

Actualité biologique

Évaluation de sept réactifs d'immunochromatographie pour détecter les rotavirus humains dans les selles

Evaluation of seven immunochromatographic assays for the rapid detection of human rotaviruses in fecal specimens

F. Bon^a, J. Kaplon^a, M.-H. Metzger^b, P. Pothier^{a,*}

^a Laboratoire de virologie et CNR des virus entériques, CHU de Dijon médecine, 1, boulevard de Lattre-de-Tassigny, 21079 Dijon, France

^b Sanofi–Pasteur, MSD, Lyon, France

Reçu le 3 juin 2006 ; accepté le 28 juillet 2006

Disponible sur internet le 16 octobre 2006

Résumé

Sept troussees commerciales pour la détection rapide par immunochromatographie des rotavirus du groupe A dans les prélèvements de selles ont été comparées à une technique Elisa (Argene) servant de référence. Ces tests ont été évalués sur 80 selles conservées congelées et contrôlées positives par Elisa pour le rotavirus avant et après décongélation. La sensibilité est supérieure à 90 % pour trois troussees commerciales Rota Strip (Cypress Diagnostics), 98,8 % ; Rotascreen (Microgen), 95,0 % ; VIKIA Rota/Adeno (bioMérieux), 92,5 % ; s'étend de 82,5 à 88,8 % pour les troussees Diarlex avec centrifugation (Orion Diagnostica), 88,8 % ; Combo Rota/Adeno (All Diag), 87,5 % ; Rota/Adeno Combi Stick (bmd), 82,5 %. En revanche la trousse Diarlex avec système de filtration (Orion Diagnostica) a une sensibilité de 70,0 %, plus faible que l'agglutination latex. L'évaluation de la spécificité sur 100 selles fraîchement prélevées et contrôlées négatives ne montre aucune réaction faussement positive avec l'une ou l'autre de ces troussees. L'analyse de la praticabilité de ces réactifs montre que certains peuvent être simples et rapides, parfaitement adaptés à une utilisation en laboratoire de routine sans nécessiter un équipement coûteux.

© 2006 Elsevier Masson SAS. Tous droits réservés.

Abstract

Seven commercially available immunochromatographic assays were tested for the rapid detection of group A rotaviruses in fecal samples compared to a enzyme immunoassay (Argene). Detection of rotaviruses in 80 ELISA positive frozen stool samples showed rates superior to 90% for three reagents (Rota Strip (Cypress Diagnostics), 98.8%; Rotascreen (Microgen), 95.0%; VIKIA Rota/Adeno (bioMérieux), 92.5%); from 82.5% to 88.8% for three others (Diarlex with centrifugation (Orion Diagnostica), 88.8%; Combo Rota/Adeno (All Diag), 87.5%; Rota/Adeno Combi Stick (bmd), 82.5%) and only 70.0% for Diarlex with filtration vial (Orion Diagnostica). The evaluation of the specificity, performed on one hundred fresh rotavirus negative stools, did not show any false positives with any assay. Analysis of the different technical features of these tests showed that they are quick and suitable for a clinical laboratory and do not require expensive equipment.

© 2006 Elsevier Masson SAS. Tous droits réservés.

Mots clés : Virus ; Rotavirus ; Gastroenteritis ; Diagnostic ; Test immunochromatographique ; Tests rapides

Keywords: Virus; Rotavirus; Gastroenteritis; Diagnostic; Immunochromatographic assays; Home tests

* Auteur correspondant.

Adresse e-mail : Pierre.Pothier@u-bourgogne.fr (P. Pothier).

1. Introduction

Les rotavirus du groupe A sont les principaux agents pathogènes à l'origine d'un nombre important de diarrhées infantiles à travers le monde [1,2]. Dans les pays développés ils sont responsables d'épidémies hivernales touchant principalement les enfants de moins de trois ans. La prise en charge thérapeutique rapide et adaptée a considérablement réduit la mortalité mais l'impact économique reste important. En France, ils sont responsables annuellement d'environ 140 000 consultations et 18 000 hospitalisations. Le diagnostic virologique rapide fait partie des procédures mises en place en milieu hospitalier pour mieux identifier les enfants infectés et limiter la diffusion des infections nosocomiales. Les méthodes Elisa, d'agglutination latex et plus récemment d'immunochromatographie (ICG) ont été utilisées en routine dans les laboratoires. Les réactifs d'immunochromatographie se révèlent être sensibles, spécifiques et d'utilisation simples pour être utilisés en routine voire même au lit du patient [3,4].

Le but de ce travail a été l'évaluation de la sensibilité et de la spécificité d'un test d'agglutination latex et de sept tests d'immunochromatographie pour la détection rapide des rotavirus dans les selles humaines par comparaison à une technique Elisa précédemment décrite [5,6], validée dans notre laboratoire et commercialisée par la société Argene. De plus, la simplicité d'utilisation de ces tests a été évaluée dans l'éventualité d'une utilisation au cabinet médical.

2. Matériels et méthodes

2.1. Les troussees commerciales évaluées

Les performances de huit troussees commerciales permettant de détecter les rotavirus (et pour certains les rotavirus et les adénovirus) ont été évaluées : un test d'agglutination latex (Slidex Rotakit, bioMérieux) et sept tests d'immunochromatographie (Combo Rota/Adeno Stick [All Diag (Strasbourg, France)], Diarlex[®]MB avec une étape de centrifugation ou Diarlex[®]MB/Entérofiltres avec une étape de filtration [Orion Diagnostica (Espoo, Finland)], Rota/Adeno Combi Stick [bmd (biomedical diagnostics, France)], Rotascreen[®] Dipstick [Microgen, UK], ROTA Strip quick Test [Cypress Diagnostic, Belgium], VIKIA Rota-Adeno [bioMérieux, France]).

Les tests ont été réalisés selon les indications des fabricants (procédures schématisées dans le Tableau 1). Brièvement, pour

les tests par immunochromatographie, quelques gouttes de la suspension sont déposées sur la membrane du puits échantillon du dispositif. Pour le réactif Diarlex[®]MB, deux procédures ont précédé ce dépôt :

- une centrifugation de dix minutes à 1000 g environ de la suspension de selle ;
- ou bien une préparation dans un flacon spécifique (« Entéro-filtre ») et dépôt par filtration sur la membrane.

L'échantillon migre par capillarité le long de la membrane, des bandes colorées apparaissent au niveau du contrôle et en cas de positivité au niveau des anticorps spécifiques. Le test d'agglutination latex met en présence des microbilles recouvertes d'anticorps et la suspension de selles. Le résultat est à comparer à la réaction témoin avec des billes non sensibilisées dont l'agglutination mettrait en évidence des interférences entraînant une impossibilité d'interprétation.

2.2. Les tests de référence

2.2.1. Elisa

Le test Elisa est réalisé sur microplaque et il permet la détection des rotavirus du groupe A en 1 heure 30 minutes. Cette technique avait été validée [5,6] dans notre laboratoire, elle est actuellement commercialisée par la société Argene.

2.2.2. RT-PCR

Après extraction des acides nucléiques d'une suspension de selles, la détection du génome et la détermination du génotype des rotavirus de groupe A ont été effectuées par RT-PCR suivies d'une « nested PCR » amplifiant une séquence des gènes 9 [7–9] et 4 [10].

2.3. Sélection des échantillons pour l'étude de la sensibilité

Les échantillons provenaient de patients diarrhéiques prélevés lors de deux études en France [11,12] et avaient été considérés comme positifs par Elisa et RT-PCR. Des aliquotes de 97 échantillons de selles ont été conservées congelés à –40 °C puis décongelés de façon identique afin qu'ils puissent être analysés dans les mêmes conditions quels que soit les méthodes ou réactifs. Outre les réactifs en évaluation, ces échantillons décongelés ont été analysés de nouveau par Elisa afin d'estimer l'effet des étapes de congélation–décongélation sur

Tableau 1

Résumé des principales caractéristiques et de la praticabilité des sept troussees commerciales d'immunochromatographie et du test d'agglutination latex

	Matériel nécessaire	Facilité de la lecture	Virus détectés
Combo Rota/Adeno All Diag	T–P	+	Rotavirus et adénovirus
Diarlex [®] MB avec centrifugation Orion Diagnostica	V–T–P Centrifugeuse	++	Rotavirus et adénovirus
Diarlex [®] MB avec système de filtration Orion Diagnostica	Aucun	+ ^a	Rotavirus et adénovirus
Rota/Adeno Combi Stick–bmd	V	+	Rotavirus et adénovirus
Rotascreen [®] –Microgen	V–T	++	Rotavirus
ROTA Strip–Cypress Diagnostics	V–T–P	++	Rotavirus
VIKIA Rota-Adeno–bioMérieux	Aucun	+++	Rotavirus et adénovirus
Slidex Rota/Adeno–bioMérieux (Latex)	V–T–P Centrifugeuse	++	Rotavirus et adénovirus

T : tube pour analyse. V : flacon pour dilution. P : pipettes et embouts.

^a 20 % de résultats indéterminés.

Download English Version:

<https://daneshyari.com/en/article/4136784>

Download Persian Version:

<https://daneshyari.com/article/4136784>

[Daneshyari.com](https://daneshyari.com)