

**MEMOIRE
POUR LE DIPLOME D'ETUDES SPECIALISEES
DE BIOLOGIE MEDICALE**

**Soutenu publiquement le 4 octobre 2018
Par M. HILMOINE Antoine**

**Conformément aux dispositions du Décret du 10 septembre 1990
Tient lieu de**

THESE EN VUE DU DIPLOME D'ETAT DE DOCTEUR EN PHARMACIE

**Apport de l'approche syndromique dans la prise en charge des diarrhées
aigües communautaires en pédiatrie.
Evaluation du panel Gastro-Intestinal FilmArray®**

Membres du jury :

Président : Madame le Docteur Anne GOFFARD, MCU-PH, CHRU Lille

Assesseur(s) : Madame le Professeur Karine FAURE, PU-PH, CHRU Lille

Madame le Docteur Anne MARTINET, PH, CH Béthune

Monsieur le Docteur Christian CATTOEN, PH, CH Valenciennes

Directeur : Madame le Docteur Dominique DESCAMPS, PH, CH Béthune

**MEMOIRE
POUR LE DIPLOME D'ETUDES SPECIALISEES
DE BIOLOGIE MEDICALE**

**Soutenu publiquement le 4 octobre 2018
Par M. HILMOINE Antoine**

**Conformément aux dispositions du Décret du 10 septembre 1990
Tient lieu de**

THESE EN VUE DU DIPLOME D'ETAT DE DOCTEUR EN PHARMACIE

**Apport de l'approche syndromique dans la prise en charge des diarrhées
aigües communautaires en pédiatrie.
Evaluation du panel Gastro-Intestinal FilmArray®**

Membres du jury :

Président : Madame le Docteur Anne GOFFARD, MCU-PH CHRU Lille

Assesseur(s) : Madame le Professeur Karine FAURE, PU-PH, CHRU Lille

Madame le Docteur Anne MARTINET, PH, CH Béthune

Monsieur le Docteur Christian CATTOEN, PH, CH Valenciennes

Directeur : Madame le Docteur Dominique DESCAMPS, CH Béthune



Faculté de Pharmacie de Lille



3, rue du Professeur Laguesse - B.P. 83 - 59006 LILLE CEDEX

☎ 03.20.96.40.40 - 📠 : 03.20.96.43.64

<http://pharmacie.univ-lille2.fr>

Université de Lille

Président :	Jean-Christophe CAMART
Premier Vice-président :	Damien CUNY
Vice-présidente Formation :	Lynne FRANJIÉ
Vice-président Recherche :	Lionel MONTAGNE
Vice-président Relations Internationales :	François-Olivier SEYS
Directeur Général des Services :	Pierre-Marie ROBERT
Directrice Générale des Services Adjointe :	Marie-Dominique SAVINA

Faculté de Pharmacie

Doyen :	Bertrand DÉCAUDIN
Vice-Doyen et Assesseur à la Recherche :	Patricia MELNYK
Assesseur aux Relations Internationales :	Philippe CHAVATTE
Assesseur à la Vie de la Faculté et aux Relations avec le Monde Professionnel :	Thomas MORGENROTH
Assesseur à la Pédagogie :	Benjamin BERTIN
Assesseur à la Scolarité :	Christophe BOCHU
Responsable des Services :	Cyrille PORTA

Liste des Professeurs des Universités - Praticiens Hospitaliers

Civ.	NOM	Prénom	Laboratoire
Mme	ALLORGE	Delphine	Toxicologie
M.	BROUSSEAU	Thierry	Biochimie
M.	DÉCAUDIN	Bertrand	Pharmacie Galénique
M.	DEPREUX	Patrick	ICPAL
M.	DINE	Thierry	Pharmacie clinique
Mme	DUPONT-PRADO	Annabelle	Hématologie
M.	GRESSIER	Bernard	Pharmacologie
M.	LUYCKX	Michel	Pharmacie clinique
M.	ODOU	Pascal	Pharmacie Galénique
M.	STAELS	Bart	Biologie Cellulaire

Liste des Professeurs des Universités

Civ.	NOM	Prénom	Laboratoire
M.	ALIOUAT	El Moukhtar	Parasitologie
Mme	AZAROUAL	Nathalie	Physique
M.	BERTHELOT	Pascal	Onco et Neurochimie
M.	CAZIN	Jean-Louis	Pharmacologie – Pharmacie clinique
M.	CHAVATTE	Philippe	ICPAL
M.	COURTECUISSÉ	Régis	Sciences végétales et fongiques
M.	CUNY	Damien	Sciences végétales et fongiques
Mme	DELBAERE	Stéphanie	Physique
M.	DEPREZ	Benoît	Lab. de Médicaments et Molécules
Mme	DEPREZ	Rebecca	Lab. de Médicaments et Molécules
M.	DUPONT	Frédéric	Sciences végétales et fongiques
M.	DURIEZ	Patrick	Physiologie

M.	FOLIGNE	Benoît	Bactériologie
M.	GARÇON	Guillaume	Toxicologie
Mme	GAYOT	Anne	Pharmacotechnie Industrielle
M.	GOOSSENS	Jean François	Chimie Analytique
M.	HENNEBELLE	Thierry	Pharmacognosie
M.	LEMDANI	Mohamed	Biomathématiques
Mme	LESTAVEL	Sophie	Biologie Cellulaire
M.	LUC	Gerald	Physiologie
Mme	MELNYK	Patricia	Onco et Neurochimie
M.	MILLET	Régis	ICPAL
Mme	MUHR – TAILLEUX	Anne	Biochimie
Mme	PAUMELLE-LESTRELIN	Réjane	Biologie Cellulaire
Mme	PERROY	Anne Catherine	Législation
Mme	ROMOND	Marie Bénédicte	Bactériologie
Mme	SAHPAZ	Sevser	Pharmacognosie
M.	SERGHERAERT	Eric	Législation
Mme	SIEPMANN	Florence	Pharmacotechnie Industrielle
M.	SIEPMANN	Juergen	Pharmacotechnie Industrielle
M.	WILLAND	Nicolas	Lab. de Médicaments et Molécules

Liste des Maîtres de Conférences - Praticiens Hospitaliers

Civ.	NOM	Prénom	Laboratoire
Mme	BALDUYCK	Malika	Biochimie
Mme	GARAT	Anne	Toxicologie
Mme	GOFFARD	Anne	Bactériologie
M.	LANNOY	Damien	Pharmacie Galénique
Mme	ODOU	Marie Françoise	Bactériologie
M.	SIMON	Nicolas	Pharmacie Galénique

Liste des Maîtres de Conférences

Civ.	NOM	Prénom	Laboratoire
Mme	ALIOUAT	Cécile Marie	Parasitologie
M.	ANTHERIEU	Sébastien	Toxicologie
Mme	AUMERCIER	Pierrette	Biochimie
Mme	BANTUBUNGI	Kadiombo	Biologie cellulaire
Mme	BARTHELEMY	Christine	Pharmacie Galénique
Mme	BEHRA	Josette	Bactériologie
M	BELARBI	Karim	Pharmacologie
M.	BERTHET	Jérôme	Physique
M.	BERTIN	Benjamin	Immunologie
M.	BLANCHEMAIN	Nicolas	Pharmacotechnie industrielle
M.	BOCHU	Christophe	Physique
M.	BORDAGE	Simon	Pharmacognosie
M.	BOSC	Damien	Lab. de Médicaments et Molécules
M.	BRIAND	Olivier	Biochimie
M.	CARNOY	Christophe	Immunologie
Mme	CARON	Sandrine	Biologie cellulaire
Mme	CHABÉ	Magali	Parasitologie
Mme	CHARTON	Julie	Lab. de Médicaments et Molécules
M	CHEVALIER	Dany	Toxicologie
M.	COCHELARD	Dominique	Biomathématiques
Mme	DANEL	Cécile	Chimie Analytique
Mme	DEMANCHE	Christine	Parasitologie
Mme	DEMARQUILLY	Catherine	Biomathématiques
M.	DHIFLI	Wajdi	Biomathématiques
Mme	DUMONT	Julie	Biologie cellulaire

Mme	DUTOUT-AGOURIDAS	Laurence	Onco et Neurochimie
M.	EL BAKALI	Jamal	Onco et Neurochimie
M.	FARCE	Amaury	ICPAL
Mme	FLIPO	Marion	Lab. de Médicaments et Molécules
Mme	FOULON	Catherine	Chimie Analytique
M.	FURMAN	Christophe	ICPAL
Mme	GENAY	Stéphanie	Pharmacie Galénique
M.	GERVOIS	Philippe	Biochimie
Mme	GOOSSENS	Laurence	ICPAL
Mme	GRAVE	Béatrice	Toxicologie
Mme	GROSS	Barbara	Biochimie
M.	HAMONIER	Julien	Biomathématiques
Mme	HAMOUDI	Chérifa Mounira	Pharmacotechnie industrielle
Mme	HANNOTHIAUX	Marie-Hélène	Toxicologie
Mme	HELLEBOID	Audrey	Physiologie
M.	HERMANN	Emmanuel	Immunologie
M.	KAMBIA	Kpakpaga Nicolas	Pharmacologie
M.	KARROUT	Youness	Pharmacotechnie Industrielle
Mme	LALLOYER	Fanny	Biochimie
M.	LEBEGUE	Nicolas	Onco et Neurochimie
Mme	LECOEUR	Marie	Chimie Analytique
Mme	LEHMANN	Hélène	Législation
Mme	LELEU-CHAVAIN	Natascha	ICPAL
Mme	LIPKA	Emmanuelle	Chimie Analytique
Mme	MARTIN	Françoise	Physiologie
M.	MOREAU	Pierre Arthur	Sciences végétales et fongiques
M.	MORGENROTH	Thomas	Législation
Mme	MUSCHERT	Susanne	Pharmacotechnie industrielle

Mme	NIKASINOVIC	Lydia	Toxicologie
Mme	PINÇON	Claire	Biomathématiques
M.	PIVA	Frank	Biochimie
Mme	PLATEL	Anne	Toxicologie
M.	POURCET	Benoît	Biochimie
M.	RAVAUX	Pierre	Biomathématiques
Mme	RAVEZ	Séverine	Onco et Neurochimie
Mme	RIVIERE	Céline	Pharmacognosie
Mme	ROGER	Nadine	Immunologie
M.	ROUMY	Vincent	Pharmacognosie
Mme	SEBTI	Yasmine	Biochimie
Mme	SINGER	Elisabeth	Bactériologie
Mme	STANDAERT	Annie	Parasitologie
M.	TAGZIRT	Madjid	Hématologie
M.	VILLEMAGNE	Baptiste	Lab. de Médicaments et Molécules
M.	WELTI	Stéphane	Sciences végétales et fongiques
M.	YOUS	Saïd	Onco et Neurochimie
M.	ZITOUNI	Djamel	Biomathématiques

Professeurs Certifiés

Civ.	NOM	Prénom	Laboratoire
M.	HUGES	Dominique	Anglais
Mlle	FAUQUANT	Soline	Anglais
M.	OSTYN	Gaël	Anglais

Professeur Associé - mi-temps

Civ.	NOM	Prénom	Laboratoire
M.	DAO PHAN	Hai Pascal	Lab. Médicaments et Molécules
M.	DHANANI	Alban	Droit et Economie Pharmaceutique

Maîtres de Conférences ASSOCIES - mi-temps

Civ.	NOM	Prénom	Laboratoire
M.	BRICOTEAU	Didier	Biomathématiques
Mme	CUCCHI	Malgorzata	Biomathématiques
M.	FRIMAT	Bruno	Pharmacie Clinique
M.	GILLOT	François	Droit et Economie pharmaceutique
M.	MASCAUT	Daniel	Pharmacie Clinique
M.	ZANETTI	Sébastien	Biomathématiques
M.	BRICOTEAU	Didier	Biomathématiques

AHU

Civ.	NOM	Prénom	Laboratoire
Mme	DEMARET	Julie	Immunologie
Mme	HENRY	Héloïse	Biopharmacie
Mme	MASSE	Morgane	Biopharmacie

Faculté de Pharmacie de Lille

3, rue du Professeur Laguesse - B.P. 83 - 59006 LILLE CEDEX

Tel. : 03.20.96.40.40 - Télécopie : 03.20.96.43.64

<http://pharmacie.univ-lille2.fr>

L'Université n'entend donner aucune approbation aux opinions émises dans les thèses ; celles-ci sont propres à leurs auteurs.

Remerciements

A ma présidente de jury :

Madame le Docteur Anne GOFFARD

*Maître de conférence des universités – Praticien hospitalier
Faculté de pharmacie de Lille – CHRU de Lille*

Vous me faites l'honneur de présider le jury de cette thèse et je vous en remercie. Je tiens également à vous remercier pour votre implication et la qualité de vos enseignements durant l'ensemble du cursus des études pharmaceutiques. Veuillez trouver ici, le témoignage de ma reconnaissance et de mon profond respect.

A ma directrice de thèse :

Madame le Docteur Dominique DESCAMPS

*Praticien hospitalier
Chef de service du laboratoire de biologie médicale, CH de Béthune*

Vous m'avez fait l'honneur d'accepter d'encadrer cette thèse. Je vous remercie de la confiance que vous m'avez accordée et de votre implication dans la réalisation de ce travail. Votre professionnalisme et votre dynamisme m'ont beaucoup appris durant mon stage d'interne au sein de votre service. Veuillez trouver ici, l'expression de mes sentiments les plus sincères.

A mes juges :

Madame le Professeur Karine FAURE

*Professeur des universités – Praticien hospitalier
Faculté de médecine de Lille – Chef du Service des maladies infectieuses, CHRU de
Lille*

Je vous remercie d'avoir accepté d'évaluer cette thèse et de l'intérêt porté à ce travail. Recevez ici le témoignage de toute ma gratitude et de mon profond respect.

Monsieur le Docteur Christian CATTOEN

*Praticien hospitalier
Chef de service du laboratoire de microbiologie, CH de Valenciennes*

Je vous remercie d'avoir accepté de juger ce travail. Je suis honoré de votre présence dans ce jury. Soyez assuré de ma sincère reconnaissance.

Madame le Docteur Anne MARTINET

*Praticien hospitalier
Chef de service de pédiatrie, CH de Béthune*

Je tiens à vous remercier pour votre disponibilité, votre implication et pour la mobilisation de l'ensemble de votre équipe, sans qui ce travail n'aurait pu voir le jour. Je vous en suis profondément reconnaissant.

Un grand merci également,

A l'équipe de biologistes du Centre Hospitalier de Béthune, pour m'avoir permis de réaliser ce travail, qui a parfois occupé une bonne partie de mon temps.

A l'ensemble des techniciens du Centre Hospitalier de Béthune, en particulier ceux du laboratoire de microbiologie. Votre participation et l'enthousiasme dont vous avez fait preuve m'a beaucoup touché, ce travail n'aurait pas été possible sans votre aide.

Au laboratoire Biomérieux pour la mise à disposition de l'automate et merci en particulier à Mme Martina Hnatova et M. Cédric Delaire pour l'aide apportée à la réalisation de cette étude.

A mes co-internes, en particulier Claire, Marie, Julien et Maxime pour tous ces bons moments passés ces quatre dernières années.

A Justine mon épouse, tu m'as toujours épaulé depuis le début de mes études, ton soutien et tes encouragements m'ont permis d'arriver où j'en suis aujourd'hui. Tes attentions quotidiennes et ta joie de vivre ont embelli toutes ces années et embelliront les années à venir. Merci pour l'amour que tu m'apportes chaque jour, je t'aime.

A mes parents, pour m'avoir permis de réaliser ces études, pour votre soutien et vos encouragements durant toutes ces années.

A ma sœur, pour tes encouragements, ton écoute et tes nombreux conseils mais aussi pour tous ces bons moments passés depuis des années.

A ma famille, même si l'éloignement nous empêche de nous voir autant qu'on le souhaiterait, votre soutien m'a beaucoup apporté durant l'ensemble de mes études.

A ma belle-famille qui suit ma progression et m'encourage depuis ma première année.

A mes amis, Ben et Claire, Kiki et Isa, Juju et Lulu, James et Stéphanie, Rodrigue et Dorothée, Ch'Cous et Marie, Roucas, Ben De Se, Gui et Ju, Boule et Cécile, Nico et Lucie, Louchart et Mathilde, Gonzague de où tu es. Merci pour tous ces bons moments passés et d'avance pour ceux à venir, ces fous rires, ces fêtes mémorables, ces soirées interminables. Vous m'avez toujours encouragé et surtout, vous avez toujours su faire retomber la pression. Votre présence est indispensable à mon équilibre.

Liste des abréviations

GEA : Gastro-entérite aiguë

ETEC : Escherichia coli entéro-toxinogène

EPEC : Escherichia coli entéro-pathogène

EAEC : Escherichia coli entéro-agrégatif

EHEC : Escherichia coli entéro-hémorragique

STEC : Escherichia coli producteur de shiga-toxine

EIEC : Escherichia coli entéro-invasif

AMPc : Adénosine monophosphate cyclique

GMPc : Guanosine monophosphate cyclique

ESPGHAN : European Society for Pediatric Gastroenterology, Hepatology And Nutrition

ESPID : European Society for Pediatric Infectious Diseases

GFHGNP : Groupe Francophone d'Hépto-Gastroentérologie et Nutrition Pédiatrique

OMS : Organisation Mondiale de la Santé

CDC : Center for Disease Control

PCR : Polymerase Chain Reaction

SGLT1 : Sodium-Dependent Glucose Transporter 1

RGO : Reflux Gastro-Oesophagien

GI : Gastro-intestinal

FFU : Focus Forming Units

TCID : Tissue Culture Infectious Dose

ICD : Infection à *Clostridium difficile*

PCC : Précautions complémentaires contact

SFP : Société Française de Pédiatrie

SIL : Système de gestion de l'Information du Laboratoire

Liste des tableaux / figures

Figure n° 1 : Incidences et taux d'incidence des cas de diarrhées aiguës (p 22)

Figure n°2 : Distribution des cas selon une demande d'hospitalisation ou non en fonction de l'âge (p 22)

Figure n°3 : Taux d'incidence national de diarrhées aiguës et seuil épidémique (p 23)

Figure n°4 : Evolution des taux d'incidence hebdomadaires des cas de diarrhées aiguës par saison épidémique depuis 1990 (p 23)

Tableau n°1 : Principaux agents responsables de GEA et caractéristiques cliniques (p 40)

Figure n°5 : Différents mécanismes de pathogénicité du rotavirus (p 42)

Figure n°6 : Mécanisme d'action classique des toxines d'ETEC (p 43)

Tableau n°2 : Tableau d'évaluation de l'état d'hydratation (p 46)

Figure n°7 : Echelle de Bristol (p 50)

Tableau n°3 : Traitements antibiotiques / antiparasitaires des GEA (p 59)

Figure n°8 : Préparation d'une cassette FilmArray® (p 61)

Figure n°9a : Représentations schématique et réelle d'une cassette FilmArray® et des étapes se déroulant lors de l'analyse (p 63)

Figure n°9b : Représentation des dérivés des 3 courbes de fusion pour 2 cibles différentes (p 64)

Figure n°10 : Prise en charge des coprocultures standard au CHB (p 73)

Tableau n°4 : Sensibilités et spécificités des techniques conventionnelles utilisées au laboratoire (p 74)

Tableau n°5 : Sensibilités et spécificités du panel GI FilmArray® (p 75)

Figure n°11 : Représentation de la distribution des âges en fonction de la période d'inclusion (p 78)

Tableau n°6 : Caractéristiques démographiques des patients inclus dans l'étude (p 78)

Tableau n°7 : Synthèse des pathogènes détectés par chaque technique (p 81)

Figure n°12 : Histogramme comparatif des pathogènes détectés par chaque technique (p 83)

Tableau n°8 : Synthèse des taux de positivité obtenus par chaque technique (p 83)

Tableau n°9 : Proportions de co-infections et détail du nombre de pathogènes détectés par échantillon durant la phase 1, grâce au panel GI FilmArray® (p 84)

Tableau n°10 : Détail des associations par famille de pathogènes détectés par FilmArray® (p 84)

Figure n°13a : Histogramme des fréquences de détection seul ou en co-infection de chaque pathogène par le panel GI FilmArray® (p 84)

Figure n°13b : Détail des associations de pathogènes retrouvés en co-infection par le panel Gi FilmArray® (p 85)

Tableau n°11 : Résultats des tests de confirmation / vérification des analyses discordantes ou non vérifiables (p 86)

Figure n°14 : Phase 1 : comparaison des résultats obtenus par chaque technique en fonction du contexte clinique (p 88)

Figure n°15 : Histogramme des fréquences de détection seul ou en association de chaque pathogène durant la phase 2 (p 89)

Tableau n°12 : Synthèse des agents pathogènes détectés durant la phase 2 (p 90)

Figure n°16 : Phase 2 : Synthèse des résultats obtenus en fonctions de l'hypothèse diagnostique (p 92)

Figure n°17 : Représentation des délais de rendu des différentes techniques (p 93)

Figure n° 18 : Diagrammes représentant les proportions de patients sortant avant / après que le clinicien n'ait eu connaissance du résultat en fonction des techniques utilisées (p 94)

Figure n°19 : Impact du résultat FilmArray® sur les précautions complémentaires (p 94)

Figure n°20 : Taux de détection de chaque pathogène (p 94)

Tableau n°13 : Synthèse des résultats obtenus sur l'ensemble de l'étude par le panel GI FilmArray® (p 96)

Figure n°21 : Histogramme des fréquences de détection seul ou en association de chaque agent pathogène détecté durant l'étude (p 98)

Tableau n° 14 : Proportion de co-infections et nombre de pathogènes détectés par échantillon sur la totalité de l'étude (p 98)

Tableau n°15 : Détail des associations retrouvées sur la totalité de l'étude par famille de pathogènes (p 98)

SOMMAIRE

INTRODUCTION	17
GENERALITES	21
1. LES GASTRO-ENTERITES AIGUËS COMMUNAUTAIRES EN PEDIATRIE.....	22
a. Définition.....	22
b. Epidémiologie.....	22
c. Etiologies des GEA communautaires en pédiatrie	24
i. Les virus.....	25
ii. Les bactéries.....	29
iii. Les parasites.....	38
d. Physiopathologie et aspects cliniques	42
i. Syndrome cholériforme.....	42
ii. Mécanisme entéro-invasif	44
e. Complications et évaluation de la sévérité	45
f. Diagnostic clinique.....	49
g. Diagnostic biologique.....	50
h. Prise en charge et traitements	55
2. APPROCHE SYNDROMIQUE PAR LE PANEL GI FILMARRAY®.....	60
a. Préparation de la cassette	61
b. Principe de l'analyse.....	61
MATERIELS ET METHODES	65
1. MODALITES DE L'ETUDE.....	66
a. Sélection des échantillons.....	66
b. Conservation des échantillons.....	66
c. Phase 1 : FilmArray® vs méthodes conventionnelles (étude non interventionnelle)	67
d. Analyse des discordances (phase 1)	67
e. Phase 2 : Evaluation de l'impact clinique (étude interventionnelle).....	68
f. Détection des toxines de Clostridium difficile	69
2. RECUEIL DES DONNEES	69
3. TECHNIQUES D'ANALYSE DES ECHANTILLONS	70
a. Méthodes conventionnelles (phase 1).....	70
i. Coproculture standard	70
ii. Recherche d'antigènes viraux	74
iii. Examen parasitologique des selles	74
b. FilmArray® (phases 1 et 2).....	74
RESULTATS	77
1. CARACTERISTIQUES DEMOGRAPHIQUES	78
2. PHASE 1 : COMPARAISON METHODES CONVENTIONNELLES VS PANEL GI FILMARRAY®	79
a. Méthodes conventionnelles (examens prescrits).....	79
b. Méthodes conventionnelles (tests de vérification inclus).....	79
c. Résultats du panel GI FilmArray®.....	80
d. Analyse comparative des techniques	82
e. Détection des co-infections.....	83
f. Analyse des résultats discordants ou non vérifiables	85
g. Analyse des performances diagnostiques	87
3. PHASE 2 : IMPACT CLINIQUE ET THERAPEUTIQUE	89

a.	<i>Résultats du panel GI FilmArray®</i>	89
b.	<i>Evaluation de l'impact diagnostique</i>	90
c.	<i>Impact sur le délai de rendu de résultat</i>	93
d.	<i>Les précautions complémentaires</i>	94
e.	<i>Impact sur la mise en place de traitements anti-infectieux</i>	94
4.	EPIDEMIOLOGIE DES GEA AU CENTRE HOSPITALIER DE BETHUNE	95
a.	<i>Taux de positivité</i>	95
b.	<i>Co-infections</i>	97
	DISCUSSION	99
1.	ANALYSE COMPARATIVE : FILMARRAY® VS METHODES CONVENTIONNELLES	100
a.	<i>Taux de positivité</i>	100
b.	<i>Evaluation des performances diagnostiques</i>	101
2.	EPIDEMIOLOGIE DES GEA AU CENTRE HOSPITALIER DE BETHUNE	103
3.	CAS DES <i>E. COLI</i> DIARRHEGENIQUES.....	105
a.	<i>STEC</i>	106
b.	<i>EPEC</i>	106
c.	<i>EAEC</i>	107
4.	LE PORTAGE ASYMPTOMATIQUE.....	107
5.	<i>CLOSTRIDIUM DIFFICILE</i> CHEZ L'ENFANT	108
6.	IMPACT SUR LA PRISE EN CHARGE CLINIQUE.....	110
a.	<i>Impact sur le diagnostic</i>	110
b.	<i>Impact sur le délai de rendu de résultat</i>	111
c.	<i>Traitements anti-infectieux</i>	113
d.	<i>Observation sur les précautions complémentaires</i>	115
7.	CONCLUSION	115
	ANNEXES	119
	BIBLIOGRAPHIE	123

INTRODUCTION

Les diarrhées aiguës infectieuses constituent chez l'enfant, un problème mondial de santé publique. Elles sont responsables d'une morbidité importante dans les pays développés et sont encore une cause majeure de mortalité chez les enfants de moins de 5 ans dans les pays en développement. L'OMS estime que les diarrhées aiguës sont responsables d'environ 520 000 décès d'enfants de moins de 5 ans par an (2). En France, la mortalité liée aux diarrhées aiguës est aujourd'hui extrêmement faible, mais cette pathologie demeure responsable de nombreuses consultations et hospitalisations. Selon les données de l'InVS et du réseau Sentinelles, on estime que cette pathologie est responsable chaque année de 700 000 à 3,7 millions de consultations médicales et plus de 50 000 hospitalisations d'enfants de moins de 5 ans (3).

La présentation clinique peut aller de formes pauci-symptomatiques à des formes sévères avec déshydratation aiguë, diarrhées sanglantes, voire un syndrome hémolytique et urémique dans certains cas. De nombreux agents pathogènes sont susceptibles de provoquer des symptômes de gastro-entérite aiguë, notamment les virus (rotavirus, norovirus, adénovirus, sapovirus,...), agents étiologiques majeurs, les bactéries (*Salmonella spp.*, *Campylobacter spp.*,...) et les parasites (*Giardia lamblia*, *Cryptosporidium spp.*,...). Chez l'enfant hospitalisé, l'identification rapide et spécifique de l'agent infectieux est donc cruciale pour mettre en place une prise en charge adaptée et limiter la transmission du pathogène.

La détermination de l'agent étiologique fait appel à de multiples techniques, souvent laborieuses, chronophages ou manquant parfois de sensibilité et de spécificité. De plus, certains agents pathogènes ne sont pas identifiables par les techniques de routine. Par conséquent, une part non négligeable des patients sort de l'hôpital avant obtention des résultats complets de leur analyse des selles et de nombreux cas de GEA restent non documentés au niveau microbiologique (68). Depuis plusieurs années, des techniques de PCR ont été développées, permettant de réduire le délai de rendu de résultat et bénéficiant d'une sensibilité élevée. Au départ, ces techniques permettaient la détection d'un seul agent pathogène à la fois, puis, des PCR multiplex ont vu le jour et ont permis la recherche simultanée de plusieurs micro-organismes notamment les virus et bactéries. Plus récemment, des systèmes de PCR multiplex syndromique ont été commercialisés tels que le panel gastro-intestinal FilmArray® permettant la recherche simultanée d'une grande variété d'agents entéro-pathogènes (virus, bactéries et parasites), parfois non identifiables par les techniques conventionnelles utilisées au laboratoire. Depuis leur

commercialisation, différentes études ont évalué leur performance et ont permis de déterminer avec précision la prévalence de chaque agent pathogène dans les gastro-entérites aiguës, aussi bien chez l'enfant que chez l'adulte (64 – 71). Cependant, peu d'études se sont intéressées à l'impact de ces résultats sur la prise en charge du patient, en prenant en compte l'avis du médecin prescripteur.

Dans cette étude, notre but est d'évaluer l'introduction de l'approche syndromique par le panel gastro-intestinal FilmArray® dans le diagnostic des gastro-entérites en pédiatrie. D'une part, en termes de performances diagnostiques par comparaison aux techniques conventionnelles et d'autre part, en termes d'impact en pratique clinique via des questionnaires soumis aux cliniciens.

GENERALITES

1. Les gastro-entérites aiguës communautaires en pédiatrie

a. Définition

Les GEA se manifestent généralement par une diarrhée aiguë pouvant être accompagnée de nausées, de vomissements, de douleurs abdominales et parfois de fièvre. La diarrhée aiguë est définie selon l'OMS par l'émission d'au moins 3 selles molles ou liquides par jour ou des selles plus fréquentes que ce qui est habituel chez le sujet atteint et évoluant depuis moins de 14 jours (4). Cette définition est reprise en France par le réseau Sentinelles, chargé entre autre de la surveillance des cas de diarrhée aiguë en médecine générale. Cependant, dans la population pédiatrique et plus particulièrement chez les nourrissons, des selles molles peuvent être observées après chaque tétée en dehors de toute situation pathologique, on considère donc que toute accélération du transit avec changement de consistance des selles ou apparition de sang doit faire évoquer le diagnostic de GEA dans cette population (5,7).

b. Epidémiologie

Au niveau mondial, même si la diarrhée aiguë est une maladie que l'on peut prévenir et traiter efficacement, elle est la deuxième cause infectieuse de mortalité chez l'enfant de moins de 5 ans après les infections respiratoires basses et est responsable de 8,9% des décès (1). L'OMS estime le nombre de cas de diarrhées de l'enfant à environ 1,7 milliard par année, provoquant le décès de 520 000 enfants de moins de 5 ans par an (2), pour la très grande majorité dans les pays en voie de développement.

En France, les diarrhées aiguës sont à l'origine de nombreuses consultations et/ou hospitalisations chaque année. D'après les données du réseau Sentinelles pour l'année 2016, l'incidence annuelle des cas de diarrhées aiguës vus en consultation est estimée à 4 524 844 cas (3) et 32,6 % des cas concernent des enfants d'âge ≤ 14 ans soit 1 469 935 cas (**Figure n°1**). Concernant les demandes d'hospitalisation, elles représentent 0,5 % de l'ensemble des cas de diarrhée aiguë (3), la proportion de cas faisant l'objet d'une demande d'hospitalisation est plus élevée chez les enfants avec 3 % de demande chez les enfants de moins d'un an, 1,1 % chez les enfants de 1 à 4 ans, 0,1 % pour les 5 - 9 ans et 0,2 % pour les

enfants de 10 à 14 ans (3), (**Figure n°2**). On note aussi que le taux d'incidence pour 100 000 habitants est plus élevé dans la population pédiatrique que chez l'adulte. (**Figure n°1**)

Classe d'âge (ans)	Effectif	Proportion (%)	Incidence estimée et IC 95 %	Taux d'incidence pour 100 000 habitants et IC 95 %
< 1 an	425	2,6	119 392 [106 644 ; 132 140]	16 273 [14 535 ; 18 011]
1 – 4	2 134	13,3	600 769 [572 311 ; 629 227]	19 588 [18 660 ; 20 516]
5 – 9	1 712	10,6	477 693 [452 315 ; 503 071]	11 887 [11 255 ; 12 519]
10 – 14	989	6,1	272 081 [252 997 ; 291 165]	6 848 [6 368 ; 7 328]
15 – 59	9 301	57,8	2 611 985 [2 552 553 ; 2 671 417]	7 154 [6 991 ; 7 317]
≥ 60	1 529	9,5	442 924 [417 968 ; 467 880]	2 733 [2 579 ; 2 887]
Total	16 090			

Figure n°1 : Distribution des cas selon l'âge, et estimation des incidences et taux d'incidence des cas de diarrhées aiguës vus en consultation de médecine générale par tranche d'âge, bilan annuel sentinelles 2016 (3).

Classe d'âge (ans)	Demande d'hospitalisation	Proportion (%)	Pas de demande d'hospitalisation	Proportion des cas avec une demande d'hospitalisation (%)
< 1 an	12	16,0	389	3,0
1 – 4	21	28,0	1 932	1,1
5 – 9	1	1,3	1 519	0,1
10 – 14	2	2,7	884	0,2
15 – 59	19	25,3	8 399	0,2
≥ 60	20	26,7	1 349	1,5
Total	75		14 472	

Figure n°2 : Distribution des cas selon une demande ou non d'hospitalisation faite par le médecin généraliste en fonction de l'âge (3)

Les GEA surviennent de façon épidémique durant la période hivernale, débutant généralement au mois de novembre pour se terminer au mois de février. Le seuil épidémique est d'environ 180 cas / 100 000 habitants par semaine, ce seuil varie chaque semaine, par exemple, il est de 185 / 100 000 habitants pour la semaine 2 de 2018 et de 181 / 100 000 pour la semaine 5 de 2018 (**Figure n°3**). Le pic épidémique est dans la plupart du temps, atteint au mois de janvier (**Figure n°4**). L'épidémie hivernale de l'année 2016 / 2017 a été de faible intensité avec une incidence cumulée estimée de 1 367 130 cas et des taux d'incidence hebdomadaires de l'ordre de 250 cas / 100 000 habitants au moment du pic épidémique. Les années où l'épidémie est de plus forte intensité, ce taux d'incidence hebdomadaire peut monter à 500 voire parfois plus de 700 cas / 100 000 habitants.

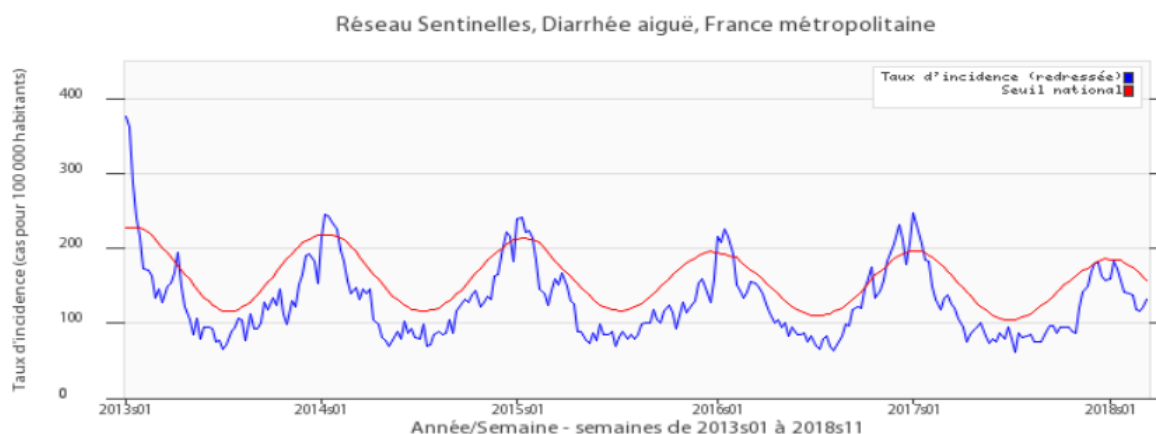


Figure n°3 : Taux d'incidence national (en cas pour 100 000 habitants) de diarrhées aiguës et seuil épidémique, janvier 2013 – mars 2018, données du Réseau Sentinelles au 20 mars 2018, France métropolitaine (28)

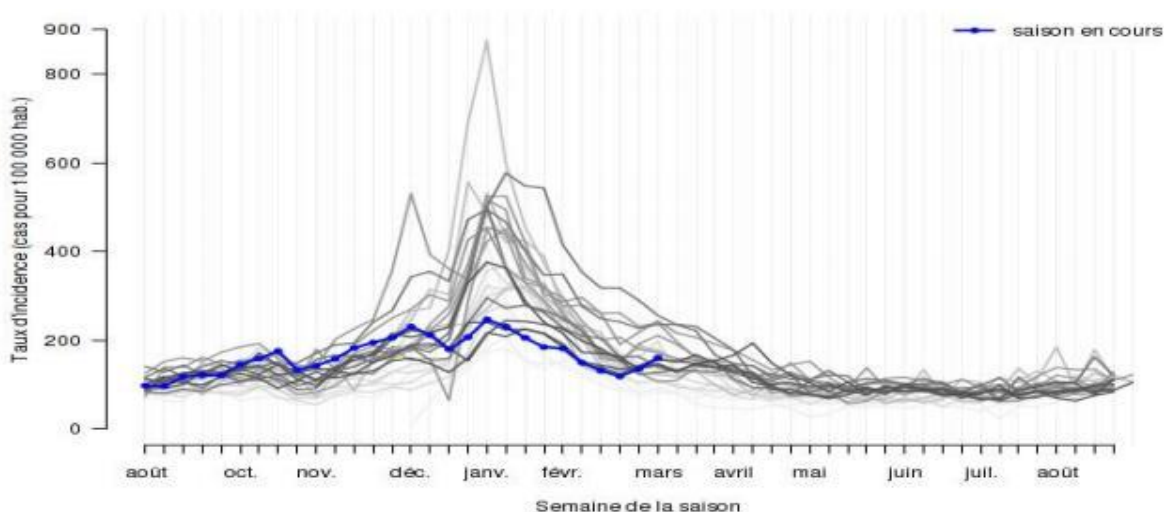


Figure n°4 : Evolution du taux d'incidence hebdomadaire des cas de diarrhées aiguës vus en consultation de médecine générale par saison épidémique depuis 1990. En bleu : saison 2016-2017, en gris : saisons de 1990 à 2016 (plus les courbes sont claires, plus les données sont anciennes) (3)

Le réseau Sentinelles est composé d'un échantillon de 1300 médecins généralistes et environ 100 pédiatres libéraux répartis sur tout le territoire métropolitain. Il est chargé de la surveillance de 9 indicateurs de santé, 8 maladies infectieuses (syndromes grippaux, diarrhées aiguës, maladie de Lyme, oreillons, urétrites,...) et un indicateur non infectieux (actes suicidaires).

c. Etiologies des GEA communautaires en pédiatrie

On distingue plusieurs types d'agents infectieux responsables de GEA ou de diarrhées aiguës, les virus qui sont la cause la plus fréquente de GEA notamment

chez l'enfant et ce sur l'ensemble des continents (37-39), les bactéries et les parasites. Les étiologies les plus courantes et leurs caractéristiques cliniques sont synthétisées dans le **tableau n°1**.

i. Les virus

Les GEA d'origine virale sont des pathologies très fréquentes chez l'enfant notamment en période hivernale (janvier à mars), on estime que plus de deux tiers des épidémies de GEA sont d'origine virale (53). Ces GEA se manifestent par des diarrhées aqueuses, pouvant être associées à des vomissements, des douleurs abdominales modérées et une hyperthermie. Le tableau clinique est dans la majorité des cas bénin, cependant chez le jeune enfant, la déshydratation pouvant survenir très rapidement, une GEA virale peut s'avérer sévère et nécessiter une hospitalisation. Leur transmission est féco-orale directe ou indirecte, on retrouve donc ces virus dans l'eau, sur des aliments ou des surfaces souillées par des selles (indirecte) mais la transmission se fait le plus souvent par manuportage (directe). La période d'incubation est généralement courte, de l'ordre de 1 à 4 jours en fonction de l'agent viral, le maximum des symptômes est atteint en 24 à 48h puis l'évolution est spontanément résolutive. Il s'agit de la présentation classique des diarrhées aiguës virales mais le tableau clinique est parfois plus sévère avec des diarrhées abondantes, des vomissements incoercibles, une fièvre élevée, une phase d'état plus longue et donc des risques de complication accrus.

- **Rotavirus**

Epidémiologie

Le rotavirus est la première cause de GEA chez l'enfant de moins de 5 ans à l'échelle mondiale, une revue des articles publiés entre 1986 et 2000 s'intéressant aux décès causés par une infection à rotavirus avant l'apparition de la vaccination estimait le nombre de cas annuels à 136 millions, entraînant 2 millions d'hospitalisations et 440 000 décès (41). Le taux d'incidence de cette infection est similaire dans tous les pays, cependant, les conséquences diffèrent selon les régions du monde, en effet, on estime que 82% des décès liés au rotavirus surviennent dans les pays en voie de développement (41). Cette mortalité élevée s'explique par la

déshydratation aigüe survenant plus rapidement chez les enfants dénutris et par un retard d'accès aux soins (41). Depuis 2004, deux vaccins vivants atténués oraux sont disponibles, Rotateq® (Merck) et Rotarix® (GlaxoSmithKline). En octobre 2015, 79 pays avaient mis en place cette vaccination chez les nourrissons (42). En France, le Haut Conseil de Santé Publique a suspendu la recommandation de vaccination depuis avril 2015 pour cause d'une balance bénéfice / risque défavorable (risque d'invagination intestinale aigüe potentiellement mortelle si la prise en charge est tardive) (44).

Le rotavirus est le plus fréquemment incriminé lors d'épidémies hivernales de GEA chez l'enfant, en France métropolitaine, notamment chez les moins de 2 ans. Ces infections seraient responsables d'environ 300 000 épisodes de diarrhée aigüe par an chez l'enfant de moins de 5 ans dont 160 000 diarrhées sévères entraînant 18 000 hospitalisations et 13 à 14 décès par an (40). Le coût annuel pour le système de santé est estimé à 28 millions d'euros, dont plus de 80% sont représentés par les hospitalisations (40). Les GEA à rotavirus demeurent donc un problème majeur de santé publique en France et dans le monde.

Caractéristiques virales

Le rotavirus a été découvert en 1973 par Ruth Bishop (45), c'est un virus non enveloppé à ARN double brin dont le réservoir principal est l'Homme, il fait partie de la famille des *Reoviridae*. Sa transmission est le plus souvent féco-orale directe (manuportage) mais sa résistance dans le milieu extérieur fait qu'une transmission indirecte via des aliments, des surfaces ou l'eau souillée par des selles est possible. Il existe sept sérogroupes (A à G) dont la spécificité est portée par la protéine de capsid VP6 et différents séro/génotypes P et G portés par les protéines de capsides VP4 et VP7, respectivement (46). Seuls les sérogroupes A,B et C sont pathogènes pour l'Homme avec une très large majorité de sérogroupes A.

Clinique

L'infection à rotavirus n'est en général symptomatique que chez l'enfant de moins de 5 ans (46). Après une courte incubation de 24 à 48 heures, les manifestations cliniques de cette infection peuvent varier de l'absence totale de symptôme (portage asymptomatique) à des diarrhées aqueuses profuses avec un risque de déshydratation rapide (46). A cette diarrhée sont souvent associés des vomissements, des douleurs abdominales modérées ainsi qu'une hyperthermie, ces

symptômes durent généralement quelques jours avant de régresser spontanément (46). L'excrétion du virus dans les selles après un épisode de GEA est souvent prolongée, de deux semaines en général, à plusieurs mois en cas d'immunodépression (53).

- **Norovirus**

Epidémiologie

Le norovirus est la cause la plus fréquente de GEA non bactérienne dans toutes les tranches d'âge, il est considéré comme la deuxième étiologie de GEA dans la population pédiatrique derrière le rotavirus lors d'épidémies hivernales. (49) Il est fréquemment incriminé lors d'épidémies de GEA survenant en institution comme dans les maisons de retraite, les hôpitaux, les écoles,... (49) et est aussi reconnu comme étant l'agent le plus fréquent lors d'épidémies de GEA transmises par l'eau et / ou les aliments (50). Une publication de 2013 estime que les calicivirus dont fait partie le norovirus sont responsables de 71 000 décès chez les enfants de moins de 5 ans chaque année dans le monde (51). Le norovirus est même devenu la première cause de GEA pédiatrique aux Etats-Unis depuis l'instauration du vaccin anti-rotavirus (52). Enfin, une méta-analyse de 2014 estime que la prévalence globale des norovirus dans les cas de GEA dans le monde est de 18% (63).

Caractéristiques virales

Le norovirus fait partie de la famille des *Caliciviridae*, c'est un virus non enveloppé à ARN simple brin, son réservoir est humain et sa transmission est féco-orale directe ou indirecte. Tout comme le rotavirus, il est résistant dans le milieu extérieur et peut donc être transmis par ingestion d'aliments (fruits de mer souvent incriminés) ou d'eau souillée par des matières fécales, voire par contact avec des surfaces contaminées par des gouttelettes projetées lors de vomissements. La dose infectante est très faible, moins de 100 particules virales ingérées provoquent la maladie (50). Il existe cinq génogroupes GI à GV dont la spécificité est portée par la protéine de capsid VP1 (53), seuls les GI, GII et GIV sont pathogènes pour l'Homme, le génogroupe GIV étant extrêmement rare.

Clinique

Après une courte période d'incubation de 12 à 48 heures, l'infection par le norovirus se manifeste par des vomissements associés à une diarrhée aqueuse, des douleurs abdominales et une hyperthermie modérée, ces symptômes sont en général de courte durée (24 à 72 heures) et la maladie est spontanément résolutive (50,53).

- **Sapovirus**

Le sapovirus fait partie de la famille des *Caliciviridae* tout comme le norovirus avec qui il forme le groupe des calicivirus humains, il partage donc les mêmes caractéristiques virales. Ils sont divisés en neuf génogroupes (GI à GIX) dont la spécificité est portée par la protéine VP1 mais seuls les génogroupes GI, GII, GIV et GV sont pathogènes pour l'Homme (55). La symptomatologie est la même que celle provoquée par le norovirus, il est impossible de les distinguer cliniquement. Le diagnostic d'une infection à sapovirus ne pouvant être pour le moment réalisé que par des méthodes moléculaires en laboratoire spécialisé (RT-PCR) ou par microscopie électronique, il existe peu de données épidémiologiques mondiales sur les gastroentérites à sapovirus, on estime qu'il serait responsable de 30% des GEA à calicivirus avec une prédominance pédiatrique (53).

- **Astrovirus**

L'astrovirus fait partie de la famille des *Astroviridae*, il s'agit d'un virus non enveloppé à ARN simple brin, découvert en 1975 par microscopie électronique (56,57). Ils sont responsables de GEA sporadiques avec un pic hivernal dans les régions tempérées et peuvent provoquer des épidémies en collectivités (hôpitaux, écoles, crèches,...) (53). Sa transmission est aussi féco-orale directe ou indirecte et il provoque en général une GEA bénigne chez l'enfant après une période d'incubation courte de 1 à 4 jours (50), on peut mettre en évidence l'ARN du virus jusqu'à 21 jours après l'épisode diarrhéique en utilisant des méthodes moléculaires telles que la RT-PCR (50). Au niveau épidémiologique, on estime qu'ils sont responsables de 2,5 à 10% des cas de GEA communautaires (58) et de 1,4% à 4,5% des consultations pour GEA en France en fonction de la période (54).

- **Adénovirus entériques**

L'adénovirus appartient à la famille des *Adenoviridae*, c'est un virus non enveloppé à ADN double brin, il existe 6 espèces (A à F) (61), de nombreux sérotypes, mais seuls les sérotypes F 40 et 41 ainsi que le 2, 3 et 31 sont des entéropathogènes humains avec une large prédominance des F40/41(54, 61). La prévalence de ces virus varie de 2,5 à 9% des cas de GEA chez l'enfant en fonction des études (54, 59, 60). Tout comme les autres virus, sa transmission se fait selon le mode féco-oral direct ou indirect, ils sont responsables de cas sporadiques ou de petites épidémies mais le caractère saisonnier est moins marqué que chez les autres virus, le pic de prévalence se situe entre 1 et 2 ans (53, 59). Les adénovirus F40/41 provoquent une GEA généralement d'intensité modérée avec toutefois une période d'incubation plus longue que les autres virus, de l'ordre de 10 jours (53), des symptômes durant 5 à 12 jours et une excrétion virale post-infection de 10 à 14 jours.

- **Autres virus**

Les rotavirus et calicivirus sont responsables d'une très large majorité des cas de GEA dans la population pédiatrique, puis viennent les astrovirus et adénovirus F40/41 (54) mais d'autres virus sont susceptibles de provoquer des GEA sans toutefois circuler à un taux significatif, il s'agit des torovirus, coronavirus, aïchivirus, certains entérovirus et picobirnavirus (61).

ii. **Les bactéries**

- **Salmonella spp.**

Les Salmonelles appartiennent à la famille des Entérobactéries, ce sont des bacilles à Gram négatif, mobiles, aéro-anaérobie facultative. Le genre *Salmonella* est divisé en deux espèces : *S. enterica*, elle-même divisée en six sous-espèces (*enterica*, *salamae*, *arizonae*, *diarizonae*, *houtenae*, *indica*) et *S. bongori*. Au sein de ces deux espèces, il existe plus de 2500 sérotypes. Deux sérotypes sont nettement majoritaires en pathologie humaine, *S. enterica* subsp *enterica* sérotype *typhimurium* et *S. enterica* subsp *enterica* sérotype *enteridis*.

Les Salmonelles sont une cause fréquente de GEA bactérienne chez l'enfant, en France et en Europe, juste derrière *Campylobacter spp.* (5).

On classe généralement les Salmonelles en deux groupes, en se basant sur la pathologie qu'elles provoquent, les typhiques dites Salmonelles majeures et les non typhiques, dites Salmonelles mineures, causant respectivement la fièvre typhoïde ou paratyphoïde et des infections digestives.

La fièvre typhoïde est causée par *Salmonella typhi* et *paratyphi A, B, C*, ces sérotypes sont strictement humains et l'Homme se contamine généralement par ingestion d'eau ou d'aliments contaminés par des matières fécales, mais une transmission interhumaine directe est possible. Cette pathologie provoque une fièvre continue avec anorexie, douleurs abdominales, diarrhée ou constipation, abattement (« tymphos » : torpeur en grec). Dans les formes bénignes, cet état est stationnaire durant environ deux semaines mais dans les formes graves, des complications digestives, cardiaques ou neurologiques peuvent survenir. La mortalité est de 10% en l'absence de traitement spécifique. En France, il s'agit quasi-exclusivement de cas d'importation. La fièvre typhoïde est une maladie à déclaration obligatoire.

Les Salmonelles non typhiques se retrouvent chez l'Homme et de nombreux animaux (sauvages, domestiques ou destinés à l'alimentation : volailles, bovins, porcs) et provoquent une infection digestive, la salmonellose. Elles vont pénétrer les entérocytes pour aller se multiplier au sein des macrophages de la sous-muqueuse. L'Homme se contamine généralement par ingestion d'aliments d'origine animale contaminés (volailles, œufs, lait), la transmission interhumaine est aussi possible ainsi qu'une transmission par contact direct avec un animal porteur. Les symptômes de la salmonellose apparaissent en général 12 à 36 heures après ingestion de *Salmonella* et se manifestent par l'apparition brutale d'une fièvre, de douleurs abdominales, de diarrhées et parfois de vomissements. Ces symptômes sont en général bénins et spontanément résolutifs sans traitement en 3 à 5 jours, chez le jeune enfant ou la personne âgée, la déshydratation peut tout de même s'avérer fatale. Dans de rares cas, la salmonellose est sévère avec des diarrhées sanglantes, une altération de l'état général, une fièvre persistante, un traitement antibiotique devient alors indispensable.

- **Campylobacter spp.**

Campylobacter est un bacille à Gram négatif, de morphologie incurvée ou spiralée, microaérophiles, a la mobilité caractéristique dite « en vol de mouettes ». On dénombre actuellement 17 espèces et 6 sous-espèces, les plus fréquentes en pathologie humaine étant *C. jejuni* et *C. coli*, d'autres espèces comme *C. lari* et *C. upsaliensis* ont été isolées de patients présentant des diarrhées mais elles sont moins fréquentes. *C. fetus* est plutôt reconnu comme une espèce provoquant des bactériémies. Les infections à *Campylobacter* sont la première cause de GEA bactérienne en France et dans le monde (5).

La campylobactériose est une zoonose, *Campylobacter* est retrouvé chez la plupart des animaux à sang chaud (volailles, ovins, bovins, porcs, chats, chiens...), il est rare qu'il provoque une maladie chez ces animaux. L'Homme se contamine en général par ingestion de viande ou produits dérivés de viande insuffisamment cuits, notamment la volaille et parfois par ingestion d'eau contaminée.

La campylobactériose se manifeste par des diarrhées souvent sanglantes, des douleurs abdominales accompagnées de nausées / vomissements. Ces symptômes durent généralement trois à six jours et font suite à une période d'incubation de deux à cinq jours (parfois jusque dix jours). Des complications liées à un passage systémique ont été décrites mais cette infection se traite relativement bien et les décès sont rares, les jeunes enfants, les sujets âgés ou immunodéprimés sont toujours plus à risque de complications. On observe aussi parfois des complications post-infection comme des arthrites réactionnelles ou des syndromes de Guillain-Barré.

Un traitement antibiotique est recommandé (macrolide).

- **Escherichia coli**

E. coli est un bacille à Gram négatif, appartenant à la famille des Entérobactéries. Ce sont des commensaux bien connus du tube digestif, ce qui rend difficile la détection de certains pathovars dans une coproculture classique. On distingue cinq pathovars reconnus comme pathogènes pour l'Homme, *E. coli* entéro-pathogène (EPEC), *E. coli* entéro-agrégatif (EAEC), *E. coli* entéro-hémorragique ou producteur de shiga-toxines (EHEC ou STEC), *E. coli* entéro-invasif (EIEC) et *E. coli* entéro-toxinogène (ETEC).

EPEC : *E. coli* entéro-pathogène

EPEC est reconnu comme une cause majeure de gastro-entérites infantiles, notamment dans les pays en voie de développement (8). Il est défini aujourd'hui par ses caractéristiques moléculaires, à savoir qu'il possède le gène *eae* (*enterocyte attaching and effacement*) codant pour l'intimine et ne possède pas le gène codant les shiga-toxines *stx*. Il existe des souches typiques et atypiques d'EPEC, l'une possédant le gène *bfp* codant pour des pili de type IV et l'autre non. A cela peuvent s'ajouter d'autres facteurs de virulence, ce qui complexifie leur caractérisation moléculaire (72). Sa pathogénicité est liée à ses capacités d'adhésion à la muqueuse intestinale, sur laquelle il va provoquer des lésions d'attachement / effacement, sans envahissement des cellules épithéliales.

L'Homme se contamine par voie féco-orale, principalement par ingestion d'eau ou d'aliments contaminés par des matières fécales. L'infection par EPEC se manifeste par une diarrhée aqueuse, souvent persistante et survenant principalement chez le jeune enfant, accompagnée de vomissements, de douleurs abdominales et d'une fièvre modérée, mais des infections asymptomatiques peuvent exister (8). Un traitement antibiotique n'est généralement pas nécessaire sauf en cas de symptomatologie sévère.

EAEC : *E. coli* entéro-agrégatif

EAEC a été défini comme tel par sa capacité d'adhérence agrégative en « briques empilées », mise en évidence sur cellules Hep-2 et par l'absence de sécrétion des entéro-toxines LT (thermolabile) et ST (thermostable). Cette description phénotypique du pathovar constitue un groupe très hétérogène et complexe en termes de facteurs de virulence, les mécanismes de pathogénicité ne sont d'ailleurs que partiellement élucidés (8). Il existe donc des souches possédant un pouvoir pathogène certain et d'autres non, toutes regroupées sous le nom d'EAEC (8). Tout comme EPEC, il existe des souches typiques et atypiques d'EAEC, la plupart des souches possèdent le plasmide d'adhérence agrégative *pAA*, bien que sa composition puisse varier d'une souche à l'autre (104). Les souches possédant le gène *aggR*, régulateur de l'expression de certains facteurs de virulence, sur le plasmide *pAA*, sont considérées comme typiques et celles ne le possédant pas comme atypiques (105, 106). Différentes toxines peuvent être sécrétées, notamment

des entéro-toxines ou des cytotoxines, mais encore une fois cela ne concerne que certaines souches d'EAEC (8).

L'Homme se contamine généralement par voie féco-orale via l'ingestion d'eau ou d'aliments contaminés. Cette infection provoque une diarrhée aqueuse, parfois glaireuse et dans de très rares cas, glairo-sanglante, il n'y a pas d'envahissement des entérocytes. Cette diarrhée est accompagnée de douleurs abdominales, d'une fièvre modérée voire absente et parfois de vomissements (8, 104). Cependant, des infections totalement asymptomatiques peuvent exister (8, 104). L'infection par EAEC serait plus fréquente chez l'enfant < 2 ans (104), mais il existe peu de données sur leur prévalence réelle du fait de la difficulté à les détecter par la coproculture conventionnelle.

ETEC : *E. coli* entéro-toxinogène

ETEC est caractérisé par sa capacité à produire au moins l'un des deux groupes d'entéro-toxines : thermostables (ST) et / ou thermolabiles (LT). Les toxines LT ont une structure et un mécanisme d'action très proche de la toxine cholérique, les toxines ST peuvent aussi être sécrétées par d'autres bactéries à Gram négatif comme *Yersinia enterocolitica* ou *Vibrio cholerae* non-O1 (8). Ces toxines engendrent une diarrhée sécrétoire via l'activation d'une adénylate cyclase (LT) ou d'une guanylate cyclase (ST), ce qui aboutit à l'excrétion de grande quantité d'ions Cl⁻ et d'eau dans la lumière intestinale.

ETEC est connu comme l'agent de la diarrhée du voyageur (« turista »), il se transmet par voie féco-orale indirect et provoque des diarrhées aqueuses, parfois accompagnées de vomissements et d'une fièvre modérée (8). Cette infection est généralement bénigne et spontanément résolutive mais des cas exceptionnellement sévères avec des diarrhées profuses proches de celles provoquées par *Vibrio cholerae* ont été décrits (8).

EIEC : *E. coli* entéro-invasif

EIEC est très proche de *Shigella spp.* au niveau biochimique, génétique et du pouvoir pathogène. Ils sont capables, tout comme *Shigella spp.*, d'envahir les cellules intestinales, de s'y multiplier et de produire une ou plusieurs entéro-toxines (8). Ils possèdent le plasmide *pInV*, codant pour différents facteurs de virulence tels

que les protéines *lpa* nécessaires à l'invasion de la cellule hôte, ainsi qu'un système de sécrétion de type III.

Les infections par EIEC sont relativement rares, mais aussi, probablement sous-estimées par confusion avec *Shigella spp.* ou *E. coli* non pathogène (8). La transmission se fait essentiellement selon un mode féco-orale indirect (eau et / ou aliments contaminés) mais des cas de transmissions interhumaines ont été décrits (8). Au niveau clinique, EIEC provoque généralement une diarrhée aqueuse, parfois non différenciable de celle provoquée par ETEC. Chez une minorité de patients, le caractère invasif est plus marqué avec des diarrhées glairo-sanglantes, inflammatoires, de fortes douleurs abdominales et une hyperthermie (syndrome dysentérique ou dysenterie bacillaire) (8). Les infections sévères à EIEC requièrent un traitement antibiotique.

STEC : *E. coli* producteur de shiga-toxines (ou EHEC : *E. coli* entéro-hémorragique)

A l'origine, le nom d'EHEC était employé pour les *E. coli* capables de provoquer une colite hémorragique ou un syndrome hémolytique et urémique, des lésions d'attachement – effacement (gène *eae* comme EPEC) et d'exprimer une shiga-toxine *stx*. STEC est quant à lui caractérisé par sa capacité à produire au moins une shiga-toxine *stx*, sans connotation clinique ou histologique. EHEC fait donc partie des STEC (8). STEC peut exprimer la shiga-toxine *stx1*, (identique à celle produite par *Shigella dysenteriae 1*) et / ou la shiga-toxine *stx2* ainsi que de nombreux autres facteurs de virulences (facteurs d'adhésion, système de sécrétion de type III, entéro-hémolysine), ils sont une cause majeure de diarrhées sanglantes.

STEC est généralement transmis selon un mode féco-oral direct ou indirect, le réservoir se situe principalement chez les ruminants domestiques. Cependant, la majorité des cas ont été observés après ingestion d'aliments contaminés, notamment, la viande bovine insuffisamment cuite (8) (« maladie du hamburger »). Après une période d'incubation de trois à quatre jours en moyenne, l'infection par STEC se manifeste généralement par une diarrhée non sanglante en début d'infection, associée à des douleurs abdominales et une fièvre modérée. Après un à deux jours, les diarrhées peuvent devenir sanglantes avec des douleurs abdominales intenses, des cas très sévères de diarrhées afécales et hémorragiques ont été décrits (8). Dans la plupart des cas, ces symptômes régressent spontanément sans

séquelle, mais chez 10% des patients < 10 ans, un syndrome hémolytique et urémique (SHU) potentiellement fatal va compliquer cette infection (8, 104). Le SHU est défini par la triade anémie hémolytique, thrombopénie et insuffisance rénale, la mortalité est de 3 à 5% et 12 à 30% des patients auront des séquelles sévères (8). Un sérotype particulier est plus fréquemment isolé dans les cas de diarrhées hémorragiques et est plus souvent associé à la survenue d'un SHU, il s'agit du sérotype O157 : H7 (8). *E. coli* O157 : H7 peut d'ailleurs faire l'objet d'une recherche spécifique (caractère sorbitol -).

Le traitement par un antibiotique bactéricide n'est pas recommandé du fait du risque d'un relargage massif de toxines lors de la lyse des bactéries.

- **Shigella spp.**

Shigella spp. est un bacille à Gram négatif appartenant à la famille des Entérobactéries. On distingue quarante sérotypes répartis en quatre sérogroupes : A (*S. dysenteriae*), B (*S. flexneri*), C (*S. boydii*), D (*S. sonnei*). Les souches à l'origine des formes les plus graves, avec une mortalité élevée sont *S. dysenteriae* et *S. flexneri* (104). *Shigella spp.* possède un plasmide de virulence codant pour environ 25 protéines (dont les protéines *lpa* comme EIEC) sécrétées via un système de sécrétion de type III, nécessaires à l'invasion de la cellule hôte et à l'apoptose des macrophages (107). Elles sont aussi capables de sécréter deux entéro-toxines ShET-1 et ShET-2. ShET-1 est principalement produite par *S. flexneri* sérotype 2a alors que ShET-2 est produites par toutes les espèces de *Shigella* (107). Ces toxines participent à l'apparition des diarrhées aqueuses profuses observées en début d'infection. *S. dysenteriae* sérotype 1 possède un gène chromosomique codant la shiga-toxine *stx*. Ces toxines, notamment celle produite par *S. dysenteriae* sérotype 1, très proche de celle des STEC, sont aussi susceptibles de provoquer un syndrome hémolytique et urémique (107).

Le mode de transmission est féco-oral, la dose infectante étant très faible, de l'ordre de 10 à 100 bactéries, la transmission interhumaine est probablement la plus fréquente (107). Après une période d'incubation de 12 heures à environ 2 jours, la shigellose se manifeste par des diarrhées aqueuses en grande quantité, des douleurs abdominales, de la fièvre, une anorexie. Progressivement ces diarrhées vont diminuer d'intensité mais vont devenir glaireuses et sanglantes avec des douleurs abdominales intenses, des ténésmes, typiques du syndrome dysentérique.

Chez les enfants, dans plus de 50% des cas, la diarrhée n'évolue pas vers une forme hémorragique alors que chez d'autres, le sang est présent dans les selles dès le début de la maladie (107). Cette infection peut se compliquer d'un passage systémique (bactériémie), d'appendicite, de perforation colique, de syndrome pseudo-occlusif ou encore d'abcès intra-abdominal. Des complications neurologiques sont aussi susceptibles de survenir avec généralement des crises convulsives, mais de réelles encéphalopathies pouvant aller jusqu'au coma ont été décrites (107). La shigellose nécessite la mise en place d'un traitement antibiotique.

- **Yersinia spp.**

Yersinia spp. est un bacille à Gram négatif de la famille des Entérobactéries. Trois espèces sont pathogènes pour l'Homme : *Y. pestis*, agent de la peste, *Y. enterocolitica* et *Y. pseudotuberculosis*, provoquant toutes les deux des infections digestives de types gastroentérites et adénites mésentériques. Le genre *Y. enterocolitica* est divisé en cinq biotypes (1A, 1B, 2, 3, 4, 5), le biotype 1A n'est pas pathogène. Ces deux espèces ont la particularité de pouvoir se développer à basse température, notamment dans les réfrigérateurs.

Leur pouvoir pathogène repose sur la présence du plasmide pYV portant plusieurs gènes de virulences communs à toutes les *Yersinia* pathogènes. Ces gènes codent pour des protéines d'adhésion, d'invasion ou encore des protéines ayant des propriétés anti-phagocytaires. Les bactéries vont pénétrer la muqueuse intestinale via les cellules M des plaques de Peyer, pour se multiplier dans le tissu lymphoïde, ce qui entraîne la constitution de micro-abcès. Le réservoir de *Yersinia* est principalement animal (porcs, rongeurs) et l'Homme se contamine par voie féco-orale, soit par contact avec des animaux infectés, soit, plus fréquemment par ingestion d'aliments souillés (viande de porc insuffisamment cuite, eau, lait,...).

Après une période d'incubation d'environ sept jours pour *Y. enterocolitica* et de un à onze jours pour *Y. pseudotuberculosis*, des signes digestifs vont apparaître avec des diarrhées aqueuses, parfois sanguinolentes, des vomissements, des douleurs abdominales et une fièvre modérée, ces signes se rencontrent plus volontiers lors d'une infection par *Y. enterocolitica*. L'infection par *Y. pseudotuberculosis* est très semblable mais moins souvent associée à une diarrhée, par contre les deux espèces sont susceptibles de provoquer une adénite mésentérique mimant une appendicite aiguë. Les complications les plus connues

des yersiniozes sont l'érythème noueux et les arthrites réactionnelles, mais d'autres complications sont possibles telles que bactériémies, abcès profonds, conjonctivites, ulcération cutanées. Ces infections surviennent plus volontiers chez les enfants < 10 ans et les immunodéprimés.

- **Clostridium difficile**

Certaines bactéries vont profiter d'un déséquilibre de la flore intestinale provoqué par une antibiothérapie, pour proliférer et provoquer des troubles digestifs, c'est notamment le cas de *Clostridium difficile*. Ce germe est rarement découvert lors de diarrhées communautaires, il s'agit plutôt d'un germe nosocomial, de plus, le portage asymptomatique est très fréquent chez l'enfant < 2 ans, il n'est d'ailleurs pas recherché dans cette population hors contexte particulier. *C. difficile* est un bacille à Gram positif, sporulé, anaérobie stricte, dont certaines souches sont capables de produire des toxines (A et B +/- toxine binaire) responsables de l'apparition des symptômes. L'infection à *C. difficile* toxigène survient après une antibiothérapie (β -lactamines+++) et peut se manifester par une diarrhée aiguë spontanément résolutive à l'arrêt de l'antibiothérapie, jusqu'à la colite pseudo-membraneuse gravissime, risquant d'évoluer vers un mégacolon toxique ou une perforation intestinale.

- **Autres bactéries**

Les bactéries citées précédemment sont les plus susceptibles d'être rencontrées lors de diarrhées aiguës communautaires en pédiatrie hormis ETEC et certaines *Shigella spp.* qui sont plutôt associés à des infections contractées lors de voyages. D'autres bactéries provoquent des symptômes digestifs mais sont beaucoup plus rarement mises en évidence dans la population pédiatrique ou ne sont recherchées que sur demande spécifique.

Vibrio spp. est un bacille à Gram négatif, incurvés (en virgule) habituellement retrouvés en milieu marin. Différentes espèces sont pathogènes pour l'Homme aussi bien au niveau intestinal, qu'extra-intestinal (infection de plaies, des tissus mous, septicémie). Les espèces susceptibles de provoquer des gastro-entérites sont : *Vibrio cholerae* sérogroupes O1 et O139, agents du choléra dit vibron cholérique et les vibriens non cholériques, *V. cholerae* non-O1 non-O139, *V. vulnificus* et *V.*

parahaemolyticus (108). Les vibrions non cholériques sont fréquemment incriminés lors d'infections alimentaires survenant après ingestion de fruits de mer.

Aeromonas hydrophila est un bacille à Gram négatif retrouvé généralement dans les eaux douces ou peu salines, le sol ou les aliments, et ce sur l'ensemble du globe mais préférentiellement en zone tropicale. C'est une bactérie opportuniste capable de provoquer des diarrhées aiguës lorsqu'elle est ingérée, elle peut aussi provoquer des infections de plaie, voire des septicémies chez les sujets immuno-déficients.

Plesiomonas shigelloides est un bacille à Gram négatif retrouvé en milieu aquatique, notamment en eau douce, on le retrouve aussi dans le sol, chez les poissons, les amphibiens et parfois dans les fruits de mer contaminés. Cette bactérie est répartie sur l'ensemble du globe mais est plus fréquente dans les régions subtropicales et tropicales. Ce germe est susceptible de causer des infections intestinales se manifestant par des diarrhées sécrétoires, parfois dysentériques, mais aussi des infections extra-intestinales.

Certaines bactéries sont responsables de toxi-infections alimentaires collectives (TIAC), notamment *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus* ou *Clostridium perfringens*. Ces germes produisent des entérotoxines, soit pré-formées dans l'aliment, soit produites directement dans le tube digestif.

Klebsiella oxytoca est aussi incriminée dans la survenue de diarrhées hémorragiques suite à un traitement par ampicilline.

iii. Les parasites

- *Giardia lamblia*

Ce protozoaire cosmopolite est le plus répandu dans les maladies intestinales humaines. Il est aussi appelé *Giardia duodenalis* ou *Giardia intestinalis* et c'est un organisme unicellulaire flagellé qui infecte l'intestin grêle de l'Homme et de nombreux mammifères. La maladie provoquée est dénommée giardiose (ou giardiasis) et touche préférentiellement les enfants, cependant, l'infection d'un adulte n'est pas impossible. Ce parasite existe sous deux formes, la forme végétative (trophozoïte) responsable des symptômes digestifs et la forme kystique, émise dans les selles, qui est son mode de dissémination.

La contamination est féco-orale directe ou indirecte, par ingestion d'eau ou d'aliments contaminés par des kystes, aussi par manuportage. Sous l'action des sucs digestifs et du pH, les kystes vont donner des trophozoïtes dans le duodénum, qui vont alors se multiplier et se fixer sur les entérocytes. Ils vont aussi capter des acides biliaires, favorisant une malabsorption des graisses. Cette fixation va s'accompagner d'une altération des entérocytes, d'atrophie villositaire et d'une destruction de la bordure en brosse.

Au niveau clinique, la symptomatologie est très variée, allant du portage asymptomatique, assez fréquent, aux formes graves, qui quant à elles, demeurent très rares. Lorsque l'infection est symptomatique, après 1 à 3 semaines d'incubation, elle se manifestera généralement par une diarrhée modérée associée à des douleurs abdominales hautes, des nausées et une anorexie. Ces symptômes peuvent apparaître de façon brutale ou se rencontrer lors d'épisodes d'exacerbation sur fond de diarrhée chronique. Parfois, des stéatorrhées avec perte de poids et carences vitaminiques sont observées dans les cas d'infections chroniques et massives. Le traitement fait appel aux nitro-imidazolés, notamment le métronidazole.

- ***Cryptosporidium spp.***

Cryptosporidium spp. est l'agent de la cryptosporidiose, c'est un parasite unicellulaire faisant partie des coccidies. Deux espèces sont majoritaires dans les infections humaines, *Cryptosporidium parvum* (Homme, bovins, ovins) et *Cryptosporidium hominis* (strictement humain) mais d'autres espèces comme *C. felis* et *C. meleagridis* peuvent exceptionnellement être rencontrées chez l'Homme. Les cas de cryptosporidiose sont plus fréquemment observés chez les patients immunodéprimés (sida +++), chez qui elle peut s'avérer extrêmement sévère. L'infection des patients immunocompétents est possible, avec un pic de fréquence chez l'enfant < 4 ans (109).

Le cycle de multiplication comprend des stades sexués et asexués dans l'épithélium intestinal. La multiplication asexuée du parasite conduit à une contamination de proche en proche des cellules de l'épithélium digestif et à son altération. La multiplication sexuée conduit à la formation d'oocystes, qui seront émis dans les selles et directement infectants. L'Homme se contamine par ingestion d'oocystes par voie féco-orale directe ou indirecte (eau, aliments souillés). Chez l'immunocompétent, après une période d'incubation de 1 à 12 jours, la

cryptosporidiose se manifeste par une diarrhée aqueuse non sanglante associée à des douleurs abdominales et une fièvre modérée, ces symptômes sont spontanément résolutifs en dix jours environ. Les diarrhées sont plus sévères et chroniques chez le patient immunodéprimé notamment les patients infectés par le VIH, possédant un taux de lymphocytes CD4+ < 100 /mm³. Un traitement n'est généralement pas requis chez le patient immunocompétent .

- **Autres parasitoses**

D'autres agents parasitaires sont responsables de troubles digestifs, mais ils sont rencontrés soit chez des patients immunodéprimés, soit en zone tropicale ou subtropicale. Parmi ces autres parasites, on peut citer d'autres coccidies comme *Cystoisospora belli* ou *Cyclospora cayetanensis* (zones tropicales, patients immunodéprimés (VIH +++)) ou les microsporidies comme *Enterocytozoon bieneusi*, *Encephalitozoon intestinalis* et *Encephalitozoon hellem*, responsables de diarrhées chez les sujets fortement immunodéprimés. L'amoebose colique à *Entamoeba histolytica* provoque aussi des symptômes digestifs avec des diarrhées sanglantes mais ce pathogène ne se rencontre qu'en zone tropicale.

Tableau n°1 : Principaux agents responsables de GEA et caractéristiques cliniques

Agent	Incubation	Symptômes	Durée des symptômes	Mode de transmission
Virus				
Rotavirus A	1 – 2 jours	Apparition rapide d'une diarrhée aqueuse et de vomissements, fièvre absente ou modérée, douleurs abdominales absentes ou modérées, risque de déshydratation rapide	3 – 7 jours	Personne à personne, eau, aliments
Norovirus / Sapovirus GI, GII / I, II, IV, V	1 – 2 jours		2 – 3 jours	Personne à personne, eau, aliments (gouttelettes)
Astrovirus	1 – 4 jours		2 – 3 jours	Personne à personne, eau, aliments
Adénovirus F40 / 41	7 – 10 jours		5 – 12 jours	Personne à personne, eau, aliments
Bactéries				
<i>Campylobacter (jejuni / coli / upsaliensis)</i>	2 -5 jours	Mécanisme entéro-invasif (syndrome dysentérique) : diarrhées sanglantes, douleurs abdominales, fièvre, vomissements	3 - 6 jours	Aliments contaminés (volaille+++), eau, contact avec animaux infectés
<i>Salmonella spp.</i>	12 – 36 heures	Mécanisme entéro-invasif (syndrome gastro-entéritique) : Diarrhées rarement sanglantes, douleurs abdominales, fièvre, vomissements	3 – 5 jours	Aliments contaminés (volailles, œufs, lait), contact avec des animaux porteurs
<i>Yersinia enterocolitica</i>	5 – 7 jours	Mécanisme entéro-invasif (syndrome gastro-entéritique) : Diarrhées rarement sanglantes, fièvre, douleurs abdominales, parfois tableau d'adénite mésentérique mimant une appendicite aiguë	Jusqu'à 21 jours	Aliments contaminés (porc, eau, lait), contact avec animaux infectés
<i>Shigella spp.</i>	12 – 48 heures	Mécanisme entéro-invasif (syndrome dysentérique) : Diarrhées aqueuses abondantes au départ, devenant glaireuses, voire glairo-sanglantes, fièvre, douleurs abdominales intenses. Parfois troubles neurologiques	4 – 7 jours	Interhumaine surtout, aliments contaminés, eau
STEC / EHEC	3 – 4 jours	Mécanisme entéro-invasif (syndrome dysentérique) : Au départ, diarrhées non sanglantes, devenant hémorragiques avec douleurs abdominales intenses et fièvre modérée, risque de SHU	7 – 10 jours	Aliments contaminés (viande bovine insuffisamment cuite +++), contact avec animaux porteurs
Parasites				
<i>Giardia lamblia</i>	1 – 3 semaines	Fréquemment asymptomatique, possibles diarrhées aiguës, chroniques, douleurs abdominales, stéatorrhées	Variable, 1 – 2 semaines, mois (traitement)	Eau, aliments souillés, interhumaine
<i>Cryptosporidium spp.</i>	1 – 12 jours	Diarrhées aqueuses, fièvre modérée, douleurs abdominales	10 jours environ	Eau, aliments souillées, animaux, interhumaine

d. Physiopathologie et aspects cliniques

Une symptomatologie évoluant selon un mode aigu est liée dans la plupart des cas à une étiologie infectieuse (bactérienne, virale ou parasitaire) contrairement aux diarrhées prolongées (> 14 jours) voire chroniques qui sont le plus souvent liées à des pathologies non infectieuses telles que (9) :

- ✓ Causes fonctionnelles : syndrome du côlon irritable, colopathie fonctionnelle,...
- ✓ Causes médicamenteuses : AINS, laxatifs, antibiotiques,...
- ✓ Maladies inflammatoires chroniques de l'intestin (MICI) : Maladie de Crohn, rectocolite hémorragique
- ✓ Causes tumorales : Cancer du côlon, tumeur de l'intestin grêle,...
- ✓ Causes endocriniennes : Hyperthyroïdie, diabète, tumeurs carcinoïdes,...

Les parasitoses sont les causes majoritaires de diarrhées prolongées (> 14 jours) d'origine infectieuse notamment chez l'immunodéprimé et / ou lors d'un retour de voyage.

Parmi les diarrhées aiguës infectieuses, on distingue deux grands mécanismes en fonction des facteurs de virulence de l'agent pathogène, sécrétoire (syndrome cholériforme) ou invasif (syndromes dysentérique et gastro-entéritique).

i. Syndrome cholériforme

Il s'agit d'une entéropathie sécrétoire se manifestant par une diarrhée aqueuse dite « eau de riz » souvent abondante et inconstamment accompagnée de vomissements, il n'y a en général pas ou peu de fièvre et les douleurs abdominales restent modérées voire absentes. Ces symptômes sont les plus fréquemment rencontrés lors des périodes d'épidémie de GEA virales, ils restent en général bénins et spontanément résolutifs.

Ces diarrhées sont causées par une sécrétion active d'eau et d'électrolytes, par les cellules épithéliales de l'intestin grêle, provoquée par une toxine, on parle de mécanisme sécrétoire ou toxinique, mais il n'y a pas de destruction de l'épithélium digestif. Les mécanismes aboutissant à une diarrhée aqueuse sont multiples, variables et parfois encore mal élucidés en fonction des agents pathogènes.

Certaines entérotoxines vont provoquer une augmentation de l'AMPc intra-cellulaire et aboutir à une activation du canal chlore *CFTR*, une augmentation du calcium intra-cellulaire et un relâchement des jonctions serrées. La combinaison de ces trois mécanismes provoque une sécrétion excessive d'eau dans la lumière intestinale et donc une diarrhée sécrétoire (8). Ce mécanisme est valable pour l'entérotoxine du *Vibron cholérique*, la toxine thermolabile d'ETEC (8) ou encore la toxine de certains staphylocoques. D'autres entérotoxines provoquent une diarrhée par augmentation du GMPc intra-cellulaire comme c'est le cas pour la toxine thermostable d'ETEC (8). Certains virus produisent aussi une entérotoxine, par exemple, le rotavirus sécrète l'entérotoxine NSP4 (46). Un mécanisme osmotique peut s'associer au mécanisme sécrétoire et participer à la survenue de diarrhées aqueuses, notamment dans les infections virales. Il peut s'expliquer par une altération des activités enzymatiques dissaccharidasiques (maltase, lactase,...), une altération d'activité du symport glucose/sodium SGLT1 ou l'accélération du transit intestinal. Ces mécanismes provoquent une malabsorption des sucres, ce qui entraîne une augmentation de la pression osmotique intra-luminale et se traduit par un apport excessif d'eau dans la lumière intestinale (6, 48). Les **figures n°5** et **6** illustrent en partie ces différents mécanismes aboutissant à une diarrhée aqueuse.

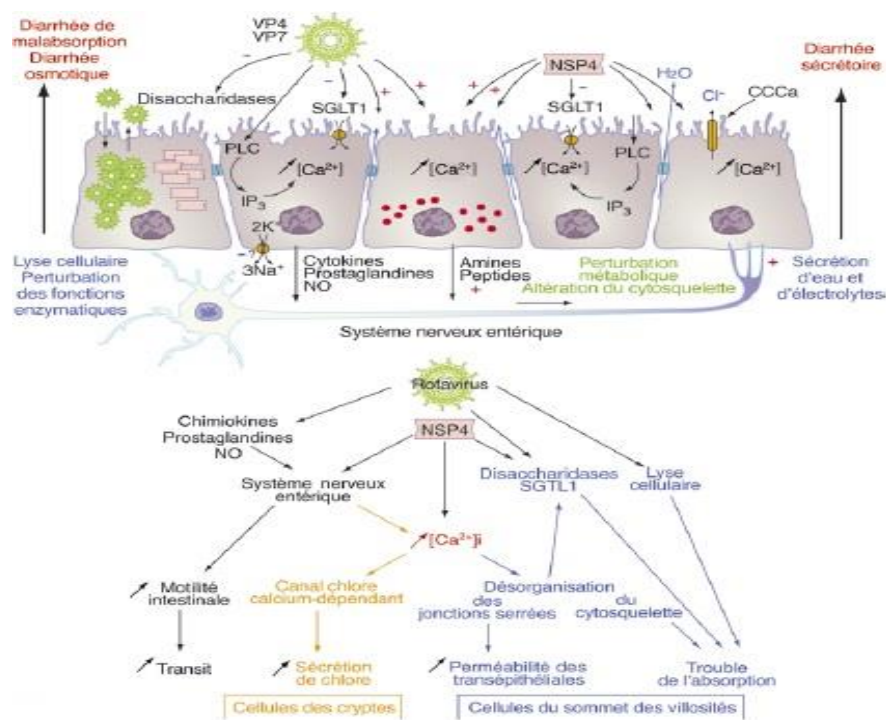


Figure n°5 : Représentation schématique des différents mécanismes de pathogénicité du rotavirus. Extrait de EMC-Biologie clinique, Rotavirus 90-55-0090 (2010) A. de Rougemont, P. Pothier (102)

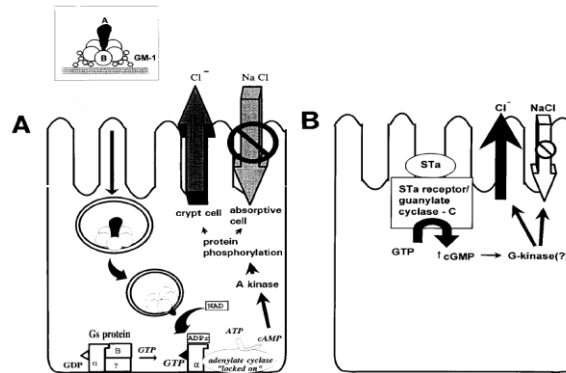


Figure n°6 : Mécanisme d'action classique des toxines d'EPEC. (A) Toxine thermolabile LT, production d'AMPc. (B) Toxine thermostable STa, production de GMPc (8)

Les agents infectieux provoquant un syndrome cholériforme sont principalement les virus (norovirus, rotavirus, adénovirus,...), certaines bactéries comme ETEC, *Vibrio cholerae* (contexte de catastrophe sanitaire), des agents de TIAC tels que *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus*, *Clostridium perfringens* ou encore des protozoaires comme *Cryptosporidium parvum* ou *Cyclospora cayatanensis*.

ii. Mécanisme entéro-invasif

Ce mécanisme se rencontre lors d'infections bactériennes. On distingue deux tableaux cliniques provoqués par un mécanisme invasif, le syndrome dysentérique et le syndrome gastro-entéritique (10).

• Syndrome dysentérique

C'est une entéropathie invasive se traduisant par l'émission de selles fréquentes mais peu abondantes et souvent afécales : glaireuses, muco-purulentes voire glairo-sanglantes associées à une hyperthermie, des douleurs abdominales diffuses et un syndrome rectal avec épreintes et/ou ténésmes. Une altération de l'état général et des vomissements peuvent parfois s'y associer.

Ces symptômes sont liés à l'adhésion puis l'invasion des entérocytes par des bactéries. Elles vont se multiplier dans la cellule et sécréter différentes toxines (cytotoxines, entérotoxines,...) jusqu'à la destruction de la cellule, ce qui provoque une réaction inflammatoire loco-régionale intense responsable de l'apparition de pus,

de mucus, de glaire et parfois de sang dans les selles. Les lésions touchent principalement le côlon.

Ce tableau clinique est typique de l'infection à *Shigella dysenteriae* mais on peut aussi voir ces symptômes lors d'une infection par une autre espèce de *Shigella* (*S. boydii*, *S. flexneri*, *S. sonnei*), par EHEC, EIEC ou encore *Campylobacter jejuni*. L'amoebiose colique à *Entamoeba histolytica* peut aussi provoquer ce type de tableau clinique mais sans hyperthermie.

- **Syndrome gastro-entérique**

Il s'agit d'un tableau clinique proche du syndrome dysentérique mais la symptomatologie est en général moins sévère avec des diarrhées fécales exceptionnellement sanglantes, parfois aqueuses, des douleurs abdominales diffuses, des vomissements et une hyperthermie. C'est un syndrome intermédiaire associant un mécanisme invasif et à un moindre degré toxinique. On peut le différencier du syndrome dysentérique par un lieu de multiplication bactérienne différent (10). En effet, les bactéries vont pénétrer la muqueuse digestive via les cellules M des plaques de Peyer (11) pour atteindre le tissu lymphoïde sous-muqueux et mésentérique afin de se multiplier au sein des macrophages, engendrant ainsi une réaction inflammatoire locale. Il n'y a donc pas de mécanisme cytotoxique ni de multiplication dans l'entérocyte, cependant, il existe tout de même une destruction de l'épithélium digestif mais de moindre intensité que lors d'un syndrome dysentérique, l'atteinte prédomine au niveau de l'intestin grêle. Les bactéries responsables de ce tableau clinique sont *Salmonella enterica* non typhiques (*S. enterica enteridis*, *S. enterica typhimurium*,...) et *Yersinia* (*Y. enterocolitica* et *Y. pseudotuberculosis*), on peut parfois le rencontrer lors d'infections virales. La multiplication de ces germes dans la sous-muqueuse intestinale induit un risque de dissémination par voie sanguine et donc de bactériémie notamment chez le patient immunodéprimé ou drépanocytaire (10).

e. Complications et évaluation de la sévérité

- **Déshydratation aiguë**

C'est la complication la plus fréquente lors d'une gastro-entérite aiguë, en particulier chez l'enfant. La déshydratation sera d'autant plus rapide et sévère que la

diarrhée est plus liquide et plus intense, qu'elle s'accompagnera de vomissements ou de fièvre, et que le malade est plus jeune (nourrisson) ou âgé. Elle est le plus souvent extracellulaire et pourra se manifester par un tableau clinique associant : pli cutané persistant (déshydratation sévère), asthénie, cernes oculaires, dépression de la fontanelle (chez le nourrisson), hypotension artérielle et tachycardie, ces deux derniers symptômes sont signes de choc hypovolémique. Chez l'enfant la tachycardie est un signe d'alerte plus précoce que l'hypotension. Des signes de déshydratation intracellulaire peuvent s'y associer tels que la soif, sécheresse des muqueuses (jugales), troubles neurologiques pouvant aller jusqu'au coma et dans les cas extrêmes, un hématome sous-dural et des thromboses cérébrales. La déshydratation aiguë s'accompagne d'une perte de poids, en particulier chez l'enfant, cependant, ce paramètre est rarement évaluable de façon fiable du fait de l'absence d'un poids récent et de l'existence d'un troisième secteur.

Au niveau biologique, la déshydratation intracellulaire se manifeste par des troubles hydro-électrolytiques tels que l'hypernatrémie (> 145 mmol/L) qui en est très révélatrice et l'hyperosmolalité plasmatique (> 300 mmol/L) alors qu'une déshydratation extra-cellulaire se manifeste par une hémococoncentration avec augmentation de l'hématocrite ($> 50\%$) et une hyperprotidémie (>80 g/L). La diminution du taux de bicarbonates (< 17 mmol/L) est aussi utilisée pour prédire une déshydratation chez l'enfant (110).

Il existe de nombreux scores permettant d'évaluer le degré de la déshydratation chez l'enfant (13 – 16). En effet, plusieurs travaux ont montré qu'aucun signe clinique ou biologique de déshydratation n'était à lui seul suffisamment discriminant pour évaluer l'état d'hydratation d'un enfant (12). Ces scores prennent en compte un certain nombre de critères cliniques afin de définir 2 ou 3 niveaux de sévérité : Pas de déshydratation, déshydratation légère à modérée, déshydratation sévère. La société française de pédiatrie (SFP) recommande l'utilisation du « Clinical Dehydration Scale » utilisé par le groupe francophone d'hépatogastroentérologie et nutrition pédiatrique (GFHGPN) (**Tableau n°2**) lui-même extrait des recommandations européennes de l'ESPGHAN et de l'ESPID proposées par *Guarino et al.* (5) Ce score est validé dans une population d'enfants âgés de 1 à 36 mois (19 – 21) mais son utilisation à grande échelle et son utilité pour guider l'attitude thérapeutique à adopter sont controversées (22), il est d'ailleurs peu utilisé en pratique. D'autres scores sont également recommandés par l'OMS (17) ou le CDC (18) mais ne sont pas validés.

Catégorie	Cotation 0	Cotation 1	Cotation 2
Apparence générale	Normale	Soif, agitation ou léthargie mais irritable au toucher	Somnolent, marche difficile, froid ou en sueur +/- comateux
Yeux	Normaux	Légèrement creux	Très creux
Muqueuses (langue)	Humides	Collantes	Sèches
Larmes	Larmes	Diminution des larmes	Pas de larmes

Score 0 : pas de déshydratation
Score 1-4 : déshydratation légère
Score 5-8 : déshydratation modérée à sévère

Tableau n°2 : Tableau d'évaluation de l'état d'hydratation extrait des recommandations d'experts du GFHGNP issu des recommandations européennes (Clinical Dehydration Scale) (5)

Des scores d'évaluation de la sévérité d'une diarrhée aiguë chez l'enfant ont été utilisés, notamment dans les cas de diarrhées à rotavirus. Le plus utilisé était celui de Ruuska – Vesikari (110), qui prenait en compte différents critères tels que la durée de la diarrhée, la présence d'une déshydratation, l'intensité de la fièvre,...etc. Différentes variantes de ce score ont été développées avec pour but principal d'harmoniser, dans les publications, les critères d'évaluation de sévérité des GEA chez l'enfant, ils ne sont pas utilisés en pratique clinique quotidienne (111).

Pour résumer, le facteur principal d'évaluation de la sévérité d'une GEA est la déshydratation et / ou la présence de facteurs de risque associés (103) :

- ✓ Age < 6 mois
- ✓ Antécédents de prématurité, de retard de croissance intra-utérin
- ✓ Cardiopathie, insuffisance respiratoire chronique, mucoviscidose, maladie métabolique, diabète, insuffisance rénale chronique, insuffisance surrénalienne
- ✓ Fréquence de selles > 8 / jours ou vomissements > 2 / jours avant 1 an ou > 4 / jour après 1 an.

- **Syndrome pseudo-occlusif**

Il s'agit d'un trouble fonctionnel pouvant résulter, lorsqu'il complique une gastroentérite aiguë, d'une cause métabolique (hypokaliémie), iatrogène comme l'utilisation d'inhibiteurs de la motricité intestinale tel que le loperamide (formellement contre-indiqué dans les diarrhées invasives et chez le nourrisson) ou d'une colite grave (Salmonella, Shigella,...), on parle dans ce cas d'iléus paralytique réflexe. C'est une complication peu fréquente mais grave car elle peut aboutir dans les cas extrêmes à l'apparition de zones de nécrose ou de perforations coliques. L'existence

d'un syndrome pseudo-occlusif doit toujours amener à la recherche d'une urgence chirurgicale (péritonite, appendicite ou occlusion intestinale vraie). Son traitement repose sur une antibiothérapie visant les germes d'origine digestive et adaptée à l'entéropathogène suspecté associée à la réhydratation et la nutrition parentérale exclusive.

- **Bactériémies et sepsis**

Il s'agit de complications rares mais toujours graves d'une GEA, pouvant évoluer en choc septique voire en syndrome de défaillance multi-viscérale, souvent fatal en l'absence de traitement. On peut les rencontrer lors de diarrhées bactériennes invasives et résultent du passage systémique de l'agent entéro-pathogène ou d'un autre micro-organisme digestif. Les enfants porteurs de comorbidités (immunodépression, drépanocytose homozygote) sont plus fréquemment touchés. Chez l'enfant, l'augmentation de mortalité lors d'un sepsis est très précoce (dès les premières 24 heures) (24), il s'agit donc d'une urgence thérapeutique absolue.

Le sepsis est aujourd'hui défini comme une dysfonction d'organe menaçant le pronostic vital et causée par une réponse inappropriée de l'hôte à une infection (définition sepsis-3) (23). Le score SOFA ou sa variante le quick SOFA (fréquence respiratoire > 22/min ; score de Glasgow < 13 ; pression artérielle < 100 mmHg) permettent d'identifier un patient ayant un risque de mortalité par sepsis supérieur à 10% (23). La survenue de ces complications nécessite l'instauration d'une antibiothérapie intraveineuse adaptée et une surveillance clinique accrue.

- **Autres complications**

La dénutrition est aussi une complication possible d'une GEA chez l'enfant, elle peut survenir suite à des vomissements incoercibles empêchant toute alimentation entérale (insuffisance d'apport) mais aussi être liée à une malabsorption de micronutriments résultant d'une atrophie villositaire. Cette atrophie résulte de plusieurs mécanismes complexes, comme la destruction cellulaire et le renouvellement cellulaire rapide qui engendre la mise en place d'entérocytes immatures et donc une diminution des activités dissaccharidasiques, notamment de la lactase (25,27). Les phénomènes immuns et inflammatoires engendrés participent aussi à cette atrophie villositaire (26). L'accélération du transit est aussi responsable

d'une diminution de l'absorption des hydrates de carbone (25,26). Chez l'enfant, la dénutrition peut-être à l'origine de retards de croissance ou du développement intellectuel, le maintien d'un apport alimentaire suffisant par voie entérale voire parentérale en cas de vomissements incoercibles est donc important dans la prise en charge d'une GEA.

Certaines complications sont plus spécifiques d'un pathogène particulier, par exemple, le syndrome de Guillain-Barré, retrouvé dans 50 à 75% des cas après un épisode infectieux, qu'il soit bactérien ou viral (30,31). Parmi ces causes, l'existence d'une infection récente à *Campylobacter jejuni* fait partie des plus fréquentes (32).

Les infections à *Y. enterocolitica* et *Y. pseudotuberculosis* peuvent aussi provoquer des complications post-infectieuses telles qu'un érythème noueux ou une arthrite réactionnelle.

Les shiga-toxines produites par *Shigella dysenteriae* type I et EHEC, notamment *E. coli* O157 : H7, peuvent provoquer un syndrome hémolytique et urémique (SHU), en particulier chez l'enfant.

Entamoeba histolytica, protozoaire responsable d'amébose colique ou dysenterie amibienne dans les zones tropicales peut aussi donner lieu à des complications qui lui sont propres. Ces complications peuvent se rencontrer au niveau colique comme l'appendicite amibienne ou la perforation colique, toutes deux pouvant rapidement évoluer vers la péritonite. L'amébose est une autre complication colique, il s'agit d'une tumeur inflammatoire d'évolution chronique pouvant se rencontrer plusieurs années après une amibiase aiguë (33). D'autres complications sont liées à sa dissémination par voie hématogène provoquant des foyers secondaires, au niveau hépatique dans la grande majorité des cas (35) (amibiase hépatique) mais des localisations pulmonaires (34), cardiaques, cérébrales sont aussi exceptionnellement retrouvées parfois même cutanées (36).

f. Diagnostic clinique

L'examen clinique du patient suffit en général à lui seul pour diagnostiquer une GEA infectieuse. En effet, la grande majorité des cas de GEA étant d'étiologie virale, les symptômes présentés sont typiques (diarrhées aqueuses, vomissements, éventuellement une fièvre modérée), des examens complémentaires ne sont alors pas indispensables en l'absence de facteurs de gravité.

L'interrogatoire des parents permet l'évaluation de la sévérité des symptômes (nombre de selles, capacité à s'alimenter, comportement,...) ainsi que la recherche d'antécédents particuliers tels qu'une pathologie sous-jacente, un retour de voyage ou la prise d'un traitement.

L'intérêt principal de l'examen clinique du patient est de rechercher des facteurs de gravité ou des signes de mauvaise tolérance, notamment des signes de déshydratation ou de sepsis (fièvre ou hypothermie, frissons, polypnée, tachycardie). Il permet aussi d'écartier une urgence chirurgicale. Cet examen permet de prendre la décision d'hospitaliser le patient ou non et de définir la conduite à tenir pour sa prise en charge.

g. Diagnostic biologique

Généralement, un patient hospitalisé pour GEA va bénéficier d'une analyse microbiologique des selles afin de déterminer l'agent étiologique. En fonction du tableau clinique, le clinicien décidera de rechercher un virus entérique, une bactérie (coproculture) et / ou un parasite, parfois les trois à la fois.

- **Aspect macroscopique des selles**

Le premier examen des selles arrivant au laboratoire est visuel, il s'agit de définir l'aspect. En effet, l'aspect ou la consistance des selles permet souvent d'orienter sur un pathogène, des selles complètement liquides orienteront plutôt vers un virus, alors que des selles glaireuses ou glairo-sanglantes, plutôt vers une bactérie invasive. Les différents aspects vont des selles moulées dures (constipation) aux selles liquides (diarrhée), en passant par les aspects pâteux, glaireux, hémorragiques. On peut se référer à l'échelle de Bristol pour harmoniser la détermination de la consistance des selles. Cette échelle définit sept types de consistances. (**figure n°7**). On peut suspecter la présence d'un agent pathogène à partir du type 5 jusqu'au type 7 de cette échelle, d'autant plus si les selles sont sanglantes, purulentes, glaireuses voire totalement afécales. La présence de sang dans les selles n'est pas forcément visible à l'œil nu, un test immunochromatographique permet cette recherche dans ce cas de figure.

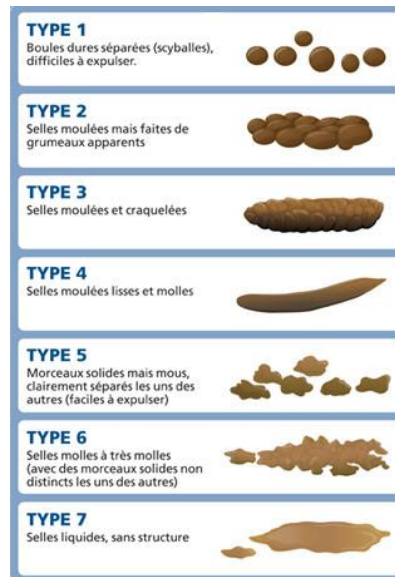


Figure n°7 : Echelle de Bristol

L'acheminement des selles au laboratoire dans un milieu de transport type Fecalswab® pose un problème pour la détermination de l'aspect par les techniciens de laboratoire, l'infirmière réalisant le prélèvement devrait renseigner l'aspect sur le bon de demande.

- **Examen microscopique**

Il consiste à faire un étalement du prélèvement de selles sur lame, de faire une coloration de Gram et d'observer au microscope. Cet examen n'est pas réalisé systématiquement, il permet d'analyser qualitativement (équilibrée ou non) et semi-quantitativement (abondante, diminuée) la flore fécale. L'examen microscopique permet aussi de rechercher des leucocytes fécaux, témoins d'un processus inflammatoire ou infectieux en cours.

- **Recherche de virus**

Cette recherche est prescrite dans la quasi-totalité des cas de GEA en pédiatrie. Elle est effectuée dans la grande majorité des cas par des tests immuno-chromatographiques mettant en évidence les antigènes viraux. Ces tests sont simples à réaliser et à lire, ils sont aussi particulièrement rapides (environ 5 à 10 minutes) et peu onéreux. Cependant, certains ont une sensibilité pouvant être améliorée, notamment les tests recherchant les adénovirus entériques.



Ils sont de loin, les tests les plus utilisés en routine dans les laboratoires de biologie médicale.

Trois virus entériques peuvent généralement être détectés par cette technique, le rotavirus, l'adénovirus et le norovirus. Quelques fabricants ont aussi conçu un test permettant de rechercher l'astrovirus dans les selles. Certains tests commercialisés ne vont rechercher qu'un seul de ces virus alors que d'autres permettent d'en rechercher 2 voire 3 de manière combinée.

D'autres techniques peuvent être utilisées pour rechercher les antigènes viraux, mais elles sont beaucoup moins courantes de nos jours en routine. Il s'agit par exemple des techniques d'agglutination ou des techniques ELISA. La microscopie électronique permet aussi la mise en évidence de virus dans les selles mais il s'agit d'une technique lourde et complexe pour une utilisation quotidienne. Cependant, elle permet de détecter tous les virus.

Enfin, les techniques moléculaires (PCR et RT-PCR) prennent de plus en plus d'ampleur de nos jours, elles permettent de rechercher un / des gène(s) spécifique(s) d'un virus en particulier (PCR simplex) ou de plusieurs virus en une seule analyse (PCR multiplex). Tous les virus entériques sont détectables par ces techniques, de plus, elles bénéficient des meilleures sensibilités et spécificités. Certains laboratoires spécialisés utilisent ces techniques sur demande spécifique ou en routine.

- **Recherche de bactérie(s)**

La coproculture est le « gold standard » pour la recherche de bactéries entéro-pathogènes. Elle consiste à mettre en culture sur différents milieux plus ou moins sélectifs (BCP, Hektoën, CIN, Campyloset, DCL,...), un échantillon de selles. Une coproculture standard permet de détecter les bactéries les plus fréquemment impliquées dans les GEA : *Salmonella spp.*, *Shigella spp.*,

Yersinia spp., *Campylobacter spp.* et certains *E. coli* diarrhégeniques. De plus, la souche d'intérêt étant obtenue en culture, il est possible par la suite de réaliser son identification et son antibiogramme. Le seul point faible de cette technique est le temps nécessaire à sa réalisation. En effet, comme toute culture bactérienne, un certain temps d'incubation est nécessaire avant de pouvoir rendre le résultat, 48 heures pour un résultat négatif complet de coproculture. Si un germe pathogène est



identifié, les ré-isolements et la réalisation d'un antibiogramme allongeront encore le délai d'obtention du résultat définitif d'au moins 24 heures.

D'autres tests peuvent être utilisés en complément de la coproculture, il existe par exemple des tests immuno-chromatographiques recherchant les shiga-toxines d'EHEC ou recherchant les antigènes de *Campylobacter spp.*

Concernant les *E. coli* diarrhégeniques, on utilise des techniques d'agglutination par des antisérums spécifiques afin de déterminer le sérotype. Ces germes sont recherchés principalement dans les selles diarrhéiques provenant d'enfants. Un sérotype est recherché en particulier, notamment chez l'enfant, du fait de sa virulence et du risque de complication (SHU), il s'agit d'*E. coli* O157 :H7. On le recherche par culture sur gélose au sorbitol (recherche du caractère sorbitol -) associé à une recherche de shiga-toxines par un test rapide immuno-chromatographique.

Tout comme la recherche de virus, la recherche de bactéries entéro-pathogènes peut être effectuée par des techniques de biologie moléculaire (PCR). Il existe de nombreux kits commercialisés allant de la recherche d'un seul germe pour certains, à la quasi-totalité des germes pathogènes pour d'autres. L'avantage majeur de ces techniques est la rapidité par rapport à la coproculture, elles bénéficient aussi de sensibilités et spécificités élevées. Cependant, la réalisation d'un antibiogramme après détection d'une souche en technique moléculaire nécessite toujours la mise en culture de l'échantillon.

- **Recherche de parasite(s)**

Tout comme les virus et bactéries, il existe des tests rapide immuno-chromatographiques recherchant les antigènes de certains parasites intestinaux, notamment *Giardia lamblia*, *Entamoeba histolytica* et *Cryptosporidium parvum*. Mais ces tests sont toujours à compléter par un examen parasitologique des selles (microscopie).

L'analyse microscopique des selles doit débuter par un état frais, c'est-à-dire un examen direct du prélèvement dilué dans une goutte d'eau physiologique monté entre lame et lamelle, sans méthode de concentration au préalable. L'ajout d'une goutte de lugol permet de colorer certains éléments parasitaires. C'est le seul moyen de visualiser des trophozoïtes de protozoaires intestinaux tels que des formes végétatives de *Giardia lamblia* ou d'*Entamoeba histolytica*, on peut aussi observer

des œufs d'helminthes ou des kystes de protozoaires. Cet examen direct à frais doit être réalisé rapidement après la réalisation du prélèvement, idéalement dans les 30 minutes à 1 heure.

Les éléments parasitaires étant généralement émis en faible quantité, des techniques de concentration des selles doivent être réalisées en complément de l'examen direct à frais. On réalise en général deux techniques différentes lors d'un examen parasitologique des selles. Il existe des méthodes physiques par sédimentation ou flottation et des méthodes physico-chimiques ou diphasiques. Les techniques par sédimentation sont simples mais souvent longues à mettre en œuvre, elles ne sont donc pas adaptées à une utilisation en routine. Les techniques par flottation reposent sur un principe physique simple, les selles sont diluées dans un liquide de densité supérieure à celle des éléments parasitaires qui vont alors rester en surface. On peut citer en exemple la technique de Willis, utilisant une solution saturée de chlorure de sodium qui est la plus adaptée à une utilisation en routine. D'autres techniques existent comme celle de Janeckso-Urbanyi ou la méthode de Faust. Ces techniques sont bien adaptées à la mise en évidence d'œufs d'helminthes mais peuvent les déformer en cas de contact prolongé avec la solution hypertonique. Enfin les techniques diphasiques utilisent un mélange d'une solution aqueuse (hydrophile) et une lipophile (éther), on obtient donc deux phases non miscibles, les éléments parasitaires se trouveront dans le culot, après centrifugation. De nombreuses techniques physico-chimiques existent, on peut citer la méthode de Bailenger qui est très utilisée, la MIF concentration, mais aussi celles de Ritchie, de Telemann-Rivas, de Junod,...etc. On pourra ajouter, en fonction de la technique utilisée, une goutte de lugol sur la lame avant observation au microscope, il existe aussi différentes techniques de coloration ou des colorants prêts à l'emploi. Il existe aujourd'hui des kits de concentration des selles prêts à l'emploi (ex : Parasep®). D'autres techniques spécifiques existent, le scotch-test de Graham pour les œufs d'oxyure, la technique de Baerman pour les larves d'anguillules ou la technique d'éclaircissement de Kato.

L'émission d'œufs ou de kystes dans les selles étant intermittente, il est nécessaire de répéter cet examen trois fois au minimum en cas de négativité. Enfin, cet examen nécessite un personnel entraîné et est souvent long à réaliser pour une sensibilité moyenne.

Des techniques moléculaires de PCR existent aussi pour la détection de gènes spécifiques de certains protozoaires comme *Giardia lamblia*, *Cryptosporidium spp.* ou *Entamoeba histolytica*.

h. Prise en charge et traitements

- **Critères d'hospitalisation**

L'un des premiers paramètres à évaluer dans la prise en charge d'une GEA est la nécessité ou non d'hospitaliser l'enfant. Quelques critères sont définis par la SFP et les recommandations européennes. Ainsi, l'enfant devra être hospitalisé s'il présente des signes de choc ou de déshydratation sévère, des troubles neurologiques (léthargie, convulsions,...), des vomissements incoercibles ou bilieux ou encore, en cas d'échec de la réhydratation orale. On hospitalisera aussi l'enfant ne présentant pas ces signes mais ayant une pathologie sous-jacente sévère, augmentant le risque de survenue rapide de complications, ou l'enfant pour lequel une urgence chirurgicale est suspectée. Enfin, dans toute situation où une prise en charge sécuritaire à domicile n'est pas garantie, l'hospitalisation dans un service de pédiatrie est nécessaire.

Lors de cette hospitalisation, les modalités de réhydratation (orale, sonde nasogastrique, intraveineuse), de réalimentation et les éventuels traitements médicamenteux seront discutés.

- **La réhydratation**

La déshydratation étant de loin, la complication la plus fréquente et une des plus graves lors d'une GEA, la mise en place rapide d'une réhydratation est l'élément majeur dans la prise en charge du patient. En fonction de la sévérité de la déshydratation et de la capacité à boire, on choisira entre l'administration de solutés de réhydratation orale (SRO), la réhydratation entérale par sonde nasogastrique ou la réhydratation intraveineuse.

La réhydratation par voie orale, dès qu'elle est possible à mettre en place, est indispensable dans tous les cas, même en cas de déshydratation sévère, on peut associer une réhydratation par voie orale et intraveineuse. En effet, quelle que soit l'étiologie de la GEA, une capacité d'absorption d'électrolytes et donc d'eau par les entérocytes persiste. Les SRO favorisent cette absorption par la présence

concomitante de sodium et de glucose et leur efficacité a été largement démontrée (103). Ils se présentent sous forme de sachets à diluer dans 200 mL d'eau, en France, plusieurs marques sont commercialisées comme Adiaril®, Picolite®, GES 45®, Fanolyte®,...etc. L'eau pure, l'eau de riz, les sodas ou jus de fruits ne sont pas recommandés pour la réhydratation des nourrissons. En effet, les sodas ont une osmolarité proches de 500 mOsm/L, une forte teneur en glucose, un contenu en sodium insuffisant et volontiers excessif en potassium (103).

En pratique, les SRO doivent être administrés en petite quantité mais très fréquemment, même en cas de vomissements. Les diarrhées peuvent être majorées eu début de traitement. L'enfant boit à volonté mais il est aussi possible de viser une correction du déficit hydrique en 4 heures, en se basant sur la perte de poids puis d'administrer 10 mL/kg par selles diarrhéiques ou vomissement (12, 103). Durant cette période, une surveillance est nécessaire, notamment au niveau du pouls, de la pression artérielle, de l'état de conscience, de l'émission d'urines, de l'aspect et de la fréquence des selles, ...etc.

En cas d'échec de la réhydratation par voie orale, notamment lors d'une intolérance alimentaire totale (vomissements+++), il est nécessaire de recourir à l'administration de SRO via une sonde nasogastrique ou à une réhydratation par voie intraveineuse. Un état de déshydratation sévère nécessitera la pose immédiate d'une perfusion.

Les recommandations européennes (5) préconisent l'utilisation de sérum salé à 0,9% au débit de 20 mL/kg/h pendant 2 à 4 heures, dans les cas de déshydratation sévère sans choc. En cas de choc, un bolus de 20 mL/kg de sérum salé 0,9% ou de Ringer lactate doit être administré d'emblée. La réhydratation peut aussi se faire par l'administration de sérum glucosé 5% contenant du chlorure de sodium à 3 g/L (< 2 ans) ou 4,5 g/L (> 2 ans) (103) et la réhydratation par voie orale doit être reprise dès que possible. En pratique, il n'existe aucun protocole standardisé de réhydratation intraveineuse chez l'enfant, de ce fait, les volumes administrés, les compositions et la durée d'administration sont variables et reposent le plus souvent sur des recommandations historiques ou l'expérience personnelle du clinicien (5).

Toutefois, une surveillance accrue est nécessaire lors de la réhydratation intraveineuse d'un enfant hypernatrémique, car une correction trop rapide de la natrémie peut engendrer la formation d'un œdème cérébral (12). Il est recommandé dans ce cas d'utiliser des solutés hypertoniques (3 à 5 g/L de sodium) sur une durée

d'au moins 12 heures, afin de corriger lentement l'hypermnatrémie, elle ne doit pas diminuer de plus d'1 mmol/L/h.

- **La réalimentation**

Le rétablissement des apports énergétiques normaux pour limiter le risque de dénutrition et diminuer la durée des diarrhées est le second point essentiel de la prise en charge des GEA chez l'enfant. Les recommandations européennes et françaises préconisent une reprise précoce de l'alimentation (5, 103), lorsqu'il s'agit d'un nourrisson nourri au sein, l'allaitement doit être maintenu en complément du SRO durant toute la durée de l'épisode diarrhéique. Pour les nourrissons alimentés par du lait artificiel, la reprise de l'alimentation doit être effectuée dans les 4 à 6 heures au maximum. La dilution plus élevée du lait en poudre, l'utilisation formules sans lactose ou d'hydrolysats de protéines n'est pas recommandé en systématique (5, 12). En effet, d'après une étude exhaustive des experts de l'ESPGHAN (5), aucune publication ne soutient l'hypothèse selon laquelle la consommation de préparations lactées contenant des protéines entières de lait de vache par un nourrisson < 2 mois pourrait induire une allergie à ces composés. Cependant, chez les nourrissons souffrant de lésions intestinales préexistantes, de malnutrition sévère ou d'une diarrhée prolongée, un lait sans lactose apparaît indiqué (12). Chez l'enfant plus âgé, ayant une alimentation diversifiée, une reprise normale, sans régime particulier, doit être effectuée dans les 4 à 6 heures suivant le début de la réhydratation, en évitant tout de même les aliments laxatifs.

- **Traitements médicamenteux**

Concernant les traitements anti-diarrhéiques, seuls le racécadotril (112) et la diosmectite (113) ont un effet prouvé sur la réduction de la durée de la diarrhée et du nombre de selles. Le racécadotril a un effet anti-sécrétoire intestinal sans action sur la motilité intestinale, grâce à son action inhibitrice sur l'enképhalinase intestinale. La diosmectite est un agent adsorbant intraluminal qui permet de réduire la durée de la diarrhée et d'augmenter les capacités d'absorption intestinale. Il s'agit des seuls médicaments antidiarrhéiques recommandés par les groupes d'experts (5) et l'OMS. Le loperamide est un ralentisseur de transit et un anti-sécrétoire qui permet de réduire efficacement la durée et la fréquence des diarrhées (12). Cependant, il a provoqué des décès lors d'études cliniques, il est donc contre-indiqué chez l'enfant <

8 ans et déconseillé chez l'enfant plus âgé (12). Ce type de médicament va allonger la durée du transit intestinal et donc favoriser la multiplication de bactéries pathogènes en cas de diarrhée invasive bactérienne.

Au niveau des traitements antiémétiques, leur utilisation systématique n'est pas recommandée (5), seule l'utilisation d'ondansétron pourra être discutée au cas par cas, dans les formes sévères, hospitalisées avec vomissements incoercibles. Il est le seul médicament à avoir prouvé son efficacité avec une balance bénéfice risque favorable, même si il peut majorer les diarrhées en début de traitement (114). Les autres antiémétiques comme la dompéridone, la métopimazine ou le métoclopramide ne sont pas recommandés (5).

On peut associer à ces traitements, des probiotiques tels que *Lactobacillus rhamnosus* GG (116) ou *Saccharomyces boulardii* (115) qui permettent de diminuer la durée et l'intensité des diarrhées (5). Ce sont les seuls probiotiques recommandés par les groupes d'experts français et européens.

La supplémentation en zinc est recommandée par l'OMS et l'UNICEF dans la prise en charge des diarrhées aiguës chez l'enfant vivant dans un pays en voie de développement. En Europe, la malnutrition et la carence en zinc étant rares, cette supplémentation n'apporte aucun bénéfice même si sa mise en place ne comporte pas de risque particulier.

- **Traitements antibiotiques / antiparasitaires**

L'utilisation d'antibiotique n'est pas courante lors d'une GEA, d'une part, parce que la grande majorité est d'étiologie virale, d'autre part, parce qu'une GEA bactérienne ne nécessite pas systématiquement l'instauration d'une antibiothérapie. Lors d'une infection parasitaire, un traitement spécifique est généralement recommandé pour éradiquer l'agent pathogène. En France, le Groupe de Pathologie Infectieuse Pédiatrique (GPIP) a émis des recommandations concernant le traitement antibiotique des infections intestinales chez l'enfant (117). Ces recommandations sont utilisées par la SFP et sont en accord avec les dernières recommandations de l'ESPGHAN (5), elles sont détaillées dans le **tableau n°3**.

Tableau n°3 : Traitement antibiotique / antiparasitaire des GEA (5)

Agent pathogène	Antibiotiques préférés	Alternative en cas d'allergie	Commentaire
<p><i>Salmonella spp.</i> Antibiothérapie recommandée si : -<i>S. typhi</i> ou <i>paratyphi</i> - < 3 mois - Sepsis / bactériémie - Drépanocytose / immunodépression</p>	<p>Antibiotique le plus souvent non nécessaire</p> <p>Ceftriaxone IV (3 à 5 jours)</p>	<p>Ciprofloxacine (3 à 5 jours)</p>	<p>Les antibiotiques ne raccourcissent ni le portage, ni la durée des symptômes</p> <p>Cependant, une fièvre prolongée ou une diarrhée persistante imposent une antibiothérapie</p>
<p><i>Shigella spp.</i></p>	<p>Azithromycine PO (3 jours)</p>	<p>Ciprofloxacine PO (3 jours) Ceftriaxone IV (3 jours)</p>	<p>Toute shigellose diagnostiquée doit être traitée même s'il s'agit d'une diarrhée en apparence banale</p>
<p><i>Campylobacter jejuni</i></p>	<p>Azithromycine PO (3 jours)</p>	<p>Ciprofloxacine PO (5 jours)</p>	<p>Les antibiotiques ne sont pas indiqués si le patient est asymptomatique ou pauci-symptomatique lors du résultat de la culture.</p> <p>Dans les 3 premiers jours, les antibiotiques raccourcissent le portage et la durée de la maladie</p>
<p><i>Yersinia enterocolitica</i></p>	<p>Cotrimoxazole PO (5 jours)</p> <p>Ceftriaxone IV (5 jours)</p>	<p>Doxycycline (5 jours ; > 8 ans)</p> <p>Ciprofloxacine (5 jours ; < 8 ans)</p>	
<p><i>Clostridium difficile</i></p>	<p>Métronidazole PO (10 jours)</p> <p>Arrêt des antibiotiques ayant favorisés l'infection à <i>C. difficile</i> à chaque fois que possible</p>	<p>Vancomycine PO (10 jours)</p>	<p>La présence de toxine(s) n'a pas de valeur diagnostique avant l'âge de 2 ans sauf en cas d'obstruction intestinale. Après cet âge, l'interprétation doit se faire en fonction du contexte clinique.</p> <p>Un avis spécialisé est nécessaire chez l'enfant immunodéprimé ou en cas de récurrence.</p>
<p><i>Giardia lamblia</i></p>	<p>Métronidazole PO (5 jours)</p>	<p>Tinidazole PO (prise unique) Ornidazole PO (5 jours) Albendazole PO (3 à 5 jours)</p>	<p>Répéter éventuellement le traitement après 10 à 15 jours.</p>
<p><i>Entamoeba histolytica</i></p>	<p>Métronidazole PO (7 à 10 jours)</p>	<p>Tinidazole PO (3 à 5 jours)</p> <p>Ornidazole PO (7 jours)</p>	<p>Toujours faire une coproculture pour éliminer une cause bactérienne.</p>

2. Approche syndromique par le panel GI FilmArray®

Le FilmArray® panel GI est un test diagnostique *in vitro* permettant la détection simultanée et l'identification de bactéries, virus et parasites responsables de symptômes digestifs, en 1 heure environ. Il s'agit d'un système fermé et automatisé réalisant l'extraction des acides nucléiques, les amplifications et la lecture des résultats. Ce test est qualitatif, cible 22 agents pathogènes et est réalisable directement à partir d'un prélèvement de selles recueillies sur milieu Cary-Blair. L'analyse est réalisée sans intervention manuelle, dans des cassettes spécifiques prêtes à l'emploi, seules les injections dans la cassette, de la solution d'hydratation et de la solution tampon contenant l'échantillon sont manuelles.

La liste des 22 pathogènes recherchés par le panel GI FilmArray® est la suivante :

- ✓ Adénovirus F40/41
- ✓ Astrovirus
- ✓ Norovirus GI/GII
- ✓ Rotavirus A
- ✓ Sapovirus (I, II, IV, V)
- ✓ *Campylobacter (jejuni / coli / upsaliensis)*
- ✓ *Salmonella spp.*
- ✓ *Plesiomonas shigelloides*
- ✓ *Yersinia enterocolitica*
- ✓ *Clostridium difficile* (toxins A / B)
- ✓ *Vibrio (parahaemolyticus / vulnificus)*
- ✓ *Vibrio cholera*
- ✓ *E. coli* entéro-agrégatif (EAEC)
- ✓ *E. coli* entéro-toxinogène (ETEC)
- ✓ *E. coli* entéro-pathogène (EPEC)
- ✓ *E. coli* producteur de shiga-toxines (STEC)
- ✓ *E. coli* O157
- ✓ *E. coli* entéro-invasif (EIEC) / *Shigella spp.*
- ✓ *Cryptosporidium spp.*
- ✓ *Giardia lamblia*
- ✓ *Entamoeba histolytica*
- ✓ *Cyclospora cayetanensis*

a. Préparation de la cassette

La préparation d'une cassette FilmArray® est très simple, elle nécessite moins de 5 minutes de manipulation en incluant le nettoyage de la zone de travail et ne nécessite pas de mesure précise de volume. Cette étape consiste à injecter dans la cassette, préalablement insérée sur la station de chargement, une solution d'hydratation et le tampon de lyse contenant 200 µL d'échantillon de selles dilué dans un milieu Cary-Blair. Des orifices sont prévus à cet effet sur la cassette et des codes couleurs indiquent à l'opérateur l'orifice d'injection de chaque solution. L'aspiration des solutions dans la cassette est réalisée grâce à un vide d'air qui permet de s'affranchir de toute mesure de volume. Cette préparation doit être effectuée dans des conditions d'hygiène strictes, sous une hotte dédiée après nettoyage de la zone de travail et de la station de chargement. Ces étapes sont schématisées sur la **figure n°8**.



Figure n°8 : Préparation d'une cassette FilmArray®

b. Principe de l'analyse

Une fois la cassette insérée dans l'automate FilmArray®, toute l'analyse est automatisée jusqu'au rendu du résultat. Les réactifs nécessaires à l'extraction et purification des acides nucléiques, la transcription inverse, les PCR et la détection sont contenus dans la cassette sous forme lyophilisée. Une fois l'analyse lancée, plusieurs étapes vont se succéder dans les différents compartiments de la cassette.

- **Lyse et purification des acides nucléiques**

L'échantillon est tout d'abord lysé par une combinaison de processus chimiques et mécaniques (broyage par billes) afin de libérer les acides nucléiques. Ces derniers sont ensuite capturés, lavés et élués selon une technique utilisant des

billes magnétiques. Ces étapes sont réalisées dans les trois premiers compartiments de la cassette. (cf **figure n°9a**).

- **Transcription inverse et 1^{ère} PCR multiplex**

De nombreux agents entéro-pathogènes sont des virus à ARN, une étape de transcription inverse (RT-PCR) est donc nécessaire afin de convertir l'ARN viral en ADN complémentaire avant l'amplification. En parallèle, une première réaction de PCR se déroule afin d'amplifier d'éventuelles séquences cibles présentes dans l'échantillon. La solution d'acides nucléiques purifiés est mélangée à une solution préchauffée contenant les réactifs nécessaires à la transcription inverse et à la première réaction de PCR (amorces, transcriptase,...). Cette première PCR permet d'enrichir la solution en acides nucléiques cibles présents dans l'échantillon.

- **2^{ème} PCR (PCR nichée)**

Avant cette deuxième réaction, les produits de la première PCR sont dilués et mélangés avec un agent intercalant fluorescent (LCgreen® Plus). Cet agent émet un signal de fluorescence lorsqu'il est fixé sur l'ADN double brin. L'analyse FilmArray® fait appel à la technique dite de la PCR nichée (nested PCR). Cette technique consiste à réaliser une deuxième réaction de PCR ciblant une séquence d'acides nucléiques inclus dans les produits d'amplification de la première réaction. Cette opération est réalisée dans des micro-puits contenant une deuxième paire d'amorces ciblant des séquences d'acides nucléiques spécifiques des agents pathogènes recherchés. Dans chaque puit se déroule donc une réaction de PCR simple si la séquence cible est présente. Cette technique de PCR nichée permet de limiter fortement les problèmes d'amplification non spécifique (fixation des amorces sur un site incorrect) et donc d'améliorer la spécificité de la réaction. Chaque paire d'amorces est présente en trois exemplaires (trois puits contenant la même paire d'amorces).

- **Analyse des courbes de fusion d'ADN**

Les copies d'ADN double brin générées lors de la PCR (amplicons) ont des séquences uniques basées sur la matrice qui a été amplifiée. La longueur et la séquence de l'amplicon déterminent la température à laquelle l'ADN double brin va

se séparer en simples brins appelée température de fusion (T_f) de l'amplicon. Les produits de PCR issus de différentes cibles auront des séquences différentes et donc des T_f différentes.

Après le dernier cycle de PCR, le système FilmArray® va augmenter progressivement la température entre 60°C et 94°C. Lorsque la température atteint la T_f d'un amplicon, ce-dernier va se dénaturer et le signal de fluorescence va diminuer par libération de l'agent intercalant. L'analyse des signaux de fluorescence permet au système d'établir une courbe de fusion puis la représentation de la dérivée de cette courbe permet d'obtenir un pic à la T_f spécifique de la cible recherchée (**figure n°9b**). Le logiciel va alors comparer cette T_f à la plage de T_f attendues, si cela correspond, le résultat sera alors considéré comme positif. Comme dit précédemment, chaque paire d'amorces est présente en trois exemplaires, une fois les courbes de fusion identifiées, le logiciel évalue les trois répliques de chaque essai. Pour qu'un test soit positif, au moins deux des trois courbes de fusion doivent être considérées comme positives et la T_f doit être similaire (à 1°C près) pour au moins deux des trois courbes de fusion positives.

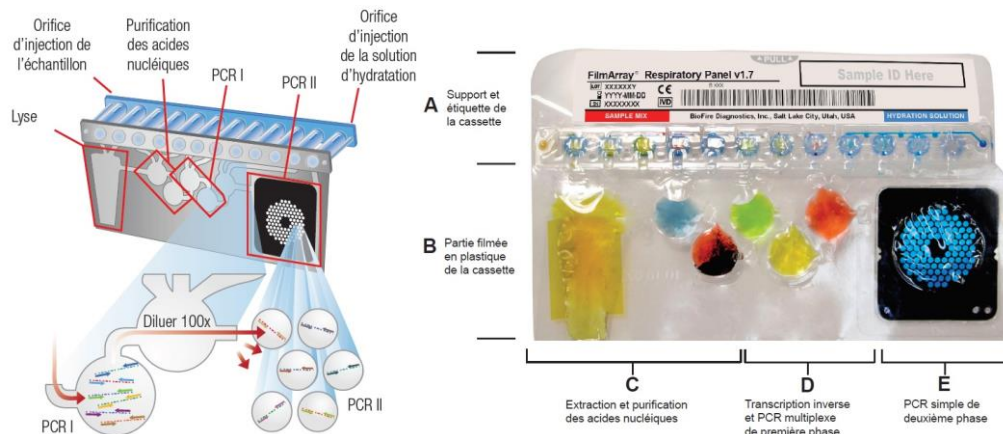


Figure 9a : Représentations (schématique et réelle) d'une cassette FilmArray et des étapes se déroulant lors de l'analyse (les liquides colorés ne sont qu'une illustration destinée à favoriser la visualisation)

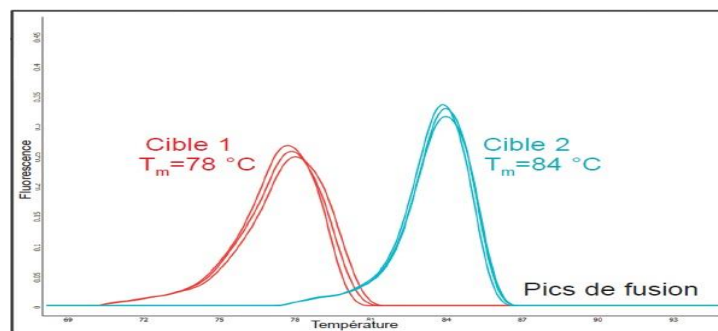


Figure 9b : Représentation des dérivées des 3 courbes de fusion pour 2 cibles différentes

- **Contrôles de qualité**

Deux contrôles sont inclus dans chaque cassette :

- ✓ **RNA Process control (contrôle du traitement de l'ARN)**

Ce contrôle cible un produit de transcription (ARN) d'une levure, *Schizosaccharomyces pombe*, présente sous forme lyophilisée dans la cassette. Ce contrôle passe par toutes les étapes du processus d'analyse, notamment la lyse, l'extraction et purification des acides nucléiques, la transcription inverse, la 1^{ère} étape de PCR, la dilution, la 2^{ème} PCR et la fusion de l'ADN. Un résultat positif indique donc que toutes ces étapes se sont déroulées correctement.

- ✓ **PCR2 control (contrôle de PCR 2)**

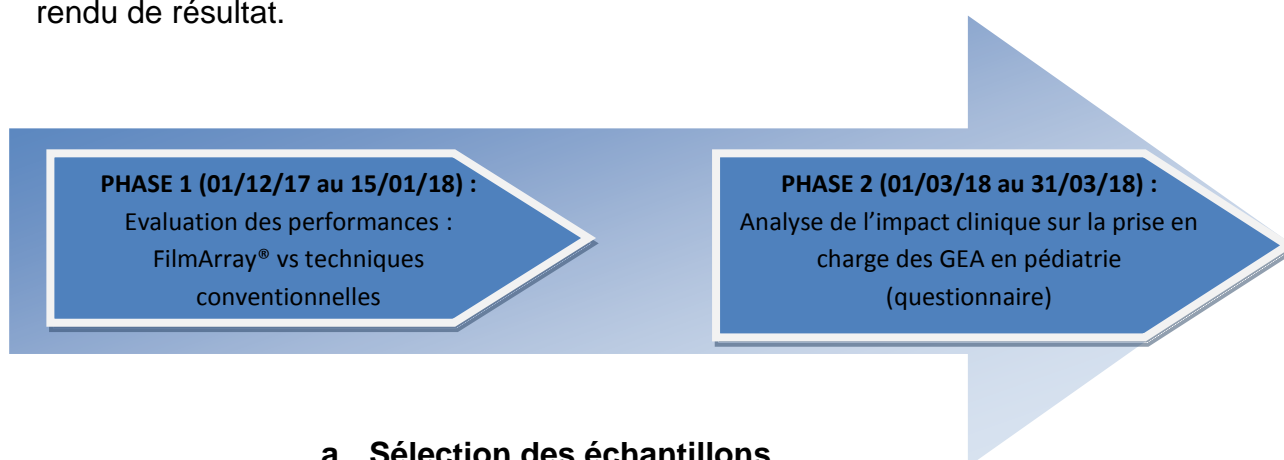
Ce contrôle utilise une cible d'ADN séchée dans les micro-puits avec les amorces correspondantes. Un résultat positif indique que la 2^{ème} réaction de PCR s'est déroulée correctement.

Pour qu'une analyse soit validée, les deux tests de contrôle doivent être positifs, le système émet alors un rapport d'analyse comportant les résultats de type détecté / non détecté, pour chaque pathogène recherché (annexe 2).

MATERIELS ET METHODES

1. Modalités de l'étude

Notre étude est monocentrique et prospective. Elle s'est déroulée en deux phases, une première phase (01/12/17 au 15/01/18) destinée à analyser les performances analytiques du FilmArray® par comparaison aux techniques diagnostiques classiques du laboratoire (coproculture, recherche d'antigènes viraux par immunochromatographie, examen parasitologique des selles) en termes de taux de positivité et de détection de co-infection. Puis une deuxième phase (01/03/18 au 30/03/18) destinée à évaluer l'impact de cette nouvelle technique en pratique clinique notamment sur le diagnostic, les moyens thérapeutiques mis en place et le délai de rendu de résultat.



a. Sélection des échantillons

Cette étude a été réalisée sur toutes selles faisant l'objet d'une demande d'analyse microbiologique et provenant des services d'hospitalisation ou de consultations de pédiatrie ou de néonatalogie du Centre Hospitalier de Béthune. Ainsi, tout échantillon pour lequel une demande de coproculture et/ou de recherche virologique (rotavirus, adénovirus, norovirus) et/ou d'examen parasitologique a été prescrite pendant les périodes d'inclusion a été analysé par FilmArray®.

b. Conservation des échantillons

Pour chaque prélèvement de selles reçu au laboratoire, un aliquot a été mis en milieu Cary-Blair (COPAN FecalSwab®) et conservé à +4°C pour l'analyse par FilmArray® et un autre en micro-tube, conservé à -80°C pour une éventuelle analyse ultérieure.

c. Phase 1 : FilmArray® vs méthodes conventionnelles
(étude non interventionnelle)

Cette phase était non interventionnelle, c'est-à-dire que la prise en charge des échantillons inclus dans l'étude est restée strictement la même. Les analyses prescrites ont été réalisées par les techniques conventionnelles et leurs résultats rendus aux prescripteurs. Tous les résultats positifs ont été immédiatement communiqués par téléphone et l'heure d'appel a été tracée dans le SIL.

Les aliquots (Cary-Blair et micro-tube) ont été préparés après réalisation des examens prescrits (ensemencement de coproculture, tests virologiques,...). L'analyse par le panel GI FilmArray® a été réalisée à posteriori, grâce à l'aliquot de selles en milieu Cary-Blair conservé à +4°C, dans un délai maximum de 96 heures après le prélèvement, conformément aux recommandations du fabricant. Le clinicien n'était pas informé du résultat de l'analyse moléculaire.

Cette phase de l'étude a permis de comparer les résultats des différentes techniques au niveau des pathogènes détectés, des taux de positivité, des taux de détection de co-infection, mais aussi de calculer les délais de rendu de résultat par les méthodes conventionnelles ainsi que la proportion de patients sortant sans résultat complet de leur analyse des selles.

d. Analyse des discordances (phase 1)

Durant cette première phase, les résultats discordants entre les techniques ainsi que les pathogènes identifiés par FilmArray® pour lesquels aucun test n'était disponible au laboratoire ont fait l'objet d'une vérification. Plusieurs cas de figure sont détaillés ci-dessous.

- **Recherches non prescrites**

L'analyse par FilmArray® recherchant systématiquement 22 agents pathogènes, il se peut qu'un pathogène identifiable par les tests conventionnels soit détecté par FilmArray® alors que sa recherche n'était pas prescrite. Lorsque ce cas de figure s'est présenté, le test conventionnel du laboratoire a été réalisé en vérification du résultat FilmArray® sans en rendre le résultat au clinicien.

- **Résultats discordants entre les techniques**

Il s'agit dans ce cas d'un résultat négatif par les techniques conventionnelles (recherche prescrite ou vérification d'une recherche non prescrite) et positif par FilmArray® pour le même agent pathogène. Dans ce cas de figure, le test conventionnel a été réalisé une deuxième fois, sans en rendre le résultat au clinicien. En cas de second résultat négatif (discordance confirmée), l'échantillon a été envoyé au laboratoire R&D Biomérieux® pour vérification par une technique moléculaire complémentaire.

- **Résultats non vérifiables au laboratoire du CHB**

Pour certains pathogènes détectés par le panel GI FilmArray®, nous ne disposons d'aucun moyen de vérification, par exemple, les sapovirus, astrovirus, EPEC, EAEC,... Lorsque l'un de ces pathogènes a été détecté, l'échantillon a été envoyé au laboratoire R&D Biomérieux® pour vérification.

- **Vérification par le laboratoire R&D Biomérieux®**

Lorsqu'une technique moléculaire complémentaire était nécessaire, les aliquots (Fecalswab® et micro-tube à -80°C) ont été envoyés pour vérification. Les fichiers informatiques générés par le système FilmArray®, contenant les informations sur le déroulement de l'analyse de ces échantillons à vérifier (signal de fluorescence, courbes de fusion,...) ont été joints aux prélèvements.

La vérification de cette société a consisté à analyser les fichiers informatiques relatifs à chaque analyse, puis, chaque échantillon a été analysé par un test comparateur : PCR puis séquençage. Les amorces utilisées pour le test comparateur sont différentes de celles utilisées dans la cassette FilmArray®.

e. Phase 2 : Evaluation de l'impact clinique (étude interventionnelle)

Cette deuxième phase était interventionnelle, toutes les techniques de routine d'analyse des selles ont été remplacées par l'analyse du panel GI FilmArray® et le résultat rendu au clinicien. Une note d'information et de consentement devait être

signée avant réalisation de l'analyse, par chaque parent ou tuteur légal d'enfant inclus dans l'étude.

Les échantillons de selles ont été mis en milieu Cary-Blair dès leur arrivée au laboratoire de microbiologie, puis l'analyse FilmArray® a été réalisée par les techniciens du secteur microbiologie en respectant les recommandations du fabricant. Ces analyses ont été réalisées 7 j / 7 de 7 h à 21 h et les techniciens exécutant ces analyses ont été préalablement formés à leur réalisation, à la saisie et au rendu téléphonique des résultats. Une fois l'analyse terminée, le rapport d'analyse FilmArray® a été scanné et devenait alors consultable par le prescripteur sur le serveur de résultat. Ces résultats étaient uniquement disponibles pour les pédiatres.

En cas de résultat positif pour une bactérie identifiable par coproculture, l'échantillon a été ensemencé afin de réaliser l'antibiogramme de la souche.

L'évaluation de l'impact clinique a été réalisée par un questionnaire destiné à être rempli par le médecin prescripteur de l'analyse, après réception des résultats (**annexe 1**). Ce questionnaire était destiné à évaluer l'impact sur le diagnostic retenu, le délai d'obtention du résultat, la stratégie thérapeutique mise en place et les précautions complémentaires. Nous avons aussi récupéré pour chaque patient, l'hypothèse diagnostique principale retenue par le pédiatre avant l'obtention du résultat FilmArray®.

f. Détection des toxines de *Clostridium difficile*

Le portage asymptomatique de souches toxigènes de *C. difficile* est très fréquent dans la population pédiatrique, notamment chez l'enfant < 2 ans. D'ailleurs, ce germe n'est pas recherché en routine lors de la prescription d'une coproculture chez un enfant. Les résultats positifs pour les toxines de *C. difficile* chez les enfants < 2 ans n'ont donc pas été pris en compte pour le calcul des taux de positivité et le rapport d'analyse FilmArray® était accompagné d'un commentaire invitant le médecin à ne pas tenir compte d'un résultat positif pour ce pathogène chez ces enfants.

2. Recueil des données

Toutes les données administratives (âge, sexe), les informations relatives à l'hospitalisation du patient (date et heure d'admission / de sortie), les informations

relatives au prélèvement et au rendu de résultat (date et heure de prélèvement, de validation du bilan, de communication téléphonique des résultats) ont été recueillis grâce au système de gestion de l'information du laboratoire (SIL) GLIMS® (MIPS).

Concernant la mesure des délais de rendu de résultat, plusieurs cas de figure doivent être expliqués :

- ✓ Résultat positif (techniques conventionnelles et FilmArray®) : communication téléphonique immédiate du résultat par le technicien ayant réalisé l'analyse. Le délai de rendu de résultat a donc été mesuré entre l'heure de prélèvement et l'heure d'appel du résultat.
- ✓ Résultat négatif : tests virologiques et FilmArray® : résultat disponible pour le clinicien dès la validation technique par le technicien (résultat libéré sous la responsabilité du biologiste). Le délai de rendu a été mesuré entre l'heure de prélèvement et l'heure de la validation technique.
- ✓ Résultat négatif : coproculture et parasitologie : résultat disponible pour le clinicien après validation biologique du résultat (par un biologiste). Le délai de rendu a été mesuré entre l'heure de prélèvement et l'heure de validation biologique du résultat.

Les informations concernant le tableau clinique présenté par le patient ont été recueillies par consultation des dossiers patients, en accord avec les pédiatres. Comme dit précédemment, les informations sur l'impact clinique (phase 2) ont été obtenues via un questionnaire à remplir par les pédiatres après réception du résultat d'analyse FilmArray®. Ces questionnaires ont été récupérés dans le service une fois par semaine.

3. Techniques d'analyse des échantillons

a. Méthodes conventionnelles (phase 1)

i. Coproculture standard

Selon la nomenclature de biologie médicale, la coproculture standard (**figure n°10**) permet la recherche de :

- ✓ *Salmonella spp.*
- ✓ *Shigella spp.*
- ✓ *Campylobacter spp.*

- ✓ *Yersinia spp.* (ajout d'une gélose particulière sur demande spécifique)

A cette recherche standard peuvent s'ajouter des recherches particulières notamment chez l'enfant. Par exemple, au centre hospitalier de Béthune, pour toutes selles diarrhéiques d'enfants < 2 ans ou glairo-sanglantes ou en cas de suspicion de syndrome hémolytique et urémique (SHU), une recherche d'EHEC O157:H7 est réalisée par ensemencement d'une gélose SMAC (recherche du caractère sorbitol – des *E. coli* O157:H7). La recherche d'autres sérotypes d'*E. coli* pathogènes est aussi réalisée systématiquement chez les enfants < 2 ans par des techniques d'agglutination. Le délai minimum pour rendre une coproculture négative est de 48 heures, ce délai sera allongé en cas de positivité.

Culture :

Différents milieux sont ensemencés pour la réalisation d'une coproculture :

- ✓ **BCP** (gélose avec lactose + BromoCrésol Pourpre) : Milieu non sélectif pour l'isolement des coliformes.
- ✓ **DCL** (Biomérieux®) (gélose avec DésoxyCholate + Lactose) : Milieu sélectif utilisé pour l'isolement des entérobactéries pathogènes (*Salmonella spp.*, *Shigella spp.*, *Yersinia spp.*).
- ✓ **HEKT** (Biomérieux®) (gélose Hektoen : 3 sucres (lactose, saccharose, salicine) + indicateur coloré (bleu de bromothymol)) : Milieu sélectif utilisé pour l'isolement des entérobactéries pathogènes (*Salmonella spp.*, *Shigella spp.*).
- ✓ **CAM** (Biomérieux®) (gélose Campyloset) : Milieu sélectif utilisé pour l'isolement de *Campylobacter spp.*
- ✓ **SELENITE CYSTINE** (Oxoid®) (bouillon au sélénite complet + cystine) : Milieu d'enrichissement recommandé pour la recherche de *Salmonella spp.*, à repiquer à J1 sur gélose SALM.
- ✓ **SALM** (Biomérieux®) (gélose ChromID Salmonelle Elite) : Milieu sélectif et chromogène utilisé pour l'isolement de *Salmonella spp.* ensemencé à J1.
- ✓ **KLIGKER HAJNA** (gélose inclinée au lactose et glucose) : Milieu utilisé pour différencier les bactéries en fonction de leur capacité à fermenter le glucose et/ou le lactose, à produire de l'H₂S et/ou du gaz. Ensemencé à J1.

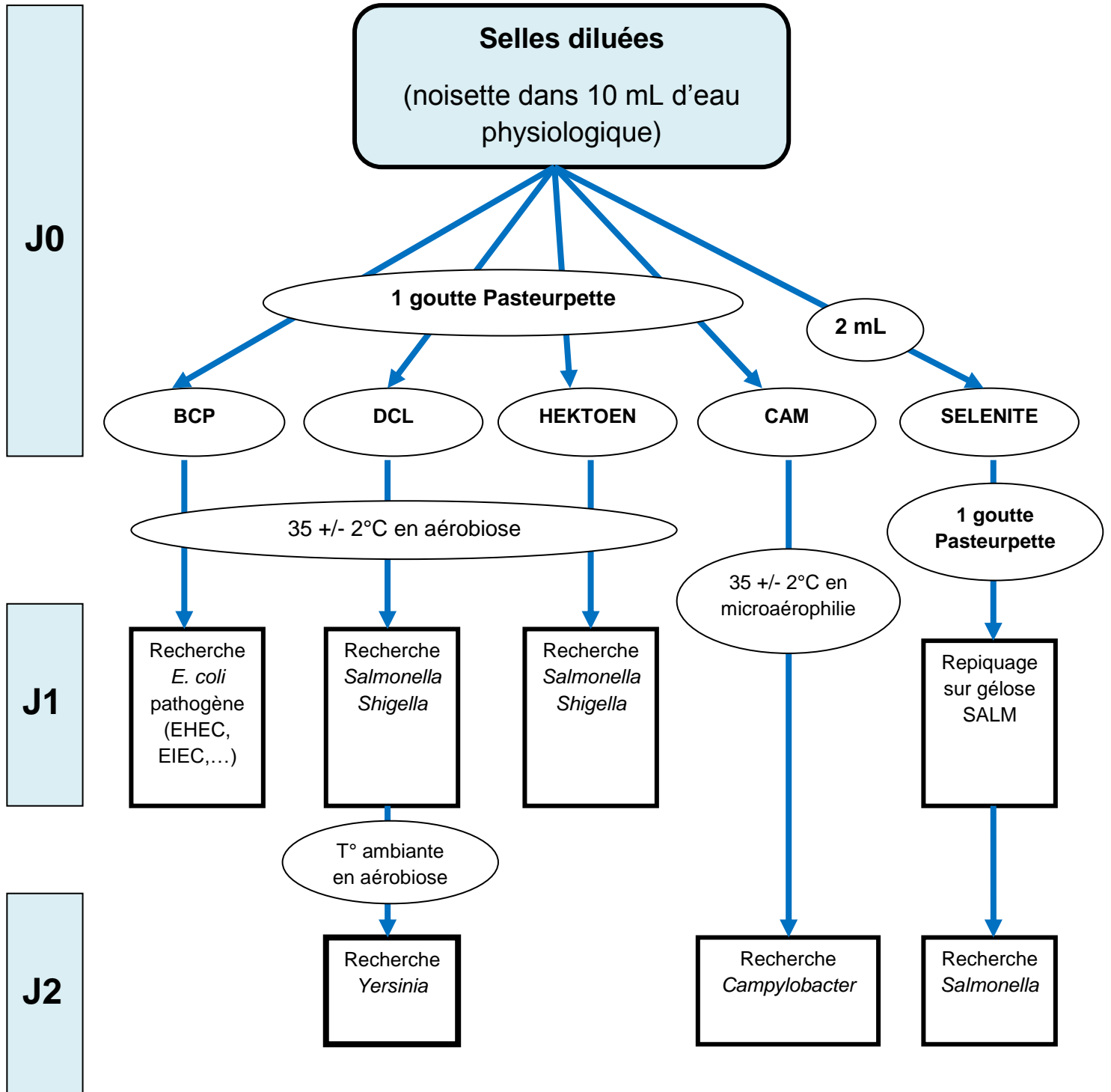
Identification :

Toutes les colonies suspectes de pathogénicité ré-isolées sont identifiées par spectrométrie de masse (MALDI TOF – Microflex - Bruker®)

Antibiogramme :

Les antibiogrammes sont réalisés selon les recommandations du CA-SFM 2018 v1.0 en milieu liquide par un système automatisé (Vitek 2 - Biomérieux®) ou par diffusion en milieu gélosé.

Figure n°10 : Prise en charge des coprocultures standards au CHB



ii. Recherche d'antigènes viraux

Nous disposons au centre hospitalier de Béthune de deux tests rapides pour le diagnostic des gastro-entérites virales, l'un recherchant simultanément rotavirus et adénovirus (RIDA® QUICK Rotavirus / Adénovirus Combi (cassettes) du laboratoire r-biopharm®), l'autre permettant la recherche du norovirus (RIDA®QUICK Norovirus – r-biopharm®). Il s'agit de tests immunochromatographiques permettant l'obtention d'un résultat en environ 5 minutes. Les performances analytiques annoncées par le fabricant figurent dans le **tableau n°4**. Ces tests ont été réalisés selon la procédure interne au laboratoire, en respectant les recommandations du fabricant.

	Sensibilité	Spécificité
Rotavirus	97,8%	94,4%
Adénovirus	72,7%	98,2%
Norovirus	92%	98%

Tableau n°4 : Sensibilités et spécificités des tests utilisés au laboratoire (données fabricant)

iii. Examen parasitologique des selles

En premier lieu, un examen direct à frais est réalisé afin de rechercher les formes végétatives de protozoaires. Puis deux techniques de concentration sont réalisées, la méthode de Baillenger et la méthode de Willis. Ces techniques sont réalisées grâce à un kit commercial prêt à l'emploi, le parasep® (Apacor). Une fois les selles concentrées, elles sont observées au microscope entre lame et lamelle, après ajout d'une goutte de lugol, afin de rechercher des œufs d'helminthes ou des kystes de protozoaires.

b. FilmArray® (phases 1 et 2)

Durant les deux phases de l'étude, toutes les selles ont été analysées par le test d'approche syndromique FilmArray® (Biofire Diagnostics – Biomérieux®) utilisant le panel gastro-intestinal qui permet la recherche simultanée de 22 agents entéro-pathogènes par techniques moléculaires (5 virus + 13 bactéries + 4 parasites). Chaque analyse a été préparée en respectant les recommandations du fabricant (travail sous poste de sécurité microbiologique, nettoyage de la zone de

travail et de la station de chargement, préparation de la cassette, 200 µL d'échantillon dilué dans un milieu Cary-Blair,... cf Généralités pour la procédure). Cette technologie permet d'obtenir un résultat qualitatif du type « détecté / non-détecté » en 1h00 environ à partir d'un simple échantillon de selles mis en milieu Cary-Blair. La liste des pathogènes recherchés ainsi que les sensibilités et spécificités annoncées par le fabricant figurent dans le **tableau n°5**.

Agent	Sensibilité	Spécificité
Rotavirus A	100%	99,1%
Adénovirus F40/41	95,5%	99 ,1%
Norovirus GI/GII	94,5%	98,8%
Astrovirus	100%	99,9%
Sapovirus (I, II, IV et V)	100%	99,1%
<i>Campylobacter (jejuni / coli / upsaliensis)</i>	97,1%	98,4%
<i>Salmonella spp.</i>	100%	99,6%
<i>Plesiomonas shigelloides</i>	100%	99,0%
<i>Vibrio (parahaemolyticus / vulnificus)</i>	100%	99,9%
<i>Vibrio cholerae</i>	100%	99,9%
<i>Yersinia enterocolitica</i>	100%	100%
<i>Clostridium difficile</i>	98,8%	97,1%
EPEC	99,1%	97,2%
EAEC	98,8%	98,2%
ETEC	100%	99,4%
STEC	100%	99,7%
<i>E. coli</i> O157	100%	97,1%
EIEC / <i>Shigella spp.</i>	95,9%	99,9%
<i>Giardia lamblia</i>	100%	99,5%
<i>Cryptosporidium spp.</i>	100%	99,6%
<i>Entamoeba histolytica</i>	100%	100%
<i>Cyclospora cayetanensis</i>	100%	100%

Tableau n°5 : Sensibilités et spécificités du panel GI FilmArray®

Quelques règles d'interprétation sont à préciser, notamment concernant les *E. coli* diarrhégeniques :

- ✓ **EAEC** : gènes cibles : *aggR* + *aatA* (portés par le plasmide pAA) pAA n'est pas présent dans toutes les souches phénotypiquement identifiées comme EAEC et certains plasmides pAA ne portent pas les gènes *aggR* et *aatA*. Par conséquent, le panel GI FilmArray® ne détectera pas tous les EAEC.

- ✓ EPEC : gène cible : *eae*. Le gène *eae* peut-être présent chez certains STEC (O157 ou non). Par conséquent un résultat positif pour EPEC ne sera rapporté qu'en l'absence de détection de STEC (différenciation EPEC + STEC et STEC contenant *eae* impossible).
- ✓ STEC : gènes cibles : *stx1* + *stx2*. La détection du sérotype particulier O157 ne sera rapportée qu'en cas de détection de STEC. En conséquence, le panel GI FilmArray® ne peut pas détecter une infection par *E. coli* O157 non toxigène ou les rares co-infections à STEC non O157 + *E. coli* O157 non toxigène.
- ✓ EIEC / *Shigella spp.* : gène cible : *ipaH*. Gène présent chez *Shigella spp.* (toutes espèces) et EIEC donc impossible de les différencier. La toxine shiga *stx* produite par *Shigella dysenteriae* est la même que *stx1* de STEC. Un résultat positif pour STEC et EIEC / *Shigella spp.* peut indiquer la présence de *S. dysenteriae*.

RESULTATS

1. Caractéristiques démographiques

Nous avons analysé 182 échantillons de selles au total, provenant de 177 patients différents, 93 (51,1%) durant la première phase provenant de 91 patients et 89 (48,9%) durant la deuxième phase provenant de 86 patients. L'âge médian était d'1 an et 5 mois sur les deux périodes d'inclusion, la **figure n°11** nous montre que la distribution des âges était similaire durant les deux phases.

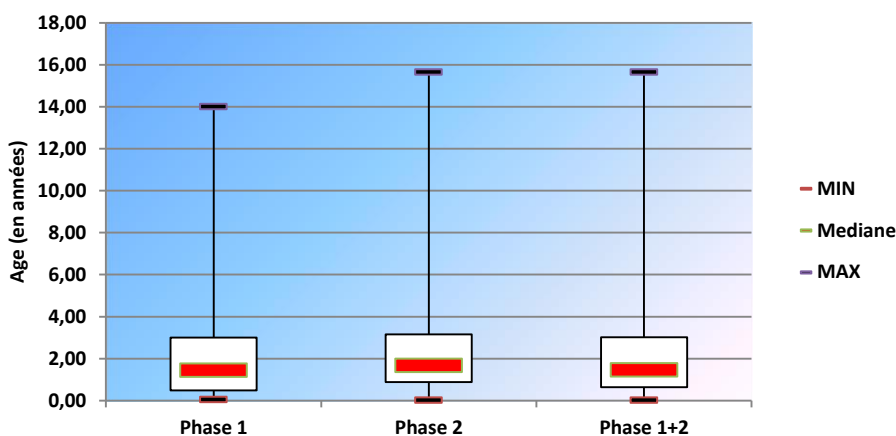


Figure n°11 : Représentation de la distribution des âges en fonction de la période d'inclusion

Une large majorité des enfants avaient moins de 5 ans (84,7%) et 57,6% avaient moins de 2 ans. Les échantillons analysés provenaient en grande partie de patients hospitalisés (93,2%). Le détail des caractéristiques démographiques figure dans le **tableau n°6**.

Paramètre	PHASE 1 n = 91	PHASE 2 N = 86	Total N = 177	
Age	≤ 1 mois	2 (2,2%)	2 (2,3%)	4 (2,2%)
	1 – 23 mois	53 (58,2%)	45 (52,3%)	98 (55,4%)
	2 – 4 ans	23 (25,3%)	25 (29,1%)	48 (27,1%)
	5 – 11 ans	12 (13,2%)	12 (14,0%)	24 (13,6%)
	12 – 17 ans	1 (1,1%)	2 (2,3%)	3 (1,7%)
Sexe	Masculin ♂	42 (46,2%)	54 (62,8%)	96 (54,2%)
	Féminin ♀	49 (53,8%)	32 (37,2%)	81 (45,8%)
	Sexe ratio (♂/♀)	0,86	1,69	1,19
Service demandeur	Hospitalisation	85 (93,4%)	80 (93,0%)	165 (93,2%)
	Consultation	6 (6,6%)	6 (7,0%)	12 (6,8%)

Tableau n°6 : Caractéristiques démographiques des patients inclus dans l'étude.

2. PHASE 1 : comparaison méthodes conventionnelles vs panel GI FilmArray®

a. Méthodes conventionnelles (examens prescrits)

Au cours de cette première phase, nous avons analysé 93 échantillons, 92 faisaient l'objet d'une demande de recherche de rotavirus / adénovirus, 2 demandes de recherche de norovirus, 68 demandes de coproculture et 1 demande d'examen parasitologique des selles. Un résultat positif a été rendu pour 23 (24,7%) échantillons, les agents pathogènes les plus fréquemment détectés étaient les virus (19/92 soit 20,7%). Rotavirus était l'agent le plus souvent mis en évidence avec 16 (17,4%) échantillons positifs suivi d'adénovirus avec 3 (3,3%) échantillons positifs, enfin les deux recherches de norovirus étaient négatives. Concernant les pathogènes bactériens, 4 coprocultures sur 68 prescrites (5,9%) ont permis d'isoler une bactérie entéropathogène : 2 *Campylobacter jejuni*, 1 *Salmonella typhimurium* et 1 *Escherichia coli* O111. La synthèse de ces résultats figure dans le **tableau n°7**.

b. Méthodes conventionnelles (tests de vérification inclus)

Afin de vérifier la performance des tests de routine utilisés au laboratoire, nous avons calculé les taux de positivité obtenus par les méthodes conventionnelles en incluant les résultats des tests de vérification du résultat FilmArray®, notamment pour les recherches non prescrites. Les pathogènes concernés sont :

- ✓ 18 norovirus détectés en FilmArray® (recherches non prescrites) dont 15 ont été confirmés par le test de routine
- ✓ 1 rotavirus (1^{er} test conventionnel négatif, FilmArray® positif, 2^{ème} test conventionnel positif)

Sans s'arrêter aux examens prescrits, le taux de positivité global des techniques conventionnelles aurait donc été de 41,9% (39 échantillons positifs sur 93) et de 37,6% pour les virus seuls (35/93).

c. Résultats du panel GI FilmArray®

Parmi ces 93 échantillons analysés par le panel GI FilmArray®, nous avons détecté au moins un pathogène dans 62 prélèvements soit un taux de positivité de 66,7%. Au total, 87 micro-organismes ont été détectés par cette technique :

- ✓ 63 virus
- ✓ 23 bactéries
- ✓ 1 parasite

Certains pathogènes n'ont pas été détectés au cours de cette première phase : Astrovirus, *P. shigelloides*, *V. parahaemolyticus / vulnificus*, *V. cholerae*, *Y. enterocolitica*, ETEC, STEC, *E. coli* O157, EIEC / *Shigella spp.*, *Cryptosporidium spp.*, *E. histolytica* et *C. cayetanensis*.

Les virus sont aussi les agents les plus fréquents avec au moins un agent viral dans 57% des échantillons, puis viennent les bactéries avec un taux de positivité de 23,7% et enfin les parasites avec 1,1% des échantillons positifs.

L'agent le plus fréquemment mis en évidence était le rotavirus A avec 20 échantillons positifs (21,5%) suivi du norovirus (19,3%) puis du sapovirus (15%). La synthèse des résultats obtenus par le panel GI FilmArray® figure dans le **tableau n°7**.

Pathogène	Méthodes conventionnelles		FilmArray® panel GI	
	Pathogènes testés selon la prescription		Panel de 22 agents pathogènes	
Virus				
Sur 93 selles reçues	92 recherches de rotavirus/adénovirus et 2 prescriptions de norovirus		93 analyses sur 93 selles reçues	
	Nombre de positifs	Taux de positivité (%)	Nombre de positifs	Taux de positivité (%)
Rotavirus A	16	17,4	20	21,5
Adénovirus F40/41	3	3,3	11	11,8
Norovirus GI/GII	0	0	18	19,3
Astrovirus	Non testé	×	0	0
Sapovirus I, II, IV, V	Non testé	×	14	15,0
Total échantillons contenant au moins 1 virus	19	20,7	53	57,0
Bactéries				
Sur 93 selles reçues	68 prescriptions de coproculture		93 analyses sur 93 selles reçues	
<i>Campylobacter (jejuni/coli/upsaliensis)</i>	2	2,9	4	4,3
<i>Salmonella spp.</i>	1	1,5	1	1,1
<i>Clostridium difficile</i>	Non prescrit	×	14 ¹	15 ¹
<i>Plesiomonas shigelloides</i>	Non testé	×	0	0
<i>Vibrio (parahaemolyticus/vulnificus)</i>	Non testé	×	0	0
<i>Vibrio cholera</i>	Non testé		0	0
<i>Yersinia enterocolitica</i>	0	0	0	0
<i>E. coli</i> diarrhégéniques / <i>Shigella spp.</i>				
EPEC	1 <i>E. coli</i> O111	1,5	13	14
EAEC			5	5,4
ETEC			0	0
STEC			0	0
<i>E. coli</i> O157			0	0
EIEC / <i>Shigella spp.</i>			0	0
Total échantillons contenant au moins 1 bactérie	4	5,9	22	23,7²
Parasites				
Sur 93 selles reçues	1 prescription d'examen parasitologique		93 analyses sur 93 selles reçues	
<i>Giardia lamblia</i>	0	0	1	1,1
<i>Cryptosporidium spp.</i>			0	0
<i>Entamoeba histolytica</i>			0	0
<i>Cyclospora cayetanensis</i>			0	0
Total échantillons contenant au moins 1 parasite	0	0	1	1,1
Total				
Sur 93 selles reçues	23	24,7	62	66,7²

Tableau n°7 : Synthèse des pathogènes détectés par chaque technique

¹ Résultat donné à titre indicatif mais n'entrant pas dans le calcul du taux de positivité global

² Hors *Clostridium difficile* chez les enfants < 2 ans

d. Analyse comparative des techniques

L'analyse des selles par le panel GI FilmArray® a permis de d'identifier 87 agents entéropathogènes dans les 62 échantillons positifs contre 23 détectés par les techniques conventionnelles. (cf **figure n°12**)

L'analyse moléculaire a donc permis de détecter de nombreux pathogènes supplémentaires :

✓ Virus :

- 4 rotavirus
- 8 adénovirus
- 18 norovirus (recherches non prescrites)
- 14 sapovirus (non recherchés)

✓ Bactéries :

- 2 *Campylobacter spp.*
- 13 EPEC (non recherchés)
- 5 EAEC (non recherchés)

✓ Parasites :

- 1 *Giardia lamblia* (recherche non prescrite)

Concernant les *E. coli* diarrhégeniques, dans un échantillon, la coproculture a permis d'isoler un *E. coli* O111, l'analyse par FilmArray® a quant à elle détecté un EAEC. Le sérotype (O111) n'étant pas suffisant pour déterminer le pathovar (EAEC), nous ne pouvons affirmer qu'il s'agit des mêmes souches. Cet *E. coli* O111 a été rendu au prescripteur et entre donc dans le calcul du taux de positivité.

En termes de taux de positivité :

✓ Méthodes conventionnelles : 24,7% soit 23/93 échantillons positifs.

✓ FilmArray® panel GI : 66,7% soit 62/93 échantillons positifs.

En regardant les taux de positivité de chaque famille de pathogènes, on constate une supériorité de l'analyse moléculaire avec 53/93 (57,0%) échantillons dans lesquels au moins un virus a été détecté en FilmArray® contre 19/92 (20,7%) par les techniques de routine, de même pour les agents bactériens avec au moins une bactérie détectée dans 22 (23,7%) échantillons contre 4 (5,9%) bactéries isolées en culture sur 68 demandes de coprocultures. (cf **tableau n°8**)

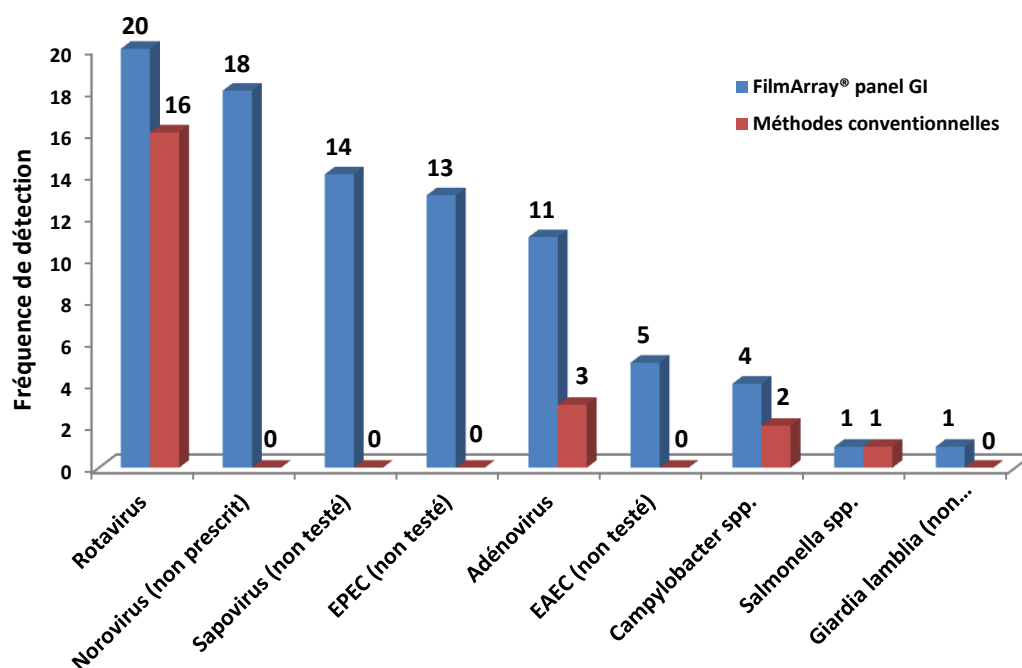


Figure n°12 : Histogramme comparatif des pathogènes détectés par chaque technique (FilmArray® panel GI vs techniques conventionnelles)

Taux de positivité (% d'échantillons positifs)	Types de pathogènes	Méthodes conventionnelles (selon la prescription)	FilmArray® panel GI
	VIRUS	20,7%	57,0%
	BACTERIES	5,9%	23,7%
	PARASITES	0,0%	1,1%
	GLOBAL	<u>24,7%</u>	<u>66,7%</u>

Tableau n°8 : Synthèse des taux de positivité obtenus par chaque technique

e. Détection des co-infections

Aucune co-infection n'a été mise en évidence par les techniques conventionnelles, à la différence des analyses de ces mêmes échantillons par le panel GI FilmArray® où l'on a mis en évidence au moins 2 pathogènes dans 22 échantillons sur 93 (23,7%). (**tableau n°9**)

EPEC était le pathogène le plus fréquemment détecté en association durant cette première phase, sur 13 échantillons où il a été retrouvé, il était associé dans 11 échantillons soit une proportion de découverte en co-infection de 84,6%. L'adénovirus affiche aussi un taux de détection en co-infection remarquable de 81,8% (9/11). L'association EPEC + adénovirus était d'ailleurs la plus fréquente.

Les associations de plusieurs virus dans un même échantillon était aussi relativement fréquentes puisque dans 8 échantillons nous avons retrouvé deux virus associés et dans 1 échantillon, trois virus associés. (cf **tableau n°10**)

Les fréquences de détection des agents pathogènes isolés ou en co-infection ainsi que le détail des associations retrouvées au cours de la première phase de l'étude figurent sur les **figures n°13a et 13b**.

TOTAL (n = 93)		35,5%	Co-infections (n = 22)	
			Nombre de pathogènes	Nombre d'échantillons
Positifs	62 (66,7%)	→	2	20/93 (21,5%)
Co-infections	22 (23,7%)		3	1/93 (1,1%)
			4	1/93 (1,1%)

Tableau n°9 : Proportions de co-infections et détails du nombre de pathogènes détectés par échantillon durant la PHASE 1 grâce au panel GI FilmArray®

Co-infections (n = 22)	
Association de :	Nombre d'échantillons
Virus	9/93 (9,7%)
Virus + Bactérie	13/93 (14%) 2 <i>Campylobacter spp.</i> , 9 EPEC, 2 EAEC
Bactéries	1/93 (1,1%) <i>Salmonella spp.</i> + EPEC
Parasite + Bactérie	1/93 (1,1%) <i>G. lamblia</i> + EPEC

Tableau n°10 : Détail des associations par type de pathogènes, détectées par FilmArray® durant la PHASE 1 (2 échantillons comportaient plusieurs virus associés à une bactérie)

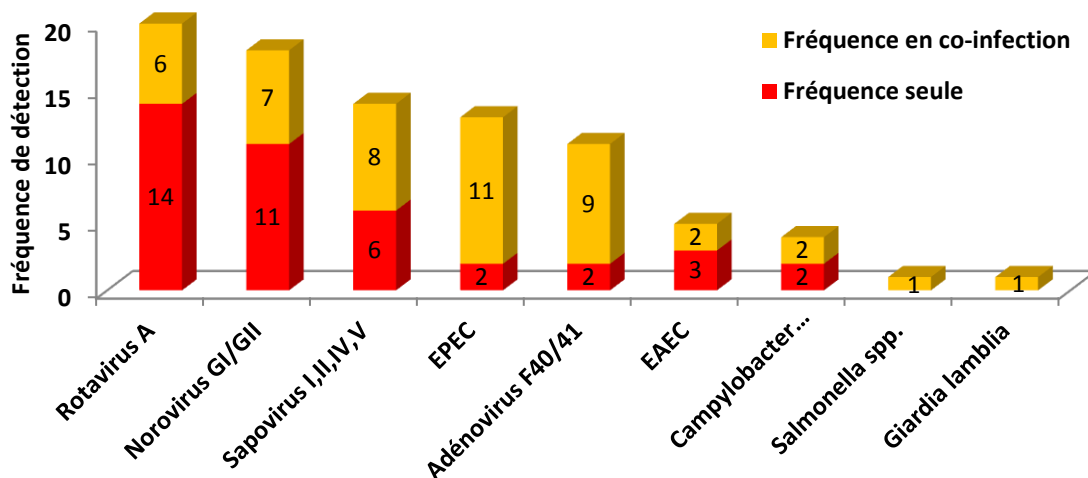


Figure n°13a : Histogramme montrant les fréquences de détection seul ou en co-infection de chaque pathogène par le panel GI FilmArray® durant la PHASE 1

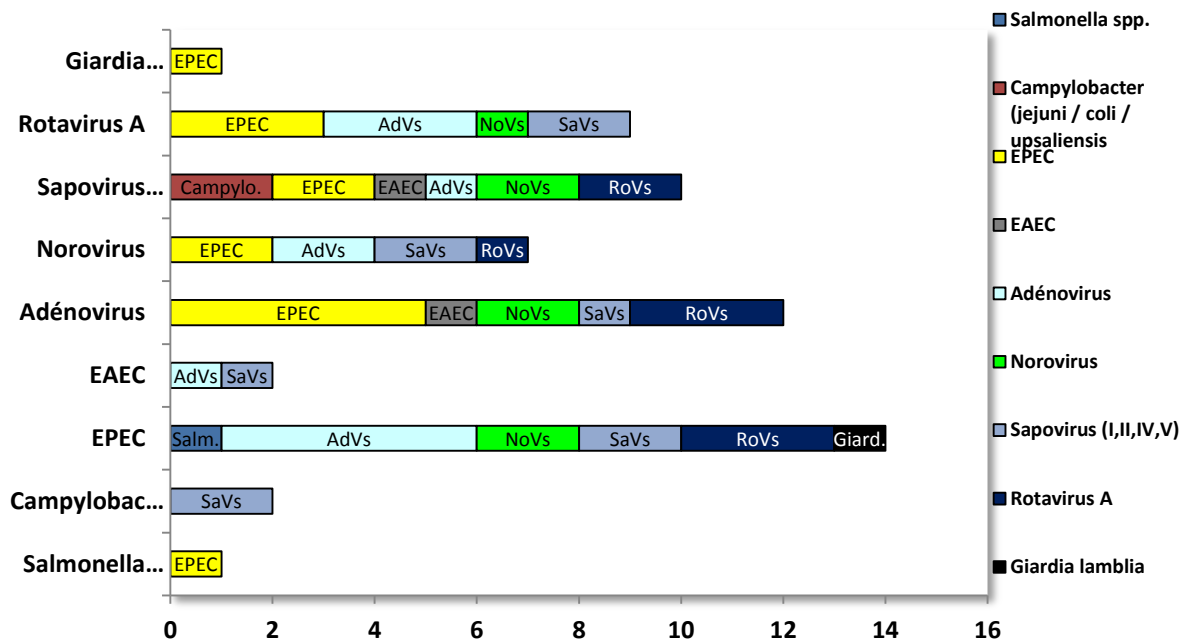


Figure n°13b : Détail des associations de pathogènes retrouvés en co-infection par le panel GI FilmArray® durant la PHASE 1. Détail des abréviations : AdVs : Adénovirus, SaVs : Sapovirus, NoVs : Norovirus, RoVs : Rotavirus, Giard. : *Giardia lamblia*, Salm. : *Salmonella*, Campylo : *Campylobacter (jejuni / coli / upsaliensis)*

f. Analyse des résultats discordants ou non vérifiables

Sur les 93 échantillons analysés, 37 nécessitaient une confirmation ou une vérification. Nous disposons de 35 prélèvements en milieu Cary-Blair stockés à +4°C et de 36 aliquots de selles congelés à -80°C, pour un échantillon nous ne disposons plus du milieu Cary-Blair et il n'y avait pas eu d'aliquot congelé (quantité insuffisante), le résultat de cette analyse n'a donc pas pu être vérifié. A noter que les échantillons (aliquots congelés et Cary-Blair +4°C) ont été conservés pendant environ 4 mois avant l'analyse de confirmation / vérification, dépassant largement les recommandations du fabricant. Ces tests ont été effectués par PCR + séquençage en utilisant des amorces différentes de celles utilisées dans la cassette FilmArray®.

Les échantillons dits « à vérifier » sont ceux dans lesquels un pathogène détecté par le panel GI FilmArray® n'était pas détectable par nos techniques de routine (sapovirus, EPEC,...) alors que les résultats dits « à confirmer » sont ceux pour lesquels notre test de vérification était négatif.

Parmi les 36 échantillons envoyés, il y avait à vérifier, 14 sapovirus, 12 EPEC, 5 EAEC et à confirmer, 3 norovirus, 3 rotavirus, 8 adénovirus et 2 *Campylobacter*.

✓ Résultats à confirmer : (Test conventionnel négatif / FilmArray® GI panel positif)

L'étude des données informatiques relatives à ces analyses discordantes a montré que : 3 norovirus, 3 rotavirus, 2 adénovirus et 1 *Campylobacter* étaient faiblement positifs, proche de la limite de détection³ du panel GI FilmArray®. Un *Campylobacter* et 6 adénovirus n'ont donc pas été détectés par les techniques de routine alors qu'ils n'étaient apparemment pas en faible quantité dans l'échantillon. La réalisation des tests de comparaison (PCR interne au laboratoire R&D Biomérieux® + séquençage) a confirmé la présence de gènes spécifiques de norovirus, adénovirus et de *Campylobacter* dans tous les échantillons concernés. Par contre, aucun des 3 rotavirus n'a été retrouvé par cette technique moléculaire complémentaire. (cf **tableau n°11**)

✓ Résultats à vérifier : (non détectable par les techniques conventionnelles)

L'étude des données informatiques des analyses positives à EPEC ou à EAEC a montré qu'ils étaient présents en quantités bien supérieures aux limites de détection³. Le test comparateur a d'ailleurs confirmé la présence de leur ADN dans tous les échantillons concernés. Concernant les 14 sapovirus, 8 étaient faiblement positifs et la présence de son ARN a été confirmée dans 8 échantillons sur 14. (cf **tableau n°11**)

Pathogène	Sapovirus	Norovirus	Adénovirus	Rotavirus	EPEC	EAEC	<i>Campylobacter</i>
Nombre de discordances	14 (non testé)	3	8	3	9 (non testé)	5 (non testé)	2
Nombre de confirmation / vérification	<u>8/14</u>	3/3	8/8	<u>0/3</u>	9/9	5/5	2/2

Tableau n°11 : Résultats des tests de confirmation / vérification des analyses discordantes ou non vérifiables.

Pour expliquer les cas où le résultat n'est pas vérifié ou confirmé (6 sapovirus et 3 rotavirus), l'hypothèse émise par le laboratoire effectuant ces tests est celle d'une dégradation de l'ARN suite à un délai de conservation trop long avant l'analyse ou à la congélation. De plus, dans ces échantillons, les virus étaient présents en faible quantité lors de notre analyse par FilmArray®, ce qui va dans le sens d'une dégradation des acides nucléiques provoquant la négativation du résultat quatre mois plus tard. Cependant, n'ayant pas d'autre moyen de comparaison disponible,

³ Norovirus : 10⁴ copies/mL ; rotavirus : 10⁵ FFU/mL ; adénovirus F40: 1 TCID₅₀/mL, F41 : 100 TCID₅₀/mL ; *Campylobacter* : 4x10⁴ bactéries/mL ; EPEC : 10³ UFC/mL ; EAEC : 10⁴ UFC/mL ; sapovirus : 1,1x10⁷ copies/mL

nous ne sommes pas en mesure d'affirmer formellement que ces résultats n'étaient pas des faux positifs.

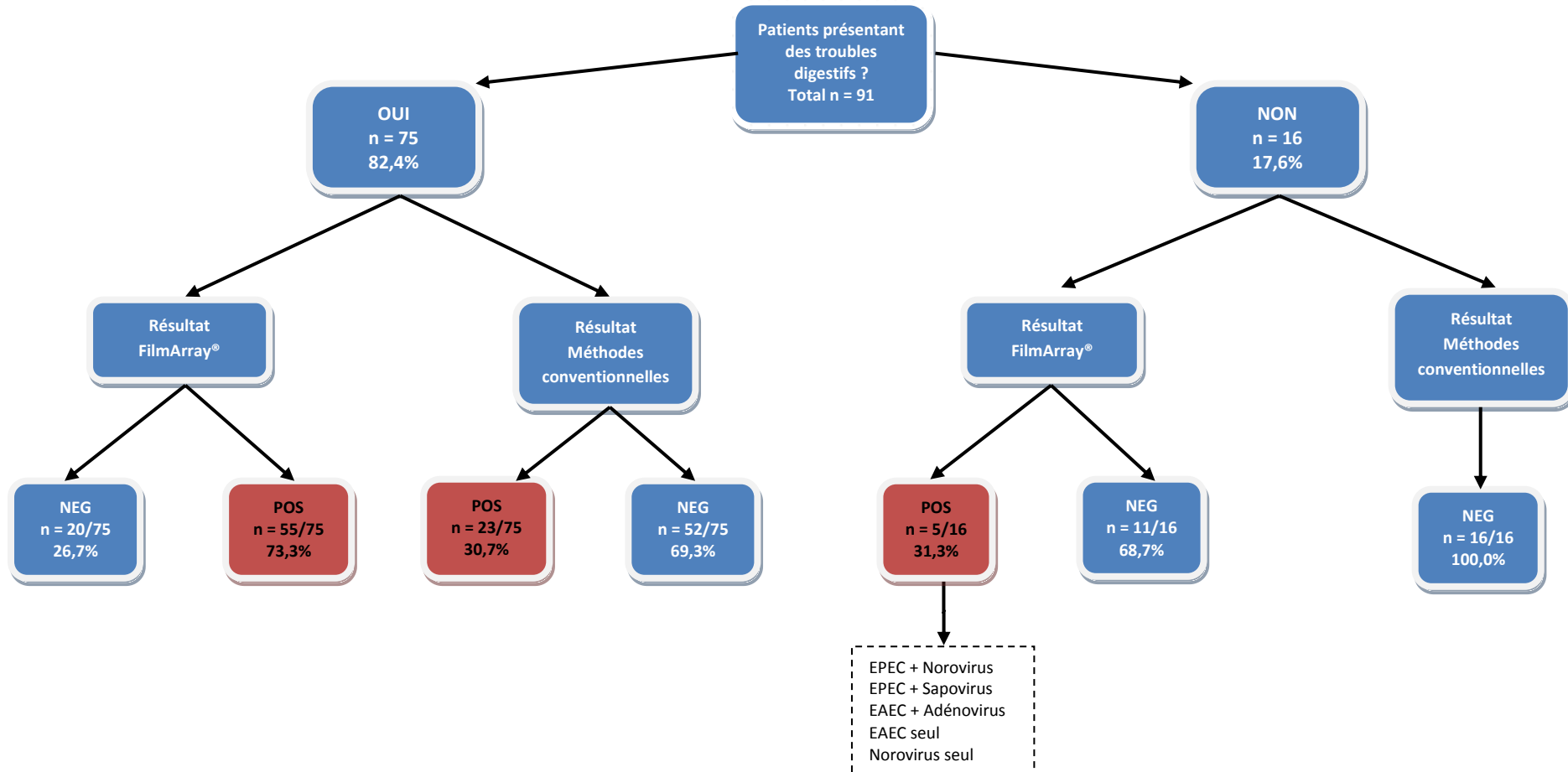
g. Analyse des performances diagnostiques

Concernant les motifs d'admission, 49 patients ont été admis pour symptômes digestifs (GEA, selles liquides, vomissements incoercibles, douleurs abdominales), et 42 patients pour un autre motif. Il s'agissait en majorité d'admissions pour gêne respiratoire avec hyperthermie. Sur ces 42 patients ayant été admis pour un autre motif, 26 ont présenté des troubles digestifs durant leur hospitalisation et 16 n'ont apparemment pas présenté ces troubles ou cela n'était pas mentionné dans le dossier patient.

En s'intéressant aux patients admis pour troubles digestifs / GEA ou ayant présenté ces troubles durant leur hospitalisation, ce qui représente 75 patients (82,4%), nous avons constaté que 55/75 (73,3%) ont eu un résultat positif en FilmArray® contre 23/75 (30,7%) grâce aux méthodes conventionnelles.

Parmi les patients n'ayant pas de trouble digestif rapporté (16 patients), 5/16 (31,3%) ont obtenu un résultat positif en FilmArray® alors qu'aucun pathogène n'a été détecté par les techniques conventionnelles. Au final, l'analyse des selles par méthodes conventionnelles a permis de documenter 30,7% des cas alors que 73,3% auraient pu l'être grâce au FilmArray®. Le résumé des résultats obtenus par chaque technique en fonction du contexte clinique est présenté sur la **figure n°14**.

Figure n°14 : PHASE 1 : Comparaison des résultats obtenus (positif / négatif) par chaque technique en fonction du contexte clinique



3. Phase 2 : Impact clinique et thérapeutique

a. Résultats du panel GI FilmArray®

Durant cette phase, nous avons analysé 89 échantillons provenant de 86 patients, la période d'inclusion (01/03/18 au 30/03/18) coïncidait avec la période d'épidémie de GEA à rotavirus, nous avons donc obtenu des taux de positivité supérieurs à ceux obtenus durant la première phase.

Au total, nous avons retrouvé au moins 1 pathogène dans 88,8% des échantillons, il s'agissait en grande majorité de rotavirus A avec une détection de ce pathogène dans 76,4% des échantillons, les autres virus étaient moins représentés avec moins de 10% d'échantillons positifs pour chaque agent viral. Au final, au moins un virus était présent dans 77 échantillons sur 89 soit 86,5%. Concernant les agents bactériens, le panel GI FilmArray® a permis la détection d'une bactérie entéro-pathogène dans 12 échantillons sur 89 soit 13,5%. Enfin, pour les parasites, nous avons détecté *Giardia lamblia* dans un échantillon (1,1%). (cf **tableau n°12**)

Concernant le taux de détection de co-infection, il est similaire à celui obtenu durant la première phase avec la détection d'au moins 2 pathogènes dans 21 échantillons (23,6%). La diversité des associations rencontrées est quant à elle bien moindre, en raison de la très forte proportion de rotavirus, il faut tout de même noter que tous les *E. coli* diarrhéogènes ont été détectés en association à un virus. Les proportions de co-infections figurent sur la **figure n°15**.

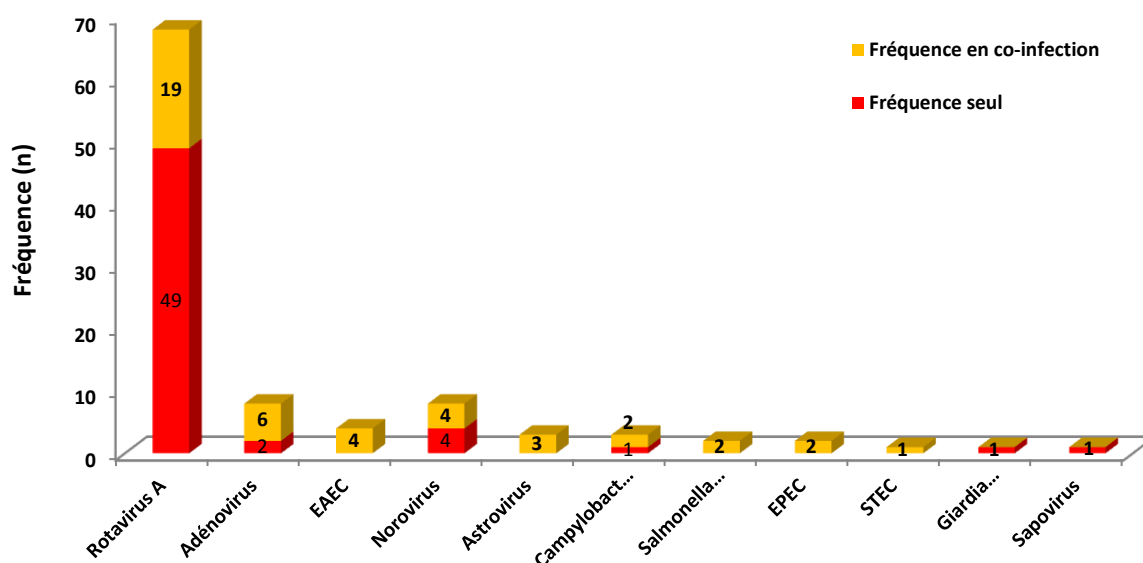


Figure n°15 : Histogramme des fréquences de détection seul ou en association de chaque pathogène durant la PHASE 2

PHASE 2 : RESULTATS ANALYSES PAR FILMARRAY® PANEL GI			
Nombre total d'échantillons		89	
Pathogènes		Nombre de positifs	Taux de positivité
VIRUS	Rotavirus A	68	76,4%
	Norovirus GI/GII	8	9,0%
	Adénovirus F40/41	8	9,0%
	Astrovirus	3	3,4%
	Sapovirus I,II,IV,V	1	1,1%
Total échantillons contenant <u>au moins 1 virus</u>		77	86,5%
BACTERIES	EAEC	4	4,5%
	EPEC	2	2,3%
	<i>Salmonella spp.</i>	2	2,3%
	<i>Campylobacter (jejuni/coli/upsaliensis)</i>	3	3,4%
	STEC	1	1,1%
Total échantillons contenant <u>au moins 1 bactérie</u>		12	13,5%
PARASITES	<i>Giardia lamblia</i>	1	1,1%
Total échantillons contenant <u>au moins 1 parasite</u>		1	1,1%
Total échantillons où <u>au moins 1 pathogène</u> a été détecté		<u>79</u>	<u>88,8%</u>

Tableau n°12 : Synthèse des agents pathogènes détectés durant la deuxième phase de l'étude (les agents n'apparaissant pas dans le tableau n'ont pas été détectés)

b. Evaluation de l'impact diagnostique

- **Hypothèse diagnostique et résultats FilmArray®**

Sur les 86 patients inclus dans la deuxième phase de l'étude, nous avons récupéré l'hypothèse diagnostique principale du clinicien avant obtention du résultat.

✓ Pour 76 patients (88,4%), l'hypothèse diagnostique était une GEA :

Résultat FilmArray® : - 71 positifs / 76 (soit 93,4% des cas documentés)

- 5 négatifs

✓ Pour 10 patients (11,6%), l'hypothèse diagnostique n'était pas une GEA :

Résultat FilmArray® : - 5 positifs (3 avaient des signes digestifs ; 2 syndromes grippaux)

- 5 négatifs

- **Analyse de l'impact diagnostique via le questionnaire**

A la question, le résultat (positif ou négatif) ou le pathogène détecté était-il attendu ? (question 5 – annexe 1), les prescripteurs ont répondu « oui » pour 68 patients sur 86, concernant les 17 patients pour lesquels le résultat n'était pas attendu, il s'agissait de :

- ✓ 5 patients ayant eu un résultat négatif alors qu'une GEA était suspectée
- ✓ 5 résultats positifs chez des patients non suspects de GEA
- ✓ 7 cas positifs pour lesquels le diagnostic de GEA était douteux ou le pathogène détecté inattendu.

Aucune réponse n'était mentionnée pour un patient qui a bénéficié d'une analyse des selles par FilmArray® devant un tableau d'hyperthermie inexplicée sans signes digestifs (résultat négatif). La synthèse de ces résultats est présentée sur la **figure n°16**.

Nous avons aussi demandé aux cliniciens si le résultat de l'analyse par le panel GI FilmArray® avait eu un impact sur leur diagnostic (confirmation ou modification de leur hypothèse diagnostique, établissement d'un diagnostic de certitude) (question 6 – annexe 1).

Pour 83,7% des patients (72/86), ce résultat a permis d'établir un diagnostic de certitude :

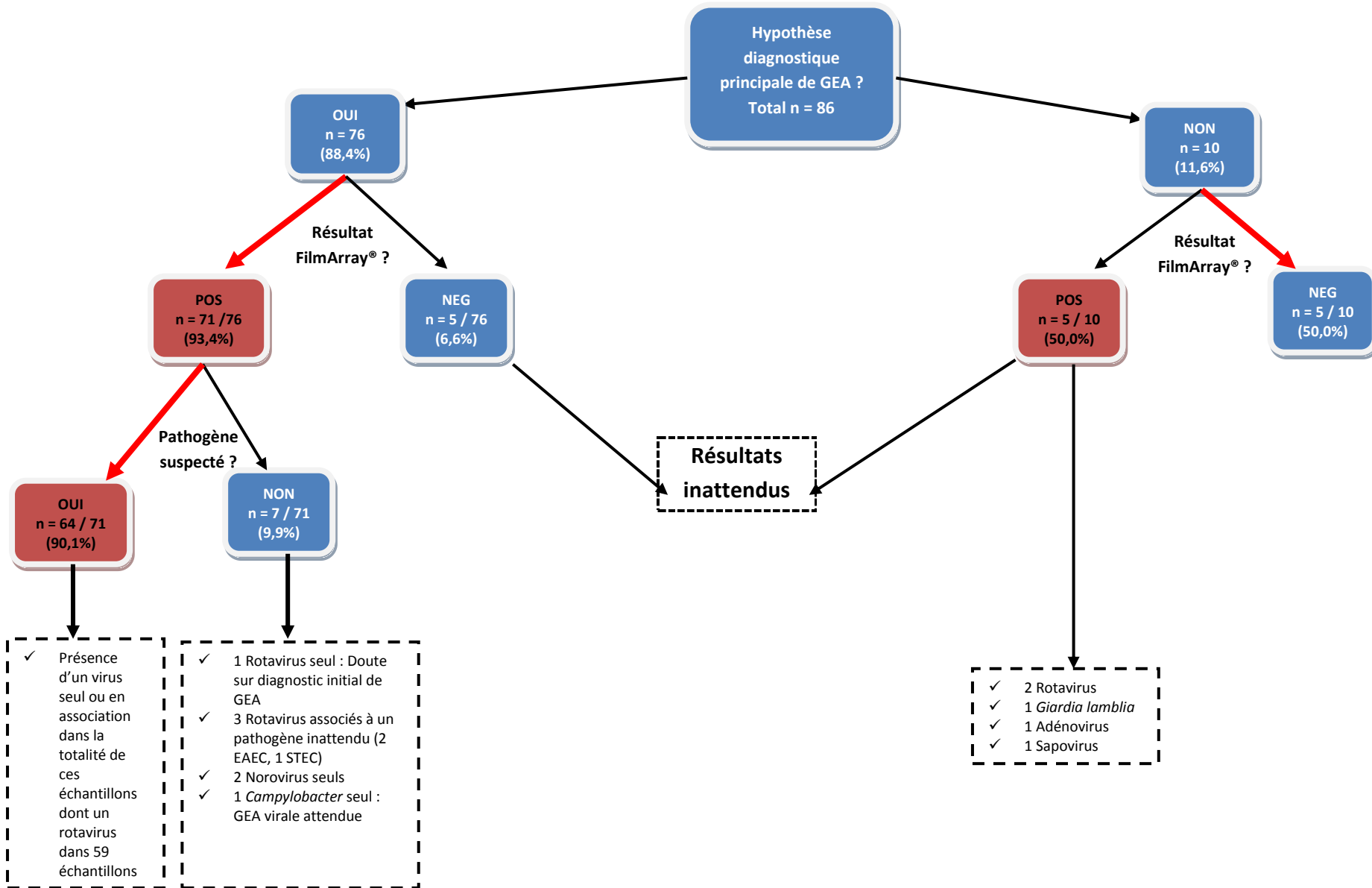
- ✓ 67 résultats positifs pour au moins un agent viral chez des patients suspectés de GEA (dont 59 échantillons positifs à rotavirus).
- ✓ 5 résultats négatifs chez des patients non suspectés de GEA (ex : RGO, oesophagite, allergie aux protéines de lait de vache).

Pour 8,1% des patients (7/86), ce résultat a entraîné une modification du diagnostic :

- ✓ 4 agents pathogènes non suspectés : *Campylobacter*, *Giardia lamblia*, EAEC et un rotavirus chez un patient au diagnostic initial douteux (GEA ?/ pyélonéphrite aiguë ?)
- ✓ 3 Résultats négatifs chez des patients initialement suspectés de GEA.

Pour 8,1% des patients (7/86), aucun impact de ce résultat sur le diagnostic.

Figure n°16 : PHASE 2 : Synthèse des résultats obtenus en fonction de l'hypothèse diagnostique



c. Impact sur le délai de rendu de résultat

La première phase de l'étude nous a permis de mesurer les délais de rendu de résultats par les techniques conventionnelles. Les délais médians étaient de :

- ✓ Recherche virologique : 2h40 min.
- ✓ Coproculture : 59h58 min.
- ✓ FilmArray® (phase 2) : 6h45 min.

La comparaison de ces délais (minimum, médiane, maximum) est représentée sur la **figure n°17**.

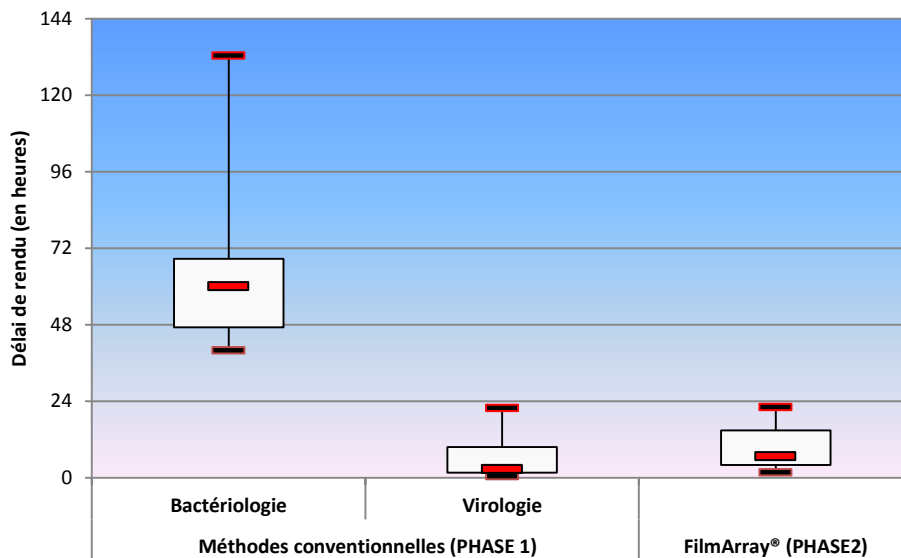


Figure n°17 : Représentation des délais de rendu des différentes techniques.

La durée moyenne de séjour (DMS) étant courte dans le service de pédiatrie et la coproculture demandant 48h au minimum voire plus en cas de positivité, certains patients sortent avant obtention de l'ensemble des résultats de leur analyse des selles. Ainsi, durant la première période, 54,1% des patients hospitalisés (46/85) sont sortis avant que le clinicien n'ait les résultats complets de leur analyse des selles dont 45 patients sortis sans résultat de coproculture. Le délai de réalisation d'une coproculture est donc le facteur principal de sortie des patients sans résultat complet.

L'analyse par le panel GI FilmArray® durant la deuxième phase a permis de faire chuter la proportion de patients sortant sans résultat d'analyse des selles à 7,5 % (6/80). (**Figure n° 18**)

PHASE 1 (méthodes conventionnelles)

PHASE 2 (FilmArray® panel GI)

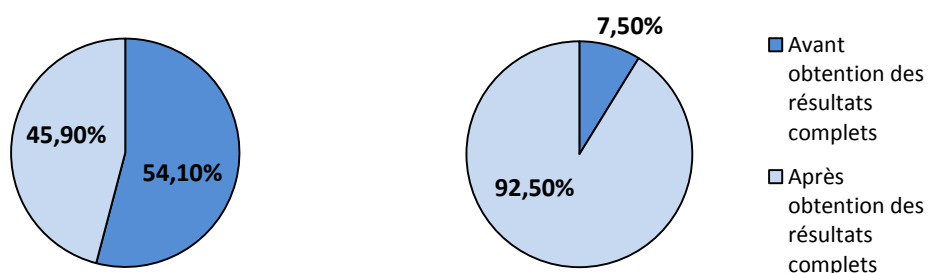


Figure n°18 : Diagramme représentant les proportions de patients sortant avant / après que le clinicien n’ait eu connaissance du résultat de l’examen en fonction des techniques utilisées.

d. Les précautions complémentaires

Durant la deuxième phase, nous avons analysés 89 échantillons dont 83 provenaient de patients hospitalisés. Cette phase s’étant déroulée en période d’épidémie de GEA, des précautions complémentaires contact (PCC) ont été mises en place dès l’entrée pour 58 patients (70%). Nous nous sommes intéressés à l’impact du résultat FilmArray® sur ces précautions complémentaires (question 9 – annexe 1). Les résultats sont schématisés sur la **figure n°19**.

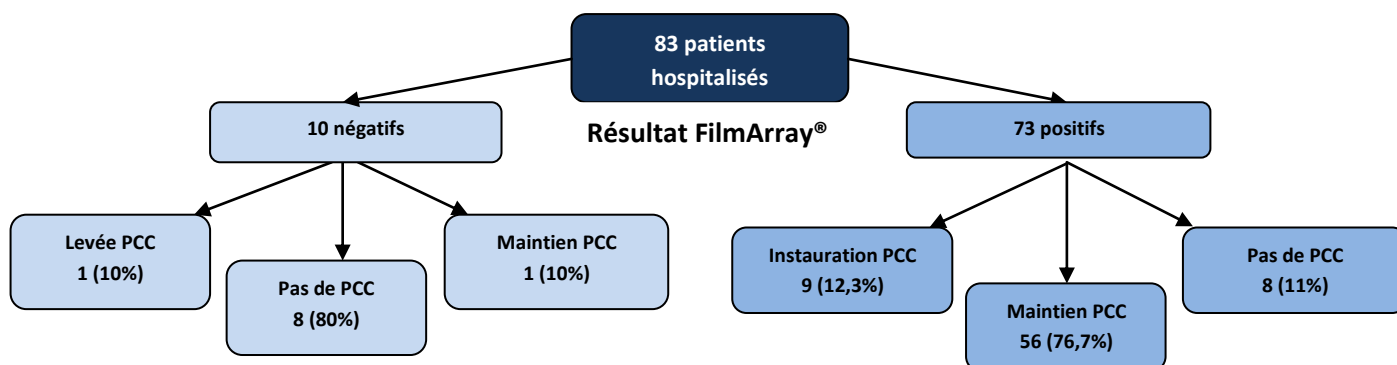


Figure n°19 : Impact du résultat FilmArray® sur les précautions complémentaires

1 patient a obtenu un résultat négatif mais les PCC ont été maintenues devant la symptomatologie typique de GEA présentée.

e. Impact sur la mise en place de traitements anti-infectieux

Durant la deuxième phase de notre étude, 6 agents pathogènes potentiellement traitables ont été détectés, 2 salmonelles, 3 campylobacter et 1 *Giardia lamblia*. Un traitement anti-infectieux a été instauré chez 4,7% des patients :

- ✓ 2 *Campylobacter* traités par azithromycine
- ✓ 1 *Giardia lamblia* traitée par métronidazole

✓ 1 EAEC traité par azithromycine (co-infection EAEC + rotavirus)

La détection des autres EAEC, EPEC et STEC n'a pas induit la prescription d'un traitement antibiotique.

Les 2 salmonelles n'ont pas été traitées en accord avec les recommandations du GPIIP (traitement uniquement dans certains cas)

Le 3^{ème} campylobacter détecté n'a pas été obtenu en culture et n'a pas été traité.

4. Epidémiologie des GEA au Centre Hospitalier de Béthune

a. Taux de positivité

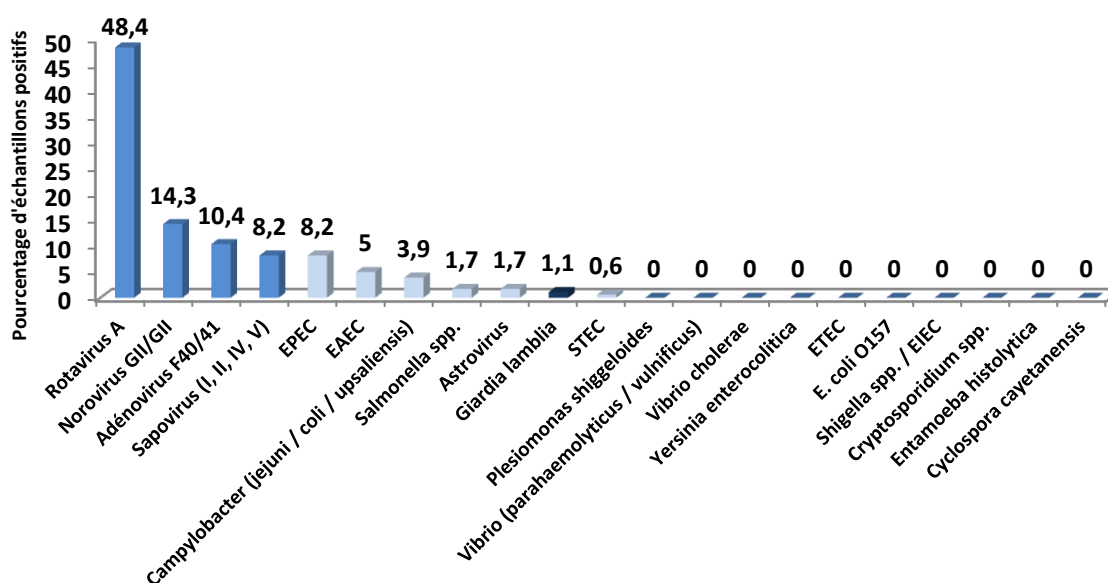


Figure n°20 : Taux de détection de chaque pathogène (en %)

Parmi 182 échantillons analysés :

✓ 77,5% d'échantillons positifs (141/182) :

- 71,4% contenant au moins un agent viral (130/182)
- 18,7% contenant au moins un agent bactérien (34/182)
- 1,1% contenant au moins un agent parasitaire (2/182)

L'agent viral le plus fréquent est le rotavirus A (88/182 soit 48,4%), l'agent bactérien, EPEC (15/182 soit 8,2%), enfin au niveau parasitaire, seules 2 (1,1%) *Giardia lamblia* ont été détectées. En répartissant les patients par groupes d'âge, on constate qu'une grande partie des résultats positifs provient d'enfants < 5 ans avec 79,3% d'échantillons positifs (73,6% chez les < 2 ans et 91,8% chez les 2 à 4 ans). La synthèse de ces résultats figure sur le **tableau n°13** et la **figure n°20**.

Pathogène	Tous âges (n [%]) (n = 182)	En fonction des groupes d'âge (n [%])			
		< 2 ans (n = 106)	2 – 4 ans (n = 49)	5 – 11 ans (n = 24)	12 – 17 ans (n = 3)
VIRUS	130 (71,4)	74 (69,8)	42 (85,7)	13 (54,2)	1 (33,3)
Rotavirus	88 (48,3)	51 (48,1)	31 (63,2)	5 (20,8)	1 (33,3)
Norovirus	26 (14,0)	15 (14,1)	6 (12,2)	5 (20,8)	0 (0)
Sapovirus	15 (8,2)	6 (5,7)	4 (8,2)	5 (20,8)	0 (0)
Adénovirus	19 (10,4)	13 (12,3)	5 (10,2)	1 (4,2)	0 (0)
Astrovirus	3 (1,6)	3 (2,8)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
BACTERIES	34 (18,7)¹	19 (17,9)	11 (22,4)	3 (12,5)	1 (33,3)
<i>Salmonella spp.</i>	3 (1,6)	3 (2,8)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
<i>Campylobacter</i>	7 (3,8)	4 (3,8)	1 (2,0)	2 (8,3)	0 (0)
<i>P. shigelloides</i>	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
<i>Y. enterocolitica</i>	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
<i>Vibrio</i>	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
<i>V. cholerae</i>	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
<i>C. difficile</i> ²	26 (14,3)	25 (23,6)	1 ³ (2,0)	0 (0)	0 (0)
<i>E. coli</i> diarrhégéniques	25 (13,7)	13 (12,3)	10 (20,4)	1 (4,2)	1 (33,3)
EPEC	15 (8,2)	6 (5,7)	8 (16,3)	0 (0)	1 (33,3)
EAEC	9 (4,9)	7 (6,6)	1 (2,0)	1 (4,2)	0 (0)
STEC	1 (0,5)	0 (0)	1 (2,0)	0 (0)	0 (0)
<i>E. coli</i> O157	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
EIEC / <i>Shigella spp.</i>	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
EPEC	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
PARASITES	2 (1,1)	0 (0)	1 (2,0)	1 (4,2)	0 (0)
<i>Giardia lamblia</i>	2 (1,1)	0 (0)	1 (2,0)	1 (4,2)	0 (0)
<i>Cryptosporidium spp.</i>	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
<i>C. cayetanensis</i>	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
<i>E. histolytica</i>	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
Total échantillons positifs	141 (77,5)¹	78 (73,6)	45 (91,8)	16 (66,7)	2 (66,7)
CO-INFECTIONS	43 (23,6)	26 (24,5)	13 (26,5)	4 (16,7)	0 (0)
NEGATIFS	41 (22,5)	28 (26,4)	4 (8,2)	8 (33,3)	1 (33,3)

Tableau n°13 : Synthèse des résultats obtenus sur l'ensemble de l'étude (phase 1 + 2) par le panel GI FilmArray®

¹ Hors *Clostridium difficile*

² Résultats donnés à titre indicatif mais n'entrant dans aucun calcul des taux de positivité (ni bactérien, ni global)

³ Patient de 2 ans 1 mois et 12 jours

Concernant *Clostridium difficile*, il a été détecté dans 26 (14,3%) échantillons, 96,1% (25/26) chez des enfants < 2 ans et 3,9% (1/26) chez les 2 – 4 ans. Le patient > 2 ans chez qui *C. difficile* a été découvert était âgé de 2 ans et 1 mois, nous avons décidé de ne pas en tenir compte pour le calcul des taux de positivité vu la proximité avec l'âge de 2 ans. Dans la majorité des cas, il a été mis en évidence en association à un autre pathogène (22/26 soit 84,6%) et toujours avec au moins un virus dans ces échantillons.

b. Co-infections

Une association de plusieurs agents pathogènes a été mise en évidence dans 43 échantillons (23,6%). EPEC est l'agent le plus souvent détecté en association (en proportion), il était accompagné d'un autre pathogène dans 13 échantillons pour 15 détections au total, soit un taux de détection en co-infection de 86,7%, puis vient l'adénovirus avec 79,0% de mise en évidence en co-infection (15/19). L'ensemble des résultats est présenté sur la **figure n°21 et le tableau n°14**.

Le type d'association le plus fréquent est un ou plusieurs virus associé(s) à une bactérie, ce cas de figure a été mis en évidence dans 24 échantillons (13,2%) dont 18 échantillons dans lesquels on retrouve un *E. coli* diarrhéogène, notamment EPEC et EAEC. Les associations de virus entre eux sont aussi assez fréquentes avec 20 échantillons (11%) où plusieurs de ces pathogènes ont été découverts dans le même échantillon. Ces associations sont regroupées dans le **tableau n°15**.

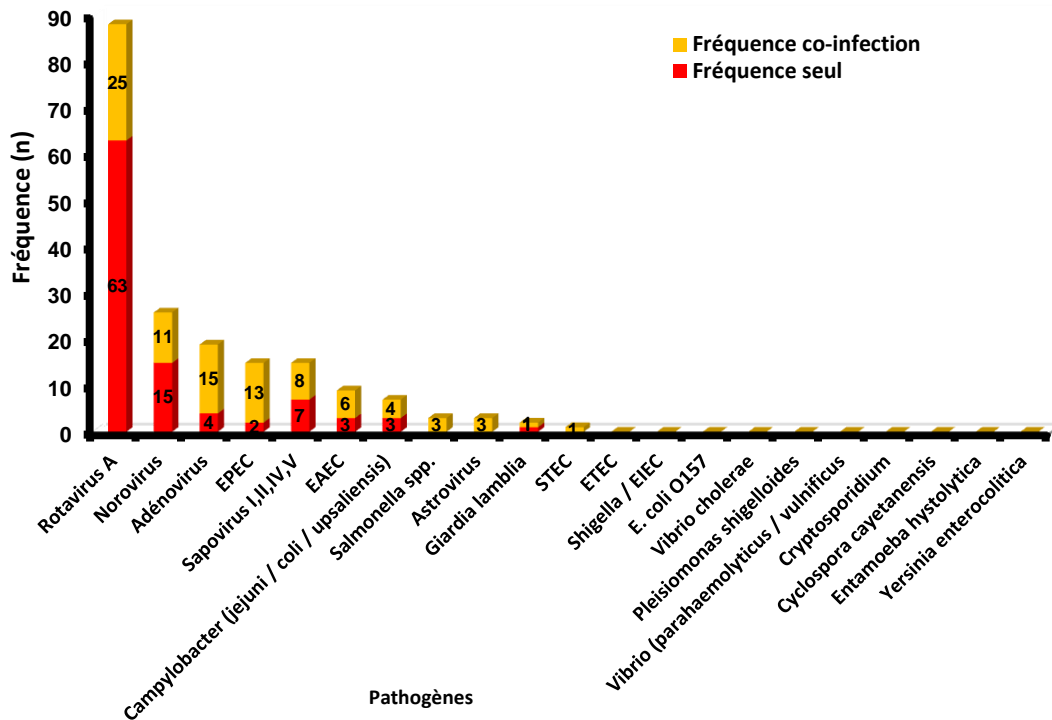


Figure n°21 : Histogramme des fréquences de détection seul ou en association de chaque agent pathogène détecté durant l'étude (PHASE 1 + 2)

TOTAL (n = 182)		Co-infections (n = 43)	
		Nombre de pathogènes	Nombre d'échantillons
Positifs	141 (77,5%)	2	40/182 (22%)
Co-infections	43 (23,6%)	3	2/182 (1,1%)
		4	1/182 (0,5%)

← 30,5% →

Tableau n°14 : Proportion de co-infections et du nombre de pathogènes détectés par échantillon sur la totalité de l'étude

Co-infections (n = 43)	
Association de :	Nombre d'échantillons
Virus	20/182 (11%)
Virus + Bactérie	24/182 (13,2%) 4 <i>Campylobacter spp.</i> , 11 EPEC, 6 EAEC, 1 STEC, 2 <i>Salmonella spp.</i>
Bactéries	1/182 (0,5%) <i>Salmonella spp.</i> + EPEC
Parasite + Bactérie	1/93 (0,5%) <i>G. lamblia</i> + EPEC

Tableau n°15 : Détail des associations retrouvées sur la totalité de l'étude par famille de pathogènes (la somme des échantillons est supérieure à 43 car 3 échantillons comportaient plusieurs virus associés à une bactérie)

DISCUSSION

1. Analyse comparative : FilmArray® vs méthodes conventionnelles

Cette étude a évalué le gain potentiel qu'apporte la recherche simultanée de 22 agents entéro-pathogènes par rapport aux méthodes diagnostiques conventionnelles, ainsi que son impact sur la prise en charge clinique. Différentes études ont déjà démontré la supériorité de l'approche syndromique par FilmArray® sur les techniques conventionnelles d'analyse des selles (coproculture, immunochromatographie, microscopie), au niveau de la sensibilité et de la spécificité (64 – 66).

a. Taux de positivité

Parmi 93 échantillons (phase 1), nous avons détecté au moins 1 pathogène dans 23 échantillons (24,7%) par les méthodes conventionnelles contre 62 échantillons positifs (66,7%) grâce au panel GI FilmArray®. L'analyse moléculaire des selles permet donc une augmentation significative du taux de positivité, notamment grâce à sa sensibilité supérieure et à la variété de pathogènes ciblés par une seule analyse. Ces taux de positivité sont supérieurs à ceux obtenus dans d'autres études avec par exemple : (Conventionnelles vs FilmArray®) 18,1% vs 54,2% pour l'étude multicentrique européenne de Spina et al. (66) et 8,3% vs 33,0% pour l'étude de Khare et al. (65). Différents facteurs peuvent expliquer la supériorité de nos taux de positivité :

- ✓ Notre étude est réalisée sur une population pédiatrique et non sur la population générale
- ✓ Notre nombre d'échantillons est plus bas (230 Khare et al. et 709 Spina et al.)
- ✓ Notre étude est réalisée en période hivernale (pic épidémique de GEA)

Il n'existe pas, à notre connaissance, d'étude publiée comparant directement les résultats obtenus par les méthodes conventionnelles en ne réalisant que les recherches prescrites par le clinicien à ceux obtenus par le panel GI FilmArray® dans une population pédiatrique. Une étude très récente, parue en Juillet 2018, est similaire à la nôtre mais le taux de positivité des méthodes conventionnelles est mesuré de façon rétrospective (analyses réalisées durant l'année précédant la mise en place du FilmArray®) (100). Cette étude ne compare donc pas directement les performances de chaque technique sur les mêmes prélèvements, et inclut toutes les tranches d'âge de la population. Dans cette étude, le taux de positivité des examens

prescrits et réalisés par les techniques conventionnelles est 6,7% pour l'ensemble de la population et de 15,6% dans la population pédiatrique (100).

Différentes publications (68, 69) se sont tout de même intéressées aux résultats fournis par l'analyse moléculaire des selles dans les cas de GEA infantiles. Cependant, les méthodes conventionnelles n'étaient réalisées qu'en vérification du résultat FilmArray® ou pour l'obtention d'un antibiogramme, sans calcul du taux de positivité. On ne peut donc pas comparer nos résultats obtenus par méthodes conventionnelles aux leurs.

b. Evaluation des performances diagnostiques

L'analyse des résultats de chaque technique en fonction du motif d'admission ou du contexte clinique démontre l'apport potentiel de l'analyse moléculaire. En effet, 75 patients ont été admis pour GEA ou ont présenté troubles digestifs durant la phase 1, les méthodes conventionnelles ont permis d'en déterminer l'étiologie pour 23 (30,7%) d'entre eux contre 55 (73,3%) pour le FilmArray®, mettant en lumière le problème du sous-diagnostic des GEA. Cette supériorité de l'analyse moléculaire s'observe aussi sur la détection de co-infections avec une détection de pathogènes en association dans 23,7% des échantillons par FilmArray® alors qu'aucune co-infection n'a été mise en évidence par les techniques conventionnelles. Plusieurs paramètres peuvent expliquer ces différences entre les techniques :

- ✓ La non-prescription de certaines recherches : le FilmArray® a identifié 18 norovirus alors que leur recherche n'était pas prescrite. Nous en avons confirmé 15 par les tests immuno-chromatographiques qui auraient donc été rendus s'ils avaient été prescrits. Les 3 restants ont été confirmés par PCR + séquençage. De même pour le patient où *Giardia lamblia* a été détectée, cette recherche n'était pas prescrite.
- ✓ Un manque de sensibilité des méthodes conventionnelles : Par exemple, seulement 3 adénovirus ont été mis en évidence par les techniques de routine contre 11 détectés par l'analyse moléculaire alors que leur recherche était prescrite. De même pour *Campylobacter spp.*, sur les trois découverts par l'analyse moléculaire, un seul a été retrouvé à la coproculture. Ces résultats ont aussi été confirmés par une technique moléculaire complémentaire.

- ✓ L'absence de moyen d'identification : c'est notamment le cas pour les sapovirus qui ont été détectés dans 14 échantillons au cours de cette première phase alors que nous ne disposons d'aucun test de routine permettant leur mise en évidence. EPEC et EAEC sont dans le même cas de figure, cependant leur forte proportion de découverte en association à un virus fait que cela influe peu sur ces différences de taux de positivité.

- **Avantages de l'approche syndromique par FilmArray® sur les techniques conventionnelles**

La recherche systématique de 22 agents pathogènes par une technique moléculaire très sensible présente de nombreux avantages :

- ✓ Nombre de cas de GEA documentés microbiologiquement nettement amélioré
- ✓ Remplacement de 4 analyses différentes (rotavirus/adénovirus ; norovirus ; coproculture ; parasitologie) par une seule, ce qui :
 - Evite d'avoir à choisir l'un des tests conventionnels, limitant ainsi le risque de retard de diagnostic ou de non documentation (ex : norovirus).
 - Evite par ailleurs, la prescription systématique de l'ensemble des examens disponibles.
 - Simplifie le travail du technicien, améliore le flux de travail.
- ✓ Détection de pathogène dont la recherche n'est pas prescrite ou la présence non suspectée notamment lors de co-infections
- ✓ Obtention rapide du résultat (avantage majeur pour la bactériologie et la parasitologie)

Ces avantages montrent que le panel GI FilmArray® s'avère être un moyen efficace pour palier au problème du sous-diagnostic des GEA en pédiatrie.

- **Limites de l'approche syndromique par FilmArray®**

L'analyse comparative a aussi permis de mettre en lumière quelques limites liées à l'utilisation du panel GI FilmArray®, notamment du fait de sa sensibilité élevée, du caractère génotypique et qualitatif de cette analyse :

- ✓ Obtention de résultats positifs chez des patients asymptomatiques (16 patients asymptomatiques => 5 positifs) :

- Non-information sur la viabilité du pathogène détecté (ex : *Campylobacter*)
 - Risque de détection d'un portage asymptomatique (bactérien, parasitaire) ou d'une excrétion virale post-infection.
- ✓ Non-quantification des pathogènes qui pourrait aider lors de co-infections.
 - ✓ Détection de nombreux *E. coli* diarrhégeniques non recherchés par la coproculture et dont la pertinence clinique reste à évaluer.

Ces limites peuvent poser un problème d'interprétation du résultat au clinicien. Cependant, ce problème d'interprétation peut-être fortement atténué par la juste prescription de cette analyse (patients symptomatiques), une interprétation prudente des résultats en les confrontant au tableau clinique et un dialogue clinico-biologique régulier, qui s'avère essentiel.

2. Epidémiologie des GEA au centre hospitalier de Béthune

Sur un total de 182 échantillons analysés, au moins un pathogène a été détecté dans 141 échantillons (*C. difficile* exclus) soit un taux de positivité remarquablement élevé de 77,5%. D'autres études réalisées sans limite d'âge retrouvent des taux inférieurs allant de 33 à 54,8% (64 – 66, 71, 99), celles réalisées sur une population pédiatrique retrouvent aussi des taux inférieurs mais plus proches des nôtres avec 55,8% pour Calderaro et al. (68) ou Beal et al. (100) et 52% pour Stockmann et al. (69). Une étude a isolé un groupe d'enfants souffrant de diarrhées hémorragiques et a obtenu un taux de positivité de 73,3% dans cette population (99).

• Pathogènes détectés

Concernant les types d'agents entéro-pathogènes détectés, les virus sont largement dominants avec 71,4% d'échantillons positifs, suivis des bactéries avec 18,7% de positifs, les parasites sont nettement minoritaires avec 1,1% d'échantillons positifs. Cette répartition est similaire quelle que soit la tranche d'âge observée.

La proportion d'échantillons positifs est nettement supérieure chez les enfants < 5 ans avec 79,3% d'échantillons positifs au total (73,6% chez les < 2 ans et 91,8% chez les 2 – 4 ans) et 74,8% d'échantillons contenant au moins un agent viral contre 19,3% contenant au moins un agent bactérien. L'agent étiologique le plus fréquent

dans cette tranche d'âge est le rotavirus avec un taux de positivité de 52,9%. La répartition est semblable dans d'autres études réalisées sur une population pédiatrique avec une majorité des cas provenant des enfants < 5 ans, principalement d'étiologie virale (68, 69). Toutefois, les taux de rotavirus sont nettement inférieurs, avec 14,5% pour Calderaro et al. (68) et seulement 4 % pour Stockmann et al. (69). Cette différence peut s'expliquer par la vaccination contre le rotavirus, l'étude de Calderaro et al. a été réalisée en Italie où cette vaccination est recommandée et remboursée, celle de Stockmann et al. a été réalisée aux Etats-Unis où cette vaccination est très fréquente aussi, le norovirus y est d'ailleurs bien plus présent que le rotavirus (64, 69).

Nous avons aussi mis en évidence un sapovirus dans 8,2% des échantillons montrant son rôle non négligeable dans les épidémies de GEA alors qu'il n'est pas recherché par les tests de routine. D'autres auteurs ont découverts des taux similaires allant de 8,2% à 8,8% chez les enfants < 5 ans (68, 69).

Enfin, de nombreux pathogènes ciblés par le panel GI FilmArray® n'ont pas été détectés durant notre étude : *Shigella spp./EIEC*, *Y. enterocolitica*, *E. coli* O157, *Vibrio (cholerae / vulnificus / parahaemolyticus)*, ETEC, *P. shigelloides*, *C. cayetanensis*, *Cryptosporidium spp.* et *E. histolytica*.

Nos résultats montrent que le panel GI FilmArray® paraît adapté à l'épidémiologie locale des GEA en pédiatrie et qu'il permettrait de plus, la détection d'agents pathogènes beaucoup plus rares dans cette population.

- **Co-infections**

Les détections multiples de pathogènes ont concerné 23,6% de nos échantillons et 25,2% chez les enfants < 5 ans. L'association la plus fréquente était EPEC + adénovirus mais de nombreuses autres combinaisons incluant virus, bactéries et parasites ont été observées. La diversité des associations induit une difficulté dans la détermination du rôle étiologique de l'agent détecté. Des études ont mis en évidence des taux de co-infections du même ordre de grandeur allant de 19,3 à 32,5% (64, 65, 66, 68, 71, 99). Cependant, Stockmann et al. ont trouvé au moins deux pathogènes dans seulement 15% de leurs échantillons mais dans 21% des échantillons provenant d'enfants < 5 ans (69). Les taux sont plus faibles lorsque les patients adultes sont inclus, par exemple Spina et al. ont détecté 16,4% de co-infections (66) et 16,8% pour l'étude de Buss et al. (64). Mais ces études observent que le taux de détection est plus élevé chez les enfants < 5 ans.

Dans notre étude, les *E. coli* diarrhégeniques sont responsables à eux seuls de 46,5% des cas où plusieurs pathogènes ont été détectés, ils sont d'ailleurs, comme dans des études comparables (66, 68, 71) les pathogènes les plus fréquemment retrouvés en association. Certains auteurs attribuent l'abondance de ces associations à une infection initiale, qui va provoquer une inflammation engendrant un déséquilibre de la flore digestive, ce qui permet la colonisation par d'autres agents pathogènes, notamment des entérobactéries dont fait partie *E. coli* (71, 98).

Ces résultats montrent la part non négligeable des co-infections dans les GEA, notamment chez l'enfant, de plus, elles sont largement sous-estimées par les méthodes conventionnelles (64). Cependant, leur rôle dans la GEA n'est pas clairement établi et nécessiterait des études supplémentaires incluant des enfants asymptomatiques (68). Des évaluations de l'épidémiologie et de la signification clinique de certaines associations spécifiques de pathogènes, notamment celles contenant EPEC ou EAEC, ainsi qu'une analyse précise du portage asymptomatique de certains agents pathogènes pourraient aider à interpréter ces co-infections.

Cela ne pose pas de problème lorsque 2 virus sont détectés en association, le traitement d'une GEA virale n'étant pas fonction de l'agent étiologique. Les autres types d'associations peuvent poser un problème d'interprétation et une difficulté dans le choix de mise en place d'un traitement. Le développement d'analyses moléculaires permettant la quantification des pathogènes serait aussi un vrai plus pour palier à ce problème.

3. Cas des *E. coli* diarrhégeniques

Tout comme dans d'autres études évaluant le panel GI FilmArray® un des résultats remarquable et inattendu était la forte proportion de découverte d'*E. coli* diarrhégeniques (64 -66, 68, 69,71), notamment EPEC et EAEC. Ils représentent les agents bactériens les plus fréquemment détectés durant notre étude en excluant *C. difficile*. Sur la totalité de l'étude, nous avons détecté 15 EPEC, 9 EAEC et 1 STEC ce qui représente 13,7% (25/182) de la totalité des échantillons. Ce taux est similaire à celui obtenu par Stockmann et al. (69) qui était de 13,2% mais inférieur à celui obtenu par Calderaro et al. (68) qui était de 30,7%. Dans 80% des cas (20/25), ils ont été détectés en association à un autre pathogène, ce qui complique la détermination de leur part de responsabilités dans l'apparition des symptômes. Tout

comme dans d'autres cas de co-infections, la quantification des agents pathogènes pourrait faciliter l'interprétation du résultat. Le constat est le même dans différentes études évaluant le panel GI FilmArray®, par exemple, dans l'étude de Spina et al. (66), sur la totalité de leurs échantillons comportant plusieurs pathogènes, ils trouvaient EPEC et / ou EAEC dans 84% de ces échantillons. L'étude de Calderaro et al. (68) affiche quant à elle un taux de détection des *E. coli* diarrhéogènes en association de 64,7%. Ces résultats posent la question de l'importance clinique de ces *E. coli* qui n'étaient pas détectés par la coproculture, ainsi que la pertinence d'une détection génotypique de ces souches.

a. STEC

STEC n'a été détecté qu'une fois durant notre étude (0,5%), en association avec un rotavirus. D'autres études réalisées chez l'enfant ont retrouvé ce germe à des taux allant de 2,5% (68) à 3,9% (69), *E. coli* O157 inclus. Ce pathovar d'*E. coli* a déjà provoqué des épidémies de GEA, il peut provoquer des diarrhées hémorragiques sévères pouvant se compliquer d'un syndrome hémolytique et urémique, potentiellement fatal, en particulier chez l'enfant. Sa détection rapide est donc très intéressante en termes de santé publique.

b. EPEC

De nombreuses études ont mis en évidence EPEC chez des patients présentant des troubles digestifs, notamment chez des enfants, que ce soit dans des pays développés ou en voie de développement, démontrant ainsi leur caractère pathogène (73 – 77). Cependant, une étude de Hu et al. a montré que dans de nombreuses publications, on retrouvait autant d'EPEC, chez les sujets présentant des symptômes digestifs que chez les sujets asymptomatiques (72). Autre exemple, une étude réalisée au Pays-Bas sur 5197 échantillons de selles (pédiatriques) dont 95,4% ne présentaient pas de symptômes de GEA, a mis en évidence EPEC dans 19,9% des échantillons provenant de patients asymptomatiques (78). Des études cas-témoins tirent les mêmes conclusions, avec des taux de détection d'EPEC allant de 6,3 à 7,6% dans les groupes symptomatiques contre 9,9 à 10,7% dans les groupes contrôles (79, 80).

Ces données mettent en lumière la nécessité d'approfondir les connaissances sur la pathogénicité d'EPEC. La réalisation d'autres études évaluant les sérotypes,

les pathovars et les facteurs de virulence, en fonction de la symptomatologie présentée, pourrait aider à préciser s'il existe des facteurs liés à la souche ou à l'hôte qui feraient qu'EPEC exprime ou n'exprime pas son pouvoir pathogène.

c. EAEC

Concernant EAEC, différentes études ont démontré que sa présence dans les selles était associée à des symptômes de GEA. Dans l'étude cas-témoins de Nataro et al., EAEC a été mis en évidence chez 4,5% des patients diarrhéiques contre 1,7% chez les patients asymptomatiques (80). Les résultats sont similaires chez les enfants < 5 ans avec 5,0% vs 1,8% (symptomatique vs asymptomatiques) (80). Une étude de Denno et al. réalisée sur des patients s'étant présentés aux urgences de l'hôpital pédiatrique de Seattle, a montré une proportion d'EAEC de 3,1% chez les enfants symptomatiques contre 0,9% dans le groupe contrôle (81). Ces études montrent que la présence d'EAEC dans les selles est significativement associée à une symptomatologie diarrhéique mais qu'un portage asymptomatique peut tout de même exister. C'est d'ailleurs ce que montre l'étude d'Enserink et al. réalisées sur 5197 échantillons de selles provenant d'enfants en crèche et majoritairement asymptomatiques (95,4% des enfants), EAEC a été mis en évidence dans 5,3% des échantillons (78). Pour Nataro et al., EAEC doit-être considéré comme responsable de la symptomatologie digestive en l'absence d'autre agent étiologique identifié (80).

Ces données montrent que même si EAEC est plus souvent associé à des cas de diarrhées, d'autres investigations sont nécessaires afin de préciser les facteurs intervenant dans l'expression de son pouvoir pathogène. Cela aidera à l'interprétation d'un résultat positif pour ce pathogène, notamment en cas de co-infection comme ce fut souvent le cas durant notre étude.

4. Le portage asymptomatique

Lorsque l'analyse des selles est réalisée par méthode génotypique, il faut savoir que la présence de l'ADN ou ARN d'un pathogène n'est pas systématiquement synonyme de symptômes cliniques. C'est principalement le cas pour les virus, en effet, même si la relation entre la présence d'un virus entéro-pathogène dans les selles et la présence de symptômes de GEA n'est pas à prouver (78), une infection par l'un de ces virus est suivie d'une excrétion post-infection. Par exemple, norovirus peut être détecté plusieurs semaines après l'infection (83), de

même pour rotavirus, adénovirus ou astrovirus (50, 53). Des agents bactériens peuvent aussi être mis en évidence dans les selles, sans qu'une symptomatologie de GEA y soit associée. C'est le cas par exemple de *Salmonella spp.* qui peuvent être détectées plusieurs mois après une infection (83) ou encore de *Campylobacter spp.*, pour lesquels un portage asymptomatique peut exister, notamment chez l'enfant (84). Enfin, des cas de figure similaires peuvent se rencontrer avec les agents parasitaires, en effet, il n'est pas rare de mettre en évidence un portage asymptomatique de *Cryptosporidium spp.* ou de *Giardia lamblia*, en particulier chez l'enfant (85-87).

Ce portage asymptomatique peut aussi être détecté par les méthodes diagnostiques conventionnelles mais la sensibilité élevée des techniques moléculaires augmente ce risque en détectant des pathogènes présents en très faible quantité. De ce fait, le délai de détection d'une excrétion virale post-infection peut-être allongé et le portage asymptomatique d'une bactérie entéro-pathogène sera détecté à des concentrations très faibles. De plus, un résultat positif de FilmArray® signifie que l'ADN ou l'ARN de l'agent pathogène a été détecté dans le prélèvement, mais n'informe pas sur sa viabilité et donc sur sa responsabilité dans la symptomatologie.

Ces données montrent une fois de plus l'importance de la juste prescription de cette analyse, de la confirmation par méthode phénotypique pour les bactéries, de la confrontation du résultat au contexte clinique et du dialogue clinico-biologique afin de ne pas passer du sous-diagnostic au sur-diagnostic.

5. *Clostridium difficile* chez l'enfant

Durant notre étude, nous avons détecté *C. difficile* toxigène dans 14,3% des échantillons (26/182), 25 échantillons provenaient d'enfants < 2 ans et 1 échantillon provenait d'un enfant de 2 ans et 1 mois. L'âge de cet enfant étant très proche des 2 ans, nous n'avons pas considéré *C. difficile* comme responsable des symptômes. Des taux similaires ont été obtenus dans d'autres études réalisées sur une population pédiatrique. Dans l'étude de Calderaro et al. (68) *C. difficile* a été détecté dans 11,4% des échantillons et dans 13,6% pour l'étude de Stockmann et al. (69). Dans 84,6% des cas de notre étude, il a été découvert en association à un autre pathogène, parmi ces associations, au moins un agent viral était présent en plus de *C. difficile* dans chaque prélèvement.

Différentes études ont montré que la détection de ce pathogène chez les enfants < 2 ans n'est qu'exceptionnellement significative et représente une colonisation asymptomatique (88-90). Chez les enfants entre 3 et 4 ans, la relation entre la présence de *C. difficile* toxigène et une symptomatologie diarrhéique n'est pas clairement établie (89,90). L'étude cas-témoin de Denno et al. (81) a mis en évidence *C. difficile* dans 5,2% des échantillons du groupe symptomatique contre 8,8% dans le groupe contrôle, chez des enfants < 3 ans. Une autre étude a mis en évidence cette bactérie dans des proportions similaires chez des enfants < 5 ans avec 10,5% d'échantillons positifs dans le groupe « cas » contre 14,4% dans le groupe contrôle (91).

Cependant, un nombre croissant de publications s'intéressent aux infections à *C. difficile* (ICD) chez des enfants plus âgés et montrent que sa présence ne doit pas être négligée. Une étude de cohorte, multicentrique, réalisée sur plus de 12000 enfants > 1 an (âge médian de 6 ans dans le groupe ICD+ ; 8 ans dans le groupe ICD -), a montré qu'une infection à *C. difficile* était associée à une augmentation de la mortalité et un allongement de la durée d'hospitalisation (92). Le risque de développer une infection à *C. difficile* chez les enfants > 1 an est augmenté par une antibiothérapie récente et la présence de certaines comorbidités telles qu'une transplantation d'organe solide, la présence d'une gastrostomie (93) ou encore un cancer (95). Par ailleurs, si on reprend l'étude de Denno et al. citée auparavant, parmi les enfants > 3 ans, *C. difficile* a été détecté dans 6,3% des échantillons provenant de patients symptomatiques contre 1,3% dans le groupe contrôle (81). Des études sur la détection de *C. difficile* toxigène par méthodes moléculaires chez des enfants symptomatiques et asymptomatiques s'avèreraient utiles pour éclaircir sa pertinence clinique (94, 95). Une évaluation des données informant sur le degré d'inflammation ou la réponse immunitaire du patient lorsque la recherche de *C. difficile* est positive pourraient aussi améliorer la justesse du diagnostic (95).

Ces données invitent donc à interpréter avec beaucoup de prudence un résultat positif à *C. difficile* chez un enfant. Vu le taux de détection observé dans notre étude (14,3%), l'occultation du résultat pour ce pathogène chez les enfants < 2 ans accompagné d'un commentaire informant sur la fréquence du portage asymptomatique dans cette population, s'avère indispensable afin d'éviter des erreurs de diagnostic ou la mise en place d'un traitement inutile. Pour les enfants d'âge > 2 ans, la détection de *C. difficile* chez un patient au contexte particulier (immunodépression, comorbidités,...) mérite d'être discutée avec le clinicien.

6. Impact sur la prise en charge clinique

L'ensemble des questionnaires (86 patients) à remplir par les cliniciens durant la deuxième phase ont été récupérés et analysés.

a. Impact sur le diagnostic

- **En fonction de l'hypothèse diagnostique initiale**

Pour 88,4% des patients inclus dans la phase 2, l'hypothèse diagnostique principale du pédiatre lors de l'envoi du prélèvement était une GEA infectieuse. L'analyse par le panel GI FilmArray® a permis la documentation microbiologique de 93,4% de ces cas. Ce résultat confirme les observations de la première phase, à savoir que cette analyse se révèle bien plus performante que les méthodes conventionnelles (30,7% des cas documentés durant la phase 1) et est particulièrement bien adaptée au diagnostic des GEA en pédiatrie.

- **Réponses des pédiatres aux questionnaires**

L'analyse des réponses à la question concernant l'impact diagnostique (question 6 – annexe 1) nous montre qu'un diagnostic de certitude a été établi pour 83,7% des patients, dont 93,1% de confirmation d'une étiologie infectieuse et 6,9% d'exclusion d'une étiologie infectieuse. On note aussi une modification du diagnostic pour 8,1% des patients

Ces résultats montrent que dans une large majorité de cas, l'analyse FilmArray® a un fort impact sur le diagnostic du clinicien notamment grâce à :

- La fiabilité du résultat (sensibilités élevées).
- La diversité des pathogènes ciblés qui permet à la fois de confirmer une étiologie et d'exclure les autres en une seule analyse (ex : confirmation d'une infection à rotavirus et exclusion d'une infection à *Campylobacter*)

On peut donc estimer que l'analyse par le panel GI FilmArray® apporte simplicité, précision, assurance et souvent une certitude au clinicien dans son diagnostic.

Cependant, quelques limites de notre étude sont à signaler :

- ✓ La période d'inclusion coïncidait avec le pic épidémique de GEA à rotavirus, ce qui peut potentiellement amener à surévaluer la proportion de cas où un diagnostic de certitude a été posé. Par ailleurs, dans 90,1% des cas de GEA confirmés par FilmArray®, le pathogène détecté était celui attendu par le clinicien (question 5 – annexe 1), ce chiffre est aussi potentiellement surestimé.
- ✓ Nos critères d'évaluation sont subjectifs, dans le sens où nous avons analysé les réponses brutes des cliniciens, sans les confronter au contexte clinique, ni aux résultats de l'analyse FilmArray®.

Il pourrait être intéressant de réaliser une étude sur une période plus longue, s'étalant au-delà de la période hivernale, associée à une analyse approfondie des réponses aux questionnaires, du contexte clinique et du résultat FilmArray®, afin de déterminer encore plus efficacement le réel impact du FilmArray® sur le diagnostic.

b. Impact sur le délai de rendu de résultat

Nous avons mesuré les délais de rendu de résultat par les méthodes conventionnelles (phase 1) puis par FilmArray® (phase 2), il faut rappeler que tout résultat positif, quelle que soit la technique, est immédiatement communiqué par téléphone. Les délais médians mesurés étaient de :

- ✓ 2h40 min pour les tests immunochromatographiques (virologie)
- ✓ 59h58 min pour la coproculture
- ✓ 6h45 min pour le panel GI FilmArray®

N'ayant eu qu'une seule demande de parasitologie des selles, nous ne pouvons évaluer le délai de rendu mais il s'agit de techniques nécessitant plusieurs étapes de concentration et une observation minutieuse au microscope. Elles sont donc assez longues à réaliser, pour une sensibilité restant moyenne, largement améliorée par les techniques moléculaires (64 – 66).

D'autres études ont obtenu des délais de rendu de résultat relativement similaires aux nôtres avec un temps moyen de 3,88 heures pour le FilmArray® contre 55,46 heures pour la coproculture pour l'étude de Murphy et al. (71) et 8,94 heures vs 54,75 heures (FilmArray® vs coproculture) pour l'étude de Beal et al. (100).

Ces résultats montrent l'un des avantages majeurs du panel GI FilmArray® : la rapidité d'analyse, qui est un vrai plus, notamment pour la bactériologie.

Pour expliquer ces délais, il faut rappeler que l'analyse FilmArray® était entrée dans le fonctionnement de routine du laboratoire avec une réalisation de cette analyse 7j / 7 de 7h à 21h, un prélèvement arrivant la nuit était donc traité le lendemain matin. De même pour une analyse non terminée en fin de poste du technicien de jour (21h), son résultat n'était rendu que le lendemain matin. Différentes étapes sont réalisées avant de rendre le résultat, du prélèvement au rendu, il faut prendre en compte :

- ✓ Le délai d'envoi du prélèvement par le service
- ✓ L'enregistrement de l'analyse
- ✓ La phase pré-analytique (préparation d'aliquots, de la cassette)
- ✓ La phase analytique (analyse par le système FilmArray®)
- ✓ La phase post-analytique (communication du résultat, validations techniques et biologiques)

Enfin, l'analyse des selles ne fait pas partie des analyses prioritaire, par exemple, un examen de liquide céphalo-rachidien ou de liquide pleural sera traité avant un échantillon de selles.

Ces paramètres expliquent qu'une analyse d'une heure environ (FilmArray®) mette 6h45 min pour être rendue, tout comme un test immunochromatographique réalisé en 5 à 10 minutes est rendu en 2h40 min.

La rapidité de cette analyse apporte donc un gain majeur pour les examens de bactériologie et de parasitologie des selles, disciplines pour lesquelles les examens de routine sont longs à réaliser et un traitement anti-infectieux est susceptible d'être instauré. De plus, concernant l'examen bactériologique des selles, le FilmArray® pourrait potentiellement diminuer le délai nécessaire à la coproculture en permettant de n'ensemencer que les selles positives et de cibler directement le pathogène détecté.

Concernant les recherches virologiques, les tests conventionnels sont plus rapides mais leurs sensibilités sont inférieures (64) et ils se limitent à la recherche de rotavirus, adénovirus et norovirus lorsqu'ils sont prescrits. Le FilmArray® limite donc le risque de non détection d'un agent viral et donc de non mise en place des précautions complémentaires pour un patient porteur d'un virus entéro-pathogène.

Il existe un autre apport majeur du FilmArray® grâce à sa rapidité, la proportion de patients sortant avec un résultat complet. En analysant les selles par

les techniques conventionnelles, 54,1% des patients hospitalisés sont sortis sans que le clinicien n'ait obtenu l'ensemble des résultats, notamment ceux de la coproculture. Le FilmArray® a permis de faire chuter ce taux à 7,5%, ce qui permet une prise en charge plus efficace et plus rapide du patient. Cela évite aussi au pédiatre d'avoir à rappeler pour un patient ayant une coproculture positive alors que celui-ci est déjà sorti d'hospitalisation avant l'obtention du résultat. En ce sens, cela représente un gain de temps pour le médecin.

D'un autre point de vue, la sortie d'un enfant sans résultat complet et parfois sans documentation microbiologique peut-être source d'anxiété pour les parents, il serait intéressant d'évaluer l'impact de l'obtention rapide du résultat vis-à-vis de la famille de l'enfant.

La durée moyenne de séjour (DMS) en pédiatrie étant courte (environ 72 heures), l'impact de l'analyse FilmArray® sur cette DMS n'était pas évaluable dans notre étude, cela aurait nécessité un nombre de patients bien plus grand pour obtenir des données statistiquement fiables.

L'analyse de ces données montre que la rapidité du FilmArray® contribue fortement à optimiser la prise en charge globale du patient.

c. Traitements anti-infectieux

Selon les recommandations françaises et européennes (5, 117), doivent-être traitées les infections à :

- ✓ *Salmonella typhi* / *paratyphi*, autres *Salmonella spp.* (uniquement dans certains cas : < 3 mois, drépanocytose, immunodépression, bactériémie ou sepsis)
- ✓ *Shigella spp.*, *Campylobacter jejuni*, *Yersinia enterocolitica*
- ✓ *Entamoeba histolytica*, *Giardia lamblia*

De nombreux agents pathogènes ne nécessitent donc pas de traitement spécifique (virus, *E. coli* diarrhéogènes, coccidies,...), cependant si un patient présente des comorbidités ou une symptomatologie sévère, l'instauration d'un traitement sera discutée au cas par cas. Six pathogènes potentiellement traitables ont été détectés durant la phase 2 : 2 *Salmonella spp.*, 3 *Campylobacter* et 1 *Giardia lamblia*.

Les résultats du panel GI FilmArray® ont amené le clinicien à instaurer un traitement spécifique pour 4 patients (4,7%) :

- ✓ 2 *Campylobacter* traités par azithromycine
- ✓ 1 *Giardia lamblia* traitée par métronidazole

- ✓ 1 cas d'EAEC + rotavirus traité azithromycine (le tableau de GEA fébrile avec déshydratation modérée à sévère a probablement justifié le traitement).

Les 2 salmonelles ont été identifiées comme des Salmonelles mineures (ie non typhiques) et n'ont pas été isolées chez des patients porteurs de comorbidités. Aucun traitement antibiotique n'a donc été instauré en accord avec les recommandations. Les autres *E. coli* diarrhéogènes détectés, EPEC, EAEC et STEC n'ont pas induit la mise en place d'un traitement antibiotique.

Dans un cas, une analyse positive à *Campylobacter* n'a pas abouti à une antibiothérapie, il s'agissait d'un enfant d'un mois, né prématurément ayant déjà bénéficié de deux analyses de selles par FilmArray®. Ses deux analyses précédentes étaient positives à rotavirus, *Campylobacter* n'a été détecté que sur le troisième prélèvement, accompagné du rotavirus, après un mois d'hospitalisation et deux semaines après le premier prélèvement. Devant la négativité de la culture, les pédiatres n'ont pas instauré d'antibiothérapie. L'infection par *Campylobacter* est généralement symptomatique, mais des formes asymptomatiques peuvent exister (96, 97), de plus, le fait de ne pas l'avoir obtenu en culture témoigne d'une probable excrétion à faible concentration.

La faible proportion de patients pour lesquels le résultat du FilmArray® a abouti à l'instauration d'un traitement s'explique donc par la rareté des cas justifiant cette instauration.

Les avantages apportés par le FilmArray® sur la mise en place de traitements anti-infectieux sont donc :

- ✓ Une instauration dans les plus brefs délais pour les pathogènes concernés
- ✓ Une instauration rapide pour les pathogènes ne nécessitant pas un traitement systématique mais dont la situation clinique du patient l'exigerait (ex : dégradation clinique d'un patient porteur d'une salmonelle)
- ✓ La détection de pathogènes à traiter non suspectés ou associés (ex : *Giardia lamblia*)
- ✓ La non mise en place d'une antibiothérapie probabiliste

L'étude de Beal et al. (100) a évalué l'impact du FilmArray® sur le nombre de jours d'antibiothérapie et n'a pas mis en évidence de diminution de consommation d'antibiotiques statistiquement significative chez l'enfant, avec 1,73 jours d'antibiothérapie dans le groupe FilmArray® contre 2,12 jours dans le groupe contrôle ($p = 0,06$).

d. Observation sur les précautions complémentaires

Il s'agit ici d'une observation plutôt qu'un réel impact. En effet, en période d'épidémie de GEA, des précautions complémentaires contact sont mises en place dès l'hospitalisation du patient, selon la politique interne du CH Béthune. Une analyse du nombre de journées avec précautions contact à l'aide d'un groupe contrôle (méthodes conventionnelles) et d'un groupe FilmArray® aurait permis d'évaluer plus précisément l'impact de l'analyse moléculaire.

L'analyse des réponses aux questionnaires (question 9 – annexe 1) nous montre qu'un résultat positif en FilmArray® amène dans une large majorité de cas (86,7%) à instaurer ces PCC ou les maintenir lorsqu'elles étaient déjà mises en place. Il faut tout de même noter que :

- ✓ Pour 12,3% des patients ayant eu un résultat positif, des PCC ont été instaurées
- ✓ Pour 10% des patients ayant eu un résultat négatif, les PCC ont été levées

Globalement, l'analyse moléculaire des selles permet de prendre rapidement la décision de mise en place ou de maintien des PCC dans tous les cas où cela est justifié, elle évite aussi une instauration inutile de ces PCC quand le résultat est négatif ou permet de les lever rapidement si nécessaire. La mise en place rapide de ces précautions ainsi que la détection de la quasi-totalité des virus entéro-pathogènes avec des sensibilités élevées permet de limiter le risque de transmission nosocomiale des GEA, ce qui participe à améliorer la prise en charge globale des patients.

7. Conclusion

L'ensemble des résultats de notre étude a permis de mettre en évidence de nombreux avantages liés au diagnostic des GEA par approche syndromique :

- ✓ Panel de pathogènes adapté aux GEA pédiatriques avec documentation microbiologique de la majorité des cas de GEA (93,4%) à la différence des méthodes conventionnelles qui ont permis la documentation de 30,7% des cas et auraient permis d'en documenter 41,9% sans s'arrêter aux examens prescrits.
- ✓ Performances analytiques élevées (64 – 66) :
 - Recherche de la majorité des entéro-pathogènes, dont certains ne sont pas détectables par les technique conventionnelles du laboratoire.

- Apport d'une assurance au clinicien dans son diagnostic

✓ La diversité des pathogènes ciblés par l'approche syndromique permet :

- Au clinicien de simplifier le choix des examens dans sa prescription.
- A la fois de confirmer une étiologie et d'en exclure une autre.
- De détecter des pathogènes en association, non suspectés.
- De réduire fortement le nombre d'étapes et d'examens nécessaires à une analyse microbiologique complète des selles, ce qui améliore le flux de travail au laboratoire.

✓ Rapidité de l'analyse :

- Amélioration nette des délais de rendu de résultat et de la proportion de patients sortant avec un résultat complet.
- Instauration rapide d'un traitement spécifique quand il est nécessaire.
- Décision rapide de l'instauration, du maintien ou de la levée des PCC.

Ces avantages indiquent que l'utilisation du panel GI FilmArray® permet une amélioration de la précision et de la rapidité du diagnostic et donc, de la prise en charge des GEA pédiatriques dans notre établissement.

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

- ✓ Technique génotypique : Risque de détection d'un portage bactérien / parasitaire asymptomatique ou d'une excrétion virale post-infection et pas d'information sur la viabilité du pathogène.
- ✓ Technique qualitative : Cela peut poser un problème d'interprétation du résultat dans les cas de détection multiple, il devient difficile de déterminer quel pathogène est responsable de la symptomatologie. La quantification des pathogènes apporterait beaucoup pour ces co-infections.
- ✓ Pathogénicité difficile à déterminer de certains agents : C'est le cas notamment d'EPEC et EAEC qui sont fréquemment détectés mais dont l'expression du pouvoir pathogène mériterait des études plus poussées. Encore une fois, le dialogue clinico-biologique est primordial pour l'interprétation de ces résultats.
- ✓ Risque de non détection d'un pathogène ou d'un génotype non ciblé

✓ Coût direct élevé de l'analyse (150 € / test environ) : En premier lieu, il faut signaler que cette analyse est inscrite sur le référentiel des actes innovants hors nomenclature (code N156) et est valorisée 270 €. L'impact médico-économique de l'implantation du FilmArray® n'a pas été évalué au sein de notre établissement. Cependant, une étude récente de Beal et al. (100) a évalué cet impact en comparant à un groupe contrôle : le nombre de journées d'antibiothérapie, les tests additionnels, les examens d'imagerie et la durée d'hospitalisation. Cette étude conclut que le FilmArray® a permis une diminution significative du nombre de tests additionnels, d'examens d'imagerie et de la durée d'hospitalisation chez l'adulte (mesurée après la date du prélèvement), cette diminution n'est pas significative chez l'enfant. Au final, cette étude a calculé que l'analyse des selles par FilmArray® permettait de diminuer de 293 dollars le coût par patient. Une autre étude réalisée à l'aide d'un autre test syndromique (xTAG Luminex®) conclut que cette nouvelle technique a augmenté le coût direct pour le laboratoire de 34 800 dollars mais a permis de diminuer les coûts liés à l'isolement des patients de 69 500 dollars (101). Ces données montrent que même si le coût direct de l'analyse est élevé par rapport aux techniques conventionnelles, il est à rapporter au coût global de la prise en charge du patient.

A l'issue de cette étude, il a été envisagé de cibler les patients pouvant bénéficier de cette analyse. Ainsi, une analyse des selles par FilmArray® pourrait-être réalisée chez :

- les patients au tableau de GEA invasive
- les patients de néonatalogie
- tout patient pour lequel le clinicien estime que cette analyse est justifiée, y compris les adultes (comorbidités, retour de voyage, déshydratation sévère, sepsis...)

Enfin, une des limites de notre étude est son caractère monocentrique. Une étude multi-centrique aurait permis d'évaluer plus globalement l'impact de la mise en place du FilmArray®.

En prenant en compte l'ensemble des avantages et des limites du diagnostic moléculaire des GEA, nous concluons que l'approche syndromique par le panel GI FilmArray® fait partie des méthodes les plus performantes sur le marché pour le diagnostic des GEA, en permettant un diagnostic plus rapide et plus précis ainsi

qu'une prise en charge des patients optimisée. Toutefois, le dialogue clinico-biologique s'avère primordial pour faire face aux principales limites de la technique (détection génotypique et qualitative). Il s'agit d'une avancée technologique majeure du domaine de la microbiologie qui pourrait remplacer en grande partie, les techniques conventionnelles.

ANNEXES

Questionnaire d'évaluation de l'impact clinique du test syndromique gastro-intestinal

(Merci de remplir ce questionnaire pour chaque patient ayant bénéficié d'une analyse des selles par FilmArray)

1. Quel(s) signe(s) clinique(s) présentait le patient ?

- Selles liquides Nausées / vomissements Douleurs abdominales
 Hyperthermie Autre :

2. Le patient a –t-il bénéficié d'examen(s) para-clinique(s) avant réalisation du test syndromique ?

- OUI NON

Si oui : NFS CRP PCT Imagerie :

3. Résultat du test syndromique : Positif Négatif

4. Avez-vous obtenu le résultat du test syndromique avant la sortie du patient ? OUI NON

5. Le pathogène détecté était-il suspecté vis-à-vis de la symptomatologie ? OUI NON

6. Le test syndromique a-t-il eu un impact sur votre diagnostic?

- A permis d'établir un diagnostic de certitude Modification du diagnostic Pas d'impact

7. Le test syndromique vous-a-t-il permis d'exclure un diagnostic de gastro-entérite infectieuse ou d'exclure une étiologie infectieuse aux symptômes digestifs ?

- OUI NON

8. Le test syndromique a-t-il eu un impact sur l'orientation de votre patient ?

- OUI NON aucun impact

Si oui : Hospitalisation (si patient de consultation) Transfert dans un autre service
 Transfert autre hôpital Sortie du patient

9. Le test syndromique a-t-il eu un impact sur l'isolement / la mise en place de précautions ?

- OUI NON

- Pas de changement Levée isolement / précautions Mise en isolement / précautions
 Ne sait pas

10. Le test syndromique a-t-il eu un impact sur un traitement anti-infectieux ?

- Instauration ATB Arrêt ATB Pas d'impact

11. Diriez-vous que le test syndromique a modifié votre prise en charge globale ?

- OUI : NON

Annexe 1 : Questionnaire clinicien à remplir après réception des résultats FilmArray®



Run Summary			
Sample ID:	171772	Run Date:	21 Dec 2017 10:25 AM
Detected:	Enteropathogenic <i>E. coli</i> (EPEC) Rotavirus A	Controls:	Passed

Result Summary	
Bacteria	
Not Detected	<i>Campylobacter</i>
Not Detected	<i>Clostridium difficile</i> toxin A/B
Not Detected	<i>Plesiomonas shigelloides</i>
Not Detected	<i>Salmonella</i>
Not Detected	<i>Vibrio</i>
Not Detected	<i>Vibrio cholerae</i>
Not Detected	<i>Yersinia enterocolitica</i>
Diarrheagenic <i>E. coli</i>/Shigella	
Not Detected	Enteroaggregative <i>E. coli</i> (EAEC)
✓ Detected	Enteropathogenic <i>E. coli</i> (EPEC)
Not Detected	Enterotoxigenic <i>E. coli</i> (ETEC) <i>lt/st</i>
Not Detected	Shiga-like toxin-producing <i>E. coli</i> (STEC) <i>stx1/stx2</i>
⊗ N/A	<i>E. coli</i> O157
Not Detected	<i>Shigella</i> /Enteroinvasive <i>E. coli</i> (EIEC)
Parasites	
Not Detected	<i>Cryptosporidium</i>
Not Detected	<i>Cyclospora cayetanensis</i>
Not Detected	<i>Entamoeba histolytica</i>
Not Detected	<i>Giardia lamblia</i>
Viruses	
Not Detected	Adenovirus F 40/41
Not Detected	Astrovirus
Not Detected	Norovirus GI/GII
✓ Detected	Rotavirus A
Not Detected	Sapovirus

Run Details			
Pouch:	GI Panel v2.1	Protocol:	Stool FA v3.3
Run Status:	Completed	Operator:	Antoine Hilmoine (ahil)
Serial No.:	11198720	Instrument:	TME496D
Lot No.:	664017		

Annexe 2 : Exemple de rapport d'analyse FilmArray® panel GI

BIBLIOGRAPHIE

1. WHO, Global Health Observatory data repository [internet].
Disponible sur : <http://apps.who.int/gho/data/view.main.CM3002015WORLD-CH3?lang=en>
2. WHO, Mediacenter, Fact Sheet, May 2017 [internet]
Disponible sur <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs330/fr/>
3. Dossier InVS Gastro-entérites virales, bilan annuel réseau Sentinelles 2016
4. Baqui A H (Community Health Division, International Centre for Diarrhoeal Disease Research, Bangladesh) (ICDDR.B) GPO Box 128, Dhaka-1000, Bangladesh), Black R E, Yunus Md, Hoque A R A, Chowhury H R and Sack R B. Methodological issues in diarrhoeal diseases epidemiology: definition of diarrhoeal episodes. *International Journal of Epidemiology* 1991; **20**: 1057-1063.
5. Guarino A, Ashkenazi S, Gendrel D, Lo Vecchio A, Shamir R and Szajewska H: The ESPGHAN/ESPID Evidence-Based Guidelines for the Management of Acute Gastroenteritis in Children in Europe : Updtae 2014. *Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition* July 2014, **59**, number 1 : 132 - 152
6. Corinaldesi R, Stanghellini V, Barbara G, Tomassetti P, De Giorgio R. Clinical approach to diarrhea. *Internal ans Emergency Medicine* (2012) 7 (Suppl 3):S255–S262.
7. Whyte LA, Al-Araji RA, McLoughlin LM : Guidelines for the management of acute gastroenteritis in children in Europe. *Arch Dis Child Educ Pract Ed* 2015 ; **100** : 308-312
8. Nataro JP, Keper JB : Diarrheagenic Escherichia coli *Clin. Microbiol. Rev.* January 1998 vol. 11 no. 1 142-201
9. Corinaldesi R et al. : Clinical approach to diarrhea. *Intern Emerg Med* (2012) 7 (Suppl 3):S255–S262
10. Revest M, Tattevin P : Diarrhées infectieuses EMC – *Traité de médecine AKOS*, vol 7, n°2, avril 2012
11. Wassef JS, Keren DF, Mailloux JL. Role of M cells in initial antigen uptake and in ulcer formation in the rabbit intestinal loop model of shigellosis. *Infection and immunity* vol 57, n°3, mars 1989, p 858-863
12. Hubert P. Déshydratation aiguë du nourrisson par gastroentérite. *EMC – Médecine d'urgence* vol 10>n°2>juin 2015
13. Marc H. Gorelick, Kathy N. Shaw and Kathleen O. Murphy. Validity and reliability of clinical signs in the diagnosis of dehydration in children. *Pediatrics* 1997;99:E6
14. SteinerM, Darren D, Byerley J. Is this child dehydrated. *JAMA* 2004;291:2746-54
15. Duggan C, Refat M, Hashem M, Wolff M, Fayad I, Santosham M. How valid are clinical signs of dehydration in infants? *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 1996;22:56-61
16. Friedman JN, Goldman RD, Srivastava R, Parkin PC. Development of a clinical dehydration scale for use in children between 1 ans 36 months of age. *J Pediatr* 2004;145:201-7
17. WHO. Pocket book of hospital care for children : guidelines for the management of common illnesses with limited resources. Geneva : World Health Organization; 2005
18. King CK, Glass R, Bresee JS, Duggan C. Centers for Disease Control and Prevention. Managing acute gastroenteritis among children : oral rehydration, maintenance, and nutritional therapy. *MMWR Recomm Rep* 2003;52 (RR-16):1-16
19. Gravel J, Manzano S, Guimont C, Lacroix L, Gervais A, Bailey B. Validation multicentrique de score clinique de déshydratation pédiatrique. *Arch Pediatr* 2010 ;17 :1645-51
20. Goldman RD, Friedman JN, Parkin PC. Validation of the clinical dehydration scale for children with acute gastroenteritis. *Pediatrics* 2008;122:545-9

21. Kinlin LM, Feedman SB. Evaluation of a clinical dehydration scale in children requiring intravenous rehydration. *Pediatrics* 2012;129:e1211-9
22. Rebella G. Clinical dehydration scale appears valid, but its impact on clinical outcomes is not clear. *J Pediatr* 2009;154:464
23. Singer M et al. The third international consensus definitions for sepsis and septic shock (Sepsis-3). *JAMA*. 2016 February 23; 315(8): 801–810
24. Cvetkovic M et al. Timing of Death in Children Referred for Intensive Care With Severe Sepsis: Implications for Interventional Studies. *Pediatrics critical care medicine journal* 2015 June;16-5:410-417
25. Walker-Smith JA, Murch S. Diseases of the small intestine in childhood. *Journal of pediatric gastroenterology and nutrition* 2000 September;31-3: 329-330
26. Gracey M, Walker-Smith JA, Farthing MJG. Acute diarrhea : pathophysiology. Diarrheal diseases. *Ed Nestlé nutrition work hop series, vol 38, Lippincot-raven publishers, Philadelphia* 1997:55-73
27. Collins J, Candy DC, Starkey WG, Osborne MP, Stephen J. Disaccharidase activities in small intestine of rotavirus-infected suckling mice: a histochemical study. *Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition* [01 Oct 1990, 11(3):395-403]
28. Bulletin épidémiologique hebdomadaire GEA semaine 11 2018 – *Santé Publique France – Réseau Sentinelles*
29. Olive JM, Castillo C, Castro RG, et al. Epidemiologic study of Guillain-Barre syndrome in children < 15 years of age in Latin America. *J Infect Dis* 1997;175(suppl 1):S160-4
30. Hughes RA, Rees JH. Clinical and epidemiologic features of Guillain-Barre syndrome. *J Infect Dis* 1997;176(Suppl 2):S92–8.
31. Hughes RA, Hadden RD, Gregson NA, et al. Pathogenesis of Guillain-Barre syndrome. *J Neuroimmunol* 1999;100:74–97.
32. Orlikowski D, Quijano-Roy S, Sivadon-Tardy V, Raphael J-C, Gaillard J-L. Campylobacter jejuni and cytomegalovirus (CMV) infections in patients with the Guillain-Barre syndrome. *Archives de pédiatrie* 13 (2006) 1561–1565
33. Moline C, Essieux H, Cristau P, Kassem A, Roue R, Laverdant CH. Aspects actuels des amoebomes caecaux chroniques. A propos de trois observations. *Ann Med Interne* 1975 ; 126 : 687
34. F. Dubut, D. Benhamou, N. Kouziaeff, J.-F. Muir. Infection respiratoire à *Entamoeba histolytica*. *Revue des Maladies Respiratoires Vol 17, N° 4 - octobre 2000 p. 878*
35. T.O. Soko, P.S. Ba, T. Carmoi, F. Klotz. Amibiase (amoebose) hépatique. *EMC-Hépatologie, Vol 11, n°3, juillet 2016*
36. C. Brue, E. Caumes, O. Chosidow. Manifestations cutanéomuqueuses des maladies infectieuses. *EMC 8-003-A-10, 1999*
37. Del Refugio-Gonzalez M, Polanco-Marin G, Manzano-Cabrera I, Puerto-Solis M. Acute gastroenteritis associated with rotavirus in adults. *Arch Med Res*. 2001; 32: 164-7.
38. Lopman BA, Brown DN, Koopmans M. Human caliciviruses in Europe. *J Clin Virol*. 2002; 24: 137-60.
39. Goodgame RW. Viral causes of diarrhea. *Gastroenterol Clin North Am*. 2001; 30: 779-95
40. Melliez H, Boelle PY, Baron S, Mouton Y, Yazdanpanah Y. Morbidité et coût des infections à rotavirus en France. *Médecine et maladies infectieuses Vol 35, n° 10, p 492-499, octobre 2005*

41. Umesh D. Parashar, Erik G. Hummelman, Joseph S. Bresee, Mark A. Miller, Roger I. Glass. Global Illness and Deaths Caused by Rotavirus Disease in Children. *Emerging Infectious Diseases* • Vol. 9, No. 5, p565-571, May 2003.
42. Laura M. Lamberti, Sania Ashraf, Christa L. Fischer Walker, Robert E. Black. A Systematic Review of the Effect of Rotavirus Vaccination on Diarrhea Outcomes Among Children Younger Than 5 Years. *Pediatr Infect Dis J* 2016;35:992–998
43. Tate JE, Burton AH, Boschi-Pinto C, Parashar UD for the World Health Organization–Coordinated Global Rotavirus Surveillance Network. Global, Regional and National Estimates of Rotavirus Mortality in Children < 5 years of age, 2000-2013. *Clinical Infectious Diseases* 2016;62(S2):S96-105
44. Avis relatif à la vaccination des nourrissons vis-à-vis des gastroentérite à rotavirus du 21 avril 2015. HCSP
45. Bishop RF, Davidson GP, Holmes IH, et al. Virus particles in epithelial cells of duodenal mucosa from children with acute non-bacterial gastroenteritis. *Lancet* 1973;2(7841): 1281-3
46. Lorrot M, Vasseur M. Physiopathologie de la diarrhée à rotavirus. *Journal de pédiatrie et de puériculture* (2007) 20, 330—336
47. Ciarlet M, Estes MK. Interactions between rotavirus and gastrointestinal cells. *Curr Opin Microbiol* 2001;4:435—41.
48. Beau I, Cotte-Laffitte J, Geniteau-Legendre M, et al. An NSP4-dependant mechanism by which rotavirus impairs lactase enzymatic activity in brush border of human enterocyte-like Caco-2 cells. *Cell Microbiol* 2007;9:2254—66.
49. Sarbelio Moreno-Espinosa, MD,† Tibor Farkas, PhD and Xi Jiang, PhD. Human Caliciviruses and Pediatric Gastroenteritis. *Semin Pediatr Infect Dis* 2004 15:237-245
50. Pothier P. Calicivirus astrovirus et adenovirus : Importance en pédiatrie ? *Archives de pédiatrie* 12 2005 ; 841-843
51. Lanata CF, Fisher-Walker CL, Olascoaga AC, Torres CX, Aryee MJ, Black RE. Global Causes of Diarrheal Diseases Mortality in Children < 5 Years of Age : A Systematic Review. *PLoS ONE* 2013 8(9): e72788
52. Koo HL, Neill FH, Estes MK, Munoz FM, Cameron A, Dupont HL, Atmar RL. Noroviruses : The Most Common Pediatric Viral Enteric Pathogen at a Large University Hospital after Introduction of Rotavirus Vaccination. *Journal of the Pediatric Infectious Diseases Society* 2013;2(1):57-60
53. Alain S, Denis F. Epidémiologie des diarrhées aiguës infectieuses en France et en Europe. *Archives de pédiatrie* 14 (2007) S132-144
54. Chikhi-Brachet R, Bon F, Toubiana L, Pothier P, Nicolas JC, Flahault A, Kohli E. Virus Diversity in a Winter Epidemic of Acute Diarrhea in France. *J of Clin Microbiology*, vol 40, No. 11, p4266-4272, Nov 2002
55. Scheuer KA, Oka T, Hoet AE, Gebreyes WA, Molla BZ, Saif LJ, Wang Q. Prevalence of Porcine Noroviruses, Molecular Characterization of Emerging Porcine Sapoviruses from Finisher Swine in the United States, and Unified Classification Scheme for Sapoviruses. *J of Clin Microbiology*, vol 51, No 7, p2344-2353, Juillet 2013
56. Appleton H, Higgins G. Letter : Viruses and gastroenteritis in infants. *Lancet* 1975;1:1297
57. MadeleyCR, Cosgrove BP. Letter : 28nm particles in faeces in infantile gastroenteritis. *Lancet* 1975;2:451-2

58. Pang XL, Honma S, Nakata S, Vesikari T. Human caliciviruses in acute gastroenteritis of young children in the community. *The Journal of Infectious Diseases* 2000;181 (suppl 2):s288-94
59. Bon F, Fascia P, Dauvergne M, Tenenbaum D, Planson H, Petion AM, Pothier P, Kohli E. Prevalence of group A rotavirus, human calicivirus, astrovirus, and adenovirus type 40 and 41 infections among children with acute gastroenteritis in Dijon, France. *J of Clin Microbiology*, vol 37, No 9, p3055-3058, Sept 1999.
60. Grimwood K, Carzino R, Barnes GL, Bishop RF. Patients with Enteric Adenovirus Gastroenteritis Admitted to an Australian Pediatric Teaching Hospital from 1981 to 1992. *J of Clin Microbiology*, vol 33, No 1, p131-136, Jan. 1995
61. Benko M., B. Harrach, G. W. Both, W. C. Russell, B. M. Adair, E. Adam, J. C. de Jong, M. Hess, M. Johnson, A. Kajon, A. H. Kidd, H. D. Lehmkuhl, Q.-G. Li, V. Mautner, P. Pring-Akerblom, and G. Wadell. 2005. *Family Adenoviridae*, p. 213–228. In C. M. Fauquet, M. A. Mayo, J. Maniloff, U. Desselberger, and L. A. Ball (ed.), *Virus taxonomy. VIIIth Report of the International Committee on Taxonomy of Viruses*. Elsevier, New York, NY
62. Wilhelmi I, Roman E, Sanchez-Fauquier A. Viruses causing gastroenteritis. *Clinical Microbiology and Infection*, vol 9 (4), p247-262, Apr 2003
63. Ahmed SM, Hall AJ, Robinson AE, Verhoef L, Premkumar P, Parashar UD, Koopmans M, Lopman BA. Global prevalence of norovirus in cases of gastroenteritis : a systematic review and meta-analysis. *Lancet Infect Dis* 2014;14:725-30
64. Buss SN, Leber A, Chapin K, Fey PD, Bankowski MJ, Jones MK, Rogatcheva M, Kanack KJ, Bourzac KM (2015) Multicenter evaluation of the BioFire FilmArray gastrointestinal panel for etiologic diagnosis of infectious gastroenteritis. *J Clin Microbiol* 53:915-925
65. Khare R, Espy MJ, Cebelinski E, Boxrud D, Sloan LM, Cunningham SA, Pritt BS, Patel R, Binnicker MJ (2014) Comparative evaluation of two commercial multiplex panels for detection of gastrointestinal pathogens by use of clinical stool specimens. *J Clin Microbiol* 52:3667-3673
66. Spina A, Kerr KG, Cormican M, Barbut F, Eigentler A, Zerva L, Tassios P, Popescu GA, Rafila A, Eerola E, Batista J, Maas M, Aschbacher R, Olsen KE, Allerberger F (2015) Spectrum of enteropathogens detected by the FilmArray GI panel in a multicenter study of community-acquired gastroenteritis. *Clin Microbiol Infect* 21:719-728
67. Huang RSP, Johnson CL, Pritchard L, Hepler R, Ton TT, Dunn JJ. Performance of the Verigene® enteric pathogens test, Biofire FilmArray® gastrointestinal panel and Luminex xTAG® gastrointestinal pathogen panel for detection of common enteric pathogen. *Diagn Microbiol Infect Dis* (2016)
68. Calderaro A, Martinelli M, Buttrini M, Montecchini S, Covan S, Rossi S, Ferraglia F, Montagna P, Pardini F, Larini S, Arcangeletti MC, Medici MC, Chezzi C, De Conto F. Contribution of the FilmArray® Gastrointestinal panel in the laboratory diagnosis of gastroenteritis in a cohort of children : a two-year prospective study. *International Journal of Medical Microbiology* 2018
69. Stockmann C, Pavia AT, Graham B, Vaughn M, Crisp R, Poritz MA, Thatcher S, Korgenski EK, Barney T, Daly J, Rogatcheva M. Detection of 23 gastrointestinal pathogens among children who present with diarrhea. *Jour of Ped Infect Dis Society pp. 1-9, 2016*
70. Bourzac KM, Holmberg K, Stockmann C, Cohen D, Leber A, Daly JA, Jackson JT, Kanwar N, Selvarangan R, Bender JM, Dien Bard J, Festekjan A, Duffy S, Pavia AT, Chapin KC. Missed opportunities for treatment : Implementation of a molecular diagnostic for pediatric acute gastroenteritis (GE) : The FilmArray® GI panle IMPACT study. *Poster abstract Open Forum Infectious Diseases* 2016;1(S1):S1-285
71. Murphy CN, Fowler RC, Iwen PC, Fey PD. Evaluation of the Biofire FilmArray® gastrointestinal panel in a Midwestern academic hospital. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2017Apr;36(4):747-754

72. Hu J, Torres AG. Enteropathogenic *Escherichia coli* : foe or innocent bystander? *Clin Microbiol Infect* 2015;21: 729-734
73. Wheeler JG, Sethi D, Cowden JM, Wall PG, Rodrigues LC, Tompkins DS et al. Study of infectious intestinal disease in England : rates in the community, presenting to general practice, and reported to national surveillance. The Infectious Intestinal Disease Study Executive. *BMJ* 1999;318:1046-50
74. Jenkins C, Smith HR, Lawson AJ, Willshaw GA, Cheasty T, Wheeler JG et al. Serotypes, intimin subtypes, and antimicrobial resistance patterns of atypical enteropathogenic *Escherichia coli* isolated in England from 1993 to 1996. *Eur J Clin Microbiol Infect Disease* 1996;25:19-24
75. Staples M, Doyle CJ, Graham RM, Jennison AV. Molecular epidemiological typing of enteropathogenic *Escherichia coli* strains from Australia patients. *Diagn Microbiol Infect Dis* 2013;75:320-4
76. Moller-Stay J, Eriksen HM, Bruheim T, Kapperud G, Lindstedt BA, Skeie A et al. Two outbreaks of diarrhea in nurseries in Norway after farm visits, April to May 2009. *Euro Surveill* 2012;17
77. Ochoa TJ, Barletta F, Contreras C, Mercado E. New insights into the epidemiology of enteropathogenic *Escherichia coli* infection. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 2008;102:852-6
78. Enserink R, Scholts R, Bruijning-Verhagen P, Duizer E, Vennema H, de Boer R et al. High detection rates of enteropathogens in asymptomatic children attending day care. *PLoS One* 2014;9:e89496
79. Ochoa TJ, Ecker L, Barletta F, Mispireta ML, Gil AI, Contreras C, et al. Age-related susceptibility to infection with diarrheagenic *Escherichia coli* among infants from Periurban areas in Lima, Peru. *Clin Infect Dis* 2009;49:1694-702
80. Nataro JP, Mai V, Johson J, Blackwelder WC, Heimer R, Tirrell S, Edberg SC, Braden CR, Glenn Morris J, Hirshon JM. Diarrheagenic *Escherichia coli* infection in Baltimore, Maryland, and New Haven, Connecticut. *Clin Infect Dis* 2006;43:402-7
81. Denno DM, Shaikh N, Stapp JR, Qin X, Hutter CM, Hoffman V, Mooney JC, Wood KM, Stevens HJ, Jones R, Tarr PI, Klein EJ. Diarrhea etiology in a pediatric emergency department : a case control study. *Clin Infect Dis* 2012;55(7):897-904
82. Atmar RL, Opekun AR, Gilger MA, Estes MK, Crawford SE, Neil FH, Graham DY. Norwalk virus shedding after experimental human infection. *Emerg Infect Dis* 2008 ;14 :1553-1557
83. Buchwald DS, Blaser MJ. A review of human salmonellosis : II. Duration of excretion following with nontyphi *Salmonella*. *Rev Infect Dis* 1984;6:345-356
84. Cover TL, Blaser MJ. The pathobiology of *Campylobacter* infections in humans. *Ann Rev Med* 1989;40:269-85
85. Pettoello-Mantovani M, Di Martino L, Dettori G, Vajro P, Scotti S, Ditullio MT, Guandalini S. Asymptomatic carriage of intestinal *Cryptosporidium* in immunocompetent and immunodeficient children : a prospective study. *Pediatr Infect Dis J* 1995;14:1042-4047
86. Davies AP, Campbell B, Evans MR, Bone A, Roche A, Chalmers RM. Asymptomatic carriage of protozoan parasites in children in day care centers in the United Kingdom. *Pediatr Infect Dis J* 2009;28:838-840
87. Ish-Horowicz M, Korman SH, Shapiro M, Har-Even U, Tamir I, Strauss N, Deckelbaum RJ. Asymptomatic giardiasis in children. *Pediatr Infect Dis J* 1989;8:779-779
88. Viscidi R, Willey S, Bartlett JG. Isolation rates and toxigenic potential of *Clostridium difficile* isolates from various patient populations. *Gastroenterology* 1981;81:5-9
89. Rousseau C, Poilane I, De Pontual L, Maherault AC, Le Monnier A, Collignon A. *Clostridium difficile* carriage in healthy infants in the community : a potential reservoir for pathogenic strains. *Clin Infect Dis* 2012;55:1209-15

90. Schutze GE, Willoughby RE. *Clostridium difficile* infections in infants and children. *Pediatrics* 2013;55:1209-15
91. Bruijnesteijn van Coppenraet LE, Dullaert-de Boer M, Ruijs GJ, Van der ReijdenWA, Van der Zandan AGM, Weel JFL, Schuurs TA. Case-control comparison of bacterial and protozoan microorganisms associated with gastroenteritis : application of molecular detection. *Clin Microbiol Infect* 2015;21:592 e9-19
92. Sammons JS, Localio R, Xiao R, Coffin SE, Zaoutis T. *Clostridium difficile* infection is associated with increased risk of death and prolonged hospitalization in children. *Clin Infect Dis* 2013;57:1-8
93. Sandora TJ, Fung M, Flaherty K, Helsing L, Scanlon P, Potter-Bynoe G, Gidengil C, Lee G. Epidemiology and risk factors for *Clostridium difficile* infection in children. *Pediatr Infect Dis J* 2011;30:580-4
94. Leibowitz, J, Soma VL, Rosen L, Ginocchio CC, Rubin LG. Similar proportions of stool specimens from hospitalized children with and without diarrhea test positive for *Clostridium difficile*. *Pediatr Infect Dis J* 2015;34:261-6
95. Dominguez SR, Dolan SA, West K, Dantes RB, Epton E, Friedman D, Littlehorn CA, Arms LE, Walton K, Servetar E, Frank DN, Kotter CV, Dowell E, Gould CV, Hilden JM, Todd JK. High colonization rate and prolonged shedding of *clostridium difficile* in pediatric oncology patients. *Clin Infect Dis* 2014;59:401-3
96. Lee G, Pan W, Yori PP, Olortegui MP, Tilley D, Gregory M, Oberhelman R, Burga R, Chavez CB, Kosek M. Symptomatic and asymptomatic *Campylobacter* infections associated with reduced growth in Peruvian children. *PLOS Neglected Tropical Disease* Jan 2013;7(1):e2036
97. Fauchère JL, Rosenau A. *Campylobacter* et *Helicobacter* en pathologie digestive humaine. *M/S* 1991 ;7(2) :138-52
98. Lupp C, Robertson ML, Wickham ME, Sekirov I, Champion OL, Gaynor EC, Finlay BB. Host-mediated inflammation disrupts the intestinal microbiota and promotes the overgrowth of *Enterobacteriaceae*. *Cell Host Microbe* 2007;2:119-129
99. Piralla A, Lunghi G, Ardissino G, Girello A, Premoli M, Bava E, Arghittu M, Colombo MR, Cognetto A, Bono P, Campanini G, Marone P, Baldanti F. FilmArray® GI panel performance for the diagnosis of acute gastroenteritis or hemorrhagic diarrhea. *BMC Microbiology* 2017;17:111
100. Beal SG, Tremblay EE, Toffel S, Velez L, Hand KH. A gastrointestinal PCR panel improves clinical management and lowers healthcare costs. *J Clin Microbiol* Jul 2018;56(7)
101. Goldenberg SD, Bacelar M, Brazier P, Bisnauthsing K, Edgeworth JD. A cost benefit analysis of the Luminex xTAG Gastrointestinal Pathogen Panel for detection of infectious gastroenteritis in hospitalized patients. *Jour of Inf* 2015;70:504-511
102. De Rougemont A, Pothier P. Rotavirus. *Biologie clinique – EMC* 2010 90-55-0090
103. Dupont C. Diarrhées aiguës de l'enfant. *Journal de pédiatrie et de puériculture* 2010 ;23 :84-95
104. Kaur P, Chakraborti A, Asea A. Enteroaggregative *Escherichia coli*: An emerging food borne pathogen . *Interdisciplinary perspectives on infectious diseases* 2010:1-10
105. Jenkins C, Chart H, Willshaw GA, Smith HR. Genotyping of enteroaggregative *Escherichia coli* and identification of target genes for the detection of both typical and atypical strains. *Diagnostic Microbiology and Infectious Diseases* 2006;55(1):13-19
106. Harrington SM, Dudley EG, Nataro JP. Pathogenesis of enteroaggregative *Escherichia coli* infection. *FEMS Microbiology Letters* 2006;vol254(1):12-18

107. Ashkenazi S. Shigella Infections in children : New insights. *Semin Pediatr Infect Dis* 2004;15:246-252.
108. Quilici ML, Robert-Pillot A. Infections à vibrions non cholériques. *EMC (Elsevier Masson SAS, Paris) Maladies infectieuses, 8-026-F-15, 2011.*
109. Derouin F, Réseau cryptosporidies Anofel. Epidémiologie de la cryptosporidiose humaine en France en 2006 et 2007 : données du réseau Cryptosporidies Anofel. *BEH* 1, 6 janvier 2009.
110. Steiner MJ, DeWalt DA, Byerley JS. Is this child dehydrated? *JAMA* 2044;291:2746-54
111. Lee GO, Richard SA, Kang G, Houpt ER, Seidman JC, Pendergast LL, Bhutta ZA, Ahmed T, Mduma ER, Lima AA, Bessong P, Jennifer MS, Hossain I, Chandyo RK, Nyathi E, Lima F, Pascal J, Soofi S, Ladaporn B, Guerrant RL, Caulfield LE, Black RE, Kosek MN. A comparison of diarrheal severity scores in the MAL-ED multisite community based cohort study. *Journal of pediatric gastroenterology and nutrition* 2016;63:466 – 473
112. Gordon M, Akobeng A. Racecadotril for acute diarrhea in children : systematic review and meta-analyses. *Arch Dis Child.* 2016;101(3):234-240
113. Dupont C, Foo JL, Garnier P et al. Oral diosmectite reduces stool output and diarrhea duration in children with acute watery diarrhea. *Clin Gastroenterol Hepatol.* 2009;7(4):456-462
114. Danewa AS, Shah D, Batra P, Bhattacharya SK, Gupta P. Oral ondansetron in management of dehydrating diarrhea with vomiting in children aged 3 months to 5 years : a randomized controlled trial. *J Pediatr.* 2016;169:105-109 e103
115. Szajewska H, Skorka A, Dylag M. Meta-analysis : Saccharomyces boulardii for treating acute diarrhoea in children. *Aliment Pharmacol Ther* 2007;25:257-64
116. Szajewska H, Skorka A, Ruszczynski M, Gieruszczak-Bialek D. Meta-analysis : Lactobacillus GG for treating acute diarrhoea in children. *Aliment Pharmacol Ther* 2007;25:871-81
117. Cohen R. et al. Guide de prescription d'antibiotique en pédiatrie. *Archives de pédiatrie Juin 2016 ;23, hors-série 3 :s1-s5*



Faculté de Pharmacie
de Lille

3, rue du Professeur Leguesse - B.P. 83 - 59006 LILLE CEDEX
N° 03.20.96.40.40 - Télécopie : 03.20.16.43.64
<http://pharmacie.univ-lille2.fr>

FACULTE DE PHARMACIE
Service COURRIER
le 18 SEP. 2018



DEMANDE D'AUTORISATION DE SOUTENANCE

Nom et Prénom de l'étudiant : Hilmaire Antoinette INE : 090001280411

Date, heure et lieu de soutenance :

Le 10 | 10 | 2018 à 18 h 15 Amphithéâtre ou salle : Curie

Avis du conseiller (directeur) de thèse

Nom : DESCAMPS Prénom : Dominique

Favorable

Défavorable

Motif de l'avis défavorable :

Date : 29/06/2018
Signature:

Avis du Président de Jury

Nom : Gaillard Prénom : Anne

Favorable

Défavorable

Motif de l'avis défavorable :

Date : 18/9/18
Signature:

Décision de Monsieur le Doyen

Favorable

Défavorable

Le Doyen

D. DÉCAUDIN

NB : La faculté n'entend donner aucune approbation ou improbation aux opinions émises dans les thèses, qui doivent être regardées comme propres à leurs auteurs.

Université de Lille
FACULTE DE PHARMACIE DE LILLE
MEMOIRE de DIPLOME D'ETUDES SPECIALISEES
(tenant lieu de Thèse en vue du Diplôme d'Etat de Docteur en Pharmacie)
Année Universitaire 2017/2018

Nom : HILMOINE
Prénom : Antoine

Titre du mémoire / thèse : Apport de l'approche syndromique dans la prise en charge des diarrhées aiguës communautaires en pédiatrie. Evaluation du panel Gastro-Intestinal FilmArray®.

Mots-clés : FilmArray, gastro-intestinal, gastro-entérite, enfant, bactéries, virus, parasites, impact clinique

Résumé : Les gastro-entérites aiguës sont une cause majeure de consultation et d'hospitalisation chez les enfants. De nouvelles techniques moléculaires syndromiques ont vu le jour récemment, plus sensibles et surtout plus rapides que les méthodes diagnostiques conventionnelles. Cette étude est destinée à évaluer l'apport de l'introduction du panel gastro-intestinal FilmArray® (FA-GP) dans le diagnostic et la prise en charge des GEA en pédiatrie.

Deux phases se sont succédées, la première destinée à comparer les performances du FA-GP à celles des techniques conventionnelles, puis une deuxième destinée à évaluer l'impact clinique de ces résultats via des questionnaires destinés aux pédiatres. Au total, nous avons analysé 182 échantillons de selles par technique moléculaire.

Au cours de la première phase, 66,7% des échantillons étaient positifs par le FA-GP contre 24,7% par les techniques conventionnelles. Une association de plusieurs pathogènes a été mise en évidence dans 23,7% des échantillons par la FA-GP, aucune par les techniques conventionnelles.

Durant la deuxième phase, le FA-GP a permis de déterminer l'agent étiologique dans 93,4% des cas de GEA. Ces résultats ont confirmé dans 83,7% des cas, l'hypothèse diagnostique principale du clinicien et pour 8,1%, cela a engendré une modification du diagnostic. Le FA-GP a aussi permis de faire passer la proportion de patients sortant avant obtention des résultats complet de leur analyse des selles de 54,1% à 7,5%.

Sur l'ensemble de l'étude, nous avons obtenu un taux de positivité de 77,5% par le FA-GP, les agents étiologiques majeurs étaient les virus, retrouvés dans 71,4% des échantillons contre 18,7% et 1,1% pour les bactéries et parasites respectivement. L'agent le plus fréquent était le rotavirus (48,3%), suivi du norovirus (14%), puis les E. coli diarrhéogènes (EPEC, EAEC) (13,7%).

Les résultats de cette étude montrent que le FA-GP est adapté au diagnostic des GEA en pédiatrie, il est supérieur aux techniques conventionnelles en termes de performances diagnostiques et de rapidité. Au niveau clinique, cette technique apporte un bénéfice en permettant de documenter microbiologiquement la majorité des cas de GEA dans un délai très court, permettant l'instauration d'un traitement, si nécessaire, dans les plus brefs délais. Toutefois, le ciblage des patients et le dialogue clinico-biologique s'avère indispensable afin de faciliter l'interprétation des résultats.

Membres du jury :

Président : Madame le Docteur Anne GOFFARD, MCU-PH, CHRU de Lille

Assesseur(s) : Madame le Professeur Karine FAURE, PU-PH, CHRU de Lille
Madame le Docteur Anne MARTINET, PH, CH de Béthune
Monsieur le Docteur Christian CATTOEN, PH, CH de Valenciennes

Directeur : Madame le Docteur Dominique DESCAMPS, PH, CH de Béthune