



EVALUATION DU 40/41 ADENO-STRIP QUICK TEST® POUR LA RECHERCHE DES ADENOVIRUS ENTERIQUES.

D. Piérard, D. Stevens, S. Lauwers. Laboratoire de Microbiologie, Academisch Ziekenhuis Vrije Universiteit Brussel, Brussels, Belgium.

INTRODUCTION

Les adénovirus de type 40 et 41 appartiennent au sous-groupe F et sont aussi souvent appelés adénovirus entériques, parce que leur rôle comme agents de diarrhée a été clairement établi. Ils ont été associés à 3,1 à 13,5% des cas de diarrhée de l'enfant dans des études en Europe, Asie et Amérique du Nord et du Sud. Ils provoquent, principalement sous l'âge de deux ans, une diarrhée prolongée et une fièvre modérée, avec ou sans vomissements, qui peut durer jusqu'à deux semaines. Les cas secondaires sont fréquents. Un portage sain a été parfois signalé. Ces infections peuvent se produire tout au long de l'année, avec cependant une augmentation de l'incidence au cours des mois les plus chauds.

Les adénovirus entériques ont aussi la particularité de ne pouvoir être cultivés dans les conditions habituelles et sont donc aussi qualifiés d'adénovirus fastidieux, contrairement aux autres types d'adénovirus, les adénovirus non-F, qui peuvent être mis en évidence aussi fréquemment dans les selles d'individus sains que d'individus souffrant de diarrhée et ne sont donc pas considérés comme agents de diarrhée.

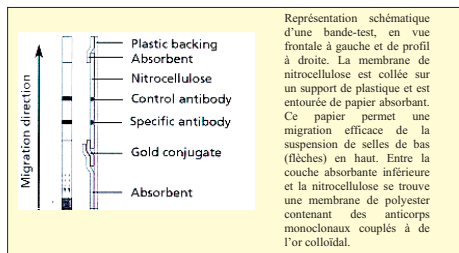
Les adénovirus entériques ne peuvent être cultivés que sur des cellules Graham 293 ou des cellules conjonctivales Chang, dans des conditions difficiles à mettre en œuvre dans un laboratoire de diagnostic médical. Il faut donc faire appel à d'autres techniques pour le diagnostic de routine :

- la **microscopie électronique** permet un diagnostic très spécifique (les adénovirus non-F ne sont généralement présents qu'en quantités trop faibles pour être détectés) mais la sensibilité de cette technique laisse à désirer et elle est difficile à mettre en œuvre au laboratoire de routine.
- des techniques d'**ELISA** sont aussi disponibles, comme le kit Adenoclone Type 40/41 (Cambridge Bioscience, Worcester, Mass.), mais ne se prêtent pas à un diagnostic rapide.
- des techniques d'**agglutination au latex**, comme l'Adenolex (Orion Diagnostica, Espoo, Finlande) ont l'inconvénient de détecter les autres adénovirus également, ce qui diminue la spécificité du test, qui peut cependant être suivi d'un test plus spécifique.
- finalement des **techniques moléculaires** sont disponibles, telles la **PCR**, suivie éventuellement d'une identification des adénovirus entériques par digestion par enzymes de restriction de l'ADN amplifié.

BUT DE L'ETUDE

Le 40-41 Adeno-strip Quick test est un nouveau test mis au point par la firme Coris BioConcept (Namur-Wépion, Belgique). Il fait appel à la technique d'immunochromatographie (voir figure 1). Etant donné l'extrême simplicité et la rapidité du mode opératoire de cette trousse, nous avons décidé de la comparer à notre méthode de routine pour la recherche des adénovirus entériques, une agglutination par la trousse Adenolex, suivie d'une confirmation par PCR et digestion par enzymes de restriction de l'ADN amplifié. Nous présentons ici les résultats de cette évaluation.

Figure 1 : Technique d'immunochromatographie



MATERIEL ET METHODES

Echantillons

Nous avons utilisé 109 échantillons de selles soumis pour recherche d'adénovirus entériques. Certains d'entre eux (la plupart des échantillons positifs par Adenolex) ont été conservés à -20°C tandis que les autres ont été testés dès leur arrivée au laboratoire.

Adenolex (Orion Diagnostica, Espoo, Finlande)

La trousse a été utilisée comme préconisé par le fabricant : en bref, après centrifugation d'une suspension de selles en tampon Adenolex, le surnageant est agglutiné sur lame avec les latex réactif et de contrôle.

PCR et identification par restriction de l'ADN amplifié

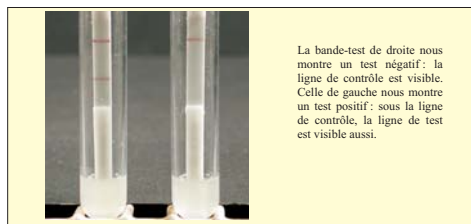
La technique décrite par Kidd et al. (J. Clin. Microbiol., 1996, 34 :622-627) a été appliquée aux échantillons à confirmer. Les amorces VA3a, VA3b et VA6 sont utilisées dans une réaction de PCR qui engendre dans le cas des adénovirus du sous-groupe F un fragment d'ADN d'une longueur de 260 paires de bases, qui n'est pas clivé par digestion par les enzymes de restriction *SfiI* et *AvaI*.

40/41 Adeno-strip Quick test

La trousse a été utilisée comme préconisé par le fabricant : en bref, les bandes de test ont été plongées dans 0,5 ml de suspension de selles en tampon de dilution (fourni par le fabricant). Les résultats de la réaction ont été évalués après migration de l'échantillon jusqu'à la partie supérieure de la bande de test (voir figure 2). En aucun cas une durée d'incubation supérieure à 15 minutes n'a été dépassée.

Les résultats ont été interprétés comme préconisé par le fabricant : une ligne = négatif ; deux lignes = positif ; absence de lignes = résultat non interprétable.

Figure 2 : 40/41 Adeno-Strip Quick Test



RESULTATS

Tous les tests ont livré un résultat interprétable : la ligne de contrôle du 40/41 Adeno-strip Quick test était toujours positive et aucune agglutination du latex de contrôle n'a été constatée pour l'Adenolex.

Sensibilité

- 22 échantillons positifs par le test Adenolex et confirmés en PCR ont été testés positifs par le 40/41 Adeno-strip Quick test.
- lors de la dilution sérielle de l'un d'eux, une réaction positive a été observée jusqu'à une dilution de 1/64 pour le 40/41 Adeno-strip Quick test tandis que l'Adenolex n'était positif que jusqu'à une dilution de 1/16.

Spécificité

- 87 échantillons frais ont été testés en parallèle par les deux trousse : deux ont été trouvés positifs par le 40/41 Adeno-strip Quick test dont un seul a été trouvé positif par l'Adenolex. Ces deux échantillons ont été confirmés par PCR et restriction de l'ADN amplifié.
- depuis la mise en utilisation de routine, 99 tests ont été effectués et les 5 échantillons positifs ont été confirmés (non repris dans le tableau ci-dessous puisque l'Adenolex n'a pas été effectué sur ces échantillons).

Tableau 1 : Comparaison du 40/41 Adeno-strip Quick test et de l'Adenolex.

Adenolex	40/41 Adeno-strip			
		Positif	Négatif	Total
	Positif	23*	0	23
	Négatif	1*	85	86
	Total	24*	85	109

* échantillons confirmés par PCR et identification par restriction de l'ADN amplifié.

Sensibilité = 100%

Spécificité = 95,8% (100% si l'on tient compte de la PCR et identification par restriction de l'ADN amplifié)

DISCUSSION

Aussi bien la sensibilité que la spécificité du 40/41 Adeno-strip Quick test sont excellentes. Si nous tenons compte des résultats de la confirmation par PCR et identification de l'ADN amplifié par restriction, aucun résultat incorrect n'a été observé lors de cette évaluation. L'extrême simplicité et rapidité de la technique nous ont amenés à décider d'utiliser cette trousse pour nos analyses de routine.

Commentaire : le 40/41 Adeno-strip Quick test est distribué en France par Servibio (BP38, 92193 Meudon)