



Jean-Philippe Lavigne<sup>1\*</sup>, Anne Jeandrot<sup>1</sup>, Albert Sotto<sup>2</sup>

# Les tests rapides de diagnostic des infections virales et parasitaires

## RÉSUMÉ

Le diagnostic biologique des maladies infectieuses a évolué ces dernières années avec pour but d'obtenir un résultat simple, rapide et fiable. Les tests fournissant des résultats en quelques minutes sont actuellement en plein essor notamment les tests immunologiques sur carte ou bandelette, pour mettre en évidence des antigènes ou des anticorps spécifiques. Essentiellement développés dans le diagnostic bactériologique, les tests de diagnostic rapide commencent à couvrir certaines pathologies virales et parasitaires, notamment les infections identifiées en contexte épidémique. Les constantes évolutions associées à l'expérience des biologistes devraient leur permettre de trouver naturellement leur place comme tests de dépistage dans le domaine de l'urgence.

## MOTS-CLÉS

Diagnostic rapide, immunochromatographie, parasitologie, virologie

## Rapid diagnostic tests of viral and parasitic infections

### SUMMARY

*The biological diagnosis of infectious diseases has evolved this last decade. The aim is to obtain tests easy to perform, reliable and rapid. Tests providing results within few minutes are now being developed such as card tests or dipsticks, to detect specific antigens or antibodies. Mainly developed for bacterial detection, the rapid tests are now developed to diagnose viral and parasite diseases in an epidemic context. The progress of microbiology and biotechnologies suggest an interesting role of these tests in screenings during outbreaks and emergency.*

### KEYWORDS

*Card test, dipstick, parasitology, rapid diagnosis, virology*

## I - Introduction

Les tests de diagnostic rapides ont connu un essor ces dernières années dans le but de répondre aux attentes de la population, des autorités sanitaires et des médecins lors de contexte d'urgence lié à la gravité de la maladie ou à la pression de l'opinion attisée par la médiatisation d'un événement (SRAS, grippe aviaire...) (1). Grâce à ces tests, les autorités sanitaires régionales, nationales et internationales peuvent déclencher une série de mesures visant à prévenir la diffusion du processus infectieux épidémique et à prendre en charge les malades.

Les avancées technologiques et microbiologiques ont permis le développement de ces tests de diagnostic rapide. Ces tests doivent répondre à certaines conditions. Ils doivent fournir un diagnostic

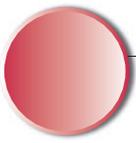
biologique de certitude ou de quasi-certitude dans un délai plus court que la technique de référence (quelques minutes ou quelques heures). Ils sont conçus pour être employés en dehors d'un laboratoire d'analyse dans l'urgence avec des moyens réduits (services cliniques, domicile d'un patient, maison de retraite, pays en voie de développement...). C'est pour cela qu'ils doivent être faciles à manipuler avec le plus faible encombrement possible. Ils ne doivent pas nécessiter d'équipements lourds pour la lecture ou l'interprétation du résultat, ils doivent pouvoir être conservés à température ambiante et requièrent un minimum de réactifs complémentaires. Leur utilisation doit donc être aisée, sans interférence sur la qualité du résultat.

Plusieurs types de tests de diagnostic rapide sont proposés en France : les tests réalisés soit au do-

<sup>1</sup>Laboratoire de Bactériologie, Virologie, Parasitologie, Groupe Hospitalo-Universitaire de Carémeau, CHU de Nîmes, Place du Professeur Robert Debré, 30029 Nîmes Cedex 9

\*Correspondance

<sup>2</sup>Service de Médecine Interne B, Groupe Hospitalo-Universitaire de Carémeau, CHU de Nîmes, Place du Professeur Robert Debré, 30029 Nîmes Cedex 9, Tél : 04-66-68-32-31, Fax : 04-66-68-38-24, e-mail : albert.sotto@chu-nimes.fr



micile du patient, soit au cabinet du médecin généraliste, soit dans les unités de soins (notion de biologie délocalisée) et enfin ceux effectués dans les laboratoires d'analyses de biologie médicale. Les deux derniers types de test de diagnostic rapide sont sous la responsabilité du biologiste. Cependant, les tests de diagnostic rapide ont encore des inconvénients. Le résultat obtenu doit souvent être confirmé par une autre méthode. Un résultat positif n'exclut pas la présence d'autres pathogènes non ciblés par le test. Un résultat négatif n'exclut pas la présence du pathogène ciblée par le test (précocité de réalisation du test, variabilité interindividuelle...). Le test n'est souvent applicable qu'à un seul type de prélèvement bien défini. Il ne permet pas toujours, pour certaines pathologies d'affirmer si l'infection est en cours ou passée. Leur coût n'est pas toujours négligeable. Enfin, il existe le problème du cadre juridique en particulier l'aspect réglementaire lié à l'utilisation de ces tests avec, en particulier, les notions de responsabilité notamment dans le domaine de la biologie délocalisée. Cette revue a pour but de décrire les différents tests de diagnostic rapide disponibles à ce jour en virologie et parasitologie.

## II- Principe des tests de diagnostics rapides

Les tests de diagnostic rapides utilisent une méthode de détection soit immunologique (mise en évidence des antigènes viraux ou parasitaires ou des anticorps dirigés contre ceux-ci), soit biochimique (mise en évidence d'une activité enzymatique).

### 1. Détection rapide d'antigènes viraux et parasitaires

Les antigènes recherchés sont pour la plupart des constituants de l'agent pathogène. Les principales techniques sont :

- **l'agglutination de particules de latex sensibilisées par des anticorps spécifiques.** Elle permet la détection des antigènes polyosidiques solubles dans les liquides biologiques (sérum, urines...).

- **l'immunochromatographie sur membrane ou bandelette.** L'échantillon testé est déposé à l'une des extrémités d'une membrane de nitrocellulose. Si l'antigène recherché est présent, il se lie avec des anticorps spécifiques marqués à l'or colloïdal. Sous l'effet d'un tampon de lyse-migration, les complexes antigène-anticorps migrent par capillarité et sont arrêtés par des anticorps de capture fixés sur la membrane. Un résultat positif se traduit par l'apparition d'une ligne colorée. Un contrôle interne permet de valider le test (1, 2).

### 2. Détection rapide d'anticorps

La mise en évidence d'anticorps dirigés contre un agent infectieux ne suffit pas toujours à établir le

rôle du pathogène dans une infection. La séroconversion nécessitant au minimum 15 jours, ces délais sont évidemment incompatibles avec un test rapide. Cependant, la détection des IgM demeure intéressante dans la perspective de surveillance d'une épidémie. Les différentes techniques applicables sont :

- **l'immunochromatographie sur membrane.** L'échantillon de sérum ou de sang total est déposé sur une extrémité puis migre vers une zone où les anticorps se lient à un antigène conjugué à un révélateur de type colloïde de sélénium. Ce mélange continue de migrer jusqu'aux antigènes immobilisés sur la membrane au niveau de la fenêtre de lecture. Les anticorps conjugués au complexe antigène-révélateur se lient spécifiquement aux antigènes et s'immobilisent en formant un trait couleur. En l'absence d'anticorps spécifiques, le conjugué antigène-colloïde traverse la zone de lecture sans produire de signal.

- **l'immunodot sur membrane.** C'est une technique ELISA effectuée sur une bande de nitrocellulose sur laquelle l'antigène natif ou purifié a été fixé. L'anticorps spécifique reconnaît l'antigène, la révélation s'effectue avec un anticorps monoclonal anti-IgG ou anti-IgM. Le résultat est qualitatif. Son interprétation est parfois difficile du fait de taux d'anticorps trop faible.

### 3. Mesure d'une activité enzymatique

La méthode de détection est biochimique utilisant des tests ELISA.

## III- Les tests de diagnostic rapide disponibles en virologie et parasitologie

### 1. Tests utilisés en virologie et fondés sur la détection rapide d'antigènes

#### 1.1 - Test pour la détection rapide de l'adénovirus et du rotavirus dans les selles

Une relation causale entre la présence de virus dans les selles et la survenue d'une diarrhée a été établie pour les rotavirus et les adénovirus notamment. C'est dans un but de dépistage rapide qu'ont été conçus les tests rapides.

#### a) Principe du test

Deux types de tests ont été élaborés :

- un test immunochromatographie sur bandelette (DIARLEX® MB, COMBO ROTA/ADENO STICK®, voir tableau I, page 36) ou cassette (ROTATOP®, ADENOTOP®, voir tableau I) avec une combinaison d'anticorps monoclonaux conjugués à de l'or colloïdal et d'anticorps polyclonaux fixés sur la phase solide détectant les rotavirus (groupe A) et les adénovirus (sérotypes 40 et 41).
- un test d'agglutination de particules de latex sen-

## Les tests rapides de diagnostic des infections virales et parasitaires

sibilisées permettant la détection antigénique des rotavirus du groupe A et des adénovirus 40 et 41 (Adenolex®, Rotalex®, Diarlex® Rota-Adeno, voir tableau I).

### b) Avantages du test

Les résultats de ce test sont obtenus en 15 minutes. L'identification classique des adénovirus se fait par culture cellulaire en recherchant un effet cytopathogène. Cette technique est laborieuse et nécessite entre 2 et 7 jours. Il en est de même pour la recherche de rotavirus effectuée par microscopie électronique et culture cellulaire. Le test rapide permet une prise en charge plus précoce limitant l'extension des gastroentérites, notamment dans les services pédiatriques et dans les crèches.

### c) Limites du test

Ces tests ont été spécifiquement conçus pour la détection des antigènes de l'adénovirus et du rotavirus dans les échantillons de selles. Si ces tests ont une bonne spécificité, leur sensibilité est beaucoup plus difficile à apprécier (3). Un résultat positif n'exclut donc pas la présence d'autres pathogènes. De plus, un résultat négatif n'exclut pas la possibilité d'une infection par ces 2 virus (faux négatif). Il est à noter que la présence de sang dans les selles en quantité significative peut donner des résultats faussement positifs. La principale contrainte du test par immunocapture est la conservation des réactifs à +4°C. Les tests utilisant les particules de latex peuvent être conservés à température ambiante mais il faut centrifuger l'échantillon 10 minutes à 3000 tours. Il est à noter qu'est commercialisé au Royaume-Uni, un test de détection des adénovirus par immunochromatographie (Rapid Diagnostic Adenovirus, SA Scientific Inc) à partir de prélèvements bronchiques. Ce test très sensible et très spécifique permet la détection des anticorps dirigés contre un antigène de l'hexon commun à 49 sérotypes humains lors d'infections respiratoires à adénovirus (4, 5).

## 1.2 - Test rapide pour la détection d'*Orthomyxovirus influenzae A ou B*

Depuis de nombreuses années, des tests rapides sont utilisés pour diagnostiquer les premiers cas de grippe et identifier précocement les épidémies.

### a) Principe du test

Les principes des tests de dépistage de la grippe A et B reposent sur 2 méthodes :

- une détection qualitative des antigènes nucléoprotéiniques de la grippe A et B par immunochromatographie sur membrane, dans les prélèvements de rhinopharynx et dans les sécrétions nasales obtenues par lavage/aspiration (Binax NOW® Flu A et B, QuickVue® Influenza A+B, voir tableau I)
- une méthode immuno-enzymatique sur membrane de cellulose à partir de prélèvements rhinopharyngés (BD Directigen™ FLU A, BD Directigen™ FLU A+B, voir tableau I).

### b) Avantages du test

Les performances de ce test sont globalement satisfaisantes surtout en terme de spécificité (82,6 à 98%), comparable à la culture cellulaire ou la PCR (1, 6, 7). Les résultats de ce test sont obtenus en 15

minutes. Le dépistage du virus de la grippe de type A ou B permet la mise en place d'un traitement préventif antiviral (Tamiflu®, Mantadix®, Relenza®) plus précoce notamment dans les unités de long séjour, les services de gériatrie et les maisons de retraite, et réduit ainsi le coût de prise en charge.

### c) Limites du test

Les 5 tests décrits ne détectent que le virus grippal A (nucléoprotéine 153) ou les virus A et B (nucléoprotéine B). Les tests sont souvent peu performants en début d'épidémie et vis à vis du virus B (8). Les résultats négatifs doivent être confirmés par isolement du virus lors de cultures cellulaires. De plus, la présence de sang dans les échantillons peut interférer dans la lecture des résultats. Enfin la sensibilité du test étant médiocre (39 à 76% selon les études), ces tests ne doivent être utilisés que comme des outils de dépistage et non de diagnostic (6,7).

## 1.3 - Test rapide pour la détection du virus respiratoire syncytial (VRS)

Parmi les *Paramyxoviridae*, le VRS est le principal agent épidémique chez les jeunes enfants et chez les adultes en institution (crèches, écoles...).

### a) Principe du test

Les tests de diagnostic rapide détectent les sous-unités F0 et F1 de la protéine de fusion, communes aux VRS des groupes A et B, ou de fragments spécifiques de cette même protéine de fusion, permettant de différencier les virus du groupe A, les plus impliqués dans les épisodes épidémiques, des virus de type B dont la circulation est plus sporadique. Les 2 techniques utilisées pour le diagnostic sont l'immunochromatographique sur membrane (Binax NOW® RSV, voir tableau I) ou bandelette (VRSTOP®, voir tableau I) et l'immunoblot (BD Directigen™ RSV®, voir tableau I) dans les échantillons de lavage nasal et dans les écouvillonnages du rhinopharynx.

### b) Avantages du test

Le diagnostic d'infections respiratoires par VRS est réalisable en 15 minutes. Les performances de ces tests (sensibilité entre 80 et 90 %, spécificité 95%) sont équivalentes entre elles (9, 10) et à celles de l'immunofluorescence chez les enfants (11-13). En revanche, Ohm-Smith et coll. ont démontré que l'immunofluorescence directe demeurerait la méthode de choix pour la détection du VRS chez l'adulte (9). Ce test permet devant une rhinopharyngite chez le nouveau-né l'identification et le diagnostic d'une infection à VRS. Cela permet une prise en charge précoce (prévention des bronchiolites), d'éviter l'utilisation d'antibiotiques, d'isoler les enfants infectés pour limiter la transmission et donc d'assurer une réduction des coûts médicaux notamment en néonatalogie ou en pédiatrie, services dans lesquels le VRS cause majoritairement des bronchiolites et des pneumonies, parfois sévères.

### c) Limites du test

Un résultat négatif doit être confirmé par cultures cellulaires. Ce type de test nécessite la réalisation d'un prélèvement d'excellente qualité pour pouvoir interpréter le résultat. Les anticorps monoclonaux



# LABORATOIRE PRATIQUE

**Tableau I**

Informations utiles sur quelques uns des principaux tests de diagnostic rapide en Virologie-Parasitologie commercialisés en France.

Pathogènes	Nom Commercial	Fabricants/distributeurs	Détection	Technique
<b>Rotavirus/Adénovirus</b>	Adenolex®	<b>Orion Diagnostica /Fumouze Diagnostics</b>	Ag	Agglutination de particules latex sensibilisées
	Diarlex® MB	<b>Orion Diagnostica /Fumouze Diagnostics</b>	Ag	IC sur bandelette
	Diarlex® Rota-Adeno	<b>Orion Diagnostica /Fumouze Diagnostics</b>	Ag	Agglutination de particules latex sensibilisées
	Rotalex®	<b>Orion Diagnostica /Fumouze Diagnostics</b>	Ag	Agglutination de particules latex sensibilisées
	COMBO ROTA/ADENO STICK®	<b>All Diag</b>	Ag	IC sur membrane
<b>Orthomyxovirus influenzae A et B</b>	BD Directigen™ FLU A	<b>BD Diagnostics Systems</b>	Ag	IE
	BD Directigen™ FLU A+B	<b>BD Diagnostics Systems</b>	Ag	IE
	QuickVue® Influenza A+B	<b>Quidel/Argene</b>	Ag	IC sur bandelette
	Binax NOW® Influenza A & B	<b>Binax*/Inverness Medical France** et Oxoid</b>	Ag	IC sur membrane
<b>Virus Respiratoire Syncytial</b>	Binax NOW® RSV	<b>Binax*/Inverness Medical France** et Oxoid</b>	Ag	IC sur membrane
	BD Directigen™ RSV	<b>BD Diagnostics Systems</b>	Ag	Dot blot
	VRSTOP®	<b>All Diag</b>	Ag	IC sur bandelette
<b>Epstein Barr Virus</b>	MNITOP®	<b>All Diag</b>	Ag	IC sur membrane
	EBV CHECK IgG & IgM®	<b>All Diag</b>	Ag	IE sur membrane
<b>VIH</b>	Determine® HIV 1/2	<b>Inverness Medical Japan/ Abbott France</b>	Ag	IC sur membrane
	Genie II HIV 1+2	<b>Bio-Rad</b>	Ag	IC sur membrane
<b>Plasmodium falciparum</b>	PALUTOP+4®	<b>All Diag</b>	Ag HRP-2 pLDH	IC sur cassette
	Binax NOW® Malaria	<b>Binax*/Inverness Medical France</b>	Ag HRP-II Ag communs aux 4 espèces	IC sur membrane

Ag : Antigène ; IC : ImmunoChromatographie ; IE : Immuno-Enzymologie ; FN : Faux Négatif ; FP : Faux Positif

\* La société Binax est une entité du groupe Inverness Medical Innovations depuis son rachat durant l'année 2005.

\*\* Importateur exclusif sur la France.

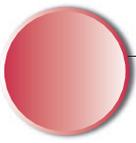
## Sociétés

<b>Abbott</b> silic 233 94528 Rungis Cedex Tél. : 01 45 60 25 00 Fax : 01 45 60 25 98 <a href="http://abbottdiagnostics.com/">http://abbottdiagnostics.com/</a>	<b>All Diag</b> 10 rue Ettoré Bugatti BP 6 - F 67038 Strasbourg Cedex 2 Tél. : 33 3 88 78 80 88 Fax: 33 3 88 78 76 78 <a href="http://www.alldiag.com/">www.alldiag.com/</a>	<b>Argene</b> Parc Technologique Delta Sud 09120 Varilhes Tél. : 05 61 69 61 00 Fax: 05 61 69 61 01 <a href="http://www.argene.com">www.argene.com</a>	<b>BD Diagnostics Systems</b> 11, Rue Aristide Bergès ZI des Iles - BP 4 38801 Le-Pont-de-Claix Cedex Tél. : 04 76 68 36 36 Fax : 04 76 68 34 95 <a href="http://www.bdeurope.com/">www.bdeurope.com/</a>	<b>Binax</b> 10 Southgate Road Scarborough, ME 04074 Etats-Unis <a href="http://www.binax.com">www.binax.com</a>
--	---	---	---	---

## Les tests rapides de diagnostic des infections virales et parasitaires

Conservation du Kit	Durée	Prélèvements	Avantages	Inconvénients
+4°C	15 min	Selles	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Rapidité par rapport à la culture</li> <li>• Simplicité du test</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• FN</li> <li>• FP surtout si sang dans les selles</li> <li>• N'exclut pas la présence d'autres pathogènes</li> </ul>
+4°C	<30 min	Rhinopharynx,	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Rapidité du diagnostic et du traitement</li> <li>• Diminution du coût de la prise en charge</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Confirmation par cultures si résultat négatif</li> <li>• Interférence dans la lecture (sang)</li> </ul>
+4°C	15 min	Rhinopharynx,	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Prise en charge précoce</li> <li>• Diminution du coût de la prise en charge</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Confirmation par cultures si résultat négatif</li> <li>• Nécessite un prélèvement de qualité</li> <li>• FN</li> </ul>
T. ambiante	15 min			
+4°C	15 min			
+4°C	5 min	Sang		
+4°C	2h			
+4°C	15 min	Sang	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Dépistage rapide et facile</li> <li>• Performance du test</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• FN et FP obligent une confirmation par western blot</li> </ul>
+4°C				
+4°C	15 min	Sang	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Performance du test</li> <li>• Prise en charge précoce lors de neuropaludisme</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• FN (détection uniquement de P. falciparum et P. vivax)</li> <li>• FP</li> </ul>
+4 - 28°C	20 min			

<b>Bio-Rad</b> 3 Boulevard Raymond Poincaré 92430 Marnes la Coquette Tél : 01 47 95 69 65 Fax : 01 47 95 61 21 www.biorad.com	<b>Fumouze Diagnostics</b> 110-114 rue Victor Hugo 92686 Levallois-Perret Cedex Tél. : 01 49 68 41 38 / 42 65 Fax: 01 49 68 42 01 www.fumouze.com	<b>Inverness Medical France</b> 19, rue Lambrechts 92400 Courbevoie Tél. : 01 41 99 92 92 Fax : 01 41 99 92 95	<b>Inverness Medical Innovations</b> 51 Sawyer Rd., Suite 200 Waltham, MA 02453-3448 États-Unis www.invernessmedical.com	<b>Oxoid</b> 6 Route de Paisy BP13 69571 Dardilly Cedex Tél.: 04 72 52 33 70 Fax: 04 78 66 03 76 www.oxoid.com	<b>Quidel</b> Quidel Corporation 10165 McKellar Court San Diego, CA 92121 www.quidel.com
--	--	--	--	---	--



peuvent ne pas détecter tous les variants antigéniques des nouvelles souches de VRS.

La conférence de consensus sur la prise en charge de la bronchiolite du nourrisson indiquait que les tests de diagnostic rapide de l'infection à VRS restaient à évaluer (14)

## 2. Tests utilisés en virologie et fondés sur la détection rapide d'anticorps

### 2.1 - Test de détection rapide du VIH

#### a) Principe du test

Il existe différentes trousse de détection rapide commercialisées dans le monde avec notamment les tests Determine HIV-1/2<sup>®</sup> (Inverness Medical), Genie II HIV-1/HIV-2 (Bio-Rad), HIV 1/2 Quick (Cypress Diagnostics), ImmunoComb II HIV 1+2 (Orgenics), Oraquick HIV 1/2 (Orasure Technologies), Retrocheck HIV (Qualpro Diagnostics), Uni-gold HIV 1+2 (Trinity Biotech). Elles permettent la détection des anticorps anti-VIH-1 et VIH-2 par immunochromatographie sur membrane.

#### b) Avantages du test

Ce test rapide nécessite une quinzaine de minutes de manipulation. Il se fait de façon unitaire. Cette simplicité d'emploi permet d'utiliser ce test dans de nombreux pays en développement. Ces trousse ont déjà été testés avec succès dans des programmes de dépistage et de prévention dans les pays africains (Algérie, Cameroun, Sénégal...) (15-18). Il est très utile dans les accidents d'exposition au sang : si le sérum du patient source est positif, un traitement anti-rétroviral est mis en route très rapidement chez le patient exposé. Les performances de ces tests sont excellentes (Sensibilité entre 95,2 et 99,3%, Spécificité > 99%). Des trousse permettant la réalisation de ces tests à partir de la salive ou des urines ont été commercialisées. L'utilisation de ces prélèvements représente une option attrayante car ces méthodes de prélèvements sont non invasives et peuvent être effectuées pratiquement n'importe où (notamment au domicile d'un patient) (19).

#### c) Limites du test

Une confirmation doit être effectuée par western blot lorsque le test est positif du fait de la possibilité de faux positifs. Un résultat négatif peut être annoncé aux patients lors de l'examen ce qui élimine le besoin de retourner chercher le résultat. Cependant certaines études ont mis en évidence des faux négatifs suggérant d'associer un test conventionnel (western blot) complémentaire au diagnostic rapide (20).

### 2.2-Test rapide pour la détection du virus d'Epstein Barr

#### a) Principe du test

Deux types de test rapide utilisant une technique d'immunochromatographie sur bandelette (EBV CHECK IgG & IgM<sup>®</sup>, MNITOP<sup>®</sup>) sont commercialisés :

- MNITOP<sup>®</sup> est un test simple et rapide permettant de détecter la présence *in vitro* d'anticorps hété-

rophiles dans le cadre du diagnostic de la mononucléose infectieuse. Le test utilise un système de capture des anticorps hétérophiles à l'aide d'extraits d'hématies de bœuf situés au niveau de la zone test de la membrane. La fixation des anticorps hétérophiles au niveau de la zone test est révélée par un conjugué monoclonal anti-IgM humaines marqué à l'or colloïdal. Le test MNITOP<sup>®</sup> est destiné à une utilisation sur sérum.

- EBVCHECK IgG & IgM<sup>®</sup> permettent de détecter les anticorps dirigés contre cinq antigènes recombinants; 2 VCA (p18 et p23), 2 EA (p54 et p138) et un EBNA-1 (p72). Les IgM anti-VCA et les IgM anti-EA sont présentes au cours des primo-infections et peuvent réapparaître au cours de réactivations. Les IgG anti-VCA p23 apparaissent pendant la primo-infection et persistent toute la vie. Les IgG anti-VCA p18 apparaissent en phase tardive de primo-infection. Les IgG anti-EBNA-1 apparaissent après la primo-infection (2 - 3 mois) et persistent toute la vie. Elles peuvent disparaître dans le temps chez 5% des individus, notamment les immunodéprimés. Dans ce cas, seule la présence des IgG anti-VCA p18 détectables spécifiquement par EBVCHECK IgG<sup>®</sup> permet de démontrer le caractère ancien de l'infection.

#### b) Avantages

Les tests présentent des performances excellentes (sensibilité de 96,3 à 99%, spécificité de 96,6 à 99%). Le MNITOP<sup>®</sup> est réalisé en 5 min, l'EBVCheck<sup>®</sup> en 2 h. Les anticorps hétérophiles sont présents dans 80 à 90% des mononucléoses à Virus d'Epstein Barr de l'adolescent ou du jeune adulte. En revanche, ils sont absents dans presque 50% des cas de mononucléose chez l'enfant de moins de 5 ans. Ils apparaissent en 2 à 3 semaines et disparaissent en 1 à 3 mois en moyenne.

Ce sont des anticorps de classe IgM dirigés contre des déterminants antigéniques présents à la surface des hématies de mouton, de bœuf et de cheval. Pour éliminer du sérum d'autres anticorps hétérophiles, non associés à la mononucléose infectieuse, il faut au préalable adsorber le sérum sur extrait de reins de cobaye (c'est la réaction de Paul-Bunnell-Davidsohn).

#### c) Limites

Le test MNITOP ne permet pas à lui seul de caractériser le stade de l'infection à EBV (séronégatif, primo-infection, infection ancienne, réactivation). La détection des IgG et IgM spécifiques de l'EBV (EBVCHECK IgG & IgM<sup>®</sup>) permettra de porter un diagnostic définitif ce qui allonge les délais des résultats. D'autre part, les anticorps hétérophiles peuvent apparaître au cours d'infection à CMV, rubéole et toxoplasmose.

### 2.3 - Test de Diagnostic rapide des Hépatites Virales E

Des tests de détection des anticorps spécifiques du VHE par une technique immunoenzymatique (HEV EIA<sup>®</sup> Abbott) sont commercialisés et utilisés principalement lors de surveillances épidémiques. Ces trousse nécessitent un prélèvement sanguin.

## Les tests rapides de diagnostic des infections virales et parasitaires

Le diagnostic d'infection par le virus de l'hépatite E reste toutefois difficile car les performances de la trousse sont moyennes (sensibilité de 53.3%, spécificité de 98.6%) (21-22). L'interprétation des résultats doit tenir compte de la composition des trousse et du niveau de réactivité des anticorps bien que les trousse utilisées détectent qualitativement les anticorps. Ainsi du fait de la sensibilité insuffisante de ces trousse, l'absence d'IgM anti-VHE ne permet pas d'écarter formellement le diagnostic d'hépatite virale E. Le diagnostic d'infection nécessitera donc de combiner la recherche de marqueurs sérologiques à partir d'outils performants et la détection du virus par amplification génique ; l'interprétation des résultats se faisant en fonction des données épidémiologiques et cliniques (22). Très récemment, un nouveau test a été développé utilisant une protéine recombinante du virus, l'EP2.1 et un anticorps monoclonal 4B2. Ce test basé sur une technique de flux inverse permet de fournir un résultat en 2 à 3 min avec une sensibilité de 96.7% et une spécificité de 98.6% (23). Il pourrait représenter dans l'avenir le test de référence pour le diagnostic des infections par le virus de l'hépatite E notamment lors de campagne de dépistage dans les pays en voie de développement fortement touchés par ces pathologies.

### 2.4 – Test de diagnostic rapide des Hépatites Virales A

Un test de diagnostic rapide immunoenzymatique par recherche d'anticorps anti-HVA salivaire a été développé à partir de prélèvements salivaires (24). A la différence des tests sériques, ce test a une spécificité de 100% et une sensibilité variable entre 80 et 100%. Par contre, la durée de détection des IgM dans la salive excède rarement les deux mois (25, 26). La concordance entre les tests salivaires et sériques est supérieure à 88% (24,27). Cette technique est simple, non invasive. Elle peut être très utile au cours d'enquêtes épidémiologiques menées notamment dans des collectivités. En 2004, ce test a, par exemple, été utilisée avec succès dans l'investigation d'une épidémie en Auvergne auprès d'élèves du primaire, de leur enseignants et de leur famille (28).

### 2.5 – Test de diagnostic rapide de la Rougeole

Des tests d'immunofluorescence ou d'immunopéroxydase directs sur les cellules du frottis nasal ou de sécrétions nasopharyngées peuvent être réalisés en quelques heures pour le diagnostic rapide de la rougeole mais ils ne sont réalisables que dans des laboratoires spécialisés. D'autres techniques de détection des IgM par immunoenzymologie ont été développées et utilisées dans la surveillance épidémiologique de la rougeole (29).

### 2.6 - Autre test non commercialisé en France

Le test Dengue Duo IgM et IgG Rapid Strip (Panbio, Australie) permet la détection des anticorps (IgM et IgG) dans le sérum en moins d'une demi-heure par immunochromatographie sur bandelette. Des anti-

corps anti-IgM et anti-IgG humains, immobilisés sur 2 lignes distinctes, vont capturer les anticorps présents dans le sérum. Des lignes de couleur rose traduisent une réaction positive. Cette technique est peu sensible surtout pour les IgG (50%) mais en revanche très spécifique pour les IgM (100%). En le conservant à +4°C, ce test a montré une bonne efficacité lors d'études comparatives (30-32).

## 3. Tests de détection rapide utilisés en parasitologie

### 3.1 Test de diagnostic rapide du paludisme

Compte tenu de l'évolution potentiellement gravissime de l'accès palustre, son diagnostic ne doit souffrir d'aucun retard et doit s'appuyer sur tous les éléments disponibles (épidémiologique, clinique et biologique).

#### a) Principe du test

Deux tests sont commercialisés en France :

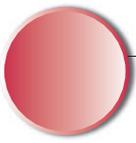
- Binax NOW® Malaria Pf/Pv (voir tableau I) est un test réalisé sur sang total, permettant la détection des antigènes plasmodiaux circulants de la protéine HRP-2, riche en histidine et la détection d'un antigène commun aux quatre espèces *P. falciparum*, *P. vivax*, *P. ovale* et *P. malariae* par immunocapture sur bandelette (33). L'antigène soluble HRP-2, spécifique de *Plasmodium falciparum*, est sécrété à tous les stades du parasite à l'exception des gamétocytes circulants.

- PALUTOP<sup>++</sup>® est un test permettant la détection qualitative de l'antigène HRP-2 spécifique de *P. falciparum* mais aussi de l'enzyme pLDH spécifique de *P. vivax* et pLDH commun à toutes les espèces de *Plasmodium*. Cette enzyme est produite uniquement par les parasites vivants. Réalisable en 10 minutes, il permet une différenciation spécifique et distincte de chaque espèce (34).

#### b) Avantages du test

Les performances de ce test sont excellentes (sensibilité 83 à 100%, spécificité 96%, VPP 95%, VPN 100%) en particulier le test Binax NOW® Malaria (35-39). Le résultat affirmant ou non la présence de *P. falciparum* est obtenu en 10 minutes, alors que l'examen microscopique est beaucoup plus long (préparation des frottis minces et lecture). Le rapport coût-bénéfice d'un test de diagnostic rapide du paludisme notamment en situation endémique est en cours d'évaluation. Complémentaire des examens cliniques et paracliniques (frottis sanguin), ce test permet une prise en charge précoce des patients infectés notamment lors de paludisme grave. La manipulation est facile et ne nécessite pas d'autre équipement qu'un moyen de réfrigération pour maintenir les réactifs à +4°C. La présentation du test sous forme de carte individuelle assure une grande sécurité de manipulation en limitant le danger de contact avec le sang.

Ces tests peuvent être utilisés pour la détection spécifique de *P. falciparum* et de *P. vivax*, pour les diagnostics différentiels des autres espèces et pour



le suivi de traitement anti-amarilique.

### c) Limites du test

Le test peut être mis en défaut par les faibles parasitémiées, l'association avec un *P. vivax* ou par une forte proportion de gamétocytes. Un résultat négatif du test Binax NOW® Malaria n'exclut pas la présence éventuelle de *P. vivax*, *P. ovale* ou *P. malariae*. L'antigène HRP-2 peut être détectable à la suite d'un traitement médical, alors que les parasites ne sont plus visibles dans le sang à l'examen microscopique. Ces tests de diagnostic rapide sont très intéressants mais ils ne remplacent en aucun cas l'examen d'un frottis sanguin. Ils doivent lui être associés (36, 39).

### 3.2 Autres tests non commercialisés en France

Des méthodes immunochromatographiques sur carte très faciles à utiliser ont été commercialisées aux Etats-Unis (ImmunoCard Stat !® Cryptosporidium/Giardia rapid assay, Meridian Bioscience et BD colorPAC® Giardia/Cryptosporidium rapid test, Becton Dickinson). Comparés à l'examen microscopique, ces tests permettent la détection simultanée de *Giardia intestinalis* et de *Cryptosporidium* spp., agents de diarrhées, avec une sensibilité variant de 93,5% à 100% et une spécificité de 100% (40, 41).

## IV- Conclusion

Longtemps peu exploités dans le domaine de l'inféctiologie, les tests de diagnostic rapide sont en pleine expansion du fait notamment de l'amélioration de la qualité de ces techniques et des possibilités de miniaturisation (42). Le recours à ces tests en contexte épidémique devrait progresser dans les années à venir parce qu'ils s'adaptent de mieux en mieux aux situations d'urgence et leur performance est en constante progression. D'ailleurs de nombreux tests ont été adaptés dans le domaine vétérinaire et pour certaines situations hautement épidémiques (SRAS, virus du West Nile, grippe aviaire...).

Les avantages à utiliser ces tests sont nombreux : rapidité, fiabilité, simplicité d'utilisation, rendu précoce des résultats... Cependant il ne faut pas oublier que la qualité de l'examen clinique initial est irremplaçable. Ces tests doivent uniquement précéder ou accompagner les procédures conventionnelles de diagnostic biologique et non les remplacer. Les examens de référence restent d'ailleurs nécessaires dans le cas des faux positifs ou des faux négatifs, à la recherche d'autres pathogènes non ciblés par le test de détection rapide.

Les tests rapides permettent également la délocalisation de l'examen complémentaire chez le médecin généraliste, dans les services cliniques mais aussi dans les pays en voie de développement pour un diagnostic précoce d'infections afin de permettre la prise en charge la mieux adaptée.

Ce qui a limité l'essor des tests de diagnostic rapide a été leur performance. Maintenant que celles-ci sont améliorées, nous pouvons penser que ces tests

seront couramment utilisés notamment dans le dépistage d'infections. Par ailleurs, d'autres méthodes de diagnostic rapide telles que la PCR en temps réel, les biosenseurs ou les puces à ADN sont actuellement développées et sont promises à un grand avenir même si elles nécessitent pour l'instant un appareillage onéreux.

### BIBLIOGRAPHIE

- (1) CHAKOUR M, KOECK JL, MASLIN J, NICAND E, CHADLI M, NIZOU JY, BUISSON Y. Diagnostic biologique rapide en contexte épidémique: états des lieux, perspectives, Med. Mal. Infect., 2003, 33, 396-412.
- (2) PAEK SH, LEE SH, CHO JH, KIM YS. Development of rapid one-step immunochromatographic assay, Methods, 2000, 22, 53-60.
- (3) TATY RT, LEBON P. Diarlex LA and Diarlex MB: study for direct detection of rotaviruses and adenoviruses in stools, Ann. Biol. Clin., 2002, 60, 697-700.
- (4) OUCHI K, HASEGAWA K, NONAKA Y, MATSUSHIMA H, KOMURA H, MAKI T, NAKAZAWA T. Rapid diagnosis of adenovirus respiratory tract infections by immunochromatography, J. Infect. Chemother., 1999, 5, 220-222.
- (5) TSUTSUMI H, OUCHI K, OHSAKI M, YAMANAKA T, KUNIYA Y, TAKEUCHI Y, NAKAI C, MEGURO H, CHIBA S. Immunochromatography test for rapid diagnosis of adenovirus respiratory tract infections: comparison with virus isolation in tissue culture, J. Clin. Microbiol., 1999, 37, 2007-2009.
- (6) WEINBERG A, WALKER ML. Evaluation of three immunoassay kits for rapid detection of influenza virus A and B, Clin. Diagn. Lab. Immunol., 2005, 12, 367-370.
- (7) QUACH C, NEWBY D, DAOUST G, RUBIN E, McDONALD J. „QuickVue Influenza Test for Rapid Detection of Influenza A and B Viruses in a Pediatric Population, Clin. Diagn. Lab. Immunol., 2002, 9, 925-926.
- (8) LANDRY ML, COHEN S, FERGUSON D. „Comparison of Binax NOW and Directigen for rapid detection of influenza A and B, J. Clin. Virol., 2004, 31, 113-115.
- (9) OHM-SMITH MJ, NASSOS PS, HALLER BL. „Evaluation of the Binax NOW, BD Directigen, and BD Directigen EZ assays for detection of respiratory syncytial virus, J. Clin. Microbiol., 2004, 42, 2996-2999.
- (10) ZHENG X, QUIANZON S, MU Y, KATZ BZ. „Comparison of two new rapid antigen detection assays for respiratory syncytial virus with another assay and shell vial culture, J. Clin. Virol., 2004, 31, 130-133.
- (11) FREYMUTH F. Epidémiologie et diagnostic des infections à virus respiratoire syncytial. Bronchopneumopathies virales, Guides MediBio, 2, Editions Elsevier, 2001, p 43-54.
- (12) MACKIE PL, MCCORMICK EM, WILLIAMS C. Evaluation of Binax NOW RSV as an acute point-of-care screening test in a paediatric accident and emergency unit, Commun. Dis. Public Health., 2004, 7, 328-330.
- (13) ALDOUS WK, GERBER K, TAGGART EW, THOMAS J, TIDWELL D, DALY JA. A comparison of Binax NOW to viral culture and direct fluorescent assay testing for respiratory syncytial virus, Diagn. Microbiol. Infect. Dis., 2004, 49, 265-268.
- (14) REFABERT L et al. Conférence de consensus sur la prise en charge de la bronchiolite du nourrisson, circulaire DGS/

## Les tests rapides de diagnostic des infections virales et parasitaires

- DSS/DHOS n°2000/512 - 10 octobre 2000, [www.sfm.org/documents/consensus/cc\\_bronchiolites\\_long.pdf](http://www.sfm.org/documents/consensus/cc_bronchiolites_long.pdf)
- (15) AGHOKENG AF, EWANE L, AWAZI B, NANFACK A, DELAPORTE E, PEETERS M, ZEKENG L. Evaluation of Four Simple/Rapid Assays and Two Fourth-Generation ELISAs for the Identification of HIV Infection on a Serum Panel Representing the HIV-1 Group M Genetic Diversity in Cameroon, *J. Acquir. Immune Defic. Syndr.*, 2004, 37, 1632-1640.
- (16) BHOORE AV, SASTRY J, PATKE D, GUPTA N, BULAKH PM, LELE S, KARMARKAR A, BHARUCHA KE, SHROTRI A, PISAL H, SURYAWANSHI N, TRIPATHY S, RISBUD AR, PARANJAPE RS, SHANKAR AV, KSHIRSAGAR A, PHADKE MA, JOSHI PL, BROCKMEYER RS, BOLLINGER RC JR. Sensitivity and specificity of rapid HIV testing of pregnant women in India, *Int. J. STD. AIDS*, 2003, 14, 37-41.
- (17) MENARD D, MAIRO A, MANDENG MJ, DOYEMET P, KOYAZEGBE T, ROCHIGNEUX C, TALARMIN A. Evaluation of rapid HIV testing strategies in under equipped laboratories in the Central African Republic, *J. Virol. Methods.*, 2005, 126, 75-80.
- (18) ROUET F, EKOUVEI DK, INWOLEY A, CHAIX ML, BURGARD M, BEQUET L, VIHO I, LEROY V, SIMON F, DABIS F, ROUZIOUX C. Field evaluation of a rapid human immunodeficiency virus (HIV) serial serologic testing algorithm for diagnosis and differentiation of HIV type 1 (HIV-1), HIV-2, and dual HIV-1-HIV-2 infections in West African pregnant women, *J. Clin. Microbiol.*, 2004, 42, 4147-4153.
- (19) Schopper D, Vercauteren G. Testing for HIV at home: what are the issues?, *AIDS.*, 1996, 10, 1455-1465.
- (20) VAN DEN BERK GEL, FRISSEN PHJ, REGEZ RM, RIETRA PJGM. Evaluation of the Rapid Immunoassay Determine HIV 1/2 for Detection of Antibodies to Human Immunodeficiency Virus Types 1 and 2, *J. Clin. Microbiol.*, 2003, 41, 3868-3869.
- (21) Lin CC, Wu JC, Chang TT, Chang WY, Yu ML, Tam AW, Wang SC, Huang YH, Chang FY, Lee SD. Diagnostic value of immunoglobulin G (IgG) and IgM anti-hepatitis E virus (HEV) tests based on HEV RNA in an area where hepatitis E is not endemic. *J. Clin. Microbiol.*, 2000, 38, 3915-3918.
- (22) Nicand E, Enouf V, Caron M. Hépatite E, bilan d'activité du Centre National de Référence des Hépatites entéro-transmissibles, France 2002-2004. *Bull. Epidemiol. Hebdo.*, 2005, 33, 167-168.
- (23) Chen HY, Lu Y, Howard T, Anderson D, Fong PY, Hu WP, Chia CP, Guan M. Comparison of a new immunochromatographic test to enzyme-linked immunosorbent assay for rapid detection of immunoglobulin m antibodies to hepatitis e virus in human sera. *Clin. Diagn. Lab. Immunol.*, 2005, 12, 593-598.
- (24) Oba IT, Spina AM, Saraceni CP, Lemos MF, Senhoras R, Moreira RC, Granato CF. Detection of hepatitis A antibodies by ELISA using saliva as clinical samples, *Rev. Inst. Med. Trop. Sao Paulo*, 2000, 42, 197-200.
- (25) Parry JV, Perry KR, Panday S, Mortimer PP. Diagnosis of hepatitis A and B by testing saliva, *J. Med. Virol.*, 1989, 28, 255-260.
- (26) Bull AR, Kimmance KJ, Parry JV, Perry KR. Investigation of an outbreak of hepatitis A simplified by salivary antibody testing, *Epidemiol. Infect.*, 1989, 103, 371-376.
- (27) Piacentini SC, Thieme TR, Beller M, Davidson SL. Diagnosis of hepatitis A, B, and C using oral samples, *Ann. N.Y. Acad. Sci.*, 1993, 694, 334-336.
- (28) SANTA-OLALLA P, ROQUE-AFONSO AM, COUTURIER E, COTTRELLE B, DROUGARD C, LECADET-MORIN C, LEBRAND P, BEYTOUT J, LEVY-BRUHL D, DUSSAIX E, DELAROCQUE-ASTAGNEAU E. Utilisation de tests salivaires dans l'investigation d'une épidémie d'hépatite A, Auvergne, décembre 2004, *BEH*, 2006, 2-3, 13-15.
- (29) Ratnam S, Gadag V, West R, Burris J, Oates E, Stead F, Boulianne N. Comparison of commercial enzyme immunoassay kits with plaque reduction neutralization test for detection of measles virus antibody. *J. Clin. Microbiol.*, 1995, 33, 811-815.
- (30) SANG CT, HOON LS, CUZZUBBO A, DEVINE P. Clinical evaluation of a rapid immunochromatographic test for the diagnosis of dengue virus infection, *Clin. Diagn. Lab. Immunol.* 1998, 5, 407-409.
- (31) PARIDA MM, UPADHYAY C, SAXENA P, DASH PK, JANA AM, SETH P. „Evaluation of a dipstick ELISA and a rapid immunochromatographic test for diagnosis of Dengue virus infection, *Acta Virol.*, 2001, 45, 299-304.
- (32) CUZZUBBO AJ, VAUGHN DW, NISALAK A, SOLOMON T, KALAYANAROOJ S, AASKOV J. „Comparison of PanBio Dengue Duo IgM and IgG Capture Elisa and Venture Technologies Dengue IgM and IgG Dot Blot, *J. Clin. Virol.*, 2000, 16, 135-144.
- (33) BEG MA, ALI SS, HAQQEE R, KHAN MA, QASIM Z, HUSSAIN R, SMEGO RA JR. „Rapid immunochromatography-based detection of mixed-species malaria infection in Pakistan, Southeast Asian *J. Trop. Med. Public Health.*, 2005, 36, 562-564.
- (34) BELL D, GO R, MIGUEL C. Diagnostic du paludisme dans une région reculée des Philippines: comparaison de plusieurs techniques et de leur acceptation par les agents de santé et la communauté, *Bull. WHO*, 2001, 79, 933-941.
- (35) COLIN L, MALLIÉ M, BASTIDE JM. Diagnostic rapide du paludisme par la recherche d'antigènes circulants, *RFL*, 2000, 67, 497-503.
- (36) DE MONBRISON F, GEROME P, CHAULET JF, WALLON M, PICOT S, PEYRON F. Comparative diagnostic performance of two commercial rapid tests for malaria in a non-endemic area, *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.*, 2004, 23, 784-786.
- (37) FARCAS GA, ZHONG KJ, LOVEGROVE FE, GRAHAM CM, KAIN KC. Evaluation of the Binax NOW ICT test versus polymerase chain reaction and microscopy for the detection of malaria in returned travelers, *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, 2003, 69, 589-92.
- (38) DURAND F, CRASSOUS B, FRICKER-HIDALGO H, CARPENTIER F, BRION JP, GRILLOT R, PELLOUX H. Performance of the Now Malaria rapid diagnostic test with returned travellers: a 2-year retrospective study in a French teaching hospital, *Clin. Microbiol. Infection*, 2005, 11, 903.
- (39) WONGSRICHANALAI C, AREVALO I, LAOBOONCHAI A, YINGYUEN K, MILLER RS, MAGILL AJ, FORNEY JR, GASSER RA JR. Rapid diagnostic devices for malaria: field evaluation of a new prototype immunochromatographic assay for the detection of Plasmodium falciparum and non-falciparum Plasmodium, *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, 2003, 69, 26-30.
- (40) GARCIA LS, SHIMIZU RY, NOVAK S, CARROLL M, CHAN F. Commercial assay for detection of Giardia lamblia and Cryptosporidium parvum antigens in human fecal specimens by rapid solid-phase qualitative immunochromatography, *J. Clin. Microbiol.*, 2003, 41, 209-212.
- (41) KATANIK MT, SCHNEIDER SK, ROSENBLATT JE, HALL GS, PROCOP GW. „Evaluation of ColorPAC Giardia/Cryptosporidium rapid assay and ProSpecT Giardia/Cryptosporidium microplate assay for detection of Giardia and Cryptosporidium in fecal specimens, *J. Clin. Microbiol.*, 2001, 39, 4523-4525.
- (42) DOLEANS A, ISSABRE Y, FRENEY J. Les tests rapides en bactériologie, *Ann. Biol. Clin.*, 2003, 61, 379-392.