



Hélène PEIGUE-LAFEUILLE^{*1,2}, Christine ARCHIMBAUD^{1,2}, Audrey MIRAND^{1,2}, Christel REGAGNON²,
Martine CHAMBON^{1,2}, Cécile HENQUELL².

Intérêt du diagnostic moléculaire des méningoencéphalites virales

RÉSUMÉ

Les alertes sanitaires récentes en pathologie infectieuse ont mis l'accent sur la nécessité de trouver rapidement la cause précise des infections neuro-méningées. La mise en évidence d'un génome donné dans le liquide céphalorachidien initial prend toute sa valeur. Peu fréquentes mais potentiellement graves, les encéphalites infectieuses aiguës viennent de faire l'objet de recommandations consensuelles multidisciplinaires pour appréhender leur diagnostic étiologique. Par opposition, les méningites aseptiques, très fréquentes, posent en pratique les mêmes questions : quel agent ? faut-il traiter ? La part majeure des entérovirus dans ces tableaux, leur bénignité, leur absence de traitement justifient de les rechercher dès l'admission, à côté de l'examen bactériologique standard. L'utilisation prospective de la détection du génome des entérovirus à l'admission sur la seule suspicion clinique de méningite a montré 1) le peu de valeur prédictive de l'examen cytologique du LCR et des dosages biochimiques en urgence pour influencer la décision initiale de traiter par antibiotiques, 2) la fréquence des observations en hiver, 3) la fréquence des cas chez les adultes (au moins un quart des cas). La disponibilité et la praticabilité de ces tests permettent désormais un diagnostic prospectif rapide et, s'il est positif l'arrêt des traitements, et autres examens inutiles, voire la non-hospitalisation du malade. L'intérêt en est donc individuel et collectif, dans la lutte contre l'utilisation abusive des antibiotiques, dont la France est championne. Le diagnostic moléculaire de la plus fréquente des méningites aseptiques amène une attitude active : l'abstention d'examens et de traitements inutiles. Avec la prise en charge globale de cette pathologie, l'intérêt du malade, celui de la collectivité et celui du budget de l'hôpital se rejoignent.

MOTS-CLÉS

Antibiotiques, diagnostic prospectif, entérovirus, méningites, encéphalites, tests moléculaires

Interest of molecular diagnosis of viral meningoencephalitis

SUMMARY

Recent health alerts have underlined the need for a rapid and reliable etiological diagnosis in encephalitis or meningitis. To evidence a given genome in cerebrospinal fluid on admission is determinant. Acute infectious encephalitis is uncommon but potentially serious and multidisciplinary guidelines were recently drawn up for optimal management of diagnosis. In contrast, cases of aseptic meningitis are frequent but the same question remains of whether to initiate treatment. Since enteroviruses (EV) are a major cause of aseptic meningitis, are benign and require no treatment, they should be looked for on admission using genome detection, concomitantly with standard bacteriological examinations. The prospective use of EV molecular test on admission, on the sole basis of clinical suspicion of meningitis, has shown that 1) cytological and biochemical data from CSF analyses do not have a strong enough predictive value to influence the initial decision to treat with antibiotics, 2) cases of meningitis during winter are common, and 3) about 25% of cases involve adults. Current progress in the automation and practicability of viral genomic detection allows rapid prospective diagnosis. If diagnosis is positive, treatments and unnecessary exams should be discontinued and the patient discharged. It is of benefit to both the patient and the community because of its impact on health economics and the needless consumption of antibiotics. The molecular diagnosis of the most frequent etiology of aseptic meningitis should lead to active management: by eliminating unnecessary investigations and treatments. An overall approach to management of the disease serves the interests of the patient and the community at large and those of the hospital budget.

KEYWORDS

Antibiotics, prospective diagnosis, enterovirus, meningitis, encephalitis, molecular tests

*pour correspondance - E-Mail : hlafeuille@chu-clermontferrand.fr

¹Université d'Auvergne Clermont I - Faculté de Médecine - EA3843 - 38, place Henri-Dunant - 63001 Clermont-Ferrand cedex.

²CHU de Clermont-Ferrand - Centre de Biologie - Laboratoire de Virologie - 58, rue Montalembert - 63003 Clermont-Ferrand cedex
Tél. : 04 73 75 48 50 - Fax : 04 73 75 48 51

I – Etat des lieux : les alertes sanitaires en Europe et ailleurs

Depuis trois ans, les mots « alerte sanitaire », « maladies émergentes » ou « réémergentes » réapparaissent dans le vocabulaire quotidien, avec une année 2005 particulièrement bien fournie, sur fond de « grippe aviaire ». Début 2005, une épidémie d'infections à virus Chikungunya (un virus connu depuis 1952) touche les Comores (5000 cas entre janvier et mars), les autres îles de l'Océan Indien, et en mars l'île de la Réunion (1, 2). La suite est connue (3). Le 20 juin 2005, le Ministère de la Santé émet un message d'alerte « à l'attention des services d'accueil, services de maladies infectieuses et laboratoires de virologie » (4) sur l'augmentation du nombre de méningites à entérovirus depuis mai, et la nécessité de rester vigilant vis-à-vis des méningites bactériennes, « bien que cette recrudescence de méningites virales survienne à une époque de l'année moins propice aux infections invasives à méningocoque ». ...Sauf que, justement, depuis 2003 à ce jour, dans le département de Seine-Maritime et la zone de Dieppe, il y a une situation d'hyperendémicité des infections à méningocoques, avec une incidence annuelle de 21,3 cas pour 100 000 habitants, soit 15 fois supérieure à la normale (5) sans saisonnalité particulière. Pendant ce temps, en Westphalie du Nord, plusieurs centaines de rougeole sont observés chez des adolescents, avec une montée en puissance depuis fin 2005 (6). Ces maladies épidémiques n'ont rien en commun, sauf l'existence de tableaux neuro-méningés parmi tous les modes de présentation clinique initiale. Leur fréquence et leur gravité sont certes très différentes selon les causes, et la conduite à tenir va de l'urgence thérapeutique (antibiotiques ou antiherpétiques), à l'abstention... A l'admission, le diagnostic étiologique peut être facile à évoquer (épidémie dans un lieu géographique donné, plusieurs membres de la famille atteints...). Il est surtout facile rétrospectivement quand l'évolution a été bénigne, au moment de la lettre de sortie. Il est difficile dans tous les autres cas, et le dilemme initial reste le même : faut-il ou non traiter ?

L'objectif de cette revue est - non pas de faire l'exhaustivité des dizaines de causes possibles d'infections neuro-méningées et des moyens de diagnostic à mettre en route dans chacune - mais d'envisager deux cas de figure au moment de l'admission du malade :

• **devant un tableau de suspicion d'encéphalite infectieuse**, un consensus d'aide décisionnelle vient d'être mis à disposition des cliniciens et biologistes. Il propose une hiérarchisation des causes possibles et des recherches utiles ;

• **devant un tableau de méningite**, la cause la plus fréquente de méningites virales reste les entérovirus. Son diagnostic rapide de certitude est la détection du génome dans le liquide céphalorachidien (LCR). Un diagnostic positif doit avoir pour

effet l'abstention thérapeutique, la non-prescription d'examen inutiles, le raccourcissement du temps d'hospitalisation. Cette démarche s'inscrit dans la prise en charge globale du malade, la lutte contre la surconsommation en antibiotiques dont la France détient le triste record en Europe (7, 8), et l'antibiorésistance, et permet des économies de santé.

II – Les encéphalites infectieuses aiguës en France en 2006 et leur prise en charge

Les encéphalites infectieuses (enfant et adulte) sont des infections potentiellement graves. Les suspecter à l'admission peut être difficile. La fièvre supérieure à 38°C, une anomalie du LCR, associée à deux des signes suivants : céphalées, désorientation, troubles de conscience, crises convulsives ou déficit neurologique central ou périphérique sont hautement évocateurs. A côté des autres résultats (électroencéphalographie, imagerie, etc.) l'évolution clinique dans les premières heures ou jours différencie l'encéphalite de la méningite virale bénigne rapidement résolutive. La recherche des causes doit avoir la meilleure exhaustivité possible, pour **1)** l'urgence thérapeutique de certaines infections virales (herpes et aciclovir), parasitaires, bactériennes, **2)** le potentiel épidémique éventuel et les mesures de prévention, **3)** la veille sanitaire concernant l'émergence ou la réémergence de pathologies nouvelles ou anciennes.

Le LCR est un liquide stérile, toute présence de germes ou de leurs constituants (génome) a une grande valeur diagnostique. Les chances de trouver l'agent en cause sont les plus grandes dans les prélèvements initiaux (LCR et premier sérum) mais la quantité est forcément limitée, d'où le dilemme du choix des marqueurs. Chaque recherche, même la moins consommatrice, prélève son lot de précieux microlitres de LCR. Cette observation « basique » est au cœur des recherches étiologiques. L'intérêt des puces dans ce domaine sera sûrement considérable... dans quelques années. Or, il faut prendre en charge les malades d'aujourd'hui avec les outils validés dont on dispose.

En janvier 2006, des experts pluridisciplinaires (infectiologues, réanimateurs, pédiatres, neurologues, microbiologistes, épidémiologistes) ont proposé un consensus visant à améliorer la démarche diagnostique dans le cadre de la bonne prise en charge de ce type de patients (9). Ces recommandations, validées par la Société de Pathologie Infectieuse de Langue Française (SPILF) (voir encadré I), s'appuient sur les données de la littérature, l'expertise des praticiens de terrain, des Centres Nationaux de Référence et le respect des trois items cités plus haut (traitement urgent éventuel, potentiel épidémique, veille sanitaire).

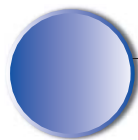
NOTE

Dans cette revue, la partie concernant les méningites à entérovirus a été présentée lors d'une Conférence donnée sur invitation dans le cadre du 15^e European Congress of Clinical Microbiology and Infectious Diseases à Copenhague le 3 avril 2005 et du 34^e Colloque National des Biologistes des Hôpitaux à Perpignan le 27 septembre 2005.

REMERCIEMENTS

• Les auteurs remercient le personnel du Laboratoire de Virologie et les médecins du CHU de Clermont-Ferrand (Services des Urgences, Pédiatrie, Médecine Interne, Infectiologie, Neurologie et tous les autres), un climat de réel partenariat, de respect mutuel et de confiance a pu seul permettre ce type d'étude visant à l'amélioration des soins.

• Les auteurs et l'éditeur remercient la SPILF et le professeur J.-P. Stahl pour l'autorisation d'utiliser le document « Pour une bonne pratique de la prise en charge diagnostique des encéphalites en France ».



Encadré I

Pour une bonne pratique de la prise en charge diagnostique des encéphalites en France. Recommandations validées par la Société de Pathologie Infectieuse de Langue Française (SPILF). Document reproduit avec l'aimable autorisation de la SPILF.

Le Groupe d'experts

BÉBÉAR C., BOLGERT F., CUA E., DABERNAT H., DESENCLOS J.-C., FLORET D., GUÉRY B., HOMMEL M., LAFEUILLE H., LECUIT M., LÉVY BRUHL D., LINA B., LORTHOLARY O., MAILLES A., MANUGUERRA J.-C., MICHELET C., POZZETTO B., VAILLANT V., STAHL J.-P., YAZDANPANAHI Y., ZELLER H.

Correspondance : J.-P. Stahl – Infectiologie – CHU Grenoble 38043 – E-Mail : JPStahl@chugrenoble.fr - www.infectiologie.com

Recommandations

Les encéphalites infectieuses de l'enfant et de l'adulte non infectés par le VIH sont des infections graves pour lesquelles il est fondamental d'avoir la meilleure exhaustivité diagnostique possible (1-2):

- en terme d'urgence thérapeutique, lorsque l'agent pathogène est traitable par anti-viral, anti-parasitaire ou antibiotique (3, 4);
- en terme de santé publique en raison d'un potentiel épidémique éventuel et donc de la nécessité de mettre en œuvre des mesures de prévention;
- en terme d'émergence ou de ré-émergence de pathologies nouvelles ou ancienne (l'exemple du West Nile aux USA est particulièrement démonstratif) (5, 6).

Un certain nombre d'experts (infectiologues, réanimateurs, pédiatres, neurologues, microbiologistes, épidémiologistes) ont proposé une démarche visant à améliorer la qualité des pratiques, et la commission FMC de la Société de Pathologie Infectieuse de Langue Française (SPILF) a validé ces recommandations de démarche diagnostique, dans le cadre de la bonne prise en charge de ce type de patients.

Ces recommandations tiennent compte de l'incidence des agents infectieux, de leur imputabilité dans les encéphalites, de leur potentiel épidémique et de l'urgence thérapeutique (bénéfice individuel pour le patient) et se sont appuyées sur une revue des données de la littérature.

Le diagnostic d'encéphalite étant porté, **un premier niveau** de recherche étiologique reposant sur la fréquence ou l'urgence thérapeutique doit être immédiatement mis en œuvre :

- examen bactériologique standard du LCR ;
- sérologie VIH rapide ;
- PCR LCR HSV 1 et 2. afin d'éliminer avec certitude une encéphalite à HSV, en cas de négativité de la première PCR, il faut en réaliser une deuxième au 4^e jour au plus tard après le début des symptômes (7) ;
- PCR LCR VZV (9) ;
- PCR LCR Mycoplasma pneumoniae (complétée par des sérologies à J0 et J15) (9, 10, 11) ;

En cas de négativité du premier niveau (en particulier HSV selon les spécifications ci-dessus), sur le LCR prélevé à l'occasion de la **deuxième PL** destinée à éliminer définitivement HSV :

- PCR LCR pour

- entérovirus	- HHV6 (12, 13)	- Bartonella
- CMV	- Chlamydia sp	- Listeria (14)
- EBV	- Borrelia,	
- adenovirus,	- Coxiella	

- Sérologie LCR ou sérum TBE (15, 16)
- Mise en culture pour BK

Il convient de conserver un échantillon du deuxième LCR afin de réaliser le **troisième niveau** diagnostic si les hypothèses précédentes s'avèrent négatives :

• Rickettsies	• Rougeole (20)	• Sérologie LCMV (23)
• Influenza A et B (6, 17, 18, 19)	• Rubéole (20)	• PCR LCR virus JC
• Tropheryma	• Oreillons	• Parechovirus (24)
• Ehrlichia	• West Nile (21)	• Cryptocoque examen direct du LCR
• Parainfluenzae	• Toscana (22)	

Des circonstances épidémiologiques particulières (ex foyer de TBE en Alsace, épidémie déclarée de West Nile . . .), ou une symptomatologie spécifique (ex. éruption) peuvent amener à décider individuellement d'effectuer certaines recherches plus tôt que ce qu'elles sont recommandées dans le processus décisionnel.

De même

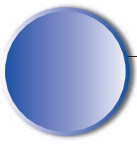
- en cas de voyage en zone endémique, en troisième ligne : PCR Nipah/Hendra, encéphalite japonaise (21), dengue, arbovirus rares selon les régions visitées (25) ou si connaissance d'une épidémie sur le lieu de séjour (26, 27) ;
- en cas de suspicion de MST : syphilis, PCR VIH ;
- en cas de décès ou en cas de contact avec chauve souris : rage (28).

Un dossier diagnostique d'une encéphalite ne peut être clos qu'à la fin de ces explorations (5).

Intérêt du diagnostic moléculaire des méningoencéphalites virales

Bibliographie

- (1) BOOSS J., ESIRI MM, Viral encephalitis in humans, 2003, ASM Press Ed., Washington, 277 p.
- (2) GLASER CA, GILLIANS S., SCHNURR D., FORGHANI B., HONARMAND S., KHETSURIANI N. et al. In search of encephalitis etiologies : Diagnosis challenges in the California encephalitis project, 1998-2000. *Clin. Infect. Dis.*, 2003, 36, 731-742.
- (3) WHITLEY RJ, GNANN JW, Viral encephalitis: familiar infections and emerging pathogens. *Lancet*. 2002, 359(9305), 507-513.
- (4) MCGRATH N., ANDERSON NE, CROXSON MC, POWELL KF, Herpes simplex encephalitis treated with acyclovir: diagnosis and long-term outcome. *J. Neurol. Neurosurg. Psychiatry*, 1997, 63, 321-326.
- (5) CHAUDHURI A., KENNEDY PG, Diagnosis and treatment of viral encephalitis. *Postgrad. Med. J.* 2002, 78(924), 575-583.
- (6) DE JONG MD, BACH VC, PHAN TQ, VO MH, TRAN TT, NGUYEN BH, BELD M., LE TP, TRUONG HK, NGUYEN VV, TRAN TH, DO QH, FARRAR J., Fatal avian influenza A (H5N1) in a child presenting with diarrhea followed by coma. *N. Engl. J. Med.*, 2005, 17, 352(7), 686-691.
- (7) DE BIASI RL, KLEINSCHMIDT-DEMASTERS BK, WEINBERG A, TYLER KL. Use of PCR for the diagnosis of herpesvirus infections of the central nervous system. *J. Clin. Virol.*, 2002, 25, S5-S11.
- (8) TRAN TD, KUBOTA M., TAKESHITA K., YANAGISAWA M, SAKAKIHARA Y. Varicella-associated acute necrotizing encephalopathy with a good prognosis. *Brain Dev.*, 2001, 23(1), 54-7.
- (9) GARNIER JM, NOEL G., RETORNAZ K., BLANC P., MINODIER P. Extrapulmonary infections due to *Mycoplasma pneumoniae*. *Arch. Pediatr.*, 2005, 12, Suppl 1:S2-6.
- (10) KOLSKI H., FORD-JONES EL, RICHARDSON S., PETRIC M., NELSON S., JAMIESON F., BLASER S., GOLD R., OTSUBO H., HEURTER H., MACGREGOR D. Etiology of acute childhood encephalitis at The Hospital for Sick Children, Toronto, 1994-1995. *Clin. Infect. Dis.*, 1998, 26(2), 398-409.
- (11) BITNUN A., FORD-JONES EL, PETRIC M., MACGREGOR D., HEURTER H., NELSON S., JOHNSON G., RICHARDSON S. Acute childhood encephalitis and *Mycoplasma pneumoniae*. *Clin. Infect. Dis.*, 2001, 15, 32(12), 1674-1684.
- (12) ISAACSON E., GLASER CA, FORGHANI B., AMAD Z, WALLACE M., ARMSTRONG RW, EXNER MM, SCHMID S. Evidence of human herpesvirus 6 infection in 4 immunocompetent patients with encephalitis. *Clin. Infect. Dis.*, 2005, 15, 40(6), 890-893.
- (13) BIRNBAUM T., PADOVAN CS, SPORER B., RUPPRECHT TA, AUSSERER H., JAEGER G., PFISTER HW. Severe meningoencephalitis caused by human herpesvirus 6 type B in an immunocompetent woman treated with ganciclovir. *Clin. Infect. Dis.*, 2005, 15, 40(6), 887-889.
- (14) ANTAL EA, DIETRICH E., LOBERG EM, MELBY KK, MAEHLER J. Brain stem encephalitis in listeriosis. *Scand. J. Infect. Dis.*, 2005, 37(3), 190-194.
- (15) MANSARAY H., DURAND JP, REYNES J., BRU JP. Premiers cas d'encéphalite à tigue dans la région d'Annecy, *Méd. Mal. Inf.*, 2003, 33, suppl.B, 106.
- (16) GRYGORCZUK S., MIERZYNSKA D., ZDRODOWSKA A., ZAJKOWSKA J., PANCEWICZ S., KONDRUSIK M., SWIERZBINSKA R., PRYSZMONT J., HERMANOWSKA-SZPAKOWICZ T. Tick-borne encephalitis in north-eastern Poland in 1997-2001: a retrospective study. *Scand. J. Infect. Dis.*, 2002, 34(12), 904-99.
- (17) HUANG SM, CHEN CC, CHIU PC, CHENG MF, LAI PH, HSIEH KS. Acute necrotizing encephalopathy of childhood associated with influenza type B virus infection in a 3-year-old girl. *J. Child Neurol.*, 2004, 1(1), 64-67.
- (18) VOUDRIS KA, SKAARDOUTSOU A., HARONITIS I., VAGIAKOU EA, ZEIS PM., Brain MRI findings in influenza A-associated acute necrotizing encephalopathy of childhood. *Eur. J. Paediatr. Neurol.*, 2001, 5(5), 199-202.
- (19) MORISHIMA T., TOGASHI T., YOKOTA S., et al, Encephalitis and encephalopathy associated with an influenza epidemic in Japan. *Clin. Infect. Dis.*, 2002, 35, 512-517.
- (20) ISHIKAWA T, ASANO Y, MORISHIMA T, NAGASHIMA M, SOBUE G, WATANABE K, YAMAGUCHI H. Epidemiology of acute childhood encephalitis. Aichi Prefecture, Japan, 1984-90. *Brain Dev.*, 1993, 15(3), 192-197.
- (21) SOLOMON T. Flavivirus encephalitis. *N.Engl.J.Med.*, 2004, 351(4), 370-378.
- (22) BALDELLI F, CIUFOLINI MG, FRANCISCI D, MARCHI A, VENTURI G, FIORENTINI C, LUCHETTA ML, BRUTO L, PAULUZZI S. Unusual presentation of life-threatening Toscana virus meningoencephalitis. *Clin. Infect. Dis.*, 2004, 38(4), 515-520.
- (23) Centers for Disease Control and Prevention (CDC). Lymphocytic choriomeningitis virus infection in organ transplant recipients--Massachusetts, Rhode Island, 2005. *MMWR*, 2005, 54(21), 537-539.
- (24) BENSCHOP KS, SCHINKEL J., MINNAAR RP, PAJKRT D., SPANJERBERG L., KRAAKMAN HC, BERKHOUT B., ZAAIJER HL, BELD MG, WOLTERS KC. Human parechovirus infections in Dutch children and the association between serotype and disease severity. *Clin Infect Dis.*, 2006, 42(2), 204-210.
- (25) ALRAJHI AA, AL-SEMARI A., AL-WATBAN J. Rift Valley fever encephalitis. *Emerg. Infect. Dis.*, 2004, 10(3), 554-555.
- (26) RAO BL, BASU A., WAIRAGGAR NS, GORE MM, ARANKALLEVA, THAKARE JP, JADI RS, RAO KA, MISHRA AC. A large outbreak of acute encephalitis with high fatality rate in children in Andhra Pradesh, India, in 2003, associated with Chandipura virus. *Lancet.*, 2004, 364(9437), 869-874.
- (27) MUDUR G., Japanese encephalitis outbreak kills 1300 children in India. *BMI*, 2005, 331(7528), 1288.
- (28) BOURHY H., DACHEUX L., STRADY C., MAILLES A. Rabies in Europe in 2005. *Euro Surveill.* 2005, 10(11), 213-216.



En première approche, trois niveaux de hiérarchie des recherches des agents infectieux sont décrits. En plus de l'examen bactériologique standard du LCR avec examen direct et mise en culture, la recherche directe des germes fait toujours appel à la détection de leur génome.

Ces recommandations ne sauraient cependant se substituer à la réflexion, au bon sens et aux données de l'examen clinique. Une circonstance épidémiologique particulière (pays visité par le malade), une symptomatologie spécifique (éruption, MST, contact avec un animal, etc.) peuvent amener à modifier l'ordre proposé dans ce processus décisionnel.

III – Diagnostic de certitude de la plus fréquente des causes de méningites épidémiques, les entérovirus

1. Historique

Le rôle des entérovirus comme première cause de méningites aseptiques aiguës d'évolution bénigne est connu depuis plus d'un demi-siècle. La présence d'une région conservée dans la partie 5' non-codante du génome entre tous les 68 sérotypes d'entérovirus connus a permis de mettre au point l'amplification de cette région et le développement du diagnostic moléculaire (par techniques PCR ou apparentées). La démonstration de l'intérêt de la PCR dans le LCR date de 1990 (10). Après des débuts laborieux (techniques maison, révélation artisanale...) interdisant toute utilisation facile et surtout prospective, les progrès technologiques et l'apparition de trousse prêtes à l'emploi ont permis à partir des années 1997 d'évaluer les sensibilité, spécificité, valeurs prédictives positive et négative de la détection du génome par comparaison avec les cultures de LCR, de gorge, de selles, et les données cliniques. Les premières études de modélisation de l'impact du diagnostic positif sur la prise en charge des enfants (gain en jours d'hospitalisation et coût de santé) datent de 1994 (11). A partir des années 2000 paraissent les premiers résultats sur la recherche prospective et systématique des entérovirus à large échelle, chez les enfants et aussi les adultes (12, 13). Les caractéristiques cliniques, biologiques et épidémiologiques de ces méningites sont affinées (13-16). La synthèse des principaux résultats est présentée ci-après (revue dans (16)).

2. Les entérovirus dans les méningites aseptiques restent au premier plan en 2005

A l'admission d'un malade pour suspicion de méningite, la question initiale est de commencer ou non une antibiothérapie probabiliste, ou un traitement anti-herpétique. L'observation de pus dans le LCR, voire d'une bactérie à l'examen direct sont

certes des arguments décisifs, mais rares. Les méningites aseptiques sont les plus fréquentes des méningites, à l'origine de 26 à 42 000 hospitalisations annuelles aux USA (17). Depuis la vaccination contre les oreillons, les entérovirus en sont la cause majeure, dans tous les pays, avec des épidémies de grande ampleur, en 1997, en 2000, en 2005 en France et ailleurs (16) l'echovirus 30 étant prédominant (18). Les dernières données du Center for Disease Control (19) pour 46 états des USA rapportent 4 123 détections d'entérovirus dont 63,1% dans le LCR, l'âge des patients variant de moins de un mois à 95 ans.

Les entérovirus peuvent rester d'ailleurs la première cause malgré un autre contexte. Ainsi Julian et col. (20) ont décrit en 2001 une épidémie de méningites de grande ampleur dans la région de Baltimore, pendant que sévissait une épizootie de non moins grande ampleur à virus West Nile (WNV). Alors que tout semblait incriminer le WNV, les recherches sont restées négatives en sérologie et PCR. Il s'agissait de méningites à echovirus 13 et 18 !

3. Les paramètres classiques de diagnostic au laboratoire des méningites à entérovirus avant la détection du génome

Avant le diagnostic moléculaire dans le LCR, les meilleurs critères biologiques prédictifs initiaux d'une étiologie bactérienne, avec une valeur de plus de 99% étaient une glycorachie inférieure à 1,9 mmol/L, une protéinorachie supérieure à 2,2 g/L, un nombre de leucocytes supérieur à 2000/mm³, ou de polynucléaires neutrophiles supérieur à 1180/mm³ (21). Ces affirmations toujours vraies ont rendu de grands services mais elles sont insuffisantes pour établir a contrario (et avec certitude) qu'il s'agit d'une méningite virale à ne pas traiter. Les méningites à entérovirus étaient décrites comme des « méningites lymphocytaires aiguës bénignes survenant chez l'enfant pendant la période estivo-automnale », la certitude reposant sur la culture du virus dans le LCR positive en plus de huit jours et technique peu sensible (moins de 20%). Les autres arguments de présomption (présence du virus dans la gorge, les selles), obtenus après la sortie du malade, n'intervenaient pas dans sa prise en charge.

4. Détection prospective du génome des entérovirus dans le LCR et remise en cause des paramètres classiques cytologiques et biochimiques de l'examen du LCR

L'accumulation des résultats depuis 10 ans sur la recherche prospective du génome dans le LCR à l'admission et la confrontation avec l'ensemble des données cliniques, biologiques et virologiques ont permis de constater les faits suivants (revue dans (16)) :

Intérêt du diagnostic moléculaire des méningoencéphalites virales

- Environ 10 à 15% des LCR dans les méningites à entérovirus prouvées sur les plans cliniques, virologiques (avec culture du virus dans le LCR) ne présentent pas d'augmentation du nombre de leucocytes (méningites sans pléiocytose) (13, 15, 16). Quand elle existe, elle excède rarement 1800 éléments/mm³, respectant les critères de Spanos (21).

- Alors que les méningites virales sont classiquement connues comme des méningites lymphocytaires, l'examen de la formule cytologique dans le LCR de méningites virales, prouvées par la détection prospective du génome, montre, en fait, aussi souvent une prédominance de polynucléaires neutrophiles, pouvant atteindre 100% des cellules (fausse piste bactérienne), qu'une prédominance de lymphocytes. Cette formule à prédominance de polynucléaires neutrophiles ou mixte s'observe d'autant plus volontiers que la ponction lombaire (PL) a été réalisée très tôt dès les premiers signes cliniques. D'ailleurs, concernant ces cas, la réalisation d'une deuxième PL 48h plus tard (PL dite « de contrôle ») montre une « inversion de formule » avec une majorité de lymphocytes remplaçant les polynucléaires neutrophiles ou la formule mixte initiale.

- La protéinorachie peut être discrètement élevée, jusqu'à 43% des observations (22), de même que la protéine C réactive.

Ainsi, la détection prospective rapide du génome des entérovirus, sur la seule suspicion de méningite, a relégué au second plan l'intérêt décisionnel initial des paramètres cytologiques et biochimiques classiques du LCR. Suspecter une origine bactérienne et instituer une antibiothérapie probabiliste devant une prédominance de polynucléaires neutrophiles revient à

traiter par antibiotiques la majorité des méningites à entérovirus.

IV – Résultats de la recherche prospective du génome des entérovirus dans toute suspicion de méningite

1. Des épidémies d'ampleur variable et des cas fréquents en hiver de méningites à entérovirus

Sur une période de sept ans, l'ampleur des épidémies varie, (figure 1). L'épidémie de juin 2005 n'a pas eu l'importance de celle qui toucha toute l'Europe en 2000. L'identification des types d'entérovirus montre à la fois la cocirculation de plusieurs sérotypes (se remplaçant au cours du temps) et la prédominance d'un sérotype donné donnant une véritable épidémie. Ainsi l'échovirus type 30 prédomine depuis 2000, l'échovirus type 13 émerge, une grande variété de sérotypes apparaît en 2004, et le type 30 ne représentait que 50% des identifications en 2005 dans notre expérience (figure 2, voir page suivante).

Le pourcentage de méningites observées en hiver peut atteindre 30% des cas relevés sur l'ensemble d'une année (13, 14). D'ailleurs, les épidémies de méningites estivo-automnales de 2000 et 2005 ont été précédées en hiver par l'augmentation des isollements d'entérovirus dans les prélèvements tout-venant et du nombre de méningites aseptiques, traitées comme des méningites bactériennes. En fait, la recherche du génome des entérovirus dans le LCR faite à distance était positive (14).

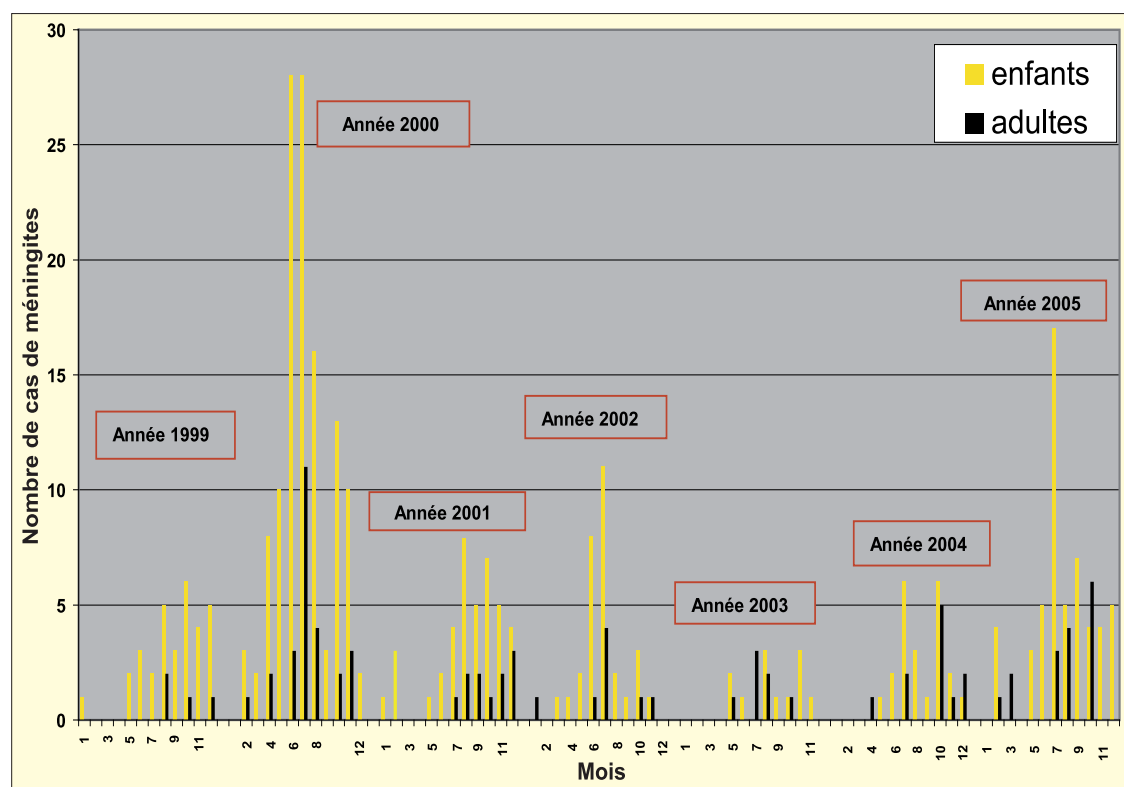


Figure 1
Répartition mensuelle des méningites à entérovirus diagnostiquées en RT-PCR au CHU de Clermont-Ferrand du 01/01/1999 au 31/12/2005 chez les adultes et les enfants.

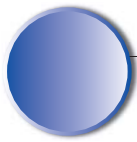
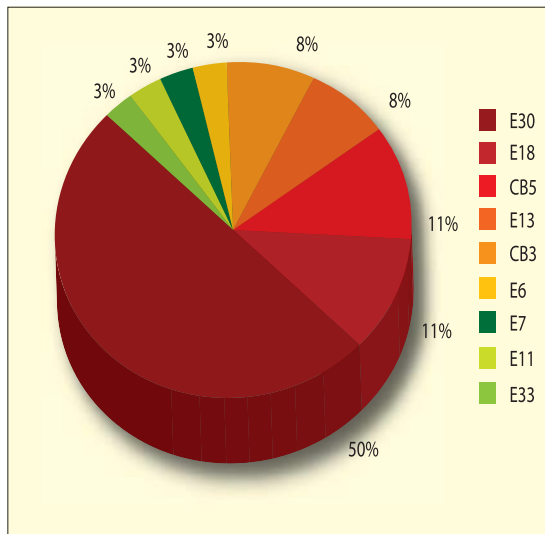


Figure 2

Typage moléculaire des entérovirus isolés par culture cellulaire responsables des méningites à entérovirus durant l'année 2005.



Durant l'hiver 2001-2002, une épidémie de méningocoque C survenue dans l'agglomération de Clermont-Ferrand a entraîné la vaccination de plusieurs milliers d'enfants, d'où la nécessité d'un diagnostic différentiel de certitude très rapide entre le méningocoque et un entérovirus, éventualité soulignée par l'alerte de juin 2005 du Ministère (tableau I).

2. Des méningites fréquentes chez les adultes, à condition de les chercher

Décrites depuis longtemps chez les enfants, une méningite sur quatre touche en fait un adulte (figure 1, tableau I), soit dans une famille, les enfants contaminant les parents, soit de façon sporadique chez une personne d'âge supérieur à 65 voire 95 ans (22, 19). Selon notre expérience (13, 16, 23), (tableau II, voir page suivante), les signes cliniques pouvaient être parfois trompeurs chez l'adulte : absence de raideur de nuque (un tiers des cas), prédominance de myalgies ou d'arthralgies, vésicules orientant faussement vers un herpes. Il en résultait une surconsommation d'antibiotiques, d'aciclovir, d'exams inutiles et de jours d'hospitalisation (23) pour une pathologie initialement bruyante et anxiogène, mais bénigne et n'appelant pas de traitement. Dans notre série princeps, le délai du résultat de la détection moléculaire était

encore trop long pour avoir un impact sur la prise en charge (6 jours [2-9]) du fait d'un retard à la prescription. Un tiers des 30 adultes atteints avait eu un scanner en urgence, 53% des antibiotiques (82 jours cumulés), 20% de l'aciclovir, pour un nombre cumulé de 172 jours d'hospitalisation. La prise en charge des malades variait selon les services, leur spécialisation, voire l'expérience du médecin, reflétant la méconnaissance de cette cause de méningite à l'âge adulte (13, 23). Depuis, la part des tests moléculaires prescrits chez l'adulte est de 40%, confirmant la fréquence des entérovirus dans ces méningites (tableau I, figure 1).

3. Un diagnostic différentiel très rare : l'infection herpétique

Dans l'hypothèse de ne pas négliger une infection herpétique, la réalité quotidienne conduit à constater la prescription très large de la détection génomique du virus herpes simplex (HSV), souvent sans arguments autres que « par précaution », et sans même qu'un traitement par aciclovir accompagne toujours cette prescription. Sur neuf ans de recherche de génome de HSV à l'admission par PCR le nombre de positifs était très faible (tableau III, voir page suivante), soit 1,5% des demandes (38/2536). La plupart ont concerné des adultes présentant un tableau ou un terrain particuliers (16). Cependant, l'existence d'infections doubles (HSV et entérovirus), n'a jamais été constatée dans notre expérience ni décrite dans la littérature à notre connaissance.

4. Les infections nosocomiales à entérovirus peuvent donner des méningites

Le message d'alerte du Ministère insistait sur le renforcement des mesures d'hygiène à titre individuel (lavage des mains) et collectif, ces virus résistants se transmettant par voie fécale-orale et manuportée. Les infections à entérovirus, même asymptomatiques, s'accompagnent d'une excrétion massive et prolongée de virus dans l'environnement y compris à l'hôpital. Des méningites à entérovirus nosocomiales ont été décrites en néonatalogie (24, 25). Ne pas hospitaliser un malade excréteur des entérovirus à côté de services ac-

Tableau I

Méningites à entérovirus (EV) prouvées par détection du génome (RT-PCR) de 1999 à 2005 au CHU de Clermont-Ferrand. 2002* : Durant l'hiver 2001-2002 est survenue une épidémie de méningocoque de groupe C à Clermont-Ferrand.

Années	Nombre de tests RT-PCR EV réalisés			Nombre de positifs		
	Total	Enfants	Adultes	Total	Enfants	Adultes
1999	67	79%	21%	34	85%	15%
2000	340	77%	23%	149	83%	17%
2001	227	66%	34%	51	78%	22%
2002*	256	64%	36%	37	86%	14%
2003	161	54%	45%	19	63%	36%
2004	334	35%	65%	33	65%	34%
2005	446	51%	49%	70	77%	23%
Total	1831	61%	39%	393	77%	23%

Intérêt du diagnostic moléculaire des méningoencéphalites virales

	Signes / Symptômes		Date de début
	n patients	%	des signes cliniques
Céphalées	28	97	< 24h à 4 jours
Fièvre > 38°C	24	83	< 24h à 4 jours
Photophobie	23	79	< 24h à 4 jours
Nausées / vomissements	22	76	< 24h à 4 jours
Raideur de nuque *	20	69	< 24h à 4 jours
Angine / rhinopharyngite	11	38	< 24h à 2 semaines
Myalgies / arthralgies	9	31	3 jours
Diarrhée	5	17	< 24h à 1 semaine
Lésions vésiculaires **	3	10	ND***
Enanthème	1	3	ND***

Tableau II

Signes cliniques observés à l'admission chez 29 des 30 patients adultes ayant présenté une méningite à entérovirus bénigne durant l'épidémie de 2000. * Association fièvre / céphalées / raideur de nuque : 17/29 patients (59%), ** PCR Herpes négative, *** Non renseigné.

cueillant des personnes fragiles, immunodéprimés ou des nouveau-nés participe donc aussi à la lutte contre le risque d'infections nosocomiales.

5. La difficulté d'un « guideline » pour la détection du génome des entérovirus dans le LCR à partir des données biologiques classiques

La recherche d'un germe à l'examen direct et la mise en culture sont certes indispensables dans le LCR à l'admission. Mais les autres paramètres obtenus en urgence ne permettent pas de décider de l'intérêt du test moléculaire à la recherche du génome des entérovirus. Les méningites sans pléiocytose existent, la prédominance de polynucléaires neutrophiles dans le LCR initial est fréquente. Limiter les tests moléculaires à la période estivo-automnale revient à sous-estimer un tiers des cas qui surviennent en hiver. Les restreindre aux enfants mésestime une méningite sur quatre, qui touche un adulte. Ceci plaide pour une prescription large de ce test, dans la PL à l'admission, et une prise de décision médicale devant un résultat

positif.

IV – Intérêt et impact médico-économique du diagnostic de certitude d'une méningite virale aiguë bénigne

1. Seul un diagnostic de certitude précoce a un impact sur la prise en charge du patient : apport des progrès technologiques dans la détection génomique

L'impact du diagnostic moléculaire des méningites à entérovirus chez les adultes sur leur prise en charge est très faible sinon nul dans l'observation principes de 2000, tant sur l'hospitalisation, la non-prescription d'antibiotiques que sur leur arrêt (13) (*encadré II, voir page suivante*). La raison majeure est le délai de rendu du résultat, d'une semaine (après la sortie du malade dans 62% des cas). L'évolution technologique et son gain en rapidité sont

Années	Nombre de tests PCR HSV réalisés	Nombre de positifs	%
1997	74	1	(1,3)
1998	124	2	(1,6)
1999	108	5	(4,6)
2000	186	3	(1,6)
2001*	289	9	(3,0)
2002	381	4	(1,0)
2003	416	5	(1,2)
2004	427	4	(0,9)
2005	531	5	(0,9)
Total	2536	38	(1,5)

Tableau III

Bilan des recherches du génome des virus Herpes simplex (HSV1-2) du 01/01/1997 au 31/12/2005. 2001* : introduction de la PCR HSV en temps réel dans la pratique quotidienne du laboratoire.



• DIAGNOSTIC MOLECULAIRE

• Délai entre la Ponction Lombar et le résultat téléphonique du test moléculaire :
6 jours [2 - 9]
[chez les enfants = 3 jours]

• Impact du résultat moléculaire positif sur l'hospitalisation:
Résultats moléculaires connus durant le séjour = 11 (38 %)
Résultats moléculaires connus après la sortie = 18 (62 %)

• Impact du résultat moléculaire positif sur le traitement antibiotique:
Antibiotique arrêté avant le résultat d'une PCR positive 9/16 (56 %)
Antibiotique maintenu en dépit d'une PCR positive 3/16 (19 %)
Antibiotique arrêté du fait d'une PCR positive 4/16 (25 %)

• DIAGNOSTIC SUR LA POSITIVITE DES CULTURES

Gorge et selles donnant culture positive : résultats en 9 jours [3 - 14]

résumés dans le Tableau IV. En 2000, la technique utilisée était une RT-PCR classique « maison » en une étape suivie d'une révélation des amplicons par une technique ELISA (14), remplacée en 2003 par une RT-PCR en temps réel (26), validées avec les contrôles de qualité européens (QCMD) pour le diagnostic moléculaire des entérovirus (<http://www.qcmd.org>) sous l'égide de la Société Européenne de Virologie Clinique (ESCV).

L'existence d'automates de l'étape d'amplification/révélation (27, 28), puis d'automates d'extraction d'acides nucléiques acceptant de petites séries pour l'urgence, et bientôt d'automates réalisant extraction/amplification/révélation directement à partir du LCR conduira à rendre cette recherche accessible à tout laboratoire hospitalier dans un futur extrêmement proche.

La condition est que ces automates et ces chaînes soient validées en terme de spécificité, sensibilité, temps de réaction, praticabilité, coût et qualité du service technique d'assistance.

Quand elle sera disponible et validée, la détection simultanée de l'entérovirus et des virus herpes

Encadré II

Diagnostic virologique et prise en charge des méningites à entérovirus chez les adultes durant l'année 2000 (13, 23).

Tableau IV

Techniques disponibles pour le diagnostic moléculaire des méningites à entérovirus. * : temps de réalisation technique de l'examen à titre indicatif (extraction des acides nucléiques comprise) - ** : marquage CE soit obtenu, soit en cours d'obtention, ce marquage intégrant ou non un appareil d'extraction donné - *** : La seule étape manuelle est la distribution du LCR dans l'appareil. Les étapes suivantes (extraction, préparation du mélange réactionnel avec les acides nucléiques, RT-PCR en temps réel, interprétation) sont totalement automatisées.

	Années 1990	Début années 2000	Mai 2006
Techniques « maison »	<ul style="list-style-type: none"> Extraction des acides nucléiques manuelle RT-PCR classique en 1 ou 2 étape(s) pas de contrôle interne Révélation des produits amplifiés, hybridation avec sondes spécifiques sur membrane ou par ELISA temps* = 8 heures minimum	<ul style="list-style-type: none"> Extraction des acides nucléiques manuelle RT-PCR en temps réel - pas de contrôle interne temps* = 3 heures 15 min	<ul style="list-style-type: none"> Extraction des acides nucléiques manuelle ou automatisée RT-PCR en temps réel - nécessité de développer un contrôle interne temps* = 3 à 3 heures 30 min
Trousses commerciales	<ul style="list-style-type: none"> Trousse Roche Diagnostics - fin de commercialisation en 1998 	<ul style="list-style-type: none"> Trousse Argène-Biosoft ** extraction manuelle RT-PCR classique présence de contrôle interne révélation format ELISA temps* = 6 heures 30 min	<p>Avec extraction manuelle ou automatisée :</p> <ul style="list-style-type: none"> trousse Argène-Biosoft ** - RT-PCR classique trousse Artus-Qiagen ** - RT-PCR en temps réel temps* = 3 à 4 heures <ul style="list-style-type: none"> trousse Instrumentation Laboratory ** - RT-PCR en temps réel temps* = 3 à 4 heures <ul style="list-style-type: none"> trousse bio-Mérieux ** - Technique NASBA temps* = 3 heures 50 min <p>Automatisation complète :</p> <ul style="list-style-type: none"> Système fermé*** GeneXpert® de Instrumentation Laboratory ** temps* = 2 heures 30 min

Intérêt du diagnostic moléculaire des méningoencéphalites virales

simplex s'imposera comme un progrès majeur dans l'aide à la décision.

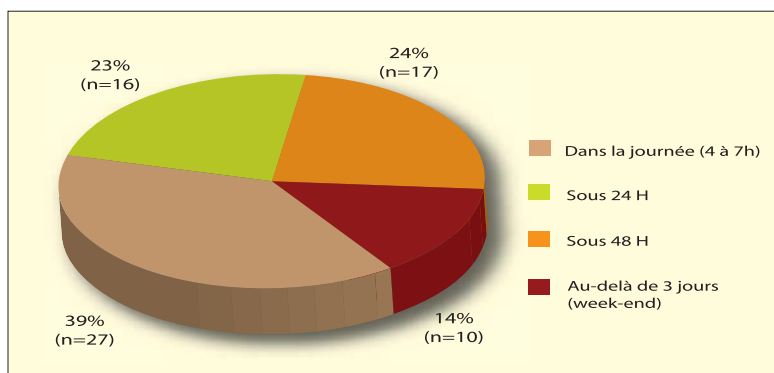
2. Application de la détection moléculaire du génome des entérovirus en temps réel à l'épidémie de 2005, premiers résultats concernant l'impact sur la prise en charge (29)

Pendant l'année 2005, 440 patients ont été admis au CHU de Clermont-Ferrand pour suspicion de méningites, 70 diagnostics positifs ont été réalisés par RT-PCR en temps réel (26) après extraction manuelle des acides nucléiques. Ils concernaient 54 enfants (77%) et 16 adultes (23%). Le rendu des résultats a été possible dans la même journée ouvrable que la réception du LCR dans 40% des cas et dans les 86% des cas dans les deux jours (figure 3).

Concernant l'impact sur l'hospitalisation chez les enfants d'âge supérieur à 2 mois (figure 4) 40% d'entre eux (22/54) sont sortis avant le résultat, devant un tableau clinique évocateur et avec l'assurance pour le médecin d'un résultat virologique téléphoné par le biologiste dans les 24 heures, 30% (16/54) sont sortis 1 à 6 heures après communication des résultats.

Concernant l'impact sur l'hospitalisation chez les adultes, deux adultes sont sortis avant le résultat (téléphoné ultérieurement) et six dans les 24 heures plus tard. Par rapport à l'étude de 2002, où le résultat était obtenu en 6 jours [2-9], le bénéfice est évident.

Le gain en traitement et examens évités est en cours d'analyse pour ces deux populations de malades.



3. Réflexion sur la faisabilité de la démarche

Le terme « méningite » a une connotation anxio-gène certaine. Les méningites à entérovirus sont fréquentes et bénignes. La détection du génome du virus fait le diagnostic de certitude. L'intérêt de ce diagnostic prospectif à l'admission n'est plus à démontrer. Toutefois sa mise en place au quotidien, en semi-urgence, au laboratoire avec les contraintes en personnel formé en nombre suffisant, en matériel... est beaucoup plus que l'introduction « d'une technique de plus ». Cette démarche nécessite :

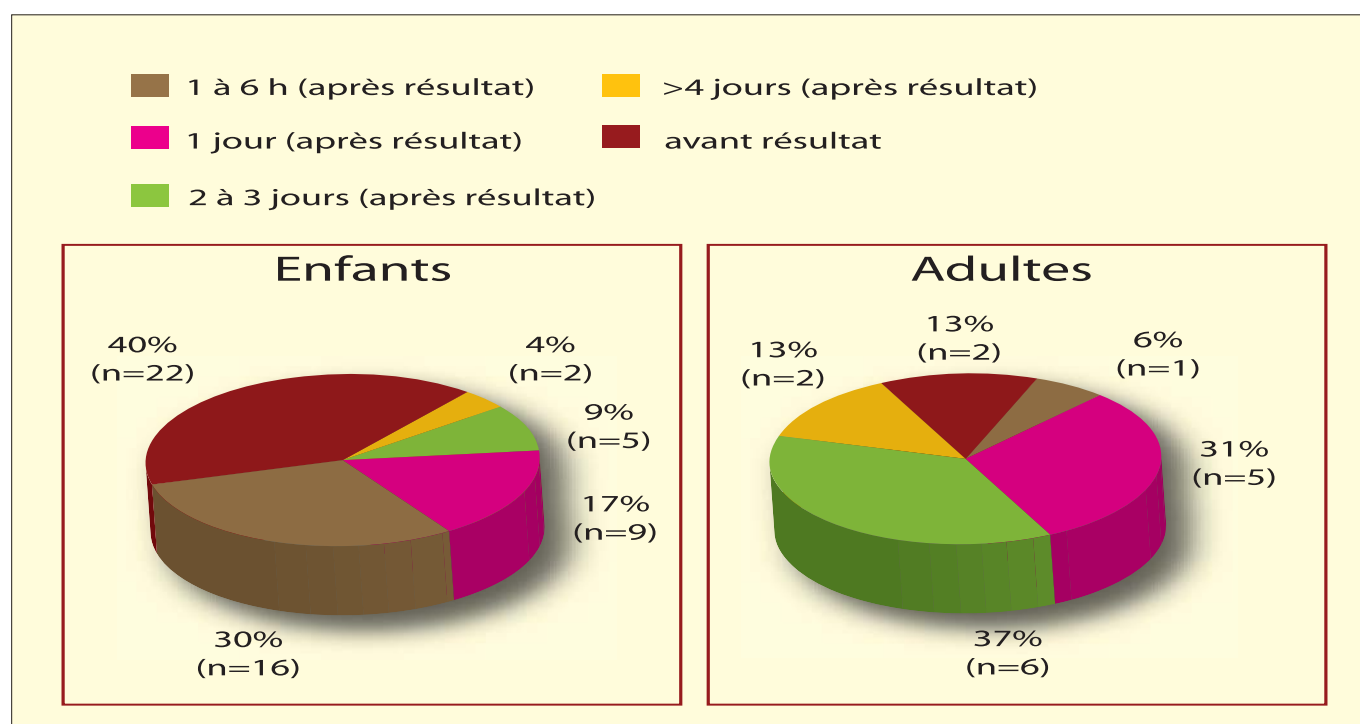
1. l'utilisation d'une technique moléculaire validée donnant un résultat dans le jour ouvrable ;
2. une réorganisation du travail et des postes (secteur de biologie moléculaire) apte à répondre à l'urgence ;
3. une collaboration clinicien/biologiste de qualité, permettant de donner le résultat à un médecin expérimenté qui pourra confronter un résultat positif aux données cliniques, rassurer le patient, décider de la conduite à tenir (arrêt des examens et traitements inutiles, sortie ou non-hospitalisation etc.).

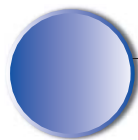
Figure 3

Délai de rendu du résultat de la RT-PCR entérovirus au clinicien après réception du LCR au laboratoire durant l'année 2005.

Figure 4

Délai de sortie des enfants et des adultes après rendu du résultat de la détection génomique des entérovirus au clinicien durant l'année 2005.





Si l'un de ces items manque, le test moléculaire n'est pas utilisé de façon optimale.

Même si l'état clinique garde toujours le dernier mot, seule cette collaboration de qualité peut aboutir à des économies substantielles – qui pourront bénéficier de façon directe ou indirecte à d'autres malades et d'autres pathologies (tableau V). Si l'on considère l'infectiologie et la santé publique dans une vision globale en allant au delà de sa propre spécialité et en « dépassant » le cloisonnement des budgets à l'hôpital, ce qui constitue peut-être un changement culturel, alors un raisonnement médical en terme d'économies de santé n'a rien de réprobateur. La non-prescription d'exams ou de traitements inutiles voire dangereux à terme n'est pas un signe d'incompétence professionnelle, au contraire.

Avantages	Exigences
<ul style="list-style-type: none"> • Pas d'antibiotique • Pas d'antibiorésistance • Pas d'antiviraux • Pas de scanner • Pas de tests supplémentaires • Sortie de l'hôpital plus rapide • Pas de risque nosocomial • Diagnostic rassurant • Conseils d'hygiène... 	<ul style="list-style-type: none"> • Appareil d'extraction des acides nucléiques pour des petites séries • Automate d'amplification/détection pour biologie moléculaire • Réorganisation du laboratoire

Tableau V

Impact du diagnostic rapide prospectif des méningites à entérovirus.

BIBLIOGRAPHIE

(1) Infection par le virus Chikungunya à l'île de la Réunion. Bulletin Epidémiologique Hebdomadaire hors série. 31 janvier 2006.

(2) PARDIGON N., DESPRES P., SCHUFFENECKER I., et al. La flambée du virus Chikungunya dans l'Océan Indien : réflexions sur une arbovirose négligée. *Virologie*, 2006, 10, 3-5.

(3) Epidémie de Chikungunya à La Réunion/Océan Indien. Point de situation au 14 avril 2006. Consultable à l'URL : www.invs.sante.fr/presse/2006/le_point_sur/chikungunya_140406/index.html

(4) Ministère de la Santé et des Solidarités, 20 juin 2005, DHOS n° 00937, DGS n° 050195, message d'information à l'attention des Services d'accueil d'urgence, services de maladies infectieuses et laboratoires de virologie.

(5) Situation épidémiologique des infections invasives à méningocoques (IIM) dans le département de Seine-Maritime et dans la zone de Dieppe au cours des 52 dernières semaines. Mise à jour le 21/05/06. Consultable à l'URL : http://www.invs.sante.fr/presse/2006/le_point_sur/iim_210506/iim_210506.pdf

(6) VANTREECK U, WICHMANN O. Measles outbreak in Germany: update. *Euro Surveill.*, 2006, 11(4), E060413.1. Consultable à l'URL : <http://www.eurosurveillance.org/ew/2006/060413.asp#1>

(7) MAYOR S. Antibiotic resistance is highest in south and east Europe. *BMJ*, 2005, 330, 383.

(8) GOSENS H., FERRECH M., VANDER STICHELE R., ELSEVIERS M. ESAC Project Group. *Lancet*, 2005, 365, 579-587.

(9) Pour une bonne pratique de la prise en charge diagnostique des encéphalites en France. Janvier 2006. Document rédigé par la Société de pathologie Infectieuse de langue Française. Consultable à l'URL : www.infectiologie.com/site/documents_spiif.php

(10) ROTBART HA. Diagnosis of enteroviral meningitis with the polymerase chain reaction. *J. Pediatr.*, 1990, 117, 85-89.

(11) SCHLESINGER Y., SAWYER MH, STORCH GA. Enteroviral meningitis in infancy: potential role for polymerase chain reaction in patient management. *Pediatrics*, 1994, 94, 157-162.

(12) HANDSHER R., SHULMAN LM, ABRAMOVITZ B. et al. A new variant of echovirus 4 associated with a large outbreak of aseptic meningitis. *J. Clin. Virol.*, 1999, 13, 29-36.

(13) PEIGUE-LAFEUILLE H., CROQUEZ N., LAURICHESSE H. et al. Enterovirus meningitis in adults in 1999-2000 and evaluation of clinical management. *J. Med. Virol.*, 2002, 67, 47-53.

(14) CHAMBON M., ARCHIMBAUD C., BAILLY J.-L., et al. Circulation of enteroviruses and persistence of meningitis cases in the winter of 1999-2000. *J. Med. Virol.*, 2001, 65, 340-347.

(15) HENQUELL C., CHAMBON M., BAILLY J.-L. et al. Prospective analysis of 61 cases of enteroviral meningitis : interest of systematic genome detection in cerebrospinal fluid irrespective of cytological examination results. *J. Clin. Virol.*, 2001, 21, 29-35.

(16) PEIGUE-LAFEUILLE H., ARCHIMBAUD C., MIRAND A. et al. Du diagnostic moléculaire initial prospectif des méningites à entérovirus... à la lutte contre l'antibiorésistance. *Méd. Mal. Infect.*, 2006, 16, 124-131.

(17) KHETSURIANI N., QUIROZ E., HOMMAN R., ANDERSON L. Viral meningitis-associated hospitalizations in the United States, 1988-1999. *Neuroepidemiology*, 2003, 22, 345-352.

(18) BAILLY JL, BROSSON D, ARCHIMBAUD C, CHAMBON M, HENQUELL C, PEIGUE-LAFEUILLE H. Genetic diversity of echovirus 30 during a meningitis outbreak, demonstrated by direct molecular typing from cerebrospinal fluid. *J. Med. Virol.*, 2002, 68, 558-567.

(19) Centers for Disease Control and Prevention. Enterovirus surveillance – United States, 2002-2004. *MMWR*, 2006, 55, 153-156.

(20) JULIAN KG, MULLINS JA, OLIN A et al. Aseptic meningitis epidemic during a West Nile Virus avian epizootic. *Emerg. Infect. Dis.*, 2003, 9, 1082-1088.

Intérêt du diagnostic moléculaire des méningoencéphalites virales

- (21) SPANOS A., HARRELL FE, DURACK DT. Differential diagnosis of acute meningitis. An analysis of the predictive value of initial observations. *JAMA*, 1989, 262, 2700-2707.
- (22) BERNIT E, DE LAMBALLERIE X, ZANDOTTI C, BERGER P, VEIT V, SCHLEINITZ N, et al. Prospective investigation of a large outbreak of meningitis due to echovirus 30 during summer 2000 in Marseille, *France. Medicine*, 2004, 83, 245-253.
- (23) PEIGUE-LAFEUILLE H, ARCHIMBAUD C, DE CHAMPS C et al. Les méningites à entérovirus chez les adultes. Pathologie sous-estimée ? A propos de 30 observations de 1999 à 2000 et évolution des pratiques médicales en 2001. *Path. Biol.* 2002, 50, 516-524.
- (24) CHAMBON M., BAILLY JL, BEGUET A. et al. An outbreak due to echovirus type 30 in a neonate unit in France in 1997 : usefulness of PCR diagnosis. *J. Hosp. Infect.* 1999, 43, 63-68.
- (25) BAILLY JL, BEGUET A., CHAMBON M., HENQUELL C., PEIGUE-LAFEUILLE H. Nosocomial transmission of echovirus 30 : molecular evidence by phylogenetic analysis of the VP1 encoding sequence. *J. Clin. Microbiol.* 2000, 38, 2889-2892.
- (26) ARCHIMBAUD C, MIRAND A, CHAMBON M et al. Improved diagnosis on a daily basis of enterovirus meningitis using a one-step real-time RT-PCR assay. *J Med. Virol.*, 2004, 74, 604-611.
- (27) CAPAUL SE, GORGIEVSKI-HRISOHO M. Detection of enterovirus RNA in cerebrospinal fluid (CSF) using NucliSens EasyQ Enterovirus assay. *J. Clin. Virol.* 2005, 32, 236-240.
- (28) GINOCCHIO CC, ZHANG F., MALHOTRA A. et al. Development, technical performance and clinical evaluation of a NucliSens Basic kit application for detection of enterovirus RNA in cerebrospinal fluid. *J. Clin. Microbiol.*, 2005, 43, 2616-2623.
- (29) ARCHIMBAUD C, CHAMBON M, MIRAND A et al. Impact du diagnostic rapide des méningites à entérovirus par PCR en temps réel sur la prise en charge des patients au CHU de Clermont-Ferrand. Communication Affichée. Journées Francophones de Virologie, Paris, 20-21 avril 2006.