



Université de Poitiers

Faculté de Médecine et Pharmacie

ANNEE 2024

THESE

POUR LE DIPLOME D'ETAT
DE DOCTEUR EN MEDECINE
(décret du 25 novembre 2016)

présentée et soutenue publiquement
le 11 octobre 2024 à Poitiers
par **Etienne Compagnon**

Titre

Evaluation d'un panel de biologie moléculaire d'approche syndromique pour la recherche de virus entériques dans les selles chez des patients immunodéprimés et immunocompétents :
comparaison de 2 méthodes de diagnostic microbiologique.

COMPOSITION DU JURY

Président : Monsieur le Professeur Antoine Thierry

Membres : Monsieur le Professeur Nicolas Lévêque et Madame le Docteur Natacha Maillard

Directeur de thèse : Monsieur le Docteur Luc Deroche



Université de Poitiers

Faculté de Médecine et Pharmacie

ANNEE 2024

THESE

POUR LE DIPLOME D'ETAT
DE DOCTEUR EN MEDECINE
(décret du 25 novembre 2016)

présentée et soutenue publiquement
le 11 octobre 2024 à Poitiers
par **Etienne Compagnon**

Titre

Evaluation d'un panel de biologie moléculaire d'approche syndromique pour la recherche de virus entériques dans les selles chez des patients immunodéprimés et immunocompétents :
comparaison de 2 méthodes de diagnostic microbiologique.

COMPOSITION DU JURY

Président : Monsieur le Professeur Antoine Thierry

Membres : Monsieur le Professeur Nicolas Lévêque et Madame le Docteur Natacha Maillard

Directeur de thèse : Monsieur le Docteur Luc Deroche

REMERCIEMENTS

Au Professeur Thierry, qui m'a fait l'honneur d'accepter d'être mon président de jury de thèse.

Au Docteur Maillard, merci d'avoir accepté d'être dans mon jury, je suis honoré de vous présenter mon travail de thèse.

Au Professeur Lévêque, merci de me faire profiter de votre expérience et de votre enseignement.

Au Docteur Deroche, de m'avoir confié ce sujet. Merci Luc pour ta disponibilité et tes conseils.

Aux biologistes, techniciens et autres membres du laboratoire du CHU de Poitiers, de l'EFS de Poitiers et de l'hôpital de Niort pour votre accueil.

Merci aux techniciens du laboratoire de Virologie du CHU de Poitiers d'avoir participé à la réalisation de ce travail.

A mes co-internes. Merci à Julie et Laura.

A mes parents, mes frères Raphaël et Pierre ainsi qu'à Dona, Amaury et Athénaïs, pour votre soutien.

Aux amis, de Niort, de l'externat et d'ailleurs. Merci Eugène.

A Iris.

TABLE DES MATIERES

I. Introduction	
A. Diarrhée et gastro-entérite.....	
1. Définition.....	
2. Epidémiologie, étiologies et diagnostic microbiologique	
B. Diarrhée et immunodépression.....	
1. Greffe de Cellules Souches Hématopoïétiques (CSH)	
2. Transplantation rénale et diarrhée	
3. Tumeurs solides	
4. Personnes Vivant avec le Virus de l'Immunodéficience Humaine (PVVIH).....	
C. Virus entériques	
1. Généralités.....	
2. Calicivirus.....	
3. Rotavirus.....	
4. Astrovirus	
5. Adenovirus.....	
6. Co-infections	
D. Diagnostic microbiologique des diarrhées d'origine virale.....	
1. Intérêt du diagnostic biologique d'une diarrhée virale.....	
2. Méthodes diagnostiques d'une diarrhée d'origine virale au laboratoire	
E. Question principale.....	
II. Matériel et Méthodes	
A. Sélection des échantillons.....	
B. Méthodes diagnostiques	
C. Analyses statistiques.....	

- 1. Analyse descriptive de la population.....
- 2. Comparaison des méthodes
- D. Confirmation des résultats discordants.....
- E. Analyses microbiologiques associées.....

III. Résultats.....

- A. Caractéristiques des patients testés.....
- B. Performances du test Allplex GI-Virus Assay et comparaison avec la méthode de diagnostic conventionnelle.....
- C. Résultats du panel Allplex GI-Virus Assay chez les patients immunodéprimés
- D. Co-infection
- E. Semi-quantification des virus entériques.....
- F. Résultats chez les patients non immunodéprimés

IV. Discussion.....

- A. Comparaison des méthodes
- B. Interprétation des résultats.....
 - 1. Comparaison avec les données de la littérature.....
 - 2. Relation entre symptomatologie clinique et détection moléculaire.....
- C. Limites
- D. Coût
- E. Place dans le démarche diagnostique

V. Bibliographie

ABRÉVIATIONS

ADN	Acide DésoxyRiboNucléique	HAstV	<i>Human Astrovirus</i>
ARN	Acide RiboNucléique	HAdV	<i>Human Adenovirus</i>
AST ID	<i>American Society of Transplantation Infectious Diseases</i>	HBGA	Histo-Blood Group Antigens
CAR-T cells	<i>Chimeric Antigen Receptor T-cells</i>	ICT	Immuno-chromatographie
COVID-19	<i>Coronavirus Disease 2019</i>	ICTV	<i>International Committee for Taxonomy of Viruses</i>
CNR	Centre National de Référence	LCS	Liquide Cérébro-Spinal
Ct	<i>Cycle Threshold</i>	MMF	Mycophénolate Mofétil
CSH	Cellules Souches Hématopoïétiques	OMS	Organisation Mondiale de la Santé
CMV	Cytomégalovirus	PCR	<i>Polymerase Chain Reaction</i>
CHU	Centre Hospitalier Universitaire	RT-PCR	<i>Reverse Transcriptase Polymerase Chain Reaction</i>
ECIL	<i>European Conference on Infections in Leukemia</i>	SARS-CoV-2	<i>Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2</i>
ELISA	<i>Enzyme-Linked Immunosorbent Assay</i>	SFGM-TC	Société Francophone de Greffe de Moelle et de Thérapie Cellulaire
ESMO	<i>European Society for Medical Oncology</i>	TIAC	Toxi-Infection Alimentaire Collective
FDA	<i>Food and Drug Administration</i>	VIH	Virus de l'immunodéficience Humaine
GVHDa	<i>Graft Versus Host Disease Acute</i>	VLP	<i>Virus-Like Particles</i>
GEA	Gastro-Entérite Aiguë	PVVIH	Personnes Vivant avec le Virus de l'Immunodéficience Humaine
GEA-RV	Gastro-Entérite Aiguë à Rotavirus		

I. Introduction

A. Diarrhée et gastro-entérite

1. Définitions

La diarrhée est définie par l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) comme l'émission d'au moins 3 selles molles ou liquides en 24 heures (ou des selles plus fréquentes que ce qui est habituel pour le sujet atteint) (1). On distingue la diarrhée aiguë, qui évolue depuis moins de 14 jours, de la diarrhée persistante qui dure 2 à 4 semaines. Enfin, une diarrhée est chronique lorsqu'elle persiste au-delà de 4 semaines (2).

2. Épidémiologie, étiologies et diagnostic microbiologique

Les gastro-entérites aiguës (GEA), dont le principal symptôme est la diarrhée accompagnée ou non de vomissements, se placent au deuxième rang des causes de mortalité infantile dans le monde après la pneumonie (1). En France, l'incidence des GEA est estimée à 0,33 cas par personne et par an, ce qui, rapporté à la population française, équivaut à plus de 21 millions d'épisodes de GEA chaque année (3). Une diarrhée aiguë peut résulter d'une infection par divers agents infectieux comme les virus, les bactéries ou les parasites (4). Les épisodes surviennent tout au long de l'année avec une prédominance hivernale (habituellement entre décembre et mars) en lien avec l'augmentation des GEA d'origine virale attribuées aux rotavirus et aux norovirus (5). Il s'agit d'une cause fréquente d'hospitalisation chez les jeunes enfants pour qui l'incidence des GEA est plus élevée par rapport au reste de la population, et dont l'impact social et économique est lourd en lien avec les coûts engendrés par les soins et l'absentéisme parental (6).

La plupart des diarrhées aiguës survenant chez des patients sains & immunocompétents sont de courte durée, d'origine virale ou inconnue, et se résolvent spontanément. Dès lors, il n'est généralement pas justifié de mener des investigations complémentaires au laboratoire de microbiologie. Plusieurs éléments peuvent toutefois justifier la recherche spécifique d'un ou plusieurs agents étiologiques infectieux au cours d'une diarrhée : l'impact thérapeutique attendu de cette recherche sur la prise en charge du patient, le caractère épidémique de l'infection nécessitant la mise en place de mesures barrières, la présence ou non de manifestations extra-intestinales et le statut immunitaire du patient (7). En effet, ce dernier facteur revêt une importance toute particulière du fait de la propension qu'ont les patients immunodéprimés - à l'instar des personnes âgées - à développer des formes sévères et parfois prolongées d'infections entériques virales, ce qui, à terme, peut faciliter la dissémination du virus dans les établissements de santé (8).

B. Diarrhée et immunodépression

Les caractéristiques spécifiques à chaque sous-type de population guident l'approche diagnostique et thérapeutique d'une diarrhée chez le patient immunodéprimé.

1. Greffe de Cellules Souches Hématopoïétiques (CSH)

Les risques et la chronologie des diarrhées infectieuses chez les patients greffés de CSH autologues diffèrent sensiblement de ceux constatés chez les patients qui bénéficient d'une greffe de CSH allogénique. Cette partie sera consacrée à l'approche étiologique d'une diarrhée survenant chez le patient receveur dans le cadre d'une allogreffe de CSH.

a. Causes de diarrhée suivant la période qui entoure l'allogreffe de CSH

Une diarrhée complique jusqu'à 79% des allogreffes de CSH au cours des 100 premiers jours post-transplantation (9) et environ 1/3 des patients receveurs ont au moins 1 épisode de diarrhée d'origine infectieuse dans l'année qui suit la transplantation (10). Les causes de diarrhée sont multiples, peuvent co-exister chez un seul et même patient, et varient suivant la période qui entoure la prise du greffon.

Le pic de survenue de ces diarrhées survient classiquement durant la « *preengraftment period* » comprise entre le début du conditionnement et la prise du greffon de CSH (approximativement 20 à 40 jours après la transplantation). Elles sont principalement le fait de la toxicité digestive des traitements employés dans le cadre des protocoles de conditionnement (11). L'infection à *Clostridioides difficile* constitue une étiologie significative de diarrhée au cours de cette période marquée par une profonde neutropénie avec une incidence estimée entre 5 et 10% (12) chez des patients qui peuvent cumuler des facteurs de risque de développer cette infection (usage d'antibiotiques et d'inhibiteurs de la pompe à protons, âge avancé, antécédent d'hospitalisation) (13,14).

Après la greffe, la *Graft Versus Host Disease Acute* (GVHDA) ou maladie aiguë du greffon contre l'hôte représente la principale cause de diarrhée et survient classiquement dans les 100 jours qui suivent la transplantation bien que cette définition ait été remise en question : la conférence de consensus du *National Institutes of Health* a proposé que la définition de GVH aiguë soit fondée sur le type de manifestations cliniques plutôt que sur le moment de survenue par rapport à la greffe. Le diagnostic de GVH digestive s'appuie, en cas d'atteinte digestive basse, sur le volume de selles et la présence de douleurs abdominales, avec ou sans iléus, ou de selles sanglantes (15). Elle traduit l'allo réactivité des lymphocytes T du donneur vis-à-vis des antigènes du receveur. En parallèle du traitement de la GVH digestive, la Société Francophone de Greffe de Moelle et de Thérapie Cellulaire (SFGM-TC) recommande d'exclure une autre cause pouvant expliquer la persistance des diarrhées comme une infection bactérienne ou virale (16).

b. Diarrhées d'origine virale chez le patient allogreffé de CSH

Avec les infections à *C. difficile*, les infections à cytomégalovirus (CMV) et les virus des gastro-entérites tels que les norovirus ou les adénovirus représentent les principales causes de diarrhée infectieuse au cours de l'« *early postengraftment period* », période comprise entre la sortie d'aplasie et le 100^{ème} jour post-transplantation (jusqu'à 6 mois voire 1 an après la transplantation en fonction des auteurs). Cette période qui précède la « *late post-engraftment period* » est caractérisée par un déficit immunitaire cellulaire dont les caractéristiques contribuent à prédire et reconnaître les agents infectieux dont la responsabilité peut être suspectée (10,11,17,18) (**figure 1**).

La maladie gastro-intestinale à cytomégalovirus est le type de maladie à CMV le plus fréquemment diagnostiqué (70 à 80 % des cas de maladie à CMV) (19). La séropositivité du receveur avant la greffe est le principal facteur de risque d'infection à CMV, quel que soit le statut du donneur. L'infection à CMV est définie par la détection du virus (antigénique ou par *Polymerase Chain Reaction* (PCR)) dans un prélèvement quel qu'il soit, en l'absence de symptôme, tandis que la maladie à CMV correspond à la détection du virus dans le compartiment sanguin en présence de symptômes (20,21). La maladie invasive à CMV correspond à une infection d'un ou de plusieurs organes (signes cliniques associés à un diagnostic virologique orienté). La distinction entre maladie prouvée et maladie possible a été récemment introduite : la maladie « prouvée » nécessite une documentation de l'atteinte virale sur une biopsie à l'aide de l'histologie, immunohistochimie ou de l'hybridation *in situ*, alors que la maladie est « possible » lorsque seule la PCR est positive (biopsie, liquide broncho-alvéolaire, liquide cébro-spinal ou LCS, urines...). Cette classification rend compte de l'absence de seuils quantitatifs de PCR permettant de définir la maladie invasive (20).

Des définitions issues des recommandations de l'*European Conference on Infections in Leukemia-4* (ECIL-4) en 2012 portant sur les infections à adénovirus humain (HAdV) font désormais consensus : on parle d'infection locale à HAdV (PCR positive, isolement du virus ou détection d'antigène dans des matériaux de biopsie ou des fluides autres que le sang périphérique), d'infection systémique/virémie (PCR HAdV positive, isolement du virus ou détection d'antigène dans le sang périphérique), de maladie probable (infection à HAdV avec symptômes et signes cliniques compatibles, sans confirmation histologique) et de maladie prouvée (infection à HAdV avec symptômes et signes cliniques compatibles avec confirmation histologique) (22). L'incidence des infections par l'adénovirus varie de 5 à 15 %, allant d'infections spontanément résolutive à une maladie disséminée grave et mortelle (23), et dont la diarrhée constitue le plus fréquent des symptômes avec la fièvre (24). Les maladies à adénovirus chez les patients allogreffés de CSH semblent être majoritairement le fait de réactivations de HAdV qui persistent à l'état latent au sein du tissu lymphoïde après primo-infection, bien qu'une infection *de novo* transmise par le greffon ou l'environnement soit possible (25–27). Le risque d'infection invasive augmente avec la quantité d'HAdV retrouvée dans les selles des allogreffés

pédiatriques (28). Toutefois, l'excrétion du HAdV dans les selles est un phénomène commun qui a été décrit comme survenant chez plus d'un tiers des patients pédiatriques après allogreffe de CSH et qui n'est pas nécessairement associée à des symptômes cliniques d'infection intestinale (29).

Les méthodes actuelles de détection des virus dans les selles ont permis de montrer que le norovirus était une cause sous-diagnostiquée de diarrhée chez les patients receveurs de CSH, responsable de symptômes volontiers persistants, aux complications parfois sévères, voire fatales (30,31). En 2023, l'étude rétrospective monocentrique de Mageau *et al.* rapportait une fréquence de détection du norovirus dans les selles par *Reverse Transcriptase – Polymerase Chain Reaction* (RT-PCR) équivalente à 4.3% pour le norovirus (7/162) et 1.9% pour le sapovirus (3/162) chez 162 patients allogreffés de CSH ayant présenté au moins 1 épisode de diarrhée. Cette étude a montré un taux plus élevé d'échantillons positifs aux calicivirus (norovirus et sapovirus), plus de 6 mois après la transplantation (10/25, 40%) par rapport aux 6 premiers mois (10/146, 7%), associé à un nombre plus élevé (bien que non significatif) de patients atteints de GVH chronique et de GVH résistante aux stéroïdes dans le groupe infecté (32). Il est probable qu'une forte immunosuppression prolongée des lymphocytes T soit un facteur de risque important d'infection par le norovirus et le sapovirus. Parmi les 12 patients allogreffés présentant une diarrhée étiquetée à norovirus, décrits dans l'étude de Roddie *et al.* en 2009, 2 d'entre eux recevaient un traitement immunosuppresseur pour une GVH digestive présumée au moment du diagnostic de l'infection (33). De plus, des cas d'infections à certains virus comme les astrovirus et bocavirus, ont été décrits et constitueraient des causes émergentes de diarrhée chez les patients transplantés de CSH (11).

Du fait d'une présentation clinique aspécifique, une infection virale gastro-intestinale peut être interprétée à tort comme une GVH, le traitement immunosuppresseur aggravant l'infection, ce qui justifie la recherche des virus entériques responsables de diarrhées au sein de cette population (34).

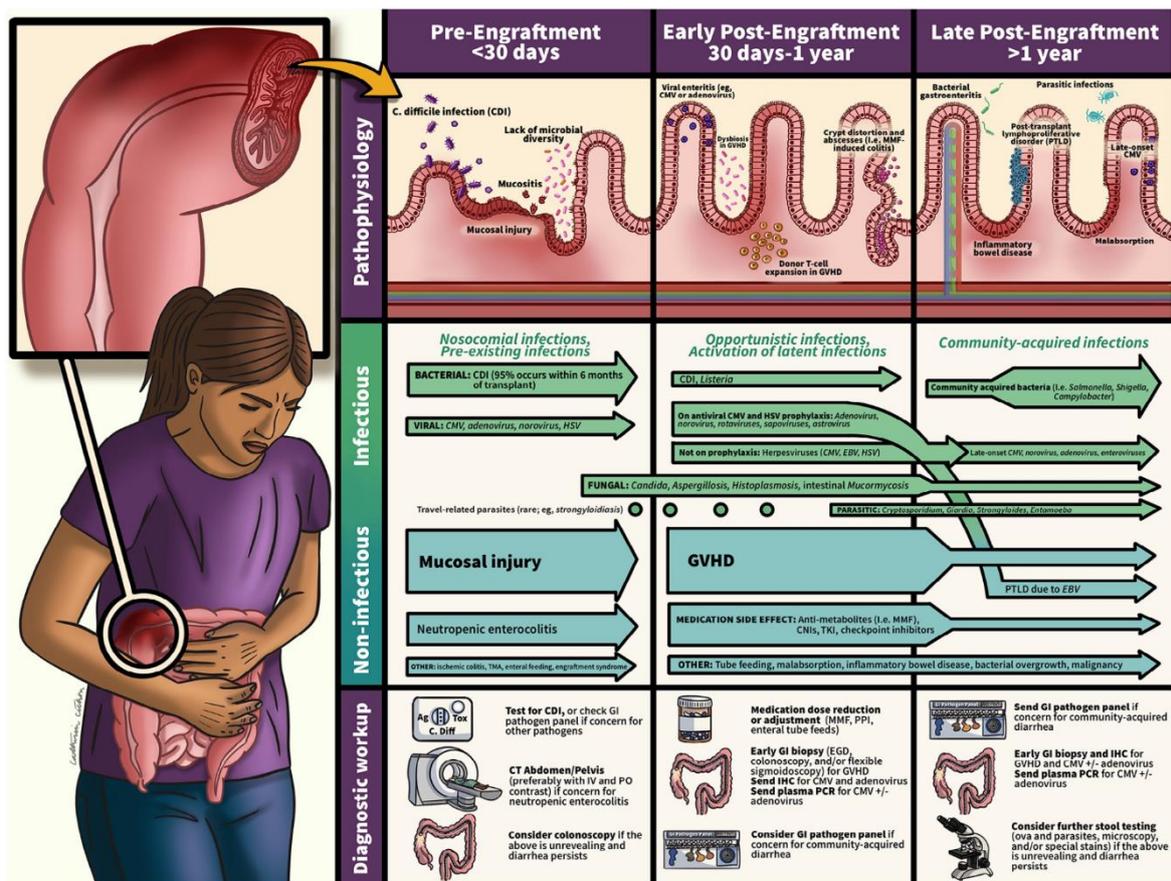


Figure 1 : Représentation schématique des causes de diarrhées chez les patients allogreffés de CSH selon la période qui entoure la transplantation, d’après Castillo *et al* (11). Abréviations: CDI, *Clostridioides difficile* infection ; CMV, Cytomegalovirus ; CNI, calcineurine inhibitor ; EBV, Epstein–Barr virus ; EGD, œsophagogastroduodénoscopie ; GVHD, graft-versus-host disease ; HSCT, hematopoietic stem-cell transplantation ; HSV, Herpes simplex virus ; IHC, immunohistochimie ; MMF, mycophenolate mofetil ; PPI, proton-pump inhibitor ; PTLD, post-transplant lymphoproliferative disease ; TKI, tyrosine kinase inhibitor ; TMA, thrombotic microangiopathy.

2. Diarrhée et transplantation rénale

En France, selon l’Agence de la Biomédecine, la transplantation rénale est de loin la plus courante des transplantations d’organe solide avec 3377 greffes réalisées en 2022 sur 5495 transplantations d’organes.

a. Données épidémiologiques

D’après une étude américaine de Bunnapradist *et al.* parue en 2008, les incidences cumulées des épisodes de diarrhée sont de 11,5%, 17,5% et 22,6% à 1, 2 et 3 ans post-transplantation rénale (35). La survenue de diarrhée en post-transplantation est associée à une diminution de la qualité de vie (36), un déclin de la fonction du greffon et un risque plus élevé de mortalité (35).

b. Agents infectieux impliqués

Le norovirus est considéré comme la principale cause infectieuse de diarrhées chez le transplanté rénal, responsable de 16,7 à 26% d'entre elles (37–39). L'infection est responsable d'une perte de poids (39), peut évoluer vers un portage chronique et les symptômes se prolonger durant plusieurs mois (40). Après la greffe rénale, le délai médian de survenue de l'infection à norovirus est d'environ 3 ans (41), ce qui est plus long par rapport à d'autres agents infectieux comme *Clostridioides difficile*, qui représente une cause significative de diarrhée infectieuse précoce au cours des premiers mois post-transplantation (42). Ce risque infectieux n'est pas seulement lié à l'intensité du traitement immunosuppresseur (qui est plus lourd durant la période précoce post-transplantation), mais aussi à la durée de ce traitement (41). En 2011, Roos-Weil *et al.* ont rapporté 4 cas de patients greffés rénaux atteints de diarrhées prolongées à norovirus qui avaient bénéficié d'une endoscopie dont les anomalies histopathologiques rapportées étaient non spécifiques, motivant les auteurs à recommander qu'une recherche du virus dans les selles soit demandée avant toute exploration endoscopique complémentaire (38).

En 2019, Devresse *et al.* ont présenté les résultats de leur étude rétrospective menée à l'hôpital Necker et portant sur 195 patients transplantés rénaux qui avaient présenté des diarrhées faisant l'objet d'une recherche d'agents infectieux responsables, dont la répartition est schématisée sur la **figure 2** (43). En dehors du norovirus, les causes infectieuses de diarrhée sont bactériennes (*Clostridioides difficile*, *Campylobacter sp.*, *Salmonella sp.*, *Shigella*, *Escherichia coli*), virales (CMV, autres virus entériques comme le rotavirus ou l'astrovirus) et parasitaires avec des cas rapportés de microsporidioses et de cryptosporidioses intestinales (43–45).

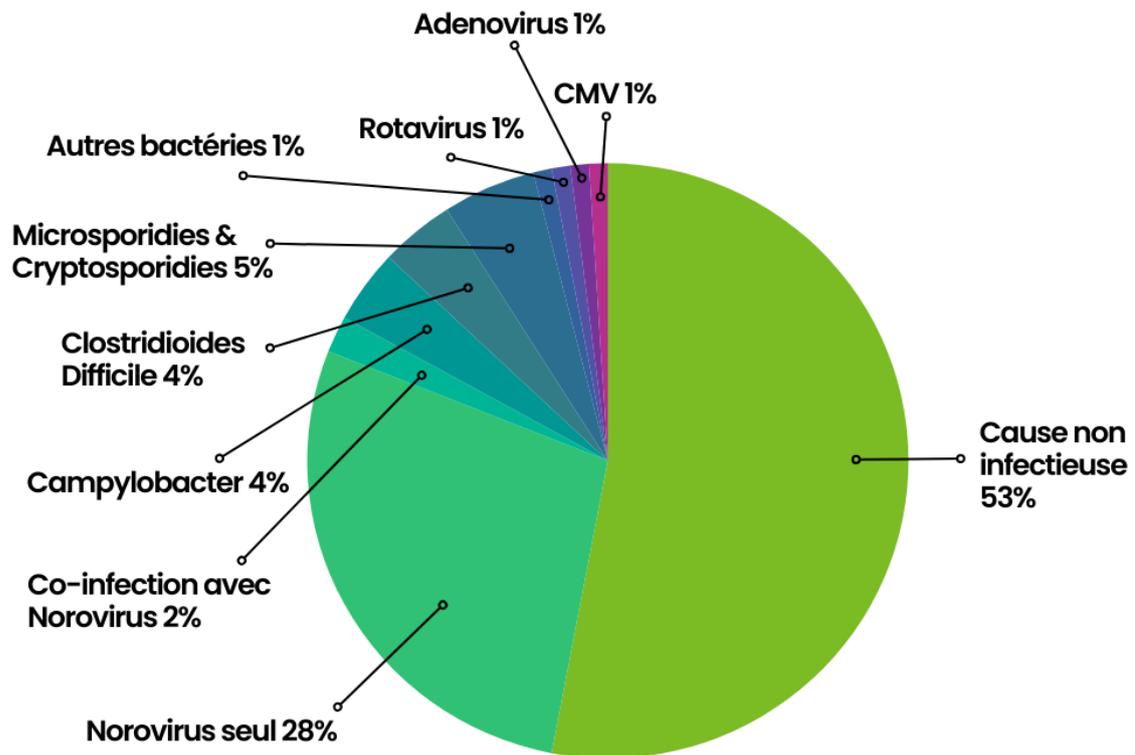


Figure 2 : Représentation schématique des causes de diarrhées retrouvées chez 195 patients transplantés rénaux inclus de manière rétrospective à l'hôpital Necker entre janvier 2010 et août 2011. D'après Devresse *et al* (43).

Le statut sérologique du receveur avant la greffe et les modalités de prévention (prophylaxie universelle ou traitement préemptif) déterminent l'incidence des infections & maladies à CMV (20). Le sérodiagnostic permet de déterminer avant la greffe le statut immunitaire du donneur et du receveur vis-à-vis du CMV avec la recherche des immunoglobulines de type IgG (46). L'infection à CMV survient principalement dans les 6 premiers mois postgreffe (47). Chez le patient transplanté d'organe solide, il faut désormais différencier la maladie invasive à CMV et le syndrome CMV, qui constitue une entité définie par la détection du virus dans le sang associée à au moins deux critères parmi : température ≥ 38 °C pendant au moins deux jours, malaise ou asthénie, leucopénie ou neutropénie sur 2 prélèvements séparés d'au moins 24 heures, $\geq 5\%$ de lymphocytes atypiques, thrombopénie, élévation des transaminases ≥ 2 fois la normale (21). L'amplification quantitative des acides nucléiques dans le sang par qPCR est aujourd'hui un outil incontournable pour le diagnostic, la surveillance de l'infection, de la maladie à CMV, et contribue à l'appréciation de la réponse au traitement (46).

Des infections disséminées à adénovirus (HAdV) ont été rapportées chez le greffé rénal (48). Watcharananan *et al.* ont montré que l'implication du tractus gastro-intestinal au cours de ces infections était fréquente, notamment sous forme de diarrhée aiguë (49). La majorité des infections survient dans l'année qui suit la transplantation (48). L'incidence d'une virémie à HAdV chez le patient adulte transplanté d'organe solide est inférieure à 10% et il est courant que la présence du virus dans le sang

soit transitoire et asymptomatique (28). En 2019, les recommandations de l'American Society of Transplantation proposaient que ne soit réalisée une recherche d'infection à HAdV que chez les patients symptomatiques (50). Bien que l'analyse anatomo-pathologique de l'organe supposément infecté constitue le *gold standard* dans le cadre du diagnostic d'infection à adénovirus, les méthodes de PCR permettant la détection d'un large panel de types de HAdV dans le sang, les selles ou les sécrétions respiratoires doivent être utilisées lorsque le diagnostic histologique n'est pas permis. Toutefois, la valeur d'un résultat positif dans les selles n'est pas reconnue comme prédictive du risque de maladie disséminée chez les patients transplantés d'organe solide (50).

c. Causes non infectieuses de diarrhée chez le transplanté rénal

Chez le greffé rénal, il existe de nombreuses causes possibles de diarrhée. Celle-ci est facilement attribuée aux effets secondaires des thérapeutiques immunosuppressives lorsque les explorations microbiologiques (bactériologie, virologie, parasitologie) reviennent négatives, ce qui peut conduire le néphrologue à modifier le traitement immunosuppresseur considéré comme étant la cause de la diarrhée, avec un risque de rejet du greffon (39). Dans ce contexte, assurer un dosage adéquat permet de prévenir le rejet tout en s'affranchissant des complications toxiques, infectieuses et néoplasiques liées à un excès d'immunosuppression.

Le délai qui sépare la transplantation de la survenue de la diarrhée diffère en fonction de l'étiologie. Les diarrhées toxiques sont souvent précoces et surviennent volontiers dans les 12 mois qui suivent la transplantation (51). Les traitements immunosuppresseurs, et plus particulièrement le mycophenolate mofetil (MMF), ont été associés à la survenue de complications gastro-intestinales. Ces immunosuppresseurs exposent à un risque accru de diarrhée par toxicité directe mais également par une sensibilité accrue aux infections. Chez les patients traités par MMF, une diarrhée survient plus souvent que chez les patients traités par azathioprine, à une fréquence qui varie selon les définitions employées par les auteurs, la méthode d'investigation et les posologies utilisées (42,52). A titre d'exemple, une diarrhée était rapportée, au moyen d'un questionnaire spécifique, par 19,3% (18/93) des patients greffés au Centre Hospitalier Universitaire (CHU) de Toulouse et traités par MMF durant la première année post-transplantation (53). Plus encore, Bunnapradist *et al.* ont montré que l'association thérapeutique MMF + tacrolimus était d'avantage à risque de diarrhée que l'association MMF + ciclosporine chez le patient transplanté rénal (35).

3. Tumeurs solides

La diarrhée en tant que symptôme est couramment retrouvée chez les patients atteints de tumeurs solides touchant l'estomac, l'intestin, le pancréas et le colon, mais également le poumon lorsqu'elles rentrent dans le cadre des tumeurs neuroendocrines. Elle est aussi mais surtout un effet indésirable fréquent associé aux chimiothérapies anti-cancéreuses cytotoxiques (le 5-fluorouracile et l'irinotecan étant les plus fréquemment associées à la survenue de diarrhée) et aux thérapies ciblées (anti-VEGF,

anti-EGFR, anti-mTOR...). La plupart de ces traitements provoquent une diarrhée qui constitue un facteur limitant leur utilisation et qui peut être responsable de complications (54).

La Société Européenne d'Oncologie Médicale (ESMO), dans ses recommandations de 2018 sur la prise en charge des diarrhées chez les adultes atteints de cancer, estime qu'il est presque impossible de concevoir un algorithme applicable à tous les contextes de cancer pour l'indication des tests de laboratoire, sans éviter un surdiagnostic (avec des coûts et une charge supplémentaires pour le patient) ou un sous-diagnostic, et que le choix des investigations doit être guidé par l'examen clinique et la durée des symptômes. Toutefois, l'ESMO préconise de rechercher une infection à *C. difficile* et laisse le choix au clinicien d'y associer la recherche de *Shigella*, *Salmonella*, *Campylobacter*, *Escherichia Coli* O157:H7 producteur de shigatoxines,, *Giardia lamblia*, *Cryptosporidium* et *Entamoeba histolytica* en cas d'hospitalisation antérieure et prolongée, d'âge avancé, d'usage d'antibiotiques, d'inhibiteurs de la pompe à protons ou de sonde à visée d'alimentation, sans qu'il ne soit fait mention des virus entériques (54).

4. Personnes Vivant avec le Virus de l'Immunodéficience Humaine (PVVIH)

Depuis l'avènement du traitement antirétroviral combiné, 28,2 à 53,6% des patients vivant avec le VIH rapportent la survenue de diarrhée au cours des 7 derniers jours (55). Les causes non infectieuses comportent l'entéropathie liée au VIH qui est définie par une diarrhée chronique sans cause infectieuse identifiée chez un individu positif au VIH, les tumeurs malignes associées au VIH, l'insuffisance pancréatique du patient VIH, les traitements antirétroviraux et notamment ceux qui composent la trithérapie antirétrovirale. En effet, la diarrhée est l'un des effets indésirables les plus communs rattachés à ces traitements et peut entraîner la non-adhérence, l'arrêt du traitement voire le changement de molécule utilisée (55).

En plus des causes infectieuses de diarrhée les plus fréquemment retrouvées chez le sujet immunocompétent, les personnes vivant avec le VIH sont prédisposées à développer des infections opportunistes bactériennes, virales, protozoaires et fongiques à l'origine de diarrhées (55), notamment lorsque le taux de lymphocytes T CD4⁺ est inférieur à 200/mm³ (56). Parmi les virus en cause, le CMV est responsable de colite, d'hémorragie gastro-intestinale et de perforation digestive en cas d'immunosuppression avancée, particulièrement lorsque le compte de lymphocytes T CD4⁺ est inférieur à 50/mm³.

En 2018, Yang *et al.* ont souhaité, à l'aide d'une PCR multiplex, évaluer la prévalence du norovirus au sein d'échantillons de selles issus de patients diarrhéiques vivant avec le VIH, pour qui les méthodes de diagnostic microbiologique conventionnelles n'avaient pas permis de mettre en évidence d'agent infectieux bactérien, parasitaire, fongique ou mycobactérien responsable, soit 32% des patients sélectionnés (26/81). Sur ces 26 patients, le norovirus était détecté dans 54% des cas. De plus, 16,4% (9/55) des patients pour lesquels un agent infectieux avait été identifié par des méthodes dites de routine

autres que la PCR multiplex était coinfecteds par le norovirus (56). Ces observations suggèrent une place importante du norovirus dans les diarrhées infectieuses non bactériennes de la PVVIH.

C. Virus entériques

1. Généralités

Les principaux virus responsables de gastro-entérites sont les norovirus, rotavirus, astrovirus, adénovirus et sapovirus. Ils infectent essentiellement l'intestin où ils se multiplient dans les entérocytes. D'autres virus, moins fréquemment impliqués, peuvent être mis en cause en 2nde intention : les bocavirus, bufavirus, tusavirus, cosavirus, salivirus, rhinovirus C, parechovirus, cardiovirus, kobuvirus, picobirnavirus, les coronavirus et notamment le SARS-CoV-2 (*Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2*), dont la présence dans les selles de patients atteints de COVID-19 (*Coronavirus Disease 2019*) a été démontrée (57) et pour lequel le risque de transmission par voie féco-orale apparaît comme étant faible (58).

En analysant le virome intestinal de 44 patients receveurs de CSH allogéniques, Legoff *et al.* ont détecté le picobirnavirus dans les selles de 18 de ces patients (40,9%), plus fréquemment avant ou dans la semaine qui suivait la transplantation. La présence de ce virus constituerait un biomarqueur prédictif de GVH digestive chez le sujet allogreffé (59).

Le virus Aichi appartient au genre *Kobuvirus* qui lui-même appartient à la famille des *Picornaviridae* (60). En France, la séroprévalence du virus Aichi est estimée à environ 85% chez les adultes âgés de 30 à 39 ans (à partir de *sera* testés par technique *Enzyme-Linked Immunosorbent Assay* ou ELISA pour les immunoglobulines G) (61) alors que la prévalence du virus Aichi au cours des gastro-entérites est faible (62), suggérant que le virus pourrait être responsable d'infections asymptomatiques et/ou paucisymptomatiques, anecdotiques sur le plan diagnostique dans les pays développés.

La transmission des virus entériques se fait essentiellement par voie digestive, avec une transmission qui peut être à la fois directe, interhumaine, et indirecte par consommation d'aliments, d'eau ou par l'intermédiaire d'objets souillés. Le Centre National de Référence (CNR) virus des gastro-entérites considère que le risque de contamination résulte de trois facteurs : la concentration de virus dans les selles, la durée d'excrétion virale et la capacité du virus à conserver son pouvoir infectieux dans l'environnement extérieur (63).

2. Calicivirus

a. Norovirus

i. Classification & épidémiologie

Les norovirus sont des virus à Acide RiboNucléique (ARN), non enveloppés, appartenant à la famille des Calicivirus. Ils sont répartis en 7 génogroupes (GI à GVII) subdivisés en géotypes, et les souches virales impliquées dans les maladies humaines font majoritairement partie des génogroupes GI et GII (le génogroupe GIV peut également affecter l'homme) (64).

La revue de la littérature internationale par Patel *et al.* parue en 2008 a montré que le norovirus était détecté dans 5 à 36% des cas de diarrhées modérées prises en charge en ambulatoire ainsi que 3 à 31% des cas de diarrhées sévères associées à une hospitalisation, faisant de ce virus la première cause de gastroentérite sporadique de l'adulte et la seconde cause chez l'enfant, après le rotavirus. Par extrapolation à des travaux d'envergure menés dans d'autres pays d'Europe, on peut estimer que les épidémies de gastro-entérites sont dues le plus souvent au norovirus, avec une part comprise entre 36 et 59% (65), ce qui est expliqué par sa haute transmissibilité interhumaine et son importante capacité à résister dans le milieu extérieur (66). En 2008, le réseau européen de surveillance des virus alimentaires (*Foodborne Viruses in Europe Network*) estimait que 88% des épidémies de gastroentérites à norovirus survenues entre 2001 et 2006 étaient la conséquence d'une transmission virale de personne à personne, que 10% étaient d'origine alimentaire et 2% d'origine hydrique (67). En 2021, les norovirus étaient présents dans la plupart (83,7%) des épidémies de cas groupés de gastro-entérites étudiés par le CNR virus des gastro-entérites. Celles-ci étaient majoritairement advenues dans des établissements d'hébergement pour personnes âgées dépendantes ou des services hospitaliers, faisant du norovirus une des principales causes de diarrhée nosocomiale. Il s'agissait essentiellement de norovirus du génogroupe II (92,0% des norovirus détectés), le géotype GII.4 étant surreprésenté au sein de ce groupe (46,0% des souches de norovirus) selon le rapport annuel 2021 du CNR.

ii. Physiopathologie

La période d'incubation est courte, de 24 à 48h. Puis, chez les sujets immunocompétents, les symptômes gastro-intestinaux durent classiquement 1 à 3 jours et l'infection est caractérisée par la survenue progressive ou brutale de vomissements et/ou d'une diarrhée accompagnée de douleurs abdominales (65). Le virus est détecté dans les selles en moyenne jusqu'à 4 semaines après l'infection, bien que l'excrétion virale maximale se produise 2 à 5 jours après l'infection, avec une charge virale d'environ 100 milliards de copies virales par gramme de selles (68). Le virus est également détecté dans les vomissures des personnes infectées. Les patients peuvent faire l'objet d'un portage asymptomatique et excréter le virus dans des conditions similaires à celles d'une personne infectée symptomatique en

termes de durée d'excrétion et de quantité de virus excrété (69). Enfin, des études menées sur des volontaires sains ont montré que certains patients restaient indemnes de la maladie même après une exposition au virus à des doses élevées (70), ce qui pourrait être expliqué par une résistance innée et/ou une immunité préexistante acquise au norovirus (71). Au cours du cycle de réplication viral, les virions interagissent avec la cellule hôte par l'intermédiaire de leurs ligands, les antigènes tissulaires de groupes sanguins (HBGA). De récents travaux ont permis de montrer que l'absence de certains de ces HBGA au niveau des cellules intestinales constituerait une source de protection vis-à-vis de l'infection (64).

iii. Populations spécifiques & vaccination

Les jeunes enfants et les personnes âgées semblent davantage sujets à contracter une infection par le norovirus (72,73). De plus, bien que des échantillons de selles consécutivement positifs au norovirus pendant plusieurs semaines puissent être attribués à des réinfections successives, l'explication la plus probable et privilégiée dans la littérature reste celle d'une excrétion prolongée chez les patients immunodéprimés, qui peut persister pendant plusieurs semaines, voire plusieurs mois-années (74–76). C'est le cas des patients transplantés d'organe solide, notamment pour les greffés rénaux dans le cadre des diarrhées post-transplantation de survenue tardive, pour qui l'infection à norovirus constitue la 1^{ère} cause de diarrhée infectieuse (40), et pour les patients receveurs de CSH (31,33,77). Des cas de diarrhée chronique à norovirus ont également été rapportés chez des patients atteints de déficits immuns primaires et chez des sujets infectés par le virus de l'immunodéficience humaine (78)

Il n'existe pas à ce jour de vaccin contre le norovirus disponible dans le commerce. L'essai clinique de phase 2b évaluant le vaccin candidat le plus avancé en 2023, développé par Hillevax, élaboré à partir de particules virales de synthèse (*Virus-Like Particles* ou VLP) de norovirus GI.1 et GII.4, n'a pas permis de montrer une efficacité protectrice contre les gastro-entérites aiguës associées au norovirus chez le nourrisson, menant à l'interruption très récente (juillet 2024) du développement de ce vaccin.

b. Sapovirus

i. Classification & épidémiologie

Le sapovirus est un virus à ARN simple brin, non enveloppé, qui, comme le norovirus, appartient à la famille des *Caliciviridae*. Les sapovirus sont classés en plusieurs génogroupes suivant la composition du gène codant pour la protéine majeure de la capsid : VP1. A ce jour, on reconnaît 4 génogroupes (GI, GII, GIV et GV) parmi les sapovirus humains. La récente revue de la littérature internationale par Oka *et al.* a montré que le sapovirus était retrouvé dans 2,2 à 12,7% des cas de gastro-entérites sporadiques, bien que différentes méthodes diagnostiques (microscopie électronique, ELISA, PCR avec différents *primers*) aient été utilisées dans les études citées (79).

ii. Physiopathologie

La période d'incubation au cours des gastro-entérites aiguës à sapovirus est courte, de 1 à 4 jours (79). La symptomatologie est principalement représentée par une diarrhée et des vomissements qui se résolvent en 24 à 48 heures, auxquels peuvent s'ajouter des symptômes moins fréquents à type de douleurs abdominales, de céphalées et de myalgies (80). Il a été rapporté des cas de portage asymptomatique du sapovirus suite à sa détection dans les selles par PCR quantitative, à des niveaux comparables à ceux retrouvés chez des patients symptomatiques (79).

iv. Populations spécifiques

A l'instar du norovirus et à la suite de l'avènement de la biologie moléculaire permettant sa détection dans des échantillons de selles, le sapovirus a été identifié comme une cause significative de gastro-entérites sporadiques qui affectent préférentiellement les jeunes enfants, avec une prédominance des cas au cours de la saison hivernale alors que les épidémies des gastro-entérites à sapovirus surviennent tout au long de l'année, chez des patients de tout âge (79). Les patients immunodéprimés courent un risque accru de développer une infection gastro-intestinale sévère à sapovirus, responsable de diarrhées persistantes pouvant mener à une hospitalisation (80). Il n'existe pas de traitement spécifique contre l'infection par le sapovirus. Chez les greffés rénaux, et en l'absence de traitement spécifique disponible, la réduction de l'immunosuppression associée à un traitement symptomatique constituerait une stratégie efficace pour soulager temporairement les symptômes, mais pas pour éviter une récurrence (80).

3. Rotavirus

a. Classification

Les rotavirus appartiennent à la famille des *Reoviridae* et sont des virus non enveloppés à ARN double brin segmentés. Leur capsidie icosaédrique est formée d'une triple couche de protéines : les couches externe, intermédiaire et interne (ou *core*) (**figure 3**). Le génome des rotavirus est constitué de 11 segments d'ARN portant chacun un gène codant pour au moins une protéine. Ces protéines virales comprennent 6 protéines structurales (VP) et 6 protéines non structurales (NSP). Le genre Rotavirus comporte 7 groupes distincts notés de A à G et définis par le déterminant antigénique de la protéine VP6. Les rotavirus des groupes A, B et C peuvent infecter l'homme, mais la majorité des souches isolées appartiennent au groupe A (81).

Pour chaque groupe, les rotavirus peuvent être classés en génotypes définis par les gènes codant pour 2 antigènes de capsidie : VP7 (ou G pour glycoprotéine) et VP4 (ou P pour protéase-sensible). Ils

possèdent une grande diversité génétique issue de leur capacité de mutation et de réassortiment par échange de segments génomiques entre souches.

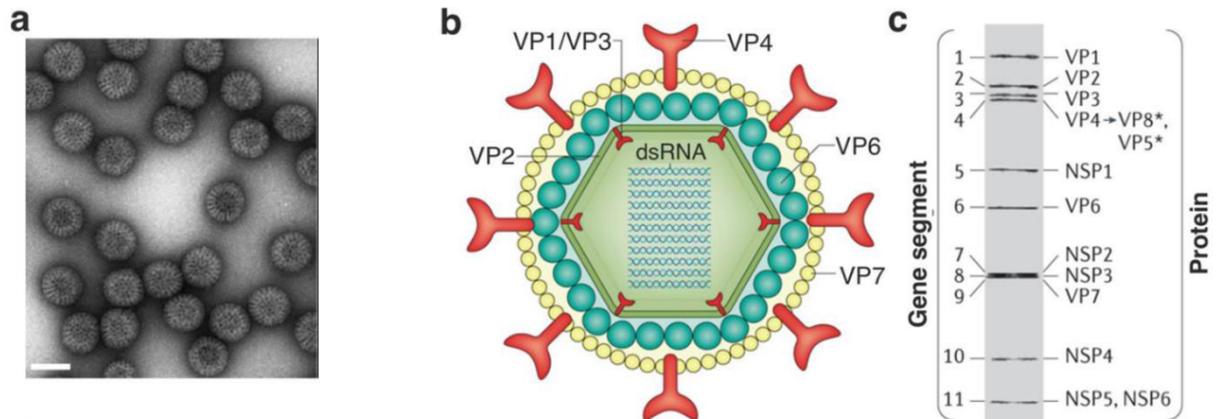


Figure 3 : Structure du rotavirus (d'après Caddy *et al.* (81))

(a) Illustration du rotavirus en microscopie électronique (coloration négative). La barre d'échelle indique 100 nm.

(b) Représentation schématique de la structure virale du rotavirus. La capside comporte 3 couches concentriques. VP7 et VP4 forment la couche externe et VP6 la couche intermédiaire. VP2, associée aux protéines VP1 et VP3, constitue la couche interne qui protège le génome viral constitué des 11 segments d'ARN bicaténaire.

(c) Profil de migration électrophorétique des segments du génome ARN double brin du rotavirus et leurs produits géniques correspondants.

b. Épidémiologie, vaccination et physiopathologie

En France, le CNR virus des gastro-entérites réalise une surveillance moléculaire continue dans le cadre des gastro-entérites infantiles à rotavirus. Leurs résultats depuis 2006 montrent que les principales combinaisons de génotypes G/P ont été : G1P[8] (44,8%) et G9P[8] (29,3%), cumulant à elles seules 74,1% des souches détectées, G3P[8] (10,4%), G2P[4] (6,1%), G4P[8] (2,2%) et G12P[8] (1,9%) (**figure 4**).

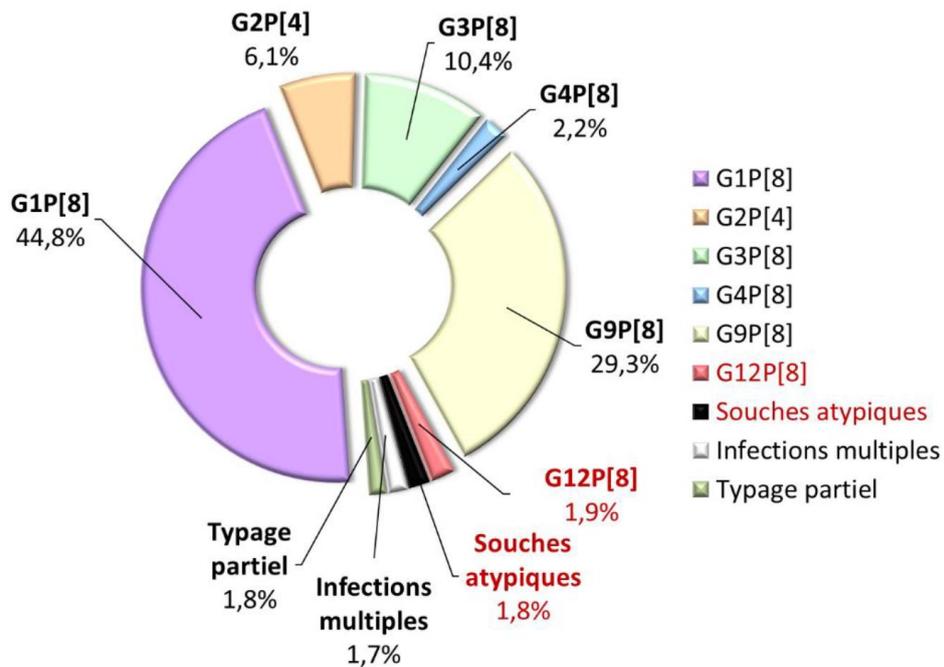


Figure 4 : Distribution des combinaisons génotypiques G et P des rotavirus détectés en France durant l'ensemble de la surveillance 2006-2021 (11688 souches). D'après le rapport annuel d'activité année d'exercice 2021 du CNR virus des gastro-entérites.

La couverture vaccinale en 2021 était inférieure à 5%, pour les vaccins vivants atténués Rotarix® (monovalent, GSK) et Rotateq® (pentavalent, Merck). La surveillance épidémiologique des souches de rotavirus a donc été effectuée en France en dehors de toute pression vaccinale. La même année, une méta-analyse de la *Cochrane* a permis d'évaluer l'efficacité de la vaccination dans la prévention des GEA liées au rotavirus. Chez les enfants suivis jusqu'à 2 ans dans les pays à faible mortalité, l'efficacité dans la prévention des cas de GEA-RV sévères était de 90 % (RR = 0,10 avec IC 95% ; N = 18 145 sujets) pour Rotarix et de 96 % (RR = 0,04 avec IC 95 % ; N = 5 442 sujets) pour RotaTeq (82). Depuis juin 2022, la HAS recommande de vacciner les nourrissons de 6 semaines à 6 mois contre les infections à rotavirus et, depuis novembre 2022, les vaccins Rotarix® et Rotateq® sont pris en charge par l'Assurance Maladie à hauteur de 65%. L'impact de ces recommandations au niveau national sur la pratique de la vaccination, sur la sélection préférentielle de souches de rotavirus et sur l'épidémiologie des GEA-RV reste à déterminer.

Les rotavirus du groupe A sont considérés comme les agents étiologiques majeurs des gastroentérites aiguës sporadiques chez les jeunes enfants âgés de 6 mois à 2 ans (63). Les résultats de la zone d'étude française de l'étude européenne REVEAL menée entre 2004 et 2005 avait permis de confirmer cette place qu'a le rotavirus dans la GEA du nourrisson et de l'enfant avant l'âge de 5 ans. Les GEA à rotavirus représentaient un tiers des GEA et plus de la moitié des GEA hospitalisées (55,6 %) (83). Selon la HAS, les nourrissons de 0 à 11 mois constituent la tranche d'âge la plus représentée pour ce qui est des passages aux urgences et des hospitalisations pour GEA à Rotavirus (respectivement 42 % et 45 %). Enfin, le rotavirus est considéré comme la principale cause d'infections nosocomiales en pédiatrie au cours de la période épidémique hivernale (de décembre à avril en France).

Après une incubation de 24 à 48 heures, l'infection par le rotavirus provoque des manifestations allant du simple portage asymptomatique à une diarrhée parfois profuse et/ou des vomissements responsables d'une déshydratation. L'évolution péjorative des infections à rotavirus est de plus en plus reconnue chez les patients de pédiatrie transplantés d'organe solide (84). L'altération des fonctions de transport d'eau et d'électrolytes consécutive à la multiplication du virus dans l'entérocyte sont à l'origine d'une diarrhée sécrétoire. La glycoprotéine non structurale NSP4 du rotavirus est la première entérotoxine virale connue : elle induit la sécrétion de chlore et d'eau en l'absence de lésions histologiques (85).

4. Astrovirus

a. Taxonomie

Les astrovirus humains (HAstV) sont des virus à ARN de polarité positive qui appartiennent à la famille des *Astroviridae*. Cette famille est composée de 2 genres : les Mamastrovirus qui infectent les mammifères (et qui comprennent les HAstV) et les Avastrovirus qui comprennent les astrovirus aviaires. Les Mamastrovirus sont divisés en 2 génogroupes GI/GII et la classification actuelle de l'International Committee for Taxonomy of Viruses (ICTV) reconnaît 19 génotypes au sein de ces génogroupes.

Jusqu'en 2008, il était admis que les infections humaines à astrovirus étaient causées par 8 génotypes de virus étroitement apparentés, connus sous le nom de HAstV 1-8. Ceux-ci sont désormais appelés HAstV « classiques » en opposition à de nouveaux clades d'HAstV considérés comme « non classiques » ou « nouveaux » : les HAstV-MLB et les HAstV-VA/HMO (86).

b. Épidémiologie

Les HAstV classiques représentent une cause mondiale de gastro-entérite, qui atteint de manière préférentielle les enfants, généralement avant l'âge de 5 ans. L'HAstV-1 est le type d'astrovirus le plus fréquemment détecté, comptant pour au moins 50% des cas rapportés dans la littérature récente (87). En 1999, l'étude dijonnaise de Bon *et al.* a mis en évidence la présence d'astrovirus par méthode immuno-enzymatique confirmée par RT-PCR dans 6,3% des prélèvements de selles de 414 enfants d'âge compris entre 0 et 13 ans qui avaient eu recours à des soins ambulatoires dans un contexte de gastro-entérite (88). Une étude épidémiologique nationale menée entre 2010 et 2012 auprès de patients adultes présentant un épisode de diarrhée aiguë et consultant un médecin généraliste du réseau Sentinelles a montré que 7% (10/145) des prélèvements de selles récoltés étaient positifs pour l'astrovirus en RT-PCR (la moitié étant des cas de co-infections incluant l'astrovirus) (89).

c. Physiopathologie

Chez les sujets immunocompétents, après une durée d'incubation comprise entre 4 et 5 jours, les HAstV sont à l'origine de symptômes non spécifiques de gastro-entérite présumée virale, comprenant une diarrhée souvent modérée, des nausées et des vomissements (90).

Bien qu'ils aient été initialement isolés chez des enfants atteints de gastro-entérite, il n'a pas encore été mis en évidence d'association épidémiologique franche entre la survenue de ces symptômes et l'identification des « nouveaux » astrovirus chez l'homme (87).

d. Populations spécifiques

Des épidémies de gastro-entérites à astrovirus ont été rapportées au sein de différentes populations spécifiques : personnes âgées, patients immunodéprimés, infectés par le VIH ou allogreffés de CSH, enfants atteints d'hémopathies malignes et de déficits immuns primaires (12).

Certains sérotypes particuliers d'astrovirus humains sont associés à la survenue d'infections du système nerveux central à type d'encéphalites virales chez des patients immunodéprimés (HastV-4, HastV-VA1/HMO-C/PS et MBL2) (74). Cela souligne le fait que ces nouveaux HAstV peuvent contourner le tractus gastro-intestinal et infecter d'autres tissus et organes. Dans un article paru en 2015 et portant sur un cas d'encéphalite à HAstV-VA1/HMO-C survenue chez un nourrisson ayant bénéficié d'une allogreffe de CSH dans le cadre d'une chondrodysplasie métaphysaire type McKusick, une RT-PCR conçue à partir des données du séquençage du génome de l'astrovirus identifié a permis de mettre en évidence une quantité d'ARN viral dans la biopsie cérébrale de l'enfant jusqu'à 10^3 fois plus élevée que dans le LCS et jusqu'à 10^6 fois plus élevée que dans les selles ou le sérum (91). Ces résultats suggèrent que l'analyse d'échantillons « périphériques » tels que le LCS, les selles ou le sang puisse être insuffisante pour permettre l'identification des astrovirus au cours d'une encéphalite (87). De plus, un HAstV-VA1/HMO-C phylogénétiquement proche de l'astrovirus mis en cause au cours de cette étude a été détecté dans les selles d'un autre patient symptomatique sur la plan digestif et hospitalisé au même moment, laissant suspecter une transmission nosocomiale du virus. En dehors d'une immunité affaiblie, les déterminants physiopathologiques qui mènent à de telles manifestations extra-intestinales restent à être établis.

5. Adénovirus

a. Taxonomie

Les adénovirus humains (HAdV) sont des virus à Acide DésoxyRiboNucléique (ADN) non enveloppés de la famille des *Adenoviridae*. La variabilité du génome est importante : 7 espèces ou sous-groupes (A-G) sont décrits et chaque sous-groupe comporte de nombreux sérotypes (12). Certaines formes cliniques sont associées à des sérotypes particuliers, comme les sérotypes 40 et 41 du sous-

groupe F pour les gastro-entérites du sujet immunocompétent, bien que d'autres sérotypes comme HAdV-G52, HAdV-D65 ou 67 puissent être retrouvés dans le cadre de diarrhées (27).

b. Physiopathologie & épidémiologie

Chez les sujets immunocompétents, les adénovirus sont responsables d'infections respiratoires (HAdV B – E), de kératoconjunctivites, (l'adénovirus constitue l'étiologie la plus fréquente de kératoconjunctivites), d'encéphalites (HAdV B – D – C), d'hépatites (HAdV C) et de gastro-entérites (28). Une étude prospective menée en 2007 dans 2 centres hospitaliers du Nord de la France a permis de mettre en cause les adénovirus de type 40 et 41, à l'aide d'un test immunochromatographique, dans 5% (51/973) des cas de gastro-entérites infantiles requérant une hospitalisation et survenant chez des nouveau-nés/prématurés qui n'avaient jamais quitté l'hôpital (92).

c. Patients immunodéprimés

Les patients immunodéprimés sont à risque de développer des infections opportunistes à adénovirus qui seront volontiers disséminées, avec une virémie et l'atteinte potentielle de nombreux organes. Ces infections surviennent surtout dans le contexte de la transplantation de CSH, en particulier chez l'enfant, entre deux et trois mois après la greffe de CSH (28). Il est établi que la détection par méthode PCR dans des échantillons de selles chez les patients allogreffés pédiatriques permet de prédire à court terme le risque de virémie et ainsi de prévenir la survenue d'une maladie disséminée à HAdV (29), même en l'absence de symptômes digestifs (la détection d'un HAdV dans les selles n'est associée à une symptomatologie digestive que dans 30 à 46% des cas) (22,24). Chez les patients pédiatriques, le monitoring de la charge virale HAdV dans les selles durant la période post-transplantation facilite la détection précoce de HAdV et une charge virale supérieure à 10^6 copies/g de selles permettrait de prédire un risque augmenté d'infection invasive (les bénéfices de ce monitoring dans les selles sont moins documentés chez l'adulte) (29). Cependant, la quantification absolue du nombre de copies de virus dans les selles est un élément critique qui peut varier selon les techniques de quantification utilisées par chaque laboratoire et les résultats quantitatifs provenant de différentes études peuvent difficilement être comparés en l'absence de standard international. La standardisation de la quantité de selles prélevées et extraites constitue donc l'un des principaux facteurs limitant cette comparaison (93). Toutefois, la documentation d'une augmentation rapide du nombre de copies d'HAdV dans les selles testées au sein d'un même laboratoire et par la même technique PCR pourrait être un paramètre intéressant dans l'évaluation du risque de survenue d'une infection systémique (27). Dans ce contexte, en 2017, des recommandations sur avis d'experts coordonnés par la Société Européenne de Greffe de Moelle (EBMT) ont été émises (94) à propos de la prise en charge des infections à adénovirus pour les patients allogreffés de CSH et sont résumées sur la **figure 5** (28). Une lymphopénie sévère constitue un des principaux facteurs de risque de réactivation virale et, selon ces recommandations, la recherche hebdomadaire de

HAdV dans les selles par PCR quantitative chez les patients pédiatriques devrait être réalisée tant que les lymphocytes T (CD3⁺) dans le sang sont inférieurs à 300 cellules par microlitre (94).

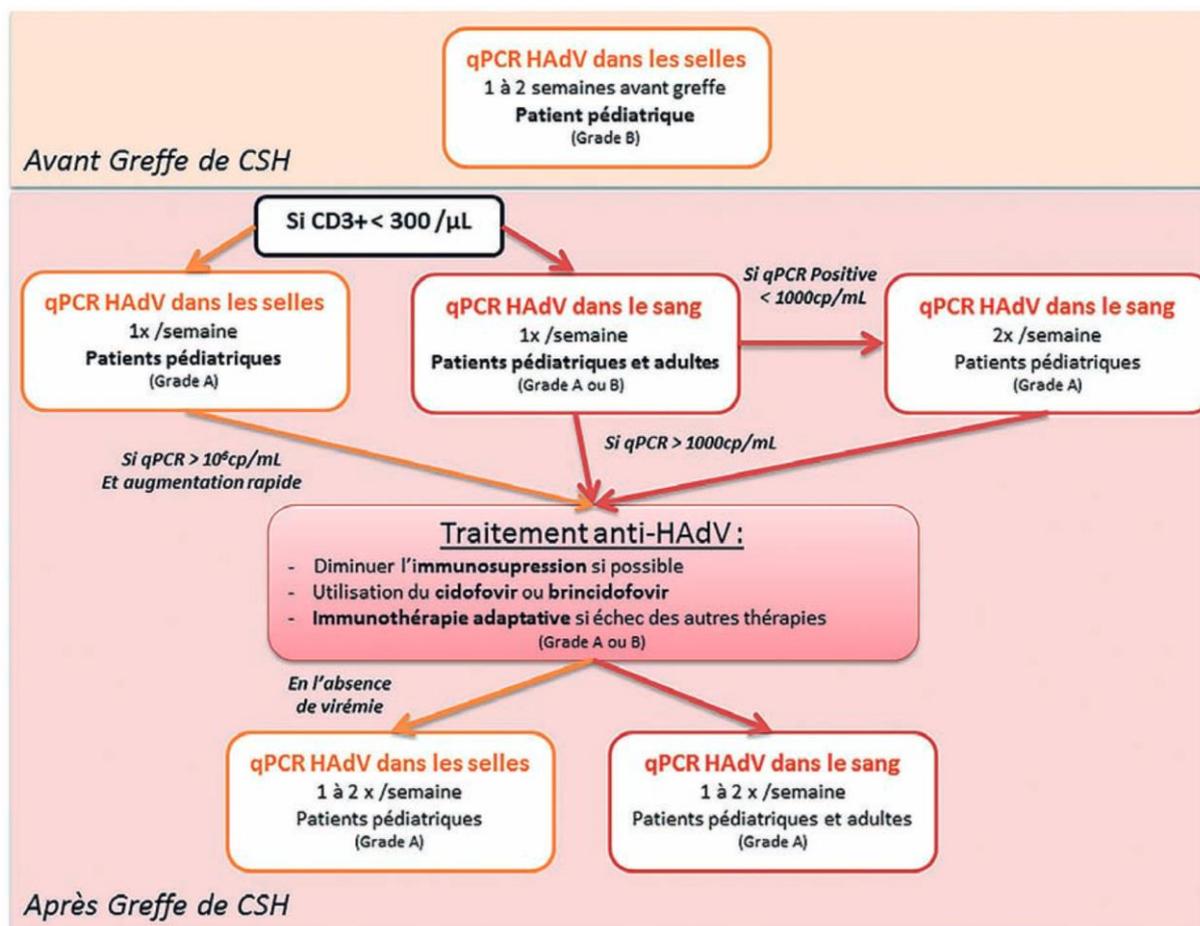


Figure 5 : Représentation schématique des recommandations EBMT (société savante européenne) fortes et modérées (basées sur le système de gradation de recommandations de l'ECIL-6) pour le suivi et le traitement des infections à HAdV en allogreffe de CSH selon Salmona *et al* (28). qPCR : PCR quantitative. D'après Hiwarkar *et al* (94)

Une infection entérique à adénovirus chez le patient immunodéprimé peut être causée par un sérotype autre que les sérotypes 40 et 41 (23), notamment chez les patients allogreffés de CSH chez qui les HAdV de l'espèce C prédominent nettement (28). Pourtant, les sous-types 40 et 41 sont les deux seuls sérotypes inclus dans la plupart des panels gastro-intestinaux (GI) disponibles dans le commerce, qui ne doivent donc pas être utilisées pour le suivi des patients transplantés, ce qui oblige les laboratoires de microbiologie concernés à utiliser une PCR quantitative ciblant une région conservée au niveau du génome viral afin d'assurer la détection de tous les sérotypes d'HAdV connus (50).

Les patients transplantés d'organe solide constituent également une population à risque d'infections à adénovirus, allant de formes simples à disséminées, prolongées et sévères. Les manifestations cliniques dépendent du site d'infection et de l'organe transplanté (48). Les patients transplantés rénaux peuvent présenter une néphrite tubulo-interstitielle ou une cystite hémorragique

associée dans la majorité des cas avec une dysfonction aiguë du greffon. Les sérotypes principalement associés à ces manifestations étaient les sérotypes 7, 11, 34 et 35 (groupe B) (48).

6. Co-infections

L'impact clinique d'une co-infection virale entérique ne fait pas l'objet d'un consensus clair et la contribution de cette co-infection sur la sévérité des symptômes reste à être établie. De plus, la détection simultanée dans les selles d'au moins 2 entéropathogènes est fréquente, notamment au sein de la population pédiatrique où le portage et la sécrétion asymptomatique de virus entériques ont été décrits à de multiples reprises (8). L'étude de Bon *et al.* visant à estimer la prévalence des gastro-entérites virales chez le jeune enfant avait par exemple mis en évidence 50 cas (16,7%) de co-infections virales sur 299 échantillons positifs pour au moins l'un des 4 virus recherchés, où 94% de ces co-infections étaient des combinaisons de rotavirus avec le norovirus, l'astrovirus ou l'adénovirus (88).

Bien que ces co-infections soient le plus souvent la conséquence d'une infection par des virus entériques issus de familles virales distinctes, elles peuvent également inclure des souches différentes au sein de la même espèce. La mise en évidence d'une co-infection est sans nul doute facilitée par l'excrétion prolongée du virus dans les selles. Des études additionnelles portant sur ces co-infections pourraient aider à mieux comprendre les mécanismes qui régulent l'immunité en lien avec les virus entériques (8).

D. Diagnostic microbiologique des diarrhées d'origine virale

1. Intérêt du diagnostic biologique des diarrhées virales

a. Populations concernées & délai de rendu du résultat

La recherche de l'agent infectieux responsable est justifiée lors de cas sévères de gastro-entérite aiguë chez l'enfant et notamment chez le nourrisson. Elle l'est aussi pour les personnes âgées hospitalisées ou vivant en institution, en raison de la surmortalité observée et des risques épidémiques propres à cette population (2).

La prescription d'une recherche de virus entériques dans les selles est également justifiée en cas de diarrhée chez le patient immunodéprimé. Les recommandations américaines de l'AST ID (American Society of Transplantation Infectious Diseases) de 2019 préconisent une approche diagnostique en plusieurs étapes (**figure 6**), laissant la porte ouverte à la réalisation en 1^{ère} intention d'une PCR multiplex syndromique (lorsque celle-ci est disponible au sein du laboratoire) visant à détecter un large panel de pathogènes incluant les virus entériques, en plus de la recherche spécifique de *C. difficile* (PCR - selles), des autres bactéries entéropathogènes (PCR ou culture – selles) et du CMV (qPCR – sang). Selon ces recommandations, le norovirus devrait être recherché en seconde intention par méthode de biologie

moléculaire si celui-ci n'était pas inclus dans le panel syndromique mentionné plus tôt (ou qu'il n'était pas disponible), notamment en cas de diarrhée persistante ou chronique (95).

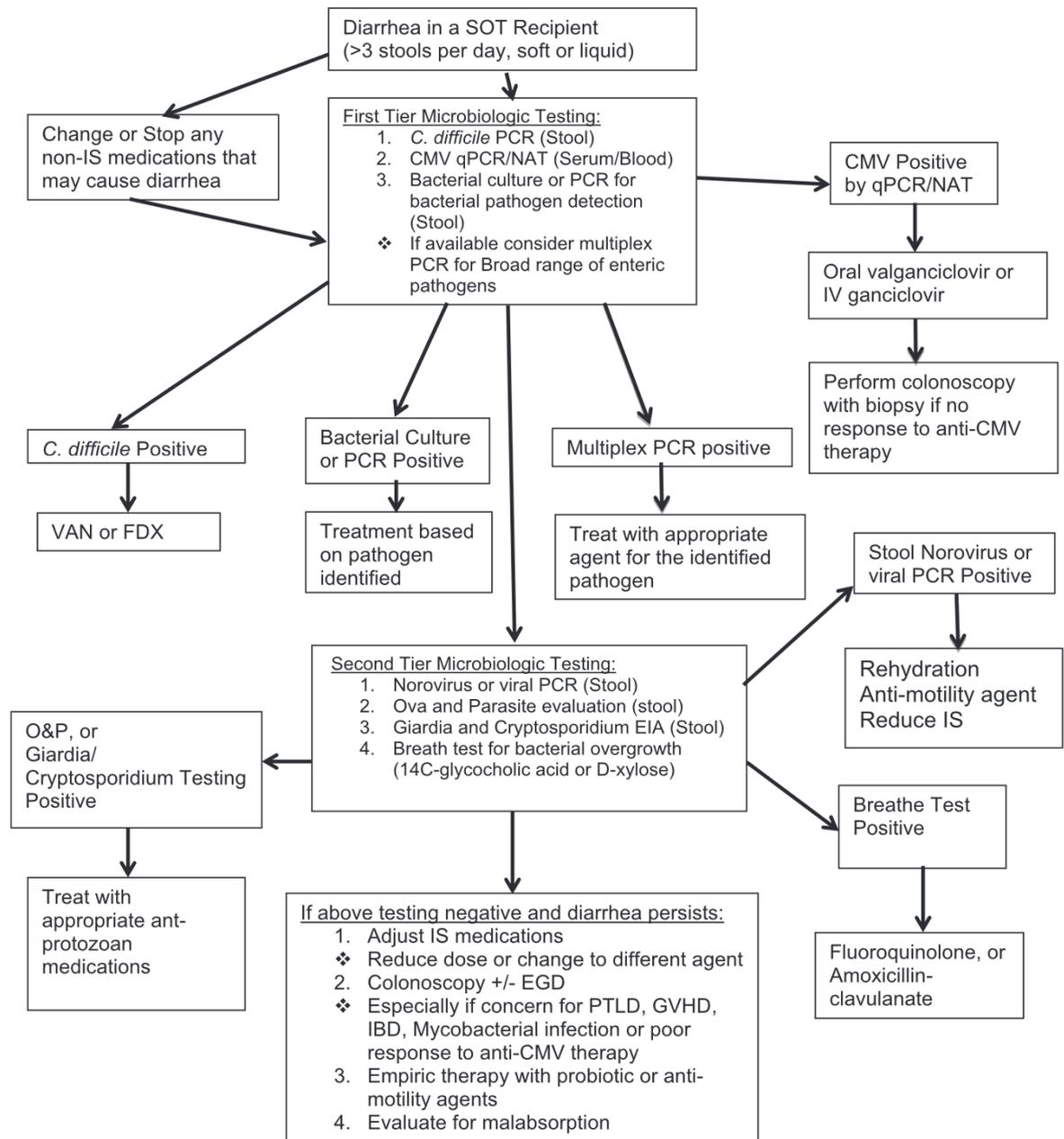


Figure 6 : Algorithme diagnostique d'une diarrhée post-transplantation d'organe solide selon les recommandations 2019 de l'American Society of Transplantation (95). CMV : cytomegalovirus; EGD: oesogastroduodenoscopie; FDX : fidaxomicine; GVHD : graft-versus-host disease; IBD : inflammatoire bowel disease; IS : immunosuppresseur ; NAT : nucleic acid test; PCR : polymerase chain reaction; PTLD : post-transplant lymphoproliferative disease; qPCR : quantitative polymerase chain reaction; VAN : vancomycine.

Il est préférable que le rendu du résultat au clinicien soit rapide, de l'ordre de quelques heures. En souhaitant évaluer l'impact clinique de l'utilisation en routine d'un panel de détection moléculaire syndromique gastro-intestinal incluant les adenovirus F40/41, astrovirus, norovirus GI/GII, rotavirus A, et sapovirus I/II/IV/V, l'étude britannique GastroPOC a permis de mettre en évidence une réduction du

temps passé en isolement et en chambre seule par des adultes hospitalisés présentant des symptômes de gastro-entérite, en les comparant à des patients témoins testés par des méthodes de diagnostic conventionnel (97).

b. Hygiène et mesures préventives

Les virus entériques peuvent persister pendant plusieurs semaines dans le milieu extérieur, résister aux agents de désinfection et aux traitements d'épuration, contaminer les eaux et les aliments. En témoignent des exemples récents de contamination de site d'élevage de coquillages souillés par des rejets, constituant ainsi un risque sanitaire pour l'homme lorsque ces coquillages sont consommés crus ou peu cuits. Les tests diagnostiques permettent d'aider à relier une Toxi-Infection Alimentaire Collective (TIAC) à un aliment contaminé (63).

Des expérimentations impliquant des volontaires sains ont montré que le norovirus se propage facilement au moyen de faibles inocula : l'infectiosité du norovirus est forte, avec une DI50 (dose qui provoque l'apparition de l'infection de 50 % des individus exposés) estimée équivalente à 18 virus, ce qui suggère qu'environ 5 milliards de doses infectieuses pourraient être contenues dans chaque gramme de selles pendant le pic d'excrétion (98). Des épidémies de gastro-entérites aiguës ont par ailleurs été décrites pour tous les principaux virus entériques (norovirus, rotavirus, adénovirus, sapovirus, astrovirus) (4). Ces derniers constituent un danger potentiel dans tous les environnements fermés tels que les garderies, les écoles, les bateaux de croisière, les camps militaires, les restaurants, les établissements de santé et les collectivités de personnes âgées où la promiscuité des résidents et personnels favorise la transmission interhumaine du virus (4,99).

La prévention des gastro-entérites nosocomiales est facilitée par la recherche de virus dans les selles, qui aide à la mise en place de mesures d'hygiène et d'isolement adéquates, afin de limiter la dissémination de l'agent viral. Au vu des limites des tests immunochromatographiques ou ICT (décrites dans la partie 2) a)), l'utilisation de la RT-PCR pour la recherche des principaux virus responsables d'épidémies de gastro-entérites en institution semble particulièrement utile en cas de screening négatif en ICT et d'épidémies avec différents virus circulants (100). Dans le cadre de l'investigation d'un épisode de cas groupés (défini par la survenue de plusieurs cas ayant un lien épidémiologique entre eux tels que cas résidant dans une même unité de soins, partageant les mêmes repas ou menus, participant à des activités communes) de GEA, le CNR préconise de prélever au minimum 3 échantillons de selles diarrhéiques par épisode (un échantillon par patient) et ce, le plus précocement possible après la survenue des symptômes. La caractérisation des souches virales en circulation par génotypage est également importante dans le cadre du contrôle des mesures préventives mises en place (100).

c. Traitement

À l'heure actuelle, aucun traitement spécifique des gastro-entérites aiguës virales ne dispose d'une autorisation de mise sur le marché. Le traitement est symptomatique et se concentre sur l'utilisation

d'anti-diarrhéiques, sur la réhydratation et sur la réduction de l'immunosuppression chez les patients concernés (95). Il n'existe pas, à l'heure actuelle, en France, de thérapeutique spécifique des gastro-entérites aiguës virales. L'essai clinique de phase 2 conduit aux Etats-Unis entre 2018 et 2021 pour évaluer l'innocuité et l'efficacité du nitazoxanide dans le traitement des infections à norovirus chez les receveurs de CSH et d'organes solides n'a pas permis de mettre en évidence un raccourcissement du temps de résolution des symptômes cliniques et d'excrétion virale dans les selles chez les patients du groupe traitement versus ceux du groupe placebo (101). En France, en 2024, cette molécule peut faire l'objet d'une demande d'autorisation d'accès compassionnel dans le cadre d'une infection à norovirus.

L'identification de l'agent infectieux viral peut permettre d'éviter au patient une antibiothérapie abusive. En utilisant une PCR multiplex détectant les rotavirus A, norovirus GI & GII, adénovirus F, astrovirus et sapovirus au sein d'une population d'enfants de moins de 5 ans, hospitalisés, dont les symptômes étaient évocateurs de GEA, Danino *et al.* ont montré que 45,3% (2662/5879) des écouvillons rectaux utilisés étaient positifs pour au moins un des virus cités et qu'un tiers des épisodes de GEA avait fait l'objet d'une antibiothérapie, ce qui souligne l'importance d'une réponse rapide apportée par les méthodes d'identification microbiologique en vue de réduire la consommation inutile d'antibiotiques (102).

2. Méthodes diagnostiques d'une diarrhée d'origine virale au laboratoire

Différentes techniques sont actuellement disponibles au laboratoire pour la recherche en routine des virus entériques : des kits de détection immunologique des antigènes viraux dans les selles par des techniques ELISA ou ICT pour l'identification des norovirus, rotavirus, astrovirus et adénovirus, ainsi que des techniques de détection du génome viral par réaction de polymérisation en chaîne (PCR) ou PCR après transcription inverse (RT-PCR).

a. Détection immunologique

À l'heure actuelle, ce sont les techniques ICT qui sont le plus couramment utilisées car elles sont plus rapides que les techniques ELISA.

i. Comment ça marche ?

Le principe du test immunochromatographique, représenté sur la **figure 7**, est le suivant : un échantillon liquide contenant l'analyte cible se déplace par capillarité à travers une membrane, sur laquelle sont fixés des anticorps spécifiques de cet analyte, conjugués à une particule colorée ou fluorescente. Le complexe immun formé migre jusqu'à une zone de détection composée d'un second anticorps qui réagit avec l'antigène d'intérêt (103).

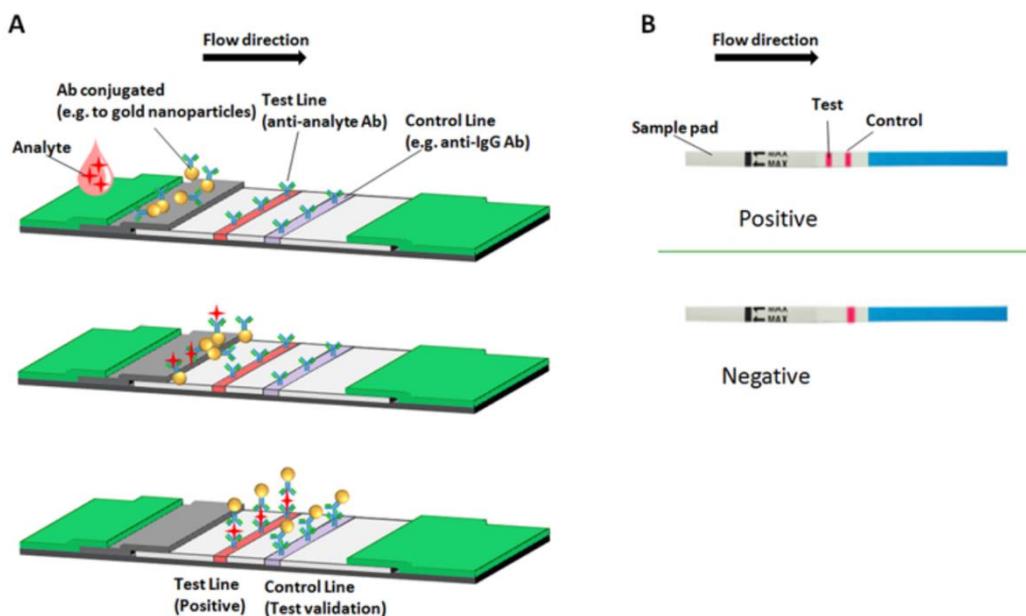


Figure 7 : Fonctionnement et interprétation d'un test immunochromatographique, d'après Koczula *et al* (103) (A) L'échantillon est déposé sur un tampon puis migre vers des anticorps conjugués qui se fixent à l'analyte cible présent dans l'échantillon. Le complexe antigène-anticorps migre jusqu'à une ligne test où des anticorps dirigés contre l'analyte étudié vont capturer ce complexe. Enfin, une autre ligne sert de contrôle de procédure : des anticorps non spécifiques de l'analyte fixent les anticorps conjugués qui ne se sont pas arrêtés sur la ligne de test. (B) La présence d'une ligne colorée au niveau de la ligne de test indique un résultat positif pour l'antigène recherché, tandis que son absence indique un résultat négatif. L'absence d'apparition d'une ligne colorée dans la zone de contrôle indique un résultat de test non valide (par exemple, le volume d'échantillon ajouté n'est pas approprié ou l'action capillaire de la membrane n'a pas fonctionné).

ii. Limites & avantages

La détection des virus entériques dans les selles par immunochromatographie possède certaines limites : les tests disponibles sont parfois de sensibilité insuffisante et l'existence de réactions faussement positives peut être induite par la similarité de structure entre les substances chimiques contenues dans la matrice et les antigènes recherchés (103). Malgré le fait que le résultat du test soit généralement clair et franc, la lecture du résultat par un opérateur reste subjective et entraîne par conséquent un risque d'erreur humaine. Pour pallier ce risque, des systèmes de lecture automatisée ont été développés. Pour la majorité des tests immunochromatographiques utilisés en microbiologie, les résultats sont délivrés de manière qualitative « oui/non », « positif/négatif ». Enfin, pour les virus entériques autres que les norovirus, rotavirus, astrovirus et adénovirus, il n'y a pas de test ICT disponible à l'achat et il est nécessaire de recourir à des techniques de biologie moléculaire pour réaliser le diagnostic.

Quatre tests immuno-chromatographiques (Rida Quick Rota/Adeno/Noro Combi (R-Biopharm), bioNexia Noro/Rota-Adeno (Biomérieux), Immunoquick NoRotAdeno (Biosynex) et Rota+Adeno+Noro combo card (CerTest Biotec)) ont été évalués par le CNR virus des gastro-entérites à partir de 157 échantillons de selles caractérisées provenant de patients souffrant de GEA, en utilisant comme référence des techniques de biologie moléculaire. Ces 4 tests ont montré une sensibilité élevée

(93%) et une excellente spécificité (97,4 à 100%) pour la détection des rotavirus alors que pour les adénovirus en général, la sensibilité était médiocre (54,3 à 58,7%) et la spécificité excellente (95,5 à 100%). Cependant, ils présentaient de bien meilleures performances diagnostiques pour la détection des adénovirus du sous-groupe F (sensibilité 80,8% à 84,6%) par rapport aux adénovirus « non F ». Ils ne sont donc pas adaptés au diagnostic de routine des infections à adénovirus « non F » qui s'accompagnent de symptômes gastro-intestinaux mais peuvent fournir une réponse rapide en cas de résultat positif dans un contexte de GEA associées aux adénovirus 40 et 41. Le test RidaQuick Rota/Adeno/Noro Combi (R-biopharm, Darmstadt, Allemagne), disponible en routine au CHU de Poitiers, utilise des anticorps présentés comme spécifiques de l'antigène hexon qui compose la capsid des adénovirus ce qui laissait suggérer une détection de toutes les espèces d'adénovirus. Enfin, ce test présentait une sensibilité de détection des norovirus élevée (87,5%), sans différence majeure mise en évidence en fonction du génogroupe détecté (GI ou GII), alors que celle des 3 autres tests était mauvaise (42.5 à 47.5%). Tous ont montré une excellente spécificité (96.6 à 99.1%) (104).

b. Détection du génome viral

iii. PCR multiplex spécifiques

Les virus impliqués dans les gastro-entérites peuvent être étudiés en utilisant des techniques de biologie moléculaire (PCR ou RT-PCR). Des panels « gastro-intestinaux » ou « syndromiques » ont été développés, permettant l'amplification partielle de génomes viraux (ADN ou ARN) par PCR, puis la détection simultanée de plusieurs cibles à la fois par hybridation à l'aide de sondes spécifiques, avec des seuils de détection virale plus bas leur conférant une meilleure sensibilité diagnostique (105). La décision de la mise en place d'un nouveau panel de biologie moléculaire au laboratoire dépend de plusieurs facteurs : les performances diagnostiques de la technique utilisée, le coût, la faisabilité en vie réelle et la population qui pourra bénéficier du test en question (105). En recherchant la présence d'un plus grand nombre d'entéropathogènes à la fois, les panels de détection moléculaire multiplex syndromiques contribuent à la mise en évidence de co-infections et à l'identification de virus émergents autrefois ignorés (39,106).

Il n'est pas aisé d'utiliser des échantillons de selles pour la détection moléculaire d'agents pathogènes en raison de la présence d'inhibiteurs de l'amplification des acides nucléiques, comme les sels biliaries, l'hémoglobine et la bilirubine, qui sont souvent coextraits avec les acides nucléiques des pathogènes, et dont l'effet inhibiteur peut être réduit en ajoutant de l'albumine sérique bovine au mix PCR ou en utilisant des polymérases thermostables plus résistantes à ces inhibiteurs (93). L'efficacité de cette extraction influence la reproductibilité et la sensibilité de détection des gènes cibles (107).

iv. Performances diagnostiques

Le CNR virus des gastro-entérites a comparé les performances diagnostiques de plusieurs trousse commerciales de détection des norovirus et des rotavirus du groupe A par technique de RT-PCR en temps réel, en sélectionnant des échantillons de selles représentatifs des souches virales les plus prédominantes sur le plan épidémiologique et en vérifiant leur présence par des méthodes de référence utilisées en routine au CNR (RT-PCR en temps réel) pour tous les échantillons positifs et pour tout échantillon négatif, dès lors qu'un des tests évalués donnait un résultat positif. La sensibilité et la spécificité du panel Allplex GI-Virus Assay (Seegene, Seoul, Corée du Sud) sont, respectivement, de 98,1% (IC 95% : 89,9-100) et 100% (IC 92,7-100) pour les rotavirus du groupe A. Concernant la détection des Norovirus, le panel Allplex GI-Virus Assay présentait une bonne sensibilité (94% IC 83,5-98,7) et une excellente spécificité (100% IC 92,7-100). Il apparaît que ces performances diagnostiques étaient génogroupe-dépendantes : pour le génogroupe 1, la sensibilité du test Allplex GI-Virus Assay était de 88% (IC 68,8-97,5) et la spécificité de 100% (IC 95,1-100) tandis que pour le génogroupe 2, la sensibilité était de 100% (IC 86,8-100) et la spécificité de 98,6% (IC 92,6-100%).

Selon le fournisseur du test Allplex GI-Virus Assay, celui-ci a été testé pour une réactivité croisée à 207 pathogènes différents. Seules les cibles spécifiées ont présenté une amplification et ont été détectées : Adenovirus 40 et 41, Astrovirus 1 à 7, Norovirus GI et GII, Rotavirus G1P4, G1P6, G1P8, G2P4, G3P6, G3P8, G3P9, G4P6, G9P6, G9P8, sapovirus G1, G4 et G5. A titre d'exemple, l'Adénovirus type 8 n'a pas été détecté.

E. Question principale

Les greffés rénaux, dont le suivi médical post-greffe est assuré par les néphrologues, constituent la majorité des patients transplantés d'organe solide rencontrés au CHU de Poitiers (71 greffes rénales en 2022). L'activité de thérapie cellulaire, quant à elle, s'articule autour de l'allogreffe de CSH au CHU de Poitiers (en plus de l'autogreffe et du traitement par *Chimeric Antigen Receptor T-cells* ou CAR-T cells).

L'objectif de ce travail était d'évaluer la pertinence de l'utilisation d'une méthode de biologie moléculaire d'approche syndromique dans le cadre du diagnostic microbiologique d'une diarrhée infectieuse, en la comparant à un test d'immunochromatographie utilisé pour la détection de virus entériques à partir d'échantillons de selles recueillies de façon prospective & issues de patients immunodéprimés et non immunodéprimés.

II. Matériel et méthodes

A. Sélection des échantillons

Une comparaison de méthodes analytiques a été réalisée, en utilisant les échantillons de selles adressés au laboratoire du CHU de Poitiers pour analyses microbiologiques comportant une recherche de virus entériques (adénovirus, norovirus, rotavirus) dans les selles. Celles-ci ont été collectées de manière prospective à partir du 25 septembre 2023 jusqu'au 23 mars 2024. Les échantillons devaient avoir fait l'objet d'une recherche de virus par immunochromatographie à la suite d'une prescription médicale. Les échantillons avec un résultat positif ou ininterprétable pour le rotavirus et/ou l'adénovirus et/ou le norovirus étaient conservés à -30°C. Les selles, dont le résultat du test immunochromatographique était négatif et dont l'unité fonctionnelle prescriptrice était réputée pour accueillir une population de patients immunodéprimés, étaient également conservées. Les analyses de biologie moléculaire ont été réalisées à partir d'un surplus de matières fécales issues d'échantillons de selles, n'entravant pas la bonne réalisation des tests prescrits au préalable.

Pour chaque patient présumé immunodéprimé, les informations cliniques, au moment du recueil de l'échantillon biologique, étaient recueillies via le logiciel de soin Télémaque, et anonymisées. Les données cliniques relevées comportaient : l'âge, le sexe, les caractéristiques de l'immunodépression (allogreffe de CSH, greffe rénale, hémopathie maligne hors allogreffe, tumeur maligne solide traitée par chimiothérapie, infection par le VIH, maladie auto-immune traitée par immunosuppresseurs) ainsi que les dates de transplantation.

B. Méthodes diagnostiques

Les agents viraux recherchés par les méthodes diagnostiques utilisées au cours de ce travail sont décrits dans le **tableau 1**.

Tableau 1 : Pathogènes détectés par les 2 tests comparés

Virus	Rida Quick Rota/Adeno/Noro Combi (R-Biopharm)	Allplex GI Virus Panel (Seegene)
<i>Adénovirus 40/41</i>	Recherché	Recherché
<i>Norovirus GI/GII</i>	Recherché	Recherché
<i>Rotavirus A</i>	Recherché	Recherché
<i>Astrovirus</i>	Non recherché	Recherché
<i>Sapovirus</i>	Non recherché	Recherché

Rida Quick Rota/Adeno/Noro Combi (R-biopharm, Darmstadt, Allemagne) :

La détection qualitative individuelle des antigènes de rotavirus, d'adénovirus ainsi que de norovirus (génogroupes GI et GII) a été réalisée à l'aide du test immunochromatographique Rida Quick Rota/Adeno/Noro Combi, utilisé en routine au CHU de Poitiers, selon les recommandations du fournisseur. L'échantillon de selles était d'abord traité avec un tampon de dilution pour extraire les virus à partir des matières fécales puis, après extraction, un certain volume de surnageant était ajouté aux bandelettes réactives. Des lignes de couleurs différentes étaient visibles en fonction du virus contenu dans l'échantillon. Le résultat était interprété d'après ces lignes après une période d'incubation de 15 minutes à température ambiante.

Allplex GastroIntestinal Virus Panel (Seegene, Seoul, Corée du Sud) :

Pour chaque prélèvement, un échantillon de selles était collecté avec un écouvillon et mis en suspension dans un milieu de transport contenu dans un tube Fecal Swab (Copan, Brescia, Italy). Après centrifugation, le surnageant obtenu était utilisé pour l'extraction automatisée des acides nucléiques par le système Microlab STARlet IVD (Hamilton Company, Reno, USA) en utilisant le kit d'extraction STARMag 96x4 Universal Cartridge Kit (Seegene, Seoul, Corée du Sud), suivie d'une répartition en plaque PCR puis d'un transfert de plaque vers un automate de PCR en temps réel CFX96 RealTime PCR Detection System (Bio-Rad Laboratories, Hercules, USA) permettant l'obtention d'une mesure semi-quantitative de la charge virale contenue dans le prélèvement à l'aide d'un *Cycle Threshold* ou Ct (**figure 8**). Le Ct est inversement corrélé à la quantité de virus présente (plus la valeur est basse, plus la charge virale est élevée). Un résultat de test positif était défini comme une courbe de fluorescence exponentielle qui franchissait le seuil de détection à une valeur inférieure à 40 cycles pour des cibles individuelles. Les protocoles d'analyse ont été prédéfinis par le fournisseur du test.

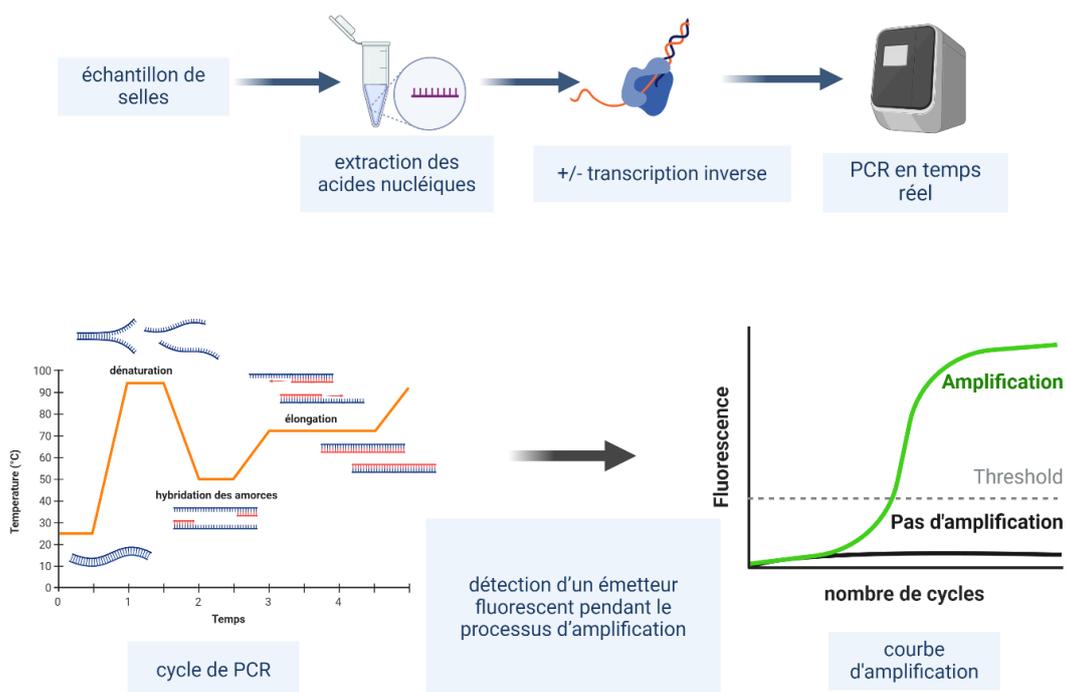


Figure 8 : Principes de la PCR en temps réel à partir d'échantillons de selles.

C. Analyses statistiques

1. Analyse descriptive de la population

Les variables qualitatives sont décrites en termes d'effectif et de pourcentage.

2. Comparaison des méthodes

Les résultats du test Allplex GI-Virus Assay de Seegene ont été comparés avec ceux du test Rida Quick. Les définitions suivantes ne concernent que les résultats obtenus pour les virus recherchés par les 2 tests à la fois : un résultat positif et consensuel était défini comme un résultat positif pour les 2 tests employés alors qu'un résultat négatif et consensuel était défini comme un résultat négatif pour les 2 tests employés. La concordance positive (ou PPA pour "positive percentage agreement") est la proportion de résultats positifs obtenus avec le test comparateur dans laquelle le résultat du test index (nouveau test) est positif. La concordance négative (ou NPA pour "negative percentage agreement") est la proportion de résultats négatifs obtenus avec le test comparateur dans laquelle le résultat du test négatif est négatif.

Le coefficient κ (kappa de Cohen), utilisé pour mesurer l'accord de deux méthodes dans des conditions de variables qualitatives, a été calculé et interprété selon les recommandations d'Altman (1991) : une valeur de κ égale à 0 suggère que l'accord est similaire à celui observé de manière aléatoire, 0 à 0,20 correspond à une force de concordance faible, 0,21 to 0,40 une force de concordance correcte, 0,41 à 0,60 une force de concordance modérée, 0,61 à 0,80 une force de concordance bonne et 0,81 à 1 une très bonne force de concordance.

Les analyses statistiques incluant les intervalles de confiance à 95% ont été réalisées à l'aide de GraphPad Prism version 8.0 (logiciel GraphPad, San Diego, California USA).

D. Confirmation des résultats discordants

Les résultats discordants, positifs en ICT et négatifs en PCR, ont fait l'objet d'analyses complémentaires : le test Rida Quick était réitéré à partir de l'échantillon de selles initial, afin de confirmer ou infirmer sa positivité. Si le second résultat du test ICT était négatif, celui-ci était alors considéré comme négatif dans le cadre de la comparaison des méthodes, alors qu'un résultat positif imposait la vérification du résultat obtenu par PCR. Si toutefois la discordance n'était pas résolue, l'échantillon de selles était envoyé au CNR virus des gastro-entérites pour expertise.

E. Analyses microbiologiques associées

Lorsqu'un examen bactériologique des selles était associé à la demande de recherche de virus entériques dans les selles par ICT, les résultats de cet examen étaient recueillis afin d'identifier les

situations de co-infections bactéries-virus. Les selles étaient testées à l'aide du panel multiplex PCR Allplex GI-Bacteria(I) Assay (Seegene, Seoul, South Korea) utilisé en routine en première intention au CHU de Poitiers, permettant la détection de bactéries entéro-pathogènes (*Aeromonas spp.*, *Campylobacter spp.* [*C. lari*, *C. laridis*, *C. upsaliensis*, *C. coli*, *C. jejuni*], *Shigella spp.* [*S. dysenteriae*, *S. sonnei*, *S. boydii*, *S. flexneri*], *Salmonella spp.* et *Escherichia Coli* entéroinvasif [EIEC], *Vibrio spp.*, *Yersinia enterocolitica* et *Clostridium difficile* B).

III. Résultats

A. Caractéristiques des patients testés

183 échantillons de selles liquides ont été recueillis, issus de 155 patients dont 87 étaient immunodéprimés. Les caractéristiques de ces 87 patients au moment du prélèvement sont présentées dans le **tableau 2**. Soixante-sept échantillons provenaient de patients considérés comme immunocompétents, en majorité des enfants (56/67) âgés de moins de 15 ans.

Tableau 2 : Caractéristiques des patients immunodéprimés

<i>Caractéristiques au moment du prélèvement</i>	<i>n (%)</i>
Age (ans) <i>médiane [Q1-Q3]</i>	54 [39-68]
- 0-19	10 (11,5%)
- 20-39	15 (17,2%)
- 40-59	23 (26,4%)
- >60	39 (44,8%)
Sexe féminin	37 (42,5%)
<i>Type d'immunodépression</i>	
Allogreffe de CSH	23 (26,4%)
Transplantation rénale	9 (10,3%)
VIH	2 (2,3%)
Hémopathies malignes (hors allogreffe)	40 (46,0%)
Tumeurs malignes solides	11 (12,6%)
Maladies auto-immunes traitées par immunosuppresseurs	2 (2,3%)

Les valeurs sont présentées en médiane [Quartile 1 - Quartile 3] : médiane [Q1-Q3] ou en nombre de patients n (pourcentage) : n (%).

B. Performances du test Allplex GI-Virus Assay & comparaison avec la méthode de diagnostic conventionnelle

Sur les 183 échantillons collectés, 48 étaient positifs pour le rotavirus, 11 pour le norovirus, 10 pour l'adénovirus, 5 étaient ininterprétables et 109 étaient négatifs en technique immunochromatographique. Avec le test Allplex GI-Virus Assay de Seegene, 50 échantillons étaient positifs pour le rotavirus, 17 pour le norovirus (7 norovirus G1 et 10 norovirus G2), 13 pour l'adénovirus

et 7 pour le sapovirus. Aucun astrovirus n'a été détecté par PCR parmi les 183 échantillons. Au total, le test PCR a permis d'identifier 74 infections virales (dont 13 co-infections virus-virus) contre 69 infections retenues par le test ICT.

Les résultats bruts des méthodes comparées vis à vis des échantillons testés sont représentés sous forme de tableaux de contingence (**tableaux 3 à 5**). Les valeurs des coefficients kappa/PPA/NPA relatives au test Allplex GI-Virus Assay, par comparaison au test immunochromatographique Rida Quick, étaient égales à 0.861/100.0%/98.3% pour les adénovirus, 0,957/97.9%/98.5% pour les rotavirus et 0.614/81.8%/95.2% pour les norovirus GI/GII (**tableau 6**). La concordance positive relativement moins bonne entre les 2 méthodes vis à vis du norovirus par rapport aux adénovirus et rotavirus s'explique par la positivité de 8 échantillons de selles pour des norovirus en méthode PCR non détectés par le test Rida Quick.

Tableau 3 : contingence entre les résultats des tests Rida Quick et Allplex GI-Virus Assay pour la détection des adénovirus

		Seegene Allplex GI (Seegene, Seoul, Korea) Virus Panel		Total
		Positive	Négative	
Rida Quick Rota/Adeno/Noro Combi (R-biopharm)	Positive	10	0	10
	Négative	3	176	179
Total		13	176	

Tableau 4 : contingence entre les résultats des tests Rida Quick et Allplex GI-Virus Assay pour la détection des rotavirus du groupe A

		Seegene Allplex GI (Seegene, Seoul, Korea) Virus Panel		Total
		Positive	Négative	
Rida Quick Rota/Adeno/Noro Combi (R-biopharm)	Positive	47	1*	48
	Négative	2	128	130
Total		49	129	

* échantillon confirmé négatif pour le rotavirus par le CNR

Tableau 5 : contingence entre les tests Rida Quick et Allplex GI-Virus Assay pour la détection des norovirus GI et GII

		Seegene Allplex GI (Seegene, Seoul, Korea) Virus Panel		Total
		Positive	Négative	
Rida Quick Rota/Adeno/Noro Combi (R-biopharm)	Positive	9	2*	11
	Négative	8	159	167
	Total	17	161	

* échantillons confirmés négatifs pour le norovirus par le CNR

Tableau 6 : évaluation de la concordance entre les méthodes Rida Quick (test comparateur) et Allplex GI-Virus Assay (nouveau test) pour la détection des rotavirus, norovirus GI et GII et adénovirus

	Seegene Virus Panel (nouveau test) VS test Rida (test comparateur)		
	Kappa (IC 95%)	PPA (IC 95%)	NPA (IC 95%)
Norovirus	0.614 (0.40-0.83)	81.8% (52.3-94.9)	95.2% (90.8-97.6)
Rotavirus	0.957 (0.91-1.00)	97.9% (89.1-99.6)	98.5% (94.6-99.6)
Adénovirus	0.861 (0.71-1.00)	100.0% (72.3-100)	98.3% (95.2-99.4)

Abréviation : IC 95%, intervalle de confiance à 95%.

Les échantillons pour lesquels le test ICT avait été rendu « ininterprétable » n'ont pas été intégrés au calcul de la concordance entre les 2 méthodes comparées. Le résultat du test PCR était négatif pour 4 des 5 selles « ininterprétables » en ICT alors que le 5^{ème} échantillon était positif pour le rotavirus (Ct 14.59), permettant de mettre en évidence une infection non détectée par la méthode ICT.

Trois échantillons ont été envoyés au CNR virus des gastro-entérites devant des résultats discordants (test ICT positif et test PCR négatif) malgré vérification. Pour 2 de ces échantillons, la recherche de virus entériques par le CNR (incluant la recherche des adénovirus de tous types, les rotavirus A, les norovirus, les astrovirus et les sapovirus) s'est avérée négative. La méthode de référence (amplification génique par RT-PCR en temps réel) utilisée par le CNR n'a pas détecté de norovirus au sein du 3^{ème} prélèvement alors que le test ICT avait été rendu « positif » pour ce virus. Toutefois, la

recherche de virus entériques par le CNR a permis de mettre en évidence la présence d'un adénovirus de l'espèce C dans cet échantillon de selles.

C. Résultats du panel Allplex GI-Virus Assay chez les patients immunodéprimés

Les entéropathogènes recherchés par les panels multiplex Allplex™GI-VirusAssay et Allplex™GI-Bacteria(I) Assay à partir des échantillons de selles issus de patients immunodéprimés sont représentés sur la **figure 9**.

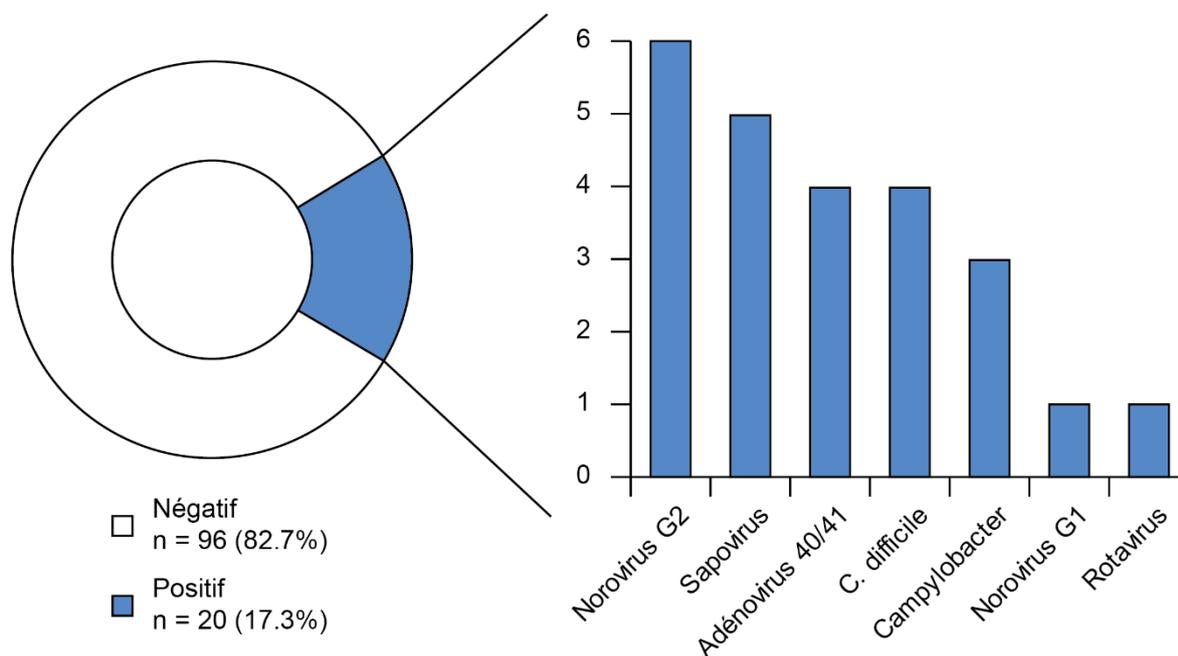


Figure 9 : Répartition des entéropathogènes viraux et bactériens détectés par PCR (Allplex™GI-VirusAssay & Allplex™GI-Bacteria(I) Assay) à partir de **116** échantillons de selles issus de **87** patients immunodéprimés

Non recherchée par le test Rida Quick, une infection unique à sapovirus a été mise en évidence à deux reprises à l'aide du panel syndromique de Seegene et l'une de ces infections est survenue chez un patient transplanté rénal. Trois co-infections impliquant le sapovirus ont également été retenues par PCR chez des patients atteints d'hémopathies malignes. Pour deux d'entre elles, le Ct du sapovirus était plus élevé que celui du virus détecté à la fois par ICT et par PCR (en l'occurrence, un adénovirus) alors qu'un autre échantillon négatif en ICT s'est révélé positif à Sapovirus (Ct 24,8) et Norovirus (Ct 32,3) en PCR.

Une infection à rotavirus a été mise en évidence à l'aide du panel PCR chez un patient greffé rénal pour qui le test ICT était négatif. Le Ct du virus en cause était élevé (38,5) et le patient en question avait bénéficié d'une transplantation depuis plus d'un an. Il n'a pas été détecté de norovirus parmi les échantillons de selles issus de patients transplantés d'organe solide.

Parmi les 116 échantillons issus de patients immunodéprimés, 35 prélèvements l'étaient de patients allogreffés ou ayant débuté l'étape de conditionnement. La majorité de ces échantillons (25/35) ont été recueillis au cours de la phase de *pre-engraftment* (**tableau 7**). Deux infections à *C. difficile* ont été retenues durant cette phase. Pour une patiente allogreffée de CSH, une infection à norovirus GI de survenue tardive, 8 mois après la transplantation, a été mise en évidence par méthode ICT et PCR (Ct à 16,62). Enfin, un norovirus a été détecté par méthode ICT au cours d'une diarrhée affectant un patient allogreffé de CSH au cours de la phase d'*early post-engraftment*. Néanmoins, ce résultat positif n'a été retrouvé ni par le test PCR de Seegene, ni par le CNR virus des gastro-entérites.

Tableau 7 : répartition des échantillons récoltés en fonction du délai par rapport à la date de transplantation de CSH allogéniques

Allogreffe de CSH	35 échantillons
Pre-engraftment (du début du conditionnement jusqu'au jour 30 post-transplantation)	25 échantillons (71.4%)
Early post-engraftment (après le jour 30 jusqu'au jour 100 post-transplantation)	8 échantillons (22.9%)
Late post engraftment (après le jour 100 post-transplantation)	2 échantillons (5.7%)

D. Co-infections

Sur les 183 échantillons collectés, 13 étaient positifs en PCR pour au moins 2 virus à la fois, alors qu'aucune co-détection virale n'a été révélée par immunochromatographie. 5 co-infections virus-bactéries ont été identifiées. L'ensemble des co-infections mises en évidence à partir des échantillons sélectionnés (virus-virus et virus-bactéries) sont présentées dans la **figure 10**.

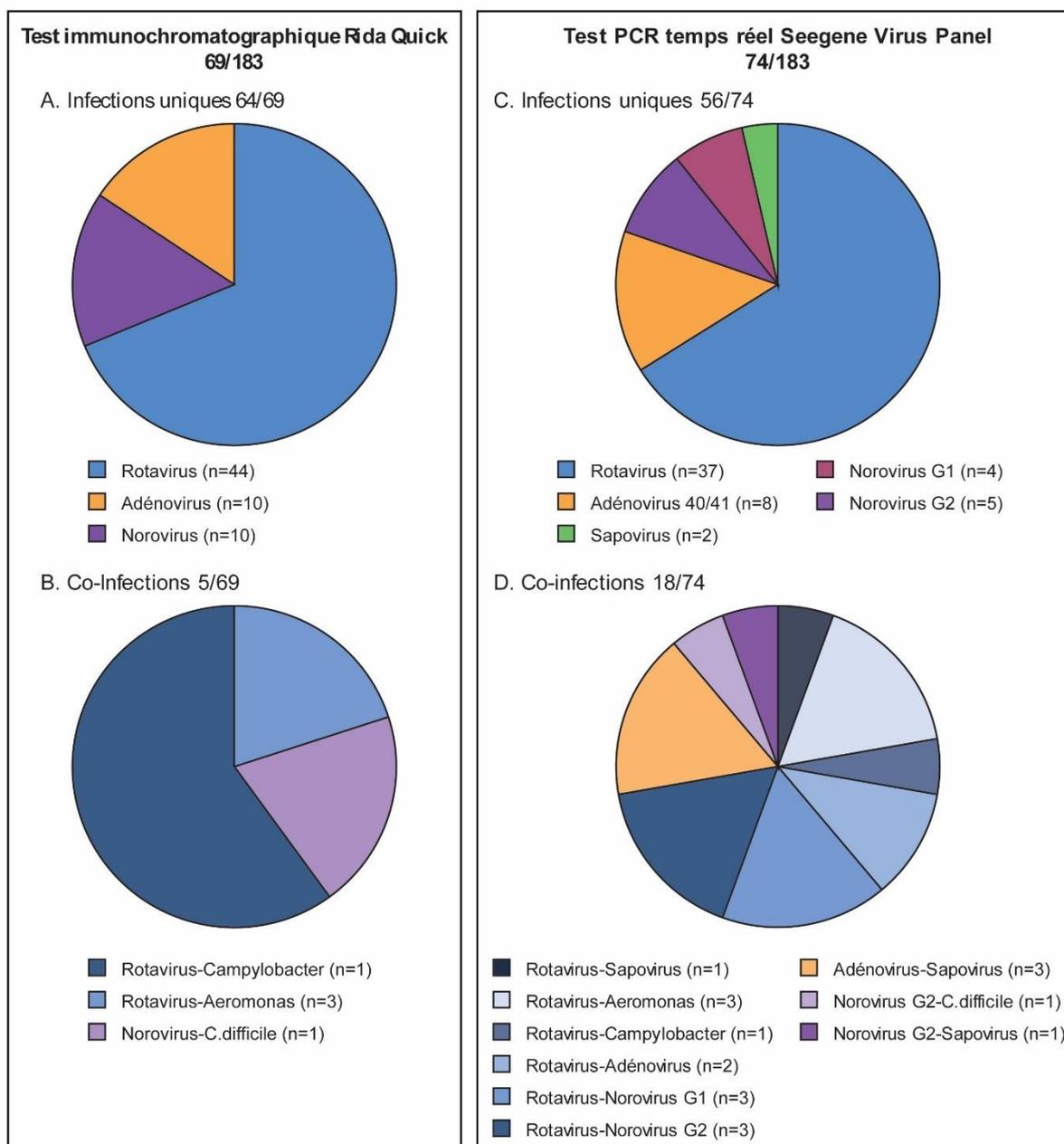


Figure 10 : Répartition des entéropathogènes viraux détectés par les tests Rida Quick et Allplex GI-Virus Assay, seuls ou en association avec les bactéries recherchées par le panel multiplex PCR Allplex GI-Bacteria(I) Assay (Seegene)

E. Semi-quantification des virus entériques

La distribution des valeurs de Ct obtenues avec le test Allplex GI-Virus Assay pour les virus entériques recherchés est représentée sur la **figure 11**. Des valeurs élevées de Ct, supérieures à 30, ont été mises en évidence pour l'un des 2 virus impliqués au cours de co-infections virus-virus (10 cas sur 13 de ces co-infections). Parmi les échantillons issus de patients immunodéprimés, 5 d'entre eux étaient positifs pour un unique virus entérique dont la valeur de Ct était supérieure à 35.

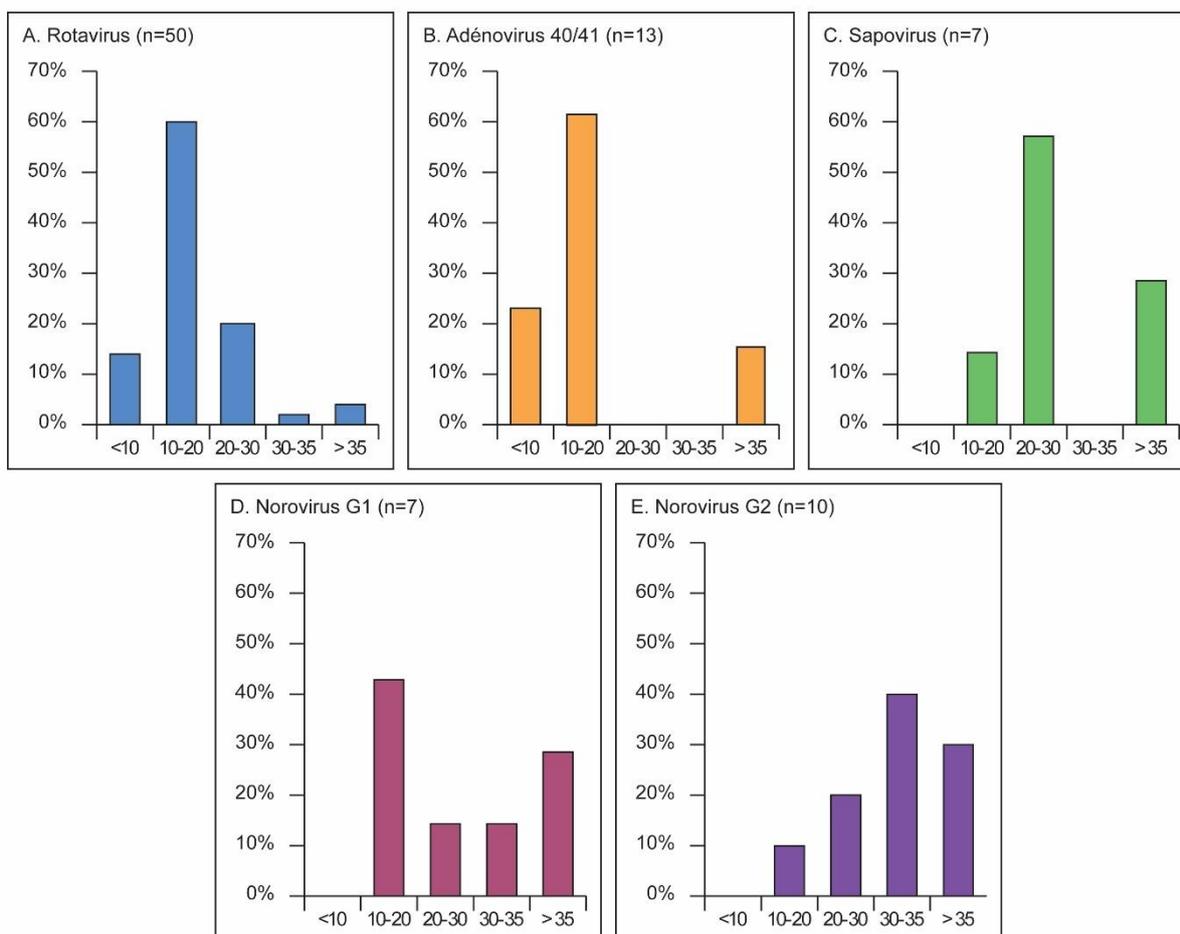


Figure 11 : Distribution globale des valeurs de Ct pour les différents virus entériques recherchés par le test Allplex GI-Virus Assay sur 74 infections entériques virales (dont 13 co-infections virus-virus)

F. Résultats chez les patients non immunodéprimés

Parmi les 67 échantillons de selles initialement positifs ou ininterprétables en ICT provenant de patients considérés comme non immunodéprimés, hospitalisés ou consultant au service des urgences pédiatriques & adultes du CHU de Poitiers, nous avons observé, à l'aide du panel multiplex Allplex™GI-VirusAssay, une prédominance d'infections à rotavirus A (49/67) suivi d'infections à norovirus GI/GII (10/67), à adénovirus 40/41 (9/67) et à sapovirus (2/67), seuls ou en association à un autre virus entérique. Nous avons reporté la présence de 10 co-infections virales sur les 67 échantillons collectés (14.9%) entre septembre 2023 et mars 2024.

IV. Discussion

A. Comparaison des méthodes

Ce travail a permis de montrer une très bonne concordance entre le panel multiplex Allplex GI Virus Assay et la méthode de diagnostic conventionnel immunochromatographique Rida Quick pour la recherche des adénovirus 40/41 et des rotavirus du groupe A dans les selles, ainsi qu'une bonne concordance pour la détection des norovirus GI/GII.

Nous avons choisi de recueillir des échantillons négatifs en ICT issus de patients immunodéprimés afin de pouvoir mettre en évidence par PCR la présence de virus qui n'auraient pas été détectés par manque de sensibilité de la technique ICT par rapport à la technique de biologie moléculaire. Cette sensibilité accrue du test PCR est responsable de la détection du génome d'agents viraux entériques non retrouvés par le test comparateur. Il permet également de mettre en évidence des infections à sapovirus, virus émergent jusqu'alors non recherché en routine au CHU de Poitiers.

Chez 87 patients immunodéprimés présentant des selles liquides, des résultats négatifs ont été obtenus au moyen de ces 2 méthodes, ce qui revêt une importance car ces résultats rendent le diagnostic de diarrhée infectieuse induite par les virus entériques recherchés moins plausible et amènent à considérer d'autres causes notamment non infectieuses telles qu'une diarrhée iatrogène ou une GVH chez le patient allogreffé de CSH.

Le test Allplex GI-Virus Assay a permis d'obtenir des résultats sans ambiguïté analytique pour 5 échantillons « ininterprétables » en immunochromatographie. La PCR en temps réel constitue ainsi une alternative en cas de résultats douteux, notamment parce qu'elle est moins sujette à des erreurs d'interprétation visuelle, et permet de s'affranchir d'un nouveau prélèvement.

B. Interprétation des résultats

1. Comparaison avec les données de la littérature

Le rotavirus prédomine largement parmi les 183 échantillons recueillis entre septembre 2023 et mars 2024 car les services de pédiatrie constituent les principaux prescripteurs de recherche de virus entériques dans les selles et que le rotavirus est le principal agent infectieux responsable de GEA chez l'enfant jusqu'à l'âge de 5 ans (83).

13 co-infections virales ont été détectés parmi les 74 résultats positifs retrouvés par le test Allplex GI-Virus Assay, soit 17,6% de co-infections virales. Cette valeur est cohérente, bien que probablement surestimée par les critères de sélection des échantillons, avec la proportion attendue de ces co-infections, équivalente à 10% des cas de gastro-entérites virales selon la Société Française de Microbiologie (96).

Nous avons mis en évidence une infection entérique virale parmi les 35 échantillons de selles issues de 23 patients allogreffés de CSH avec le test Allplex GI-Virus Assay. La majorité des prélèvements étaient recueillis au cours de la *pre-engraftment phase* qui ne constitue pas la période la

plus à risque d'infection virale. En 2023, les auteurs de l'étude rétrospective « *Norovirus and sapovirus infections after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation: is it worth it to look for them?* » visant à évaluer la distribution des entéropathogènes viraux chez des patients adultes allogreffés de CSH pris en charge en hématologie à la Pitié-Salpêtrière ont conclu que la recherche de ces 2 virus apparaissait comme particulièrement utile au cours de situations spécifiques telles qu'une diarrhée chronique de survenue tardive par rapport à la transplantation (une fois les autres causes de diarrhée exclues) ou en cas de symptômes persistants malgré un traitement approprié (32).

Aucun astrovirus n'a été détecté au cours de ce travail. Nous avons utilisé des échantillons de selles de patients immunocompétents qui avaient déjà été testés positifs pour un des trois virus entériques majeurs à l'aide du test Rida Quick, ce qui pourrait avoir limité la diversité des virus présents dans les échantillons analysés. Alors, il aurait été plus probable que la présence d'astrovirus dans les selles de ces patients fasse l'objet d'une co-détection virale en PCR car de telles co-infections ont été décrites (87,88). De plus, l'étude de Mageau *et al.*, citée au paragraphe précédent, n'a pas davantage permis de détecter d'astrovirus (32). Enfin, pour des raisons encore inconnues, les études utilisant une PCR multiplex incluant la détection des astrovirus ont tendance à montrer de plus faibles prévalences au cours des gastro-entérites (87).

L'adénovirus et le rotavirus ont pu être détectés à des valeurs de Ct très faibles (<10) contrairement aux norovirus GI/GII et aux sapovirus, ce qui a également été observé au cours d'une récente étude belge portant sur la distribution des valeurs de Ct obtenus à partir d'échantillons de selles analysés à l'aide du même panel PCR Allplex GI-Virus Assay (108).

2. Relations entre symptomatologie clinique et détection moléculaire

L'augmentation du nombre de pathogènes détectés et la sensibilité accrue des nouvelles techniques de détection du génome par (RT-)PCR en temps réel nous oblige à nous questionner quant à la significativité clinique d'un résultat positif en PCR. Les techniques de biologie moléculaire sont capables de détecter les virus entériques à des niveaux extrêmement faibles qui peuvent être soit la marque d'un portage asymptomatique à long terme et/ou intermittent, soit le témoin d'une infection symptomatique en lien avec le virus détecté, comme cela a été rapporté pour le norovirus chez les patients greffés rénaux (37). A titre d'exemple, la limite de détection du sapovirus (définie comme la plus faible concentration d'organismes pouvant être détectée de manière constante) par le test Allplex GI-Virus Assay est estimée par le fournisseur à 104 copies/microlitres.

Les panels multiplex PCR sont capables de semi-quantifier les agents infectieux recherchés par l'intermédiaire du Ct, ce qui n'est pas le cas pour les techniques conventionnelles. Dans ce contexte, plusieurs auteurs jugent nécessaires que soient déterminés des valeurs seuils de Ct permettant d'associer

efficacement l'infection à la maladie (6,105,108). Cela préjuge d'une relation franche entre la survenue des symptômes et la quantité de virus détectée dans les selles par les méthodes de biologie moléculaire. Or, cette relation fait débat. L'étude de Coste *et al.* publiée en 2013, comparant des méthodes de biologie moléculaire avec des méthodes conventionnelles de diagnostic microbiologique en contexte de diarrhée sévère survenant chez des patients transplantés rénaux, a montré des valeurs de Ct relativement proches pour la détection du norovirus entre le groupe malade et le groupe contrôle, contredisant l'hypothèse d'un lien entre une charge virale élevée et la prévalence des symptômes. Roddie *et al.* ont quant à eux rapporté des niveaux d'excrétion fécale élevés chez 11 patients allogreffés de CSH sur 12 pour lesquels un diagnostic de gastro-entérite à norovirus avait été posé. Ce diagnostic avait également été retenu par les auteurs chez un 12^{ème} patient malgré une faible charge virale détectée dans les selles car le norovirus était alors le seul entéropathogène détecté parmi ceux recherchés (33).

Le lien de causalité est parfois difficile à établir chez ces patients et un résultat positif doit être interprété en fonction des données clinico-biologiques. Par exemple, pour 3 des 9 patients allogreffés de CSH dont les selles diarrhéiques étaient positives à norovirus ou sapovirus, présentés au cours de l'étude de Mageau *et al.* en 2023, la responsabilité, dans la survenue des symptômes, du virus entérique détecté n'a finalement pas été retenue parce que d'autres échantillons de selles étaient revenus négatifs et/ou que l'évolution de la diarrhée était davantage en faveur d'une infection à *C. difficile* (32). Il est à noter que, dans le cadre de notre travail, seules des selles molles à liquides ont été collectées et les entéropathogènes viraux détectés pouvaient ainsi être considérés comme potentiellement responsables d'une infection symptomatique, en l'absence d'informations complémentaires sur la durée des symptômes, la présence de signes associés *etc.*

Le Ct pourrait permettre de suivre l'évolution de la quantité de virus dans les selles chez les patients atteints de diarrhée chronique, motivant un contrôle des selles au cours et à distance d'épisodes diarrhéiques afin de contrôler l'infection par l'adaptation des traitements immunosuppresseurs chez les patients immunodéprimés concernés (96). Ce suivi semble possible, en l'absence de standard international, à condition que la recherche virale par méthode de biologie moléculaire soit réalisée à l'aide de la même technique et dans le même laboratoire car chaque test PCR a ses propres performances diagnostiques et la prise en charge pré-analytique des prélèvements de selles peut varier en fonction du laboratoire (6). La standardisation de l'échantillonnage pour l'analyse PCR constitue un élément important à prédéfinir afin d'améliorer la justesse de ce résultat. L'entreprise bioMérieux a par exemple développé un système comprenant une cuillère pour aliquoter un volume constant de selles et un flacon contenant des billes en verre pour améliorer l'homogénéisation avant que ne soit réalisée l'extraction. Ce système a été évalué dans le cadre de l'utilisation d'une PCR quantitative destinée au diagnostic des infections à adénovirus et contribue à l'amélioration de la reproductibilité des résultats présentés dans l'étude de Feghoul *et al* (93).

Chez le patient immunocompétent, la Société Française de Microbiologie nous indique qu'un portage asymptomatique est également possible, induisant un risque de contamination, et qu'une

excrétion intermittente et/ou courte du virus entérique peut être responsable d'un résultat négatif. Cela justifie la répétition du prélèvement chez les patients suspects d'infection entérique virale, dans les situations où cette recherche est pertinente et impactante dans la prise en charge (96). La relation entre les résultats de PCR en temps réel et la survenue de symptômes cliniques a davantage été évaluée chez le sujet pédiatrique, bien que le nombre d'études sur le sujet reste limité. Corcoran *et al.* suggèrent qu'il est possible de différencier une infection symptomatique d'un portage asymptomatique par l'utilisation du Ct chez l'enfant, tout en rappelant que l'interprétation d'un résultat positif « faible » était sujette à controverse. Des valeurs seuil ont été proposées mais celles-ci sont très difficilement applicables d'un laboratoire à l'autre (6).

L'interprétation des résultats de PCR montrant une co-infection est difficile car il n'est pas possible de déterminer avec certitude quel agent infectieux est responsable des symptômes au moment où le prélèvement est effectué. Dans ce contexte, le Ct représente une aide à l'interprétation des co-détections, permet d'indiquer que tel virus prédomine au sein d'un même échantillon et d'en déduire qu'il serait plus probable que ce virus soit responsable de la symptomatologie (108).

C. Limites

La technique de PCR multiplex utilisée au cours de ce travail est orientée vers le diagnostic des gastro-entérites et détecte uniquement les génotypes 40 et 41 des adénovirus, selon les informations du fournisseur. Ce panel n'est pas adapté au suivi des infections à adénovirus chez le patient transplanté considéré à risque d'infection invasive car il cible seulement les principaux virus pouvant être mis en cause dans le cadre des gastro-entérites et exclut par conséquent de son spectre de détection l'ensemble des adénovirus. En effet, il n'est pas rare de détecter divers sérotypes d'adénovirus non-F chez l'immunodéprimé, comme en témoigne notre cas de détection d'un adénovirus d'espèce C chez un patient allogreffé de CSH. Toutefois, leur présence ne permet pas à elle seule d'affirmer le diagnostic étiologique de la diarrhée ce qui complexifie l'interprétation des résultats (27).

Nous cherchions, en sélectionnant l'ensemble des échantillons positifs en ICT sans que le statut immunitaire du patient ne rentre en compte dans ce choix, à pouvoir profiter d'un nombre suffisamment grand de prélèvements pourvus des analytes recherchés pour juger de la concordance entre les méthodes. La *Food and Drug Administration* (FDA) recommande d'accumuler un minimum de 30 résultats positifs (et 30 résultats négatifs) pour obtenir des estimations les plus fiables possibles de la concordance entre 2 techniques de diagnostic biologique. Néanmoins, le faible nombre d'échantillons positifs pour l'adénovirus et le norovirus obtenus au cours de ce travail explique les intervalles de confiance larges attribués aux PPA entre les deux méthodes comparées dans le cadre de la recherche de ces deux virus.

Les particules virales, contenues dans des selles conservées à -30°C durant plusieurs semaines avant d'être testées par PCR, ont pu être sujettes à dégradation du fait de leur congélation prolongée et de leur exposition à des cycles de congélation-décongélation. Il n'est donc pas exclu que les Ct obtenus au cours de ce travail aient pu être altérés par le mode de conservation des échantillons. Toutefois, une étude datant de 2022 a montré que la congélation d'échantillons de selles au domicile des patients n'affectait pas de manière significative la quantité de norovirus estimée par la mesure du Ct, en comparant les charges virales obtenues à partir de selles conservées selon différents modes de congélation, et jusqu'à 2 mois après le prélèvement (109).

D. Coût

Le coût réactif moyen d'une recherche de virus entériques dans les selles effectuée à partir du test Allplex GI-Virus est évalué à 23,59€ TTC (contre 6,72€ TTC pour le test Rida Quick Rota/Adeno/Noro Combi). Ce coût réactif moyen ne prend pas en compte les coûts indirects tels que les frais de personnel, les coûts de maintenance des équipements, et les infrastructures nécessaires pour effectuer les tests. Cette mesure doit être complétée avec d'autres analyses contextuelles pour obtenir une vision plus complète et précise des coûts associés à la réalisation de ces tests, notamment parce qu'à partir du moment où un pôle médico-technique met en place une nouvelle analyse, ce sont les pôles cliniques qui bénéficient de ce changement et qui comptabilisent les recettes. L'introduction d'une nouvelle technique au laboratoire est parfois associée à une augmentation des coûts en lien avec l'achat de nouveaux automates et/ou la formation du personnel. Néanmoins, le laboratoire de virologie du CHU de Poitiers est déjà doté des équipements requis comme en témoigne la réalisation en routine du panel Allplex GI-Bacteria(I) Assay par des techniciens qualifiés.

Les études médico-économiques françaises tardent à venir pour montrer l'intérêt des techniques multiplex dans la prise en charge des patients. Le manque de ces études participe à l'absence de remboursement de ces nouveaux tests par notre système de santé. La notion de coût-bénéfice est particulièrement importante mais il reste à déterminer comment le mesurer. L'apport de la biologie moléculaire est justifié au cours de situations diagnostiques complexes incluant le suivi d'infections entériques chez le patient immunodéprimé alors que le bénéfice lié à son utilisation est probablement plus faible chez le patient immunocompétent dont la prise en charge sera peu impactée par la précision du résultat et l'amplitude des virus recherchés.

E. Place dans la démarche diagnostique

La mise en place d'une technique d'approche syndromique impose de discuter avec les professionnels de santé concernés les règles de bonne prescription de cet examen. L'utilisation de ce panel doit-elle être limitée ou bien mise à la disposition de l'ensemble des patients ? Les patients immunodéprimés (transplantés d'organe solide, allogreffés de CSH, infectés par le VIH...), sujets à des

difficultés de diagnostic et à des diarrhées prolongées, sont parmi ceux qui doivent le plus profiter de l'utilisation du panel Allplex GI-Virus Assay. Il est souhaitable, notamment chez les patients transplantés, d'étendre le panel d'analyses à des virus moins fréquents (96). Cependant, il est licite d'user en première intention de techniques immunochromatographiques dites « triplex » (c'est-à-dire qui ne recherchent que les 3 principaux virus entériques : rotavirus, norovirus, adénovirus) dans le cadre du diagnostic d'une diarrhée virale chez des patients immunocompétents, consultant par exemple aux urgences pédiatriques pour des symptômes de gastro-entérite. En effet, la prise en charge des patients aux urgences ne doit pas être ralentie par le délai de rendu des résultats, avec par ailleurs des conséquences financières, et ce délai varie en fonction de la technique utilisée. Il est compris entre 4 et 8 heures pour l'analyse de biologie moléculaire alors qu'il n'est que de quelques minutes pour le test immunochromatographique. Evidemment, le flux de travail et la capacité du laboratoire influent grandement sur la réalisation des tests. Réalisé 7 jours/7 au CHU de Poitiers, le test Rida Quick semble adapté aux problématiques d'urgences diagnostiques et organisationnelles.

Dans ce contexte, le laboratoire de virologie du CHU de Poitiers prévoit d'introduire en routine ce nouveau panel multiplex de biologie moléculaire Allplex GI-Virus Assay, dès cette année. Une telle implémentation suggère une organisation définie en amont : le test sera réservé aux patients immunodéprimés et aux situations d'ininterprétabilité des résultats d'immunochromatographie.

V. Bibliographie

1. Diarrhoeal disease [Internet]. [cité 14 janv 2024]. Disponible sur: <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/diarrhoeal-disease>
2. DuPont HL. Acute Infectious Diarrhea in Immunocompetent Adults. *N Engl J Med.* 17 avr 2014;370(16):1532-40.
3. Van Cauteren D, De Valk H, Vaux S, Le Strat Y, Vaillant V. Burden of acute gastroenteritis and healthcare-seeking behaviour in France: a population-based study. *Epidemiol Infect.* avr 2012;140(4):697-705.
4. Musher DM. Contagious Acute Gastrointestinal Infections. *N Engl J Med.* 2004;
5. Rivière M, Baroux N, Bousquet V, Ambert-Balay K, Beaudreau P, Jourdan-Da Silva N, et al. Secular trends in incidence of acute gastroenteritis in general practice, France, 1991 to 2015. *Eurosurveillance* [Internet]. 14 déc 2017 [cité 5 oct 2023];22(50). Disponible sur: <https://www.eurosurveillance.org/content/10.2807/1560-7917.ES.2017.22.50.17-00121>
6. Corcoran MS, Van Well GTJ, Van Loo IHM. Diagnosis of viral gastroenteritis in children: interpretation of real-time PCR results and relation to clinical symptoms. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis.* oct 2014;33(10):1663-73.
7. Shane AL, Mody RK, Crump JA, Tarr PI, Steiner TS, Kotloff K, et al. 2017 Infectious Diseases Society of America Clinical Practice Guidelines for the Diagnosis and Management of Infectious Diarrhea. *Clin Infect Dis.* 29 nov 2017;65(12):e45-80.
8. Makimaa H, Ingle H, Baldrige MT. Enteric Viral Co-Infections: Pathogenesis and Perspective. *Viruses.* 18 août 2020;12(8):904.
9. Van Kraaij M, Dekker A, Verdonck L, Van Loon A, Vinjé J, Koopmans M, et al. Infectious gastroenteritis: an uncommon cause of diarrhoea in adult allogeneic and autologous stem cell transplant recipients. *Bone Marrow Transplant.* 1 août 2000;26(3):299-303.
10. Van Praet JT, Huysman A, De Knijf E, De Buyser S, Snauwaert S, Van Droogenbroeck J, et al. Infectious diarrhea after allogeneic hematopoietic cell transplantation assessed by a multiplex polymerase chain reaction assay. *Int J Infect Dis.* févr 2023;127:17-22.
11. Castillo Almeida NE, Cichon CJ, Gomez CA. How I approach diarrhea in hematological transplant patients: A practical tool. *Transpl Infect Dis.* nov 2023;25(S1):e14184.
12. Bennett JE, Dolin R, Blaser MJ, éditeurs. *Mandell, Douglas, and Bennett's principles and practice of infectious diseases.* Ninth edition. Philadelphia, PA: Elsevier; 2020. 1 p.
13. Loo VG, Bourgault AM, Poirier L, Lamothe F, Michaud S, Turgeon N, et al. Host and Pathogen Factors for *Clostridium difficile* Infection and Colonization. *N Engl J Med.* 3 nov 2011;365(18):1693-703.
14. Misch EA, Safdar N. Clostridioides difficile Infection in the Stem Cell Transplant and Hematologic Malignancy Population. *Infect Dis Clin North Am.* juin 2019;33(2):447-66.
15. Naymagon S, Naymagon L, Wong SY, Ko HM, Renteria A, Levine J, et al. Acute graft-versus-host disease of the gut: considerations for the gastroenterologist. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol.* déc 2017;14(12):711-26.

16. De Berranger E, Charbonnier A, Davy E, Dendonker C, Denis V, Desmier D, et al. Prise en charge de la GVH digestive aiguë : recommandations de la Société francophone de greffe de moelle et de thérapie cellulaire (SFGM-TC). *Bull Cancer (Paris)*. déc 2021;108(12):S30-8.
17. Baden LR, Bensing W, Angarone M, Casper C, Dubberke ER, Freifeld AG, et al. Prevention and Treatment of Cancer-Related Infections. *J Natl Compr Canc Netw*. 2012;10(11).
18. Non LR, Ince D. Infectious Gastroenteritis in Transplant Patients. *Gastroenterol Clin North Am*. juin 2021;50(2):415-30.
19. Ljungman P, De La Camara R, Robin C, Crocchiolo R, Einsele H, Hill JA, et al. Guidelines for the management of cytomegalovirus infection in patients with haematological malignancies and after stem cell transplantation from the 2017 European Conference on Infections in Leukaemia (ECIL 7). *Lancet Infect Dis*. août 2019;19(8):e260-72.
20. Hantz S, Moret L, Alain S. Prise en charge de l'infection à cytomégalo­virus en transplantation. *Rev Francoph Lab*. sept 2019;2019(515):36-43.
21. Ljungman P, Boeckh M, Hirsch HH, Josephson F, Lundgren J, Nichols G, et al. Definitions of Cytomegalovirus Infection and Disease in Transplant Patients for Use in Clinical Trials: Table 1. Snyderman DR, éditeur. *Clin Infect Dis*. 1 janv 2017;64(1):87-91.
22. Matthes-Martin S, Feuchtinger T, Shaw PJ, Engelhard D, Hirsch HH, Cordonnier C, et al. European guidelines for diagnosis and treatment of adenovirus infection in leukemia and stem cell transplantation: summary of ECIL -4 (2011). *Transpl Infect Dis*. déc 2012;14(6):555-63.
23. Babady NE. Laboratory Diagnosis of Infections in Cancer Patients: Challenges and Opportunities. Kraft CS, éditeur. *J Clin Microbiol*. nov 2016;54(11):2635-46.
24. Feghoul L, Chevret S, Cuinet A, Dalle JH, Ouachée M, Yacouben K, et al. Adenovirus infection and disease in paediatric haematopoietic stem cell transplant patients: clues for antiviral pre-emptive treatment. *Clin Microbiol Infect*. juill 2015;21(7):701-9.
25. Veltrop-Duits LA, Van Vreeswijk T, Heemskerk B, Thijssen JCP, El Seady R, Jol-van Der Zijde EM, et al. High Titers of Pre-existing Adenovirus Serotype-Specific Neutralizing Antibodies in the Host Predict Viral Reactivation After Allogeneic Stem Cell Transplantation in Children. *Clin Infect Dis*. 15 juin 2011;52(12):1405-13.
26. Feuchtinger T, Lang P, Handgretinger R. Adenovirus infection after allogeneic stem cell transplantation. *Leuk Lymphoma*. janv 2007;48(2):244-55.
27. Lion T. Adenovirus Infections in Immunocompetent and Immunocompromised Patients. *Clin Microbiol Rev*. juill 2014;27(3):441-62.
28. Salmons M, Feghoul L, Le Goff J. Les infections à adénovirus en transplantation. *Rev Francoph Lab*. sept 2019;2019(515):53-60.
29. Lion T, Kosulin K, Landlinger C, Rauch M, Preuner S, Jugovic D, et al. Monitoring of adenovirus load in stool by real-time PCR permits early detection of impending invasive infection in patients after allogeneic stem cell transplantation. *Leukemia*. avr 2010;24(4):706-14.
30. MacAllister TJ, Stednick Z, Golob JL, Huang ML, Pergam SA. Underutilization of norovirus testing in hematopoietic cell transplant recipients at a large cancer center. *Am J Infect Control*. janv 2018;46(1):100-2.

31. Schwartz S, Vergoulidou M, Schreier E, Loddenkemper C, Reinwald M, Schmidt-Hieber M, et al. Norovirus gastroenteritis causes severe and lethal complications after chemotherapy and hematopoietic stem cell transplantation. *Blood*. 2 juin 2011;117(22):5850-6.
32. Mageau A, Ambert-Balay K, Boutolleau D, Schuffenecker I, Burrel S, Kaplon J, et al. Norovirus and sapovirus infections after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation: is it worth it to look for them? *Leuk Lymphoma*. 7 juin 2023;64(7):1295-303.
33. Roddie C, Paul JPV, Benjamin R, Gallimore CI, Xerry J, Gray JJ, et al. Allogeneic Hematopoietic Stem Cell Transplantation and Norovirus Gastroenteritis: A Previously Unrecognized Cause of Morbidity. *Clin Infect Dis*. oct 2009;49(7):1061-8.
34. Saullo JL, Polage CR. Tackling Infectious Diarrhea in Hematopoietic Cell Transplantation. *Clin Infect Dis*. 23 oct 2020;71(7):1701-3.
35. Bunnapradist S, Neri L, Wong W, Lentine KL, Burroughs TE, Pinsky BW, et al. Incidence and Risk Factors for Diarrhea Following Kidney Transplantation and Association With Graft Loss and Mortality. *Am J Kidney Dis*. mars 2008;51(3):478-86.
36. Ekberg H, Kyllönen L, Madsen S, Grave G, Solbu D, Holdaas H. Increased Prevalence of Gastrointestinal Symptoms Associated with Impaired Quality of Life in Renal Transplant Recipients: Transplantation. *févr 2007;83(3):282-9.*
37. Schorn R, Höhne M, Meerbach A, Bossart W, Wüthrich RP, Schreier E, et al. Chronic Norovirus Infection after Kidney Transplantation: Molecular Evidence for Immune-Driven Viral Evolution. *Clin Infect Dis*. août 2010;51(3):307-14.
38. Roos-Weil D, Ambert-Balay K, Lanternier F, Mamzer-Bruneel MF, Nochy D, Pothier P, et al. Impact of Norovirus/Sapovirus-Related Diarrhea in Renal Transplant Recipients Hospitalized for Diarrhea. *Transplantation*. 15 juill 2011;92(1):61-9.
39. Coste JF, Vuiblet V, Moustapha B, Bouin A, Lavaud S, Toupance O, et al. Microbiological Diagnosis of Severe Diarrhea in Kidney Transplant Recipients by Use of Multiplex PCR Assays. *J Clin Microbiol*. juin 2013;51(6):1841-9.
40. Scemla A, Manda V. Épidémiologie des infections en transplantation rénale. *Néphrologie Thérapeutique*. avr 2019;15:S37-42.
41. Gras J, Abdel-Nabey M, Dupont A, Le Goff J, Molina JM, Peraldi MN. Clinical characteristics, risk factors and outcome of severe Norovirus infection in kidney transplant patients: a case-control study. *BMC Infect Dis*. déc 2021;21(1):351.
42. Aulagnon F, Scemla A, DeWolf S, Legendre C, Zuber J. Diarrhea After Kidney Transplantation: A New Look at a Frequent Symptom. *Transplantation*. 27 oct 2014;98(8):806.
43. Devresse A, Morin L, Aulagnon F, Taupin JL, Scemla A, Lanternier F, et al. Baseline graft status is a critical predictor of kidney graft failure after diarrhoea. *Nephrol Dial Transplant*. 1 sept 2019;34(9):1597-604.
44. Champion L, Durrbach A, Lang P, Delahousse M, Chauvet C, Sarfati C, et al. Fumagillin for Treatment of Intestinal Microsporidiosis in Renal Transplant Recipients. *Am J Transplant*. août 2010;10(8):1925-30.

45. Lanternier F, Amazzough K, Favennec L, Mamzer-Bruneel MF, Abdoul H, Turret J, et al. Cryptosporidium spp. Infection in Solid Organ Transplantation: The Nationwide “TRANSCRIPTO” Study. *Transplantation*. avr 2017;101(4):826-30.
46. Kotton CN, Kumar D, Caliendo AM, Åsberg A, Chou S, Danziger-Isakov L, et al. Updated International Consensus Guidelines on the Management of Cytomegalovirus in Solid-Organ Transplantation. *Transplantation*. 27 août 2013;96(4):333-60.
47. Arslan H, Inci EK, Azap OK, Karakayali H, Torgay A, Haberal M. Etiologic agents of diarrhea in solid organ recipients. *Transpl Infect Dis*. déc 2007;9(4):270-5.
48. Florescu MC, Miles CD, Florescu DF. What do we know about adenovirus in renal transplantation? *Nephrol Dial Transplant*. 1 août 2013;28(8):2003-10.
49. Watcharananan SP, Avery R, Ingsathit A, Malathum K, Chantratita W, Mavichak V, et al. Adenovirus Disease after Kidney Transplantation: Course of Infection and Outcome in Relation to Blood Viral Load and Immune Recovery. *Am J Transplant*. juin 2011;11(6):1308-14.
50. Florescu DF, Schaenman JM, on behalf of the AST Infectious Diseases Community of Practice. Adenovirus in solid organ transplant recipients: Guidelines from the American Society of Transplantation Infectious Diseases Community of Practice. *Clin Transplant*. sept 2019;33(9):e13527.
51. Bamias G. Early ileocolonoscopy with biopsy for the evaluation of persistent post-transplantation diarrhea. *World J Gastroenterol*. 2010;16(30):3834.
52. Knight SR, Russell NK, Barcena L, Morris PJ. Mycophenolate Mofetil Decreases Acute Rejection and may Improve Graft Survival in Renal Transplant Recipients When Compared with Azathioprine: A Systematic Review. *Transplantation*. 27 mars 2009;87(6):785-94.
53. Kamar N, Oufroukhi L, Faure P, Ribes D, Cointault O, Lavayssiere L, et al. Questionnaire-based evaluation of gastrointestinal disorders in de novo renal-transplant patients receiving either mycophenolate mofetil or enteric-coated mycophenolate sodium. *Nephrol Dial Transplant*. 1 oct 2005;20(10):2231-6.
54. Bossi P, Antonuzzo A, Cherny NI, Rosengarten O, Pernot S, Trippa F, et al. Diarrhoea in adult cancer patients: ESMO Clinical Practice Guidelines. *Ann Oncol*. oct 2018;29:iv126-42.
55. Logan C, Beadsworth MBJ, Beeching NJ. HIV and diarrhoea: what is new? *Curr Opin Infect Dis*. oct 2016;29(5):486-94.
56. Yang S, Li M, Cheng J, Wan G, Zhou Y, Jia H, et al. Diagnostic determination of *Norovirus* infection as one of the major causes of infectious diarrhea in HIV patients using a multiplex polymerase chain reaction assay. *Int J STD AIDS*. mai 2019;30(6):550-6.
57. Xiao F, Tang M, Zheng X, Liu Y, Li X, Shan H. Evidence for Gastrointestinal Infection of SARS-CoV-2. *Gastroenterology*. mai 2020;158(6):1831-1833.e3.
58. Water, sanitation, hygiene, and waste management for SARS-CoV-2, the virus that causes COVID-19 [Internet]. [cité 14 janv 2024]. Disponible sur: <https://www.who.int/publications/i/item/WHO-2019-nCoV-IPC-WASH-2020.4>
59. Legoff J, Resche-Rigon M, Bouquet J, Robin M, Naccache SN, Mercier-Delarue S, et al. The eukaryotic gut virome in hematopoietic stem cell transplantation: new clues in enteric graft-versus-host disease. *Nat Med*. sept 2017;23(9):1080-5.

60. Reuter G, Boros Á, Pankovics P. Kobuviruses – a comprehensive review. *Rev Med Virol.* janv 2011;21(1):32-41.
61. Goyer M, Aho LS, Bour JB, Ambert-Balay K, Pothier P. Seroprevalence distribution of Aichi virus among a French population in 2006–2007. *Arch Virol.* juin 2008;153(6):1171-4.
62. Ambert-Balay K, Lorrot M, Bon F, Giraudon H, Kaplon J, Wolfer M, et al. Prevalence and Genetic Diversity of Aichi Virus Strains in Stool Samples from Community and Hospitalized Patients. *J Clin Microbiol.* avr 2008;46(4):1252-8.
63. CNR virus entériques [Internet]. [cité 14 janv 2024]. Disponible sur: <https://www.cnr-ve.org/index000.html>
64. Atmar RL, Ramani S, Estes MK. Human noroviruses: recent advances in a 50-year history. *Curr Opin Infect Dis.* oct 2018;31(5):422-32.
65. Patel MM, Hall AJ, Vinjé J, Parashar UD. Noroviruses: A comprehensive review. *J Clin Virol.* janv 2009;44(1):1-8.
66. Glass RI, Estes MK. Norovirus Gastroenteritis. *N Engl J Med.* 2009;
67. Kroneman A, Verhoef L, Harris J, Vennema H, Duizer E, Van Duynhoven Y, et al. Analysis of Integrated Virological and Epidemiological Reports of Norovirus Outbreaks Collected within the Foodborne Viruses in Europe Network from 1 July 2001 to 30 June 2006. *J Clin Microbiol.* sept 2008;46(9):2959-65.
68. Atmar RL, Opekun AR, Gilger MA, Estes MK, Crawford SE, Neill FH, et al. Norwalk Virus Shedding after Experimental Human Infection. *Emerg Infect Dis.* oct 2008;14(10):1553-7.
69. TEUNIS PFM, SUKHRIE FHA, VENNEMA H, BOGERMAN J, BEERSMA MFC, KOOPMANS MPG. Shedding of norovirus in symptomatic and asymptomatic infections. *Epidemiol Infect.* juin 2015;143(8):1710-7.
70. Johnson PC, Mathewson JJ, DuPont HL, Greenberg HB. Multiple-Challenge Study of Host Susceptibility to Norwalk Gastroenteritis in US Adults. *J Infect Dis.* 1 janv 1990;161(1):18-21.
71. Lindesmith L, Moe C, Marionneau S, Ruvoen N, Jiang X, Lindblad L, et al. Human susceptibility and resistance to Norwalk virus infection. *Nat Med.* mai 2003;9(5):548-53.
72. Belliot G, Lopman BA, Ambert-Balay K, Pothier P. The burden of norovirus gastroenteritis: an important foodborne and healthcare-related infection. *Clin Microbiol Infect.* août 2014;20(8):724-30.
73. Cardemil CV, Parashar UD, Hall AJ. Norovirus Infection in Older Adults Epidemiology, Risk Factors, and Opportunities for Prevention and Control. *Infect Dis Clin North Am.* déc 2017;31(4):839-70.
74. Abbas A, Zimmer AJ, Florescu D. Viral Enteritis in Solid-Organ Transplantation. *Viruses.* 7 oct 2021;13(10):2019.
75. Green KY. Norovirus infection in immunocompromised hosts. *Clin Microbiol Infect.* août 2014;20(8):717-23.

76. Frange P, Touzot F, Debré M, Héritier S, Leruez-Ville M, Cros G, et al. Prevalence and Clinical Impact of Norovirus Fecal Shedding in Children with Inherited Immune Deficiencies. *J Infect Dis*. 15 oct 2012;206(8):1269-74.
77. Doshi M, Woodwell S, Kelleher K, Mangan K, Axelrod P. An outbreak of norovirus infection in a bone marrow transplant unit. *Am J Infect Control*. sept 2013;41(9):820-3.
78. Haessler S, Granowitz EV. Norovirus Gastroenteritis in Immunocompromised Patients. *N Engl J Med*. 7 mars 2013;368(10):971-971.
79. Oka T, Wang Q, Katayama K, Saif LJ. Comprehensive Review of Human Sapoviruses. *Clin Microbiol Rev*. janv 2015;28(1):32-53.
80. Rubio-Mora E, Carrascoso GR, Rodríguez JG. Sapovirus infection as another cause of persistent viral diarrhea: case series and review of the literature. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* [Internet]. 4 nov 2023 [cité 12 nov 2023]; Disponible sur: <https://doi.org/10.1007/s10096-023-04695-6>
81. Caddy S, Papa G, Borodavka A, Desselberger U. Rotavirus research: 2014–2020. *Virus Res*. oct 2021;304:198499.
82. Bergman H, Henschke N, Hungerford D, Pitan F, Ndwandwe D, Cunliffe N, et al. Vaccines for preventing rotavirus diarrhoea: vaccines in use. *Cochrane Database Syst Rev*. 17 nov 2021;2021(11):CD008521.
83. Huet F, Chouchane M, Cremillieux C, Aubert M, Caulin E, Pothier P, et al. Étude épidémiologique prospective de la gastroentérite à rotavirus en Europe (étude REVEAL). Résultats de la zone d'étude française. *Arch Pédiatrie*. avr 2008;15(4):362-74.
84. Lee LY, Ison MG. Diarrhea caused by viruses in transplant recipients. *Transpl Infect Dis*. juin 2014;16(3):347-58.
85. Lorrot M, Vasseur M. Physiopathologie de la diarrhée à rotavirus. *J Pédiatrie Puériculture*. déc 2007;20(8):330-6.
86. Donato C, Vijaykrishna D. The Broad Host Range and Genetic Diversity of Mammalian and Avian Astroviruses. *Viruses*. 10 mai 2017;9(5):102.
87. Vu DL, Bosch A, Pintó RM, Guix S. Epidemiology of Classic and Novel Human Astrovirus: Gastroenteritis and Beyond. *Viruses*. 18 févr 2017;9(2):33.
88. Bon F, Fascia P, Dauvergne M, Tenenbaum D, Planson H, Petion AM, et al. Prevalence of Group A Rotavirus, Human Calicivirus, Astrovirus, and Adenovirus Type 40 and 41 Infections among Children with Acute Gastroenteritis in Dijon, France. *J Clin Microbiol*. sept 1999;37(9):3055-8.
89. Arena C, Amoros JP, Vaillant V, Ambert-Balay K, Chikhi-Brachet R, Silva NJD, et al. Acute diarrhea in adults consulting a general practitioner in France during winter: incidence, clinical characteristics, management and risk factors. 2014;
90. Pérot P, Lecuit M, Eloit M. Astrovirus Diagnostics. *Viruses*. 13 janv 2017;9(1):10.
91. Brown JR, Morfopoulou S, Hubb J, Emmett WA, Ip W, Shah D, et al. Astrovirus VA1/HMO-C: An Increasingly Recognized Neurotropic Pathogen in Immunocompromised Patients. *Clin Infect Dis Off Publ Infect Dis Soc Am*. 15 mars 2015;60(6):881-8.

92. Tran A, Talmud D, Lejeune B, Jovenin N, Renois F, Payan C, et al. Prevalence of Rotavirus, Adenovirus, Norovirus, and Astrovirus Infections and Coinfections among Hospitalized Children in Northern France. *J Clin Microbiol.* mai 2010;48(5):1943-6.
93. Feghoul L, Salmona M, Cherot J, Fahd M, Dalle JH, Vachon C, et al. Evaluation of a New Device for Simplifying and Standardizing Stool Sample Preparation for Viral Molecular Testing with Limited Hands-On Time. *J Clin Microbiol.* avr 2016;54(4):928-33.
94. Hiwarkar P, Kosulin K, Cesaro S, Mikulska M, Styczynski J, Wynn R, et al. Management of adenovirus infection in patients after haematopoietic stem cell transplantation: State-of-the-art and real-life current approach: A position statement on behalf of the Infectious Diseases Working Party of the European Society of Blood and Marrow Transplantation. *Rev Med Virol.* mai 2018;28(3):e1980.
95. Angarone M, Snyderman DR, the AST ID Community of Practice. Diagnosis and management of diarrhea in solid-organ transplant recipients: Guidelines from the American Society of Transplantation Infectious Diseases Community of Practice. *Clin Transplant.* sept 2019;33(9):e13550.
96. Société Française de Microbiologie. *Référentiel de Microbiologie Médicale.* 7ème édition. Paris; 2022.
97. Brendish NJ, Beard KR, Malachira AK, Tanner AR, Sanga-Nyirongo L, Gwiggner M, et al. Clinical impact of syndromic molecular point-of-care testing for gastrointestinal pathogens in adults hospitalised with suspected gastroenteritis (GastroPOC): a pragmatic, open-label, randomised controlled trial. *Lancet Infect Dis.* août 2023;23(8):945-55.
98. Teunis PFM, Moe CL, Liu P, E. Miller S, Lindesmith L, Baric RS, et al. Norwalk virus: How infectious is it? *J Med Virol.* août 2008;80(8):1468-76.
99. Septfonds A. Surveillance des gastro-entérites aiguës en collectivités pour personnes âgées. Bilan national de cinq saisons de surveillance hivernale (novembre 2010-mai 2015).
100. Gaspard P, Pothier P, Roth C, Larocca S, Heck B, Ambert-Balay K. Viral prevalence and laboratory investigations of gastroenteritis in institutions for dependent people. *Médecine Mal Infect.* déc 2017;47(8):546-53.
101. Boutin CA, Callegari MA, Florescu DF, Nguyen MH, Kaul D, Avery RK, et al. 920. A Phase 2 Multi-Center, Prospective, Randomized, Double-Blind Study to Assess the Clinical and Antiviral Efficacy and Safety of Nitazoxanide for the Treatment of Norovirus in Hematopoietic Stem Cell and Solid Organ Transplant Recipients. *Open Forum Infect Dis.* 27 nov 2023;10(Supplement_2):ofad500.965.
102. Danino D, Hazan G, Mahajna R, Khalde F, Farraj L, Avni YS, et al. Implementing a multiplex-PCR test for the diagnosis of acute gastroenteritis in hospitalized children: Are all enteric viruses the same? *J Clin Virol.* oct 2023;167:105577.
103. Koczula KM, Gallotta A. Lateral flow assays. Estrela P, éditeur. *Essays Biochem.* 30 juin 2016;60(1):111-20.
104. Kaplon J, Théry L, Bidalot M, Grangier N, Frappier J, Aho Glélé LS, et al. Diagnostic Accuracy of Four Commercial Triplex Immunochromatographic Tests for Rapid Detection of Rotavirus, Adenovirus, and Norovirus in Human Stool Samples. Caliendo AM, éditeur. *J Clin Microbiol.* 17 déc 2020;59(1):e01749-20.

105. Binnicker MJ. Multiplex Molecular Panels for Diagnosis of Gastrointestinal Infection: Performance, Result Interpretation, and Cost-Effectiveness. Kraft CS, éditeur. *J Clin Microbiol.* déc 2015;53(12):3723-8.
106. Alejo-Cancho I, Avilés FF, Capón A, Rodríguez C, Barrachina J, Salvador P, et al. Evaluation of a multiplex panel for the diagnosis of acute infectious diarrhea in immunocompromised hematologic patients. *PLOS ONE.* 3 nov 2017;12(11):e0187458.
107. Esona MD, McDonald S, Kamili S, Kerin T, Gautam R, Bowen MD. Comparative evaluation of commercially available manual and automated nucleic acid extraction methods for rotavirus RNA detection in stools. *J Virol Methods.* déc 2013;194(1-2):242-9.
108. Bo Massa, Steven Vervaeke, Frederik Van Hoecke. Semi-quantitative assessment of gastrointestinal viruses in stool samples with Seegene Allplex gastrointestinal panel assays: a solution to the interpretation problem of multiple pathogen detection? (*European Journal of Clinical Microbiology&Infectious Diseases* (2024) 43:435–443).
109. Ison MG, Tan M, Daud A, Huang P, Jiang JX. Quantitative norovirus viral load is not affected by home storage of stool. *Transpl Infect Dis.* juin 2022;24(3):e13826.

Titre de Thèse :

Evaluation d'un panel de biologie moléculaire d'approche syndromique pour la recherche de virus entériques dans les selles chez des patients immunodéprimés et immunocompétents : comparaison de 2 méthodes de diagnostic microbiologique.

RESUME

L'avènement des techniques de biologie moléculaire a permis de mettre en exergue la responsabilité des virus entériques dans la survenue de diarrhées infectieuses chez le patient immunodéprimé. L'objectif de ce travail était d'évaluer la pertinence de l'utilisation d'une méthode PCR d'approche syndromique dans le cadre du diagnostic microbiologique d'une diarrhée infectieuse, en la comparant à un test d'immunochromatographie utilisé pour la détection de virus entériques à partir d'échantillons de selles recueillies de façon prospective & issues de patients immunodéprimés et non immunodéprimés.

183 échantillons de selles liquides ont été testés, issus de 155 patients dont 87 étaient considérés comme immunodéprimés. La comparaison des méthodes diagnostiques a permis de montrer une très bonne concordance entre le panel de PCR multiplex Allplex GI Virus Assay de Seegene et le test comparateur immunochromatographique Rida Quick pour la recherche des adénovirus 40/41 ($\kappa = 0.861$) et des rotavirus du groupe A ($\kappa = 0.957$) dans les selles, ainsi qu'une bonne concordance pour la détection des norovirus GI/GII ($\kappa = 0.614$). Les performances diagnostiques du test Allplex GI Virus Assay offrent la possibilité de mettre en évidence des infections qui étaient autrefois ignorées ou non recherchées telles que les infections à sapovirus ainsi que des co-infections pour laquelle le *Cycle Threshold* constitue une aide à l'interprétation des résultats.

MOTS-CLES

PCR, NOROVIRUS, IMMUNODEPRESSION, COMPARAISON DE METHODES, CYCLE THRESHOLD

SERMENT



En présence des Maîtres de cette école, de mes chers condisciples et devant l'effigie d'Hippocrate, je promets et je jure d'être fidèle aux lois de l'honneur et de la probité dans l'exercice de la médecine. Je donnerai mes soins gratuits à l'indigent et n'exigerai jamais un salaire au-dessus de mon travail. Admis dans l'intérieur des maisons mes yeux ne verront pas ce qui s'y passe ; ma langue taira les secrets qui me seront confiés, et mon état ne servira pas à corrompre les mœurs ni à favoriser le crime. Respectueux et reconnaissant envers mes Maîtres, je rendrai à leurs enfants l'instruction que j'ai reçue de leurs pères.

Que les hommes m'accordent leur estime si je suis fidèle à mes promesses!
Que je sois couvert d'opprobre et méprisé de mes confrères si j'y manque !



Titre de Thèse :

Evaluation d'un panel de biologie moléculaire d'approche syndromique pour la recherche de virus entériques dans les selles chez des patients immunodéprimés et immunocompétents : comparaison de 2 méthodes de diagnostic microbiologique.

RESUME

L'avènement des techniques de biologie moléculaire a permis de mettre en exergue la responsabilité des virus entériques dans la survenue de diarrhées infectieuses chez le patient immunodéprimé. L'objectif de ce travail était d'évaluer la pertinence de l'utilisation d'une méthode PCR d'approche syndromique dans le cadre du diagnostic microbiologique d'une diarrhée infectieuse, en la comparant à un test d'immunochromatographie utilisé pour la détection de virus entériques à partir d'échantillons de selles recueillies de façon prospective & issues de patients immunodéprimés et non immunodéprimés.

183 échantillons de selles liquides ont été testés, issus de 155 patients dont 87 étaient considérés comme immunodéprimés. La comparaison des méthodes diagnostiques a permis de montrer une très bonne concordance entre le panel de PCR multiplex Allplex GI Virus Assay de Seegene et le test comparateur immunochromatographique Rida Quick pour la recherche des adénovirus 40/41 ($\kappa = 0.861$) et des rotavirus du groupe A ($\kappa = 0.957$) dans les selles, ainsi qu'une bonne concordance pour la détection des norovirus GI/GII ($\kappa = 0.614$). Les performances diagnostiques du test Allplex GI Virus Assay offrent la possibilité de mettre en évidence des infections qui étaient autrefois ignorées ou non recherchées telles que les infections à sapovirus ainsi que des co-infections pour laquelle le *Cycle Threshold* constitue une aide à l'interprétation des résultats.

MOTS-CLES

PCR, NOROVIRUS, IMMUNODEPRESSION, COMPARAISON DE METHODES, CYCLE THRESHOLD