



Since January 2020 Elsevier has created a COVID-19 resource centre with free information in English and Mandarin on the novel coronavirus COVID-19. The COVID-19 resource centre is hosted on Elsevier Connect, the company's public news and information website.

Elsevier hereby grants permission to make all its COVID-19-related research that is available on the COVID-19 resource centre - including this research content - immediately available in PubMed Central and other publicly funded repositories, such as the WHO COVID database with rights for unrestricted research re-use and analyses in any form or by any means with acknowledgement of the original source. These permissions are granted for free by Elsevier for as long as the COVID-19 resource centre remains active.

Virus associés aux diarrhées aiguës. Actualités en 1991*

H. PEIGUE-LAFEUILLE**

RESUME Les virus retrouvés dans les selles sont soit des virus cultivables (entérovirus, adénovirus autres que les types 40 et 41), soit des virus non cultivables ou "fastidieux" : rotavirus, adénovirus 40 et 41, virus de Norwalk, calicivirus, astrovirus, "petits virus" structurés ou non (SRSV et SRV). Les virus non cultivables ont été retrouvés dans de nombreux cas de diarrhées. Les virus de Norwalk, certains calicivirus, SRV et SRSV ont été retrouvés à l'origine de nombreuses épidémies, tandis que rotavirus, astrovirus et adénovirus 40 et 41 sévissent plutôt sur le mode endémique. Les méthodes diagnostiques sont soit des méthodes ouvertes, soit des méthodes spécifiques. Les méthodes ouvertes sont représentées essentiellement par la microscopie électronique, mais il faut que le virus soit intact et en quantité suffisante. Les petits virus de 20-35 nm sont plus difficiles à identifier. L'électrophorèse en gel de polyacrylamide des acides nucléiques apporte des renseignements épidémiologiques de premier ordre pour les rotavirus surtout. Les méthodes spécifiques font appel aux méthodes immunoenzymatiques ou d'agglutination de particules de latex sensibilisées. Elles sont très employées pour les rotavirus et les adénovirus (tous les types ou seulement les types 40 et 41). Les faux positifs sont possibles et en général bien évalués pour un kit donné, les faux négatifs se rencontrent surtout en cas de souches antigéniques atypiques ou lorsque la quantité de virus est trop faible. Devant une épidémie, l'examen en microscopie électronique est irremplaçable. Devant un cas isolé, la recherche de rotavirus, voire d'adénovirus 40 et 41, grâce aux kits commerciaux est le seul examen réalisable en routine s'il n'y a pas possibilité d'accéder à un microscope électronique. Cependant une minorité de selles peuvent contenir plusieurs virus potentiellement pathogènes et agissant en synergie. A l'opposé il existe de nombreux porteurs asymptomatiques.

Mots-clés : Diarrhées aiguës - Virus - Diagnostic direct - Microscopie électronique.

Depuis les années 1970, un grand nombre de virus ont été associés aux diarrhées aiguës (DA), grâce aux études systématiques des selles en microscopie électronique (ME). Le caractère commun de tous ces virus est la difficulté de les obtenir en culture, ce qui, de ce fait, gêne leur caractérisation biochimique et la mise au point de kits commerciaux de diagnostic. A ces difficultés techniques s'ajoutent des problèmes d'interprétation : ils peuvent être présents chez des sujets bien portants. Ce travail se propose de présenter une actualisation de leur classification ainsi que les principaux problèmes diagnostiques qu'ils posent.

* Communication présentée lors de la 8^{ème} journée de Pathologie Infectieuse Pédiatrique, Groupe de Pathologie Infectieuse de l'Enfant, tenue le 24 mai 1991 à Paris, sous le patronage de la Société Française de Pédiatrie et de la Société de Pathologie Infectieuse de Langue Française.

** Service de Virologie, Faculté de Médecine, Place Henri Dunant, F-63001 Clermont-Ferrand cedex.

VIRUS OBTENUS EN CULTURE

Ce premier groupe comprend des virus facilement cultivables dans des conditions habituelles : entérovirus (Poliovirus type 1 à 3, Coxsackievirus B1 à B6, certains coxsackievirus de type A, echovirus, entérovirus type 68-71), adénovirus autres que les types 40 et 41... Certaines cellules du système digestif peuvent permettre leur réplication, par exemple les cellules M des plaques de Peyer, sensibles aux entérovirus. Cependant, comme elles sont en petit nombre, les dommages sont limités (22). Les adénovirus cultivables, responsables d'affections ORL ou respiratoires, sont excrétés dans les selles parfois plusieurs semaines après l'infection. Les études épidémiologiques à grande échelle montrent que ces virus sont très largement retrouvés chez des sujets bien portants, bien que leur fréquence soit plus grande

chez les enfants d'âge préscolaire, dans les pays pauvres en particulier. Ils sont largement présents dans les eaux usées (30). D'autre part, l'association virus cultivables/diarrhée aiguë est finalement rare.

VIRUS DECOUVERTS GRACE AUX EXAMENS EN MICROSCOPIE ELECTRONIQUE DIFFICULTES DIAGNOSTIQUES

Ces virus ne sont pas cultivables dans les conditions habituelles et donc de connaissance récente. Certains d'entre eux sont encore très mal caractérisés. Le tableau I résume les différents virus incriminés. Certains ont une morphologie caractéristique permettant de les reconnaître à condition qu'ils soient intacts. Ce sont les rotavirus, les astrovirus, les calicivirus, les adénovirus, les coronavirus, les virus Breda-like et certains bactériophages. D'autres virus de petite taille, les SRV (petits virus sphériques non structurés) et les SRSV (petits virus sphériques structurés), n'ont, à part leur taille, aucune caractéristique permettant de les reconnaître sans ambiguïté et de les affilier à un genre donné.

Dans la catégorie des particules virales mesurant de 20 à 35 nm, les identifier avec certitude demande un manipulateur averti et un microscope performant (bonne luminosité à un grandissement de 50 000, absence totale d'astigmatisme, focalisation parfaite). Il est possible d'hésiter entre un astrovirus, et un SRV, entre un calicivirus et un SRSV, d'autant que leur surface externe peut être altérée (22).

VIRUS NON CULTIVABLES ET RESPONSABILITE DANS LES DIARRHEES AIGUES

De nombreuses revues générales leur ont été consacrées (7, 10, 12). Parmi tous ces virus, les rotavirus représentent la cause la plus fréquente de diarrhée chez l'enfant et le nourrisson. Il est probable que les adénovirus type 40 et 41 occupent la seconde place. Astrovirus et coronavirus sont probablement à l'origine d'un petit nombre de diarrhées chez le sujet jeune (7). Par contre, virus de Norwalk, certains sérotypes de calicivirus, SRV et SRSV sont à l'origine d'un grand nombre d'épidémies y compris chez l'adulte et le sujet âgé (7, 22).

Rotavirus

Virus de forme caractéristique en ME, il contient 11 fragments de RNA bicaténaire, donnant un profil caractéristique en électrophorèse. Les rotavirus ont des antigènes de groupe, de sous-groupe et des sérotypes. La classification actuelle comprend le groupe A (virus conventionnels possédant l'antigène de groupe) et les groupes B et C (souches antigénétiquement et génétiquement différentes) chez l'homme. D'autres groupes sont décrits chez l'animal. La plupart des rotavirus humains appartiennent au groupe A dans lequel les 11 segments du génome se répartissent en 4 classes 1-4, 5-6, 7-9, 10-11. Le génome peut subir des variations mineures par

TABLEAU I : Virus découverts par l'examen des selles en microscopie électronique et affections associées.

Virus	Sérotypes	Affections* associées	Taille (nm)
Norwalk	multiple	D + V épidémique	35
Rotavirus	6 ?	D + V épidémique ou néant	78
Astrovirus	5 ?	D + V endémique ou néant	28
Adenovirus non cultivables	2 ?	D + V ou néant	75
Calicivirus	4 ?	D + V épidémique et endémique	35
SRV (petits virus sphériques)	?	D + V épidémique	22-26
SRSV (petits virus sphériques structurés)	?	D + V épidémique et endémique	30-35
Coronavirus	?	D ? néant	> 100
Breda-like	?	D ?	< 100
Bactériophages			
mixtes	?	?	-
cubiques	?	?	20-25

* D = diarrhée - V = vomissement - néant = non associé à une symptomatologie. d'après Madeley (22).

mutations ou majeures par réassortiment ou fusion de segments en particulier chez les enfants immunodéprimés, ce qui fait une grande variété de profils électrophorétiques possibles et effectivement rencontrés (22).

C'est la caractérisation antigénique de la protéine VP7 qui permet de définir différents sérotypes. Le groupe A comprend plusieurs sérotypes, les types 1 à 4 sont les plus fréquemment rencontrés chez l'homme. Les rotavirus du groupe B se rencontrent essentiellement en Chine (39), et posent des problèmes diagnostiques dans la mesure où les kits commerciaux détectent les rotavirus du groupe A (ELISA, agglutination de particules de latex) (7, 19). L'examen en microscopie électronique est donc indispensable pour faire le diagnostic de toutes ces souches antigéniques atypiques. Cet élément introduit un biais dans l'épidémiologie surtout lorsque les examens en microscopie électronique ne sont pas pratiqués parallèlement aux tests de détection d'antigène (3). Certaines souches de rotavirus humains ont été adaptées à la culture cellulaire après traitement des cellules par de petites quantités de trypsine. Mais la culture n'est pas réalisable en routine.

Le rotavirus sévit de façon endémique le plus souvent, en hiver et au début du printemps dans les pays tempérés, en période sèche dans les pays tropicaux. Sa transmission est fécale-orale, manuportée. Le problème d'une transmission aérienne n'est toujours pas résolu (22). Les rotavirus sont responsables de 30 à 50 % des diarrhées selon les études (3, 7, 25). L'infection est suivie d'une séroconversion. Les enquêtes sérologiques montrent qu'environ 80 % de la population a des anticorps (AC) à partir de l'âge de 3 ans. Le nombre d'infections inapparentes est donc très important. Chomel dans une étude prospective des infections virales épidémiques dans 27 crèches lyonnaises de décembre 88 à juin 89 retrouve des infections à rotavirus aussi souvent chez les malades que les contacts (6).

La présence d'anticorps ne protège pas complètement contre les réinfections bien que les signes soient souvent atténués (7). Grinstein, dans une étude prospective durant trois ans dans 49 familles de nouveau-nés en Argentine, confirme que le pic de fréquence des diarrhées à rotavirus survient avant l'âge de 2 ans et que 61 % des infections à rotavirus sont des réinfections (15). Ces réinfections peuvent être symptomatiques ou asymptomatiques comme le montrent les travaux de Friedman étudiant deux épidémies successives à sérotype 3 et à sérotype 1 (13). A l'opposé, des infections successives vraies peuvent être dues au même sérotype (11). De nombreux points sont en cours d'investigation : la nature des récepteurs, la différence de

pathogénicité selon les souches, le sérotype (rôle de la protéine VP4 dans l'apparition d'anticorps neutralisants (14) et la définition de nouveaux sérotypes), les facteurs de virulence liés aux réassortiments, le rôle de l'immunité locale, le paradoxe entre la gravité de l'atteinte de l'animal nouveau-né et le caractère souvent asymptomatique chez le nouveau-né humain. Toutes les réponses à ces questions ont une incidence sur la mise au point des vaccins.

Adénovirus non-cultivables

Il s'agit des types 40 et 41 qui appartiennent aux sous-groupe F. Ils ne se cultivent que sur certaines cellules (Graham 293). Paradoxalement, les adénovirus 40 et 41 sont excrétés en grande quantité dans les selles des sujets infectés (10^{11} virus par gramme de selle) (36). Ils sont mondialement répandus, et sévissent à l'état endémique. Ils touchent surtout les enfants de moins de 2 ans. La diarrhée domine le tableau, fièvre et vomissements sont en général moins prononcés que dans le cas des DA à rotavirus. Ils seraient responsables selon les études de 5 à 12 % des diarrhées aiguës (7), arrivant donc en seconde position.

Cependant leur présence ne signifie pas forcément diarrhée, ils sont excrétés parfois plusieurs mois, comme d'ailleurs les adénovirus cultivables des autres sérotypes. Outre l'examen en microscopie électronique, les méthodes de détection font appel soit aux techniques ELISA, soit à des tests d'agglutination de particules de latex sensibilisées. Les premiers kits mis sur le marché détectaient l'ensemble des adénovirus présents dans les selles (4, 7) ; il est souhaitable de disposer de tests dépistant uniquement les types 40 et 41. Certains sont en cours de commercialisation (34, 36). Cependant, avant même leur large diffusion, il a été mis en évidence des variants antigéniques concernant en particulier le type 41, qui échappent à la détection par ELISA (36).

Astrovirus

De petite taille, ils sont présents à de hautes concentrations dans les selles. Découverts grâce à la microscopie électronique, ils ont été trouvés aussi bien dans des cas de diarrhée (28) que chez des enfants bien portants. Cinq sérotypes différents ont été décrits. Ils seraient responsables d'environ 5 % des DA (7) et sont probablement endémiques. Récemment ils ont pu être cultivés directement à partir de selles sur des cellules de carcinome de colon (cellules CaCo) en présence de trypsine (38). Aucun kit commercial ne permet de détecter les antigènes à ce jour.

Virus de Norwalk et apparentés

Le virus de Norwalk a été découvert lors d'une épidémie de DA touchant enfants et adultes dans une école primaire. Puis d'autres virus similaires (Snow Mountain, Hawaï, Montgomery County) ont été découverts. Leurs structures sont similaires et il existe entre ces virus des réactions antigéniques croisées (22, 23). Virus à RNA positif de diamètre 35 nm, leur classification initiale parmi les parvovirus-like, virus de 23 nm, à DNA, n'est plus justifiée. Leur concentration dans les selles est faible et de ce fait l'examen en ME peut être faussement négatif.

Ils ont toujours été associés à des épidémies, à transmission hydrique (huîtres en particulier) où la symptomatologie était marquée par l'importance des vomissements. Les anticorps sont acquis beaucoup plus tardivement au cours de la vie, et ne seraient pas protecteurs : on a pu administrer ces virus à trois reprises à des volontaires qui ont présenté trois affections apparentes (22).

Calicivirus humains

Virus de 35 nm à RNA positif comme les précédents, leur apparence est caractéristique en ME. Ils comportent 4 sérotypes différents, 3 dans le Royaume-Uni, 1 au Japon. Trois des 4 sérotypes sont associés à des épidémies de diarrhée et vomissements, cliniquement et épidémiologiquement proches du virus de Norwalk. De plus il y a peu de porteurs sains et l'immunité ne protège pas des réinfections cliniquement apparentes (22). Le virus de Norwalk semblerait en fait appartenir à la famille des caliciviridae (9).

SRV et SRSV

Présents en faible quantité dans les selles de nombreux enfants, il est probable que ces virus, définis par leur taille et leur morphologie en microscopie électronique, appartiennent à plusieurs groupes différents. Okada, étudiant les SRSV isolés de diarrhées entre 1977 et 1988, obtient 9 profils antigéniques différents dont certains ont des réactions croisées avec le virus de Norwalk et apparentés (26).

La morphologie de certains SRV est compatible avec celle des entérovirus, bien qu'ils ne se cultivent pas et n'ont pas de pouvoir pathogène chez le nouveau-né. Il existe enfin deux autres sources de SRV : certains bactériophages et des virus de plantes, non pathogènes pour l'homme, contenus dans les aliments. Il n'en demeure pas moins vrai que des SRV et SRSV ont été trouvés associés à d'authentiques épidémies après absorption de fruits de mer contaminés.

En conclusion, virus de Norwalk, calicivirus et SRSV font probablement partie de la même famille. Il faudrait trouver un système cellulaire capable de les obtenir à de hauts titres, nécessaires pour leur caractérisation biochimique et l'obtention de réactifs de diagnostic. On attend beaucoup des nouvelles techniques de biologie moléculaire et en particulier des techniques d'amplification de gène.

DIARRHEES NOSOCOMIALES

Syndrome diarrhéique survenant à partir du troisième jour d'hospitalisation, les diarrhées nosocomiales sont fréquentes. Leur diagnostic étiologique dépend de la facilité avec laquelle on peut identifier le virus en cause. Beaucoup de cas sont probablement sous-estimés. De façon générale, les virus candidats, tous dépourvus d'enveloppe, sont très résistants dans le milieu extérieur, et dans le milieu hospitalier en particulier. C'est le cas pour les rotavirus (18) qui sont retrouvés de façon endémique à l'hôpital (22). Ils sont responsables au premier rang des diarrhées nosocomiales de l'enfant, mais aussi de l'adulte surtout en cas d'immunodépression (29, 32). Dans une étude prospective sur 5 mois aux USA, Pacini *et al* ont montré que 40 % des DA nosocomiales sont dues aux rotavirus (27). Lam à Hong-Kong a montré qu'en fait 20 % des DA à rotavirus sont nosocomiales (20). La caractérisation antigénique et électrophorétique des souches responsables permet d'apporter des renseignements épidémiologiques de premier ordre. Un même électrophorétype peut prédominer dans un même service pendant plusieurs mois et causer des infections nosocomiales identifiables avec certitude (5). A l'opposé, dans le même service, plusieurs électrophorétypes différents peuvent circuler (22). Le taux de DA nosocomiale à rotavirus augmente avec le temps d'hospitalisation, la colonisation du tube digestif des enfants étant très rapide (8). Des enfants partageant la même chambre peuvent présenter des DA à rotavirus de sous-groupes différents, ce qui montre que la transmission manuportée par le personnel est très importante (8). Les mesures d'hygiène sont prépondérantes (désinfection, lavage des mains, port de gants, blouse unique par enfant). Pacini a montré que le taux de DA nosocomiale est plus bas dans le service de pathologie infectieuse où les consignes sont plus sévères et mieux appliquées que dans les autres services (27). Cependant, du fait de l'énorme quantité de virus excrété dans une diarrhée, la fermeture pour décontamination d'une unité est suivie dès la réouverture d'une recolonisation rapide (22).

D'autres virus peuvent provoquer des DA nosocomiales. Sawyer *et al* ont décrit une épidé-

mie à virus de Norwalk à transmission probablement aérienne (35). Récemment les calicivirus ont été incriminés (16, 24). Détectés par microscopie électronique et confirmés par ELISA, les calicivirus ont provoqué des épisodes de diarrhées à répétition, jusqu'à 5 chez le même individu, pendant 11 semaines dans le même service hospitalier (16).

ASSOCIATION DE PLUSIEURS VIRUS DANS LES SELLES

Cette situation n'est pas rare, qu'il s'agisse de virus cultivables associés à des virus non cultivables : entérovirus et adénovirus ou rotavirus (2, 31) ou de deux virus non cultivables associés, voire même parfois deux virus appartenant à une même famille, tels deux sérotypes différents de rotavirus (7). Sur le plan clinique il peut s'agir d'infections doubles, par exemple infections respiratoire et digestive, fréquentes en période endémique (2) et associées fortuitement.

L'expérimentation animale (22) a montré que des virus différents peuvent toucher ces zones différentes des villosités intestinales. Ceci pourrait jouer un grand rôle chez l'homme, le tube digestif du jeune enfant étant infecté de façon séquentielle par plusieurs virus différents ; ils pourraient agir en synergie et potentialiser leurs effets sur les cellules intestinales, créant les conditions d'une infection cliniquement apparente (22).

METHODES DE DIAGNOSTIC : INTERET ET LIMITES

L'examen des selles en microscopie électronique

Il représente actuellement la seule méthode ouverte réelle. Tous les virus non cultivables ont été découverts grâce à lui. Outre ses contraintes techniques, il nécessite que les virus soient en quantité suffisante ($> 10^5$ ou 10^6 /ml) et intacts. Ces critères sont souvent remplis pour les rotavirus et les adénovirus, ce n'est pas le cas pour le virus de Norwalk et apparentés et les particules de 20 à 35 nm en général. Il existe donc des faux négatifs (22) probablement en rapport avec la qualité de l'examen. Cependant le nombre de particules virales (donc la facilité de les voir en ME) n'est pas proportionnel à la gravité de la maladie : c'est par exemple le cas pour les diarrhées à calicivirus.

L'électrophorèse des acides nucléiques en gel de polyacrylamide

Faite en extrayant les acides nucléiques à partir des selles, elle nécessite aussi une quantité suffisante de

virus (risque de faux négatifs). Elle apporte des renseignements épidémiologiques irremplaçables dans le cas des rotavirus et des adénovirus non cultivables. Dans le cas des virus à RNA simple brin, les difficultés techniques sont considérables. Elle ne peut en aucun cas être considérée comme un moyen diagnostique devant un cas de diarrhée isolée, mais trouve maintenant sa justification lors d'une épidémie pour identifier le virus en cause, ou la souche de virus dans le cas des rotavirus (5).

La culture

Elle n'est pas appropriée au diagnostic de ces virus. Par contre elle peut apporter des éléments dans le cadre d'autres diagnostics. Il est nécessaire que soient étudiées les conditions (emploi de la trypsine, essais d'autres lignées cellulaires) dans lesquelles ces virus "fastidieux" pourront être cultivés. Ceci a été réalisé dans le cas des astrovirus (38) ou des adénovirus 40 (17).

Les méthodes spécifiques de détection

Elles sont basées sur la réaction antigène/anticorps. Beaucoup de tests ont été développés faisant appel à des sérums polyclonaux puis monoclonaux. Certains laboratoires ont développé des tests "maison", d'autres utilisent des kits commerciaux bien codifiés, représentés essentiellement par les tests immunoenzymatiques (ELISA) et l'agglutination de particules de latex sensibilisés avec un anticorps donné. Des méthodes dépistant simultanément rotavirus et adénovirus (37) sont en cours de développement.

Sans détailler l'ensemble des réactifs du commerce, il ressort que les kits ELISA peuvent parfois présenter des réactions faussement positives (21, 33) plus ou moins importantes, mais également des réactions faussement négatives du fait des souches atypiques et des variants antigéniques (cas des rotavirus, des adénovirus). Les tests d'agglutination des particules de latex, de réalisation très simple, très spécifiques lorsqu'ils utilisent des anticorps monoclonaux (19), peuvent pour certains donner des faux positifs ou négatifs, surtout si les selles sont conservées avant le test (22). Les autres méthodes sont réservées au typage fin plutôt qu'au diagnostic, donc aux recherches épidémiologiques.

CONSIDERATIONS PRATIQUES

En situation d'épidémie, l'examen en microscopie électronique est indispensable, de même que la caractérisation de l'électrophorétype et du sérotype pour les rotavirus (1). Encore faut-il obéir à deux impératifs : prélever plusieurs selles de l'épidémie, et

le faire très tôt dès l'apparition des symptômes, du fait de la rapidité avec laquelle le tube digestif d'un enfant est colonisé par des virus lorsqu'il entre à l'hôpital. Nous avons montré que 31,5 % au moins des enfants admis à l'hôpital sont porteurs de virus dans leur tube digestif (31). En dehors d'une situation d'épidémie, devant un cas individuel en pratique quotidienne, il semble irréaliste de vouloir réaliser d'autres examens que les tests rapides dépistant rotavirus, voire adénovirus, en sachant que ces recherches peuvent s'avérer négatives sans exclure l'hypothèse d'une diarrhée virale.

CONCLUSIONS

L'étude des virus associés aux diarrhées aiguës pose plus de problèmes qu'elle n'en résoud. Le rotavirus arrive en tête dans les causes des diarrhées mais c'est aussi celui qui est le plus facile à mettre en

évidence... y compris chez de nombreux porteurs asymptomatiques. Les fréquences comparées des infections dues aux autres virus varient dans les différentes parties du monde, soit qu'il y ait une véritable variation dans leur prévalence, soit qu'il y ait variation de pathogénicité parmi les souches elles-mêmes, soit qu'il y ait variation dans la nature et la qualité des moyens diagnostiques appliqués par les observateurs. Il serait souhaitable qu'il y ait échanges d'échantillons entre les différentes équipes et échanges des moyens diagnostiques. Beaucoup de questions restent en suspens, notamment sur le rôle de l'immunité (fréquence des réinfections), la nature des cellules intestinales atteintes par les différents virus qui pourraient potentialiser leurs effets lors d'infections séquentielles, le déterminisme de la susceptibilité individuelle chez les enfants d'une même tranche d'âge, la part respective de ces facteurs liés à l'hôte et liés au virus dans la genèse de la diarrée.

SUMMARY : ACUTE DIARRHEA ASSOCIATED VIRUSES : AN UPDATE

Viruses recovered in stools are either cultivable viruses (enteroviruses, adenoviruses excepted type 40 and 41), or "fastidious" non cultivable viruses (rotaviruses adenoviruses 40 and 41, Norwalk, calicivirus, astrovirus, SRSV and SRV). Non cultivable viruses have been associated with many cases of diarrhea. Norwalk, two strains of calicivirus and SRV/SRSV, appear to be capable of causing outbreak. Rotavirus, astrovirus and most fastidious adenoviruses are associated with endemic spread. Specific or catch-all methods are used for diagnosis. Among the latter, electron microscopy is the most commonly used when the virus is recognizable and present in sufficient quantities. Small spherical viruses in the range 20-35 nm present greater difficulties. Polyacrylamide gel electrophoresis gives interesting epidemiological results for rotavirus. Specific methods are latex agglutination and enzyme immunoassays essentially for rotavirus and adenoviruses (all types or only 40 and 41). False positive results are few with well-designed kits. False negative results are seen in atypical strains and antigenic variants. In an outbreak, it is essential to make electron microscopic examinations. In individual cases, if no electron microscope is available, it is possible to make the diagnosis of rotavirus - and perhaps adenovirus 40 and 41 with a commercial kit. However a small number of stools contain more than one virus and they may act in synergy. In contrast many asymptomatic children may carry viruses.

Key-words : Acute diarrhea - Virus - Direct diagnostic - Electron microscopy.

BIBLIOGRAPHIE

1. BISHOP R.F., UNICOMB L.E., BARNES G.L. - Epidemiology of rotavirus serotypes in Melbourne, Australia, from 1973 to 1989. *J Clin Microbiol.* 1991 ; 29 : 862-8.
2. BRANDT C.D., WHA KIM H., RODRIGUEZ W.J., ARROBIO J.O., JEFFRIES B.C., PARROTT R.H. - Simultaneous infections with different enteric and respiratory tract viruses. *J Clin Microbiol.* 1986 ; 23 : 177-9.
3. BRANDT C.D., WHA KIM H., RODRIGUEZ W.J., ARROBIO J.O., JEFFRIES B.C., STALLINGS E.P., LEWIS C., MILES A.J., CHANOCK R.M., KAPIKIAN A.Z., PARROTT R.H. - Pediatric viral gastroenteritis during eight years of study. *J Clin Microbiol.* 1983 ; 18 : 71-8.
4. BRICOUT F., GARBARG-CHENON A., NICOLAS J.C. - Essais de détection des adénovirus humains dans les selles au moyen du test Adenolex. *Feuill Biol.* 1987 ; 28 : 31-4.
5. CHAN R.C.K., TAM J.S., FOK T.F., FRENCH G.L. - RNA-electrophoresis as a typing method for nosocomial rotavirus infection in a special-care baby unit. *J Hosp Infect.* 1989 ; 13 : 367-75.
6. CHOMEL J.J., COLLET J.P., FLORET D., DAUVERGNE B., SZYMCZYSZYN P., AYMARD M. - Suivi des infections virales épidémiques dans les crèches lyonnaises de décembre 1988 à juin 1989. *Pédiatrie.* 1990 : 412S-45S.
7. CHRISTENSEN M.L. - Human viral gastroenteritis. *Clin Microbiol Rev.* 1989 ; 2 : 51-89.
8. CONE R., MOHAN K., THOULESS M., COREY L. - No-

- socomial transmission of rotavirus infection. *Pediatr Infect Dis J.* 1988 ; 7 : 103-9.
9. CUBITT W.D., BLACKLOW N.R., HERRMANN E.J., NOWAK N.A., NAKATA S., CHIBA S. - Antigenic relationships between human caliciviruses and Nowalk virus. *J Infect Dis.* 1987 ; 156 : 806-14.
 10. CUKOR G., BLACKLOW N.R. - Human viral gastroenteritis. *Microbiol Rev.* 1984 ; 48 : 157-79.
 11. DE CHAMPS C., LAVERAN H., PEIGUE-LAFEUILLE H., CHAMBON M., DEMEOCQ F., GAULME J., BEYTOUT D. - Sequential rotavirus infections : characterization of serotypes and electrophoretotypes. *Res Virol.* 1991 ; 142 : 39-45.
 12. DOLIN R., TREANOR J.J., MADORE H.P. - Novel agents of viral enteritis in humans. *J Infect Dis.* 1987 ; 155 : 365-76.
 13. FRIEDMAN M.G., GALIL A., SAROV B., MARGALITH M., KATZIR G., MIDTHUN K., TANIGUCHI K., URASAWA S., KAPIKIAN A.Z., EDELMAN R., SAROV I. - Two sequential outbreaks of rotavirus gastroenteritis : evidence for symptomatic and asymptomatic reinfections. *J Infect Dis.* 1988 ; 158 : 814-22.
 14. GORZIGLIA M., LARRALDE G., KAPIKIAN A.Z., CHANOCK R.M. - Antigenic relationships among human rotaviruses as determined by outer capsid protein VP4. *Proc Natl Acad Sci USA.* 1990 ; 87 : 7155-9.
 15. GRINSTEIN S., GOMEZ J.A., BERCOVICH J.A., BISCOTTI E.L. - Epidemiology of rotavirus infection and gastroenteritis in prospectively monitored argentine families with young children. *Am J Epidemiol.* 1989 ; 130 : 300-8.
 16. GROHMANN G., GLASS R.I., GOLD J., JAMES M., EDWARDS P., BORG T., STINE S.E., GOLDSMITH C., MONROE S.S. - Outbreak of human calicivirus gastroenteritis in a day-care center in Sydney, Australia. *J Clin Microbiol.* 1991 ; 29 : 544-50.
 17. HASHIMOTO S., SAKAKIBARA N., KUMAI H., NADAI M., SAKUMA S., CHIBA S., FUJINAGA K. - Fastidious human adenovirus type 40 can propagate efficiently and produce plaques on a human cell line, A549, derived from lung carcinoma. *J Virol.* 1991 ; 65 : 2429-35.
 18. KESWICK B.H., PICKERING L.K., DUPONT H.L., WOODWARD W.E. - Survival and detection of rotaviruses on environmental surfaces in day care centers. *Appl Environ Microbiol.* 1983 ; 46 : 813-6.
 19. KOHLI E., POTHIER P., DENIS F., FREYMUTH F., GOUDEAU A. - Multicentre evaluation of a new commercial latex agglutination test using a monoclonal antibody for rotavirus detection. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis.* 1989 ; 8 : 251-3.
 20. LAM B.C.C., TAM J., NG M.H., YEUNG C.Y. - Nosocomial gastroenteritis in paediatric patients. *J Hosp Infect.* 1989 ; 14 : 351-5.
 21. LIPSON S.M., LEONARDI G.P., SALO R.J., SCHUTZBANK T.E., KAPLAN M.H. - Occurrence of nonspecific reactions among stool specimens tested by the Abbott Test Pack rotavirus enzyme immunoassay. *J Clin Microbiol.* 1990 ; 28 : 1132-4.
 22. MADELEY C.R. - Viruses associated with acute diarrheal disease. In A.J. Zuckerman, J.E. Banatvala, J.R. Pattison : "Principles and practice of clinical virology" (2 ed.) Wiley J. ; 1990 : 173-210.
 23. MADORE H.P., TREANOR J.J., BUJA R., DOLIN R. - Antigenic relatedness among the Norwalk-like agents by serum antibody rises. *J Med Virol.* 1990 ; 32 : 96-101.
 24. MATSON D.O., ESTES M.K., GLASS R.I., BARTLETT A.V., PENARANDA M., CALOMENI E., TANAKA T., NAKATA S., CHIBA S. - Human calicivirus-associated diarrhea in children attending day care centers. *J Infect Dis.* 1989 ; 159 : 71-8.
 25. N'NDAKORTAMANDA N., GAY B., SEGONDY M., RIEU D., RODIERE M., DESPAUX E., ASTRUC J., MANDIN J. - Etiologies virales et bactériennes des diarrhées aiguës chez le nourrisson et le jeune enfant. *Feuill Biol.* 1990 ; 31 : 25-8.
 26. OKADA S., SEKINE S., ANDO T., HAYASHI Y., MURAO M., YABUUCHI K., MIKI T., OHASHI M. - Antigenic characterization of small round-structured viruses by immune electron microscopy. *J Clin Microbiol.* 1990 ; 28 : 1244-8.
 27. PACINI D.L., BRADY M.T., BUDDE C.T., CONNELL M.J., HAMPARIAN V.V., HUGUES J.H. - Nosocomial rotaviral diarrhea : pattern of spread on wards in a children's hospital. *J Med Virol.* 1987 ; 23 : 359-66.
 28. PEIGUE H., BEYTOUT-MONGHAL M., LAVERAN H., BOURGES M. - Coronavirus et "Astrovirus" observés dans les selles d'enfants atteints de gastro-entérites. *Ann Microbiol.* 1978 ; 129B : 101-6.
 29. PEIGUE-LAFEUILLE H., CLUZEL R., DETEIX P., CHAPPELLE N., BOITEUX J.P., GAZUY N., BEYTOUT D., BAGUET J.C. - Acute rotavirus gastroenteritis in an adult renal transplant recipient. *J Infect Dis.* 1988 ; 158 : 1400.
 30. PEIGUE-LAFEUILLE H., LAVERAN H., AUBERGER M., CHAMBON M., TRIMOLET M., BEYTOUT D. - Bilan de quatre années de dépistage des entérovirus dans les eaux usées. Corrélations avec la pathologie humaine. *Rev Fr Epidemiol Santé Publique.* 1985 ; 33 : 445-51.
 31. PEIGUE-LAFEUILLE H., DE CHAMPS C., LAVERAN H., LABBE A., CHAMBON M., BEYTOUT D., CLUZEL R. - Survey of viruses of the gut in 10477 children admitted to general paediatric wards from 1981 to 1986. *J Hosp Infect.* 1989 ; 14 : 375-8.
 32. PEIGUE-LAFEUILLE H., HENQUELL C., CHAMBON M., GAZUY N., DE CHAMPS C., CLUZEL R. - Nosocomial rotavirus infections in adult renal transplant recipients during 1988. *J Hosp Infect.* 1991 ; 17 : à paraître.
 33. PETITJEAN J., QUIBRIAC M., FREYMUTH F. - Diagnostic des infections néonatales à rotavirus : améliorations techniques. *Feuill Biol.* 1987 ; 28 : 57-60.
 34. SANEKATA T., TANIGUCHI K., DEMURA M., FUJINAGA K. - Detection of adenovirus type 41 in stool samples by a latex agglutination method. *J Immunol Methods.* 1990 ; 127 : 235-9.
 35. SAWYER L.A., MURPHY J.J., KAPLAN J.E., PINSKY P.F., CHACON D., WALMSLEY S., SCHONBERGER L.B., PHILLIPS A., FORWARD K., GOLDMAN C., BRUNTON J., FRALICK R.A., CARTER A.O., GARY W.G., GLASS R.I., LOW D.E. - 25 to 30 nm virus particle associated with a hospital outbreak of acute gastroenteritis with evidence for airborne transmission. *Am J Epidemiol.* 1988 ; 127 : 1261-71.
 36. SCOTT-TAYLOR T., AHLUWALIA G., KLISKO B., HAMMOND G.W. - Prevalent enteric adenovirus variant not detected by commercial monoclonal antibody enzyme immunoassay. *J Clin Microbiol.* 1990 ; 28 : 2797-801.
 37. SIITARI H. - Dual-label time-resolved fluoroimmunoassay for the simultaneous detection of adenovirus and rotavirus in faeces. *J Virol Methods.* 1990 ; 28 : 179-88.
 38. WILLCOCKS M.M., CARTER M.J., LAIDLER F.R., MADELEY C.R. - Growth and characterization of human faecal astrovirus in a continuous cell line. *Arch Virol.* 1990 ; 113 : 73-81.
 39. WILLOUGHBY R.E., WEE S.B., YOLKEN R.H. - Non-group A rotavirus infection associated with severe gastroenteritis in a bone marrow transplant patient. *Pediatr Infect Dis J.* 1988 ; 7 : 133-5.

