



HAUTE AUTORITÉ DE SANTÉ

RAPPORT D'ÉVALUATION TECHNOLOGIQUE

Détection du génome des entérovirus dans le liquide céphalorachidien par amplification génique dans les méningites

Juillet 2014

Ce rapport d'évaluation technologique est téléchargeable sur
www.has-sante.fr

Haute Autorité de Santé

Service documentation – information des publics
2, avenue du Stade de France – F 93218 Saint-Denis La Plaine Cedex
Tél. : +33 (0)1 55 93 70 00 – Fax : +33 (0)1 55 93 74 00

Sommaire

Abréviations et acronymes	4
Résumé	5
Introduction	6
1. Contexte	7
1.1 Source d'information.....	7
1.2 Généralités sur les méningites	7
1.3 Généralités sur les entérovirus.....	8
1.4 Méningites à entérovirus	9
1.5 L'amplification génique dans la détection du génome des EV	10
1.6 Conditions actuelles de la prise en charge par l'Assurance maladie	11
2. Méthode d'évaluation	12
2.1 Recherches et sélections documentaires	12
2.2 Méthode d'analyse de la littérature	14
2.3 Recueil du point de vue des parties prenantes.....	15
3. Résultats de l'évaluation	16
3.1 Performances diagnostiques et utilité clinique.....	16
3.2 Point de vue des parties prenantes.....	30
4. Synthèse et conclusions de l'évaluation	33
Annexe 1. Liste des tableaux et figures.....	34
Annexe 2. Recherche documentaire.....	35
Annexe 3. Lettres, questionnaires et réponses des parties prenantes.....	38
Références	64
Fiche descriptive	67

Abréviations et acronymes

ARNAcide ribonucléique
CNPConseil national professionnel
CFMUCNP de médecine d'urgence : Collège français de médecine d'urgence
CNR EVCentre national de référence des entérovirus et parechovirus
CNP-PCNP de pédiatrie
FFICNP d'infectiologie : CNP-Fédération française d'infectiologie
FFNCNP de neurologie : Fédération française de neurologie
EVEntérovirus
HSV <i>Herpes Simplex Virus</i>
LCRLiquide céphalorachidien
PCR <i>Polymerase Chain Reaction</i> : amplification génique par polymérisation en chaîne
PCR+Résultat positif à la PCR EV
PCR-Résultat négatif à la PCR EV
PCR EVDétection du génome des entérovirus par amplification génique
QCMD <i>Quality Control for Molecular Diagnostics</i>
NICE <i>National Institute for Health and Clinical Excellence</i> (Royaume-Uni)
NABMNomenclature des actes de biologie médicale
OMSOrganisation mondiale de la santé
PTCProcalcitonine
RSERéseau de surveillance des entérovirus
SeSensibilité
SFBCSociété française de biologie clinique
SFMSociété française de microbiologie
SpSpécificité
SplifSociété de pathologie infectieuse de langue française
VppValeur prédictive positive
VpnValeur prédictive négative

Résumé

Contexte

La détection du génome des entérovirus (EV) dans le liquide céphalorachidien (LCR) par amplification génique dans la prise en charge des méningites est selon les professionnels entrée dans la pratique progressivement depuis une dizaine d'années notamment avec la commercialisation de trousse prêtes à l'emploi.

En vue du remboursement par l'Assurance maladie de ce test diagnostique, la CNAMTS et la Société française de microbiologie ont convenu, en janvier 2012, d'une saisine conjointe de la Haute Autorité de Santé pour l'évaluation de cet outil diagnostique.

Objectif

L'objectif de cette évaluation est de s'assurer que la détection du génome des entérovirus dans le LCR par amplification génique est un outil diagnostique validé dans la prise en charge des cas de méningites.

Méthode

Pour répondre à cet objectif, une recherche bibliographique de la littérature portant sur l'utilité clinique et les performances diagnostiques de ce test a été réalisée. Les critères de sélection ont permis de retenir quatre recommandations professionnelles et 14 études cliniques. Cette littérature a été analysée de manière critique et la position des professionnels a été recueillie par l'audition de parties prenantes (Conseils nationaux professionnels des spécialités concernées, centre national de référence).

Résultats

La littérature sélectionnée est globalement de qualité méthodologique faible. Elle est en faveur de la détection par amplification génique du génome des EV dans le LCR dans les méningites car la PCR EV permet :

- de diagnostiquer des cas de méningites qui restent non détectables par les techniques de cultures cellulaires ;
- une amélioration de la prise en charge des patients en réduisant les durées d'hospitalisation et/ou de l'antibiothérapie.

Les parties prenantes interrogées, soutiennent la détection par amplification génique du génome des EV dans le LCR dans les suspicions de méningites quel que soit l'âge et la saison.

L'analyse de la littérature et le point de vue des parties prenantes se rejoignent.

Conclusion

La HAS conclut que la détection du génome d'entérovirus par amplification génique dans le liquide céphalorachidien est un outil diagnostique qui peut être utilisé :

- dans les méningites aiguës dont le clinicien, en fonction des éléments dont il dispose, estime l'étiologie incertaine (ni d'évidence bactérienne, ni d'évidence virale) ;
- en 2^{ème} ligne après l'examen direct du LCR et les résultats cytologique et biochimique ;
- avec un délai de rendu des résultats après le prélèvement du LCR, de 24h dans l'idéal et inférieur à 48h, ce délai conditionnant l'impact de cet examen sur la prise en charge du patient ;
- en considérant que la décision du clinicien, quant à l'arrêt du traitement probabiliste et la sortie du patient, ne se fonde pas uniquement sur le résultat positif de la PCR EV, mais se fonde sur l'ensemble des éléments dont il dispose notamment l'état général du patient et son environnement social.

Introduction

La détection du génome des entérovirus (EV) dans le liquide céphalorachidien (LCR) par amplification génique dans la prise en charge des méningites est selon les professionnels entrée dans la pratique progressivement depuis une dizaine d'années notamment avec la commercialisation de trousse prêtes à l'emploi.

La technique de détection par amplification génique du génome des EV dans le LCR apporterait une certitude diagnostique à la différence des autres examens antérieurs comme les dosages biochimiques du LCR ; et cela plus rapidement que la culture cellulaire orientée d'EV.

Dans le cadre de l'actualisation de la Nomenclature des actes de biologie médicale (NABM), en vue de l'inscription de la détection du génome des EV dans le LCR par amplification génique (transcription inverse et polymérisation en chaîne en temps réel ou *real time Reverse Transcription Polymerase Chain Reaction* [real time RT-PCR]) dans la prise en charge des méningites, la Caisse nationale d'assurance maladie des travailleurs salariés (CNAMTS) et la Société française de microbiologie (SFM) ont déposé une saisine conjointe pour l'évaluation de cet acte de biologie médicale par la HAS.

Les avantages du recours à la détection du génome des EV dans le LCR revendiqués sont notamment (1, 2) :

- l'apport d'une certitude diagnostique, de manière rapide ;
- l'arrêt anticipé des traitements (antibiotique, antiviral) initiés lors de l'admission du patient ;
- la réduction de la durée d'hospitalisation.

Comme défini lors du cadrage de cette évaluation (3), son objectif est de s'assurer que la détection du génome des entérovirus dans le LCR par amplification génique (PCR EV) est un outil diagnostique validé dans la prise en charge des cas de de méningites.

1. Contexte

1.1 Source d'information

Ce chapitre de contexte a été rédigé à partir d'une revue non systématique de la littérature ayant inclus des revues générales, des recommandations, des résumés scientifiques, des études observationnelles et des traités de médecine.

1.2 Généralités sur les méningites

La méningite est définie par l'OMS comme¹ « *une grave infection des fines membranes qui enveloppent le cerveau et la moelle épinière* ». Il s'agit d'une inflammation de l'arachnoïde et de la pie-mère (4). L'encyclopédie médico-chirurgicale indique qu'il s'agit d'une inflammation entraînant des anomalies du LCR (5). En effet au cours d'une méningite les différentes cellules de la cascade inflammatoire passent dans le LCR entraînant une pléiocytose (4). Ces infections peuvent être bactériennes, fongiques et le plus souvent virales.

Une classification des méningites en fonction de l'aspect macroscopique du LCR est généralement admise. Classiquement les :

- « méningites dites à liquide clair » (LCR translucide) sont des méningites aseptiques d'origine virale pour la plupart avec une prédominance de lymphocytes dans le LCR ;
- « méningites dites purulentes » (LCR trouble contenant de nombreux polynucléaires) sont des méningites d'origine bactérienne avec une prédominance de polynucléaires neutrophiles (5-7).

Plusieurs revues récentes indiquent qu'aucune définition n'est stricte tant que l'étiologie n'est pas précisée (5, 6). En effet une méningite virale peut-être initialement puriforme, aseptique à prédominance de polynucléaires. A l'inverse, la formule cytologique d'une méningite bactérienne peut être panachée voire lymphocytaire. La turbidité du LCR dépend d'avantage de l'abondance de la réaction cellulaire, de l'élévation des concentrations en protéine du LCR, et du type cellulaire majoritaire dans le LCR (6).

L'aspect macroscopique du LCR ne suffit pas à lui seul pour déterminer l'étiologie bactérienne ou virale d'une méningite. D'autres examens pratiqués sur le LCR notamment biochimiques sont mentionnés dans les traités de médecine comme la mesure de la protéinorachie, le calcul du ratio concentration du glucose du LCR/glycémie, le dosage des lactates, et le dosage de la procalcitonine (PTC) dans le LCR (6).

Les méningites bactériennes représentent 20 à 25 % des méningites communautaires (8). Il est difficile d'avancer des données épidémiologiques précises pour les méningites virales en raison de l'absence de déclaration obligatoire et d'une sous-estimation en rapport avec leur bénignité (5).

Dans son rapport de 2012, l'InVS indique que « les méningites aiguës communautaires sont causées par une grande variété d'organismes, principalement viraux » et que plus de 85 % des méningites virales sont la conséquence d'infection à entérovirus (EV) (9).

En France, d'autres virus sont responsables de méningites plus graves notamment les virus du groupe herpès. Il s'agit des virus herpès simplex (HSV) 1 et 2, du cytomegalovirus (CMV), du virus Epstein-Barr (EBV), du virus varicelle-zona (VZV) et du virus herpès 6 (HHV6). Selon l'InVS, les virus de ce groupe représentent environ 4 % des méningites virales (5, 9). Ces méningites virales présentent une létalité élevée lorsqu'elles sont associées à une encéphalite (méningo-encéphalite). Les méningites ou méningo-encéphalites à HSV, ou VZV requièrent un traitement antiviral en urgence (acyclovir) (5, 10).

¹<http://www.who.int/topics/meningitis/fr/>, consulté le 24/02/2014

Selon l'InVS, en France, les bactéries les plus fréquemment impliquées dans les méningites (adultes et enfants) sont les pneumocoques (*Streptococcus pneumoniae*) et les méningocoques (*Neisseria meningitidis*). A elles deux, elles représentent plus de 75 % des méningites bactériennes quelle que soit la classe d'âge (9). Les méningites bactériennes sont graves car létales dans 20 % des cas, fréquemment suivies de complications neurologiques (près de 50 % des cas) ; et nécessitent l'administration d'un traitement antibiotiques en urgence (5, 11).

Devant un tableau clinique de méningite aiguë, l'élément clé du diagnostic est l'analyse du LCR après ponction lombaire. Le problème majeur est de différencier une infection virale, le plus souvent bénigne et sans nécessité de traitement (hors virus du groupe herpès), d'une infection bactérienne qui requiert une antibiothérapie en urgence (5).

En effet dans les cas de suspicion de méningite bactérienne, selon les recommandations de la Société de pathologie infectieuse de langue française (Spilf), « l'antibiothérapie doit être débutée au plus tard dans les 3 heures, idéalement dans l'heure qui suit l'arrivée en structure hospitalière », l'analyse cyto bactériologique et biochimique du LCR constitue l'urgence absolue, ces résultats « doivent être communiqués à l'équipe en charge du patient dans l'heure qui suit la ponction lombaire » (11). Ainsi, dans les cas de méningite à faible suspicion bactérienne, ou lorsque le tableau clinique est peu discriminant, une antibiothérapie est souvent initiée à l'arrivée du patient aux urgences.

1.3 Généralités sur les entérovirus

Les EV sont des agents pathogènes très communs en médecine humaine et vraisemblablement responsables d'environ 1 milliard d'infections asymptomatiques chaque année dans le monde. Le genre Entérovirus de la famille des *Picornaviridae*, est constitué de petits virus non enveloppés à acide ribonucléique (ARN). Il comprend actuellement 110 sérotypes pathogènes pour l'Homme, répartis en cinq espèces (poliovirus et entérovirus humain A-D). Ces virus sont très résistants dans le milieu extérieur et se transmettent principalement par voie fécale-orale mais également par voie aérienne, conjonctivale ou trans-placentaire (12).

Les EV « non-polio » sont considérés comme l'une des principales causes d'infection virale chez l'enfant et l'adulte. Dans la suite de ce rapport ne sont traités que les entérovirus « non polio »².

Même si la majorité des infections à entérovirus est asymptomatique, voire paucisymptomatique, ces pathogènes ubiquitaires sont responsables de syndromes infectieux variés. Ils peuvent atteindre par exemple :

- les voies respiratoires hautes (rhinite, pharyngite, otite) ou basses (pneumonie, bronchiolite) ;
- le système cardiovasculaire (myopéricardite, vascularite, cardiomyopathie dilatée) ;
- le système nerveux (paralysie, méningite, encéphalite, syndrome de Guillain-Barré) ;
- les yeux (conjonctivites) ;
- les nouveau-nés (infections maternofoetales et périnatales) ;
- les muscles (maladie de Bornholm) ;
- les patients immunodéprimés (principalement immunodépression humorale, des infections opportunistes chez des malades greffés et des infections chroniques pour les patients traités par Rituximab).

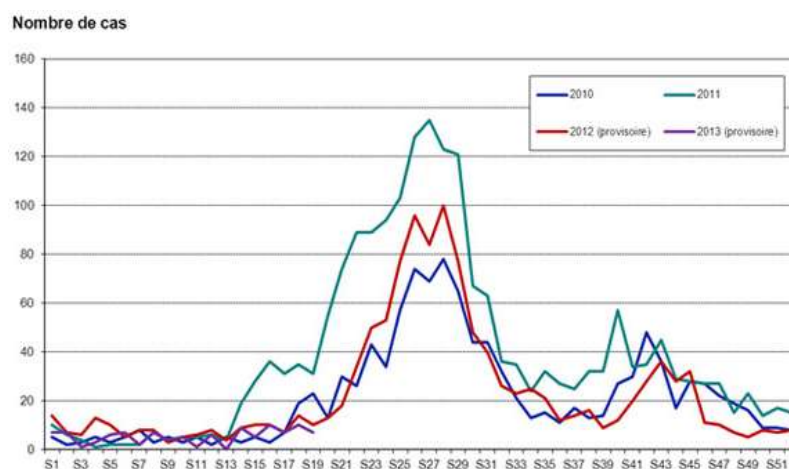
Même si la majorité des infections à entérovirus est asymptomatique (90 %), le pronostic dépend du niveau d'infestation, de l'organe cible, de l'âge, du sexe et du statut immunitaire de l'individu (12, 13).

² La poliomyélite est en voie d'éradication dans le monde.

1.4 Méningites à entérovirus

Il est couramment admis que 80 à 92 % des méningites lymphocytaires à liquide clair seraient provoquées par les entérovirus « non-polio ». Aux États-Unis, il y aurait 750 000 cas de méningites entérovirales par an dont à peine 10 % seraient recensés par le *Center for Diseases Control* (CDC) d'Atlanta (12). Les entérovirus se distribuent partout dans le monde. Ils circulent tout au long de l'année dans les régions tropicales. En France de 2008 à 2012, le réseau de surveillance des EV coordonné par le Centre national de référence des entérovirus et parechovirus (CNR EV) identifie en moyenne plus de 1 400 cas par an de méningites à EV. Elles sont caractérisées par une saisonnalité avec un pic principal du nombre de cas en période estivale et un second à l'automne comme l'illustre les graphiques de l'InVS (Figure 1). Cette augmentation peut s'observer dès le mois de mai mais survient le plus souvent en juin-juillet (9, 13).

Figure 1. : Distribution hebdomadaire des méningites à entérovirus, données RSE, France 2010-2013 source InVS (13)



La sévérité des méningites à entérovirus varie en fonction de l'âge du patient et de son statut immunitaire. Les nouveau-nés de moins de deux semaines présentent le plus de risques de développer une atteinte systémique sévère généralement associée à une méningo-encéphalite. Chez des enfants de plus de deux semaines, les entérovirus sont rarement associés à des atteintes systémiques de mauvais pronostic (12). Il existe une prédominance des méningites à EV chez les enfants de moins de dix ans (14, 15). Le rapport final de 2009 du programme de soutien aux techniques innovantes coûteuses (STIC) de 2006 portant sur « l'évaluation médico-économique du diagnostic moléculaire des méningites à entérovirus »³, confirme cette prédominance chez les enfants.

Le début d'une méningite à entérovirus est généralement brutal avec la présence d'un pic fébrile entre 38 et 40°C, qui est observé dans 75 % des cas. Les manifestations cliniques d'une méningite entérovirale sont non spécifiques ; les symptômes présents chez la plupart des patients sont : des fièvres de type biphasique, des céphalées, une irritabilité, des vomissements et une photophobie, parfois associés à un rash cutané et à une conjonctivite hémorragique, une diarrhée ou une toux. Les complications neurologiques (convulsions fébriles, hypertension intracrânienne) sont rares et principalement observées chez les nourrissons (6, 12).

Les méningites à EV touchent plus particulièrement les enfants, cependant les adultes peuvent être atteints et représentent environ 20 % à 30 % des cas identifiés prospectivement (9, 14, 16, 17).

³ Le rapport final de ce STIC n'aborde pas les performances analytiques et diagnostiques de la PCR EV ; il mentionne une corrélation inverse entre le délai de rendu du résultat et le taux d'hospitalisation mais sans présenter aucun résultat.

La durée des symptômes chez un malade atteint d'une méningite à entérovirus est d'environ une semaine ; cependant, la plupart des adultes présentent des symptômes qui peuvent persister deux semaines. Le pronostic des méningites à EV, hormis chez le nouveau-né de moins de 15 jours, est très favorable avec généralement une absence de séquelles neurologiques à long terme (12).

Selon l'InVS, les principaux entérovirus identifiés ces dernières années (2005-2012) en France sont pour la plupart des *echovirus* (sérotypes 6, 11, 18, 13, 30) ou des *coxsackievirus* (sérotypes A9, B4, B5). Il est à noter que des formes variantes de ces virus peuvent apparaître, comme l'illustre l'épidémie en France avec un variant d'un *echovirus* type 6 en 2011 (9, 13).

1.5 L'amplification génique dans la détection du génome des EV

La meilleure connaissance de la structure du génome des EV a permis le développement des techniques de détection du génome viral dans le début des années 1990. La technique d'amplification génique par PCR, s'est ensuite largement diffusée avec les améliorations technologiques et l'apparition de trousse commerciales dans la seconde moitié des années 1990. La PCR dite classique en point final a progressivement été remplacée, dès les années 2000, par la PCR quantitative en temps réel (18).

La technique la plus répandue et la plus utilisée actuellement en France est la RT-PCR en temps réel. Elle est basée sur l'amplification d'une région conservée à l'extrémité 5' non codante du virus, avec une hybridation spécifique des produits d'amplification par hybridation moléculaire permettant de rendre un résultat qualitatif (positif ou négatif) ou un résultat quantitatif lorsqu'une gamme de plasmide standardisée est utilisée. Cette technique permet la détection des principaux sérotypes d'entérovirus humain actuellement répertoriés (68/110 sérotypes) (12). Ainsi, dans la suite de ce rapport sera utilisé le terme « PCR EV » pour signifier un le test de détection du génome de entérovirus par amplification génique

Dans son rapport d'activité de 2012, le CNR EV présente l'évaluation des techniques de diagnostic moléculaire mises en œuvre par les 32 laboratoires répartis sur tout le territoire français constituant le réseau de surveillance entérovirus (RSE). 26 laboratoires ont participé au contrôle de qualité européen en utilisant un panel constitué d'échantillons de sérotypes d'EV. Sur neuf échantillons qualifiés « d'incontournables », la réponse était correcte dans plus de 84 % des jeux de données transmis par ces 26 laboratoires du RSE ; meilleure que la moyenne européenne de 67 %. Le CNR EV indique que ces techniques (trousse commerciales et techniques maisons) utilisées dans ces laboratoires montrent une bonne performance globale ; 6 des 11 techniques testées détectent la totalité des 9 sérotypes incontournables (19).

Il est à noter qu'il existe d'autres techniques de diagnostic virologique direct. La technique récente de séquençage moléculaire, des séquences codantes pour une partie des gènes des protéines de capsid, est utilisée pour l'identification génotypique des souches d'EV (12, 20).

La technique la plus ancienne est la culture cellulaire orientée. Cette technique est basée sur la culture de différentes lignées cellulaires (humaine ou animale) sur lesquelles on observe après infection par le prélèvement à investiguer l'apparition d'un effet cytopathogène lié à l'EV dans un délai d'environ une semaine. A cela s'ajoute pour différencier les sérotypes d'EV des techniques immunologiques ; notamment avec des anticorps monoclonaux dirigés contre des protéines de la capsid ; avec une révélation par immunofluorescence ou immunohistochimie.

Le demandeur n'a pas évalué la diffusion actuelle de cette technique d'amplification du génome des EV (PCR EV) ; cependant les entreprises commercialisant des trousse de détection du génome d'EV, contactées lors du cadrage de cette évaluation, revendiquent en 2013 au total être présentes dans 109 hôpitaux en France. En 2007-2008, 17 laboratoires avaient participé au programme de soutien aux techniques innovantes (PSTIC) « l'évaluation médico-économique du diagnostic moléculaire des méningites à entérovirus » (21). Le réseau de surveillance des EV organisé par le CNR-EV compte 32 laboratoires qui utilisent la PCR-EV en routine.

Enfin, le CNR EV indique que « *pour le diagnostic des infections à entérovirus que les techniques doivent répondre à deux critères : 1) être des techniques de RT-PCR en temps réel, 2) avoir été testées pour leurs performances par un contrôle qualité (Quality Control for Molecular Diagnostics QCMD et avoir donné des résultats satisfaisants* » (19).

1.6 Conditions actuelles de la prise en charge par l'Assurance maladie

Dans la version 5.0 du référentiel hors nomenclature (RHN), il existe un intitulé général désignant la détection du génome viral par PCR : « N138 RT-PCR virale (sérique, plasmatique, LCR, cellules, tissu, biopsie...) : Qualitative, Temps Réel, en 1 étape (Inclus : analyse des données) »⁴.

Dans la version actuelle de la NABM, il n'existe pas d'intitulé désignant la détection du génome des EV dans le LCR par amplification génique.

L'UNCAM n'a pas encore fixé le tarif de la détection du génome des EV dans le LCR par amplification génique.

⁴ http://wwwold.chu-montpellier.fr/publication/inter_pub/R300/A13964/RHN_Bio.V5.2.pdf, consulté en avril 2014.

2. Méthode d'évaluation

Compte-tenu des arguments suivants :

- premières données collectées convergentes avec l'objectif des demandeurs ;
- technique *a priori* déjà diffusée et utilisée ;
- absence de controverse quant à l'intérêt de cette technique ;
- demande conjointe des professionnels qui utilisent cette technique et de l'Assurance maladie qui prend la décision de prise en charge financière ;
- une **procédure d'évaluation ciblée** a été retenue au moment du cadrage (3) de cette évaluation pour répondre à cette demande.

Cette procédure d'évaluation ciblée consiste en :

- une analyse de la littérature portant sur les performances diagnostiques (ou à défaut analytiques) de la technique, et son utilité clinique (durée de l'antibiothérapie probabiliste et durée d'hospitalisation) ; identifiée après une recherche systématique sur une période définie (Tableau 1) ;
- une consultation des parties prenantes⁵ pour recueillir leurs points de vue par questionnaire.

2.1 Recherches et sélections documentaires

2.1.1 Stratégie de recherche bibliographique

La recherche documentaire a été conduite de la manière suivante (Tableau 1) :

Tableau 1. : Stratégie de recherche bibliographique

Sources interrogées	<i>Medline</i>
Recherches complémentaires	<i>Sites internet d'agences d'évaluation de technologies de santé ; site internet d'organismes professionnels français et étranger ; références des publications identifiées</i>
Période de recherche	<i>Recherche initiale : du 01/01/2004 au 29/01/2014. Recherche complémentaire pour les études de performance diagnostique : du 01/01/1998 au 01/01/2004⁶ Puis veille bibliographique mensuelle : jusqu'au 04/06/2014</i>

Cette recherche documentaire a permis d'identifier 151 documents (recherche initiale, veille, recherche complémentaire).

Les équations de recherche, les mots clés utilisés et la liste des sites internet consultés figurent en Annexe 2.

⁵ Au sens du décret 2013-413 du 21 mai 2013.

⁶ A la lecture *in extenso* des recommandations ; il a été constaté que les données concernant les performances diagnostiques émanent d'une revue générale (18) publiée en 1999. Devant la faiblesse méthodologique de ces recommandations, une recherche étendue jusqu'en 1998 a été décidée pour les études traitant des performances diagnostiques.

2.1.2 Critères de sélection

Les recommandations et études identifiées par cette recherche documentaire ont ensuite été sélectionnées sur les critères suivants (Tableau 2) :

Tableau 2. : Critères de sélection des articles identifiés, selon la présentation PICO

Patients	Patients présentant des signes cliniques de méningite éligibles à une ponction lombaire en vue d'un recueil de LCR
Intervention	Détection du génome d'EV par RT-PCR dans le LCR
Comparateurs	Culture cellulaire orientée d'EV, ou comparateur composite contenant la culture cellulaire orientée et des paramètres cliniques des patients
Critères de jugement	Performances diagnostiques, utilité clinique ⁷ (durée de l'antibiothérapie probabiliste, durée d'hospitalisation)
Délai de suivi	Pas de limitation de délai de suivi
Schéma d'étude	Recommandation répondant aux critères de qualités détaillés dans la suite de ce rapport partie (2.2)

Cette sélection a d'abord été réalisée sur titre et résumé, puis sur la publication *in extenso* (Figure 2).

Les documents non sélectionnés sur titre et résumé étaient hors sujets (ne traitant que des méningites bactériennes, ou d'une souche en particulier d'entérovirus, ou d'un autre agent infectieux impliqués dans des méningites). Cette première sélection a conduit à ne pas retenir 105 documents.

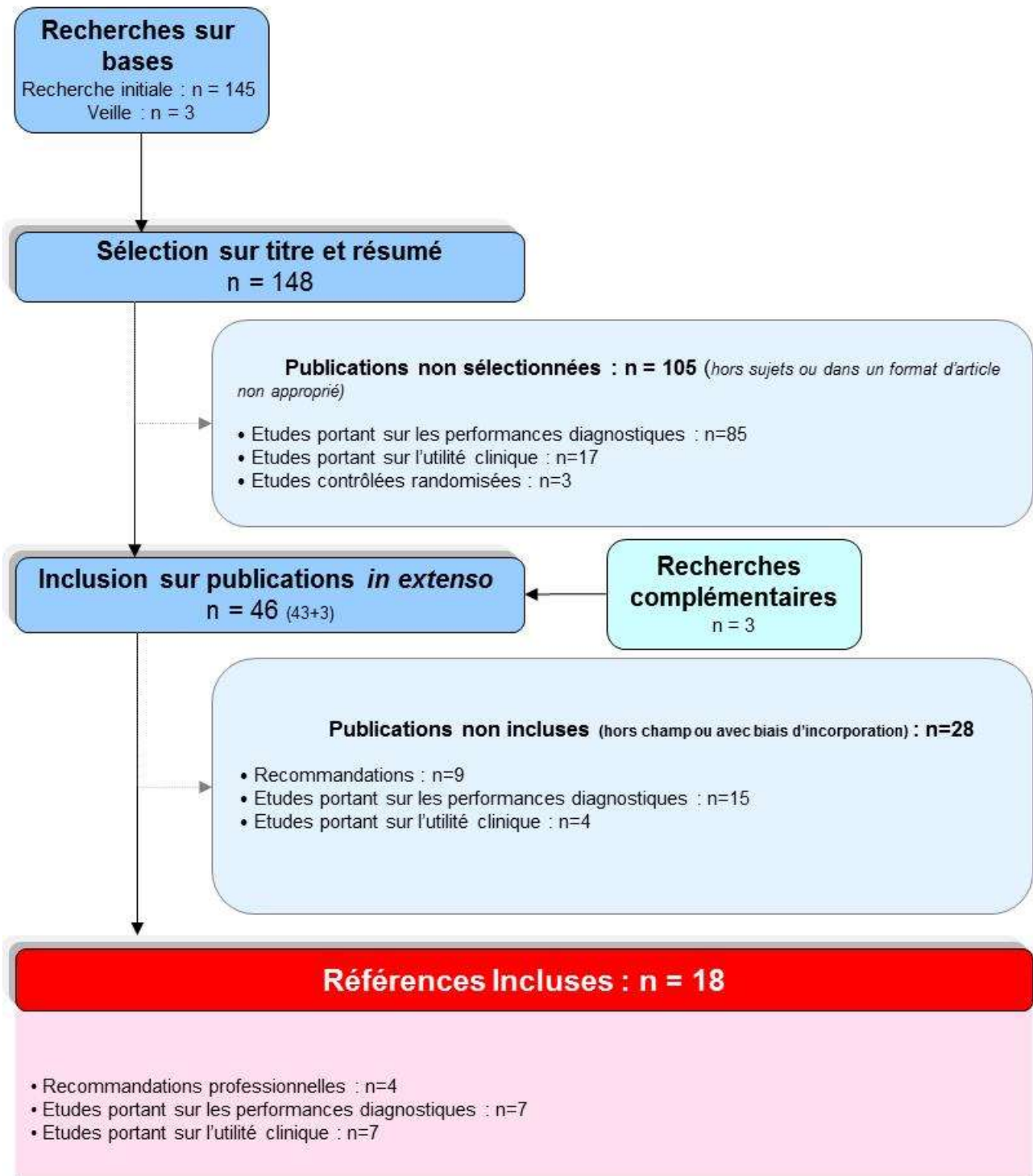
Seuls les documents retenus après lecture *in extenso* abordant au moins dans un paragraphe dédié les méningites à entérovirus et présentant un objectif général clair, des références bibliographiques, et ne présentant pas de biais d'incorporation (*i.e.*, lorsque le résultat du test diagnostique évalué est inclus dans le résultat donné par la méthode de référence, voir p. 22) ont été sélectionnés pour l'analyse de la littérature. Cette seconde sélection a écarté 28 documents.

Au total, 18 documents ont été retenus : quatre recommandations professionnelles, sept études portant sur les performances diagnostiques et sept portant sur l'utilité clinique (Figure 2).

⁷ Liste des avantages les plus fréquemment cités dans la littérature.

2.1.3 Sélection bibliographique

Figure 2. : Diagramme de sélection



2.2 Méthode d'analyse de la littérature

Ce rapport a été réalisé en appliquant la méthode générale d'évaluation de technologie de santé. La qualité méthodologique des recommandations et des études retenues dans ce rapport, a été

analysée en s'appuyant sur des items adaptés de la grille du « Guide d'analyse de la littérature et gradation des recommandations » en ligne sur le site de la HAS⁸.

2.3 Recueil du point de vue des parties prenantes

Le document de cadrage (3) et le document contenant le contexte du sujet et l'analyse des données de la littérature synthétique conduite conformément à la méthode décrite ci-avant ont été transmis aux parties prenantes pour recueillir leur point de vue.

2.3.1 Organismes professionnels consultés

Les organismes professionnels sollicités sont ceux impliqués par la prescription ou la réalisation de la détection du génome des EV dans le LCR par amplification génique.

Ces organismes sont les Conseils nationaux professionnels (CNP) des différentes spécialités médicales concernées par cette demande ou à défaut les sociétés savantes lorsque un CNP n'a pas été constitué. En substance, ont été contactés :

- le CNP de médecine d'urgence : Collège français de médecine d'urgence (CFMU) ;
- le CNP d'infectiologie : CNP-Fédération française d'infectiologie (CNP - FFI) ;
- le CNP de pédiatrie (CNP-P) ;
- le CNP de neurologie : Fédération française de neurologie (FFN) ;
- la société savante de biologie médicale : Société française de biologie clinique (SFBC)⁹.

Le Centre national de référence des entérovirus (CNR EV) a également été consulté.

2.3.2 Modalités de consultation

Ces organismes ont été sollicités en tant que parties prenantes au sens du décret n°2013-413 du 21 mai 2013¹⁰, dans le cas présent comme groupes professionnels concernés en pratique par les conséquences de ce rapport (proposition ou non d'inscription de la détection du génome des EV par amplification génique dans le LCR à la Nomenclature des actes de biologie médicale) et par la réalisation ou la prescription de cet acte. **Ils devaient à ce titre représenter et exprimer l'intérêt général de leurs membres.** Cette sollicitation a été menée conformément à la procédure de consultation des parties prenantes mise en place par la HAS¹¹.

En pratique, le président de chacun des organismes concernés (CNR, CNP, société savante) a été directement sollicité pour mandater un représentant de l'organisme en question. Cette sollicitation a eu lieu le 31 mars 2014. Le représentant désigné a alors été invité, lors d'une audition individuelle, à exprimer le point de vue argumenté de l'instance qu'il représente en répondant à un questionnaire ouvert, standardisé et rédigé par la HAS (Annexe 3). En préparation de l'audition, le représentant a reçu un exemplaire du document de la HAS contenant une présentation du contexte, l'analyse bibliographique, le questionnaire ouvert et le document de cadrage en ligne (3). Cette consultation a été conduite du 14 mai 2014 au 2 juin 2014. Les points de vue émis par les CNP sont présentés *in extenso* en Annexe 3. Chacun d'eux a été rédigé par la HAS puis, le cas échéant amendé par le représentant du CNP, et enfin validé par lui. Ces différents points de vue ont ensuite été synthétisés par la HAS dans la partie 3.2 de ce rapport.

⁸ <http://www.has-sante.fr/portail/upload/docs/application/pdf/analiterat.pdf>

⁹ Le CNP de biologie médicale n'étant pas créé en date du 2 avril 2014, date de sollicitation des parties prenantes, il a été décidé de consulter cette société savante.

¹⁰ Décret n°2013-413 du 21 mai 2013. Le quatrième alinéa de ce décret dispose que : « *La décision peut s'appuyer, si l'objet de l'expertise le justifie, sur la prise en compte des points de vue des « parties prenantes » (ou « parties intéressées »), c'est-à-dire des personnes ou groupes concernés ou susceptibles de l'être, directement ou indirectement, par les conséquences de cette décision, notamment des milieux associatifs et des acteurs économiques ou professionnels, ou qui représentent l'intérêt général de groupes concernés par ces conséquences.* »

<http://legifrance.gouv.fr/affichTexte.do?cidTexte=JORFTEXT000027434015&categorieLien=id>

¹¹ Procédure de consultation des parties prenantes de la HAS, juin 2014.

3. Résultats de l'évaluation

3.1 Performances diagnostiques et utilité clinique

A des fins de transparence et d'exhaustivité, les références retenues ont été regroupées par méthodes d'élaboration et sujet traité. Sont ainsi successivement examinés dans cette partie :

- les recommandations de bonne pratique de sociétés savantes ou d'agences d'évaluation (p. 16) ;
- les études portant sur les performances diagnostiques (p. 22) ;
- les études portant sur l'utilité clinique (p. 26).

3.1.1 Recommandations de bonne pratique

► Recommandations identifiées

La recherche bibliographique de cette évaluation a identifié quatre recommandations de bonne pratique :

- trois émanent de sociétés savantes :
 - celle de l'*Infectious Diseases Society of America* (ISDA) intitulée « *Practice guidelines for the management of bacterial meningitis* » et datant de 2004 (22) ;
 - celle de la Société de pathologie infectieuse de langue française (Spilf) intitulée « *Prise en charge des méningites bactériennes aiguës communautaires (à l'exclusion du nouveau-né)* » et datant de 2008 (11) ;
 - celle de l'*European Federation of Neurological Society* (EFNS) intitulée « *EFNS-ENS guidelines for the use of PCR technology for the diagnosis of infections of the nervous system* » et datant de 2012 (23).
- une émane d'un organisme de santé anglais :
 - celle de l'*Health Protection Agency* (HPA) intitulée « *UK standards for microbiology investigations. Investigation of viral encephalitis and meningitis. UK standards for microbiology investigations* » et datant de 2011 (24).

Ces recommandations portent globalement sur les infections du système nerveux. Elles traitent de plusieurs agents infectieux (bactéries, virus) ; et, dans un paragraphe dédié aux entérovirus, elles abordent toutes l'utilisation de la PCR EV dans le LCR lors d'une suspicion de méningites et forment des recommandations incluant cette technique. Deux d'entre elles traitent principalement des méningites bactériennes (11, 22) ; les deux autres abordent plus largement sur les infections du système nerveux (23, 24).

► Analyse méthodologique

La qualité méthodologique de ces recommandations a été analysée en s'appuyant sur les items adaptés de la grille du « Guide d'analyse de la littérature et gradation des recommandations » en ligne sur le site de la HAS⁸, comme précisé dans la partie 2.2 de ce rapport (Tableau 3).

Ces items visent pour l'essentiel à vérifier le caractère systématique de l'analyse réalisée et à s'assurer de la possibilité de définir le niveau d'évidence scientifique émanant des données.

Les schémas des études incluses ne sont pas indiqués dans ces recommandations. Elles incluent notamment des études de performances diagnostiques (23, 24) avec comme comparateur la culture cellulaire orientée d'EV, et des revues générales (11, 22, 24) (Tableau 3).

Les recommandations de l'HPA (24) et de l'EFNS (23) ont été élaborées sur la base d'une analyse critique de la littérature ; elles répondent à la moitié des critères sélectionnés. A l'inverse, les recommandations de l'ISDA et de la Splif ne présentent pas d'analyse critique et ne décrivent pas la

méthode de formulation des recommandations. L'ensemble de ces quatre documents ne différencient pas explicitement les données de la littérature et l'avis d'experts consultés.

Au regard de cette analyse critique, ces quatre recommandations sont de niveau méthodologique faible.

► Analyse des résultats

L'ensemble de ces recommandations affirme que la PCR EV présente de meilleures performances diagnostiques que la culture cellulaire orientée d'EV (Tableau 4).

Trois d'entre elles mentionnent des intervalles de sensibilité (Se) et de spécificité (Sp) de la PCR EV par rapport à la culture cellulaire : Se [86-100 %] et Sp [92-100 %] (11, 22, 23). Ces intervalles proviennent de la même revue générale publiée en 1999 dont la qualité méthodologique est faible (18 27). **Il est à noter que ces valeurs sont inférieures à 100 %, donc contrairement à ce qu'affirment ces recommandations elles ne permettent pas à elles seules d'affirmer que la performance diagnostique de la PCR-EV est supérieure à celle de la culture cellulaire prise comme référence.** Les recommandations de l'*EFNS* (23) indiquent également que la PCR EV présente de très bonnes performances diagnostiques, sans mentionner de valeurs chiffrées.

Trois recommandations affirment également, sans non plus mentionner de valeurs chiffrées, que le recours à la PCR EV améliore la prise en charge des patients en matière de :

- diminution de la durée de l'antibiothérapie probabiliste (11, 22) ;
- réduction de la durée d'hospitalisation (22, 23) ;
- réduction du nombre de réalisation de PCR bactériennes (11).

Aucune de ces quatre recommandations ne traite de la spécificité analytique de la PCR EV. En effet elles ne font pas mention de patients dont la PCR-EV aurait été :

- 1) soit positive à tort (faux positif) ; par exemple un patient infecté par un autre agent infectieux que les EV ;
- 2) soit positive à EV mais co-infecté par un autre agent infectieux (bactérie, HSV, VZV...) responsable de la méningite.

De telles situations sont à éviter car le rendu d'un résultat PCR EV positif pourrait entraîner à tort l'arrêt de l'antibiothérapie et la sortie anticipée du patient, ce qui peut avoir des conséquences dramatiques si le patient présente une méningite herpétique ou bactérienne.

Sur ces critères ainsi analysés, ces quatre recommandations concluent toutes à l'utilisation de la PCR EV, mais présentent des formulations hétérogènes quant à son indication. L'*IDSA* recommande l'utilisation de la PCR EV dans les suspicions de méningites (22) ; la *Splif* la recommande dans les cas de faible suspicion de méningite bactérienne (11) ; l'*HPA* ne formule pas d'indication (24) ; l'*EFNS* formule des indications plus larges où la PCR EV est à utiliser chez les patients présentant des signes de méningites (23).

► **Conclusions de l'analyse des recommandations**

Au final, quatre recommandations de bonne pratique ont été identifiées, qui **sont de qualité méthodologique faible** (Tableau 3).

L'ensemble de ces recommandations sont en faveur de l'utilisation de la technique de détection du génome des EV par amplification génique dans le LCR de patients présentant des symptômes d'une méningite ou méningo-encéphalite.

Les avantages de la PCR EV mentionnés dans ces recommandations sont : 1) les performances diagnostiques élevées, 2) la diminution de la durée d'hospitalisation, l'arrêt anticipé de l'antibiothérapie probabiliste et la diminution du nombre de réalisation de PCR bactériennes (Tableau 4).

Il est à noter qu'à l'exception des performances diagnostiques, ces affirmations ne s'appuient pas sur des données chiffrées. De plus les valeurs mentionnées pour les performances diagnostiques proviennent d'une seule revue générale.

Tableau 3. : Grille d'évaluation de la qualité des recommandations utilisée pour analyser les publications évoquant l'utilisation de la PCR EV sur le LCR

	Agence ou société savante, année (Pays)	IDSA, 2004 (EU) (22)	Spilf, 2008 (Fr) (11)	HPA, 2011 (UK) (24)	EFNS-ENS, 2012 (Eu) (23)
Description	<i>Période de recherche</i>	-	-	?	1966-2011
	<i>Bases consultées mentionnées</i>	-	-	-	MEDLINE
	<i>Schéma des études retenues (nombre)</i>	étude observationnelle (n=1) revue générale (n=1)	revue générale (n=1)	études de performances diagnostiques (n=2) revue générale (n=1)	études de performances diagnostiques (n=2) revue systématique (n=1)
Contexte & objectifs	<i>Le contexte d'élaboration est précisé</i>	-	✓	✓	-
	<i>L'objectif est précisé</i>	✓	✓	?	✓
	<i>Les populations concernées sont précisées</i>	✓	✓	-	✓
Méthodologie	<i>La méthode employée pour l'élaboration est clairement présentée</i>	-	-	-	?
	<i>Les critères de jugement des études qui ont servi à élaborer les recommandations sont explicités</i>	-	-	-	-
	<i>Comparateur</i>	culture cellulaire orientée d'EV	-	culture cellulaire orientée d'EV	culture cellulaire orientée d'EV
	<i>Sources des données consultées définies</i>	-	-	✓	✓
	<i>Critères de sélection des études définis</i>	-	-	-	-
	<i>Liens d'intérêts des auteurs, décrits</i>	✓	-	✓	-

	Agence ou société savante, année (Pays)	IDSA, 2004 (EU) (22)	Spilf, 2008 (Fr) (11)	HPA, 2011 (UK) (24)	EFNS-ENS, 2012 (Eu) (23)
	<i>Critères d'évaluation des études définis et analyse de la qualité des études incluses</i>	-	-	-	-
	<i>Gradation du niveau de preuve</i>	✓	-	-	✓
	<i>Description de la méthode utilisée pour formuler les recommandations</i>	-	-	✓	✓
	<i>L'argumentaire des recommandations est précisé</i>	-	-	-	?
Les recommandations	<i>Gradation des recommandations</i>	✓	-	-	✓
	<i>Les conclusions correspondent aux informations analysées</i>	✓	✓	✓	✓
	<i>Les recommandations sont claires et précises</i>	✓	✓	-	✓
Validation	<i>Un processus de validation est mentionné</i>	-	-	-	-

✓ : description adéquate ; ? : description incomplète ; - : description absente ; IDSA : Infectious Diseases Society of America ; EU : Etats Unis ; EV : enterovirus ; E : Europe ; HPA : Health Protection Agency

Tableau 4. : Principales conclusions des recommandations identifiées

	IDSA, 2004 (EU) (22)	Spilf, 2008 (11)	HPA, 2011 (UK) (24)	EFNS-ENS, 2012 (E) (23)
Conclusions	<p>Meilleures performances diagnostiques que la culture cellulaire orientée Se [86-100%] Sp [92-100%]*</p> <p>Réduction probable de la durée du traitement antibiotique probabiliste et la durée d'hospitalisation**</p> <p>RT-PCR EV recommandée chez les patients présentant des signes de méningite (II grade B)</p>	<p>Performances diagnostiques Se [86-100%] Sp[92-100%]*</p> <p>Impact sur la prise en charge des patients en termes d'arrêt de l'antibiothérapie probabiliste et réduction du nombre de PCR bactériennes.</p> <p>RT-PCR EV recommandée dans les cas de méningite à faible suspicion bactérienne.</p>	<p>Meilleures performances diagnostiques que la culture cellulaire orientée (pas de données chiffrées)</p>	<p>Résultat rendu en moins de 24h</p> <p>Meilleures performances diagnostiques que la culture cellulaire orientée Se [86-90%] Sp[92-100%]</p> <p>Impact sur la prise en charge du patient en réduisant la durée d'hospitalisation</p> <p>RT-PCR EV recommandée dans les suspicions de méningite à EV et les patients présentant des signes clinique d'une méningoencéphalite (II grade B)</p>

*IDSA : Infectious Diseases Society of America ; EU : Etats Unis ; EV : enterovirus ; E : Europe ; HPA : Health Protection Agency ; [] intervalles des valeurs des performances diagnostiques indiquées dans les recommandations
* : issue de la revue générale (18 27) ** : pas de données chiffrées*

3.1.2 Les études portant sur les performances diagnostiques

► Présentation des études et analyse méthodologique

La sélection entreprise dans ce rapport a permis de retenir 14 articles traitant des performances diagnostiques de la PCR-EV (Tableau 5, Tableau 6) (25-38).

Tous traitent des techniques de PCR EV et de culture cellulaire orientée d'EV. Les populations étudiées par ces études comportent toutes des adultes et des enfants, sauf l'étude de Guney *et al.*, qui ne porte que sur des enfants (27).

► Analyse méthodologique

La qualité méthodologique de ces études a été analysée en s'appuyant sur des items adaptés de la grille du « Guide d'analyse de la littérature et gradation des recommandations » en ligne sur le site de la HAS⁸.

Le test de référence est systématiquement documenté. Ces études ont inclus des patients pour lesquels le test étudié (PCR EV) et le test de référence ont été réalisés. Selon les études, le test de référence est la culture cellulaire orientée d'EV avec une ou plusieurs lignées cellulaires ; soit d'un test de référence composite.

Ce test composite inclus le plus souvent le résultat des différents tests : 1) la PCR EV, 2) la culture cellulaire orientée, 3) les signes cliniques compatibles avec une méningite à EV sans détection d'autres agents infectieux.

Dans la plupart des études avec un test de référence composite, un patient est considéré comme malade (présentant une méningite à EV) s'il répond à un et/ou plusieurs de ces trois critères. La définition et le périmètre exact des critères diffèrent selon les études ; cependant ils incluent toujours la PCR EV. **Le test de référence incluant le test à évaluer est un biais majeur dit d'incorporation, limitant la confiance dans les résultats présentés par ces études.** Les sept études incluant un test de référence composite sont par conséquent exclues de l'analyse critique de la littérature (31-37).

La conformité des études identifiées (25-30, 38) à ces minimums méthodologiques se révèle homogène et faible le plus souvent. Aucune d'entre elles ne traite de l'utilité clinique. Les biais majoritairement relevés sont l'absence des descriptions : de la population étudiée (2/7), des exclusions (6/7) et de la méthode d'analyse des résultats (il n'est pas précisé si les examens sont menés en aveugle) (14/14) (Tableau 5, Tableau 6).

► Analyse des résultats

Six des sept études utilisent la culture cellulaire orientée d'EV comme test de référence unique (25-30). Dans ces six études, la PCR EV, comparée à la culture cellulaire, présente des performances diagnostiques élevées comprises dans les intervalles suivant : sensibilité (Se) [86-100 %], spécificité (Sp) [33-96 %], valeur prédictive positive (Vpp) [27-89 %], valeur prédictive négative (Vpn) [75-100 %]. **Il est à noter que ces valeurs sont inférieures à 100 %, elles ne permettent pas à elles seules d'affirmer que la performance diagnostique de la PCR-EV est supérieure à celle de la culture cellulaire prise comme référence.**

Pour une de ces 7 études, l'ensemble de la population étudiée est considérée, par les auteurs, comme ayant une méningite à EV (sur la base des signes cliniques des patients). Dans cette étude, la PCR EV présente une Se 85 % contre 24 % pour la culture cellulaire (Tableau 5, Tableau 6).

Il est à noter que toutes ces études comportent des patients avec un résultat discordant.

- Tout d'abord, toutes ont inclus des patients dont le résultat est positif pour la PCR EV et négatif pour la culture cellulaire. Les patients présentant ce type de résultats discordants sont toujours considérés comme ayant une méningite à EV non diagnostiquée par culture cellulaire, mais

diagnostiquée par la RT-PCR. Ceci est donc présenté comme un avantage de la PCR EV qui détecte entre 10 et 72 %¹² de cas de méningite à EV en plus, non détectés par la culture cellulaire (Tableau 5, Tableau 6). Cette différence est expliquée, par les auteurs, par une meilleure sensibilité de la technique PCR EV par rapport à la culture cellulaire.

- A l'inverse, trois études, (27, 29, 30) présentent des cas de résultats discordants où le résultat de la PCR EV est négatif alors que la culture cellulaire est positif. L'ensemble de ces cas sont considérés comme de vrais positifs dont la cause serait la destruction de l'ARN viral dans la procédure de conservation de l'échantillon de LCR, ou la présence d'inhibiteurs empêchant la réaction de RT-PCR.

Les conclusions de ces études sont cohérentes et les auteurs de ces études indiquent que la PCR EV est un outil diagnostique fiable utilisable en routine et qui apporte un résultat fiable plus rapidement que la culture cellulaire (Tableau 5, Tableau 6).

► Conclusions de l'analyse des études de performances diagnostiques

Au total, ce rapport présente les résultats de sept études portant sur les performances diagnostiques. **Ces études présentent pour la plupart des biais majeurs et sont de qualité méthodologique faible.**

Elles indiquent que la PCR EV est un outil techniquement fiable, utilisable en routine.

En ce qui concerne les performances diagnostiques, ces études semblent indiquer que la PCR EV permet de diagnostiquer des cas de méningites qui restent non détectables par les techniques de cultures cellulaires (entre 10 et 72 % de patients identifiés en plus, selon les études).

Les conclusions de ces études sont homogènes et sont toujours favorables à l'utilisation de la PCR EV.

¹² Calculé par le ratio du nombre de patients PCR positif et culture cellulaire négatif, sur le nombre totale de patient PCR positif.

Tableau 5. : Analyse et résultats des études portant sur les performances diagnostiques (1/2)

Références	Pays	Objectifs clairement définis	Type d'étude	Méthode de sélection des patients	Description de la population effectif (n)	Description des exclusions	Description du test étudié	Résultats analysés en aveugle	Test de référence décrit	Perf diag PCR	Perf diag culture cellulaire orientée	% patients « diagnostiqués » par PCR et « non diagnostiqué » par la culture cellulaire †
Caroll, et al., 2006 (30)	RU	✓	P-	?	✓ (n=40)	-	✓	-	✓(culture cellulaire) n'est pas appliqué à toute la population	Se* 100 % Sp* 33% Vpp* 27% Vpn* 75%	na	(8/11) 72%
Guney et al., 2003 (27)	Turquie	✓	-	-	✓ (n=68 enfants)	-	✓	-	✓(culture cellulaire)	Se 89 % Sp 66% Vpp 74% Vpn 84%	na	(11/43) 25%
Jacques et al., 2003 (28)	France	✓	R Mono	-	✓ (n=54)	-	✓	-	✓(culture cellulaire)	Se* 100 % Sp* 42% Vpp* 65% Vpn* 100%	na	(15/43) 34%
Verstrepen et al., 2001 (25)	Belgique	✓	-	-	- (n=70)	-	✓	-	✓ (culture cellulaire)	Se 100% Sp 96% Vpp 89% Vpn 100%	na	(2/19) 10%
Young et al., 2000 (26)	EU	✓	-	-	- (n=198)	-	✓	-	✓ (culture cellulaire)	Se 100% Sp 77% Vpp* 45% Vpn* 100%	na	(38/70) 54%

✓ : description adéquate ; ? : description incomplète ; - : description absente ; Se : sensibilité ; Sp : Spécificité ; Vpp : Valeur prédictive positive ; Vpn : Valeur prédictive négative ; perf diag : performance diagnostique ; R : rétrospectif ; P : prospectif ; Multi : multicentrique ; Mono : Monocentrique ; na : non applicable ; EU : Etat-Unis ; nd : données non disponibles. * : Valeurs calculées à partir de données de l'étude † : Calculé par le ratio du nombre de Patients PCR positif et culture cellulaire négatif sur le nombre totale de patient PCR positif.

Tableau 6. : Analyse et résultats des études portant sur les performances diagnostiques (2/2)

Références	Pays	Objectifs clairement définis	Type d'étude	Méthode de sélection des patients	Description de la population effectif (n)	Description des exclusions	Description du test étudié	Résultats analysés en aveugle	Test de référence décrit	Perf diag PCR	Perf diag culture cellulaire orientée	% patients « diagnostiqués » par PCR et « non diagnostiqué » par la culture cellulaire †
Van Vliet et al., 1999 (29)	Pays-Bas	✓	- Multi	-	✓ (n=476)	-	✓	-	✓ (culture cellulaire)	Se 86 % Sp 94% Vpp 62% Vpn 98%	na	(19/68) 28%
Gorgievski-Hris et al., 1998 (38)	Suisse	✓	- Mono	?	✓ (n=68)	✓	✓	-	✓	Se 85% ‡	Se 24%	(42/58) 72%

‡ : Il n'y a pas de patient « non malade » permettant de calculer le Sp, tous les patients testés sont considérés comme malade (méningite à EV).

3.1.3 Etudes portant sur l'utilité clinique

► Présentation des études et analyse méthodologique

La sélection entreprise dans ce rapport a permis de retenir sept articles traitant de l'utilité clinique avec pour critères de jugements récurrent la diminution de la durée d'hospitalisation et l'arrêt de l'antibiothérapie probabiliste (Tableau 7) (17, 39-44). Il est à noter que six des sept études (17, 39-43) n'abordent pas l'impact de la PCR EV sur le recours à des examens complémentaires (PCR bactérienne) qui est aussi un des critères de jugement indiqué par la Spilf dans ces recommandations (11). Seule l'étude d'Archimbaud *et al.*, de 2013 (44), aborde la réalisation d'examen complémentaire sans présenter de résultat statistiquement significatif.

L'ensemble des études traitent des techniques de PCR EV et des conséquences sur la prise en charge des patients. Les populations étudiées dans ces études ne sont pas homogènes et divergent selon l'âge des patients (nouveau-nés, enfants, adultes).

► Analyse méthodologique

Les schémas des études sont hétérogènes dans les groupes comparés :

- une étude compare les groupes constitués par les patients présentant un résultat positif à la PCR (PCR+) contre ceux présentant un résultat négatif (PCR-) (39) ;
- deux études comparent les deux groupes (PCR+, PCR-) à un groupe de patients non testés par PCR (40, 41) ;
- deux études font des associations entre la durée d'hospitalisation et différents paramètres dont le rendu du résultat « PCR+ » (42) ou le délai de rendu du résultat « PCR+ » (44) en utilisant un modèle de régression linéaire multivarié ;
- une étude compare les paramètres tels la durée d'hospitalisation, le recours et la durée des traitements probabilistes, le recours à un examen complémentaire (tonodensitométrie) entre deux périodes de temps (2005 et 2008) dans un même service avec la même technique de PCR EV chez des patients (nourrissons, enfants, adultes) « PCR+ » (44) ;
- une autre étude compare deux groupes dont le résultat est PCR+, rendu dans les 24h ou après un délai de 24h (17) ;
- une dernière étude compare deux techniques de PCR différentes (commerciale et « maison ») (43).

La qualité méthodologique de ces études a été analysée en s'appuyant sur des items adaptés de la grille du « Guide d'analyse de la littérature et gradation des recommandations » en ligne sur le site de la HAS⁸.

La conformité des études identifiées à ces minimums méthodologiques se révèle homogène et faible.

Le test évalué (PCR EV) est systématiquement documenté. La plupart des études sont rétrospectives avec un nombre limité de patients. Le recrutement des patients n'est que rarement clairement documenté, sauf dans deux études qui indiquent que la population a été sélectionnée de manière consécutive (Tableau 7). Les biais majoritairement relevés sont :

- des biais de sélection des patients ; par exemple les études ne traitent pas des patients PCR-, des patients admis hors heures ouvrables du laboratoire de virologie, des patients traités par antibiotiques avant le prélèvement de LCR, ou ne documentent pas les conditions aboutissant à la non-réalisation du test de PCR (17, 40-42, 44) ;
- des biais de confusion liés notamment à la comparaison de groupes de patients issus de différentes périodes (43, 44) ;
- des biais liés aux conditions de rendu des résultats (délais de rendu des résultats inconnus, analyse des résultats en aveugle non précisée) (39).

Ces biais majeurs limitent la confiance dans les résultats présentés par ces études et rendent difficile l'extrapolation à la population générale dans les conditions de réalisation de la PCR EV sur le terrain (par exemple dans centre non expert, hors jours ouvrés).

► Analyse des résultats

Deux des six études indiquent qu'un résultat PCR+ permet une réduction statistiquement significative de la durée d'hospitalisation (de 12h à 36h) (40, 41) et cela par rapport au groupe PCR- et/ou au groupe non testé. Ces deux études ne comportent pas de patients adultes. Michos et al. indiquent que cette réduction permettrait la réduction des coûts liés à l'hospitalisation (40). Dewan et al. précisent que l'examen PCR EV est pratiqué quotidiennement et que presque tous les résultats sont rendus en 36h (41). Dans cette même étude, qui porte sur des nouveau-nés de moins de 56 jours, les auteurs signalent qu'un seuil (environ 36h) est vraisemblablement atteint en dessous duquel le clinicien n'est pas enclin à faire sortir le patient quand le résultat à la PCR EV est positif (41). Il est à noter que seule l'étude de Michos et al. a étudié la durée de l'antibiothérapie probabiliste, et n'a pas identifié de différence significative (40).

L'étude de King et al. sur les nouveau-nés, conclut que la PCR+ est associée à une réduction statistiquement significative de la durée d'hospitalisation de 1,5 jours et de l'antibiothérapie d'environ 30 % (42). Les auteurs précisent que ce gain n'est possible que si l'examen est pratiqué quotidiennement en période épidémique et si le résultat est rendu rapidement (médiane de 23h entre la prescription et le résultat).

Selon Archimbaud et al. (17), la réduction de la durée de l'antibiothérapie est conditionnée par un rendu rapide des résultats de la PCR. Dans cette étude, la PCR EV est pratiquée en routine 5 jours sur 7. Selon cette étude, un rendu positif dans les 24h permet une réduction statistiquement significative de la durée de l'antibiothérapie d'environ 2 jours, sans modification significative de la durée d'hospitalisation par rapport au groupe résultat PCR+ rendu en plus de 24h. Les auteurs précisent cependant, que la durée d'hospitalisation est plus courte en semaine par rapport au week-end. Les auteurs indiquent par ailleurs, que la durée d'hospitalisation avec un résultat PCR+ n'est pas consistante entre les différentes classes d'âges. Les enfants bénéficient d'une sortie plus rapide (dans les 24h après résultat PCR+ pour 95 % des enfants) alors que les nourrissons et adultes restent plus longtemps, environs deux jours, après le résultat PCR EV positif. Les auteurs expliquent ces différences par la prudence du clinicien qui préfère garder sous surveillance les nouveau-nés après l'arrêt de l'antibiothérapie probabiliste, et qui reste ouvert à d'autres étiologies chez l'adulte. Enfin, les auteurs indiquent que ces résultats orientent vers une pratique quotidienne de la PCR EV, qui devrait être un examen initial dans la prise en charge des méningites. Ils précisent que la décision finale de sortie du patient est réalisée par le clinicien en s'appuyant, en plus du résultat de la PCR, sur l'évolution de l'état global du patient en tenant compte des conditions sociaux-économiques dans lesquelles évolue le patient.

Les travaux de l'étude Archimbaud et al. (17) ont été complétés par une étude plus récente de 2013 (44). Les auteurs indiquent notamment qu'ils ont mis en évidence une amélioration de la prise en charge des patients entre ces deux périodes (2005, 2008-9), illustrée par des réductions significatives des durées d'hospitalisation (0,7 jours pour les enfants et 2 jours pour les adultes) et des durées de l'antibiothérapie probabiliste (1 jour pour les nourrissons et 2 jours pour les adultes). Selon les auteurs, ces améliorations sont d'origine multifactorielle dont la rapidité de remise des résultats de la PCR, l'expérience du clinicien et sa réactivité de décision. Il faut noter que cette étude inclue seulement les patients « PCR+ » se présentant du dimanche matin au vendredi matin. Chez la quasi-totalité des adultes et des nourrissons un traitement probabiliste est initié ; alors que chez les enfants un tel traitement est initié chez moins de 10% d'entre eux (période 2008-9). Ainsi sur l'arrêt des traitements probabilistes, dans ce centre expert, le gain le plus évident, semble concerner les nourrissons et les adultes. Les auteurs relèvent que le recours à un traitement probabiliste est plus large (entre 76-100% des patients) dans les autres études.

L'étude de Huizing et al., qui compare deux techniques de PCR, indique que la technique commerciale dont le rendu des résultats est plus rapide permet une réduction des durées d'hospitalisation et de l'antibiothérapie de deux jours environ. Il faut noter que cette étude comporte des biais importants, notamment en raison de la comparaison de deux techniques à deux périodes différentes et donc sur des populations différentes. Les auteurs précisent qu'il est possible qu'un rendu de résultat PCR+ ait une part différente dans les décisions du clinicien selon les périodes de l'étude, et qu'il soit progressivement plus enclin à faire sortir les patients. Les auteurs concluent, que la PCR EV, dans une pratique quotidienne, permet une réduction des coûts pour l'établissement de santé (43).

Selon Stonehouse et al., dont l'étude porte sur un effectif limité, et dont notamment les raisons de la « non-réalisation » de la PCR EV ne sont pas renseignées ; le résultat PCR+ n'est pas associé à une réduction de durée d'hospitalisation et de l'antibiothérapie (39).

Il faut noter que deux études mentionnent la possibilité de co-infection (EV + autre agents infectieux responsable de méningites). Les auteurs qualifient ce risque de faible, et précisent que l'interprétation des résultats de la PCR EV doit se faire en tenant compte de l'état global du patient (41, 42).

► Conclusion

Au total, ce rapport présente les résultats de sept études, portant sur l'utilité clinique de la PCR EV, dont les deux critères principaux sont les durées de l'hospitalisation et de l'antibiothérapie. Aucune de ces études n'a mesuré l'impact du résultat de la PCR EV sur l'arrêt des autres investigations étiologiques.

Ces études présentent pour la plupart des biais majeurs, sont de qualité méthodologique faible.

Six des sept études indiquent que le recours à la PCR EV permet une amélioration de la prise en charge des patients en réduisant significativement les durées d'hospitalisation (5/7) et/ou de l'antibiothérapie (4/6). Trois études n'ont pas trouvé de différences significatives soit dans la durée d'hospitalisation (2/7), et/ou dans la durée de l'antibiothérapie probabiliste (2/6).

Les conclusions de ces études sont homogènes pour la plupart et sont favorables à l'utilisation de la PCR EV.

Tableau 7. : Analyse et résultats des études portant sur l'utilité clinique

Références	Pays	Objectifs clairement définis	Type d'étude	Méthode de sélection des patients	Description de la population effectif (n)	Description des exclusions	Schéma de l'étude	Critères de jugements principaux	Biais majeurs	Résultats
Archimbaud <i>et al.</i> , 2013 (44)	France	✓	P	✓ consécutif	✓ (n=98 nouveau-nés enfants adultes)	✓	Patient tous PCR+ comparaison des critères de prise en charge du patient sur deux périodes de temps (2005, 2008-9)	Durée -hospitalisation -antibiothérapie	Biais de sélection, de confusion, multiplicité statistique	Réduction des durées de traitement (1 j nouveau-né et 2 j adultes) et hospitalisation (0,7 j enfants et 2 j adultes), entre les deux périodes étudiées.
Stonehouse <i>et al.</i> , 2012 (39)	Australie	✓	R	✓ consécutif	✓ (n=43 enfants adultes)	✓	Comparaison -PCR+ -PCR-	Durée -hospitalisation -antibiothérapie	Biais lié aux conditions de rendu du résultat	Pas de différence entre les deux groupes
Huizing <i>et al.</i> , 2011 (43)	Pays-Bas	✓	P	-	✓ (n=36)	✓	Comparaison -PCR maison (résultats dans les 3-7j) -PCR commerciale (résultats dans les 3h-1j)	Durée -hospitalisation -antibiothérapie	Biais de confusion (différentes périodes, différentes techniques de PCR)	PCR commerciale associée à une réduction de la durée d'hospitalisation (-2j), et de l'antibiothérapie (-2j)
Archimbaud <i>et al.</i> , 2009 (17)	France	✓	P	✓ consécutif	✓ (n=69 nouveau-nés enfants adultes)	-	Comparaison -PCR + (résultats <24h) -PCR + (résultats >24h)	Durée -hospitalisation -antibiothérapie	Biais de sélection	Le rendu des résultats dans les 24h est associé à une réduction de la durée de l'antibiothérapie (-2j)
King <i>et al.</i> , 2007 (42)	EU	✓	R	-	✓ (n=242 nouveau-nés*)	-	Etude d'association régression linéaire multivariée avec PCR+	Durée -hospitalisation -antibiothérapie	Biais de sélection (exclusion PCR- ayant autre infection)	La PCR+ est associée à une réduction de la durée d'hospitalisation (-1,5j) et d'antibiothérapie (-34%)
Michos <i>et al.</i> , 2007 (40)	Grèce	✓	R	-	✓ (n=506 enfants)	✓	Comparaison -PCR+ -PCR- -non testé PCR	Durée -hospitalisation -antibiothérapie	multiplicité statistique biais de sélection	La PCR+ est associée à une réduction de la durée d'hospitalisation (-1j) par rapport aux patients PCR- et non testés par PCR
Dewan <i>et al.</i> , 2010 (41)	EU	✓	R	-	✓ (n=1231 nouveau-nés†)	✓	Comparaison des patients -PCR+ -PCR- -Non testés	Durée hospitalisation	Biais de sélection	La PCR+ est associée à une réduction de la durée d'hospitalisation (-26%=- 12h†) par rapport aux patients non testés par PCR

✓ : description adéquate ; ? : description incomplète ; - : description absente ; Se : sensibilité ; Sp : Spécificité ; Vpp : Valeur prédictive positive ; Vpn : Valeur prédictive négative ; perf diag : performance diagnostique ; R : rétrospectif ; P : prospectif ; Multi : multicentrique ; Mono : Monocentrique ; na : non applicable ; EU : Etat-Unis ; nd : données non disponibles. * : âgés de moins de 90 jours ; † : âgés de moins de 56 jours ; ‡ : Calculé à partir de la médiane de la durée d'hospitalisation pour l'ensemble des patients qui est de 2 jours

3.1.4 Synthèse de la littérature analysée

Au final, les données de la littérature sélectionnée, quatre recommandations professionnelles, sept études cliniques sur les performances diagnostiques, et sept études sur l'utilité clinique ; **convergent toutes globalement vers l'intérêt de la PCR EV dans les méningites.**

Elles ne sont donc pas en opposition avec les arguments et les objectifs de la demande et soutiennent la détection par amplification génique du génome des EV dans le LCR dans les méningites.

Il faut noter cependant qu'elles sont de qualité méthodologique faible, ce qui induit en l'état une confiance modeste dans ces résultats. Certaines études n'ont pas identifié de réductions significatives de l'antibiothérapie et de la durée d'hospitalisation. Enfin, aucune étude n'a identifié une réduction de la réalisation d'examens complémentaires.

3.2 Point de vue des parties prenantes

3.2.1 Organismes consultés

Comme indiqué dans la partie 2.3.1, les organismes professionnels consultés ont été les CNP des différentes spécialités médicales concernées par cette demande ou à défaut les sociétés savantes lorsque le CNP n'est pas constitué :

- le CNP de médecine d'urgence : Collège français de médecine d'urgence (CFMU) ;
- le CNP d'infectiologie : CNP-Fédération française d'infectiologie (CNP - FFI) ;
- le CNP de pédiatrie (CNP-P) ;
- le CNP de neurologie : Fédération française de neurologie (FFN) ;
- la société savante de biologie médicale : Société française de biologie clinique (SFBC).

Le Centre national de référence des entérovirus (CNR EV) a également été consulté.

3.2.2 Synthèse des réponses des parties prenantes

Les questions et les réponses apportées lors de l'audition et validées respectivement par chacun des représentants des parties prenantes, sont publiées *in extenso* en Annexe 3 à la fin de ce rapport.

L'ensemble des réponses des parties prenantes sur les différents points abordés vont globalement dans le même sens.

► Indications de la PCR EV

Les parties prenantes indiquent toutes que la PCR EV est indiquée pour des suspicions de méningites, mais émettent des nuances quant au périmètre exact où elle doit être réalisée.

Trois des six parties prenantes indiquent que la PCR EV est indiquée dans les méningites qui ne sont pas d'évidence bactérienne ou qui sont de faible suspicion bactérienne (FFI, FFN, CFMU). Deux autres proposent cet examen dans toutes les méningites aiguës (CNR EV) ou dans les méningites d'allure virale (SFBC). Pour le CNP de pédiatrie, la PCR EV présente un intérêt pour les suspicions de méningite qui ne sont ni d'évidence bactérienne, ni d'évidence virale.

Trois des six parties prenantes précisent l'indication en positionnant ce test de PCR EV en 2^{ème} ligne après l'obtention des résultats des examens directs, biochimiques, cytologiques du LCR (CNP-P, SFBC, CFMU). Les autres parties prenante ne précisent pas sa position (FFI) ou

le préconise en 1^{ère} ligne en même temps que les autres examens courant du LCR (CNR EV, FFN).

La plupart des parties prenantes indiquent que la PCR EV doit être pratiquée quel que soit l'âge du patient (FFN, SFBC, FFI, CNR EV).

Il est à noter que trois parties prenantes (FFI, SFBC, CNP-P) élargissent l'indication aux patients présentant des signes d'encéphalite et positionnent le test en 2^{ème} ligne après la PCR HSV/VZV.

► Diffusion de la technique

Toutes les parties prenantes indiquent que la technique s'est diffusée à partir des années 2000 et, est présente actuellement dans la plupart des hôpitaux en France. Cependant, le CFMU et la SFBC précisent que tous les hôpitaux en France ne disposent pas de la technique et envoient alors leurs prélèvements vers des structures plus importantes.

► Impact du résultat de la PCR EV sur la prise en charge du traitement (utilité clinique)

Toutes les parties prenantes ont indiqué, que le recours à la PCR EV permet une interruption rapide du traitement probabiliste ; et permet aussi une sortie du patient de l'hôpital. Les parties prenantes ont indiqué qu'un résultat PCR EV positif, apporte une certitude sur l'étiologie de la méningite et épargne la réalisation d'examen complémentaire ; notamment ceux liés à la recherche d'autres agents infectieux (PCR d'autres agents infectieux) et les examens d'imagerie. Elles ont souligné qu'un résultat PCR EV positif, rendu rapidement, informe sur le caractère de bénignité de la méningite est permet donc de rassurer le clinicien et l'entourage du patient.

L'ensemble des parties prenantes précise cependant que les décisions d'arrêt du traitement probabiliste et de sortie de l'hôpital ne peuvent se faire sur le seul résultat positif de la PCR EV. Le clinicien doit considérer l'ensemble de données biologiques, cliniques, et l'état général du patient.

► Condition particulières et condition de réalisation.

Deux parties prenantes (FFN, CNP-P) ont indiqué avoir relevé chacune un article mentionnant des cas de co-infections (EV et bactérie, ou EV et autres virus) (15, 45). Cependant, toutes les parties prenantes indiquent que les co-infections sont extrêmement rares et qu'elles s'accompagnent probablement d'un tableau clinique plus complexe que celui d'une méningite aiguë. Selon les parties prenantes, ces cas exceptionnels n'enlèvent en rien l'intérêt et l'utilité de la PCR EV dans la pratique quotidienne.

Toutes les parties prenantes indiquent qu'au-delà d'un délai de rendu des résultats de 48h, la PCR EV n'aura qu'un faible impact sur la prise en charge du patient.

Trois parties prenantes indiquent que cet examen doit être réalisé tous les jours, et qu'un délai de rendu des résultats de 24h est satisfaisant (CFMU, CNP-P, SFBC). Elles indiquent toutes que le résultat rendu est de nature qualitatif ; et que la charge virale et le génotypage ne présentent pas d'intérêt dans la prise en charge du patient.

Il ressort également des discussions, avec chacune des parties prenantes lors des auditions, la nécessité de maîtriser toutes les durées des étapes pré-analytiques et analytiques. De plus, le résultat doit être pris en compte rapidement par le clinicien pour confirmer ou modifier la prise en charge initiale des patients.

La fréquence de réalisation de la technique PCR EV rapportée par les parties prenantes est hétérogène dans les hôpitaux en France. En effet, elle est fonction des considérations logistiques de chaque établissement. Il ressort, qu'une réalisation quotidienne semble optimale pour garantir l'utilité clinique, à l'inverse des réalisations hebdomadaire n'ont pas d'impact sur la prise en charge des patients ; la fréquence exacte restant encore à déterminer.

Aucunes des parties prenantes n'a connaissance des cas de résultat faussement positif.

► Remarques générales

L'ensemble des parties prenantes sont en accord avec l'analyse de la littérature et ont relevé les faiblesses méthodologiques des études. Les publications supplémentaires fournies par les parties prenantes et les remarques de forme ont été intégrées au rapport.

3.2.3 Conclusions des points de vues des parties prenantes

Au total, les avis des parties prenantes convergent. Les parties prenantes considèrent toutes que la PCR EV est indiquée dans les méningites.

Cependant, **la désignation précise des indications est hétérogène**, la moitié des parties prenantes indique que la PCR EV est indiquée **dans les méningites qui ne sont pas d'évidence bactérienne ou de faible suspicion bactérienne quel que soit l'âge du patient.**

Les parties prenantes situent la PCR EV en 2^{ème} ligne après l'obtention des résultats de l'examen direct et de l'analyse biochimique et cytologique du LCR.

Les parties prenantes considèrent que le résultat doit être rapidement rendu au médecin. Ainsi, une fréquence quotidienne de réalisation de la PCR EV semble optimale pour la majorité des parties prenantes ; la fréquence exacte restant encore à définir. **L'ensemble des parties prenantes considèrent que le délai de rendu des résultats doit être inférieur à 48h, car au-delà, le résultat n'aura qu'un faible impact sur la prise en charge du patient.**

L'ensemble des parties prenantes indique que les décisions d'arrêt du traitement probabiliste et la sortie de l'hôpital ne peut se faire sur le seul résultat positif de la PCR EV. L'ensemble des parties prenantes soulignent que le clinicien doit considérer l'ensemble de données biologique, clinique, et l'état général du patient.

4. Synthèse et conclusions de l'évaluation

La HAS a été saisie conjointement par la CNAMTS et la SFM, pour l'évaluation de la détection du génome d'entérovirus par amplification génique dans le liquide céphalorachidien dans les suspicions de méningites, en vue de son inscription à la NABM.

L'objectif de cette évaluation était de s'assurer que la détection du génome des entérovirus dans le LCR par amplification génique est un outil diagnostique validé dans la prise en charge des cas de suspicion de méningites.

La synthèse des données est la suivante :

- la littérature sélectionnée, globalement de qualité méthodologique faible, souient la détection par amplification génique du génome des EV dans le LCR dans les méningites, car : i) la PCR EV permet de diagnostiquer des cas de méningites qui restent non détectables par les techniques de cultures cellulaires, ii) le risque de faux positif est négligeable, iii) un résultat positif se traduit habituellement par une réduction des durées d'hospitalisation et/ou de l'antibiothérapie (cf 3.1.4) ;
- les points de vues des parties prenantes interrogées plaident également pour la détection par amplification génique du génome des EV dans le LCR dans les suspicions de méningites quel que soit l'âge et la saison (cf 3.2.2) ;
- il y a homogénéité entre l'analyse de la littérature et le point de vue des parties prenantes.

Au total, la HAS conclut que la détection du génome d'entérovirus par amplification génique dans le liquide céphalorachidien obtenu lors de la ponction lombaire initiale est un outil diagnostique qui peut être utilisé :

- dans les méningites aiguës d'étiologie incertaine ;
- après examen direct du LCR et résultats cytologique et biochimique ;
- dans un délai de 24h et en tout cas inférieur à 48h ;
- un résultat positif autorise un arrêt de l'antibiothérapie probabiliste et permet une sortie précoce si l'état général du patient le permet.

Annexe 1. Liste des tableaux et figures

Tableaux

Tableau 1. : Stratégie de recherche bibliographique.....	12
Tableau 2. : Critères de sélection des articles identifiés, selon la présentation PICO	13
Tableau 3. : Grille d'évaluation de la qualité des recommandations utilisée pour analyser les publications évoquant l'utilisation de la PCR EV sur le LCR.....	19
Tableau 4. : Principales conclusions des recommandations identifiées	21
Tableau 5. : Analyse et résultats des études portant sur les performances diagnostiques (1/2).....	24
Tableau 6. : Analyse et résultats des études portant sur les performances diagnostiques (2/2).....	25
Tableau 7. : Analyse et résultats des études portant sur l'utilité clinique.....	29
Tableau 8. : Stratégie de recherche dans la base de données Medline :	35

Figures

Figure 1. : Distribution hebdomadaire des méningites à entérovirus, données RSE, France 2010-2013 source InVS (13).....	9
Figure 2. : Diagramme de sélection.....	14

Annexe 2. Recherche documentaire

► Bases de données bibliographiques

La stratégie d'interrogation des bases de données précise pour chaque question et / ou types d'étude les termes de recherche utilisés, les opérateurs booléens et la période de recherche.

Les termes de recherche utilisés sont soit des termes issus de thésaurus (descripteurs), soit des termes libres (du titre ou du résumé). Ils sont combinés avec les termes décrivant les types d'études.

La recherche a porté sur les publications en langue anglaise et française.

Le Tableau 8 présente de façon synthétique les étapes successives de cette interrogation dans la base de données Medline.

Le nombre total de références obtenues par interrogation dans Medline est 145.

Tableau 8. : Stratégie de recherche dans la base de données Medline :

Type d'étude / sujet	Termes utilisés	Période
	Méningites - Recommandations	01/2004 – 01/2014
Etape 1	(Meningitis! OR Meningoencephalitis! OR Meningitis, Viral! OR Encephalitis, Viral!)/de OR (meningitis OR meningitides OR meningitis OR meningoencephalitis OR meningoencephalitides OR cerebromeningitis OR cerebromeningitides OR encephalomeningitis OR encephalomeningitides OR encephalomyelitis)/ti OR (viral meningitis OR viral encephalitis)/ti,ab	
ET		
Etape 2	(recommendation* OR guideline* OR statement* OR consensus OR position paper)/ti OR Health Planning Guidelines/de OR (practice guideline OR guideline OR consensus development conference OR consensus development conference, NIH)/pt	
	Détections des méningites à entérovirus par PCR	01/2004 – 01/2014
Etape 3	((Meningitis! OR Meningoencephalitis! OR Encephalitis, Viral!)/de OR (meningitis OR meningitides OR meningoencephalitis OR meningoencephalitides OR cerebromeningitis OR cerebromeningitides OR encephalomeningitis OR encephalomeningitides OR encephalitis OR encephalomyelitis)/ti,ab) AND (Enterovirus! OR (enterovirus OR coxsackievirus* OR Coxsackie virus*)/ti,ab NOT (Poliovirus OR Enteroviruses, Porcine OR Enterovirus, Bovine)/de) AND (Polymerase Chain Reaction!/de OR (polymerase chain reaction* OR PCR)/ti,ab)	
ET		
Etape 4	(metaanalys* OR meta-analys* OR meta analysis OR systematic review* OR systematic overview* OR systematic literature review* OR systematical review* OR systematical overview* OR systematical literature review* OR systematic literature search)/ti,ab OR meta-analysis as topic/de OR meta-analysis/pt OR cochrane database syst rev/ta OR random*/ti,ab OR (random allocation OR double-blind method OR single-blind method OR cross-over studies)/de OR randomized controlled trial/pt	
	Performance de la PCR dans la détection des méningites à entérovirus	01/1998 – 01/2014
Etape 3		
ET		
Etape 5	(Sensitivity and Specificity OR Predictive Value of Tests OR Reference Values OR Reproducibility of Results OR Reference Standards OR Observer Variation OR False Positive Reactions OR False Negative Reactions)/de OR evaluation studies/pt OR (sensitivity OR specificity OR reproducibility OR false positive OR false negative OR reliability OR reliable OR predictive value* OR prognosis OR prognostic value* OR	

diagnosis performance)/ti,ab OR (sensitivity* OR specificity)/ti

Effet de la détection par PCR des méningites à entérovirus sur la durée d'hospitalisation 01/2004 – 01/2014

Etape 3

ET

Etape 6 (Hospitalization OR Length of Stay OR Patient Discharge)/de OR (length of stay OR stay length* OR hospital stay* OR hospitalization* OR hospitalisation* OR patient discharge*)/ti,ab

Effet de la détection par PCR des méningites à entérovirus sur la durée d'administration d'antibiotiques 01/2004 – 01/2014

Etape 3

ET

Etape 7 (Antibiotic Prophylaxis OR Anti-Bacterial Agents)/de OR (antibiotic prophylaxis OR antibiotic premedication*)/ti,ab OR (antibiotic or antibiotics OR antibacterial OR anti-bacterial OR bactericide*)/ti

de : descriptor ; ti : title ; ab : abstract ; ta : journal title ; pt : publication type ; ! : explosion du terme générique

► Sites consultés

Dernière date de consultation : février 2014

Bibliothèque médicale Lemanissier

Catalogue et index des sites médicaux francophones – CISMef

Comité d'Évaluation et de Diffusion des Innovations Technologiques – CEDIT

Évaluation des technologies de santé pour l'aide à la décision (Fédération hospitalière de France) – ETSAD

Expertise collective INSERM

Fédération française d'infectiologie – FFI

Société française de médecine générale – SFMG

Société française de microbiologie – SFM

Société française de pédiatrie – SFP

Adelaide Health Technology Assessment – AHTA

Agency for Healthcare Research and Quality – AHRQ

Alberta Heritage Foundation for Medical Research – AHFMR

Alberta Medical Association

American College of Physicians – ACP

American Society for Microbiology – ASM

Association of Medical Microbiology and Infectious Disease Canada – AMMI

Australia and New Zealand Horizon Scanning Network

Australian Safety and Efficacy Register of New Interventional Procedures – Surgical

Blue Cross Blue Shield Association - BCBS - Technology Evaluation Center

BMJ Clinical Evidence

California Technology Assessment Forum – CTAF

Canadian Agency for Drugs and Technologies in Health – CADTH

Canadian Association for Clinical Microbiology and Infectious Diseases – CACMID

Canadian College of Microbiologists – CCM

Canadian Paediatric Society – CPS

Canadian Society of Microbiologists – CSM

Canadian Task Force on Preventive Health Care
Centers for Disease Control and Prevention
Centre fédéral d'expertise des soins de santé – KCE
Centre for Clinical Effectiveness – CCE
Centre for Reviews and Dissemination databases
Clinical Practice Guidelines Portal
CMA Infobase
Cochrane Library
College of Physicians and Surgeons of Alberta – CPSA
Euroscan
Guideline Advisory Committee – GAC
Guidelines and Protocols Advisory Committee – GPAC
Guidelines International Network – GIN
Health Services Technology Assessment Text – HSTAT
Infectious Diseases Society of America – IDSA
Institute for Clinical Evaluative Sciences – ICES
Institute for Clinical Systems Improvement – ICSI
Institut national d'excellence en santé et en services sociaux – INESSS
Institute for Health Economics Alberta – IHE
Medical Services Advisory Committee – MSAC
Meningitis Research Foundation
National Coordinating Centre for Health Technology Assessment – NCCHTA
National Guideline Clearinghouse – NGC
National Health and Medical Research Council – NHMRC
National Horizon Scanning Centre – NHSC
National Institute for Health and Clinical Excellence – NICE
New Zealand Guidelines Group – NZGG
NHS Evidence
New Zealand Health Technology Assessment – NZHTA
Ontario Health Technology Advisory Committee – OHTAC
Public Health Agency of Canada – Diseases Prevention and Control Guidelines
Scottish Intercollegiate Guidelines Network – SIGN
Singapore Ministry of Health
Tripdatabase
U.S. Preventive Services Task Force
Veterans affairs, Dep. Of Defense Clinical practice guidelines
West Midlands Health Technology Assessment Collaboration – WMHTA
World Health Organization Infectious Diseases

Annexe 3. Lettres, questionnaires et réponses des parties prenantes

► Conseil National Professionnel d'infectiologie - Fédération Française d'infectiologie (CNP-FFI)

Détection du génome des entérovirus dans le LCR par amplification génique dans les méningites

Audition du Conseil National Professionnel d'infectiologie - Fédération Française d'infectiologie (CNP-FFI) représenté par M. le Pr Jean-Paul Stahl
14 mai 2014

Quelles sont actuellement les indications précises de la PCR EV sur le LCR dans la prise en charge d'une suspicion de méningite selon la FFI (type de patients, symptômes, saison...)?

Réponse :

Selon la FFI, la PCR EV est indiquée dans toutes les méningites qui ne sont pas d'évidence d'étiologie bactérienne, et dans les méningites dont la symptomatologie est peu discriminante (viral, bactérien).

La FFI précise que classiquement les méningites bactériennes présentent les signes suivants : aspect purulent du LCR (> 400 cellules / mm³) ; purpura fulminans ; infection ORL bactérienne concomitante ; des troubles hémodynamiques, de la conscience et respiratoires.

Elle indique que la PCR EV pour les méningites concerne tous les âges, tous types de patients ayant débuté ou non un traitement probabiliste.

Selon la FFI, dans le cas des encéphalites, la PCR est indiquée aussi bien chez l'adulte et l'enfant en 2^{ème} ligne après une PCR HSV/VZV dont le résultat est négatif. La FFI souligne que les infections HSV/VZV sont une urgence absolue dans les encéphalites.

Enfin, selon la FFI, il ne doit pas y avoir de saisonnalité dans la pratique de la PCR EV qui doit être réalisée toute l'année, même en dehors des périodes d'épidémie.

Selon la FFI, depuis combien de temps cet examen est entré dans la pratique quotidienne ?

Réponse :

Selon la FFI, la diffusion de la PCR EV a été graduelle et date approximativement des années 2006 en France. Aujourd'hui, la FFI estime que tous les CHU et que la plupart des CHG disposent de cette technique. Elle est également largement diffusée en Europe et dans le monde.

Selon la FFI, le recours à la PCR EV, ne serait pas encore largement demandé par tous les services des urgences mais l'est plus largement dans les services de pédiatries, maladies infectieuses, médecine interne, réanimation...

Selon la FFI, quel est l'impact du résultat de la PCR EV sur la prise en charge médicale des patients quant :

- à la durée de l'antibiothérapie probabiliste (ou antiviraux) ?
- à l'exécution d'examen complémentaires (PCR autres agents infectieux, biochimie, imagerie...) ?
- à la durée de l'hospitalisation ?
- à un autre critère ?

Réponse :

Selon la FFI, la réalisation de la PCR EV, permet une réduction : des traitements probabilistes (antibiothérapie, antiviraux) ; de l'exécution d'examen complémentaires et de la durée

d'hospitalisation. Elle permet, si le résultat est positif, au médecin de ne pas initier ou d'arrêter un traitement probabiliste.

La FFI précise qu'il est très difficile de chiffrer ces réductions. Cependant, sur la base des données épidémiologiques existantes¹³, la FFI estime approximativement que 6000 traitements antibiotiques peuvent être interrompus par an en France par le recours à la PCR EV (soit 60 000 jours de traitement sur la base d'un traitement de 10 jours¹⁴). La FFI fait cependant remarquer que des précautions propres aux nouveau-nés/nourrisson sont couramment appliquées compte-tenu de l'immaturation du système immunitaire, avec notamment la décision de ne pas arrêter le traitement probabiliste.

La FFI positionne la PCR EV comme examen en 2^{ème} ligne après la PCR bactérienne pour les méningites et après la PCR HSV / VZV pour les encéphalites. Ainsi, selon la FFI, le recours à la PCR EV et un résultat à PCR positif permet d'éviter les examens de 3^{ème} ligne d'identification des étiologies de méningites et encéphalites (environ une cinquantaine).

La FFI indique qu'un résultat PCR EV positif apporte une certitude sur l'étiologie de la méningite et permet de rassurer le patient et/ou son entourage.

Enfin selon la FFI, la PCR EV s'intègre dans la prise en charge du patient qui présente des symptômes de méningite ou d'encéphalite. En effet le clinicien maintient l'hospitalisation du patient si une étiologie d'urgence est détectée (bactéries, herpes), ou si l'état du patient est grave, ou si l'étiologie reste inconnue. En revanche si la PCR EV est positive et que l'état du patient le permet, l'hospitalisation est interrompue.

A la connaissance de la FFI, des co-infections ont-elles été documentées (dans le LCR EV et bactéries ou EV et autre virus type HSV, VZV...)?

Réponse :

La FFI indique qu'elle n'a pas connaissance à ce jour de co-infections reportées dans la littérature. Ceci est illustré par une étude française portant sur des encéphalites infectieuses comprenant 253 cas et 106 unités médicales françaises, dans laquelle aucune co-infection n'a été détectée malgré la recherche de nombreux pathogènes¹⁵.

A la connaissance de la FFI, des cas de patient positif à la PCR EV, qui sont sortis des urgences, mais évoluant par la suite défavorablement (encéphalite à EV, souche EV plus invasive...) et entraînant un retour du patient aux urgences, ont-elles été documentés ?

Réponse :

La FFI n'a pas connaissance de tel cas. Elle précise que les ré-hospitalisations sont en général liées à des douleurs post ponction lombaire.

A la connaissance de la FFI, des cas de faux positif au PCR EV ont-ils été documentés ? Si oui quelle en était l'origine ? Etaient-ils la conséquence de réactions croisées avec d'autres agents infectieux (bactéries, HSV, VZV ...) ? Avaient-ils pour origine une contamination ? Ces cas de faux positif ont-ils eu des conséquences délétères pour le patient et ont entraîné une ré-hospitalisation ?

¹³ Environ 10.000 méningites par an en France, environ 2000 méningites bactériennes et 70 à 80% de méningites virales, soit une estimation de 8000 méningites virales par an en France, 80% des méningites virales sont à EV soit une estimation de 6000 méningites à EV environ.

¹⁴ Selon la conférence de consensus de la Splif de 2008 la durée des traitements des méningites bactériennes en fonction de l'agent pathogène varie de 7 à 21 jours.

¹⁵ Mailles A, Stahl JP, Steering C. Infectious encephalitis in France in 2007: a national prospective study. Clin Infect Dis 2009;49(12):1838-47.

Réponse :

La FFI n'a pas connaissance de tel cas. Elle précise que le risque est limité en raison de la place de la PCR EV en examen de seconde ligne dans la recherche de l'étiologie des méningites (après les PCR bactéries) et des encéphalites (après les PCR HSV / VZV).

Selon la FFI quel est le délai optimal pour le rendu du résultat de PCR après prescription? Y a-t-il un délai maximal au-delà duquel le résultat, quel qu'il soit, n'aura pas d'impact sur la prise en charge du patient ? Quel est le point de vue de la FFI quant à la disponibilité optimale de la technique de PCR EV (jours ouvrables, week-end et jours fériés) ?

Réponse :

Selon la FFI il est difficile de définir un délai optimal qui est fonction des CHU et des disponibilités en personnels. Elle précise que dans l'idéal le rendu du résultat devrait être immédiat mais un délai de rendu de résultat de 24 h est satisfaisant. En revanche, un délai d'une semaine est inutile à l'amélioration de la prise en charge du patient.

La FFI indique qu'un rendu très rapide du résultat est très utile car il permet un arrêt des traitements probabilistes (antiviraux, antibiotiques) quasi immédiat, quand bien même le patient resterait hospitalisé. La FFI fait remarquer que la PCR EV est un test diagnostique fiable permettant d'éviter ou d'arrêter le traitement probabiliste, et contribue à la lutte contre les « antibiorésistances ».

La FFI fait souligner que seul le rendu d'un résultat qualitatif (positif ou négatif) impacte la prise en charge. La charge virale ne présente pas d'intérêt. Le génotypage de l'EV peut être pratiqué et représente surtout un intérêt pour les souches invasives telles l'EV 71 qui est très rarement retrouvée en France et qui sévit principalement en Asie.

Avez-vous des observations complémentaires ? Avez-vous des observations sur le rapport de la HAS fourni avec ce questionnaire ?

Réponse :

La FFI indique que la recherche documentaire de cette évaluation est exhaustive. La FFI confirme que la littérature sur ce sujet est de qualité méthodologique faible et est en accord avec l'analyse de la littérature de cette évaluation.

La FFI fait remarquer que des avancées technologiques sur les tests diagnostiques des infections neuro-méningées sont en cours notamment le développement de test « PCR multiplex » identifiant plusieurs agent pathogènes, ainsi que des techniques de spectrométrie de masse pour détecter des protéines bactériennes.

Selon la FFI la PCR EV sur les autres prélèvements biologiques que le LCR n'a pas d'intérêt dans la prise en charge des méningites.

La FFI indique qu'elle participe à l'élaboration en cours de recommandations portant sur les encéphalites en partenariat avec un consortium international. Ces recommandations se positionneront en complément des recommandations sur les méningites.

► **Société Française de Biologie Clinique (SFBC)**

Détection du génome des entérovirus dans le LCR par amplification génique dans les méningites

**Audition de la Société Française de Biologie Clinique (SFBC) représentée par
M. le Professeur Bruno Pozzetto -19 mai 2014**

Quelles sont actuellement les indications précises de la PCR EV sur le LCR dans la prise en charge d'une suspicion de méningite selon la SFBC (type de patients, symptômes, saison...)?

Réponse :

Selon la SFBC, la PCR EV est indiquée dans toutes les méningites d'allure virale même en dehors des périodes épidémiques et quel que soit l'âge du patient. Les patients concernés par cette indication présentent des syndromes méningés associés ou non à une atteinte de l'état général avec ou sans signes d'encéphalites.

La SFBC précise que classiquement les méningites bactériennes présentent un aspect purulent du LCR, alors que les méningites virales présentent un LCR « clair ». La SFBC fait remarquer que le caractère puriforme du LCR dans des méningites d'étiologie virale est exceptionnel. En revanche, la formule du LCR n'est pas toujours à prédominance lymphocytaire mais peut être panachée ou même à majorité de polynucléaires sans que cela n'exclue la suspicion d'entérovirose.

Elle indique que la PCR EV se situe en 2ème ligne après la numération des leucocytes. Selon la SFBC, lorsque le taux de leucocytes est élevé, que le tableau clinique est grave et d'évidence bactérien, il n'est pas nécessaire de réaliser la PCR EV, mais qu'il faut réaliser les examens microbiologiques à la recherche d'une étiologie bactérienne (Gram, détection d'antigènes, PCR bactérienne accessoirement, culture). Pour les méningites à LCR clair, ou en l'absence de cellules (« méningisme »), la PCR EV est à réaliser en 1ère intention, en parallèle de l'examen cyto-bactériologique du LCR.

Selon la SFBC, depuis combien de temps cet examen est entré dans la pratique quotidienne ? Sous quelle forme est le rendu du résultat (qualitatif, quantitatif, place du génotypage) ? Selon la SFBC, existe-t-il encore un intérêt dans le cadre de la prise en charge des patients à réaliser une culture cellulaire pour le diagnostic de méningites à EV ?

Réponse :

Selon la SFBC, la PCR EV est largement diffusée en France dans les CHU et les CHG. Les hôpitaux ne disposant pas de la technique adressent leurs prélèvements à une structure disposant d'un laboratoire réalisant cette technique. La PCR EV est largement diffusée en Europe et dans le monde. La SFBC précise que cette technique existe depuis plus de 10 ans en France.

Selon la SFBC, le génotypage ne présente pas d'intérêt majeur dans la prise en charge médicale du patient. En effet l'EV 71, qui en Asie cause des affections graves comme des encéphalites, est actuellement rare en France et n'est pas associé à des formes graves de méningite ou d'autres affections neuro-méningées. Cependant le génotype est une donnée indispensable, pour le CNR EV, pour la documentation épidémiologique ainsi que pour le suivi des épidémies et de l'émergence ou de la réémergence de certains sérotypes d'EV^{16, 17}. La SFBC indique que le rendu du résultat est qualitatif ; est en général obtenu par RT-PCR en temps réel (technique la plus diffusée aujourd'hui). Selon la SFBC, dans l'état actuel des connaissances une détermination

16 Peigne-Lafeuille H, Mirand A, Archimbaud C, et al. Émergence et réémergence chez les entérovirus : de la poliomyélite à la maladie pieds-mains-bouche. *Virologie* 2014;18(2):87-104.

17 Ibrahim W, Boukhadra N, Nasri-Zoghalmi D, et al. Partial sequencing of the VP2 capsid gene for direct enterovirus genotyping in clinical specimens. *Clin Microbiol Infect* 2013.

de charge virale ne présente pas d'intérêt dans la prise en charge du patient. La SFBC indique que la culture cellulaire orientée d'EV n'a pas d'intérêt en routine, et n'est plus réalisée dans ce cadre.

Selon la SFBC, quel est l'impact du résultat de la PCR EV sur la prise en charge médicale des patients quant :

- à la durée de l'antibiothérapie probabiliste (ou antiviraux) ?
- à l'exécution d'examen complémentaires (PCR autres agents infectieux, biochimie, imagerie...)?
- à la durée de l'hospitalisation ?
- à un autre critère ?

Réponse :

Selon la SFBC, la réalisation de la PCR EV permet une réduction des traitements probabilistes (antibiothérapie, antiviraux) et de la durée d'hospitalisation, et évite une inflation des autres examens complémentaires. Elle permet, si le résultat est positif, d'arrêter un traitement probabiliste. Selon la SFBC, l'intérêt de la PCR EV est d'autant plus important que le résultat est rendu rapidement.

La SFBC précise que la réduction de la durée du traitement probabiliste est un gain majeur en santé publique participant à la lutte contre les résistances aux antibiotiques. La SFBC fait remarquer que, si le résultat PCR EV est rendu dans les 3 heures après l'arrivée du patient, il pourrait même éviter l'initiation du traitement probabiliste et éviter l'hospitalisation en cas de résultat PCR EV positif. Selon la SFBC, l'arrêt des antiviraux (acyclovir) est davantage conditionné à un rendu de résultat HSV négatif qu'à un résultat PCR EV positif.

Selon la SFBC, la PCR EV a d'autres impacts non négligeables ; elle apporte notamment une sécurité diagnostique tout en permettant de rassurer les patients et leur entourage.

La SFBC indique que la décision de sortie est prise pour des cas de méningites non graves, avec un état général du patient conservé, un contexte sociologique favorable, une cytologie évocatrice d'une étiologie virale, et un résultat PCR EV positif.

A la connaissance de la SFBC, des co-infections ont-elles été documentées (dans le LCR EV et bactéries ou EV et autre virus type HSV, VZV...)?

Réponse :

La SFBC indique qu'elle n'a pas connaissance à ce jour de co-infections reportées dans la littérature. Elle fait remarquer, que la décision de sortie de l'hôpital ne se fonde pas que sur le résultat positif de la PCR EV, mais également sur l'état général du patient. Un patient ayant une co-infection présenterait vraisemblablement un tableau clinique grave qui induirait l'hospitalisation du patient.

A la connaissance de la SFBC, des cas de patient positif avec la PCR EV, qui sont sortis des urgences, mais évoluant par la suite défavorablement (encéphalite à EV, souche EV plus invasive...) et entraînant un retour du patient aux urgences, ont-elles été documentés ?

Réponse :

La SFBC n'a pas connaissance de cas bénin qui s'aggrave par la suite. Selon la SFBC, les cas graves le sont dès le début de l'infection.

A la connaissance de la SFBC, des cas de faux positif avec la PCR EV ont-ils été documentés ? Si oui quelle en était l'origine ? Etaient-ils la conséquence de réactions croisées avec d'autres agents infectieux (bactéries, HSV, VZV ...) ? Avaient-ils pour origine une contamination ? Ces cas de faux positif ont-ils eu des conséquences délétères pour le patient et ont entraîné une ré-hospitalisation ?

Réponse :

La SFBC n'a pas connaissance de faux positif et de réaction croisée (notamment avec les virus de type herpes). Elle précise que des cas de contamination par des produits de PCR positifs sont toujours théoriquement possibles mais ce risque est très faible dans les laboratoires accrédités respectant les règles du Cofrac (comité français d'accréditation).

Selon la SFBC quel est le délai optimal pour le rendu du résultat de PCR après prescription? Y a-t-il un délai maximal au-delà duquel le résultat, quel qu'il soit, n'aura pas d'impact sur la prise en charge du patient ? Quel est le point de vue de la SFBC quant à la disponibilité optimale de la technique de PCR EV (jours ouvrables, week-end et jours fériés) ?

Réponse :

Selon la SFBC il est difficile de définir un délai optimal qui est fonction des laboratoires et des disponibilités en personnels. Elle précise que dans l'idéal le rendu du résultat devrait être dans les 3 heures, mais l'obtention d'un résultat dans un délai de 48h, reste satisfaisant, avec une fréquence quotidienne de réalisation de la PCR. Au-delà de 48h le PCR EV n'a que peu d'intérêt dans la prise en charge du patient, mais conserve un intérêt pour la documentation épidémiologique.

La SFBC fait remarquer que certains hôpitaux réalisent deux types de PCR EV ; la PCR EV dite « standard »¹⁸ ; et la PCR EV dite « automatisée et rapide »¹⁹. Dans ces hôpitaux la PCR EV « standard » est réalisée habituellement une fois par jour, les jours ouvrables. En plus de cette PCR « standard », en dehors des heures d'ouverture du laboratoire de virologie, il est réalisé à la demande la PCR EV dite « automatisée et rapide » lorsque l'état du patient ne semble pas grave ou lorsque le diagnostic de méningite à EV pourrait entraîner une sortie rapide des urgences. La SFBC souligne que les internes de biologie ou les techniciens des services d'urgence (« points of care ») sont formés à la PCR EV dite « automatisée et rapide » dans ces hôpitaux.

Avez-vous des observations complémentaires ? Avez-vous des observations sur le rapport de la HAS fourni avec ce questionnaire ?

Réponse :

La SFBC indique que la recherche documentaire de cette évaluation est exhaustive. La SFBC confirme que la littérature sur ce sujet est de qualité méthodologique faible et est en accord avec l'analyse de la littérature de cette évaluation.

La SFBC fait remarquer que des avancées technologiques sur les tests diagnostiques des infections neuro-méningées sont en cours, notamment avec le développement de tests « PCR multiplex » recherchant simultanément plusieurs agents pathogènes bactériens et viraux au cours d'un même essai. La SFBC considère que le recours aux techniques multiplex se fera dans un futur très proche, car elles sont déjà en cours d'évaluation en Europe et dans le monde. Un tel outil selon la SFBC devrait rechercher en 1ère ligne les étiologies principales des méningites et encéphalites : méningocoque, pneumocoque, entérovirus, virus du groupe herpes. En 2ème ligne les pathogènes à rechercher seraient les arbovirus, les paréchovirus, les autres virus non classiquement retrouvés en métropole, et certaines bactéries (*Haemophilus influenzae*, *Listeria*, *Mycoplasma pneumoniae*...).

La SFBC fait remarquer que le terme « d'amplification génique » devrait être préféré à celui de « PCR » car il existe différentes techniques d'amplification génique (NASBA, TMA) bien que la technique principalement utilisée actuellement soit la PCR en temps réel.

¹⁸ Avec l'étape d'extraction au préalable.

¹⁹ PCR automatisée sans étape préalable d'extraction dont le résultat est disponible en moins de 3 heures.

► Centre National de Référence des Entérovirus laboratoire associé (CNR EV LA)

Détection du génome des entérovirus dans le LCR par amplification génique dans les méningites

Audition du Centre National de Référence des Entérovirus laboratoire associé (CNR EV LA) représenté par Mme le Pr Hélène Peigue-Lafeuille - 20 mai 2014

Remarque préliminaire du CNR-EV LA:

Le terme « PCR », quoique devenu d'usage courant, désigne une technique amplifiant l'ADN. Selon le CNR-EV, le terme plus approprié serait « détection génomique » qui est un terme plus ouvert. Il est en effet très possible que, dans l'avenir, des tests de détection génomique EV sans amplification du génome soient mis sur le marché, avec les mêmes performances et avantages. Le CNR EV précise cependant, qu'actuellement en France la technique quasi exclusivement utilisée est la RT-PCR en temps réel.

Par ailleurs, les entérovirus étant des virus à ARN (comme le VIH, le VHC etc.), la première étape de la détection génomique est la reverse transcription de cet ARN en ADN : il faudrait employer sur un plan scientifique le terme « RT-PCR ».

Dans ce qui suit, **le terme générique « PCR »** sera utilisé bien qu'il ne soit pas tout à fait exact.

Le CNR EV précise que l'accréditation de laboratoires de biologie médicale qui se met en place actuellement en France porte sur « l'ensemble des examens de biologie médicale réalisés par le laboratoire »²⁰ et implique que les techniques utilisées sont validées.

Le CNR EV de Clermont-Ferrand précise qu'il est laboratoire associé au CNR coordonnateur de Lyon. Le CNR EV indique qu'il a argumenté ses réponses par de la littérature reprise dans ce compte rendu d'audition en note de bas de page.

Le CNR EV a fourni un document avec les réponses dont le contenu est repris dans ce compte rendu complété des remarques et interventions qui ont eu lieu durant l'audition.

Quelles sont actuellement les indications précises de la PCR EV sur le LCR dans la prise en charge d'une suspicion de méningite selon le CNR EV (type de patients, symptômes, saison...)?

Réponse :

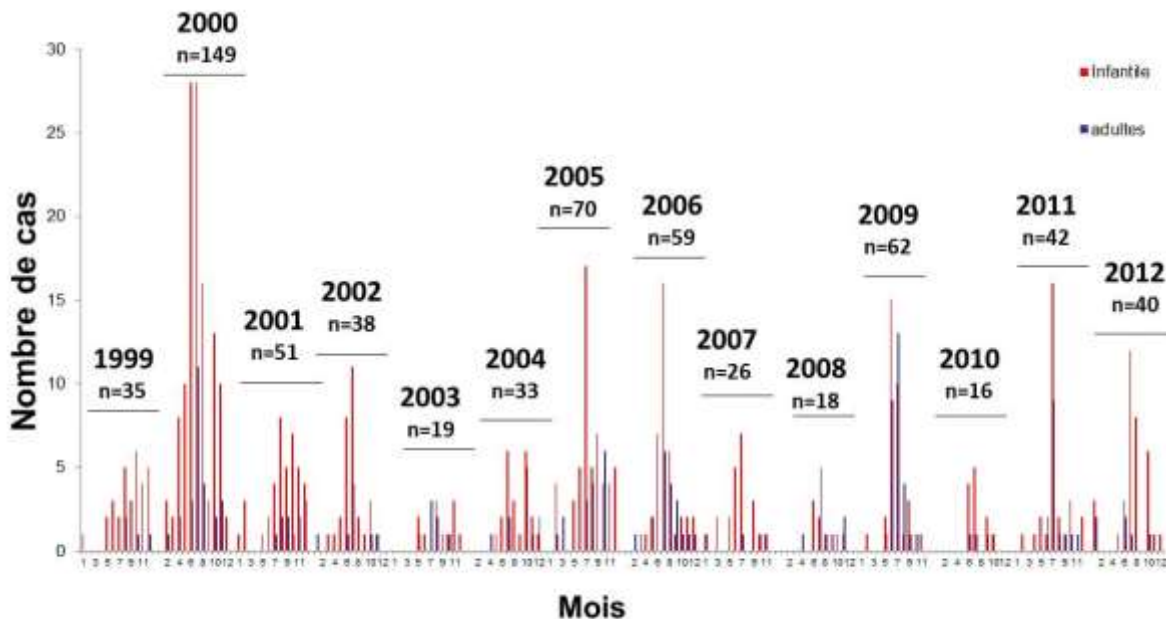
Selon le CNR EV, la prescription de la PCR EV devrait concerner **tous les patients chez lesquels il est suspecté une méningite aiguë**, qu'il s'agisse d'enfants ou d'adultes (ou de sepsis chez les nourrissons et les nouveau-nés), quelle que soit la saison. Environ 30 % des méningites à EV concernent les adultes et environ 30 % surviennent en hiver, sur une expérience de 15 ans de recherches prospectives par détection génomique sans critères d'exclusion concernant les patients ou la saisonnalité. **Le seul critère d'inclusion justifiant la recherche étant « suspicion de méningite aiguë »**. Les quinze ans d'observations prospectives menées par le CNR représentent à sa connaissance la plus grande période publiée dans la littérature (Figure ci-après)^{21, 22}. Les deux notions que 30 % des méningites à EV surviennent chez les adultes et (jusqu'à) 30% en automne/hiver ne sont pas assez connues : ce sont les recherches prospectives et larges qui les ont montrées.

²⁰ Article L6221-1 et L6221-9 du code de la santé publique

²¹ Peigne-Lafeuille H, Mirand A, Archimbaud C, *et al.* Émergence et réémergence chez les entérovirus : de la poliomyélite à la maladie pieds-mains-bouche. *Virologie* 2014;18(2):87-104.

²² Chambon M, Archimbaud C, Bailly JL, *et al.* Circulation of enteroviruses and persistence of meningitis cases in the winter of 1999-2000. *J Med Virol* 2001;65(2):340-7.

Méningites à entérovirus au CHU de Clermont-Ferrand de 1999 à 2012, joint avec le compte rendu de l'audition.



Cet examen devrait être prescrit en même temps que l'examen cyto bactériologique du LCR et la mise en culture à visée bactériologique.

Selon le CNR EV, la PCR EV devrait être réalisée en première intention et non pas dans un second temps, par exemple de façon orientée par le résultat de la cytologie (décompte des éléments blancs et/ou cytologie à prédominance lymphocytaire ou à polynucléaires neutrophiles dans le LCR). La notion classique de « méningite à prédominance lymphocytaire » a été reconnue obsolète depuis longtemps²³. Par ailleurs, jusqu'à 26 % des méningites à entérovirus avec la totalité des signes cliniques classiques ne présentent pas de pléiocytose dans le LCR, surtout chez les nourrissons (41 %) ^{24, 25}. Il s'agit d'une notion déjà très anciennement connue et publiée.

Selon le CNR EV, depuis combien de temps cet examen est entré dans la pratique quotidienne ?

Réponse :

Cet examen est couramment répandu dans la plupart des laboratoires de CHU depuis les années 2000 et le développement des premières RT-PCR en temps réel. Le premier contrôle de qualité externe national français sur une trousse de PCR classique qui n'est plus commercialisée (Roche Diagnostic Système©) date de 1994 ²⁶.

De façon concomitante à la mise en place de cet examen dans la pratique quotidienne, les contrôles de qualité moléculaire européens (*Quality Control for Molecular Diagnostics* ou QCMD), y compris ceux concernant les entérovirus, ont été créés en 2001 sous l'égide de la société européenne de virologie clinique (ESCV, *European Society of Clinical Virology*) et la société euro-

²³ Henquell C, Chambon M, Bailly JL, *et al.* Prospective analysis of 61 cases of enteroviral meningitis: interest of systematic genome detection in cerebrospinal fluid irrespective of cytologic examination results. *J Clin Virol* 2001;21(1):29-35.

²⁴ Archimbaud C, Ouchchane L, Mirand A, *et al.* Improvement of the Management of Infants, Children and Adults with a Molecular Diagnosis of Enterovirus Meningitis during Two Observational Study Periods. *PLoS ONE* . 2013;8(7): e68571

²⁵ Volle R, Bailly JL, Mirand A, *et al.* Variations in Cerebrospinal Fluid Viral Loads Among Enterovirus Genotypes in Patients Hospitalized With Laboratory-Confirmed Meningitis Due to Enterovirus. *J Infect Dis*. 2014.

²⁶ Lina B, Pozzetto B, Andreoletti L, *et al.*, Multicentre evaluation of a commercially-available PCR assay for diagnosing enterovirus infection on a cerebrospinal fluid panel. *J Clin Microbiol* 1996;34(12):3002-6

péenne de microbiologie clinique et de pathologie infectieuse (ESCMID, *European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases*).

Selon le dernier rapport d'activité de 2012 du CNR entérovirus/paréchévirus (Lyon-Clermont-Ferrand)²⁷, il y a 32 laboratoires déclarant réaliser cette technique (CHU et CH) au sein du Réseau de Surveillance des Entérovirus (RSE). Un total de 14267 LCR ont été prélevés, 1198 étaient positifs pour la détection du génome des EV (8.4 %).

Selon le CNR EV, existe-t-il encore un intérêt dans le cadre de la prise en charge des patients à réaliser une culture cellulaire pour le diagnostic de méningites à EV ?

Réponse :

Remarque du CNR EV : La question ne précise pas dans quel prélèvement se pose l'intérêt de la culture cellulaire²⁸.

Dans le LCR, en pratique courante, la réponse à cette question est négative. La culture des entérovirus dans le LCR est certes spécifique (à condition de pratiquer en cas de culture positive l'identification de l'entérovirus par génotypage ou séro-neutralisation) mais peu sensible (de l'ordre de 30 % dans l'expérience du CNR *versus* plus de 90 % pour la PCR dans le LCR). Les résultats de la culture d'un EV sont surtout beaucoup trop longs à obtenir (rarement 6 à 10 jours voire davantage selon la souche) pour avoir un impact sur la prise en charge, en particulier le raccourcissement de l'hospitalisation. Un patient atteint d'une méningite à EV est guéri avant le résultat de la culture qui ne vient qu'argumenter *a posteriori* le dossier. Le CNR EV fait remarquer, comme l'indique le rapport, que de nombreux cas de méningite à EV sont diagnostiqués par un résultat PCR EV positif alors que ces cas sont négatifs par culture cellulaire orientées. La PCR EV permet donc un gain diagnostique très important (environ d'un facteur 2).

Par ailleurs, si la culture cellulaire est considérée comme un moyen d'identifier le virus en cause au-delà du simple diagnostic générique « entérovirus », cette technique est désormais abandonnée.

Le CNR EV souligne que l'identification du virus se fait désormais directement à partir du LCR²⁹. Ainsi, en 2013, concernant l'identification directe des EV à partir des acides nucléiques du LCR, le génotypage a été réalisé par 9 des laboratoires du RSE (réseau de surveillance des entérovirus) (Lyon, Clermont-Ferrand, Caen, Limoges, Marseille, Nantes, Nice, Rennes et St Etienne) et a permis d'identifier l'EV dans 66 % (1982/3002) des dossiers déclarés par les laboratoires du RSE, contre 58% en 2012 et 50 % en 2011, montrant une amélioration de l'identification des EV au cours du temps. Les performances globales des techniques de génotypage ont été satisfaisantes permettant le typage de 89,9 % des dossiers patients analysés.

En conclusion, le CNR précise que le génotypage n'a pas d'intérêt dans la prise en charge du patient, mais présente un intérêt majeur pour le suivi épidémiologique et la surveillance des souches circulantes d'EV (entérovirus 71, voire surveillance de la circulation des poliovirus...).

1) Dans les selles et/ou dans la gorge, la culture est plus sensible que dans le LCR mais plus difficile à interpréter²⁸. En période de circulation du virus, ce n'est pas un examen qui fait un diagnostic de certitude en cas de positivité (de nombreuses personnes asymptomatiques excrètent des EV dans la gorge ou les selles plusieurs semaines voire plusieurs mois, ce qui explique d'ailleurs les modes de transmission) mais seulement de présomption (cas de la gorge surtout). Les résultats sont de toute façon également plus longs à obtenir que la PCR. Dans un tableau

²⁷ Centre national de référence des entérovirus et paréchévirus. Rapport d'activités 2012. Clermont-Ferrand: CNR; 2013.

²⁸ Il faut noter que la réalisation de la PCR EV dans les autres prélèvements biologique (selles, salives..) a été exclue du champ de l'analyse comme cela est indiqué et expliqué dans le document de cadrage.

²⁹ Mirand A, Henquell C, Archimbaud C, *et al.* Prospective identification of enteroviruses involved in meningitis in 2006 through direct genotyping in cerebrospinal fluid. *J Clin Microbiol* 2008;46(1):87-96.

méningé, l'intérêt de réaliser la culture (gorge, selles, voire LCR) est l'hypothèse d'un entérovirus variant ou d'une charge virale très faible, non détectée par la PCR, comme ce fut le cas pour l'échovirus type 6 en 2011 et certains cas de tableaux avec des entérovirus 71^{30, 31}. Cela est d'ailleurs signalé dans le rapport de la HAS. Il s'agit de cas particuliers et rares.

2) PCR « faussement négatives » dans le cas de variants d'EV et charge virale des entérovirus dans le LCR

Toutes les techniques commercialisées sur le marché ainsi que les techniques « maison » permettent une bonne détection des entérovirus dans le LCR. Volle, *et al.* ont montré que la charge virale des entérovirus dans le LCR variait entre 3,4 et 7,5 log₁₀ copies/ml. La charge virale était significativement plus élevée chez les nouveau-nés (>28 jours) et variait avec le génotype d'entérovirus. Ainsi, les souches d'échovirus type 6 (variant), à l'origine d'une épidémie en 2011 en France, ont présenté une charge virale faible (4 log₁₀ copies/ml) (Volle, 2014).

Le CNR EV précise que la charge virale dans le cadre de cet examen ne présente pas d'intérêt dans la prise en charge immédiate prospective des patients et que le résultat rendu qualitatif suffit dans ce cadre.

3) Dans la présente problématique, il s'agit de considérer les patients qui se présentent avec les deux critères «suspicion de méningite » et «PCR EV positive dans le LCR », pour arrêter les antibiotiques et voire même raccourcir l'hospitalisation.

C'est un désir de spécificité d'abord qui guide la présente réflexion, en même temps que la rapidité du résultat : l'objectif est de ne pas faire sortir des patients avec des PCR faussement positives. Le CNR EV fait remarquer qu'il est important de bien considérer la date des publications montrant des « méningites à EV diagnostiquées par la culture du virus et pas la détection génomique » et la trousse de PCR employée dans ces publications. La PCR classique (ou PCR en point final) a fait place à la PCR en temps réel, plus sensible et beaucoup plus rapide (voir remarques général en fin de compte rendu). La technique de PCR a fait l'objet de progrès considérables ces dernières années, en particulier avec l'adjonction d'un contrôle interne (extrait, co-amplifié, co-révéle, et donc qui doit toujours être positif pour l'interprétation), qui permet d'objectiver d'éventuels inhibiteurs de la PCR naturellement présents dans le liquide biologique, même s'il s'agit d'une situation rare (le contrôle interne serait alors négatif et le résultat non interprétable).

Nota bene : envisager, parce qu'il y a de très rares cas des méningites vraies à EV « PCR négative et culture positive » un maintien à la NABM de la culture est irraisonnable et de plus n'aurait aucun impact médical, le résultat de la culture arrivant après la guérison spontanée du patient.

Selon le CNR EV, quel est l'impact du résultat de la PCR EV sur la prise en charge médicale des patients quant :

Le CNR EV indique que de nombreuses études ont montré que la PCR EV avait permis une amélioration de la prise en charge médicale des patients en réduisant la durée de l'antibiothérapie et/ou du traitement par acyclovir, une diminution de la durée de séjour ainsi qu'une diminution des examens complémentaires.

³⁰ Perez-Velez C, Anderson MA, Robinson CC, *et al.* Outbreak of neurologic enterovirus type 71 disease : a diagnostic challenge. Clin Infect Dis 2007;45(8):950-7.

³¹ Schuffenecker I, Mirand A, Antona D, *et al.* Epidemiology of human enterovirus 71 infections in France, 2000-2009. J Clin Virol 2011;50(1):50-6.

– à la durée de l'antibiothérapie probabiliste (ou antiviraux) ?

Réponse :

Des études ont montré que la durée des antibiotiques était corrélée au délai de rendu des résultats de PCR EV^{24, 32, 33, 34}. Une réduction significative de 1 à 2 jours de la durée du traitement antibiotique a été observée lorsque les résultats de PCR étaient rendus dans les 24 h par comparaison aux résultats rendus au-delà de 24h (PCR et/ou culture). Un arrêt immédiat des antibiotiques a été observé chez plus de 40 % des nourrissons et des adultes après un résultat de PCR EV positif²⁴ cf tableau ci-après. Il faut noter que les études^{33, 34} sont antérieures à la période de recherche de la bibliographie. L'étude de Huizing *et al.*,³² est déjà citée dans le rapport et est analysée. Enfin l'étude²⁴ a été ajoutée et analysée dans l'évaluation.

De même, chez des patients adultes hospitalisés pour une suspicion de méningite, le traitement probabiliste par acyclovir a été arrêté dans 56 % des cas après les résultats des tests moléculaires Herpès et entérovirus²⁴ cf tableau ci-après.

– à l'exécution d'examen complémentaires (PCR autres agents infectieux, biochimie, imagerie...) ?

Réponse :

Les auteurs de Ramers *et al.*, ont montré que le nombre d'examen complémentaires (scanner, IRM, EEG, radiographie) chez des enfants hospitalisés pour suspicion de méningite était significativement moins important lorsque les pédiatres disposaient d'un résultat de PCR positif en entérovirus³⁴ cf tableau ci-après.

– à la durée de l'hospitalisation ?

Réponse :

De nombreuses études ont montré une diminution significative de la durée de séjour (jusqu'à 2 jours) consécutive soit à l'obtention d'un résultat positif obtenu très rapidement dans les 24 h, soit après amélioration de la technologie moléculaire employée (cf tableau ci-après). Archimbaud *et al.* ont montré que pour toutes les tranches d'âges considérées (nourrissons, enfants, adultes) la durée de séjour était corrélée à la durée du traitement antibiotique et à la décision médicale de sortie. Chez les adultes, une augmentation de la durée de séjour de 22 % a été observée lorsque le diagnostic virologique moléculaire était retardé de 24h²⁴.

– à un autre critère ?

Réponse :

Selon le CNR-EV, réduire l'hospitalisation (ou ne pas hospitaliser du tout) un patient avec une méningite, réduire la durée de l'antibiothérapie (ou ne pas l'initier), réduire le nombre d'examen complémentaires, peuvent présenter un impact positif dans cinq domaines :

1) Un impact économique évident ;

³² Huizing KM, Swanink CM, Landstra AM, *et al.* Rapid enterovirus molecular testing in cerebrospinal fluid reduces length of hospitalization and duration of antibiotic therapy in children with aseptic meningitis. *Pediatr Infect Dis J* 2011;30(12):1107-9.

³³ Robinson CC, Willis M, Meagher A, *et al.*, Impact of rapid polymerase chain reaction results on management of pediatric patients with enteroviral meningitis. *Pediatr Infect Dis J* 2002;21(4):283-6.

³⁴ Ramers C, Billman G, Hartin M, *et al.*, Impact of a diagnostic cerebrospinal fluid enterovirus polymerase chain reaction test on patient management. *JAMA*. 2000;283(20):2680-5.

- 2) Un impact psychologique positif en rassurant le patient ou sa famille (caractère bénin des méningites à EV, spontanément résolutive, exclusion d'une méningite bactérienne) ;
- 3) Un impact sur la diminution du risque nosocomial, ces patients excrètent de grandes quantités d'entérovirus dans les selles et dans la gorge³⁵ ;³⁶ ;³⁷ ;
- 4) Une cohérence avec le développement de la médecine ambulatoire actuellement prônée par les autorités ministérielles sans risque pour le patient ;
- 5) Un apport majeur à la réduction de l'emploi probabiliste et souvent trop systématique des antibiotiques à large spectre (comme noté dans le rapport de la HAS) et donc une lutte contre l'antibiorésistance. Ceci est en cohérence avec le signal d'alarme sur le développement de la résistance aux antibiotiques avec le plan OMS récent.

Tableau de présentation des résultats de la littérature, élaboré par la CNR-EV, joint avec le compte rendu de l'audition.

	Délai de rendu des résultats de PCR EV			Résultat de la PCR EV			Evolution de la PCR EV		Reference	
	Dans les 24 h	> 24h	P value	Négative	Positive	P value	Comparaison entre 2 périodes	P value		
Durée des antibiotiques	3,1 j	0,8 j	<0,001						Huizing, 2011	
	22,6 h	42,2 h	0,006						Robinson CC, 2002 Ramers, 2000	
				4 j	2 j	<0,001				
Durée de séjour							2005 3j (Adultes) 2j (Nourrissons)	2008-2009 1j (Adultes) 1j (Nourrissons)	0,04 0,03	Archimbaud C, 2013
	3,9 j	1,9 j	<0,001							Huizing, 2011 Ramers, 2000
				71 h	42,5 h	<0,01				
Nombre (%) de patients ayant recours au scanner ou IRM							2005 4 j (Adultes) 1,7 j (Enfants)	2008-2009 2 j (Adultes) 1 j (Enfants)	0,02 0,004	Archimbaud C, 2013
				47 (71,2)	8 (10)	<0,001				Ramers, 2000

A la connaissance du CNR EV, des co-infections ont-elles été documentées (dans le LCR EV et bactéries ou EV et autre virus type HSV, VZV) ?

Réponse :

1) Le CNR EV indique qu'à la revue de la littérature, il n'y a pas eu à sa connaissance de co-infections documentées de façon directe.

Nigrovic *et al.*, au nom de l'Académie américaine des Pédiatres urgentistes ont publié en 2010 les résultats d'une vaste étude rétrospective (enfants de 29 jours à 18 ans dans 10 hôpitaux différents) à la recherche de co-infections infections neuroméningées « bactériennes et entérovirus » et n'en ont pas retrouvées³⁸. Leur conclusion est que les enfants avec une méningite aigue et une PCR EV positive devaient être considérés comme « sortants ».

Brouwer *et al.*, ont analysé des échantillons de LCR prélevés chez des patients pour lesquels un diagnostic de méningite bactérienne avait été confirmé (LCR provenant d'une cohorte nationale

³⁵ Chambon M, Bailly JL, Béguet A, *et al.* An outbreak due to echovirus type 30 in a neonatal unit in France in 1997: usefulness of PCR diagnosis. J Hosp Infect 1999;43(1):63-8.

³⁶ Bailly JL, Béguet A, Chambon M, *et al.* Nosocomial transmission of echovirus 30: molecular evidence by phylogenetic analysis of the VP1 encoding sequence. J Clin Microbiol 2000;38(8):2889-92.

³⁷ Farcy C, Mirand A, Marque Juillet S, *et al.* Enterovirus nosocomial infections in a neonatal care unit: from diagnosis to evidence, from a clinical observation of a central nervous system infection. Arch Pediatr 2012;19(9):921-6.

³⁸ Nigrovic LE, Malley R, Agrawal D, *et al.* Pediatric Emergency Medicine Collaborative Research Committee of the American Academy of Pediatrics. Clin Infect Dis 2010;15;51(10):1221-2.

hollandaise). La recherche par PCR de différents virus dans ces échantillons s'est avérée négative (EV, CMV, EBV, HSV1-2, VZV, Adénovirus, parechovirus) (Brouwer 2013³⁹).

2) Analyse critique des publications citées dans le rapport d'évaluation technologique de la HAS (page 29) :

Dewan *et al.* (2010), examinant une population de très jeunes enfants, évoque la possibilité de co-infections mais référant lui-même à une publication de Rotbart de 1995, donc datant de 20 ans.

King *et al.*, en 2007, tout en soulignant que la positivité de la PCR EV permet de réduire la durée d'hospitalisation chez des enfants de moins de 56 jours, note qu'elle a peu d'impact dans cette étude car « *positive CSF enterovirus PCR results do not exclude the possibility of concomitant bacterial infection* », sans appuyer cette affirmation de références.

3) Le CNR-EV n'a enfin jamais observé de co-infection dans sa propre expérience d'une quinzaine d'années.

A la connaissance du CNR EV, des cas de patient positif à la PCR EV, qui sont sortis des urgences, mais évoluant par la suite défavorablement (encéphalite à EV, souche EV plus invasive...) et entraînant un retour du patient aux urgences ont-elles été documentés ?

Réponse :

Le CNR-EV indique que le premier postulat est celui d'un patient avec 1) une suspicion de méningite aiguë, 2) une PCR EV positive. **Le deuxième postulat est que tout résultat biologique doit être examiné par le médecin prescripteur au regard de l'état clinique d'un patient donné (collaboration clinico-biologique).**

Une personne consultant à l'hôpital avec ses deux conditions et dont la consultation n'aboutit pas à une hospitalisation reçoit des conseils de surveillance à domicile par un médecin - c'est un cadre général - et en particulier dans le cadre du développement de la médecine ambulatoire que souhaitent développer les autorités de santé en France. Un patient présentant une méningite aiguë à entérovirus (avec les deux critères ci-dessus) se présentant comme telle va guérir ou être spontanément résolutive.

Le CNR-EV indique qu'un résultat positif de PCR EV pris isolément ne saurait en aucun cas être un « test de sortie » sans qu'il n'ait été considéré par un médecin au regard de l'état du patient.

Le CNR n'a pas connaissance de développement diphasique vers un tableau d'encéphalite secondaire qui serait réadmise ou de ré-hospitalisation avec des souches plus invasives. Ces données ne sont pas retrouvées non plus dans la littérature.

Par contre, il existe bien des encéphalites à entérovirus (rares), souvent associées à des comorbidités (cancers, immunodépression humorale ou mixte, traitement par Rituximab©) (revue dans Archimbaud 2003⁴⁰, Quartier 2003⁴¹, Kassab 2013⁴²), ou des formes sévères avec atteinte systémique (nouveau-nés), ou des formes à explorer dans le cadre de l'éradication de la poliomyélite aiguë. Leur présentation initiale, et/ou leur contexte épidémiologique, ne sont pas ceux d'une méningite aiguë communautaire. Par définition, ces cadres nosologiques ne sont pas concernés par la présente demande qui ne considère que les tableaux de méningites aiguës.

³⁹ Brouwer MC, Jim KK, Benschop KS, *et al.* No evidence of viral coinfection in cerebrospinal fluid from patients with community-acquired bacterial meningitis. *J Infect Dis* 2013;208(1):182-4.

⁴⁰ Archimbaud C, Bailly JL, Chambon M, *et al.* Molecular evidence of persistent echovirus 13 meningoencephalitis in a patient with relapsed lymphoma after an outbreak of meningitis in 2000. *J Clin Microbiol* 2003;41(10):4605-10.

⁴¹ Quartier P, Tournilhac O, Archimbaud C, *et al.* Enteroviral meningoencephalitis after anti-CD20 (rituximab) treatment. *Clin Infect Dis* 2003;36(3):e47-9.

⁴² Kassab S, Saghi T, Boyer A, *et al.* Fatal case of enterovirus 71 infection and rituximab therapy, France, 2012. *Emerg Infect Dis* 2013;19(8):1345-7

A la connaissance du CNR EV, des cas de faux positif au PCR EV ont-ils été documentés ? Si oui quelle en était l'origine ? Etaient-ils la conséquence de réactions croisées avec d'autres agents infectieux (bactéries, HSV, VZV ...) ? Avaient-ils pour origine une contamination ? Ces cas de faux positif ont-ils eu des conséquences délétères pour le patient et ont entraîné une ré-hospitalisation ?

Réponse :

Le CNR précise que certains tests moléculaires sur le marché détectent les entérovirus et les rhinovirus, qui appartiennent au même genre viral, et présentent donc certaines séquences génomiques identiques, en particulier dans la région génomique ciblée par la réaction de PCR (précision signalée dans la notice technique des trousse concernées). Ces tests sont utilisés pour le diagnostic des infections à entérovirus- au sens générique (genre) et sont validés à partir de différents échantillons biologiques, le LCR mais aussi les échantillons respiratoires. Les rhinovirus n'ont jamais été identifiés comme agents responsables d'infections neuro-méningées à la connaissance du CNR.

Jusqu'en 2012, le panel proposé au « QCMD Enterovirus » comprenait une souche de rhinovirus pour tester la spécificité des trousse de PCR entérovirus. Ces réactions croisées étaient alors surtout observées avec les méthodes de RT-PCR classiques (en point final) commerciales ou non (entre 53,8 et 63,2 % des laboratoires utilisant une RT-PCR classique avaient rendu « positif en entérovirus » l'échantillon contenant la souche de rhinovirus). Ces méthodes dites classiques sont cependant de moins en moins utilisées à l'heure actuelle et sont remplacées par des méthodes en temps réel. En 2013, seuls 7,6 % (21/275) des résultats fournis par les laboratoires (au niveau européen voire mondial) participant au QCMD avaient été obtenus à l'aide d'une RT-PCR classique.

Le CNR-EV indique qu'il n'y a aucune détection croisée possible par ces tests moléculaires avec les autres virus neurotropes (HSV, VZV, ...).

A part ces exceptions, les contaminations sont toujours possibles, mais ce n'est pas spécifique à la PCR EV, l'extrême sensibilité de la détection moléculaire étant à la fois son principal avantage et son principal inconvénient. Les témoins négatifs dans chaque réaction et les contrôles de qualité sont là pour pallier ce phénomène de même que la validation de la technique dans le cadre de l'accréditation des laboratoires.

S'il y a eu des cas de réactions croisées de la PCR EV avec d'autres agents infectieux impliqués dans des méningites ou des affections du système nerveux (voir question précédente), quelles ont été les mesures prises ? L'absence de réaction croisée doit-elle être vérifiée lors mise en place de la technique de PCR EV dans le laboratoire (par le fabricant pour une trousse commerciale, par le laboratoire pour une technique maison) ?

Réponse :

Le CNR-EV n'a pas connaissance de réactions croisées de la PCR EV avec d'autres agents responsables de méningites. Cela a été bien sûr régulièrement recherché. Seule l'absence de réaction croisée avec les rhinovirus est vérifiée dans les QCMD, cette recherche a été arrêtée en 2012.

Le CNR EV précise que, comme pour toute détection génomique d'un agent infectieux donné, la spécificité de la trousse, maison ou commerciale, doit être vérifiée par l'absence de réactions croisées. Concernant la détection des entérovirus, les trousse actuellement sur le marché sont fiables et la spécificité (comme la sensibilité) sont testées par les fabricants. Depuis le développement des QCMD, les fabricants ont pris l'habitude de tester systématiquement leurs tests de PCR EV vis-à-vis de ces QCMD – c'est d'ailleurs un argument commercial fort qu'ils annoncent ou que les utilisateurs potentiels leur demandent lors des appels d'offres, mais les QCMD sont surtout utilisés désormais pour tester la sensibilité des trousse.

Selon le CNR EV, quel est le délai optimal pour le rendu du résultat de PCR après prescription? Y a-t-il un délai maximal au-delà duquel le résultat, quel qu'il soit, n'aura pas d'impact sur la prise en charge du patient ? Quel est le point de vue du CNR EV, quant à la disponibilité optimale de la technique de PCR EV (jours ouvrables, week-end et jours fériés) ?

Réponse :

Les données dont on dispose concernant la durée d'hospitalisation des enfants en cas de méningites à EV montrent une diminution constante au cours du temps, cette maladie étant rapidement résolutive.

Les résultats suivants sont essentiellement extraits des travaux d'Archimbaud *et al.*, évaluant l'impact de la détection génomique prospective sur les pratiques professionnelles en dehors de tout protocole, chez les enfants, les nourrissons et les adultes ²⁴ :

- avant l'ère de la détection génomique : de l'ordre de 5 jours ou plus ;
- depuis la détection génomique : cf supra, de l'ordre de deux jours :
 - en 2005 : 1,7j [1,2-2]
 - en 2009 : 1j [0,9-1,5] p=0,004

Concernant la durée d'hospitalisation des adultes pour le même tableau de méningite aiguë, les données sont plus rares, les médecins ont en effet longtemps méconnu ou sous-estimé cette pathologie qu'ils ne recherchaient pas en première intention. Sur la comparaison de deux périodes, les travaux du CNR-LA ont montré que :

- en 2005 : de l'ordre de 4j [2,4-5,2]
- en 2009 : de l'ordre de 2j [1,8-3,6] p=0,02

En conséquence, pour que la PCR ait un impact sur la prise en charge du patient, il est nécessaire que les conditions suivantes soient réunies:

- 1) la détection génomique soit prescrite d'emblée à l'admission sur la première PL (cf supra) ;**
- 2) le résultat soit disponible au plus tard en moins de 48 heures après la prescription à l'admission, ce qui nécessite la maîtrise de toutes les étapes pré-analytiques et analytiques ;**
- 3) la prise en compte de ce résultat soit immédiate par le médecin prescripteur qui a également les données sur la situation clinique du patient, c'est-à-dire au plus tard également en moins de 48 heures après l'admission.**

Il faut noter qu'il y a de nombreuses situations où le résultat est disponible pour le médecin prescripteur dans la journée ou bien avant les 48 heures, ce qui représente une situation idéale.

Cependant la recommandation qui pourrait être faite d'obtenir dans tous les cas le résultat « dans la journée » n'est pas réaliste. Un laboratoire de biologie est confronté à de multiples urgences dans la journée dont certaines sont vitales (par exemple la recherche d'un paludisme, la détection d'HSV dans un tableau d'encéphalite ou une qualification de dons d'organes...) ce qui n'est pas le cas de la PCR EV. C'est le rôle et la responsabilité du biologiste médical de hiérarchiser les demandes et de gérer l'urgence.

Le CNR EV indique que cette réponse élimine de fait certaines situations, où la PCR n'a pas d'impact sur la prise en charge du patient :

- il n'est pas pertinent dans ce cadre de ne réaliser la PCR EV qu'une ou deux fois par semaine *in situ* dans des séries par exemple ;

- il n'est pas pertinent de « transmettre » la PCR à des « sous-traitants » qui ne s'engageraient pas à rendre les résultats dans ces délais, il est davantage pertinent de la faire sur place quand c'est techniquement possible ;

Le CNR EV indique que d'expérience les phases pré-analytiques et post-analytiques sont (au moins) aussi importantes que le temps d'analyse lui-même.

Le CNR EV indique que le plus important est le délai réel qui s'écoule entre la prescription et la prise en compte du résultat final par le médecin, ce qui d'ailleurs devrait être une règle générale pour toute prescription. Ainsi, même si un laboratoire a par exemple la chance d'avoir les moyens suffisants en techniciens et en budget pour faire la PCR « en pleine nuit » 24h/24, c'est malgré tout le délai entre la prescription et la prise en compte du résultat qui doit être pris en compte.

Le CN-EV émet des réserves quant à la possibilité que, sur l'ensemble du territoire et dans le cadre de l'égalité des soins, un patient bénéficie après demande du médecin, d'une sortie de l'hôpital ou d'un arrêt de l'antibiothérapie à 3h du matin, notamment en raison du fait que le médecin – en général le médecin de garde - est différent du médecin prescripteur et n'a pas forcément le temps d'avoir accès à l'ensemble des données.

Selon de le CNR-EV l'addition des étapes pré analytiques, analytiques et post analytiques doit être comprise dans un temps inférieur ou égal à 48 heures (délai entre la prescription de la PCR EV et la prise en compte du résultat par le clinicien).

Selon le CNR EV quelle est (sont) la (les) technique(s) de PCR à utiliser ? Est-ce que des méthodes de PCR sont aujourd'hui obsolètes et à ne pas utiliser ?

Réponse :

De façon générale les techniques recommandées pour le diagnostic générique des infections à EV doivent répondre à deux critères :

- 1) **être des techniques de détection génomique en temps réel spécifiquement dédiées à la recherche des entérovirus.** Les techniques de PCR en temps réel sont au moins aussi sensibles que les techniques classiques et beaucoup plus rapides. (Attention : certaines trouses destinées au diagnostic des infections respiratoires à Rhinovirus permettent la double détection EV/Rhinovirus mais ne sont pas nécessairement validées sur les LCR). Il est également important à noter que le risque de contamination peut être minimisé par la réalisation d'une RT-PCR en une seule étape.
- 2) **avoir été testées pour leurs performances sur les panels QCMD et avoir donné des résultats satisfaisants.** En particulier, chaque panel du « QCMD enterovirus » comprend 9 échantillons (sur 12) « incontournables » (ou « core » en anglais) pour lesquels les résultats obtenus doivent être corrects avec une méthode donnée. Ce caractère « incontournable » fixé par les responsables des QCMD et pris en compte pour l'évaluation des résultats des laboratoires signifie qu'une trousse doit être capable de détecter les EV à partir d'un « seuil » de sensibilité minimal fixé par le QCMD. Un faux négatif n'est pas admis.

Si ces critères sont remplis, il n'y a pas lieu de recommander une technique plutôt qu'une autre, commerciale ou non. Le choix de tout laboratoire peut aussi tenir compte des contraintes logistiques, en matériels ou des contraintes d'ordre économique. Des techniques « maison », aussi bien conventionnelles que PCR en temps réel, peuvent donner d'excellents résultats, parfois même supérieurs. Le rôle de réactovigilance des CNR devant le constat d'une mauvaise détection d'un virus variant, par définition imprévisible, s'applique dans tous les cas.

Remarque 1 : le CNR-EV laboratoire associé, s'inscrit en faux contre la recommandation expresse d'une trousse commerciale nommément désignée pour la détection génomique des entérovirus, cette trousse fut-elle bonne (page 17/65 du texte long), par la 17ème Conférence de Consensus

en thérapeutique anti-infectieuse sur la « prise en charge des méningites bactériennes aiguës communautaires – à l'exclusion du nouveau-né » de 2008⁴³.

Remarque 2 : En 2013, les résultats au « QCMD Enterovirus » ont été obtenus avec des troupes commerciales dans 46,5 % des cas. Dix-neuf troupes commerciales (spécifiques entérovirus) différentes ont été utilisées.

Dans son rapport d'activité de 2012, le CNR EV indique p.12 « Remarque préliminaire : De façon générale les techniques recommandées pour le diagnostic générique des infections à EV doivent répondre à deux critères : 1) être des techniques de RT-PCR en temps réel, 2) avoir été testées pour leurs performances par les QCMD et avoir donné des résultats satisfaisants. » Est-ce que le CNR EV peut expliciter « résultats satisfaisant » ?

Le CNR a répondu à cette question dans le paragraphe précédent.

Avez-vous des observations complémentaires ? Avez-vous des observations sur le rapport de la HAS fourni avec ce questionnaire ?

Réponse :

- 1) Quelques remarques ou corrections de formes ont été apportées dans le corps du texte et remises lors de l'audition.
- 2) La principale remarque concerne la comparaison des études bibliographiques. Des références supplémentaires sont fournies dans le présent document, en particulier deux études prospectives récentes avec des PCR temps réel²⁴ ; ⁴⁴.

La biologie moléculaire s'est développée dans les années 1995 avec la PCR classique « en point final ».

Les premières troupes de PCR en temps réel sont apparues vers les années 2001, d'abord « maison » puis commerciales. Elles permettent d'objectiver et de quantifier les acides nucléiques avec une sensibilité au moins égale à la PCR classique (en point final) et de façon plus rapide.

Depuis cette date l'amélioration a été constante, avec en particulier l'ajout d'un contrôle interne (fragment d'acide nucléique ajouté en même temps que l'échantillon et qui doit être co-extrait, co-amplifié et co-révéle permettant de vérifier l'absence d'inhibiteurs).

Les contrôles de qualité moléculaire européens sont apparus en 2001 (*Quality Control for Molecular Diagnostics* ou QCMD) sous l'égide de l'ESCV (European Society of Clinical Virology) et l'ESCMID (European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases), ceux concernant les entérovirus datent des années 2000 également.

Considérant ces dates et ces véritables bonds technologiques, il n'est pas possible de comparer *stricto sensu* des études – quasiment toutes rétrospectives – avec des techniques de biologie moléculaires tellement différentes.

Le CNR-EV souligne que toutes études vont dans le même sens.

Le CNR-EV précise que les réponses ont été formulées par le membre du CNR-EV laboratoire associé auditionné après une réflexion collective intégrant les suggestions et précisions des autres membres de ce CNR.

⁴³ Société de pathologie infectieuse de langue française. Prise en charge des méningites bactériennes aiguës communautaires (à l'exclusion du nouveau-né). 17e Conférence de consensus en thérapeutique anti-infectieuse, mercredi 19 novembre 2008. Grenoble: SPILF; 2008

⁴⁴ Cohen-Bacrie S, Ninove L, Nougairède A, *et al.* Revolutionizing clinical microbiology laboratory organization in hospitals with in situ point-of-care. PLoS One. 2011;6(7):e22403.

► Fédération Française de Neurologie (FFN)

Détection du génome des entérovirus dans le LCR par amplification génique dans les méningites

Audition du CNP de Neurologie : Fédération Française de Neurologie (FFN) représentée par M. le Dr Thomas De Broucker - 21 mai 2014

La FFN précise que les réponses apportées lors de l'audition ont été préalablement soumises aux membres de l'assemblée générale de la FFN et constituent donc une réponse collégiale.

Elle indique également qu'une réunion de consensus multidisciplinaire sur la prise en charge globale et la démarche diagnostique des infections neuro-méningées serait à envisager. La FFN précise que la neuro-pédiatrie est une discipline dont les pédiatres sont les principaux acteurs, par conséquent les réponses ci-après concernent principalement les adultes.

La FFN a fourni un document avec les réponses donc le contenu est repris dans ce compte rendu complété des remarques et interventions qui ont eu lieu durant l'audition.

Quelles sont actuellement les indications précises de la PCR EV sur le LCR dans la prise en charge d'une suspicion de méningite selon la FFN (type de patients, symptômes, saison...)?

Réponse :

Selon la FFN, les indications de la PCR EV sont les patients présentant un syndrome méningé fébrile dont les tableaux cliniques peuvent être d'aspect viral typique (méningite dite « aseptique ») ou posent le problème d'une méningite bactérienne « décapitée » par un traitement antibiotique préalable, ou enfin devant un tableau clinique atypique avec un LCR lymphocytaire. La FFN précise que les patients éligibles à la PCR EV peuvent présenter le tableau paraclinique suivant : procalcitonine normale ; LCR lymphocytaire ou à polynucléaires neutrophiles, protéinorachie inférieure à 1g/L ; glycorachie normale ou limite inférieure de la normale. Les patients concernés sont à la fois les enfants et les adultes, quelle que soit la période (épidémique ou non). Devant une méningite aiguë la PCR EV doit être pratiquée sur le LCR initial pour avoir un impact diagnostique et thérapeutique intéressant.

La FFN conclut que la PCR-EV est indiquée pour toutes les méningites qui ne sont pas d'évidence bactériennes, et que les résultats des examens biochimiques et cytologiques du LCR ne sont souvent pas suffisamment discriminants pour permettre l'arrêt du traitement probabiliste et la sortie du patient. La certitude de la cause entérovirale d'une méningite aiguë permet au contraire des prises de décision rapides et en toute sécurité d'arrêt de traitements antibiotiques et antiviraux et la sortie d'hospitalisation du patient.

Selon la FFN, depuis combien de temps cet examen est entré dans la pratique quotidienne ?

Réponse :

La FFN indique que cet examen est entré dans la pratique quotidienne depuis plus de 5ans, et précise que c'est un standard dans le diagnostic des méningites aiguës à liquide clair depuis plus de 3 ans.

Selon la FFN, quel est l'impact du résultat de la PCR EV sur la prise en charge médicale des patients quant :

- à la durée de l'antibiothérapie probabiliste (ou antiviraux) ?
- à l'exécution d'examens complémentaires (PCR autres agents infectieux, biochimie, imagerie...)?
- à la durée de l'hospitalisation ?
- à un autre critère?

Réponse :

Selon la FFN, le recours à la PCR EV permet une réduction des prescriptions probabilistes, de l'exécution d'examen complémentaires, de la durée d'hospitalisation et cela surtout chez l'enfant. La FFN argumente ces affirmations en s'appuyant sur la littérature présentée dans le rapport et également l'article de 2013 de Archimbaud *et al.*,⁴⁵. La FFN précise que la PCR EV permet l'épargne d'examen d'imagerie (par exemple IRM) et d'examen de recherche étiologique de nombreux autres agents infectieux (évite donc l'exécution d'une deuxième ponction lombaire). Elle précise également que la durée d'hospitalisation est sujette aux conditions socio-économiques du patient et que des adultes, vivant seuls ou dans de mauvaises conditions, seront sans doute hospitalisés 48h environ, pour surveillance même si la PCR EV est positive.

Par ailleurs la FFN indique que la PCR EV a d'autres impacts non négligeables notamment elle apporte une sécurité sur le diagnostic, permet de rassurer les patients et leur entourage et participe à la surveillance épidémiologique des méningites. La FFN fait remarquer que si le résultat de la PCR EV est positif et obtenu dans un délai suffisamment bref, le clinicien peut éviter l'initiation d'un traitement probabiliste. Selon la FFN la décision de sortie du malade et d'arrêt de l'antibiothérapie ne se font pas seulement sur le résultat de la PCR EV, mais également en considérant l'état général du patient et ses conditions socio-économiques.

A la connaissance de la FFN, des co-infections ont-elles été documentées (dans le LCR : EV et bactéries ou EV et autre virus type HSV, VZV) ?

Réponse :

La publication de de Ory *et al.*, en 2013⁴⁶, a une grande valeur épidémiologique. Elle montre que 76% des méningites virales sont attribuables à EV, qui est de loin le premier agent viral cause de méningites aiguës. La FFN indique qu'à sa connaissance seule cette publication documente la présence concomitante d'EV et HSV dans le LCR (3 LCR / 546). Elle précise que ces cas semblent extrêmement rares et ne retirent en rien l'intérêt de la PCR EV⁴⁷. Par ailleurs, selon la FFN, la simple surveillance clinique, si elle constate une dégradation, impliquera le recours à une deuxième ligne d'examen. Ainsi la FFN fait remarquer que la PCR EV n'est pas le seul élément sur lequel se fondent les décisions du clinicien pour permettre l'arrêt du (ou des) traitement probabiliste et la sortie de l'hôpital.

A la connaissance de la FFN, des cas de patient positif à la PCR EV, qui sont sortis des urgences, mais évoluant par la suite défavorablement (encéphalite à EV, souche EV plus invasive...) et entraînant un retour du patient aux urgences ont-elles été documentés ?

Réponse :

La FFN n'a pas connaissance de tels cas.

A la connaissance de la FFN, des cas de faux positifs de la PCR EV ont-ils été documentés ? Si oui quelle en était l'origine ? Etaient-ils la conséquence de réactions croisées avec d'autres agents infectieux (bactéries, HSV, VZV ...) ? Avaient-ils pour origine une contamination ? Ces cas de faux positif ont-ils eu des conséquences délétères pour le patient et ont entraîné une ré-hospitalisation ?

⁴⁵ Archimbaud C, Ouchchane L, Mirand A, *et al.* Improvement of the management of infants, children and adults with a molecular diagnosis of Enterovirus meningitis during two observational study periods. PLoS One 2013;8(7):e68571.

⁴⁶ de Ory F, Avellon A, Echevarria JE, *et al.* Viral infections of the central nervous system in Spain: a prospective study. J Med Virol 2013;85(3):554-62.

⁴⁷ L'étude indique que ces 3 cas sont des méningites sans préciser leur gravité.

Réponse :

La FFN n'a pas connaissance de tels cas. Elle indique que les PCR EV présentent de bonnes performances diagnostiques et que le clinicien a confiance dans le résultat.

Selon la FFN, quel est le délai optimal pour le rendu du résultat de PCR après prescription? Y a-t-il un délai maximal au-delà duquel le résultat, quel qu'il soit, n'aura pas d'impact sur la prise en charge du patient ? Quel est le point de vue de la FFN, quant à la disponibilité optimale de la technique de PCR EV (jours ouvrables, week-end et jours fériés) ?

Réponse :

Selon la FFN, le délai idéal est de 3 heures, délai obtenu par l'utilisation des kits diagnostiques actuels, ce qui peut permettre d'éviter l'initiation d'un traitement probabiliste. Cependant la FFN considère qu'un délai optimal (qui tient compte des contraintes logistiques de chaque établissement) est de 24h, sans dépasser 48h sans quoi l'impact du résultat positif sur la prise en charge du patient serait très limité. Actuellement la FFN considère que le résultat qui présente une utilité clinique est un résultat qualitatif. La charge virale et le génotypage ne présentent pas dans l'état actuel de la pratique et des connaissances d'intérêt sur la prise en charge individuelle du patient.

Avez-vous des observations complémentaires ? Avez-vous des observations sur le rapport de la HAS fourni avec ce questionnaire ?

La FFN n'a pas de commentaire particulier à faire sur le rapport et est en accord avec l'analyse de la littérature. La FFN a également présenté deux articles cités ci-dessus pour argumenter ses réponses⁴⁸,⁴⁹ et propose qu'ils soient intégrés au rapport.

⁴⁸ Archimbaud C, Ouchchane L, Mirand A, *et al.* Improvement of the management of infants, children and adults with a molecular diagnosis of Enterovirus meningitis during two observational study periods. PLoS One 2013;8(7):e68571.

⁴⁹ de Ory F, Avellon A, Echevarria JE, *et al.* Viral infections of the central nervous system in Spain: a prospective study. J Med Virol 2013;85(3):554-62.

► **Collège Français de Médecine d'Urgence (CFMU)**

Détection du génome des entérovirus dans le LCR par amplification génique dans les méningites

**Audition du Collège Français de Médecine d'Urgence (CFMU),
représenté par M. le Pr Eric Batard - 23 mai 2014**

Le représentant du CFMU précise en préalable de l'audition qu'il s'exprime sur les méningites chez les adultes laissant notamment le CNP-Pédiatrie s'exprimer sur les enfants.

Quelles sont actuellement les indications précises de la PCR EV sur le LCR dans la prise en charge d'une suspicion de méningite selon le CFMU (type de patients, symptômes, saison...)?

Réponse :

Le CFMU fait en remarque préalable que la littérature dans son état actuel de par les faiblesses méthodologique ne permet pas de répondre précisément à cette question. Le CFMU suit les recommandations issues de la conférence de consensus de la Splif de 2008 qui sont mentionnées dans ce rapport⁵⁰.

Ainsi selon le CFMU, la PCR EV est indiquée dans les cas de méningite avec faible suspicion de méningite bactérienne, quelle que soit la saison et l'âge du patient. Le représentant du CFMU précise que la PCR EV est particulièrement indiquée en cas de doute entre une méningite virale et une méningite bactérienne « décapitée » par une prise d'antibiotique précédant l'arrivée aux urgences du patient.

Selon le CFMU, la PCR EV est un examen qui intervient en deuxième ligne, après l'obtention des résultats de l'examen direct et de l'analyse biochimique et cytologique du LCR.

Le CFMU indique que la PCR EV est réservée aux cas de méningites et qu'elle n'a pas lieu d'être réalisée lorsque le LCR est acellulaire (moins de 5 à 10 leucocytes / mm³). Le CFMU souligne que le recours à la PCR EV n'est pas opportun lorsque l'étiologie de la méningite est d'évidence bactérienne (examen direct positif) ou très probablement bactérienne (selon l'analyse biochimique et cytologique). Considérant qu'actuellement les décisions d'abstention d'antibiothérapie et de retour à domicile sont prises dans un certain nombre de cas sans aucun résultat d'analyse virologique du LCR, le CFMU s'interroge cependant sur l'intérêt d'une PCR EV systématique en cas de suspicion de méningite virale.

Selon le CFMU, depuis combien de temps cet examen est entré dans la pratique quotidienne ?

Réponse :

Le CFMU précise que dans une part non négligeable d'hôpitaux, la PCR EV n'est pas pratiquée quotidiennement mais en séries plusieurs fois par semaine. Par ailleurs, le CFMU indique que de nombreux hôpitaux ne disposent pas de la technique et envoient leurs prélèvements dans des structures de plus grande taille. Le CFMU estime sur la base des données de ce rapport qu'un service d'urgence sur six dispose de la technique PCR EV localement en France actuellement. La PCR EV est une technique qui a émergée depuis une dizaine d'année dans les CHU et plus récemment dans les CHG.

Selon le CFMU, quel est l'impact du résultat de la PCR EV sur la prise en charge médicale des patients quant :

– *à la durée de l'antibiothérapie probabiliste (ou antiviraux) ?*

⁵⁰ Société de pathologie infectieuse de langue française. Prise en charge des méningites bactériennes aiguës communautaires (à l'exclusion du nouveau-né). 17e Conférence de consensus en thérapeutique anti-infectieuse, mercredi 19 novembre 2008. Grenoble: SPILF; 2008.

- à l'exécution d'examens complémentaires (PCR autres agents infectieux, biochimie, imagerie...) ?
- à la durée de l'hospitalisation ?
- à un autre critère?

Réponse :

Le CFMU précise que le délai de rendu des résultats de la PCR EV conditionne l'impact du résultat.

Selon le CFMU, la durée de l'antibiothérapie peut être réduite en cas de PCR EV positive. En revanche, si l'on néglige la situation parfaitement exceptionnelle d'un service d'urgence disposant de la PCR 24 heures sur 24, la PCR EV n'est pas à même actuellement de limiter l'initiation d'une antibiothérapie probabiliste, qui est conditionnée principalement par l'expérience du clinicien et/ou l'utilisation d'un score prédictif de la nature bactérienne d'une méningite, tel le score de Hoen.

Le CFMU est réservé quant à l'épargne de l'exécution d'examens complémentaires. En effet selon le CFMU ; les analyses biochimiques sont réalisées avant ou en parallèle de la PCR EV ; les patients présentant une méningite virale n'ont pas *a priori* d'examens d'imagerie (à la différence des patients présentant des signes d'encéphalite) ; les autres PCR pour d'autres agents infectieux sont peu répandues dans les laboratoires associés aux services d'urgences.

A la connaissance du CFMU, il n'y a pas d'étude interventionnelle montrant une diminution de la durée d'hospitalisation suite au recours de la PCR EV. Le CFMU estime que la réduction de la durée d'hospitalisation est limitée chez les adultes qui sont globalement gardés sous surveillance plus longtemps que les enfants (au moins 24h) en raison de la symptomatologie aiguë qu'ils présentent généralement (vomissement, forte céphalée...).

A la connaissance du CFMU, des co-infections ont-elles été documentées (dans le LCR EV et bactéries ou EV et autre virus type HSV, VZV) ? A la connaissance du CFMU, des cas de patient positif à la PCR EV, qui sont sortis des urgences, mais évoluant par la suite défavorablement (encéphalite à EV, souche EV plus invasive...) et entraînant un retour du patient aux urgences ont-elles été documentés ?

Réponse :

Le CFMU n'a pas connaissance de tels cas. Il précise que les services d'urgences sont habitués à gérer l'incertitude diagnostique. Il fait remarquer que dans les cas de méningites à entérovirus, le traitement est symptomatique et, que le patient à sa sortie, reçoit les consignes d'usage l'invitant à se représenter aux urgences si son état évolue défavorablement.

A la connaissance du CFMU, des cas de faux positif au PCR EV ont-ils été documentés ? Si oui quelle en était l'origine ? Etaient-ils la conséquence de réactions croisées avec d'autres agents infectieux (bactéries, HSV, VZV ...) ? Avaient-ils pour origine une contamination ? Ces cas de faux positif ont-ils eu des conséquences délétères pour le patient et ont entraîné une ré-hospitalisation ?

Réponse :

Le CFMU n'a pas connaissance de tels cas. Le CFMU indique que les urgentistes ont confiance dans le résultat rendu, sauf s'il y a discordance avec le tableau clinique.

Selon le CFMU, quel est le délai optimal pour le rendu du résultat de PCR après prescription ? Y a-t-il un délai maximal au-delà duquel le résultat, quel qu'il soit, n'aura pas d'impact sur la prise en charge du patient ? Quel est le point de vue du CFMU, quant à la disponibilité optimale de la technique de PCR EV (jours ouvrables, week-end et jours fériés) ?

Réponse :

Le CFMU indique que le délai idéal pour un service d'urgence est un rendu en quelques heures (3h), 24 heures sur 24, tous les jours de la semaine. Le CFMU précise que pour un service d'hospitalisation le délai optimal est d'obtenir le résultat en moins de 24h ; l'idéal étant dans la journée. Le délai maximum est une notion qui concerne surtout les services d'hospitalisation et non ceux des urgences. Toutefois selon le CFMU le résultat n'a que peu d'impact si le délai dépasse 48h.

Le CFMU précise que l'obtention d'un résultat PCR EV positif, en quelques heures, avec un tableau clinique de méningite virale, permet de faire sortir le patient des urgences rapidement et évite l'initiation de l'antibiothérapie probabiliste.

Avez-vous des observations complémentaires ? Avez-vous des observations sur le rapport de la HAS fourni avec ce questionnaire ?

Le CFMU est en accord avec l'analyse de la littérature de ce rapport et indique que la littérature en lien avec les examens biologiques est souvent de qualité méthodologique faible.

Le CFMU indique que la PCR EV est incluse dans les protocoles de prise en charge des méningites de certains services d'urgences.

Le CFMU indique que la PCR EV doit être limitée aux suspicions de méningites et ne doit pas être pratiquée sur les LCR prélevés pour une autre raison (suspicion d'hémorragie méningée à scanner normal).

► Audition du Conseil National Professionnel de Pédiatrie (CNP-P)

Détection du génome des entérovirus dans le LCR par amplification génique dans les méningites

Audition du Conseil National Professionnel de Pédiatrie (CNP-P) représenté par M. le Pr Emmanuel Grimpel - 2 juin 2014

Le représentant du CNP-P souligne que la question principale est l'utilité clinique de ce test, et il indique que les niveaux de preuves des études traitant de ce sujet sont très faibles.

Quelles sont actuellement les indications précises de la PCR EV sur le LCR dans la prise en charge d'une suspicion de méningite selon le CNP-P (type de patients, symptômes, saison...)?

Réponse :

Le représentant du CNP-P souligne préalablement que les indications dépendent des situations cliniques qui conditionnent également le degré d'intérêt de la technique.

La problématique principale pour les pédiatres, selon le représentant du CNP-P, est d'identifier 100% des méningites bactériennes qui sont une urgence absolue. Le représentant du CNP-P indique qu'il est possible dans bon nombre de cas, de discriminer les méningites bactériennes des méningites virales sur l'analyse conjointe de critères cliniques et biologiques. Ainsi le représentant CNP-P, indique les quatre approches principales qui conduisent à traiter le patient par antibiotiques dès son arrivée sans utilité préalable de la PCR EV ;

- des caractéristiques cliniques élémentaires obtenues par l'examen clinique du patient aux urgences (instabilité hémodynamique, respiratoire et neurologique, sepsis syndrome) ;
- des caractéristiques biologiques du liquide céphalorachidien disponibles aux urgences (examen direct, protéinorachie, BinaxNow pneumococcique) ;
- des caractéristiques biologiques sériques élémentaires comme la numération formule sanguine et surtout les marqueurs sériques inflammatoires, comme la CRP et la procalcitonine (PTC) qui permettent au clinicien de conforter son diagnostic initial de méningite bactérienne aux urgences ; ces éléments permettent aussi d'arrêter secondairement l'antibiothérapie probabiliste ;
- de l'association de caractéristiques biologiques et cliniques dans un cadre plus large, comme le méningitest[®], qui est une règle de décision clinique validée pour la prise en charge des méningites aux urgences, cité dans la conférence de consensus de la Splif de 2008⁵¹.

Le représentant CNP-P précise cependant qu'il n'a pas été identifié à l'heure actuelle de marqueur clinique ou biologique permettant à lui seul de différencier les méningites virales de méningites bactériennes. Il souligne que la capacité de discriminer une méningite virale d'une méningite bactérienne est également largement fonction de l'expérience du clinicien.

Selon le représentant du CNP-P, la PCR EV constitue dans toutes les situations de méningites un examen en 2^{ème} ligne après l'évaluation clinique et les examens biologiques sériques et cyto bactériologiques du LCR.

Il précise que l'indication potentielle de cette technique diffère selon l'âge du patient :

- Chez les nourrissons de moins de 3 mois avec des signes de méningite (sur le LCR), la PCR EV devrait être réalisée systématiquement. Ces nourrissons sont presque toujours traités par antibiotiques du fait de leur jeune âge, et parfois également par antiviral (acyclovir). Il souligne en outre, que la PCR EV présente un intérêt élargi à la prise en charge de la fièvre aiguë du nourrisson de moins de 3 mois avec ou sans méningite (une ponction lombaire est couramment

⁵¹ Société de pathologie infectieuse de langue française. Prise en charge des méningites bactériennes aiguës communautaires (à l'exclusion du nouveau-né). 17e Conférence de consensus en thérapeutique anti-infectieuse, mercredi 19 novembre 2008. Grenoble: SPILF; 2008.

pratiquée en cas de tableau fébrile) pour éviter la poursuite d'examens complémentaires et l'antibiothérapie lorsque la bactériologie est négative ;

- Pour les enfants, la PCR EV peut être réalisée, dans les cas de méningites qui ne sont ni d'évidence bactérienne ni d'évidence virale. Le représentant du CNP-P souligne que si la méningite est d'évidence virale ou bactérienne, la PCR EV n'est pas utile à la décision clinique et à la prise en charge du patient puisqu'elle ne modifie pas celle-ci ;
- Selon le représentant CNP-P la PCR EV présente également une utilité devant un tableau évocateur de méningite bactérienne avec une culture bactériologique négative chez un patient ayant reçu un traitement antibiotique avant la ponction lombaire et dont l'évolution est rapidement favorable dans les 48h ;

Selon le CNP-P, dans les quatre situations précédemment décrites, un résultat PCR EV positif permettrait un arrêt des traitements probabilistes antiviraux et antibactériens et une sortie plus rapide de l'hôpital.

Selon le CNP-P, depuis combien de temps cet examen est entré dans la pratique quotidienne ?

Réponse :

La technique a été développée à partir de 1994, et s'est progressivement diffusée dans les hôpitaux entre 2000 et 2005.

Selon le CNP-P, quel est l'impact du résultat de la PCR EV sur la prise en charge médicale des patients quant :

- à la durée de l'antibiothérapie probabiliste (ou antiviraux) ?
- à l'exécution d'examens complémentaires (PCR autres agents infectieux, biochimie, imagerie...) ?
- à la durée de l'hospitalisation ?
- à un autre critère?

Réponse :

Un résultat positif à la PCR EV, dans les contextes cliniques décrits en réponse à la question précédente, permettra l'arrêt de l'antibiothérapie.

Selon le représentant du CNP-P, la PCR-EV peut éviter la réalisation des examens de recherche d'autres agents infectieux, notamment les PCR bactériennes (PCR 16S).

Le représentant du CNP-P précise que la durée d'hospitalisation est liée, à la fois, à l'état clinique du patient et à celle du traitement antibiotique ou antiviral. Ainsi, l'arrêt d'une antibiothérapie ou d'un traitement antiviral probabiliste permet une réduction de la durée d'hospitalisation.

Le représentant du CNP-P indique que la PCR EV contribue également à la gestion de l'angoisse de l'entourage du malade en identifiant une étiologie bénigne à la méningite lorsque que le résultat est positif.

Enfin selon le représentant du CNP-P, le risque nosocomial pour les nourrissons peut être réduit par une sortie anticipée et peut ainsi contribuer à éviter le portage de bactéries multi-résistantes.

A la connaissance du CNP-P, des co-infections ont-elles été documentées (dans le LCR EV et bactéries ou EV et autre virus type HSV, VZV) ?

Réponse :

A la connaissance du CNP-P, seuls deux cas de co-infection du LCR (bactérie et EV) ont été décrits⁵². Cela ne retire rien de l'intérêt de cette technique, car les co-infections restent extrêmement rares. Ainsi, le résultat PCR EV positif ne permet pas toujours à lui seul l'arrêt d'un traitement probabiliste, le résultat devant toujours être confronté aux éléments cliniques et biologiques.

A la connaissance du CNP-P, des cas de patient positif à la PCR EV, qui sont sortis des urgences, mais évoluant par la suite défavorablement (encéphalite à EV, souche EV plus invasive...) et entraînant un retour du patient aux urgences ont-elles été documentés ?

Réponse :

A la connaissance du CNP-P, aucun cas n'a été décrit. Les syndromes post-ponction lombaire peuvent par contre entraîner parfois un retour aux urgences.

A la connaissance du CNP-P, des cas de faux positif au PCR EV ont-ils été documentés ? Si oui quelle en était l'origine ? Etaient-ils la conséquence de réactions croisées avec d'autres agents infectieux (bactéries, HSV, VZV ...) ? Avaient-ils pour origine une contamination ? Ces cas de faux positif ont-ils eu des conséquences délétères pour le patient et ont entraîné une ré-hospitalisation ?

Réponse :

Le CNP-P indique que cette question relève du domaine d'expertise des biologistes. Le représentant du CNP-P n'a pas connaissance de tel cas.

Selon le CNP-P, quel est le délai optimal pour le rendu du résultat de PCR après prescription ? Y a-t-il un délai maximal au-delà duquel le résultat, quel qu'il soit, n'aura pas d'impact sur la prise en charge du patient ? Quel est le point de vue du CNP-P, quant à la disponibilité optimale de la technique de PCR EV (jours ouvrables, week-end et jours fériés) ?

Réponse :

Le représentant du CNP-P indique que le délai dépend de l'utilisation du test. En effet, s'il s'agit d'une aide à la décision clinique pour initier ou non un traitement, le résultat doit être obtenu en moins d'une heure. S'il s'agit d'arrêter l'antibiothérapie probabiliste et de décider de la sortie de l'hôpital ; le résultat peut être rendu dans un délai de 12-24h et cela y compris la fin de semaine et jours fériés.

Avez-vous des observations sur le rapport de la HAS fourni avec ce questionnaire ?

Réponse :

Le représentant du CNP-P indique qu'il n'a pas de remarque sur le rapport d'évaluation, il est en accord avec l'analyse de la littérature.

Il tient à souligner l'intérêt de la PCR EV au-delà des méningites ; notamment dans les encéphalites ; les fièvres aiguës du nourrisson, et les tableaux fébriles en fin de grossesse. Dans ce dernier cas, le diagnostic positif d'une infection à entérovirus (PCR EV sur prélèvement sanguin), pourrait conduire à retarder l'accouchement. Ce qui permettrait la synthèse des anticorps maternels puis leur transmission au fœtus pour ainsi, éviter une infection néonatale grave à EV.

En effet, en l'absence d'anticorps maternels, une infection néonatale précoce et materno-transmise à EV peut engager le pronostic vital du nouveau-né avec une surmortalité voisine de 70%.

⁵² Basmaci R, Mariani PD, G., Azib S, et al. Enteroviral meningitis does not exclude concurrent bacterial meningitis. J Clin Microbiol 2011;49(9):3442-3.

Références

1. Ramers C, Billman G, Hartin M, Ho S, Sawyer MH. Impact of a diagnostic cerebrospinal fluid enterovirus polymerase chain reaction test on patient management. *JAMA* 2000;283(20):2680-5.
2. Peigue-Lafeuille H, Archimbaud C, Mirand A, Chambon M, Regagnon C, Laurichesse H, *et al.* Du diagnostic moléculaire initial prospectif des méningites à entérovirus...à la lutte contre l'antibiorésistance. *Med Mal Infect* 2006;36(3):124-31.
3. Haute Autorité de Santé. Évaluation de la détection du génome des entérovirus dans le liquide céphalorachidien par amplification génique dans les suspicions de méningites virales. Note de cadrage. Saint-Denis La Plaine: HAS; 2014.
http://www.has-sante.fr/portail/upload/docs/application/pdf/2014-04/note_de_cadrage_infection_a_enterovirus.pdf
4. Chalouhi C, Faesch S, Chappuy H, Chéron G. Méningites lymphocytaires aiguës. *Encycl Méd Chir Pédiatrie* 2007;4-098-C-10.
5. Stahl JP. Méningites aiguës. *Encycl Méd Chir Neurologie* 2013;10(1):17-160-C-10.
6. Bourrillon A, Bingen E. Méningites du nourrisson et de l'enfant. *Encycl Méd Chir Pédiatrie / Maladies Infectieuses* 2013;8(3):4-210-B-10.
7. Jouan. Méningite infectieuse aiguë de l'adulte. *Traité Méd Akos* 2006;4-0850.
8. Sotto A. Méningites. *Méd Urgence* 2006:557-64.
9. Parent I. Epidémiologie des méningites aiguës en France. SFM, Paris, 11 avril 2012. Saint-Maurice: INVS; 2012.
http://opac.invs.sante.fr/doc_num.php?explnum_id=8208
10. Solomon T, Michael BD, Smith PE, Sanderson F, Davies NW, Hart IJ, *et al.* Management of suspected viral encephalitis in adults. Association of British Neurologists and British Infection Association National Guidelines. *J Infect* 2012;64(4):347-73.
11. Société de pathologie infectieuse de langue française. Prise en charge des méningites bactériennes aiguës communautaires (à l'exclusion du nouveau-né). 17^e Conférence de consensus en thérapeutique anti-infectieuse, mercredi 19 novembre 2008. Grenoble: SPILF; 2008.
http://www.infectiologie.com/site/medias/documents/consensus/Meningites_consensus-long.pdf
12. Andréoletti L. Entérovirus. *Encycl Méd Chir Maladies Infectieuses* 2010;8-056-A-10.
13. Institut de veille sanitaire. Point sur les infections à entérovirus au 7 août 2013 [En ligne] 2013.
<http://www.invs.sante.fr/Dossiers-thematiques/Maladies-infectieuses/Maladies-a-prevention-vaccinale/Poliomyelite/Points-enterovirus/Point-sur-les-infections-a-enterovirus-au-7-aout-2013>
14. Peigue-Lafeuille H, Archimbaud C, Mirand A, Regagnon C, Chambon M, Henquell C. Intérêt du diagnostic moléculaire des méningoencéphalites virales. *Spectra Biol* 2006(154):44-55.
15. de Ory F, Avellón A, Echevarría JE, Sánchez-Seco MP, Trallero G, Cabrerizo M, *et al.* Viral infections of the central nervous system in Spain: a prospective study. *J Med Virol* 2013;85(3):554-62.
16. Peigue-Lafeuille H, Croquez N, Laurichesse H, Clavelou P, Aumaître O, Schmidt J, *et al.* Enterovirus meningitis in adults in 1999-2000 and evaluation of clinical management. *J Med Virol* 2002;67(1):47-53.

17. Archimbaud C, Chambon M, Bailly JL, Petit I, Henquell C, Mirand A, *et al.* Impact of rapid enterovirus molecular diagnosis on the management of infants, children, and adults with aseptic meningitis. *J Med Virol* 2009;81(1):42-8.
18. Romero JR. Reverse-transcription polymerase chain reaction detection of the enteroviruses. *Arch Pathol Lab Med* 1999;123(12):1161-9.
19. Centre national de référence des entérovirus et paréchévirus. Rapport d'activités 2012. Clermont-Ferrand: CNR; 2013.
20. Oberste MS, Maher K, Kilpatrick DR, Flemister MR, Brown BA, Pallansch MA. Typing of human enteroviruses by partial sequencing of VP1. *J Clin Microbiol* 1999;37(5):1288-93.
21. Drancourt M. Evaluation médico-économique du diagnostic moléculaire des méningites à entérovirus. Programme de soutien aux techniques innovantes coûteuses 2006. Paris: Ministère des Affaires sociales et de la Santé; 2009.
22. Tunkel AR, Hartman BJ, Kaplan SL, Kaufman BA, Roos KL, Scheld WM, *et al.* Practice guidelines for the management of bacterial meningitis. *Clin Infect Dis* 2004;39(9):1267-84.
23. Steiner I, Schmutzhard E, Sellner J, Chaudhuri A, Kennedy PG. EFNS-ENS guidelines for the use of PCR technology for the diagnosis of infections of the nervous system. *Eur J Neurol* 2012;19(10):1278-91.
24. Standards Unit Microbiology Services Division. UK standards for microbiology investigations. Investigation of viral encephalitis and meningitis. London: Health Protection Agency; 2011.
http://www.hpa.org.uk/webc/hpawebfile/hpaweb_c/1317131376825
25. Verstrepen WA, Kuhn S, Kockx MM, Van De Vyvere ME, Mertens AH. Rapid detection of enterovirus RNA in cerebrospinal fluid specimens with a novel single-tube real-time reverse transcription-PCR assay. *J Clin Microbiol* 2001;39(11):4093-6.
26. Young PP, Buller RS, Storch GA. Evaluation of a commercial DNA enzyme immunoassay for detection of enterovirus reverse transcription-PCR products amplified from cerebrospinal fluid specimens. *J Clin Microbiol* 2000;38(11):4260-1.
27. Guney C, Ozkaya E, Yapar M, Gumus I, Kubar A, Doganci L. Laboratory diagnosis of enteroviral infections of the central nervous system by using a nested RT-polymerase chain reaction (PCR) assay. *Diagn Microbiol Infect Dis* 2003;47(4):557-62.
28. Jacques J, Carquin J, Brodard V, Moret H, Lebrun D, Bouscambert M, *et al.* New reverse transcription-PCR assay for rapid and sensitive detection of enterovirus genomes in cerebrospinal fluid specimens of patients with aseptic meningitis. *J Clin Microbiol* 2003;41(12):5726-8.
29. van Vliet KE, Glimaker M, Lebon P, Klapper PE, Taylor CE, Ciardi M, *et al.* Multicenter evaluation of the Amplicor Enterovirus PCR test with cerebrospinal fluid from patients with aseptic meningitis. *J Clin Microbiol* 1998;36(9):2652-7.
30. Carrol ED, Beadsworth MB, Jenkins N, Ratcliffe L, Ashton I, Crowley B, *et al.* Clinical and diagnostic findings of an echovirus meningitis outbreak in the north west of England. *Postgrad Med J* 2006;82(963):60-4.
31. Nolte FS, Rogers BB, Tang YW, Oberste MS, Robinson CC, Kehl KS, *et al.* Evaluation of a rapid and completely automated real-time reverse transcriptase PCR assay for diagnosis of enteroviral meningitis. *J Clin Microbiol* 2011;49(2):528-33.
32. Gartzonika C, Vrioni G, Levidiotou S. Evaluation of a commercially available reverse transcription-PCR enzyme immunoassay (Enterovirus Consensus kit) for the diagnosis of enterovirus central nervous system infections. *Clin Microbiol Infect* 2005;11(2):131-7.

33. Buck GE, Wiesemann M, Stewart L. Comparison of mixed cell culture containing genetically engineered BGMK and CaCo-2 cells (Super E-Mix) with RT-PCR and conventional cell culture for the diagnosis of enterovirus meningitis. *J Clin Virol* 2002;25 (Suppl 1):S13-8.
34. Monpoeho S, Coste-Burel M, Costa-Mattioli M, Besse B, Chomel JJ, Billaudel S, *et al.* Application of a real-time polymerase chain reaction with internal positive control for detection and quantification of enterovirus in cerebrospinal fluid. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2002;21(7):532-6.
35. Verstrepen WA, Bruynseels P, Mertens AH. Evaluation of a rapid real-time RT-PCR assay for detection of enterovirus RNA in cerebrospinal fluid specimens. *J Clin Virol* 2002;25 (Suppl 1):S39-43.
36. Carroll KC, Taggart B, Robison J, Byington C, Hillyard D. Evaluation of the Roche AMPLICOR enterovirus PCR assay in the diagnosis of enteroviral central nervous system infections. *J Clin Virol* 2000;19(3):149-56.
37. Hadziyannis E, Cornish N, Starkey C, Procop GW, Yen-Lieberman B. Amplicor enterovirus polymerase chain reaction in patients with aseptic meningitis: a sensitive test limited by amplification inhibitors. *Arch Pathol Lab Med* 1999;123(10):882-4.
38. Gorgievski-Hrisoho M, Schumacher JD, Vilimonovic N, Germann D, Matter L. Detection by PCR of enteroviruses in cerebrospinal fluid during a summer outbreak of aseptic meningitis in Switzerland. *J Clin Microbiol* 1998;36(9):2408-12.
39. Stonehouse V, Furyk J, Norton R. Impact of polymerase chain reaction results on patient management during a viral meningitis outbreak in Tropical North Queensland. *Emerg Med Australas* 2012;24(1):52-6.
40. Michos AG, Syriopoulou VP, Hadjichristodoulou C, Daikos GL, Lagona E, Douridas P, *et al.* Aseptic meningitis in children: analysis of 506 cases. *PLoS One* 2007;2(7):e674.
41. Dewan M, Zorc JJ, Hodinka RL, Shah SS. Cerebrospinal fluid enterovirus testing in infants 56 days or younger. *Arch Pediatr Adolesc Med* 2010;164(9):824-30.
42. King RL, Lorch SA, Cohen DM, Hodinka RL, Cohn KA, Shah SS. Routine cerebrospinal fluid enterovirus polymerase chain reaction testing reduces hospitalization and antibiotic use for infants 90 days of age or younger. *Pediatrics* 2007;120(3):489-96.
43. Huizing KM, Swanink CM, Landstra AM, van Zwet AA, van Setten PA. Rapid enterovirus molecular testing in cerebrospinal fluid reduces length of hospitalization and duration of antibiotic therapy in children with aseptic meningitis. *Pediatr Infect Dis J* 2011;30(12):1107-9.
44. Archimbaud C, Ouchchane L, Mirand A, Chambon M, Demeocq F, Labbé A, *et al.* Improvement of the management of infants, children and adults with a molecular diagnosis of Enterovirus meningitis during two observational study periods. *PLoS One* 2013;8(7):e68571.
45. Basmaci R, Mariani P, Delacroix G, Azib S, Faye A, Taha MK, *et al.* Enteroviral meningitis does not exclude concurrent bacterial meningitis. *J Clin Microbiol* 2011;49(9):3442-3.

Fiche descriptive

Intitulé	Descriptif
Méthode de travail	Evaluation d'une technologie de santé
Date de mise en ligne	Juillet 2014
Date d'édition	Uniquement disponible sous format électronique sur www.has-sante.fr
Objectif(s)	Cf. page. 5
Professionnel(s) concerné(s)	Cf. page. 15
Demandeur	Caisse nationale d'assurance maladie des travailleurs salariés (CNAMTS) Société Française de Microbiologie (SFM)
Promoteur	Haute Autorité de Santé (HAS), Service évaluation des actes professionnels (SEAP)
Pilotage du projet	Coordination : Jean-Charles LAFARGE, chef de projet, SEAP (Chef de service : Michèle MORIN-SURROCA, adjoint au chef de service : Denis-Jean DAVID) Secrétariat : Banedé SAKO, assistante, SEAP
Participants	Expertise externe à la HAS : Cf. page 15
Recherche documentaire	De 2004 à juin 2014 (stratégie de recherche documentaire décrite en chapitre 2.1.1) Réalisée par Sophie DESPEYROUX, documentaliste, avec l'aide de Renée CARDOSO, assistante documentaliste, sous la responsabilité de Frédérique PAGES, chef du service documentation - information des publics, et Christine DEVAUD, adjointe au chef de service
Auteurs de l'argumentaire	Jean-Charles LAFARGE, chef de projet, SEAP, sous la responsabilité de Denis-Jean DAVID, adjoint au chef de service, SEAP
Validation	Examen par la Commission nationale d'évaluation des dispositifs médicaux et des technologies de santé (CNEDiMETS) : juillet 2014 Collège de la HAS : juillet 2014
Autres formats	Pas d'autre format que le format électronique disponible sur www.has-sante.fr
Documents d'accompagnement	Note de cadrage (avril 2014) et Avis HAS, disponibles sur www.has-sante.fr

~



Toutes les publications de la HAS sont téléchargeables sur
www.has-sante.fr