



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.

Épidémiologie des diarrhées aiguës infectieuses en France et en Europe

Epidemiology of infectious acute diarrhoea in France and Europe

S. Alain*, F. Denis

Service de Bactériologie-Virologie-Hygiène, CHU Dupuytren, 2 av Martin Luther King 87042 Limoges cedex, France

Résumé

Le terme de diarrhée infectieuse recouvre des pathologies dues à des agents pathogènes d'une grande diversité. Les virus représentent plus de la moitié des étiologies et parmi eux, les rotavirus et les calicivirus sont responsables de près de 60 % des gastroentérites virales. Les rotavirus sont à l'origine de plus de la moitié des gastro-entérites sévères. Les calicivirus, et plus spécifiquement les norovirus sont des agents majeurs de gastro-entérites communautaires de sévérité modérée et d'épidémies d'origine hydriques ou alimentaires. Les astrovirus et les adénovirus restent minoritaires, en dehors d'une immunodépression sous-jacente. Les co-infections par plusieurs virus sont fréquentes (5 à 15 % des cas). Les caractéristiques épidémiologiques de ces virus sont très différentes et, à ce jour, la surveillance épidémiologique mise en place après les premiers essais de vaccination contre les rotavirus n'a pas montré d'augmentation des infections à calicivirus ou à adénovirus. Les améliorations diagnostiques apportées par les techniques de typage moléculaire ont montré la très grande diversité génétique au sein des différents genres viraux, et la possibilité de recombinaison ou d'échange génétiques entre souches circulantes et entre souches humaines et animales, avec émergence de souches nouvelles ou « variants » capable de se propager dans des populations géographiquement éloignées. Cette dynamique doit faire l'objet d'une surveillance continue, dans le cadre de la mise en place des nouveaux vaccins rotavirus.

© 2007 Elsevier Masson SAS. Tous droits réservés.

Abstract

Acute infectious diarrhoea can be linked to various pathogens among which viruses are responsible for more than a half cases. Rotaviruses and caliciviruses are the most frequently encountered, in close to 60 % of viral gastroenteritis. Rotaviruses account for more than 50 % of severe diseases and caliciviruses, especially norovirus are responsible for less severe sporadic gastroenteritis and water- or food-borne epidemics. Astroviruses and adenoviruses are minority, excepted for immunocompromised patients. Viral or Bacterial and viral co-infections are frequent (up to 15 %). To date, the first rotavirus vaccine assays did not reveal any shift from a viral genus to another, such as calicivirus or adenovirus, according to the fact that epidemiologic features of these viruses are quite different. Progress in viral diagnosis and genotyping enabled to analyse viral diversity and to follow viral recombination events, and emergence of new variants that could propagate among various countries. This dynamic evolution that concerns not only Europe but also developing countries should be carefully surveyed at the era of rotavirus vaccination.

© 2007 Elsevier Masson SAS. Tous droits réservés.

Mots-clés : Gastroentérites ; Diarrhées

Les diarrhées infectieuses représentent une cause majeure de morbidité et de mortalité infantile dans le monde, soit entre 800 millions et plus d'un milliards de cas annuels et près de 3 millions de décès par an dans les pays en développement, et 17 % des causes de décès parmi les enfants de moins de cinq ans [1-3]. Parmi les étiologies possibles, bactériennes, parasitaires et virales, un virus, le rotavirus, et quatre bactéries, *Shigella*, *Escherichia coli* entérotoxino-

gène ETEC, *Vibrio cholerae* et *Salmonella* Typhi sont considérés comme des priorités vaccinales par l'OMS [4]. Dans les pays industrialisés, si les décès sont peu fréquents, les diarrhées infectieuses restent la deuxième cause d'admission en milieu hospitalier et la cause la plus fréquente de consultation en pédiatrie. En France, elles représentent une morbidité importante à l'origine de 2,9 à 3 millions de consultations annuelles chez le généraliste [5].

* Correspondance.

Adresse e-mail : sophie.alain@unilim.fr

1. Étiologies des diarrhées infectieuses

La place relative des différents agents bactériens et viraux varie selon l'âge des patients, le contexte épidémique, la région du globe. Cependant, les gastro-entérites virales sont de loin la première cause, à l'origine de près de la moitié des diarrhées infectieuses aux États-Unis comme en Europe. Dès 1993, une étude française réalisée au CHU de Limoges, portant sur une période de 6 ans (1988-1993) et 14 644 selles montre une prévalence des rotavirus et des adénovirus de 6 % et 2 % pour l'ensemble des selles de patients hospitalisés, diarrhéiques ou non. Au contraire, *Campylobacter*, *Salmonella* et *Shigella* ne représentaient que 5 % des cas [6]. La répartition diffère selon les tranches d'âge, avec un pic de prévalence des adénovirus entre 1 et 2 ans, des rotavirus entre 1 et 10 ans, des *Campylobacter* à 4 ans et des *Salmonelles* entre 1 et 4 ans puis entre 20 et 30 ans. Ces quatre

agents représentent 37,9 % des étiologies retrouvées chez l'enfant de moins de 2,5 ans. L'étude de Moulin et al, [7] rapportant la surveillance systématique des gastroentérites aiguës communautaires sévères en pédiatrie de 1997 à 2000, montre la place majeure des rotavirus (50,89 %) et la faible participation des bactéries (*Salmonella* 8,6 %, *Campylobacter* et *Shigella* < 1 %) dans les causes de diarrhées nécessitant une hospitalisation. Dans cette étude le pic d'infection à rotavirus est situé avant 6 mois, alors que les infections à *Salmonella* concernent les enfants de plus de 1,5 ans. Les études plus récentes, effectuées par l'OMS retrouvent des résultats proches (Fig. 1 A et B). Il faut noter la place des *E. coli* entérotoxigènes (ETEC) dans les pays industrialisés, qui sont la principale cause des diarrhées du voyageur (30 à 80 %). Signalons toutefois que selon les études et les méthodes diagnostiques utilisées, 20 à 75 % des diarrhées restent sans étiologie.

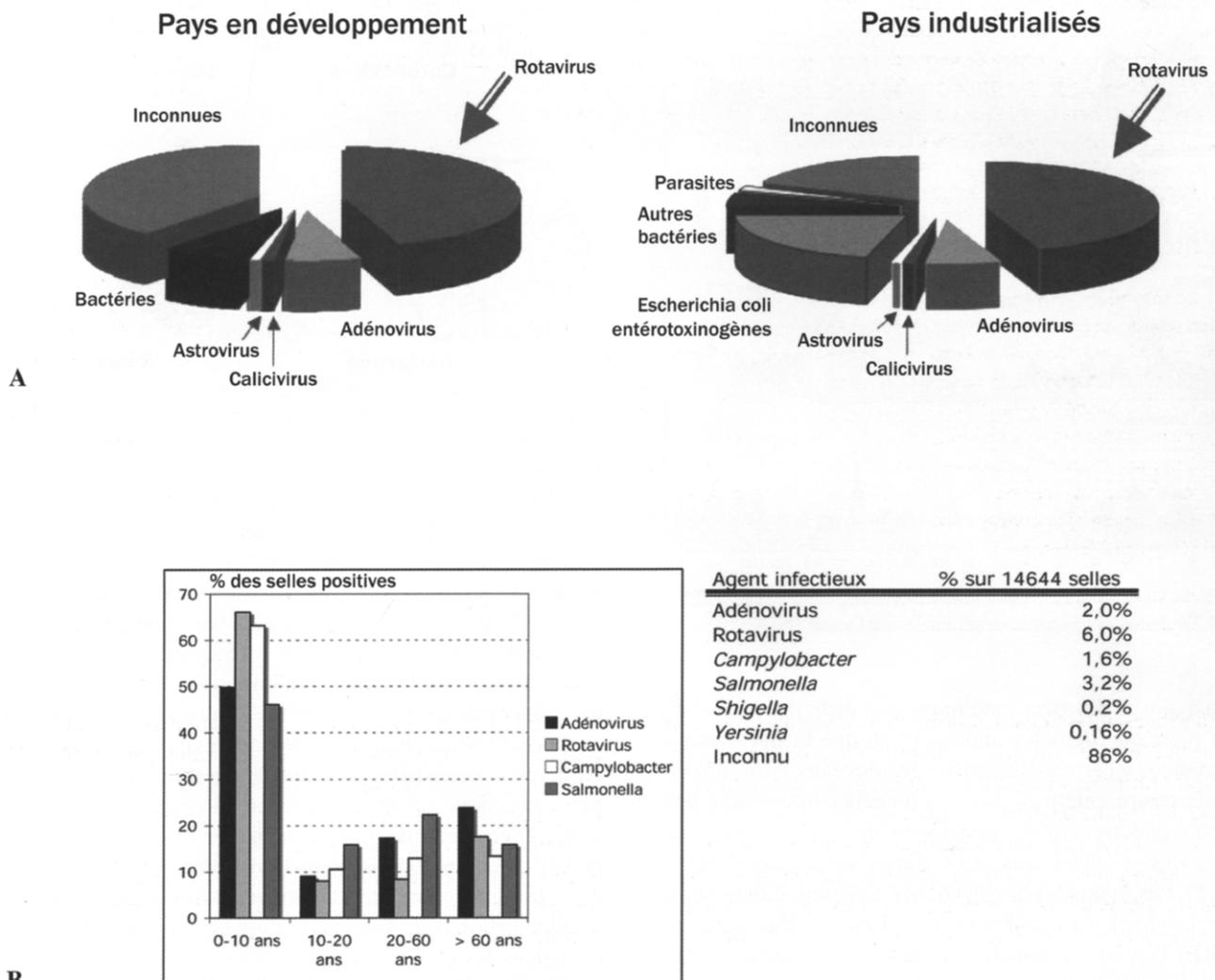


Fig. 1. A Synthèse de différentes études de l'OMS ; B Répartition au CHU de Limoges en 1993 [6].

2. Les gastro-entérites virales et les agents impliqués

Les gastro-entérites virales communautaires sont endémiques avec une prédominance hivernale (de janvier à mars) dans les pays tempérés, à la différence des gastro-entérites bactériennes dont le pic survient pendant les mois d'été (juin-septembre) [6-8] (Fig. 2). Les épidémies localisées, notamment dans les collectivités, sont observées tout au long de l'année. La transmission est interhumaine, se faisant soit sur le mode fécal-oral, soit par aérosols provenant de produits pathologiques, ou à partir d'une source commune, eau, aliments contaminés tels que les coquillages qui concentrent le matériel contenu dans les eaux souillées, ou par le personnel de cuisine porteur de l'agent infectieux.

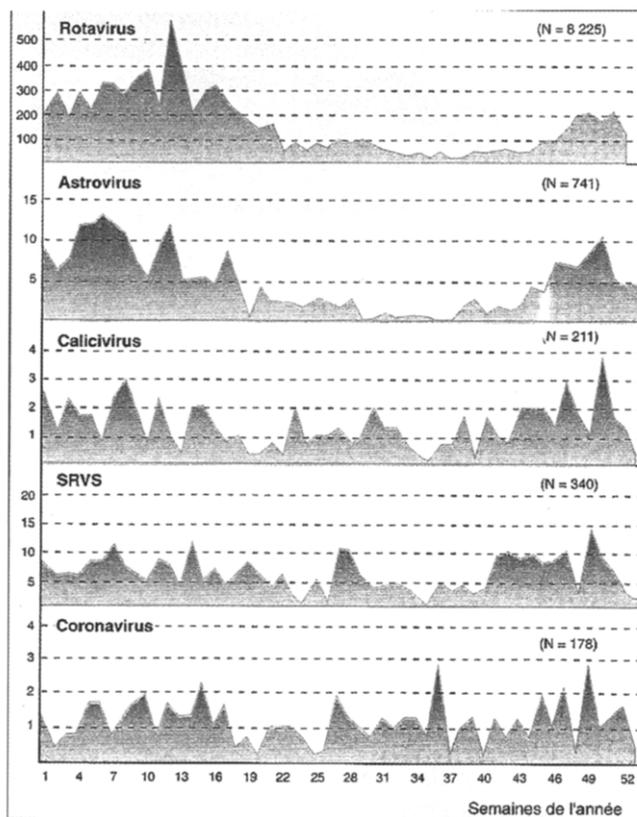


Fig. 2. Évolution des gastro-entérites virales sur l'année [8].

La majorité des virus entériques sont difficiles à cultiver, et ce n'est que dans les années 1970, que la microscopie électronique a permis d'identifier de nouveaux virus, à l'origine de gastro-entérites. Ainsi la nomenclature reflète leur morphologie (rotavirus, « en rayon de roue », astrovirus « en étoile », calicivirus « en forme de calice floral ») (Fig. 3). Les méthodes diagnostiques actuelles, basées sur la mise en évidence d'antigènes viraux dans les selles par technique ELISA ou par immunochromatographie permettent de détecter certains de ces virus (rotavirus, adénovirus, astrovirus) mais ce sont les progrès du diagnostic moléculaire qui, en permettant d'identifier un nombre croissant de virus enté-

riques, ont montré que plus de deux tiers des épidémies de gastroentérite sont d'origine virale. Ces techniques ont également permis de préciser les données épidémiologiques, d'identifier les souches virales sur la base du génotype, et d'en suivre la circulation dans les différents pays au fil du temps

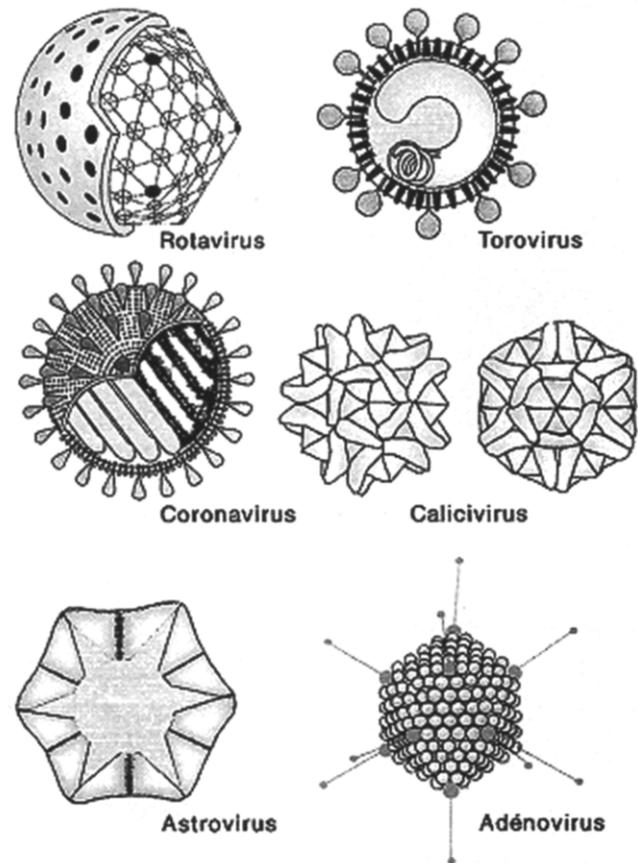


Fig. 3. Schéma des virus les plus fréquemment impliqués dans les gastro-entérites.

Les virus impliqués sont nombreux et variés (Tableau 1). Les caractéristiques communes de ces virus sont : un taux d'attaque élevé, une dose infectieuse faible, et une grande résistance aux variations de température et de pH leur permettant de persister sous forme infectieuse dans le milieu extérieur. Les plus fréquemment impliqués sont les rotavirus, les calicivirus, les astrovirus et les adénovirus entériques 40 et 41. D'autres virus comme les coronavirus, les aïchivirus, ou certains entérovirus peuvent être responsables d'épidémies, sans pour autant circuler à un taux significatif chaque année. L'ensemble des travaux menés en France et en Europe [8-13] démontrent clairement le rôle majeur des rotavirus dans les gastro-entérites communautaires nécessitant une hospitalisation (Fig. 4 A et B), alors que les calicivirus sont les agents les plus fréquemment retrouvés dans les gastro-entérites communautaires peu sévères. L'étude de Pang et al, [14] à l'aide de méthodes de RT PCR permettant d'identifier des virus dans 60 % des épisodes diarrhéiques, et jusqu'à

Tableau 1
Virus impliqués dans les gastro-entérites

	Principaux virus Génome	Diversité génétique	Autres
rotavirus du groupe A	ARN segmenté	Génotypes G1-14 P 1-20	rotavirus du groupe B (adultes en Chine)
calicivirus humains	ARN simple brin	NLV : génogroupes I-V 26 génotypes SLV : génogroupes I-V 8 génotypes	rotavirus du groupe C (enfants et adultes)
astrovirus	ARN simple brin	Génotypes 1 - 8	coronavirus
adénovirus entériques	ADN double brin	Génotypes 40 et 41	torovirus
			picobirnavirus
			Aïchi virus (<i>Picornaviridae</i>)
			entérovirus

Caractéristiques : Taux d'attaque élevé ; Dose infectieuse faible ; Résistance dans le milieu extérieur

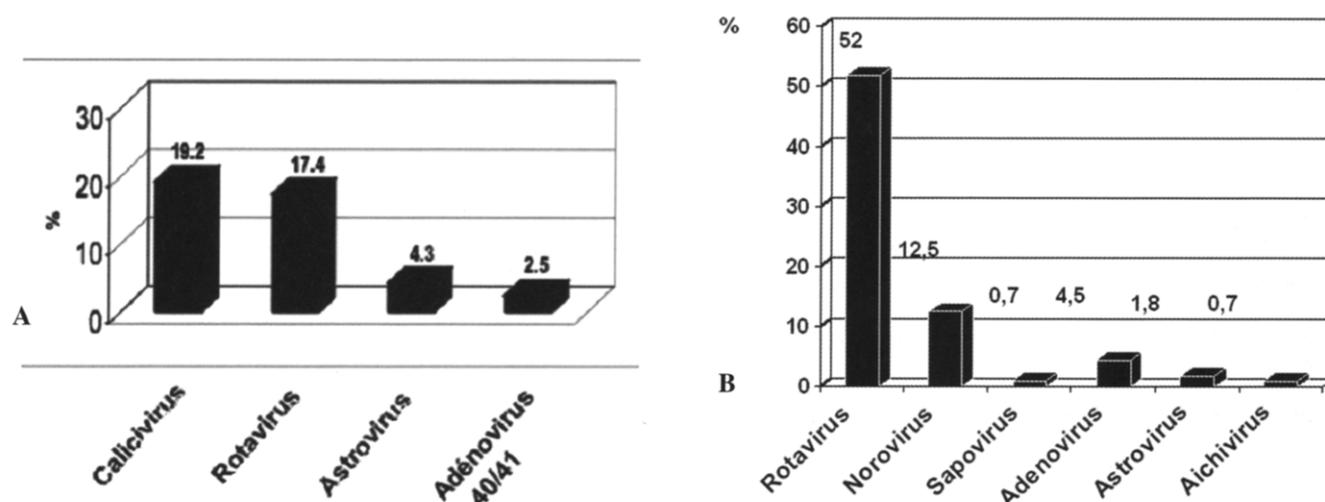


Fig. 4. Place relative des principaux virus dans les étiologies des gastroentérites communautaires en France.

A : Vues en consultation externe (D'après Chiki-Brachet et al. 2002 [2]).

B : Justifiant une hospitalisation (D'après Bon et al., 1999 [1]).

85 % des diarrhées sévères ou de moyenne gravité confirme cette répartition chez l'enfant. Les co-infections virales sont fréquentes (5-15 % selon les études et les méthodes utilisées) et peuvent résulter soit d'une véritable co-infection, soit du portage prolongé d'un des deux virus en cause.

Outre les gastro-entérites communautaires, chacun de ces virus peut être impliqué dans des épidémies de diarrhées nosocomiales, hospitalières ou en crèche. La place relative des différents virus reflète l'épidémiologie de la population concernée.

Nous aborderons successivement l'épidémiologie des principaux virus et leur variabilité génétique.

3. Rotavirus

3.1. Épidémiologie

Le rotavirus est l'agent pathogène le plus fréquemment responsable de diarrhées sévères chez l'enfant de moins de cinq ans. L'infection est acquise très tôt dans l'enfance et la séroprévalence atteint 100 % à trois ans. Si le nombre de décès annuels liés au rotavirus dans le monde a diminué de moitié entre 1995 et 2003 (de 873 000 à 440 000), parallèle à la diminution de mortalité liée aux diarrhées quelle qu'en soit la cause [15], la part du rotavirus dans les hospitalisa-

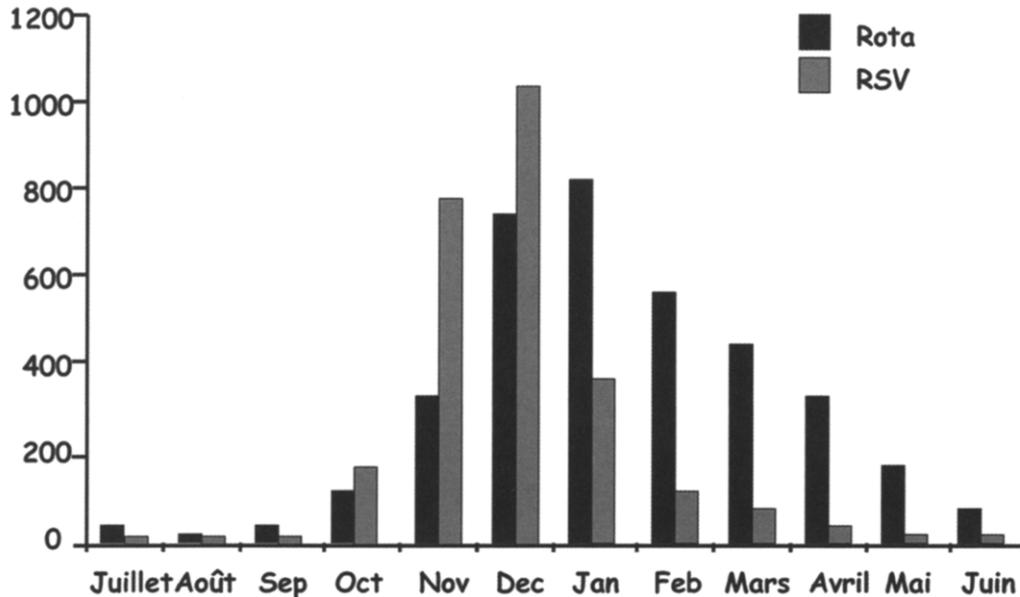


Fig. 5. Distribution mensuelle cumulée des cas d'infections à VRS et rotavirus observée entre 1993 et 2004 à Saint-Vincent de Paul (Paris, France) [21].

tions pour diarrhées a proportionnellement augmenté : De 22 % en 1999 [16], elle se situe actuellement entre 45 % et 56 % selon les pays [17,18]. La situation diffère entre les pays développés et les pays en développement. Dans les pays développés, la mortalité est moins importante mais la morbidité et le coût des infections à rotavirus n'en sont pas moins notables. Le rotavirus est responsable de 20 à 40 décès par an aux Etats-Unis, et de 7 à 87 décès par an, selon les pays, en Europe [19] mais reste à l'origine de 50 à 60 % des hospitalisations pour diarrhée [16]. En France, les infections à rotavirus sont la première cause d'hospitalisation pour diarrhée, et la deuxième cause de consultation pour gastroentérite en médecine générale, avec les calicivirus. En 2005, Mellies et al, dans le BEH, estimaient que le rotavirus était responsable en France de 300 000 épisodes de diarrhée aiguë, 160 000 diarrhées sévères, 9 décès annuels, 139 000 consultations dont 112 000 chez le généraliste et 26 000 chez un pédiatre, et 18 000 hospitalisations, soit un coût global de 28 millions d'euros [20].

Dans les pays tempérés l'infection évolue sur un mode épidémique sous forme d'épidémies hivernales, typiquement de novembre à mars avec un pic à la saison froide [21,22]. Fait intéressant, ces épidémies se superposent en France avec les épidémies de virus respiratoire syncytial (VRS), agent de la bronchiolite du nourrisson, qui touche les mêmes classes d'âge. L'étude récente d'Armengaut et al, [21] menée en région parisienne illustre bien le caractère saisonnier de ces deux virus et leur évolution parallèle. Sur une période de douze ans entre 1993 et 2004 ont été recensées les infections à VRS et à rotavirus. Une superposition des pics d'incidence d'infection à VRS et à rotavirus a été

retrouvée de façon remarquablement reproductible sur toute la période d'étude (Fig. 5).

La transmission du virus se fait sur le mode fécal-oral, directe par les mains, ou indirecte par les surfaces ou les objets souillés. Si la transmission par les sécrétions pharyngées n'a pas été démontrée, la transmission par aérosols à partir des matières fécales, de vomissements, ou de linges contaminés est possible. Elle est favorisée par l'abondance des particules virales dans les selles à la phase aiguë de la maladie (environ 10^{10} particules virales par gramme), un taux d'attaque élevé puisqu'il suffit de 10 particules virales pour transmettre la maladie, un taux de portage prolongé dans les selles, jusqu'à quinze jours après l'épisode diarrhéique, et une grande résistance du virus, qui garde notamment son pouvoir infectieux sur les surfaces sèches et les mains. Ainsi, plus de 15 % d'une charge virale déposée sur les doigts peut encore être transmise après 20 min [23].

Les enfants infectés sont également à l'origine d'infections nosocomiales, à l'hôpital ou en crèche. Les épidémies nosocomiales survenant en crèche sont habituellement peu symptomatiques. En milieu hospitalier, les rotavirus représentent la première cause de diarrhées nosocomiales chez le petit enfant. En France, le taux d'incidence par journée d'hospitalisation a été estimé à 9/1 000 [24]. Dans cette étude prospective sur deux années consécutives portant sur 5 783 enfants âgés de un mois à quatre ans, 62 % des enfants hospitalisés pour diarrhée étaient porteurs de rotavirus et 3,2 % ont développé une infection à rotavirus en cours d'hospitalisation. Un taux voisin de 3,3 % est retrouvé dans les hôpitaux du sud est de la France [25]. Les infections nosocomiales suivent la distribution saisonnière des infec-

tions communautaires, mais peuvent être rencontrées toute l'année. Les facteurs favorisants sont la durée d'hospitalisation, la durée du portage dans les selles, souvent prolongée plusieurs semaines ou mois en cas d'immunodépression. L'importance des rotavirus en termes d'infection nosocomiales est vraisemblablement sous-estimée : d'une part la durée courte de l'incubation, de 1 à 3 jours conduit à une sous-estimation des infections acquises dès les premiers jours d'hospitalisation, d'autre part les diarrhées survenant après la sortie de l'hôpital peuvent être méconnues.

3.2. Épidémiologie moléculaire

Les rotavirus sont de petits virus non enveloppés à ARN segmenté, découverts par Ruth Bishop en 1973 [26]. Observables en microscopie électronique dans les selles des enfants infectés, ils sont reconnaissables à leur aspect en rayon de roue, d'où leur nom. Cet aspect est dû à leur structure constituée d'une capsid de forme icosaédrique hérissée de spicules antigéniques (Fig. 6). Le génome viral est constitué de 11 segments d'ARN double brin. Chaque fragment comporte un gène, qui code pour une protéine du virus (à l'exception du fragment 11 qui en code 2), et porte à ses extrémités des séquences consensus (communes) non codantes. Cette caractéristique, associée à une barrière génétique d'espèce faible, pousse de nombreux rotavirus

humains sont capable d'infecter d'autres mammifères et certains oiseaux, est à l'origine d'un phénomène de réassortiment génétique (échange de fragments codant la même protéine), au cours de co-infection d'un même hôte par deux rotavirus différents.

Parmi les protéines structurales du virion, trois sont particulièrement importantes sur le plan antigénique : VP7, VP6 et VP4. Les protéines structurales sont organisées en trois couches : une couche interne constituée des protéines VP1, VP2 et VP3 qui interviennent dans la transcription et la réplication virale, une couche intermédiaire formée par la protéine VP6 qui porte les antigènes de groupe (A, B et C). Cette protéine est également celle détectée par la plupart des tests diagnostiques. La couche externe est formée des protéines VP4 et VP7 qui portent les antigènes de type, permettant de définir les sérotypes P et G. Actuellement, le typage des souches fait appel le plus souvent à des techniques de biologie moléculaire. L'analyse moléculaire des segments de génome 4 (codant VP4) et 9 (codant VP7) permet de classer les souches en génotypes plutôt qu'en sérotypes. On distingue ainsi 20 génotypes P et 14 génotypes G. La combinaison des génotypes G et P peut théoriquement donner naissance à plus de cent génotypes par de réassortiment génétique entre les segments 4 et 9 du génome. En pratique, dix sérotypes G (superposables aux génotypes) et 9 sérotypes P peuvent infecter l'homme. Etant donné que le nombre des

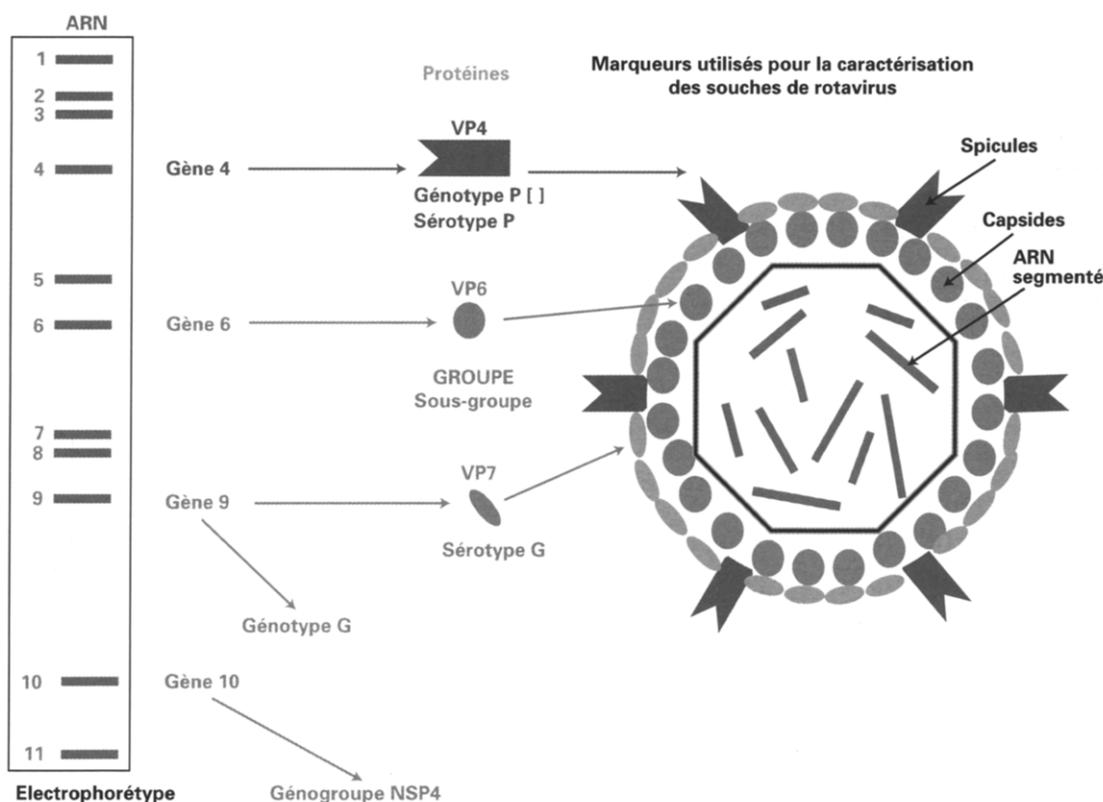


Fig. 6. Structure des rotavirus-génotypes et sérotypes.

généotypes P est plus élevé que le nombre des sérotypes P, on utilise habituellement le génotype P dans la nomenclature (ex : G1 P[8] Souche de sérotype/génotype G1 et de génotype P8). Les techniques d'amplification de l'ARN, ou RT-PCR, sont largement utilisées pour le typage. Elles permettent la détection des rotavirus lorsque la quantité de virus présent est faible (comme dans l'environnement) et le génotypage G et P des souches. Les informations obtenues par les techniques moléculaires ont largement contribué à la connaissance de l'épidémiologie des rotavirus. Le profil de migration de l'ARN viral ou électrophorétype est une méthode simple, réalisable à partir de 0,2 g de selles du fait de l'abondance du virus dans les prélèvements. Il peut être utilisé pour contrôler la diversité des souches circulantes au cours d'une épidémie, en effet la diversité des électrophorétypes, supérieure à celle des génotypes G et P, permet de différencier les souches virales au sein d'un même génotype (Fig. 6) et d'identifier des co-infections par deux rotavirus différents. Cette méthode a également été à l'origine de la découverte des groupes B et C.

La majorité des souches humaines appartient au groupe A. En dehors du groupe A, seuls les groupes B et C ont été trouvés associés à des gastro-entérites chez l'homme. Les rotavirus du groupe B circulent en Chine et en Inde, le groupe C est ubiquitaire mais minoritaire. Cependant la non-détection de ces groupes par les tests diagnostiques de détection d'antigènes peut faire sous-estimer leur prévalence.

Parmi les rotavirus du groupe A, les génotypes G1-G4 et G9 sont à l'origine de 90 % des gastro-entérites. Les combinaisons G/P usuelles sont G1 P[8], G2P[4], G3 P[8], et G4 P[8]. Les souches G9, fréquentes en Asie (G9 P[6]), ont récemment émergé sur d'autres continents où leur fréquence est significative (3 à 7 % aux États-Unis, 11 % en Australie, 16 % au Brésil). D'autres génotypes, G10, G11... prévalents dans les pays en voie de développement, peuvent circuler de manière transitoire [27]. Les infections mixtes par des souches de type G ou P différents sont possibles, et peuvent conduire à des combinaisons inhabituelles de G et de P, par réassortiments entre souches usuelles (ex : G2 P[8]), ou entre souches usuelles et souches d'importation (ex G9 P[8]), ou par réassortiment avec des rotavirus animaux, et à l'émergence localisée de nouveaux types. L'étude REVEAL, menée dans sept pays d'Europe : Belgique, France, Allemagne, Italie, Espagne, Suède et Royaume Uni, qui répertorie les types circulant en 2004 et 2005 [28] chez 2 846 enfants de moins de 5 ans consultant ou hospitalisés pour gastro-entérite a confirmé l'importance des rotavirus en Europe et précisé leur épidémiologie moléculaire (Fig. 7). Quarante pour cent des enfants (1 102) étaient porteurs de rotavirus identifié par détection d'antigène de groupe A en ELISA ; 98 % des rotavirus circulants appartenaient aux génotypes G1-G4 et G9, avec une distribution variable selon les pays, soulignant l'émergence et la stabilisation du type G9 dans les pays d'Europe. Ainsi G1 prédomine au Royaume-Uni (85,4 %), en Espagne (81 %) en Suède (57,1 %) et en Belgique (28,4 %) alors que G9 prédo-

mine en Italie (83,9 %) et en France (54,8 %) et que G4 prédomine en Allemagne (56,1 %). Seuls les génotypes G4 et G9 étaient présents dans tous les pays. Des types plus rares, G10 (en Espagne) et G12 (en Italie et en Suède) sont également retrouvés. Une deuxième étude, menée sur deux saisons (2004-2006) dans les pays de l'est de l'Europe (République tchèque, Slovaquie, Croatie, Albanie et Bulgarie) chez 1 500 enfants porteurs de gastro-entérite sévère à rotavirus retrouve la prédominance des combinaisons G/P usuelles (G1 P[8], G2P[4], G3 P[8], et G4 P[8] : 50 % à 85 % selon les pays) et l'émergence du type G9 (2 % à 35 %). On observe une émergence significative de réassortants entre souches usuelles (G1 ou G4P[4], G2P[8] : 3 % à 20 %) de types inhabituels pouvant provenir de réassortiments avec des rotavirus animaux (G8 P[8] ou G10 P[6]) et la présence de doubles infections chez 1,7 % à 14 % des cas selon le pays [29]. Si, globalement, les types majoritaires sont stables en Europe, des fluctuations portant sur les génotypes minoritaires peuvent s'observer d'une année à l'autre, avec émergence et disparition d'un type inhabituel, sans que le mécanisme soit connu [30]. Ainsi, l'émergence progressive du type G9 est observée en France depuis 2000. Une étude menée en France, à Paris, Dijon et Limoges, portant sur deux saisons consécutives 2004-2006 [31] retrouve l'émergence du type G9 en 2004-2005 (G9 (62,6 %), G3 (13,2 %), G1 (5,4 %), G2 (3,3 %) G4 (1 %)) dans les trois régions, alors que le génotype G1 redevient majoritaire en 2005-2006 : G1 (65,3 %, 30,8 % à 82,7 % selon les régions) G9 (15,3 % : 3,5 % to 30,8 %), G3 (10 % : 0 to 15,4 %) and G2 and G4 (1 %), et l'émergence de génotypes inusuels G8 et G12. L'influence du génotype sur la date de survenue de l'épidémie, avec un pic d'incidence précoce (janvier-mars) pour le type G1 et tardif (février-mai) pour G4 et G9 observé dans l'étude REVEAL souligne également les différences d'épidémiologie entre les différents types circulants. L'ensemble de ces travaux indique que circulent désormais en Europe 5 génotypes majoritaires G1-G4 et G9, dont la répartition peut varier selon les années, et que peuvent émerger ponctuellement des souches minoritaires ou des réassortants qui doivent faire l'objet d'une surveillance épidémiologique régulière. En contrepartie, l'impact clinique du génotype semble faible. Ainsi dans l'étude REVEAL aucun lien entre génotype et gravité de la diarrhée (hospitalisation) ou entre génotype et âge de survenue (< 24 mois ou > 24 mois) n'est observé.

4. Calicivirus

Longtemps considérés comme des agents mineurs responsables de petites épidémies ou de cas sporadiques, le rôle important de ces virus dans l'étiologie de gastroentérites n'est connu que depuis peu de temps, du fait de l'amélioration des méthodes de diagnostic moléculaire. Les calicivirus humains (HuCV) sont de petits virus à ARN simple brin, non enveloppés, qui doivent leur nom aux dépressions régu-

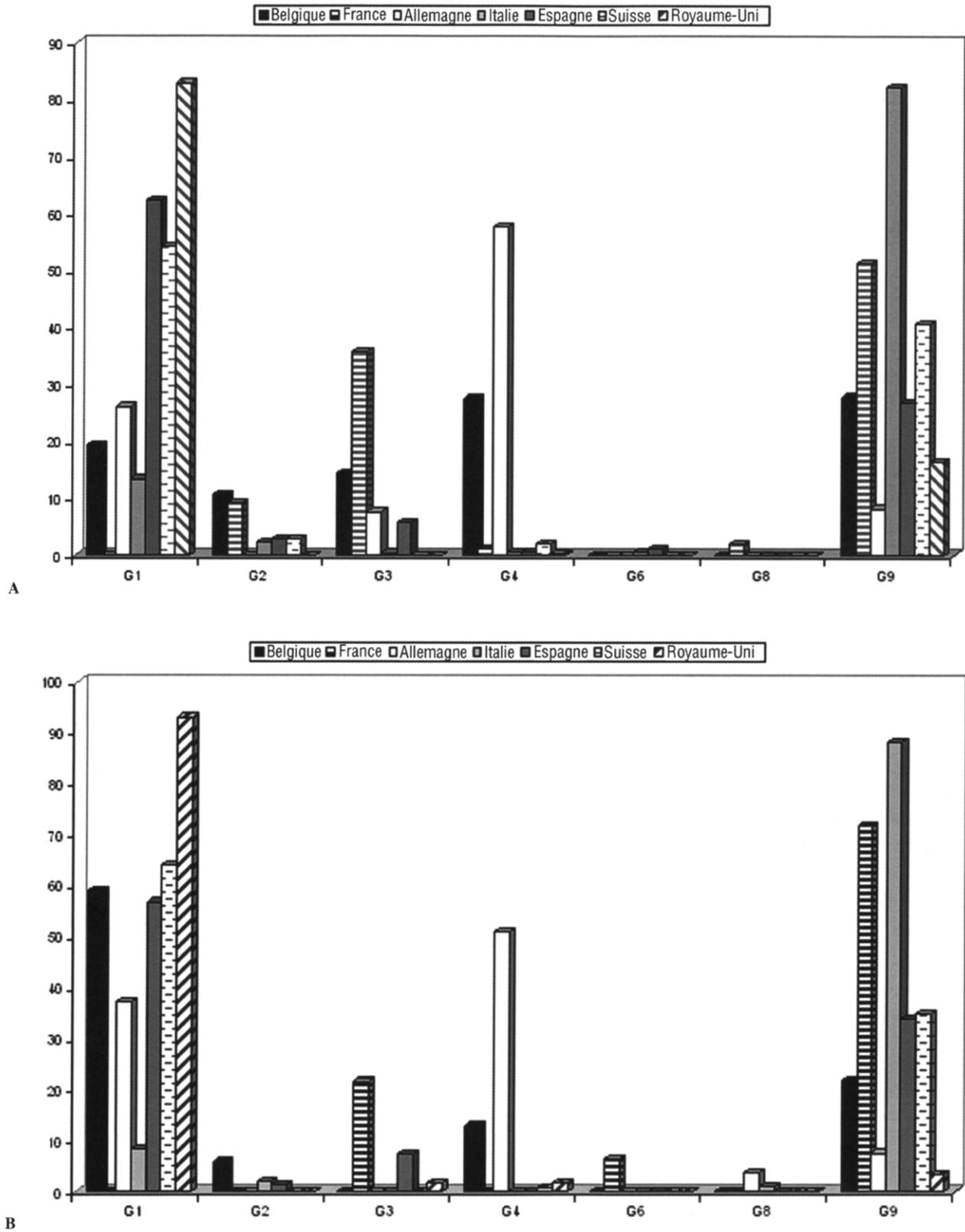


Fig. 7. Répartition des génotypes de rotavirus en Europe (D'après Van Damme et al., 2007 [29]). Répartition des génotypes en fonction de l'âge A : Moins de 24 mois ; B : Plus de 24 mois.

lières en forme de calice, visibles en microscopie électronique à la surface de la capsid. Ils ne sont pas cultivables. Cette famille de virus est extrêmement diversifiée et responsable de pathologies très variées chez l'animal. Chez l'homme, ils sont à l'origine de gastro-entérites de gravité modérée. Ils sont actuellement classés sur la base de critères génétiques en quatre genres : le genre Norovirus (Norwalk-like virus, NLV), le genre Sapovirus (Sapporo-like virus, SLV), et deux genres, Lagovirus et Vesivirus, qui infectent uniquement les animaux, chez lesquels ils sont responsables de pathologies variées incluant des gastro-entérites. Le prototype a été découvert en 1972 au cours d'une épidémie de gastro-entérites dans la ville de Norwalk (Ohio) par Kapi-kian [32,33]. Des virus de morphologie proche mais antigéniquement distincts identifiés à Sapporo (Japon), ont donné naissance au genre Sapovirus. Non cultivables, ils ne sont détectables qu'en microscopie électronique ou par RT-PCR.

Plusieurs études réalisées dans la population, en médecine générale, en consultation spécialisée et chez les enfants hospitalisés montrent que les calicivirus sont aussi fréquents voire plus fréquents que les rotavirus A dans les infections communautaires, et le second agent responsable de gastro-entérites après le rotavirus A chez les enfants en consultation spécialisée ou hospitalisés [8,11,14,34-41]. Les Norovirus sont actuellement reconnus comme des agents majeurs de gastro-entérite aiguë touchant toutes les classes d'âge. Les sapovirus sont moins fréquents (environ 30 % des cas d'infection à calicivirus) et sont essentiellement associés aux gastro-entérites pédiatriques. Les manifestations cliniques des gastro-entérites à calicivirus sont généralement modérées et de courte durée (24-48 heures), survenant après une incubation de 12 à 16 heures, fréquemment accompagnées de vomissements qui contribuent à la diffusion du virus par aérosols. Le pic des infections se situe entre 3 mois et 5 ans et 70 à 100 % de la population a acquis des anticorps avant l'âge de 12 ans [8]. Cependant, l'immunité est limitée dans le temps et dépend de la souche impliquée dans l'infection, ce qui permet les réinfections à traduction clinique.

Les calicivirus sont par ailleurs la première cause d'épidémies de gastro-entérites. Les Norovirus sont à l'origine de plus de 90 % des épidémies non bactériennes survenant en collectivités. Au contraire, les gastro-entérites à Sapovirus ont essentiellement été décrites chez les jeunes enfants, en particulier en crèche, et chez les personnes âgées [42,43].

À l'origine de 23 millions de cas annuels, 50 000 hospitalisations et 300 décès par an aux États-Unis [44], et de 501 384 consultations en médecine générale et 70 194 cas d'infections alimentaires par an en France en 1998-1999 (rapport de l'InVS : Morbidité et mortalité dues aux maladies infectieuses d'origine alimentaire en France, <http://www.invs.sante.fr> et [12] les infections à calicivirus représentent un réel problème de santé publique dans les pays industrialisés. La transmission se fait directement de personne à personne, ou indirectement par consommation d'eau ou de nourritures polluées. Les coquillages, notamment les huîtres, sont souvent incriminés. Un taux d'attaque élevé (10 particules de virus Norwalk suffi-

sent à générer une infection), l'existence d'une excrétion virale intense dans les selles en phase aiguë, la fréquence des vomissements, favorisant la transmission par aérosols, une excrétion virale dans les selles pendant près de 3 semaines, et une grande stabilité dans l'environnement contribuent à l'impact considérable des épidémies à calicivirus [45]. Ainsi en Europe, les Norovirus étaient responsables de 42 à 489 épidémies d'origine alimentaires par an selon les pays, jusqu'en 2001. En 2002, du fait de l'émergence et de la diffusion d'un nouveau variant leur incidence a augmenté de plus de 100 %, atteignant 698 et 1 175 épisodes annuels dans les pays les plus touchés (Danemark et Suède), d'après les données du réseau de surveillance Européen (Food-borne Viruses Network) [46]. Les données du réseau de surveillance du Royaume-Uni montrent plusieurs profils épidémiologiques : Si les cas sporadiques de diarrhée à Norovirus sont rencontrés toute l'année avec un pic hivernal, pour les cas épidémiques on observe deux profils différents : les épidémies d'origine alimentaire, hydriques, ou de personne à personne (école, hôtels...) sans saisonnalité particulière, et les épidémies dans les structures de santé (hôpitaux, institutions médicalisées) qui présentent un pic hivernal superposable à celui des cas sporadiques [47].

4.1. Épidémiologie moléculaire

Les genres Norovirus et Sapovirus sont subdivisés chacun en génogroupes, eux-mêmes subdivisés en génotypes sur la base de la séquence en acides aminés de la protéine de capsid VP1. Actuellement on connaît 5 génogroupes de Norovirus dont 3 (I, II et IV) comprennent des souches humaines et 26 génotypes. Des calicivirus animaux sont également classés dans le genre Norovirus parmi lesquels des souches bovines (G III), porcines (G II) et une souche murine (G V). Pour les sapovirus, 5 génogroupes ont été décrits dont quatre infectent l'homme et l'un (G III) infectant le porc. La diversité génétique des souches circulantes est importante, variant d'une année à l'autre. Les souches correspondant à des épidémies différentes sont le plus souvent différentes et il est fréquent de voir co-circuler une grande variété de souches de génogroupe I et de génogroupe II. Une étude de surveillance des souches de calicivirus en France entre 1998 et 2004 illustre bien cette diversité [34] (Fig. 8). Les épidémies d'origine environnementale (coquillages, eau) sont généralement dues à plusieurs souches alors que les épidémies liées à une transmission interhumaine sont liées à une seule souche. Ainsi, le génotype G II-4, dit « Lorsche » est prédominant dans les épidémies transmises de personne à personne. La surveillance des épidémies montre une succession d'années où circulent des souches variées intercalées d'années « épidémiques » marquées par l'émergence d'une souche particulière, parfois responsable de la majorité des épidémies dans différents pays [41]. Ainsi en 2002, l'émergence d'un nouveau variant dit « variant Lorsche » GG II-4 en Europe se propageant à grande échelle a été responsable de la flambée de gastro-entérites [46]. L'hypothèse

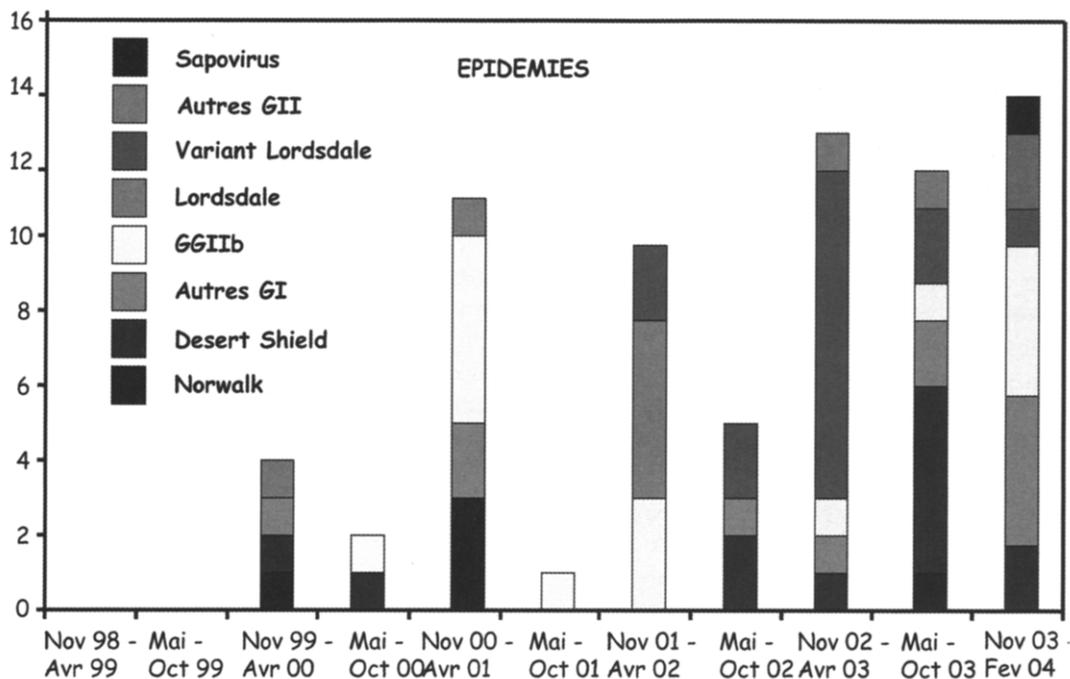


Fig. 8. Épidémiologie moléculaire des HuCV détectés dans des cas sporadiques et au cours d'épidémies en France de 1998 à 2004 (D'après Bon et al., 2005 [34]).

d'une recombinaison entre un virus animal et un virus humain infectant les animaux a été évoquée.

5. Astrovirus

Les astrovirus sont de petits virus à ARN simple brin, non enveloppés, cultivables, identifiés en 1975 par microscopie électronique [48,49]. Leur organisation génomique particulière les classe dans une famille à part, le genre astrovirus, dont ils demeurent les seuls représentants à ce jour. Leur nom reflète leur morphologie en étoile à 5 ou 6 branches en microscopie électronique. Huit types antigéniques ont été identifiés. Ubiquitaires à l'échelle du globe, ils sont responsables de cas de gastro-entérite sporadiques, avec un pic hivernal dans les régions tempérées, mais peuvent être à l'origine d'épidémies dans des collectivités (écoles, crèches, institutions médicalisées, hôpitaux). L'infection survient le plus souvent dans les deux premières années de vie et la séroprévalence est de 60 à 90 % à 5 ans. Elle est fréquemment asymptomatique, sauf chez les personnes, âgées, dénutries ou immunodéprimées. Ainsi les astrovirus sont une cause non négligeable de gastro-entérite chez les personnes infectées par le VIH (12 %), devant les picobirnavirus, les calicivirus et les adénovirus entériques [50]. La fréquence de détection des astrovirus varie selon les études entre 2,5 et 10 % chez les enfants atteints de gastro-entérite communautaire [14], et entre 3 et 5 % parmi les cas hospitalisés. En France 1,4 % des consultations pour gastro-entérite (jusqu'à

4,5 % durant le pic hivernal) sont dues aux astrovirus [12]. La distribution saisonnière des épidémies coïncide avec celle des rotavirus, expliquant la fréquence des co-infections.

Les astrovirus peuvent également être à l'origine d'épidémies importantes, notamment nosocomiales, comme en témoigne la première observation de ce virus au cours d'une épidémie de gastro-entérite dans des maternités [49]. Ils sont impliqués dans un nombre important de diarrhées nosocomiales en pédiatrie, en gériatrie, et chez les patients souffrant de pathologie hématologiques sévères. Ils représentent la troisième cause de diarrhée infectieuse nosocomiale en pédiatrie (14 %) après les rotavirus (43 %) et les calicivirus (16 %) [51], et la première cause de diarrhée infectieuse (4,5 %) chez les receveurs de moelle osseuse [52]. Dans ce contexte, la diarrhée peut dépasser 20 jours, et l'excrétion virale peut atteindre 10^{10} particules par millilitre de selles. La transmission s'effectue sur le mode fécal-oral par les surfaces souillées, les aliments ou les eaux contaminées. Les particules virales sont résistantes à la chaleur, à la dessiccation et aux détergents. L'excrétion virale peut être prolongée au delà de l'épisode diarrhéique jusqu'à 21 jours lorsque des méthodes sensibles telles que la RT-PCR sont utilisées. Le taux d'attaque de ce virus est élevé : 50 % à 89 % en crèche selon la méthode de détection, ELISA ou RT-PCR [53,54] et jusqu'à 80 % chez le sujet âgé, reflétant la perte d'immunité contre ce virus au cours de la vie. Des épidémies de large ampleur d'origine alimentaire, impliquant plusieurs milliers de personnes ont également été décrites au Japon [55].

5.1. Épidémiologie moléculaire

La classification en génotypes à partir de l'analyse phylogénique de la région codant la phase ouverte de lecture ORF 2 montre une bonne concordance avec les sérotypes, de 1 à 8. Le type 1 est le plus prévalent en Europe, en particulier chez les enfants, cependant les autres sérotypes circulent dans la population. Les études de séroprévalence effectuées en Europe montrent que 90 % des enfants ont des anticorps contre le type 1 à 5 ans, alors que les anticorps contre les sérogroupes moins fréquents apparaissent plus tardivement. Ainsi, seuls 10 à 30 % des enfants ont des anticorps contre le sérotype 6. Les sérotypes les plus prévalents se répartissent comme suit : sérotype 1 : 91 % des adultes et enfants, type 3 : 69 %, type 4 : 50 %, type 5 : 36 %, type 2 : 31 % [56,57]. Les études moléculaires plus récentes retrouvent une répartition similaire, avec une prédominance du type 1 suivi des type 3, ou 4, avec co-circulation de plusieurs types, ou de plusieurs sous-types [58,59], et parfois émergence d'un type inhabituel [60].

6. Adénovirus entériques

Chez l'homme ils sont responsables de gastro-entérites d'incubation plus longue que les gastroentérites à rotavirus ou à calicivirus (10 jours), avec un discret pic saisonnier estival [6,8,14]. Parmi les nombreux sérotypes d'adénovirus humains retrouvés dans les selles de patients ou d'individus sains, seuls les types 40 et 41 et beaucoup plus rarement les sérotypes 2, 3 et 31 sont indiscutablement des agents de gastro-entérites. Un cas particulier est celui de l'infection à adénovirus entérique chez les personnes immunodéprimées ou greffées. Dans ce contexte, l'infection peut être invasive, justifiant la recherche systématique des adénovirus 40-41 par détection d'antigène en ELISA dans les selles, en particulier après greffe de moelle. Chez ces patients la persistance du virus dans le système lymphatique peut être à l'origine d'infections endogènes. Ce qui pourrait expliquer la fréquence élevée d'excrétion virale chez les personnes infectées par le VIH (8,7 % contre 2,3 % chez les personnes séronégatives) [61]. Dans la population générale, la fréquence de détection des adénovirus type 40 et 41 chez les enfants atteints de gastro-entérite varie de 2 à 14 % selon les études [6,9,11,12,14,61,62]. Ils sont à l'origine de 2,2 % des cas de gastro-entérite nécessitant une consultation chez le généraliste, et 2,5 % des cas durant le pic hivernal [12]. Les gastro-entérites à adénovirus touchent essentiellement les enfants en bas âge, avec un pic entre 11 et 15 mois [6,11]. À 3 ans entre 30 et 100 % des enfants possèdent des anticorps neutralisant les adénovirus 40 et 41.

Les adénovirus entériques sont des virus à ADN double brin, non enveloppés. Ils sont reconnaissables en microscopie électronique à leur forme icosaédrique hérissée de spicules ou « fibres » constituées de glycoprotéines qui portent la

spécificité de type. Les adénovirus 40 et 41 sont cultivables sur une lignée de cellules particulières, les cellules Graham, transformées par un adénovirus de type 5. Des tests ELISA permettant de détecter les antigènes viraux dans les selles ont été rapidement développés. Le génome viral peut également être détecté par PCR. Le type viral peut être déterminé soit par séroneutralisation de l'effet cytopathique soit par PCR spécifique de type. La transmission des adénovirus entériques est essentiellement féco-orale. Leur présence dans les eaux d'égouts, les eaux de mer, les fruits de mer [63], la concentration élevée de virus dans les selles à la phase aiguë qui peut atteindre 10^{11} particules virales par gramme et leur excrétion prolongée sont autant de facteurs favorisant la dissémination virale.

7. Conclusion

Le terme de diarrhée infectieuse recouvre des pathologies dues à des agents pathogènes d'une grande diversité. Les virus entériques, à l'origine de la majorité des cas, représentent une population variée, avec des caractéristiques épidémiologiques très différentes selon les genres. L'introduction d'une vaccination efficace contre les rotavirus, responsables de la majorité des diarrhées infectieuses sévères dans le monde et en Europe amène à s'interroger sur le risque d'émergence de nouveaux virus ou de nouveaux types viraux. Les études de surveillance épidémiologique mises en place après les premiers essais de vaccination contre les rotavirus n'ont pas montré d'augmentation des infections à calicivirus ou à adénovirus [13,64]. Cependant, à l'ère vaccinale, l'évolution des populations bactériennes et virales dans les gastroentérites communautaires ainsi que la dynamique des génotypes de rotavirus circulant en Europe devrait faire l'objet d'une surveillance épidémiologique continue.

Références

- [1] Black RE, Morris SS, Bryce J. Where and why are 20 million children dying every year? *Lancet* 2003;361:2226-34.
- [2] Kosek M, Bern C, Guerrant RL. The global burden of diarrhoeal disease, as estimated from studies published between 1992 and 2000. *Bull World Health Organ* 2003;81:197-204.
- [3] UN. Millenium Development Goals Report. [cited 2005 December 20].
- [4] Levine MM. Enteric infections and the vaccines to counter them: future directions. *Vaccine* 2006;24:3865-73.
- [5] Flahaut A, Chauvin P, Massari V, et al. Épidémiologie des maladies transmissibles en médecine générale libérale : bilan du réseau Sentinelles en 1995. *Bulletin Épidémiologique Hebdomadaire* 1996;33:143-5.
- [6] Durepaire N, Pradie MP, Ploy MC, et al. Les adénovirus dans les prélèvements de selles en milieu hospitalier. Comparaison avec les principaux agents de gastroentérites (rotavirus, campylobacter, salmonella). *Pathol Biol* 1995;43:601-10.
- [7] Moulin F, Marc E, Lorrot M, et al. Hospitalisations pour gastroentérites aiguës communautaires à rotavirus : une enquête de 4 ans. *Arch Pediatr* 2002;9:255-61.

- [8] Monroe SS, Glass RI, Noah N, et al. Electron microscopic reporting of gastrointestinal viruses in the United Kingdom. 1985-1987. *J Med Virol* 1991;33:193-8.
- [9] Colomba C, De Grazia S, Giammanco GM, et al. Viral gastroenteritis in children hospitalised in Sicily, Italy. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2006;25:570-5.
- [10] Marie-Cardine A, Gourlain K, Mouterde O, et al. Epidemiology of acute viral gastroenteritis in children hospitalized in Rouen, France. *Clin Infect Dis* 2002;34:1170-8.
- [11] Bon F, Fascia P, Dauvergne M, et al. Prevalence of group A rotavirus, human calicivirus, astrovirus, and adenovirus type 40 and 41 infections among children with acute gastroenteritis in Dijon, France. *J Clin Microbiol*, 1999;37:3055-8.
- [12] Chikhi-Brachet R, Bon F, Toubiana L, et al. Virus diversity in a winter epidemic of acute diarrhea in France. *J Clin Microbiol* 2002;40:4266-72.
- [13] Pang XL, Zeng SQ, Honma S, et al. Effect of rotavirus vaccine on Sapporo virus gastroenteritis in Finnish infants. *Pediatr Infect Dis J* 2001;20:295-300.
- [14] Pang, XL, Honma S, Nakata S, et al. Human caliciviruses in acute gastroenteritis of young children in the community. *J Infect Dis* 2000;181(2):S288-94.
- [15] Parashar UD, Alexander JP, Glass RI. Prevention of rotavirus gastroenteritis among infants and children. Recommendations of the Advisory Committee on Immunization Practices (ACIP). *MMWR Recomm Rep* 2006;55 (RR-12):1-13.
- [16] Parashar UD, Bresee JS, Glass RI. The global burden of diarrhoeal disease in children. *Bull World Health Organ* 2003;81:236.
- [17] Bresee J, Fang ZY, Wang B, et al. First report from the Asian Rotavirus Surveillance Network. *Emerg Infect Dis* 2004;10:988-95.
- [18] Parashar UD, Gibson CJ, Bresse JS. Rotavirus and severe childhood diarrhea. *Emerg Infect Dis* 2006;12:304-6.
- [19] Soriano-Gabarro M, Mrukowicz J, Vesikari T, et al. Burden of rotavirus disease in European Union countries. *Pediatr Infect Dis J* 2006;25(1):S7-S11.
- [20] Mellies H, Boelle PY, Baron S, et al. Mortalité, morbidité et coût des infections à rotavirus en France. *BEH* 2005;25:175-6.
- [21] Armengaud JB, El Hajje MJ, Moulin F, et al. Coïncidences des épidémies de rotavirus et de virus respiratoire syncytial à Paris : 12 ans de surveillance. *Med Mal Infect* 2007;37:262-5.
- [22] Turcios RM, Curns AT, Holman RC, et al. Temporal and geographic trends of rotavirus activity in the United States, 1997-2004. *Pediatr Infect Dis J* 2006;25:451-4.
- [23] Ansari SA, Sattar SA, Springthorpe VS, et al. Rotavirus survival on human hands and transfer of infectious virus to animate and nonporous inanimate surfaces. *J Clin Microbiol* 1988;26:1513-8.
- [24] Branger B, Ouest CCS. Incidence des infections nosocomiales à rotavirus en pédiatrie. *Bulletin Epidémiologique Hebdomadaire* 1995;7:28-9.
- [25] Pozzeto B. Rotavirus, in *Infections nosocomiales virales*, J. Libbey, Editor. 2001, Médecine Sciences : Paris.
- [26] 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;2:1281-3.
- [27] Desselberger U, Wolleswinkel-van den Bosch J, Mrukowicz J, et al. Rotavirus types in Europe and their significance for vaccination. *Pediatr Infect Dis J* 2006;25(1):S30-41.
- [28] Van Damme P, Giaquinto C, Maxwell M, et al. Distribution of rotavirus genotypes in Europe, 2004-2005: the REVEAL Study. *J Infect Dis* 2007;195(1): S17-25.
- [29] Tcheremenskaia O, Marucci G, De Petris S, et al. Molecular epidemiology of rotavirus in Central and South-Eastern Europe. *J Clin Microbiol* 2007;45(7):2197-204.
- [30] Steyer A, Poljsak-Prijatelj M, Bufon TL, et al. Rotavirus genotypes in Slovenia: unexpected detection of G8P [8] and G12P [8] genotypes. *J Med Virol* 2007;79:626-32.
- [31] Pothier P, Gendrel D, Alain S, et al. Changing pattern of rotavirus genotype in French hospitalized children: emergence of G9 and finding of rare G8 and G12 strains. in 25th Annual Meeting of the European Society for Paediatrics Infectious Diseases. 2007: Porto, Portugal. Abstract 332-P07.
- [32] Kapikian AZ, Wyatt RG, Dolin R, et al. Visualization by immune electron microscopy of a 27-nm particle associated with acute infectious nonbacterial gastroenteritis. *J Virol* 1972;10:1075-81.
- [33] Kapikian AZ. The discovery of the 27-nm Norwalk virus: an historic perspective. *J Infect Dis*. 2000;181 (2):S295-302.
- [34] Bon F, Ambert-Balay K, Giraudon H, et al. Molecular epidemiology of caliciviruses detected in sporadic and outbreak cases of gastroenteritis in France from December 1998 to February 2004. *J Clin Microbiol* 2005;43: 4659-64.
- [35] Gutierrez MF, Matiz A, Trespalacios AA, et al. Virus diversity of acute diarrhea in tropical highlands. *Rev Latinoam Microbiol*. 2006;48:17-23.
- [36] Pang XL, Joensuu J, Vesikari T. Human calicivirus-associated sporadic gastroenteritis in Finnish children less than two years of age followed prospectively during a rotavirus vaccine trial. *Pediatr Infect Dis J* 1999;18:420-6.
- [37] Svenungsson B, Lagergren A, Ekwall E, et al. Enteropathogens in adult patients with diarrhea and healthy control subjects: a 1-year prospective study in a Swedish clinic for infectious diseases. *Clin Infect Dis* 2000;30:770-8.
- [38] Ye XH, Jin Y, Fang ZY, et al. [Etiological study on viral diarrhea among children in Lanzhou, Gansu, from July 2004 through June 2005]. *Zhonghua Liu Xing Bing Xue Za Zhi* 2006;27:117-22.
- [39] Froggatt C, Barry Vipond I, Ashley CR, et al. Surveillance of norovirus infection in a study of sporadic childhood gastroenteritis in South West England and South Wales, during one winter season (1999-2000). *J Med Virol* 2004;72:307-11.
- [40] Svraka S, Duizer E, Vennema H, et al. Etiological role of viruses in outbreaks of acute gastroenteritis in The Netherlands from 1994 through 2005. *J Clin Microbiol* 2007;45:1389-94.
- [41] Koopmans M, Vinjé J, De Wit M, et al. Molecular epidemiology of human enteric caliciviruses. In: *The Netherlands*. *J Infect Dis* 2000;181:S262-9.
- [42] Kohli E, Bon F, Balay K, et al. Les calicivirus humains, une cause majeure de gastro-entérite aiguë. *Virologie* 2005;9:93-106.
- [43] Lopman BA, Brown DW, Koopmans M. Human caliciviruses in Europe. *J Clin Virol* 2002;24:137-60.
- [44] Mead S, Slutsker L, Dietz V, et al. Food-related illness and death in the United States. *Emerg Infect Dis* 1999;5:607-25.
- [45] Rockx B, De Wit M, Vennema H, et al. Natural history of human calicivirus infection: a prospective cohort study. *Clin Infect Dis* 2002;35:246-53.
- [46] Lopman BA, Vennema H, Kohli E, et al. Increase in viral gastroenteritis outbreaks in Europe and epidemic spread of new norovirus variant. *Lancet* 2004;363:682-8.
- [47] Lopman BA, Adak GK, Reacher MH, et al. Two epidemiologic patterns of norovirus outbreaks: surveillance in England and Wales, 1992-2000. *Emerg Infect Dis* 2003;9:71-7.
- [48] Appleton H, Higgins G. Letter: Viruses and gastroenteritis in infants. *Lancet* 1975;1:1297.
- [49] Madeley CR, Cosgrove BP. Letter: 28 nm particles in faeces in infantile gastroenteritis. *Lancet* 1975;2:451-2.
- [50] Grohmann GS, Glass RI, Pereira HG, et al. Enteric viruses and diarrhea in HIV-infected patients. Enteric Opportunistic Infections Working Group. *N Engl J Med* 1993;329:14-20.
- [51] Ford-Jones EL, Mindorff CM, Gold R, et al. The incidence of viral-associated diarrhea after admission to a pediatric hospital. *Am J Epidemiol* 1990;131:711-8.
- [52] Cox GJ, Matsui SM, Lo RS, et al. Etiology and outcome of diarrhea after marrow transplantation: a prospective study. *Gastroenterology* 1994;107: 1398-407.

- [53] Mitchell DK, Monroe SS, Jiang X, et al. Virologic features of an astrovirus diarrhea outbreak in a day care center revealed by reverse transcriptase-polymerase chain reaction. *J Infect Dis* 1995;172:1437-44.
- [54] Mitchell DK, Van R, Morrow AL, et al. Outbreaks of astrovirus gastroenteritis in day care centers. *J Pediatr* 1993;123:725-32.
- [55] Oishi I, Yamazaki K, Kimoto T, et al. A large outbreak of acute gastroenteritis associated with astrovirus among students and teachers in Osaka, Japan. *J Infect Dis* 1994;170:439-43.
- [56] Kriston S, Willcocks MM, Carter MJ, et al. Seroprevalence of astrovirus types 1 and 6 in London, determined using recombinant virus antigen. *Epidemiol Infect* 1996;117:159-64.
- [57] Koopmans MP, Bijen MH, Monroe SS, et al. Age-stratified seroprevalence of neutralizing antibodies to astrovirus types 1 to 7 in humans in The Netherlands. *Clin Diagn Lab Immunol* 1998;5:33-7.
- [58] De Grazia S, Giammanco GM, Colomba C, et al. Molecular epidemiology of astrovirus infection in Italian children with gastroenteritis. *Clin Microbiol Infect* 2004;10:1025-9.
- [59] Guix S, Caballero S, Villena C, et al. Molecular epidemiology of astrovirus infection in Barcelona, Spain. *J Clin Microbiol* 2002;40:133-9.
- [60] Jakab F, Meleg E, Banyai K, et al. One-year survey of astrovirus infection in children with gastroenteritis in a large hospital in Hungary: occurrence and genetic analysis of astroviruses. *J Med Virol* 2004;74:71-7.
- [61] Durepaire N, Ranger-Rogez S, Gandji JA, et al. Enteric prevalence of adenovirus in human [immunodeficiency virus seropositive patients. *J Med Virol* 1995;45:56-60.
- [62] Denis F, Barriere E, Venot C, et al. Virus et infections gastro-intestinales. *Ann Biol Clin* 1997;55:275-87.
- [63] Pina S, Puig M, Lucena F, et al. Viral pollution in the environment and in shellfish: human adenovirus detection by PCR as an index of human viruses. *Appl Environ Microbiol* 1998;64:3376-82.
- [64] Pang XL, Vesikari T. Human astrovirus-associated gastroenteritis in children under 2 years of age followed prospectively during a rotavirus vaccine trial. *Acta Paediatr* 1999;88:532-6.