudden infant death syndrome: a prospective postmortem study. *Pediatr Res*. 2004 Jun;55(6):947–52.
85. Fleming KA. Viral respiratory infection and SIDS. *J Clin Pathol*. 1992 Nov;45(11 Suppl):29–32.

86. LOI n° 2004-800 du 6 août 2004 relative à la bioéthique. 2004-800 août, 2004.
87. Article L1211-2. Code de la santé publique.
88. Delannoy Y, Becart A, Maurage C-A, Cornez R, Hedouin V, Copin M-C, et al. Pratiquer l'autopsie de toutes les morts subites: un moyen de prévention en santé publique. *Santé Publique*. 2013 Apr;25(2):155–62.
89. Recommandation No. R (99) 3 relative à l'harmonisation des règles en matière d'autopsie médico-légale. *Forensic Sci Int*. 2000 Jul;111(1-3):31–58.
90. Csukás Z, Rozgonyi F, Törö K, Sótonyi P, Jankovics I. Potential role of microbiological agents in sudden infant death syndrome. *Acta Microbiol Immunol Hung*. 1998;45(3-4):341–8.
91. Patrick WJ, Carrington D, Armstrong AA, Gibson AA, Urquhart GE. Eight year study of viral isolates from cot deaths in Glasgow. *Scott Med J*. 1989 Jun;34(3):462–4.
92. Scott DJ, Gardner PS, McQuillin J, Stanton AN, Downham MA. Respiratory viruses and cot death. *Br Med J*. 1978 Jul 1;2(6129):12–3.
93. Werne J, Garrow I. Sudden Apparently Unexplained Death During Infancy. *Am J Pathol*. 1953 Oct;29(5):817–31.
94. Berry PJ. Pathological findings in SIDS. *J Clin Pathol*. 1992 Nov;45(11 Suppl):11–6.
95. Czegledy-Nagy EN, Cutz E, Becker LE. Sudden death in infants under one year of age. *Pediatr Pathol Affil Int Paediatr Pathol Assoc*. 1993 Oct;13(5):671–84.
96. Williams JV, Harris PA, Tollefson SJ, Halburnt-Rush LL, Pingsterhaus JM, Edwards KM, et al. Human metapneumovirus and lower respiratory tract disease in otherwise healthy infants and children. *N Engl J Med*. 2004 Jan 29;350(5):443–50.
97. Xepapadaki P, Psarras S, Bossios A, Tsolia M, Gourgiotis D, Liapi-Adamidou G, et al. Human Metapneumovirus as a causative agent of acute bronchiolitis in infants. *J Clin Virol Off Publ Pan Am Soc Clin Virol*. 2004 Jul;30(3):267–70.
98. Jartti T, Lehtinen P, Vuorinen T, Osterback R, van den Hoogen B, Osterhaus ADME, et al. Respiratory picornaviruses and respiratory syncytial virus as causative agents of acute expiratory wheezing in children. *Emerg Infect Dis*. 2004 Jun;10(6):1095–101.
99. Julious SA. There is still seasonality in sudden infant death syndrome in England and Wales. *J Epidemiol Community Health*. 1997 Feb;51(1):101–2.
100. Williams SM, Taylor BJ, Mitchell EA. Sudden infant death syndrome: insulation from bedding and clothing and its effect modifiers. The National Cot Death Study Group. *Int J Epidemiol*. 1996 Apr;25(2):366–75.
101. Møller LF. [Smoking and sudden infant death]. *Ugeskr Laeger*. 1994 Nov 28;156(48):7197–9.
102. Ponsonby AL, Dwyer T, Kasl SV, Cochrane JA. The Tasmanian SIDS Case-Control Study: univariable and multivariable risk factor analysis. *Paediatr Perinat Epidemiol*. 1995 Jul;9(3):256–72.
103. Haglund B, Cnattingius S, Otterblad-Olausson P. Sudden infant death syndrome in Sweden, 1983-1990: season at death, age at death, and maternal smoking. *Am J Epidemiol*. 1995 Sep 15;142(6):619–24.
104. Schellscheidt J, Ott A, Jorch G. Epidemiological features of sudden infant death after a German intervention campaign in 1992. *Eur J Pediatr*. 1997 Aug;156(8):655–60.
105. Brooke H, Gibson A, Tappin D, Brown H. Case-control study of sudden infant death syndrome in Scotland, 1992-5. *BMJ*. 1997 May 24;314(7093):1516–20.

106. Lucas JR, Haas EA, Masoumi H, Krous HF. Sudden death in a toddler with laryngotracheitis caused by human parainfluenza virus-1. *Pediatr Dev Pathol Off J Soc Pediatr Pathol Paediatr Pathol Soc.* 2009 Apr;12(2):165–8.
107. Krous HF, Chadwick AE, Miller DC, Crandall L, Kinney HC. Sudden death in toddlers with viral meningitis, massive cerebral edema, and neurogenic pulmonary edema and hemorrhage: report of two cases. *Pediatr Dev Pathol Off J Soc Pediatr Pathol Paediatr Pathol Soc.* 2007 Dec;10(6):463–9.
108. Greeley CS. Sudden death from human parainfluenza virus 2. *J Infect.* 2005 May;50(4):366.
109. Samuels M. Viruses and sudden infant death. *Paediatr Respir Rev.* 2003 Sep;4(3):178–83.
110. Bajanowski T, Rolf B, Jorch G, Brinkmann B. Detection of RNA viruses in sudden infant death (SID). *Int J Legal Med.* 2003 Aug;117(4):237–40.
111. Siani V, Netter JC, Gorguet B, Carles D, Pellegrin de Villeneuve M. Mise en évidence du virus respiratoire syncytial par méthode immuno-histochimique. *Ann Pathol.* 1999 Apr;19(2):99–102.
112. Bajanowski T, Wiegand P, Cecchi R, Pring-Akerblom P, Adrian T, Jorch G, et al. Detection and significance of adenoviruses in cases of sudden infant death. *Virchows Arch Int J Pathol.* 1996 May;428(2):113–8.
113. An SF, Gould S, Keeling JW, Fleming KA. Role of respiratory viral infection in SIDS: detection of viral nucleic acid by in situ hybridization. *J Pathol.* 1993 Dec;171(4):271–8.
114. Ford RP, McCormick HE, Jennings LC. Cot deaths in Canterbury (NZ): lack of association with respiratory virus patterns. *Aust N Z J Med.* 1990 Dec;20(6):798–801.
115. Williams AL, Uren EC, Bretherton L. Respiratory viruses and sudden infant death. *Br Med J Clin Res Ed.* 1984 May 19;288(6429):1491–3.
116. Cubie HA, Duncan LA, Marshall LA, Smith NM. Detection of respiratory syncytial virus nucleic acid in archival postmortem tissue from infants. *Pediatr Pathol Lab Med J Soc Pediatr Pathol Affil Int Paediatr Pathol Assoc.* 1997 Dec;17(6):927–38.
117. Las Heras J, Swanson VL. Sudden death of an infant with rhinovirus infection complicating bronchial asthma: case report. *Pediatr Pathol Affil Int Paediatr Pathol Assoc.* 1983 Sep;1(3):319–23.
118. Shimizu C, Rambaud C, Cheron G, Rouzioux C, Lozinski GM, Rao A, et al. Molecular identification of viruses in sudden infant death associated with myocarditis and pericarditis. *Pediatr Infect Dis J.* 1995 Jul;14(7):584–8.
119. Bettiol SS, Radcliff FJ, Hunt AL, Goldsmid JM. Bacterial flora of Tasmanian SIDS infants with special reference to pathogenic strains of *Escherichia coli*. *Epidemiol Infect.* 1994 Apr;112(2):275–84.
120. Blackwell CC, Weir DM, Busuttil A. A microbiological perspective. Byard RW Krous HF Eds *Sudd Infant Death Syndr Probl Prog Possibilities Lond Arnold.* 2001;182–208.
121. Balduzzi PC, Greendyke RM. Sudden unexpected death in infancy and viral infection. *Pediatrics.* 1966 Aug;38(2):201–6.
122. Ray CG, Beckwith JB, Hebestreit NM, Bergham AB. Studies of the sudden infant death syndrome in King County, Washington. I. The role of viruses. *JAMA J Am Med Assoc.* 1970 Jan 26;211(4):619–23.

123. Gilbert R, Rudd P, Berry PJ, Fleming PJ, Hall E, White DG, et al. Combined effect of infection and heavy wrapping on the risk of sudden unexpected infant death. *Arch Dis Child*. 1992 Feb;67(2):171–7.
124. Lindgren C. Respiratory syncytial virus and the sudden infant death syndrome. *Acta Paediatr Oslo Nor* 1992 Suppl. 1993 Jun;82 Suppl 389:67–9.
125. Southall DP. Role of apnea in the sudden infant death syndrome: a personal view. *Pediatrics*. 1988 Jan;81(1):73–84.
126. Telford DR, Morris JA, Hughes P, Conway AR, Lee S, Barson AJ, et al. The nasopharyngeal bacterial flora in the sudden infant death syndrome. *J Infect*. 1989 Mar;18(2):125–30.
127. Hall CB. Respiratory syncytial virus. GL Mand RG Douglas JE Bennett Eds *Princ Pract Infect Dis Third Ed Churchill Livingstone N Y*. 1990;1265–79.
128. Baum SG. Adenovirus. GL Mand RG Douglas JE Bennett Eds *Princ Pract Infect Dis Third Ed Churchill Livingstone N Y*. 1990;1185–91.
129. Hall CB. Acute laryngotracheobronchitis (croup). GL Mand RG Douglas JE Bennett Eds *Princ Pract Infect Dis Third Ed Churchill Livingstone N Y*. 1990;499–505.
130. Hall CB. Respiratory syncytial virus and parainfluenza virus. *N Engl J Med*. 2001 Jun 21;344(25):1917–28.
131. McHardy AC, Adams B. The role of genomics in tracking the evolution of influenza A virus. *PLoS Pathog*. 2009 Oct;5(10):e1000566.
132. Cox NJ, Subbarao K. Influenza. *Lancet*. 1999 Oct 9;354(9186):1277–82.
133. Gatherer D. The 2009 H1N1 influenza outbreak in its historical context. *J Clin Virol Off Publ Pan Am Soc Clin Virol*. 2009 Jul;45(3):174–8.
134. Hsieh Y-C, Wu T-Z, Liu D-P, Shao P-L, Chang L-Y, Lu C-Y, et al. Influenza pandemics: past, present and future. *J Formos Med Assoc Taiwan Yi Zhi*. 2006 Jan;105(1):1–6.
135. Rothberg MB, Haessler SD, Brown RB. Complications of viral influenza. *Am J Med*. 2008 Apr;121(4):258–64.
136. Oliveira EC, Marik PE, Colice G. Influenza pneumonia: a descriptive study. *Chest*. 2001 Jun;119(6):1717–23.
137. Peiris JSM, de Jong MD, Guan Y. Avian influenza virus (H5N1): a threat to human health. *Clin Microbiol Rev*. 2007 Apr;20(2):243–67.
138. Hageman JC, Uyeki TM, Francis JS, Jernigan DB, Wheeler JG, Bridges CB, et al. Severe community-acquired pneumonia due to *Staphylococcus aureus*, 2003-04 influenza season. *Emerg Infect Dis*. 2006 Jun;12(6):894–9.
139. Lewis M, Kallenbach J, Ruff P, Zaltzman M, Abramowitz J, Zwi S. Invasive pulmonary aspergillosis complicating influenza A pneumonia in a previously healthy patient. *Chest*. 1985 May;87(5):691–3.
140. Miyashita N, Matsushima T. Chlamydia pneumoniae infection during an influenza virus A epidemic: preliminary report. *J Med Microbiol*. 2000 Apr;49(4):391–2.
141. Gerber GJ, Farmer WC, Fulkerson LL. Beta-hemolytic streptococcal pneumonia following influenza. *JAMA J Am Med Assoc*. 1978 Jul 21;240(3):242–3.
142. Murata Y, Walsh EE, Falsey AR. Pulmonary complications of interpandemic influenza A in hospitalized adults. *J Infect Dis*. 2007 Apr 1;195(7):1029–37.

143. McCullers JA. Insights into the interaction between influenza virus and pneumococcus. *Clin Microbiol Rev.* 2006 Jul;19(3):571–82.
144. Marcorelles P, Freymuth F, Rambaud C, Gardach C, Legrand-Quillien MC, Lagarde N. Décès brutal et infection à virus Influenza A chez un enfant de deux ans : étude d'un cas autopsique. *Arch Pédiatrie.* 2002 Jan;9(1):41–4.
145. Nelson KE, Greenberg MA, Mufson MA, Moses VK. The sudden infant death syndrome and epidemic viral disease. *Am J Epidemiol.* 1975 May;101(5):423–30.
146. Drescher J, Zink P, Verhagen W, Flik J, Milbradt H. Recent influenza virus A infections in forensic cases of sudden unexplained death. *Arch Virol.* 1987;92(1-2):63–76.
147. Zink P, Drescher J, Verhagen W, Flik J, Milbradt H. Serological evidence of recent influenza virus A (H 3 N 2) infections in forensic cases of the sudden infant death syndrome (SIDS). *Arch Virol.* 1987;93(3-4):223–32.
148. Zink P. [Pathologico-anatomic findings in sudden, unexpected death in children and adults with influenza A infection]. *Z Für Rechtsmed J Leg Med.* 1986;97(3):165–84.
149. Dettmeyer R, Sperhake JP, Müller J, Madea B. Cytomegalovirus-induced pneumonia and myocarditis in three cases of suspected sudden infant death syndrome (SIDS): diagnosis by immunohistochemical techniques and molecularpathologic methods. *Forensic Sci Int.* 2008;174:229–33.
150. Yolken R, Murphy M. Sudden infant death syndrome associated with rotavirus infection. *J Med Virol.* 1982;10(4):291–6.
151. Cecchi R, Bajanowski T, Kahl B, Wiegand P. CMV-DNA detection in parenchymatous organs in cases of SIDS. *Int J Legal Med.* 1995;107(6):291–5.
152. Püschel K, Hashimoto Y, Löning T, Lignitz E. [Cytomegalic inclusion disease of the salivary glands in sudden infant death syndrome]. *Z Für Rechtsmed J Leg Med.* 1988;99(4):281–9.
153. Asano Y, Yoshikawa T, Urisu A, Yazaki T, Mizoguchi Y, Kurata T. Varicella-zoster virus replication site in internal organs of an otherwise healthy child with varicella and sudden death. *Acta Paediatr Jpn Overseas Ed.* 1993 Aug;35(4):348–51.
154. Desmons A, Terrade C, Boulagnon C, Giusti D, Nguyen Y, Andreoletti L, et al. Post-mortem diagnosis, of cytomegalovirus and varicella zoster virus co-infection by combined histology and tissue molecular biology, in a sudden unexplained infant death. *J Clin Virol Off Publ Pan Am Soc Clin Virol.* 2013 Oct;58(2):486–9.
155. Vainionpää R, Hyypiä T. Biology of parainfluenza viruses. *Clin Microbiol Rev.* 1994 Apr;7(2):265–75.
156. Reed G, Jewett PH, Thompson J, Tollefson S, Wright PF. Epidemiology and clinical impact of parainfluenza virus infections in otherwise healthy infants and young children < 5 years old. *J Infect Dis.* 1997 Apr;175(4):807–13.
157. Blauwet LA, Cooper LT. Myocarditis. *Prog Cardiovasc Dis.* 2010 Feb;52(4):274–88.
158. Bowles NE, Ni J, Kearney DL, Pauschinger M, Schultheiss H-P, McCarthy R, et al. Detection of viruses in myocardial tissues by polymerase chain reaction. evidence of adenovirus as a common cause of myocarditis in children and adults. *J Am Coll Cardiol.* 2003 Aug 6;42(3):466–72.
159. Feldman AM, McNamara D. Myocarditis. *N Engl J Med.* 2000 Nov 9;343(19):1388–98.

160. Morentin B, Suárez-Mier MP, Aguilera B, Bodegas A. [Myocardial disease mortality in children and young adults. A population-based observational study]. *Rev Esp Cardiol*. 2006 Mar;59(3):238–46.
161. Richman PB, Nashed AH. The etiology of cardiac arrest in children and young adults: special considerations for ED management. *Am J Emerg Med*. 1999 May;17(3):264–70.
162. Pauschinger M, Bowles NE, Fuentes-Garcia FJ, Pham V, Kühl U, Schwimmbeck PL, et al. Detection of adenoviral genome in the myocardium of adult patients with idiopathic left ventricular dysfunction. *Circulation*. 1999 Mar 16;99(10):1348–54.
163. Baboonian C, Treasure T. Meta-analysis of the association of enteroviruses with human heart disease. *Heart Br Card Soc*. 1997 Dec;78(6):539–43.
164. Calabrese F, Rigo E, Milanese O, Boffa GM, Angelini A, Valente M, et al. Molecular diagnosis of myocarditis and dilated cardiomyopathy in children: clinicopathologic features and prognostic implications. *Diagn Mol Pathol Am J Surg Pathol Part B*. 2002 Dec;11(4):212–21.
165. Frustaci A, Chimenti C, Calabrese F, Pieroni M, Thiene G, Maseri A. Immunosuppressive therapy for active lymphocytic myocarditis: virological and immunologic profile of responders versus nonresponders. *Circulation*. 2003 Feb 18;107(6):857–63.
166. Dettmeyer R, Baasner A, Schlamann M, Haag C, Madea B. Coxsackie B3 myocarditis in 4 cases of suspected sudden infant death syndrome: diagnosis by immunohistochemical and molecular-pathologic investigations. *Pathol Res Pract*. 2002;198(10):689–96.
167. Esfandiarei M, Suarez A, Amaral A, Si X, Rahmani M, Dedhar S, et al. Novel role for integrin-linked kinase in modulation of coxsackievirus B3 replication and virus-induced cardiomyocyte injury. *Circ Res*. 2006 Aug 18;99(4):354–61.
168. Ahn J, Joo CH, Seo I, Kim D, Kim YK, Lee H. All CVB serotypes and clinical isolates induce irreversible cytopathic effects in primary cardiomyocytes. *J Med Virol*. 2005 Feb;75(2):290–4.
169. Treacy A, Carr MJ, Dunford L, Palacios G, Cannon GA, O'Grady A, et al. First report of sudden death due to myocarditis caused by adenovirus serotype 3. *J Clin Microbiol*. 2010 Feb;48(2):642–5.
170. Gaaloul I, Riabi S, Harrath R, Evans M, Huber S, Aouni M. Coxsackie B3 myocarditis in a case of sudden unexpected death in young athlete: Histopathological, immunohistochemical and molecularpathological for diagnosis. *Forensic Sci Int*. 2011 May 20;208(1–3):e10–e14.
171. Bowles NE, Vallejo J. Viral causes of cardiac inflammation. *Curr Opin Cardiol*. 2003 May;18(3):182–8.
172. Bültmann BD, Klingel K, Sotlar K, Bock CT, Baba HA, Sauter M, et al. Fatal parvovirus B19-associated myocarditis clinically mimicking ischemic heart disease: an endothelial cell-mediated disease. *Hum Pathol*. 2003 Jan;34(1):92–5.
173. Dettmeyer R, Kandolf R, Baasner A, Banaschak S, Eis-Hübinger AM, Madea B. Fatal parvovirus B19 myocarditis in an 8-year-old boy. *J Forensic Sci*. 2003 Jan;48(1):183–6.
174. Klingel K, Sauter M, Bock CT, Szalay G, Schnorr J-J, Kandolf R. Molecular pathology of inflammatory cardiomyopathy. *Med Microbiol Immunol (Berl)*. 2004 May;193(2-3):101–7.
175. Munro K, Croxson MC, Thomas S, Wilson NJ. Three cases of myocarditis in childhood associated with human parvovirus (B19 virus). *Pediatr Cardiol*. 2003 Oct;24(5):473–5.

176. Murry CE, Jerome KR, Reichenbach DD. Fatal parvovirus myocarditis in a 5-year-old girl. *Hum Pathol.* 2001 Mar;32(3):342–5.
177. Saint-Martin J, Choulot JJ, Bonnaud E, Morinet F. Myocarditis caused by parvovirus. *J Pediatr.* 1990 Jun;116(6):1007–8.
178. Rohayem J, Dinger J, Fischer R, Klingel K, Kandolf R, Rethwilm A. Fatal myocarditis associated with acute parvovirus B19 and human herpesvirus 6 coinfection. *J Clin Microbiol.* 2001 Dec;39(12):4585–7.
179. Baasner A, Dettmeyer R, Graebe M, Rissland J, Madea B. PCR-based diagnosis of enterovirus and parvovirus B19 in paraffin-embedded heart tissue of children with suspected sudden infant death syndrome. *Lab Invest J Tech Methods Pathol.* 2003 Oct;83(10):1451–5.
180. Zack F, Klingel K, Kandolf R, Wegener R. Sudden cardiac death in a 5-year-old girl associated with parvovirus B19 infection. *Forensic Sci Int.* 2005 Dec 1;155(1):13–7.
181. Aretz HT. Myocarditis: the Dallas criteria. *Hum Pathol.* 1987 Jun;18(6):619–24.
182. Papadogiannakis N, Tolfvenstam T, Fischler B, Norbeck O, Broliden K. Active, fulminant, lethal myocarditis associated with parvovirus B19 infection in an infant. *Clin Infect Dis Off Publ Infect Dis Soc Am.* 2002 Nov 1;35(9):1027–31.
183. Mailles A, Stahl J-P, Steering Committee and Investigators Group. Infectious encephalitis in France in 2007: a national prospective study. *Clin Infect Dis Off Publ Infect Dis Soc Am.* 2009 Dec 15;49(12):1838–47.
184. Valette M, Aymard M. Variabilité de la symptomatologie de la grippe. *Arch Pédiatrie.* 2000 Jun;7, Supplément 3:S479–S482.
185. Brouard J, Ribet V, Petitjean J, Freymuth F, Duhamel JF. Infection à virus Influenza A chez l'enfant. *Arch Fr Pédiatrie.* 1992 Oct;49(8):693–7.
186. Hayase Y, Tobita K. Influenza virus and neurological diseases. *Psychiatry Clin Neurosci.* 1997 Aug;51(4):181–4.
187. Takahashi M, Yamada T, Nakashita Y, Saikusa H, Deguchi M, Kida H, et al. Influenza virus-induced encephalopathy: clinicopathologic study of an autopsied case. *Pediatr Int Off J Jpn Pediatr Soc.* 2000 Apr;42(2):204–14.
188. Hayase Y, Tobita K. Probable post-influenza cerebellitis. *Intern Med Tokyo Jpn.* 1997 Oct;36(10):747–9.
189. Fujimoto S, Kobayashi M, Uemura O, Iwasa M, Ando T, Katoh T, et al. PCR on cerebrospinal fluid to show influenza-associated acute encephalopathy or encephalitis. *Lancet.* 1998 Sep 12;352(9131):873–5.
190. Smith NM, Telfer SM, Byard RW. A comparison of the incidence of cytomegalovirus inclusion bodies in submandibular and tracheobronchial glands in SIDS and non-SIDS autopsies. *Pediatr Pathol Affil Int Paediatr Pathol Assoc.* 1992 Apr;12(2):185–90.
191. Caserta MT, Hall CB, Schnabel K, McIntyre K, Long C, Costanzo M, et al. Neuroinvasion and persistence of human herpesvirus 6 in children. *J Infect Dis.* 1994 Dec;170(6):1586–9.
192. DeBiasi RL, Kleinschmidt-DeMasters BK, Weinberg A, Tyler KL. Use of PCR for the diagnosis of herpesvirus infections of the central nervous system. *J Clin Virol Off Publ Pan Am Soc Clin Virol.* 2002 Jul;25 Suppl 1:S5–11.
193. Pruksananonda P, Hall CB, Insel RA, McIntyre K, Pellett PE, Long CE, et al. Primary human herpesvirus 6 infection in young children. *N Engl J Med.* 1992 May 28;326(22):1445–50.


194. Hall CB. Herpes and the rash of roses: a new virus, HHV-6, as a cause of an old childhood disease, roseola. *Pediatr Ann.* 1990 Sep;19(9):517–21.
195. Yamanishi K, Okuno T, Shiraki K, Takahashi M, Kondo T, Asano Y, et al. Identification of human herpesvirus-6 as a causal agent for exanthem subitum. *Lancet.* 1988 May 14;1(8594):1065–7.
196. Hoang MP, Ross KF, Dawson DB, Scheuermann RH, Rogers BB. Human herpesvirus-6 and sudden death in infancy: report of a case and review of the literature. *J Forensic Sci.* 1999 Mar;44(2):432–7.
197. Prezioso PJ, Cangiarella J, Lee M, Nuovo GJ, Borkowsky W, Orlow SJ, et al. Fatal disseminated infection with human herpesvirus-6. *J Pediatr.* 1992 Jun;120(6):921–3.
198. Goldwater PN. Sudden infant death syndrome: a critical review of approaches to research. *Arch Dis Child.* 2003 Dec;88(12):1095–100.
199. Blood-Siegfried J, Nyska A, Geisenhoffer K, Lieder H, Moomaw C, Cobb K, et al. Alteration in regulation of inflammatory response to influenza a virus and endotoxin in suckling rat pups: a potential relationship to sudden infant death syndrome. *FEMS Immunol Med Microbiol.* 2004 Sep 1;42(1):85–93.
200. Bernuau J, Rueff B, Benhamou JP. Fulminant and subfulminant liver failure: definitions and causes. *Semin Liver Dis.* 1986 May;6(2):97–106.
201. Pappas SC. Fulminant viral hepatitis. *Gastroenterol Clin North Am.* 1995 Mar;24(1):161–73.
202. Govindarajan S, Chin KP, Redeker AG, Peters RL. Fulminant B viral hepatitis: role of delta agent. *Gastroenterology.* 1984 Jun;86(6):1417–20.
203. Mertens T, Köck J, Hampl W, Schlicht HJ, Tillmann HL, Oldhafer KJ, et al. Reactivated fulminant hepatitis B virus replication after bone marrow transplantation: clinical course and possible treatment with ganciclovir. *J Hepatol.* 1996 Dec;25(6):968–71.
204. Vento S, Cainelli F, Mirandola F, Cosco L, Di Perri G, Solbiati M, et al. Fulminant hepatitis on withdrawal of chemotherapy in carriers of hepatitis C virus. *Lancet.* 1996 Jan 13;347(8994):92–3.
205. Wu JC, Lee SD, Yeh PF, Chan CY, Wang YJ, Huang YS, et al. Isoniazid-rifampin-induced hepatitis in hepatitis B carriers. *Gastroenterology.* 1990 Feb;98(2):502–4.
206. Farci P, Alter HJ, Shimoda A, Govindarajan S, Cheung LC, Melpolder JC, et al. Hepatitis C virus-associated fulminant hepatic failure. *N Engl J Med.* 1996 Aug 29;335(9):631–4.
207. Villamil FG, Hu KQ, Yu CH, Lee CH, Rojter SE, Podesta LG, et al. Detection of hepatitis C virus with RNA polymerase chain reaction in fulminant hepatic failure. *Hepatol Baltim Md.* 1995 Nov;22(5):1379–86.
208. Papatheodoridis GV, Delladetsima JK, Kavallierou L, Kapranos N, Tassopoulos NC. Fulminant hepatitis due to Epstein-Barr virus infection. *J Hepatol.* 1995 Sep;23(3):348–50.
209. Shanley CJ, Braun DK, Brown K, Turcotte JG, Greenson JK, Beals TF, et al. Fulminant hepatic failure secondary to herpes simplex virus hepatitis. Successful outcome after orthotopic liver transplantation. *Transplantation.* 1995 Jan 15;59(1):145–9.
210. Bernuau J, Benhamou JP. Insuffisance hépatique fulminante et subfulminante. Benhamou JP Bircher J McIntyre N Rizzetto M Rodès J Eds *Traité Eur Hépatologie Clin Paris Flammarion.* 1993;923–42.

211. Stock PG, Barin B, Murphy B, Hanto D, Diego JM, Light J, et al. Outcomes of kidney transplantation in HIV-infected recipients. *N Engl J Med*. 2010 Nov 18;363(21):2004–14.
212. Plisek S, Pliskova L, Bostik V, Prasil P, Laco J, Chlibek R, et al. Fulminant hepatitis and death associated with disseminated varicella in an immunocompromised adult from the Czech Republic caused by a wild-type clade 4 varicella-zoster virus strain. *J Clin Virol Off Publ Pan Am Soc Clin Virol*. 2011 Jan;50(1):72–5.
213. Hyvernats H, Roger P-M, Pereira C, Saint-Paul MC, Vandebos F, Bernardin G. Fatal varicella hepatitis in an asthmatic adult after short-term corticosteroid treatment. *Eur J Intern Med*. 2005 Sep;16(5):361–2.
214. Kashiwagi Y, Kawashima H, Kanetaka Y, Ioi H, Takekuma K, Hoshika A, et al. Sudden infant death syndrome due to parainfluenza virus 2 associated with hemophagocytic syndrome. *J Infect*. 2004 Nov;49(4):329–32.
215. Chen RL, Su IJ, Lin KH, Lee SH, Lin DT, Chuu WM, et al. Fulminant childhood hemophagocytic syndrome mimicking histiocytic medullary reticulosis. An atypical form of Epstein-Barr virus infection. *Am J Clin Pathol*. 1991 Aug;96(2):171–6.
216. Streiff RH. Severe neutropenia and infectious mononucleosis: brief report. *J Miss State Med Assoc*. 1984 Nov;25(11):295–7.
217. Vennemann MMT, Höffgen M, Bajanowski T, Hense H-W, Mitchell EA. Do immunisations reduce the risk for SIDS? A meta-analysis. *Vaccine*. 2007 Jun 21;25(26):4875–9.
218. Cahier de formation pour les référents utilisateurs de l'automate Beckman Coulter UniCel® DxI 800. 2009 p. 1–10.
219. Puel J, Mansuy J-M. Evaluation de l'automate Vidas®. *Ann Biol Clin (Paris)*. 2001 Oct 24;59(5):52–3.
220. Principe de fonctionnement du Liaison XL de Diasorin [Internet]. DiaSorin. [cited 2014 May 17]. Available from: <http://www.diasorin.com/en/products-solutions/systems/cliastystems/liaison-xl>
221. Strick LB, Wald A. Diagnostics for herpes simplex virus: is PCR the new gold standard? *Mol Diagn Ther*. 2006;10(1):17–28.
222. Principe des systèmes MagNA Pure de Roche [Internet]. [cited 2014 May 17]. Available from: <http://www.roche.com/products/product-details.htm>
223. Huraux J-M, Nicolas J-C, Agut H, Peigue-Lafeuille H. *Traité de virologie médicale*. Paris: Editions Estem; 2003. 699 p.
224. Institut Louis Malardé. PCR en temps réel [Internet]. 2013. Available from: <http://www.ilm.pf/PCRtempsreel>
225. Tse C, Capeau J. Quantification des acides nucléiques par PCR quantitative en temps réel. *Ann Biol Clin (Paris)*. 2003 May 1;61(3):279–93.
226. Technologies Seegene pour PCR multiplex [Internet]. Available from: <http://www.seegene.com/>
227. HAS. *Prise en charge en cas de mort inattendue du nourrisson (moins de 2 ans)*. 2007.
228. Bajanowski T, Vege A, Byard RW, Krous HF, Arnestad M, Bachs L, et al. Sudden infant death syndrome (SIDS)--standardised investigations and classification: recommendations. *Forensic Sci Int*. 2007 Jan 17;165(2-3):129–43.

229. Stanta G, Mucelli SP, Petrera F, Bonin S, Bussolati G. A novel fixative improves opportunities of nucleic acids and proteomic analysis in human archive's tissues. *Diagn Mol Pathol Am J Surg Pathol Part B*. 2006 Jun;15(2):115–23.
230. Traisman ES, Young S, Lifschultz BD, Traisman HS, Benuck I, Chasnoff I. Sudden death in a neonate as a result of herpes simplex infection. *J Forensic Sci*. 1988 Jan;33(1):267–71.
231. Dettmeyer R, Kandolf R, Schmidt P, Schlamann M, Madea B. Lympho-monocytic enteroviral myocarditis: traditional, immunohistological and molecularpathological methods for diagnosis in a case of suspected sudden infant death syndrome (SIDS). *Forensic Sci Int*. 2001 Jun 1;119(1):141–4.

ANNEXES

Annexe 1 : IN-LAB 047 Répertoire des analyses de virologie - CHU Bordeaux

	Entité d'application : PTBM		IN-LAB 047
	Emetteur : PBP-PI-Virologie		Ind : 1 Page : 1/5
INSTRUCTION			
Répertoire des analyses de virologie			

Sérologie	Virus	Technique	Paramètres recherchés	Interprétation index
CHIKUNGUNYA	Mac Elisa maison (méthode CNR)	anticorps IgM Chikungunya	Négatif<2,5/Douteux2,5-3/Positif>3	
CHIKUNGUNYA	Mac Elisa maison (méthode CNR)	anticorps IgG Chikungunya	Négatif<2,5/Douteux2,5-3/Positif>3	
CYTOMEGALOVIRUS	Chimiluminescence BECKMAN COULTER	anticorps IgM anti CMV	Négatif<0,8/Limite 0,8-1/Positif>1	
CYTOMEGALOVIRUS	Chimiluminescence BECKMAN COULTER	anticorps IgG anti CMV	Négatif<11UA/ml/Limite 11-15UA/ml/Positif>15UA/ml	
DENGUE	Mac Elisa maison (méthode CNR)	anticorps IgM Dengue	Négatif<2,5/Douteux2,5-3/Positif>3	
DENGUE	Mac Elisa maison (méthode CNR)	anticorps IgG Dengue	Négatif<2,5/Douteux2,5-3/Positif>3	
EPSTEIN-BARR VIRUS	Elisa DiaSorin	anticorps IgM VCA	Négatif<20U/ml/Limite 20-40U/ml/Positif>40U/ml	
EPSTEIN-BARR VIRUS	Elisa DiaSorin	anticorps IgG VCA	Négatif<20U/ml/Positif>20U/ml	
EPSTEIN-BARR VIRUS	Elisa DiaSorin	anticorps IgG EBNA	Négatif<5U/ml/Limite 5-20U/ml/Positif>20U/ml	
EPSTEIN-BARR VIRUS	Elisa BIOMERIEUX,VIDAS EBV EBNA IgG	anticorps IgG EBNA	Négatifs≤0,09/Limite 0,1-0,2/Positif>0,21	
EPSTEIN-BARR VIRUS	Elisa BIOMERIEUX,VIDAS EBV VCA/EA IgG	anticorps IgG VCA et EA	Négatifs≤0,09/Limite 0,1-0,2/Positif>0,21	
HANTAVIRUS	test rapide sur bandelette Panbio	anticorps IgM anti Puumala		

Date d'application : 26/10/2012

TABLEAU D'APPROBATION				
	POUR LE GROUPE D'ELABORATION	VALIDATION (fonction qualité)	AVIS EXPERT (facultatif)	APPROBATION (responsable d'activité)
Nom :	Pascalie Trimoulet	Valérie Frangne	Marie-Edith Lafon	Hervé Fleury
Fonction :	PH	CAQ	PAQ/PU-PH	PU PH chef de service
Date :				
Signature :				



Entité d'application : PTBM
Emetteur : PBP-P1-Virologie

IN-LAB 047

Ind : 1
Page : 2/5

INSIRUCTION

Répertoire des analyses de virologie

HEPATITE A (VHA)	Chimiluminescence BECKMAN COULTER, HAV Ab	anticorps anti-VHA totaux	Négatif<35mU/ml/Limite 35-40mU/ml/Positif>40mU/ml
HEPATITE A (VHA)	Chimiluminescence BECKMAN COULTER, HAV IgM	anticorps anti VHA IgM	Négatif<1/Positif>1
HEPATITE B (VHB)	Chimiluminescence BECKMAN COULTER, HBSag	antigène HBs	Négatif<0,9/Limite 0,9-1/Positif>1
HEPATITE B (VHB)	Chimiluminescence BECKMAN COULTER, HBSac	anticorps anti-HBs	<10 mU/ml=négatif / >10 mU/ml=positif(titre protecteur)
HEPATITE B (VHB)	Chimiluminescence BECKMAN COULTER, HBcT	anticorps anti-HBc	Négatif<0,9/Limite 0,9-1/Positif>1
HEPATITE B (VHB)	Elisa DiaSorin, HBeAg	antigène HBe	Négatif<0,09PEI U/ml/Limite 0,09-0,11PEI U/ml/Positif>0,11PEI U/ml
HEPATITE B (VHB)	Elisa DiaSorin, Anti-HBe	anticorps anti HBe	Négatif>1,1/Limite 0,9-1,1/Positif<0,9
HEPATITE B (VHB)	Chimiluminescence BECKMAN COULTER, HBc IgM	anticorps anti-HBc IgM	Négatif<0,8/Limite 0,8-1/Positif>1
HEPATITE C (VHC) : 2*TECHNIQUE	Elisa Diasorin Anti-HCV LIAISON® XL	anticorps anti VHC	négatif<1 / positif >1
HEPATITE C (VHC) :1*TECHNIQUE	Chimiluminescence BECKMAN COULTER, HCV Ab PLUS	anticorps anti VHC	Négatif<0,9/Limite 0,9-1/Positif>1
HEPATITE D (VHD)	Eti AB Delta K2 total, Elisa Diasorin	anticorps IgM anti-VHD	Positif <valeur seuil>0,9, Négatif>valeur seuil1,1
HEPATITE D (VHD)	Eti Delta IgM K2, Elisa Diasorin	anticorps totaux anti-VHD	Négatif <valeur seuil>0,9, Positif>valeur seuil1,1
HEPATITE E (VHE)	EIAgen HEV IgM kit , Adaldis	anticorps IgM anti VHE	Négatif<1/Douteux1-1,2/Positif>1,2
HEPATITE E (VHE)	EIAgen HEV IgG kit , Adaldis	anticorps IgG anti VHE	Négatif<0,9/Douteux0,9-1,1/Positif>1,1
HERPES SIMPLEX(HSV1 et 2)	Elisa DiaSorin	anticorps IgM anti HSV	Négatif<0,9/Limite 0,9-1,1/Positif>1,1
HERPES SIMPLEX(HSV1 et 2)	Elisa DiaSorin	anticorps IgG anti HSV	Négatif<0,9/Limite 0,9-1,1/Positif>1,1
HTLV I/III	Elisa Diasorin techHTLV-I/III LIAISON® XL	anticorps HTLV	négatif<1 / positif >1
MNI test	Technique d'agglutination au latex	anticorps hétérophiles associés à la Mononucléose Infectieuse	



Entité d'application : PIBM
Emetteur : PBP-P1-Virologie

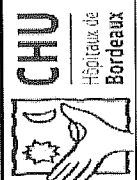
IN-LAB 047

Ind : 1
Page : 3/5

INSTRUCTION

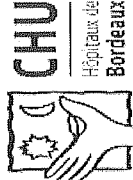
Répertoire des analyses de virologie

OREILLONS	Elisa Diasorin	anticorps IgM anti virus des oreillons	Négatif<0,9/Limite 0,9-1,1/Positif>1,1
OREILLONS	Elisa Diasorin	anticorps IgG anti virus des oreillons	Négatif<9 UA/Douteux 9-11/Positif>11 UA
PARVOVIRUS B19	Elisa Diasorin	anticorps IgM anti Parvovirus	Négatif<0,9/Limite 0,9-1,1/Positif>1,1
PARVOVIRUS B19	Elisa Diasorin	anticorps IgG anti Parvovirus	Négatif<0,9/Limite 0,9-1,1/Positif>1,1
ROUGEOLE	Elisa Diasorin	anticorps IgM anti virus de la rougeole	Négatif<0,9/Limite 0,9-1,1/Positif>1,1
ROUGEOLE	Elisa Diasorin	anticorps IgG anti virus de la rougeole	Négatif<013,5 UA/Limite 13,5-16,5 UA/Positif>16,5 UA
RUBEOLE	Chimiluminescence BECKMAN COULTER	anticorps IgG anti Rubéole	Négatif<10UI/ml/Limite 10-15UI/ml/Positif>15UI/ml
RUBEOLE	Chimiluminescence BECKMAN COULTER	anticorps IgM anti Rubéole	Négatif<10UA/ml/Limite 10-15UA/ml/Positif>15UA/ml
VARICELLE	Elisa DiaSorin	anticorps IgM anti virus Varicelle Zona	Négatif<1/Positif>1
VARICELLE	Elisa DiaSorin	anticorps IgG anti virus Varicelle Zona	Négatif<150mUI/ml/Positif>150mUI/ml
VIH	Elisa BIOMERIEUX, VIDASHIV P24 II	antigène P24 VIH1	Négatif<3 pg/ml/Equivoque 3-5pg/ml/Positif>5 pg/ml
VIH	Chimiluminescence BECKMAN COULTER, HIV COMBO	anticorps anti VIH 1+2 /Ag p24	Négatif<1/Positif>1
VIH TEST RAPIDE	FUMOUZE, IMMUNOFLOW HIV1-HIV2	anticorps anti VIH 1+2	

	Entité d'application : PTBM	IN-LAB 047
	Emetteur : PBP-P1-Virologie	Ind : 1 Page : 4/5
INSTRUCTION		
Répertoire des analyses de virologie		

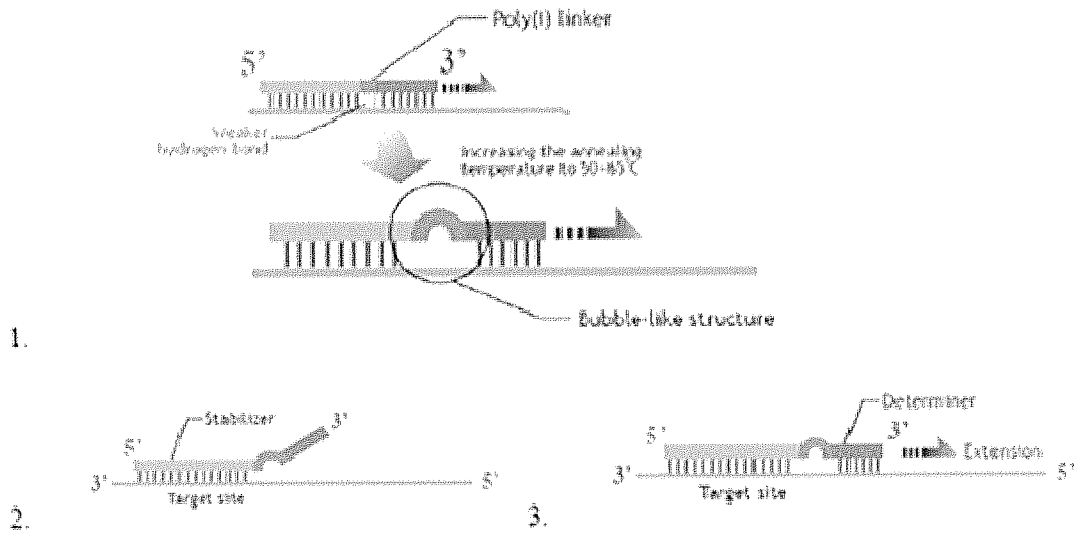
Biologie Moléculaire

ADENOVIRUS	technique de PCR en temps réel TibMolBiol	ADN Adenovirus, PCR quantitative	Seuil de détection : 500 copies/mL, seuil de quantification : 1000 copies/mL
BKV/JCV	technique de PCR en temps réel TibMolBiol	ADN BKV et JCV, PCR qualitative	Seuil de détection : 500 copies/mL, seuil de quantification : 1000 copies/mL
CHIKUNGUNYA	technique de PCR en temps réel maison (méthode CNR)	ARN Chikungunya, PCR qualitative	Seuil de détection : 500 copies/mL, seuil de quantification : 1000 copies/mL
CMV	technique de PCR en temps réel TibMolBiol	ADN CMV, PCR quantitative	Seuil de détection : 500 copies/mL, seuil de quantification : 1000 copies/mL
DENGUE UNIVERSELLE	technique de PCR en temps réel maison (méthode CNR)	ARN des virus de la Dengue, PCR qualitative	Seuil de détection : 500 copies/mL, seuil de quantification : 1000 copies/mL
EBV	technique de PCR en temps réel TibMolBiol	ADN EBV, PCR quantitative	Seuil de détection : 500 copies/mL, seuil de quantification : 1000 copies/mL
ENTEROVIRUS	technique de PCR en temps réel Orgentec	ARN entérovirus, PCR qualitative	Seuil de détection : 500 copies/mL, seuil de quantification : 1000 copies/mL
HHV6	technique de PCR en temps réel TibMolBiol	ADN HHV6, PCR quantitative	Seuil de détection : 500 copies/mL, seuil de quantification : 1000 copies/mL
HHV8	technique de PCR en temps réel TibMolBiol	ADN HHV8, PCR qualitative	Seuil de détection : 500 copies/mL, seuil de quantification : 1000 copies/mL
HSV/VZV	technique de PCR en temps réel TibMolBiol	ADN HSV et VZV, PCR qualitative	Seuil de détection : 500 copies/mL, seuil de quantification : 1000 copies/mL
HTLV	technique de PCR en temps réel maison	ARN HTLV, PCR qualitative	Seuil de détection : 500 copies/mL
INFLUENZAVIRUS	technique de PCR en temps réel Roche	ARN des virus influenza A, PCR qualitative	Seuil de détection : 500 copies/mL, seuil de quantification : 1000 copies/mL
OREILLONS	technique de PCR en temps réel maison (méthode CNR)	ARN ourlien, PCR qualitative	Seuil de détection : 500 copies/mL
PARVOVIRUS B19	technique de PCR en temps réel TibMolBiol	ADN B19, PCR qualitative	Seuil de détection : 500 copies/mL, seuil de quantification : 1000 copies/mL
ROUGEOLE	technique de PCR en temps réel maison (méthode CNR)	ARN rougeoleux, PCR qualitative	Seuil de détection : 500 copies/mL
VHE	technique de PCR temps réel CEERAMTools	ARN du virus Hépatite E(VHE) dans le plasma	
VIH - 1 : CHARGE VIRALE	RealTime Abbott	ARN VIH dans plasma	Seuil de détection=40 copies/ml
VIRUS DE L'HEPATITE B	RealTime Abbott	ADN VHB dans sérum ou plasma	Seuil de détection=10 UI/ml

	Entité d'application : PTBM	IN-LAB 047
	Emetteur : PBP-P1-Virologie	Ind : 1 Page : 5/5
INSTRUCTION		
Répertoire des analyses de virologie		

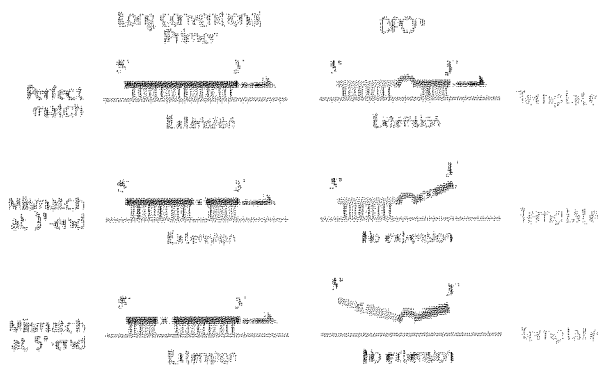
(VHB) : CHARGE VIRALE:DETECTION QUANTITATIVE	RealTime Abbott	ARN VHC dans sérum ou plasma	Seuil de détection=12 UI/ml
VIRUS DE L'HEPATITE C (VHC) : CHARGE VIRALE:DETECTION QUANTITATIVE	Diarmea Ace. Seegene	ARN/ADN Norovirus, Rotavirus, AdV, Astrovirus	
VIRUS ENTERIQUES PAR PCR MULTIPLEX	Anyplex II RV16 Real-time, Seegene	ARN/ADN Influenza, VRS, HMPV, AdV, Coronavirus, enterovirus, Bocavirus	
WEST NILE	technique de PCR en temps réel maison (méthode CNR)	ARN WNV, PCR qualitative	Seuil de détection : 1000 copies/mL
HBV séquençage	technique de séquençage Sanger maison	ADN HBV	
HCV séquençage	technique de séquençage Sanger maison	ARN HCV	
HIV séquençage	technique de séquençage Sanger maison	ARN ou ADN HIV	
PAPILLOMAVIRUS	technique de génotypage Innogenetics	ADN HPV, PCR qualitative et hybridation moléculaire	

Annexe 2 : Mode d'action des amorces DPO™



(1) Activation du linker poly(I); (2) 1ère étape de fixation de l'amorce ; (3) 2ème étape de fixation de l'amorce.

D'après <http://www.seegene.com>

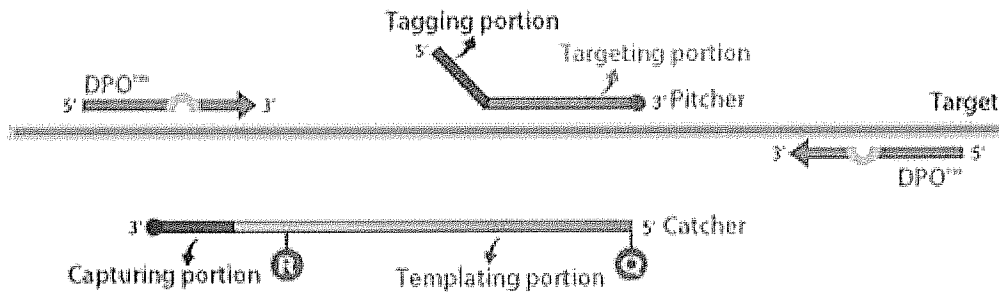


Comparaison amorces conventionnelles et DPO™

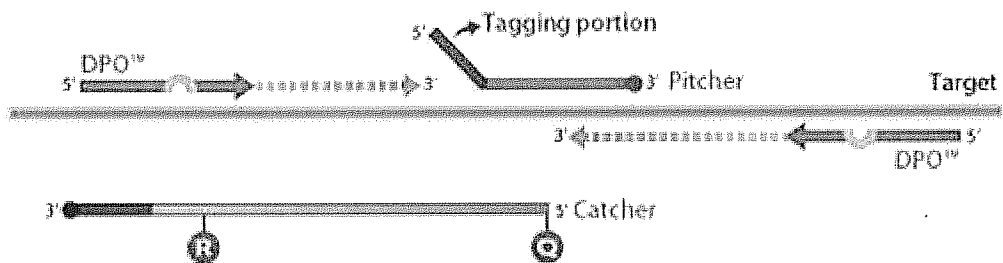
D'après <http://www.seegene.com>

Annexe 3 : Principe de la technologie TOCE™

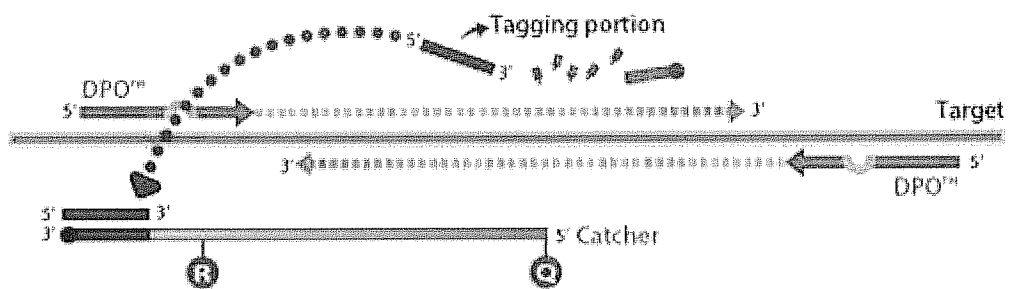
1. Hybridation des DPO et du Pitcher



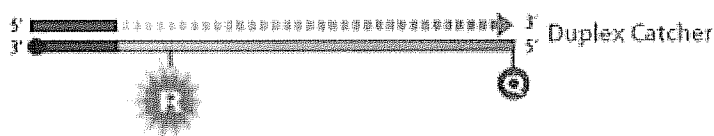
2. Extension des DPO



3. Hydrolyse et hybridation de la Tagging portion



4. Extension de la Tagging portion et émission de la fluorescence



Annexe 4 : Tableau résumant les caractéristiques des cas inclus dans l'étude

Cas	Antécédents, comorbidités	Contexte infectieux Saison	Constatations autopsiques	Examens complémentaires	Causes du décès Niveau d'implication de l'agent viral
Patient 1 9 ans	Malaise et hospitalisation en pédiatrie Varicelle	Oui Printemps		<u>Virologie :</u> VZV dans ganglions Sérologie VZV : IgM+ et IgG-	Conclusion inconnue Implication probable
Patient 2 55 ans	Suspicion d'intoxication à l'alprazolam	Non Printemps		<u>Virologie :</u> EBV dans prélèvements pulmonaires CMV dans prélèvements cardiaques	
Patiente 3 48 ans	Ancienne toxicomane Pathologie rénale grave avec hospitalisation 8 jours avant décès	Non Hiver	Œdème des membres inférieurs Œdème aigu pulmonaire Caillot adhérent au niveau de la valvule dans l'oreillette gauche	<u>Virologie :</u> VHC (génotype 3a) dans sang total	Œdème aigu du poumon suite à défaillance cardiaque avec caillot dans l'oreillette gauche Implication nulle
Patiente 4 4 ans	Infection ORL	Oui Hiver	Œdème pulmonaire	<u>Virologie :</u> Virus de la grippe de type B dans prélèvements pulmonaires	Conclusion inconnue Implication probable

Légende : Masculin : bleu
Féminin : rouge

Cas	Antécédents, comorbidités	Contexte infectieux Saison	Constataions autopsiques	Examens complémentaires	Causes du décès Niveau d'implication de l'agent viral
<p>Patient 5 47 ans</p>	<p>Opération la veille d'un abcès de la marge anale Asthme HTA Obésité Allergie au Diantalvic et aux crustacés</p>	<p>Non Hiver</p>	<p>Cyanose de la tête et du cou Œdème et congestion pulmonaire</p>	<p><u>Anatomopathologie:</u> Poumons : œdème important avec inondation alvéolaire et une congestion majeure des vaisseaux Bronches remplies d'un mucus abondant avec des cellules inflammatoires (lymphocytes, histiocytes et quelques PNE) <u>Virologie :</u> Sérologie virale très élevée pour le virus de la grippe de type A</p>	<p>Syndrome asphyxique par œdème pulmonaire consécutif à une grippe A maligne Implication certaine</p>
<p>Patient 6 45 ans</p>	<p>Découvert allongé sur la voie publique</p>	<p>Non Printemps</p>	<p>Lésions ecchymotiques sur l'ensemble du corps, de nature traumatique récente Fractures costales Œdème cérébral Œdème pulmonaire avec épanchement pleural important. Signes d'insuffisance hépatocellulaire</p>	<p><u>Anatomopathologie :</u> Poumons œdémateux et congestifs Foie cirrhotique avec une origine post hépatite Signes d'hypertension portale Pancréatite chronique <u>Toxicologie :</u> Alcoolémie de 0,73 g/L associée à une prise thérapeutique de paracétamol et d'oxazépan <u>Virologie :</u> VHC (génotype 1a) dans sang total</p>	<p>Défaillance cardiorespiratoire consécutive à un trouble du rythme et une dépression respiratoire Implication nulle</p>

Légende : Masculin : bleu
Féminin : rouge

Cas	Antécédents, comorbidités	Contexte infectieux Saison	Constatations autopsiques	Examens complémentaires	Causes du décès Niveau d'implication de l'agent viral
Patient 7 31 ans	Souffrant d'une gastro-entérite sévère depuis plusieurs jours	Oui Hiver	Maigre Estomac et intestin gonflés contenant gaz et liquide marron/verdâtre avec muqueuse hyperhémifiée d'aspect inflammatoire Trachée et bronches remplies de liquide gastrique	<u>Anatomopathologie</u> : Atteinte hémorragique gastrique et intestinale avec signes de gastrite chronique <u>Virologie</u> : HHV-6 détecté dans les biopsies d'estomac et de foie	Défaillance cardiocirculatoire par troubles métaboliques dans un contexte d'infection gastro-intestinale sévère à HHV-6 avec nécrose intestinale Implication certaine
Patiente 8 7 ans	Décès brutal avec syndrome pseudo-grippal	Oui Hiver	Important épanchement péricardique séreux Myocarde présentant de nombreuses pétéchies, retrouvées également au niveau endocardique	<u>Anatomopathologie</u> : Lésions inflammatoires trachéo-bronchiques et péricardiques <u>Virologie</u> : <i>Adénovirus</i> détecté dans la biopsie pulmonaire Prélèvement cardiaque négatif	Défaillance cardiaque par mécanisme de tamponnade évoquant une péricardite et/ou myocardite virale Implication probable
Patient 9 32 ans	Tétraplégie Syndrome méningé	Oui Hiver	Aspect purulent des méninges Œdème pulmonaire majeur avec aspect de pneumopathie infectieuse et épanchement pleural Saignement en nappe dans l'abdomen	<u>Bactériologie</u> : LCR purulent avec 850 éléments/mm ³ (dont 98% de PNN), examen direct et culture négatifs Hémoculture positive (<i>Escherichia coli</i> + <i>Acinetobacter baumannii</i>) <u>Virologie</u> : HSV de type 1 positif dans le LCR	Décès en relation avec un syndrome infectieux majeur, tant cérébral que thoracique Implication probable

Légende : Masculin : bleu
Féminin : rouge

Cas	Antécédents, comorbidités	Contexte infectieux Saison	Constatations autopsiques	Examens complémentaires	Causes du décès Niveau d'implication de l'agent viral
<p>Patiente 10 1 an</p>	<p>Consultation pédiatrique la veille</p> <p>Bronchite traitée par paracétamol et corticoïdes</p>	<p>Oui Hiver</p>	<p>Œdème cérébral</p> <p>Présence de sécrétions bronchiques épaisses</p> <p>Congestion avec un léger œdème pulmonaire</p>	<p><u>Anatomopathologie</u> : Présence d'importantes lésions inflammatoires broncho-pulmonaires</p> <p><u>Virologie</u> : Co-détection au niveau broncho-pulmonaire : - pool 1 (incluant <i>Adénovirus</i>, <i>Bocavirus</i> et <i>Parainfluenzae</i> 1,2,3) - pool 2 (incluant <i>Coronavirus</i>, <i>Métagroupevirus</i> et <i>Rhinovirus</i>).</p>	<p>Défaillance cardio-respiratoire, complication d'une grave infection poly-virale broncho-pulmonaire</p> <p>Implication certaine</p>
<p>Patient 11 17 ans</p>	<p>Malaise soudain sans prodrome au lycée</p>	<p>Non Printemps</p>	<p>Œdème pulmonaire important avec présence de glaires dans les bronches souches</p> <p>Cœur volumineux</p>	<p><u>Anatomopathologie</u> : Lésions de myocarde associées à des lésions d'endocardite mitrale</p> <p><u>Virologie</u> : <i>Parvovirus B19</i> détecté dans liquide péricardique</p>	<p>Défaillance cardiaque brutale avec une ischémie aiguë du myocarde (infarctus) par obstruction d'une artère coronaire consécutif à une infection virale myocardique à <i>Parvovirus B19</i></p> <p>Implication certaine</p>

Légende : Masculin : bleu
Féminin : rouge

Cas	Antécédents, comorbidités	Contexte infectieux Saison	Constatactions autopsiques	Examens complémentaires	Causes du décès Niveau d'implication de l'agent viral
Patient 12 21 ans	Mort subite lors d'un effort	Non Hiver	X	<u>Virologie</u> : Pool 2 retrouvé dans les poumons (incluant <i>Coronavirus, Métapneumovirus</i> et <i>Rhinovirus</i>) Absence de prélèvement cardiaque	Décès indéterminé. Une défaillance soudaine d'origine cardiaque par troubles du rythme peut être envisagée Implication probable
Patiente 13 60 ans	Mort subite avec syndrome pseudo-grippal	Oui Hiver	X	<u>Anatomopathologie</u> : Myocardite aiguë à PNN avec rupture de la paroi antérieure du ventricule gauche Poumons congestifs avec de rares ruptures de cloisons interalvéolaires <u>Toxicologie</u> : Pholcodine à taux supra-thérapeutique <u>Virologie</u> : VRS détecté dans les poumons Absence de prélèvement cardiaque	Tamponnade par rupture de la paroi du cœur Implication nulle

Légende : Masculin : bleu
Féminin : rouge

Cas	Antécédents, comorbidités	Contexte infectieux Saison	Constatactions autopsiques	Examens complémentaires	Causes du décès Niveau d'implication de l'agent viral
<p>Patient 14 5 ans</p>	<p>Consultation pédiatrique la veille pour syndrome pseudo-grippal Vomissements pendant la nuit</p>	<p>Oui Automne</p>	<p>Important épanchement péricardique avec dépôts fibrineux blanchâtres. Important œdème cérébral. Important œdème pulmonaire</p>	<p><u>Anatomopathologie</u> : Lésions inflammatoires des voies aériennes supérieures et au niveau du péricarde</p> <p><u>Virologie</u> : Adénovirus présent dans la biopsie intestinale Pool 1 positif dans les prélèvements respiratoires (incluant <i>Adénovirus</i>, <i>Bocavirus</i> et <i>Parainfluenzae</i> 1,2,3) Prélèvements cardiaques négatifs</p>	<p>Défaillance cardiaque par tamponnade potentiellement consécutive à une infection virale des voies aériennes supérieures et des voies digestives</p> <p>Implication probable</p>
<p>Patiente 15 62 ans</p>	<p>Syndrome infectieux depuis une semaine (asthénie, courbatures et gastro-entérite) avec une insuffisance rénale</p>	<p>Oui Hiver</p>	<p>Ecchymoses disséminées sur le revêtement cutané Œdème cérébral Œdème pulmonaire bilatéral Petites hémorragies intra-abdominales en nappe diffuses. Calculs dans la vésicule biliaire</p>	<p><u>Virologie</u> : VRS détecté dans les prélèvements respiratoires</p>	<p>Défaillance multi-viscérale dans un contexte de choc suite à une infection respiratoire grave par atteinte pulmonaire du VRS</p> <p>Implication certaine</p>

Légende : Masculin : bleu
Féminin : rouge

Cas	Antécédents, comorbidités	Contexte infectieux Saison	Constatations autopsiques	Examens complémentaires	Causes du décès Niveau d'implication de l'agent viral
Patient 16 4 ans	Diarrhées fébriles au Maroc une semaine avant son décès Arrêt cardiaque pendant son rapatriement sanitaire	Oui Été	Aspect ischémique et œdème du membre inférieur gauche avec stigmates évoquant une effraction cutanée Œdème cérébral majeur. Aspect purulent trachéo-bronchique. Epanchements des séreuses	<u>Anatomopathologie :</u> Lésions inflammatoires de la trachée Lésions nécrotiques de la corticosurrénale <u>Toxicologie :</u> Toxines négatives <u>Virologie :</u> EBV et HHV-6 détectés dans cœur, poumon, foie, rate, intestin grêle et colon EBV détecté seul dans liquide péritonéal et sang total	Défaillance multi-viscérale terminale due à une nécrose surrénalienne dans un contexte probable d'état de choc ayant pour origine une infection grave ou une envenimation Implication probable
Patiente 17 25 ans	Anorexique, boulimique avec tentatives de suicide par ingestion médicamenteuse Contexte de toux et de douleurs abdominales	Oui Hiver	Maigre Œdème et congestion pulmonaire	<u>Anatomopathologie :</u> Œdème pulmonaire aigu Congestion myocardique avec œdèmes <u>Toxicologie :</u> Exposition récente et importante au cannabis <u>Virologie :</u> Rhinovirus détecté dans les poumons Primo-infection HSV (sérologie IgM+ et IgG-)	Défaillance cardio-respiratoire dans contexte d'une infection virale respiratoire et favorisée par une consommation de cannabis Implication certaine

Légende : Masculin : bleu
Féminin : rouge

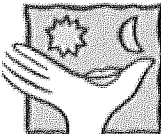
Cas	Antécédents, comorbidités	Contexte infectieux Saison	Constatactions autopsiques	Examens complémentaires	Causes du décès Niveau d'implication de l'agent viral
<p>Patiante 18 46 ans</p>	<p>Hospitalisée pour une infection pulmonaire 2 mois avant son décès</p>	<p>Non Hiver</p>	<p>Epanchement pleural très abondant Poumons d'allure infectieuse; Œdème pulmonaire important Emphysème au sommet des poumons</p>	<p><u>Anatomopathologie :</u> Myocardite à lymphocytes diffuse Lésions de broncho-pneumonie aiguë majeure</p> <p><u>Toxicologie :</u> Prise massive de carbamazépine</p> <p><u>Virologie :</u> Co-détection pulmonaire: EBV et <i>Métopneumovirus</i> Absence de prélèvement cardiaque</p>	<p>Cause toxique par prise massive de carbamazépine dans un contexte de pathologie cardio-vasculaire aiguë d'origine virale (myocardite et broncho-pneumonie aiguë potentiellement due à EBV et <i>Métopneumovirus</i>)</p> <p>Implication probable</p>
<p>Patient 19 4 ans</p>	<p>Episodes de constipation et diarrhée depuis l'âge de 5 à 6 mois Découvert inanimé dans son lit au milieu de ses selles</p>	<p>Oui Hiver</p>	<p>Signes de déshydratation. Hyperhémie méningée. Poumons oedémateux et congestifs Mégacôlon avec une distension marquée de l'ensemble du cadre colique</p>	<p><u>Anatomopathologie :</u> Inflammation et nécrose de la paroi colique Inflammation des voies aériennes supérieures</p> <p><u>Virologie :</u> <i>Bocavirus</i>, <i>Coronavirus</i> et <i>Entérovirus</i> détectés au niveau pulmonaire <i>Entérovirus</i> présent au niveau digestif</p>	<p>Défaillance cardio-respiratoire chez un enfant présentant une nécrose colique et infecté par plusieurs virus au niveau pulmonaire et digestif dont Entérovirus</p> <p>Implication certaine</p>

Légende : Masculin : bleu
Féminin : rouge

Cas	Antécédents, comorbidités	Contexte infectieux Saison	Constatactions autopsiques	Examens complémentaires	Causes du décès Niveau d'implication de l'agent viral
Patient 20 4 ans	Hyperplasie congénitale des surrénales équilibrée Varicelle traitée symptomatiquement associée à des douleurs abdominales	Oui Printemps	Vésicules cutanées sèches ou crouteuses Poumons pathologiques (congestif, œdémateux et gélatineux) Epanchement pleural légèrement trouble Absence de surrénales	<u>Anatomopathologie</u> : Absence de lésion cardiaque Absence de tissu surrénalien <u>Bactériologie</u> : <i>Streptococcus pyogenes</i> dans liquide péricardique et pleural <u>Virologie</u> : VZV présent dans liquide pleural	Varicelle maligne avec pneumopathie et épanchement pleural, surinfectée par <i>Streptococcus pyogenes</i> Implication certaine
Patiente 21 41 ans	Décès à domicile	Non Hiver	Epanchement pleural bilatéral Cœur assez gros	<u>Anatomopathologie</u> : Myocardite rhumatismale Œdème pulmonaire <u>Toxicologie</u> : buprénorphine, tétrazepam, alcool (0,7 g/L) et cannabis <u>Virologie</u> : <i>Parvovirus B19</i> détecté dans liquide péricardique	Défaillance cardiaque avec œdème pulmonaire consécutif à une myocardite à <i>Parvovirus B19</i> favorisée par la prise de produits psychotropes Implication certaine

Légende : Masculin : bleu
Féminin : rouge

Annexe 5 : Projet d'une procédure des prélèvements à effectuer dans le cadre d'une suspicion de mort d'origine infectieuse

 CHU Hôpitaux de Bordeaux	Centre Hospitalier Universitaire de Bordeaux Emetteur : Unité de Médecine Légale Thanatologique	EN-MEL-XXX
	DOCUMENT D'ENREGISTREMENT	Ind : 01 Page : 1/1

Procédure des prélèvements à effectuer dans le cadre d'une suspicion de mort d'origine infectieuse

N° Identification du défunt : Date autopsie : / / Heure autopsie : h

Organes	Contenant	Bactériologie		Virologie		Parasitologie	
		X	T°C	X	T°C	X	T°C
Ganglions à aspect pathologique	1 pot						ambiante
3 hémocultures aérobie, anaérobie et Sabouraud	3 flacons d'hémocultures		37°C				
Sang total sur EDTA	2 tubes				4°C		ambiante
Sang sur tube sec	3 tubes secs						
LCR	3 tubes						
Foie	3 pots						
Poumon	3 pots						
Rate	3 pots						
Cerveau	3 pots						
Méninges	2 pots						
Urines	2 pots						
Liquide pleural	2 tubes						
Liquide péritonéal	2 tubes						
Liquide péricardique	2 tubes						
TOTAL PRELEVEMENTS			12		12		8

Nom du médecin légiste : Signature :

Liste du matériel pour la préparation du kit	
Matériel	Quantité
Aiguilles stériles à usage unique	1 boîte
Bétadine	1 flacon
Compresse stériles	1 boîte
Etiquettes comportant nom, prénom, date de naissance du défunt, nature et date du prélèvement	40
Flacons hémocultures aérobie, anaérobie et Sabouraud	3
Pochettes de conditionnement	1 rouge, 2 ou 3 bleues, 3 blanches
Pinces stériles	4
Pots	17
Scalpels stériles	4
Seringues	6
Sérum physiologique	1 flacon
Tubes stériles	9
Tubes EDTA	2
Tubes secs	3

Nom aide-soignant : Signature :

Acheminement des prélèvements vers les Laboratoires			
	BACTERIOLOGIE 24h/24	VIROLOGIE 8h-18h	PARASITOLOGIE 8h-18h
	Coursier au bip 15 64 entre 6h30 et 20h15 Navette au bip 15 71 entre 20h15 et 6h30		Navette au bip 15 71 (ramassage à 10h 13h 15h)
Date et heure de départ des prélèvements du dépositaire			
Date et heure de retour de la décharge au dépositaire			
Conditionnement des prélèvements dans pochettes : bleue : 4°C blanche : T°C ambiante rouge : 37°C			

Ne pas oublier de faxer la déclaration de maladie infectieuse à la DDASS au 05 56 96 29 31

Fait le/...../..... àh..... par

TABLE DES MATIÈRES

REMERCIEMENTS	4
LISTE DES ABRÉVIATIONS	6
SOMMAIRE	8
INTRODUCTION.....	10
PREMIÈRE PARTIE : GÉNÉRALITÉS ET REVUE BIBLIOGRAPHIQUE	12
I. <i>Mort naturelle et mort subite</i>	12
I.1. Définitions.....	12
I.1.1. Mort naturelle.....	12
I.1.2. Mort subite	12
I.2. Épidémiologie et facteurs de risque	14
I.3. Autopsie	21
I.3.1. Autopsie médicale.....	21
I.3.2. Autopsie médico-légale	22
I.3.2.1. Contexte de réalisation	22
I.3.2.2. Objectifs de l'autopsie médico-légale	23
I.3.2.3. Technique de l'autopsie.....	23
I.3.2.4. Prélèvements pendant l'autopsie	25
II. <i>Infections virales, grands syndromes et décès inattendus</i>	26
II.1. Infections respiratoires.....	26
II.2. Atteintes cardiaques	30
II.3. Atteintes neurologiques	31
II.3.1. Méningites	31
II.3.2. Encéphalites.....	32
II.3.3. Myélites	34
II.3.4. Polyradiculonévrite aiguë.....	34
II.4. Syndromes fébriles.....	34
II.4.1. Syndrome mononucléosique.....	34
II.4.2. Fièvres éruptives.....	35
II.4.2.1. Éruptions maculo-papuleuses.....	35
II.4.2.2. Éruptions vésiculeuses	35
II.4.3. Syndrome fébrile et algique.....	36
II.4.4. Fièvres hémorragiques.....	36
II.5. Gastro-entérites	37
II.6. Atteintes hépatiques	37
II.7. Atteintes rénales.....	39
II.8. Infections foetales et néo-natales	39
II.9. Infections virales de l'immunodéprimé.....	40
II.10. Virus et cancer	42
II.11. Syndrome d'activation macrophagique	42
II.12. Prévention des infections virales	43

DEUXIÈME PARTIE : MATÉRIEL ET MÉTHODES	44
I. Population étudiée.....	44
II. Les échantillons.....	45
II.1. Nature et choix des échantillons	45
II.2. Analyses virologiques.....	46
II.3. Conservation des échantillons.....	46
III. Diagnostic virologique.....	47
III.1. Techniques sérologiques.....	47
III.1.1. Automate Beckman Coulter UniCel® DxI 800.....	48
III.1.2. Automate BioMérieux Vidas®	50
III.1.3. Automate DiaSorin Liaison XL®	51
III.2. Techniques de biologie moléculaire	51
III.2.1. Principe de l'extraction des acides nucléiques	51
III.2.1.1. Extraction manuelle : technique de référence	52
III.2.1.2. Extraction automatique	52
III.2.2. La technique de PCR.....	54
III.2.2.1. Principe de la PCR	54
III.2.2.2. Principe de la PCR conventionnelle	54
III.2.2.3. Principe de la PCR en temps réel.....	56
III.2.2.3.1. Agents intercalants	57
III.2.2.3.2. Sondes d'hybridation.....	58
III.2.2.3.2.1. La chimie Taqman®	58
III.2.2.3.2.2. La chimie FRET	60
III.2.2.3.2.3. Les sondes Beacon®	60
III.2.2.3.2.4. Les sondes Scorpion®	60
III.2.2.4. Principe de la RT-PCR.....	62
III.2.2.5. Principe de la PCR multiplex.....	62
IV. Dossiers de médecine légale	65
IV.1. Dossiers d'expertise virologique	65
IV.2. Rapports d'autopsie médico-légale	65
IV.3. Traitement des données médico-légales.....	66
TROISIÈME PARTIE : RÉSULTATS.....	68
I. Implication du virus dans les décès inexplicables de dossiers de médecine légale.....	68
II. Données cliniques et biologiques.....	69
II. 1. Caractéristiques démographiques des patients.....	69
II.1.1 Sexe	69
II.1.2. Age.....	69
II.1.3 Comorbidités et états physiologiques particuliers	70
II.2. Investigations entourant ces décès inattendus.....	71
II.2.1. Lieu de décès et éléments cliniques antérieurs au décès	71
II.2.2. Constatations autopsiques.....	73
II.2.3. Résultats anatomopathologiques et toxicologiques.....	74
II.2.4. Agents pathogènes associés.....	75
III. Données virologiques.....	75
III.1. Virus mis en évidence et sites anatomiques infectés	75
III.1.1. Implication virale certaine.....	75

III.1.2. Implication virale probable	76
III.1.3. Implication virale nulle	76
III.2. Co-infections virales.....	76
QUATRIÈME PARTIE : DISCUSSION.....	78
I. <i>Commentaires sur les résultats observés</i>	78
I.1. Implication virale	79
I.2. Caractéristiques démographiques des patients.....	80
I.3. Comorbidités et états physiologiques particuliers.....	80
I.4. Syndrome infectieux et pris en charge initiale	80
I.5. Résultats des analyses complémentaires	81
I.5.1. Atteintes respiratoires	81
I.5.2. Atteintes cardiaques	82
I.5.3. Atteintes digestives	83
I.5.4. Atteintes multiviscérales.....	83
I.5.5. Surinfections	84
I.5.6. Dossiers avec implication virale nulle	84
II. <i>Commentaires sur les limites de l'étude</i>	85
III. <i>Perspectives</i>	87
III.1. Techniques diagnostiques :.....	87
III.2. Etude prospective envisagée.....	88
CONCLUSIONS.....	90
BIBLIOGRAPHIE	91
ANNEXES	105
TABLE DES MATIÈRES	123
Liste des TABLEAUX.....	126
Liste des FIGURES ET GRAPHIQUES.....	127
SERMENT DE GALIEN	128

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1 : Fréquence des morts subites d'origine cardiaque	15
Tableau 2 : Étiologies des MIN retrouvées dans l'étude de Bloch et al.	17
Tableau 3 : Syndromes respiratoires et virus associés	26
Tableau 4 : Encéphalites et virus associés	33
Tableau 5 : Pathologie chez l'immunodéprimé et virus associés.....	41
Tableau 6 : Résumé des caractéristiques des différentes techniques de PCR.....	61

LISTE DES FIGURES ET GRAPHIQUES

Figure 1 : Schéma proposé	19
Figure 2 : Évolution du taux d'Ac au cours d'une infection virale.....	47
Figure 3 : Technique sérologique « sandwich ».....	48
Figure 4 : Technique sérologique indirecte.....	48
Figure 5 : Technique sérologique par compétition.....	49
Figure 6 : Technique sérologique par immunocapture.....	49
Figure 7 : Système de détection de l'automate Beckman Coulter UniCel® DxI800.....	50
Figure 8 : Principe de l'extraction automatique par le MagNA Pure® Compact.....	53
Figure 9 : Principe de la PCR.....	55
Figure 10 : Étapes de la réaction de PCR.....	55
Figure 11 : Exemple de courbes de PCR en temps réel (à gauche) ; Détermination du cycle seuil Ct (à droite).....	56
Figure 12 : Principe de la chimie SYBR® Green	58
Figure 13 : Principe de la chimie Taqman® (à gauche) et la chimie FRET (à droite)	59
Figure 14 : Structure DPO.....	63
Graphique 1 : Répartition des cas selon l'implication du virus	68
Graphique 2 : Répartition des cas selon l'implication du virus et le sexe du patient.....	69
Graphique 3 : Répartition des cas selon l'implication du virus et l'âge du décès.....	70
Graphique 4 : Répartition des cas selon l'implication du virus et la présence d'un syndrome infectieux antérieur le décès.....	71
Graphique 5 : Répartition des cas selon l'implication du virus et le lieu du décès.....	72
Graphique 6 : Répartition des cas selon l'implication du virus et la saison de survenue des décès	73

SERMENT DE GALIEN

« Je jure en présence de mes Maîtres de la Faculté et de mes condisciples :

- d'honorer ceux qui m'ont instruit dans les préceptes de mon art et de leur témoigner ma reconnaissance en restant fidèle à leur enseignement ;
- d'exercer, dans l'intérêt de la santé publique, ma profession avec conscience et de respecter non seulement la législation en vigueur, mais aussi les règles de l'honneur, de la probité et du désintéressement ;
- de ne jamais oublier ma responsabilité, mes devoirs envers le malade et sa dignité humaine, de respecter le secret professionnel.

En aucun cas, je ne consentirai à utiliser mes connaissances et mon état pour corrompre les mœurs et favoriser les actes criminels.

Que les hommes m'accordent leur estime si je suis fidèle à mes promesses.

Que je sois couvert d'opprobre et méprisé de mes confrères, si j'y manque. »

Place des analyses virologiques dans l'investigation des décès inattendus
Réflexion à partir de 21 cas autopsiés au CHU de Bordeaux

RESUME : Les décès inattendus sont généralement plurifactoriels et la mise en cause des virus n'est clairement identifiée que dans la mort subite du nourrisson. Ces décès inexpliqués nécessitent une investigation médico-légale effectuée sur demande de la justice avec réalisation d'une autopsie judiciaire afin de déterminer les causes de la mort et d'exclure une infraction pénale. En fonction des circonstances du décès et des observations macroscopiques pendant l'autopsie, des analyses virologiques peuvent être requises sur tout type de prélèvement effectué selon un protocole défini. Cette étude rétrospective a été menée à partir des décès inattendus autopsiés au CHU de Bordeaux entre 2001 et 2013 et pour lesquels au moins une analyse virologique (sérologie et/ou biologie moléculaire) était positive, soit 21 dossiers. Une implication virale certaine ou probable a été retenue comme cause du décès pour 17 patients, soit 19,5% des décès inattendus pour lesquels des analyses virologiques ont été effectuées (87 cas), permettant de retenir ainsi le caractère potentiellement mortel de certains de ces virus. Quel que soit le prélèvement, la technique de PCR est reconnue comme étant la méthode la plus efficace pour la détection des virus. Cependant, selon les informations cliniques et anatomopathologiques, il apparaît une sous-estimation des cas d'implication virale dans cette étude. Enfin une revue est présentée sur les possibilités d'évolution dans le domaine du diagnostic virologique *post mortem*.

MOTS CLES : Virus, infection virale, décès inexpliqué, décès inattendu, mort subite

Place of virological tests in the investigation of unexpected death cases
Study on 21 cases of autopsy at the University Hospital of Bordeaux

ABSTRACT: Unexpected deaths are usually multifactorial and the implication of a virus is only clearly identified in cases of sudden infant deaths. Therefore, unexpected deaths require a forensic investigation performed at the request of a judge with a legal autopsy to determine the cause of death and to exclude a criminal offense. Depending on the circumstances of death and the macroscopic observations during the autopsy, virological tests may be required on any type of sample performed according to a defined protocol. This retrospective study was conducted on unexplained deaths autopsied in the Bordeaux University Hospital between 2001 and 2013 with at least one positive virological test (serology and/or molecular biology) and that is to say 21 cases. A definite or probable viral involvement was considered as the cause of death for 17 patients, therefore representing 19,5% of unexpected deaths for which virological tests had been performed (87 cases) thus establishing the potentially lethal nature of some of these viruses. Regardless of the sample, the PCR technique is considered to be the most effective method for viral detection. However, according to the information available, an underestimation of cases of viral involvement can be hypothesized. Finally the possible development of viral diagnoses in the field of *post mortem* investigations is reviewed.

KEYWORDS : Virus, viral infection, unexpected death, sudden death

DISCIPLINE : Biologie médicale, virologie, médecine légale thanatologique

Laboratoire de Virologie – Hôpital Pellegrin – CHU Bordeaux
Place Amélie Raba Léon, 33076 Bordeaux Cedex

FACULTÉ DE MÉDECINE BORDEAUX
Cedex 10 JUN 2014
N° 1510
CLT