

Panels gastro-intestinaux par PCR multiplex pour la prise en charge des diarrhées du voyageur: performants et utiles?

Drs LAURENCE ROCHAT^a, ANTONY CROXATTO^b, SERGE DE VALLIÈRE^a, Prs VALÉRIE D'ACREMONT^{a,d} et BLAISE GENTON^{a,c,d}

Rev Med Suisse 2017; 13: 963-7

Jusqu'à présent, la recherche d'entéropathogènes à l'origine de diarrhées au retour de voyage se basait essentiellement sur la culture bactérienne de selles (*Campylobacter* spp., *Salmonella* spp. et *Shigella* spp.), la microscopie directe sans (*Giardia lamblia*, *Entamoeba histolytica*) ou avec coloration spéciale (*Cryptosporidium* spp.) et la recherche d'antigènes spécifiques (*Giardia lamblia*, *Entamoeba histolytica*). Désormais, les analyses moléculaires tendent à supplanter les techniques traditionnelles mais l'utilité clinique de la PCR par rapport aux examens conventionnels doit être mieux définie. Cet article cherche à décrire les avantages et les limitations de ces nouvelles méthodes moléculaires et à illustrer des situations dans lesquelles leur utilisation pourrait être indiquée à la lumière de cas cliniques fréquemment rencontrés dans la pratique de la médecine des voyages.

Multiplex PCR gastro-intestinal panels for the management of traveller's diarrhea: are they accurate and useful?

Until recently, the search for enteropathogens causing travellers' diarrhea was based on stool culture (*Campylobacter* spp., *Salmonella* spp. and *Shigella* spp.), direct microscopy with (*Cryptosporidium* spp.) or without specific staining (*Giardia lamblia*, *Entamoeba histolytica*) or specific antigen detection (*Giardia lamblia*, *Entamoeba histolytica*). Molecular analyses are progressively replacing traditional diagnostic methods but their clinical usefulness remains to be better defined. This article attempts to describe the advantages and disadvantages of these new molecular methods and to illustrate situations where they could be useful using clinical cases frequently encountered in the practice of travel medicine.

INTRODUCTION

La diarrhée du voyageur représente la maladie infectieuse la plus fréquente lors d'un voyage en pays tropical.¹ L'incidence de la diarrhée du voyageur pour un séjour de deux semaines se situe entre 20 et 60%;² elle est en relation avec la saison du

voyage et les conditions sanitaires de la région visitée. En règle générale, les symptômes de la diarrhée du voyageur apparaissent pendant les deux premières semaines de voyage et s'estompent après trois à cinq jours sans traitement spécifique. L'étiologie bactérienne est la plus courante, suivie d'une infection virale, puis parasitaire (tableau 1).³ Les diarrhées persistent au-delà d'une dizaine de jours chez 5% des voyageurs. Les étiologies les plus fréquentes sont alors les protozoaires, suivis des bactéries⁴ (tableau 2). Les helminthes sont par contre rarement associés à la diarrhée du voyageur.

NOUVELLES MÉTHODES RAPIDES D'ANALYSES MOLÉCULAIRES

Actuellement, le diagnostic des diarrhées vit une révolution technologique avec l'introduction des méthodes moléculaires classiques ou rapides qui pourraient théoriquement remplacer, en partie ou totalement, la culture bactérienne ainsi que la microscopie et les tests antigéniques pour la recherche des parasites. Les méthodes moléculaires rapides sont des systèmes compacts dans lesquels toutes les étapes de la PCR (extraction ADN/ARN et amplification) sont effectuées sans intervention humaine, du prélèvement des selles du récipient de transport jusqu'au résultat analytique, offrant à la fois une facilité d'utilisation et une diminution significative du temps de rendu des résultats (1 à 10 heures selon les plateformes). Les méthodes

TABLEAU 1		Etiologies des diarrhées aiguës chez le voyageur	
Etiologie			Prévalence
Bactéries	<i>Enterotoxigenic Escherichia coli</i> (ETEC)		12-34%
	<i>Enteraggregative E. coli</i> (EAEC)		1-24%
	<i>Campylobacter jejuni</i>		8-32%
	<i>Salmonella</i> spp.		4-9%
	<i>Shigella</i> spp.		2-14%
Virus	Norovirus		7-9%
	Rotavirus		13-17%
Parasites	<i>Giardia lamblia</i>		1-6%
	<i>Cryptosporidium</i> spp.		1-3%
	<i>Entamoeba histolytica</i>		1-4%

(Adapté de réf.³).

^a Centre de vaccination et médecine des voyages, Policlinique médicale universitaire, ^b Laboratoire de microbiologie, ^c Service des maladies infectieuses, Département de médecine, CHUV, 1011 Lausanne, ^d Institut suisse de médecine tropicale et de santé publique, Socinstrasse 57, 4002 Basel
Laurence.Rochat@hospvd.ch | Antony.Croxatto@chuv.ch
Serge.De-Valliere@hospvd.ch | Valerie.D'Acremont@hospvd.ch
Blaise.Genton@chuv.ch

*Ces deux auteurs ont contribué de manière égale à la rédaction du manuscrit.

TABLEAU 2

Etiologies des diarrhées persistantes chez le voyageur

Etiologie		Prévalence
Parasites	<i>Giardia lamblia</i>	16%
	<i>Blastocystis hominis</i>	10%
	<i>Cyclospora cayetanensis</i>	3,5%
Bactéries	<i>Campylobacter jejuni</i>	6%
	<i>Shigella</i> spp.	3,5%

(Adapté de réf. 4).

moléculaires rapides commerciales sont proposées sous forme de cibles restreintes, comme par exemple les tests détectant le norovirus ou les toxines A/B du *Clostridium difficile*, ou de panels élargis comprenant de multiples cibles syndromiques comme les panels détectant un certain nombre de microorganismes responsables de diarrhées.⁵⁻⁷ Ces panels peuvent être proposés en un seul bloc ou en plusieurs panels pouvant être utilisés selon la clinique du patient. Par exemple, les systèmes du Filmarray (Biofire) et xTAG GPP (Luminex)⁸⁻¹¹ proposent un seul bloc comprenant respectivement 22 et 15 cibles incluant des bactéries, parasites et virus à l'origine de diarrhées (tableau 3). A l'opposé, le système BDmax (Becton Dickinson) propose plusieurs panels différents qui peuvent théoriquement être utilisés sélectivement selon la clinique du patient et/ou la valeur pré-test.¹²⁻¹⁵ Ainsi, le système BDmax propose un panel bactérien comprenant les bactéries les plus fréquemment associées avec des diarrhées (*Campylobacter* spp., *Salmonella* spp., *Shigella* spp., shiga toxines (STEC/*S. dysenteriae*)), un panel bactérien élargi qui comprend des bactéries non endémiques en Europe et/ou moins fréquemment associées avec des infections digestives (*Vibrio* spp., *Yersinia enterocolitica*, *Plesiomonas shigelloides*), un panel de parasites protozoaires entériques (*Entamoeba histolytica*, *Giardia lamblia* et *Cryptosporidium* spp.) et un panel viral (adénovirus, rotavirus, norovirus, astrovirus et sapovirus). Ces systèmes diffèrent par leur nombre de cibles et leur conception mais également par leur sensibilité, leur spécificité, leur débit (nombre de tests effectués simultanément), le temps de rendu des résultats et leur facilité d'utilisation (tableau 3). Par rapport aux approches conventionnelles du diagnostic des diarrhées que sont la culture bactérienne ou la microscopie et les tests antigéniques pour la recherche de parasites, ces méthodes moléculaires confèrent en général une sensibilité et une spécificité microbiologiques plus grandes tout en permettant de rendre un résultat plus rapidement. Les tests avec les meilleures performances présentent des sensibilités > 93% et spécificité > 97% pour la plupart des cibles incluses dans les panels (tableau 3), à l'exception de *Aeromonas* spp. (23,8%) par Filmarray, *Yersinia enterocolitica* (48,1%) par Luminex, *Salmonella* spp. (60%) et *C. difficile* toxine B (40%) avec le système de Seegene.^{9,16} Par exemple, en se basant sur deux études multicentriques effectuées avec le système BDmax,^{13,14} on peut démontrer que la sensibilité des panels entériques bactériens et protozoaires permet d'obtenir des valeurs prédictives négatives (VPN) > 99% pour une population présentant une prévalence < 7% pour les bactéries et < 10% pour les parasites (tableau 4). La sensibilité accrue et l'excellente VPN conférées par ces plateformes pour la plupart des microorganismes inclus dans les panels permettent de réduire le nombre de tests nécessaires pour atteindre une valeur prédictive négative proche de 100%.

TABLEAU 3

Exemples de cibles et paramètres de plateformes d'analyse moléculaire multiplex rapide

¹ *Campylobacter jejuni*/*Campylobacter coli*; ² *Vibrio vulnificus*/*Vibrio parahaemolyticus*/*Vibrio cholerae*; ³ *Cryptosporidium parvum*/*Cryptosporidium hominis*; ⁴ BDmax: Valeurs de sensibilité et spécificité seulement pour les panels bactériens (*Campylobacter* spp., *Salmonella* spp., EIEC/*Shigella* spp. et sxt1/sxt2) et parasites; EAEC: *E. coli* entéroaggrégatif; EPEC: *E. coli* entéropathogénique; ETEC: *E. coli* entérotoxigénique; STEC: *E. coli* producteur de shiga toxines (stx1/stx2); EHEC: *E. coli* entérohémorragique.

Cibles	BDmax ^{26,27}	FilmArray GI (Biofire) ²⁸	xTAG GPP (Luminex) ²⁸	Seeplex Diarrhea ACE detection (Seegene) ^{29,31}
Bactéries				
<i>Campylobacter</i> spp. ¹	x	x	x	x
<i>Salmonella</i> spp.	x	x	x	x
EIEC/ <i>Shigella</i> spp.	x	x	x	x
STEC/EHEC (stx1/stx2)	x	x	x	x
<i>E. coli</i> 0157		x	x	x
ETEC	x	x	x	
EAEC		x		
EPEC		x		
<i>Aeromonas</i> spp.		x		x
<i>Plesiomonas shigelloides</i>	x	x		
<i>Yersinia enterocolitica</i>	x	x	x	x
<i>Vibrio</i> spp. ²	x	x	x	x
<i>Clostridium difficile</i> (toxin A/B)	x (toxine B)	x	x	x (toxine B)
Parasites				
<i>Cryptosporidium</i> spp. ³	x	x	x	
<i>Entamoeba histolytica</i>	x	x	x	
<i>Giardia lamblia</i>	x	x	x	
<i>Cyclospora cayetanensis</i>		x		
Virus				
Adénovirus 40/41	x	x	x	x
Norovirus GI/GII	x	x	x	x
Rotavirus A	x	x	x	x
Sapovirus	x	x		
Astrovirus	x	x		x
Paramètres				
Nombres de cibles	18	22	15	13
Temps de rendu des résultats	~2-3 h	~1 h	~5 h	~10 h
Sensibilité	93,1-100% ⁴	24-100%	48-100%	40-100%
Spécificité	99-100% ⁴	96-100%	85-100%	96-100%

Ainsi, une recherche de protozoaires entériques par méthode moléculaire rapide ne nécessite probablement plus qu'une selle, alors que l'approche conventionnelle par microscopie nécessite, selon les recommandations, trois selles pour obtenir

TABLEAU 4

Performances du système BDmax employé au CHUV

VPP: valeur prédictive positive; VPN: valeur prédictive négative; N: nombre d'échantillons testés; Sx 1/Sx 2: *E. coli* producteur de shiga toxines + *Shigella dysenteriae*.

Cibles	Sensibilité (%)	Spécificité (%)	VPP (%)	VPN (%)	Prévalence (%)	N
<i>Campylobacter</i> spp.	97,5	99,0	86,3	99,8	6,2	3401
<i>Salmonella</i> spp.	97,3	99,8	96,5	99,8	6,8	3540
<i>Shigella</i> spp.	99,2	100,0	99,2	100,0	3,7	3466
Sxt 1/Sxt 2	100,0	99,7	91,4	100,0	3,5	2530
<i>Giardia lamblia</i>	98,2	99,5	94,3	99,8	9,0	2029
<i>Cryptosporidium</i> spp.	95,5	99,6	95,5	99,6	9,7	2022
<i>Entamoeba histolytica</i>	100,0	100,0	100,0	100,0	0,7	1660

TABLEAU 5

Avantages et inconvénients
possibles des tests moléculaires
rapides

PROS	CONS
Meilleure sensibilité	Détection de germes spécifiques (cibles prédéfinies → on ne trouve que ce que l'on cherche)
Meilleure spécificité microbiologique (p. ex: <i>E. histolytica</i> versus <i>dispar</i>)	Pas d'information sur la viabilité (détection d'ADN/ARN)
1 seul échantillon nécessaire (bactéries et protozoaires entériques)	Pas d'antibiogramme (culture bactérienne requise sur un échantillon positif par PCR)
Rapide (1-3 heures)	Bénéfice clinique restant à démontrer
Manipulations au laboratoire simplifiées	Risque de contamination si les précautions analytiques liées aux méthodes moléculaires ne sont pas respectées → Faux positifs
Détection simultanée d'un grand nombre de germes (panel élargi permettant de mettre en évidence des germes inattendus)	Détection simultanée d'un grand nombre de germes (impossibilité de sélectionner les germes ayant une probabilité pré-test suffisante, résultat qualitatif empêchant de potentiellement distinguer un portage d'une vraie infection → lien de causalité pas clair)

une sensibilité et une VPN hautes.^{17,18} Les tests moléculaires permettent également une identification spécifique de *E. histolytica* et donc de différencier *E. histolytica* (pathogène) de *E. dispar* (non pathogène), ce qui n'est pas possible ou extrêmement difficile avec des méthodes conventionnelles de microscopie et de tests rapides immunochromatographiques. De plus, la sensibilité des méthodes moléculaires à partir d'échantillons natifs ou fixés est similaire, permettant une plus grande souplesse sur le temps d'acheminement des échantillons au laboratoire. La performance des tests moléculaires rapides est associée à une diminution significative du temps de rendu des résultats pour le diagnostic des diarrhées bactériennes. En effet, selon les bactéries recherchées, une analyse de coproculture bactérienne demande en général de 24 à 72 h avant finalisation du résultat (positif ou négatif), alors qu'une approche de test rapide moléculaire peut être validée en 1 à 3 h pour les systèmes les plus rapides (tableau 3).¹⁵

Les méthodes moléculaires présentent aussi certains inconvénients (tableau 5), notamment: 1) la capacité de ne détecter que ce qui est inclus dans un panel (par exemple, absence de *Cyclospora*, *Isospora* et *Dientamoeba fragilis* dans les panels

parasites entériques), 2) un résultat uniquement qualitatif ne permettant pas de distinguer une réelle infection d'un simple portage, 3) une détection d'ADN sans notion de viabilité, et 4) une culture bactérienne toujours nécessaire pour tester la susceptibilité aux antibiotiques en cas de positivité. De plus, les tests moléculaires rapides pour le diagnostic des diarrhées requièrent des précautions analytiques similaires aux méthodes conventionnelles de PCR pour éviter tout risque de contamination pouvant générer des faux positifs. Finalement, il est essentiel que les résultats des méthodes moléculaires soient interprétés dans le contexte clinique, car l'excellente sensibilité permet de détecter de nombreux agents pathogènes, mais également des microorganismes qui ne sont pas la cause de la diarrhée. En effet, un test positif peut être seulement le reflet d'un portage dont le traitement est inutile.

Une étude finlandaise s'est intéressée à la détection d'entéropathogènes par PCR chez des voyageurs asymptomatiques, des voyageurs récemment traités pour une diarrhée aiguë et des voyageurs toujours symptomatiques au moment du prélèvement des selles. Des bactéries potentiellement pathogènes ont été détectées chez 61% des voyageurs asymptomatiques et 83% des voyageurs avec une diarrhée récente ou en cours. Si la présence d'ETEC (*E. coli* entérotoxigénique) était plus fréquente parmi les patients symptomatiques, la détection de *Campylobacter jejuni* se retrouvait chez un même pourcentage de patients récemment traités ou toujours symptomatiques alors que des *Salmonella* spp. étaient retrouvées en proportions égales chez tous les voyageurs.¹⁹ Par conséquent, l'évaluation du rôle des pathogènes détectés par les méthodes moléculaires dans l'étiologie de la diarrhée du voyageur est extrêmement complexe, d'autant plus lorsque plusieurs entéropathogènes sont mis en évidence sans notion quantitative. Le bénéfice clinique des tests moléculaires sur les examens conventionnels reste donc à démontrer par le biais d'études contrôlées. Le séquençage génomique pour l'identification des souches de virulence élevée,²⁰ la détection d'ARN messager comme mesure de la viabilité du pathogène, des méthodes moléculaires quantitatives,²¹ des analyses plus sensibles pour la détection des toxines produites par certains entéropathogènes²² ou l'identification concomitante de marqueurs inflammatoires fécaux²³ ou sanguins sont autant de pistes pour augmenter la valeur diagnostique des tests moléculaires rapides actuels qui permettront ainsi d'apporter de nouveaux éléments à la compréhension des étiologies de la diarrhée du voyageur. En attendant, l'interprétation de résultats positifs doit donc être faite avec précaution, pour

éviter une surprescription d'antibiotiques qui ne ferait qu'inquiéter elle-même des diarrhées et surtout des résistances.

En pratique, les méthodes moléculaires sont de plus en plus répandues en Suisse comme outils de diagnostic de première ligne; concomitamment, elles commencent à être intégrées dans les algorithmes décisionnels pour la prise en charge des diarrhées au retour de voyage.²⁴ Les exemples suivants présentent des situations dans lesquelles les méthodes moléculaires pourraient être utilisées pour l'investigation de la diarrhée du voyageur.

A titre indicatif, le prix d'une coproculture est de CHF 78.- en cas de négativité et de CHF 155.- en cas de résultat positif, celui d'un examen microscopique couplé à une recherche d'antigène de CHF 111.- et celui d'une PCR de CHF 180.- (selon les tarifs en vigueur au CHUV). La PCR devient financièrement plus avantageuse lorsqu'un deuxième ou troisième examen microscopique est nécessaire (tableau 6).

EXEMPLES D'UTILISATION CLINIQUE

Vignette clinique 1

Un voyageur de 18 ans, en bonne santé habituelle, est rentré il y a cinq jours d'un voyage de trois mois en Asie du Sud-Est. Il se plaint de diarrhées non sanglantes et de douleurs abdominales diffuses depuis sept jours. A l'examen clinique, il a une température de 38,2 °C. Que faire?

La durée des symptômes et l'état clinique font suspecter une étiologie bactérienne,³ responsable d'une diarrhée possiblement invasive ou d'une fièvre typhoïde. Une antibiothérapie empirique par ciprofloxacine 500 mg 2 x/jour pendant 3 jours (Afrique, Amérique du Sud) ou azithromycine 1000 mg en dose unique (Asie) doit être instaurée. Une recherche du pathogène incriminé est recommandée en vue de modifier le traitement antibiotique si nécessaire vu les résistances de plus en plus fréquentes des entéropathogènes aux quinolones mais aussi aux macrolides.²⁵ Soit une coproculture traditionnelle, soit une PCR multiplex (panel bactérien) peuvent être demandées en plus d'autres examens complémentaires tels que formule sanguine, hémocultures, sérologie VIH et recherche de malaria, selon le lieu de séjour. Même si une PCR multiplex est demandée, une coproculture est nécessaire pour pouvoir faire un antibiogramme en cas de positivité de la PCR.

En présence de selles sanglantes, un examen microscopique à la recherche de protozoaires doit être fait en plus de la coproculture. Une alternative est de demander une PCR (panels bactéries et protozoaires), ce qui devrait permettre de distinguer d'emblée une diarrhée bactérienne d'une amibiase par exemple.

Au cas où les diarrhées aiguës (< 7 jours) ne sont pas associées à des critères de sévérité (> 6 selles/jour, douleurs abdominales sévères, état fébrile et selles sanglantes ou avec mucus), des mesures symptomatiques

TABLEAU 6

Prix en fonction du nombre d'échantillons investigués à la recherche de protozoaires

Comparaison entre méthodes traditionnelles et système BDmax employé au CHUV.

Tests	1 selle	2 selles	3 selles
Protozoaires microscopie	45	90	135
<i>Entamoeba</i> antigène	33	66	99
<i>Giardia</i> antigène	33	66	99
Total	111	222	333
Protozoaires BDmax (1 selle)	180	180	180
Total	180	180	180
Gain	- 69	42	153

sont suffisantes puisque la plupart des patients auront une évolution rapidement favorable.

Vignette clinique 2

Une voyageuse de 48 ans, en bonne santé habituelle, est rentrée il y a une semaine d'un voyage de trois mois en Amérique du Sud. Elle se plaint de quelques épisodes de diarrhée et de ballonnements depuis 3 semaines. A l'examen clinique, elle est afebrile. Que faire?

La durée des symptômes et l'état clinique font suspecter une origine parasitaire telle que des protozoaires.⁴ Ceux-ci peuvent être recherchés par microscopie conventionnelle dans trois échantillons de selles prélevés à 24 heures d'intervalle et acheminés au laboratoire dans un milieu de transport SAF, ou alors par PCR (panel protozoaires) sur un seul échantillon acheminé au laboratoire dans un milieu de transport SAF ou sous la forme de selles natives. En cas de résultat négatif, une PCR bactérienne peut alors être faite. Le traitement sera ciblé sur le pathogène détecté.

Vignette clinique 3

Une voyageuse de 70 ans, rentrée il y a deux mois d'un voyage de huit semaines en Afrique de l'Est, se plaint de diarrhées intermittentes sans autres symptômes. Elle a déjà été investiguée à 3 reprises par des tests conventionnels (coproculture, examens microscopiques et détection d'antigènes) toujours négatifs. Que faire?

Dans ce cas régulièrement rencontré en pratique, la PCR, du fait de sa meilleure sensibilité, permet parfois d'identifier des entéropathogènes non détectés par les méthodes traditionnelles. Cette constellation clinique et les résultats de laboratoire négatifs représentent une excellente indication pour la PCR multiplex et apporte un réel avantage car elle est plus sensible. L'administration empirique d'ornidazole reste néanmoins une attitude parfaitement appropriée. En cas de persistance des diarrhées sans pa-

rasites, ni bactéries démontrables, une étiologie non infectieuse doit être envisagée.

CONCLUSION

Les méthodes moléculaires rapides pourraient remplacer la coproculture, la microscopie et la recherche d'antigènes spécifiques à certains protozoaires comme outil de dépistage. En effet, la meilleure sensibilité, la diminution du temps de rendu des résultats, ainsi que le spectre élargi pour certains protozoaires qui ne sont pas détectés par les examens parasitologiques de routine (par exemple *Cryptosporidium* spp.) sont des avantages pratiques indéniables lors de la prise en charge de diarrhées au retour de voyage.

A l'heure actuelle cependant, il n'est pas possible de développer des recommandations fondées sur les preuves puisqu'il n'existe pas d'étude qui compare une prise en charge avec PCR multiplex ou tests conventionnels. Les avantages d'une méthode sur l'autre en termes de bénéfice sur la mesure de résultat clinique et sur les coûts n'ont pas été évalués rigoureusement dans le contexte de la diarrhée du voyageur et ne peuvent donc pas servir de base pour le développement de recommandations appropriées. Dans l'attente de résultats d'études prospectives qui comparent les différentes méthodes

en termes d'utilité clinique (durée des symptômes, etc.) et de coûts, il faudra se résoudre à une attitude pragmatique.

Conflit d'intérêts: Les auteurs n'ont déclaré aucun conflit d'intérêt en relation avec cet article.

IMPLICATIONS PRATIQUES

- Une diarrhée aiguë (< 7 jours) sans fièvre, ni sang dans les selles ne nécessite ni diagnostic étiologique documenté, ni traitement antibiotique
- Les méthodes moléculaires permettent de détecter des entéropathogènes avec plus de sensibilité, plus de rapidité et dans des conditions de stockage et de transport plus pratiques que les tests conventionnels
- La détermination du lien de causalité entre le (les) entéropathogène(s) détecté(s) par PCR et les symptômes cliniques est complexe et peut entraîner l'administration de traitements antimicrobiens inutiles, induisant des effets secondaires et le développement de résistances
- Il n'existe pas actuellement d'études qui permettent de développer des recommandations fondées sur les preuves pour l'utilisation de la PCR multiplex dans la prise en charge de la diarrhée des voyageurs

- 1 Steffen R, Hill DR, DuPont HL. Traveler's diarrhea: A clinical review. *JAMA* 2015;313:71-80.
- 2 Greenwood Z, Black J, Weld L, et al. Gastrointestinal infection among international travelers globally. *J Travel Med* 2008;15:221-8.
- 3 Barrett J, Brown M. Travellers' diarrhoea. *BMJ* (Clinical research ed). 2016;353:i1937.
- 4 DuPont HL. Persistent diarrhea: A clinical review. *JAMA* 2016;315:2712-23.
- 5 Binnicker MJ. Multiplex molecular panels for diagnosis of gastrointestinal infection: Performance, result interpretation, and cost-effectiveness. *J Clin Microbiol* 2015;53:3723-8.
- 6 Bloomfield MG, Balm MN, Blackmore TK. Molecular testing for viral and bacterial enteric pathogens: Gold standard for viruses, but don't let culture go just yet? *Pathology* 2015;47:227-33.
- 7 Cherkaoui A, Emonet S, Renzi G, Schrenzel J. Diagnostic de la gastroentérite bactérienne. *Rev Med Suisse* 2015;11:856-61.
- 8 Buss SN, Leber A, Chapin K, et al. Multicenter evaluation of the BioFire FilmArray gastrointestinal panel for etiologic diagnosis of infectious gastroenteritis. *J Clin Microbiol* 2015;53:915-25.
- 9 Khare R, Espy MJ, Cebelsinski E, et al. Comparative evaluation of two commercial multiplex panels for detection of gastrointestinal pathogens by use of clinical stool specimens. *J Clin Microbiol* 2014;52:3667-73.
- 10 Mengelle C, Mansuy JM, Prere MF, et al. Simultaneous detection of gastrointestinal pathogens with a multiplex Luminex-based molecular assay in stool samples from diarrhoeic patients. *Clin Microbiol Infect* 2013;19:E458-65.
- 11 Spina A, Kerr KG, Cormican M, et al. Spectrum of enteropathogens detected by the FilmArray GI Panel in a multicentre study of community-acquired gastroenteritis. *Clin Microbiol Infect* 2015;21:719-28.
- 12 Anderson NW, Buchan BW, Ledebore NA. Comparison of the BD MAX enteric bacterial panel to routine culture methods for detection of *Campylobacter*, *enterohemorrhagic Escherichia coli* (O157), *Salmonella*, and *Shigella* isolates in preserved stool specimens. *J Clin Microbiol* 2014;52:1222-4.
- 13 Harrington SM, Buchan BW, Doern C, et al. Multicenter evaluation of the BD max enteric bacterial panel PCR assay for rapid detection of *Salmonella* spp., *Shigella* spp., *Campylobacter* spp. (*C. jejuni* and *C. coli*), and *Shiga toxin 1* and *2* genes. *J Clin Microbiol* 2015;53:1639-47.
- 14 Madison-Antenucci S, Relich RF, Doyle L, et al. Multicenter evaluation of BD Max enteric parasite real-time PCR assay for detection of *Giardia duodenalis*, *Cryptosporidium hominis*, *Cryptosporidium parvum*, and *Entamoeba histolytica*. *J Clin Microbiol* 2016;54:2681-8.
- 15 Mortensen JE, Ventrola C, Hanna S, Walter A. Comparison of time-motion analysis of conventional stool culture and the BD MAX Enteric Bacterial Panel (EBP). *BMC Clin Pathol* 2015;15:9.
- 16 Onori M, Coltella L, Mancinelli L, et al. Evaluation of a multiplex PCR assay for simultaneous detection of bacterial and viral enteropathogens in stool samples of paediatric patients. *Diagn Microbiol Infect Dis* 2014;79:149-54.
- 17 Branda JA, Lin TY, Rosenberg ES, Halpern EF, Ferraro MJ. A rational approach to the stool ova and parasite examination. *Clin Infect Dis* 2006;42:972-8.
- 18 Murray PR, Rosenthal KS, Pfaller MA. *Medical microbiology*. 8 ed. Amsterdam: Elsevier, 2016.
- 19 Laaveri T, Antikainen J, Pakkanen SH, Kirveskari J, Kantele A. Prospective study of pathogens in asymptomatic travellers and those with diarrhoea: Aetiological agents revisited. *Clin Microbiol Infect* 2016;22:535-41.
- 20 Forgetta V, Oughton MT, Marquis P, et al. Fourteen-genome comparison identifies DNA markers for severe-disease-associated strains of *Clostridium difficile*. *J Clin Microbiol* 2011;49:2230-8.
- 21 Matsuda K, Tsuji H, Asahara T, et al. Sensitive quantification of *Clostridium difficile* cells by reverse transcription-quantitative PCR targeting rRNA molecules. *Appl Environ Microbiol* 2012;78:5111-8.
- 22 Darkoh C, Kaplan HB, Dupont HL. Harnessing the glucosyltransferase activities of *Clostridium difficile* for functional studies of toxins A and B. *J Clin Microbiol* 2011;49:2933-41.
- 23 Wohlwend N, Tiemann S, Risch L, Risch M, Bodmer T. Evaluation of a Multiplex Real-Time PCR assay for detecting major bacterial enteric pathogens in fecal specimens: Intestinal inflammation and bacterial load are correlated in *Campylobacter* infections. *J Clin Microbiol* 2016;54:2262-6.
- 24 van Lieshout L, Roestenberg M. Clinical consequences of new diagnostic tools for intestinal parasites. *Clin Microbiol Infect* 2015;21:520-8.
- 25 Ouyang-Latimer J, Jafri S, VanTassel A, et al. In vitro antimicrobial susceptibility of bacterial enteropathogens isolated from international travelers to Mexico, Guatemala, and India from 2006 to 2008. *Antimicrob Agents Chemother* 2011;55:874-8.
- 26 Harrington SM, Buchan BW, Doern C, et al. Multicenter evaluation of the bd max enteric bacterial panel pcr assay for rapid detection of *salmonella* spp., *shigella* spp., *campylobacter* spp. (*C. jejuni* and *C. coli*), and *shiga toxin 1* and *2* genes. *J Clin Microbiol* 2015;53:1639-47.
- 27 Madison-Antenucci S, Relich RF, Doyle L, et al. Multicenter evaluation of bd max enteric parasite real-time pcr assay for detection of *giardia duodenalis*, *cryptosporidium hominis*, *cryptosporidium parvum*, and *entamoeba histolytica*. *J Clin Microbiol* 2016;54:2681-8.
- 28 Khare R, Espy MJ, Cebelsinski E, et al. Comparative evaluation of two commercial multiplex panels for detection of gastrointestinal pathogens by use of clinical stool specimens. *J Clin Microbiol* 2014;52:3667-73.
- 29 Coupland LJ, McElarney I, Meader E, et al. Simultaneous detection of viral and bacterial enteric pathogens using the seeplex(r) diarrhea ace detection system. *Epidemiol Infect* 2013;141:2111-21.
- 30 Higgins RR, Beniprashad M, Cardona M, et al. Evaluation and verification of the seeplex diarrhea-v ace assay for simultaneous detection of adenovirus, rotavirus, and norovirus genogroups i and ii in clinical stool specimens. *J Clin Microbiol* 2011;49:3154-62.
- 31 Onori M, Coltella L, Mancinelli L, et al. Evaluation of a multiplex pcr assay for simultaneous detection of bacterial and viral enteropathogens in stool samples of paediatric patients. *Diagn Microbiol Infect Dis* 2014;79:149-54.

* à lire
** à lire absolutement