

Article original

Intérêt du dépistage combiné de l'antigène de capsid et des anticorps du virus de l'hépatite C dans la réduction de la fenêtre sérologique

Use of combined detection of hepatitis C virus core antigen and antibodies to reduce the serological window-phase

F. Hmaïed *, M. Ben Mamou, Z. Arrouji, A. Slim, S. Ben Redjeb

Laboratoire de microbiologie, hôpital Charles-Nicolle, 1006 Tunis, Tunisie

Reçu le 29 août 2005 ; accepté le 24 février 2006

Disponible sur internet le 02 mai 2006

Résumé

Buts de l'étude. – Nous nous proposons dans cette étude d'évaluer l'intérêt d'utilisation d'un test de dépistage combiné des anticorps anti-VHC et de l'antigène de capsid, et de le comparer avec les tests Elisa classiques de troisième génération.

Matériel et méthodes. – Deux cent quarante et un sérums ont été testés avec le kit Monolisa HCV Ag–Ab ULTRA, Biorad, et comparés avec Monolisa anti-HCV Plus. Une étude comparative (Monolisa anti-HCV Plus, Biorad ; Innostest HCV Ab IV, Innogenetics et Murex anti-HCV, Abbott) a été menée sur un panel de séroconversion. Un test de confirmation western blot (INNO-LIA HCV Ab III, Innogenetics) a été utilisé afin d'objectiver les faux positifs. La recherche de l'ARN viral du VHC (Amplicor v2.0, Roche) a été réalisée pour deux hémodialysés ayant une sérologie négative et une élévation d'ALAT.

Résultats. – Une parfaite concordance des résultats obtenus par le kit Biorad Ag–Ac avec les trois tests Elisa de troisième génération sur le panel de séroconversion. Parmi les sérums séronégatifs pour le VHC, quatre sérums ont été retrouvés positifs faibles en Ag–Ac. Deux patients hémodialysés ayant une sérologie VHC négative et une PCR positive étaient négatifs en Ag–Ac et 13 sérums positifs faibles en Biorad Ac ont été retrouvés négatifs en Ag–Ac.

Conclusion. – Le test VHC Ag–Ac est un excellent test de point de vue sensibilité et spécificité par rapport aux tests Elisa classiques mais dans notre étude, nous n'avons pas pu démontrer la réduction de la fenêtre sérologique pour les anticorps anti-VHC.

© 2006 Elsevier Masson SAS. Tous droits réservés.

Abstract

Objectives. – In this study, we aimed at evaluating the performances of a combined assay for the detection of hepatitis C virus core antigen and antibodies and comparing this test with conventional third generation Elisa.

Material and methods. – Two hundred forty-one samples were included in this study and tested by Monolisa HCV Ag–Ab ULTRA, Biorad and compared to Monolisa Anti-HCV Plus. A comparative study was performed on a HCV seroconversion panel (Monolisa anti-HCV Plus, Biorad; Innostest HCV Ab IV, Innogenetics and Murex anti-HCV, Abbott). False positive samples were detected with western blot assay (INNO-LIA HCV Ab III, Innogenetics). Two anti-HCV negative haemodialysis patients with rise in ALT have been tested for RNA detection (Amplicor v2.0, Roche).

Results. – Results obtained with Biorad Ag–Ab were in agreement with third generation ELISA on HCV seroconversion panel. From anti-HCV negative patients, four samples were found low positive with HCV Ag–Ab. Two anti-HCV negative haemodialysis patients/HCV RNA positive were also negative with HCV Ag–Ab and 13 low positive samples with Biorad Ab were found negative with Ag–Ab.

Conclusion. – The HCV Ag–Ab assay has a high specificity and sensitivity comparatively to conventional ELISA; but in our study we don't prove the reduction of the "serologic window" for detection of anti-HCV antibodies.

© 2006 Elsevier Masson SAS. Tous droits réservés.

* Auteur correspondant.

Adresse e-mail : fatma@planet.tn (F. Hmaïed).

Mots clés : VHC ; Antigène ; Capside ; Elisa ; Anticorps ; Tunisie

Keywords: HCV; Antigen; Core; Elisa; Antibodies; Tunisia

1. Introduction

Depuis la découverte du virus de l'hépatite C (VHC) en 1989, le dépistage des anticorps (Acs) anti-VHC fondé sur le test immunoenzymatique de type Elisa (*enzyme linked immunosorbent assay*) a été introduit en diagnostic. Trois versions consécutives de tests Elisa ont été mises au point contribuant à une amélioration progressive de la sensibilité de la technique [1,2]. Récemment, un test Elisa de quatrième génération a été développé par Innogenetics. La sensibilité de ce test est plus élevée utilisant des antigènes dérivés des génotypes VHC les plus prévalents : 1a, 1b, 2 et 3a.

Le diagnostic de l'hépatite C repose en première intention sur le dépistage sérologique. Cependant, des faux négatifs sont rencontrés, liés à un état d'immunodépression comme le cas des patients VIH positifs ou des hémodialysés qui peuvent être séronégatifs mais virémiques pendant la phase de primo-infection. Par ailleurs, les tests immunoblot constituaient auparavant des tests de confirmation, leur usage est très peu répandu actuellement. Ainsi, en cas de détection des anticorps anti-VHC, l'ARN viral est par la suite recherché par un test d'amplification génique qualitatif afin de confirmer une infection active à VHC [3–5].

Plusieurs essais ont tenté de développer un test pour détecter l'antigène de capsid du VHC et pouvant ainsi remplacer les techniques moléculaires qui permettent la détection virale même pendant la phase de silence sérologique. Le choix de cet antigène (Ag) est dû à sa séquence qui est hautement conservée d'une souche virale à l'autre [6]. La détection de l'antigène de la capsid du VHC fondée sur un test Elisa utilisant des anticorps monoclonaux spécifiques de la capsid a été décrite par Aoyagi et al. [7]. Après standardisation par *orthoclinical diagnostics*, un nouveau test qualitatif et quantitatif de l'antigène de capsid du VHC a été développé permettant le dépistage et le dosage de l'antigène libre ou associé à des anticorps [8].

Nous nous proposons dans cette étude d'évaluer les performances et l'intérêt d'un test de dépistage combiné de l'antigène de capsid et des anticorps du VHC : kit VHC Ag–Ac, Biorad sur deux paramètres : sensibilité et spécificité et de comparer ce kit avec des tests classiques fondés sur la technique Elisa de troisième génération.

2. Matériel et méthodes

2.1. Plan de l'étude

Entre 2003 et 2004, 241 sérums de patients provenant de différents services de médecine, gastroentérologie et de différents centres de dialyse tunisiens ont été inclus dans cette étude. Cent quatre-vingts échantillons (positifs, douteux et négatifs pour les anticorps anti-VHC) ont été testés par les kits

Biorad anti-VHC Ac et Biorad VHC Ag–Ac ; à partir de ces échantillons, ont été sélectionnés 50 sérums et comparés avec les tests Elisa classiques (kits Murex et Innogenetics). Puis une étude sur 50 sérums provenant des services de gastroentérologie et réanimation, ayant une sérologie négative pour le VHC (testés par Biorad Ac) et adressés pour suspicion d'hépatite aiguë a été réalisée afin de détecter une infection aiguë à VHC en les testant par le kit Biorad Ag–Ac. Enfin, une étude comparative de trois tests Elisa classiques (kits Biorad, Murex et Innogenetics) avec le kit Biorad VHC Ag–Ac a été menée sur un panel international de séroconversion VHC (BBI PHV 901) comportant 11 sérums.

2.2. Détection des anticorps anti-VHC

La détection des anticorps anti-VHC a été effectuée par la technique Elisa de troisième génération (kits: Monolisa anti-HCV Plus, Biorad version 2 ; Innostest HCV Ab IV, Innogenetics et Murex anti-HCV version 4.0, Abbott).

2.3. Recherche simultanée des anticorps anti-VHC et de l'antigène de capsid

Le dépistage combiné des anticorps anti-VHC et de l'antigène de capsid a été réalisé grâce au kit Monolisa HCV Ag–Ab Ultra, Biorad. Ce test est une combinaison d'un test Elisa indirect pour la détection des anticorps anti-VHC et d'un test sandwich pour la détection de l'antigène de la capsid du VHC. En effet, les puits de la microplaque sont revêtus par deux protéines recombinantes correspondant à la région NS3 de génotype 1 et 3a, une protéine recombinante correspondant à la région NS4, un peptide modifié correspondant à la région de la capsid et un anticorps monoclonal dirigé contre la capsid de l'hépatite C. Les anticorps anti-VHC, s'ils existent dans l'échantillon, sont liés aux antigènes fixés sur la phase solide et détectés grâce au conjugué enzymatique C2 (un mélange d'anticorps anti-IgG et de streptavidine marqués à la peroxydase) et la réaction est révélée par le TMB (substrat de l'enzyme). L'antigène de capsid, s'il existe dans l'échantillon, est capturé par les anticorps monoclonaux de la phase solide et les anticorps monoclonaux biotinylés d'un conjugué C1 ajouté dès le début de la réaction, et détecté grâce à l'affinité de la biotine du C1 avec la streptavidine marquée à la peroxydase du C2. La manipulation est réalisée selon les recommandations du fabricant.

Les caractéristiques techniques des trois tests Elisa de troisième génération classiques ainsi que celles du kit Biorad VHC Ag–Ac sont récapitulées sur le (Tableau 1). Les résultats des tests immunoenzymatiques sont exprimés en ratio (densité optique échantillon sur densité optique seuil) et le seuil de positivité a été fixé à un ratio de 1 [9].

Download English Version:

<https://daneshyari.com/en/article/4136846>

Download Persian Version:

<https://daneshyari.com/article/4136846>

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