

## RIDASCREEN® Adenovirus

**REF** C1001



## 1. Application

Pour usage diagnostique *in vitro*. Le test RIDASCREEN® Adenovirus est un test immunoenzymatique destiné à l'identification qualitative des adénovirus dans des échantillons de selles humaines.

## 2. Résumé et explication du test

Les adénovirus sont reconnaissables par leur forme icosaédrique typique dont la surface comporte des picots. On recense plus de 50 types différents d'adénovirus qui peuvent provoquer des infections oculaires, respiratoires ou intestinales. Les infections intestinales sont provoquées par les types 40 et 41 en particulier. Une entérite peut aussi survenir en tant que symptôme concomitant d'infections provoquées par d'autres types de virus. Quant aux diarrhées virales chez les enfants, elles sont principalement provoquées par des rotavirus, puis en proportion égale par des adénovirus et des astrovirus. Les adultes peuvent devenir malades suite à ce type d'infection. Étant donné que la gastro-entérite provoquée par un adénovirus ne peut pas être cliniquement différenciée d'une infection par rotavirus ou astrovirus, il convient de faire passer aux patients un test permettant de dépister les trois agents pathogènes. Les anticorps monoclonaux utilisés dans le test RIDASCREEN® Adenovirus réagissent en présence de la protéine de l'hexon spécifique des adénovirus. Ils incluent les types entéraux 40 et 41 ainsi que la plupart des autres types du virus responsables des infections oculaires et respiratoires.

## 3. Principe du test

Le test RIDASCREEN® Adenovirus utilise des anticorps monoclonaux en appliquant une méthode de type sandwich. La surface des puits de la microplaque est revêtue d'un anticorps monoclonal ciblant l'antigène de l'hexon des adénovirus. Une suspension de l'échantillon de selles à examiner ainsi que des contrôles sont pipetés ensemble avec des anticorps monoclonaux anti-adénovirus biotinylés (conjugué 1) dans le puits de la microplaque, puis sont mis à incuber à température ambiante (20 à 25 °C). Après une étape de lavage, le conjugué polyperoxydase-streptavidine (conjugué 2) est ajouté et de nouveau mis à incuber à température ambiante (20 à 25 °C). En présence d'adénovirus dans un échantillon de selles, un complexe en sandwich se forme à partir des anticorps immobilisés, des antigènes de l'adénovirus et des anticorps conjugués avec le complexe biotine-streptavidine-peroxydase. Le conjugué polyperoxydase-streptavidine non lié est éliminé au cours d'une autre étape de lavage. Dans les échantillons positifs, l'ajout d'un substrat modifie l'enzyme liée dans la solution incolore qui vire au bleu. L'ajout d'un réactif d'arrêt fait virer la couleur du bleu au jaune. L'extinction est proportionnelle à la concentration des adénovirus présents dans l'échantillon.

#### 4. Contenu du paquet

Les réactifs fournis dans la trousse permettent de faire 96 déterminations.

Plate	96	Microplaque, 12 barrettes à micropuits (sécables) sur le support ; revêtue d'anticorps monoclonaux anti-adénovirus (souris)
Diluent   1	100 ml	Tampon de dilution d'échantillon, solution de NaCl tamponnée à la protéine, prêt à l'emploi, de couleur bleue
Wash buffer	100 ml	Tampon de lavage, solution de NaCl tamponnée au phosphate (concentrée 10 fois), contient 0,1 % de thimérosal
Control   +	2 ml	Contrôle positif ; culture d'adénovirus inactivés ; prêt à l'emploi
Control   -	2 ml	Contrôle négatif (tampon de dilution d'échantillon), prêt à l'emploi
Conjugate   1	13 ml	Anticorps anti-adénovirus monoclonaux (souris) conjugués à la biotine dans une solution protéique stabilisée, prêts à l'emploi, de couleur verte
Conjugate   2	13 ml	Conjugué polyperoxydase-streptavidine dans une solution protéique stabilisée, prêt à l'emploi, de couleur orange
Substrate	13 ml	Peroxyde d'hydrogène/TMB, prêt à l'emploi
Stop	12 ml	Réactif d'arrêt, acide sulfurique 1 N, prêt à l'emploi

Les substances dangereuses sont signalées conformément aux dispositions d'étiquetage obligatoires. Pour en savoir plus, consulter les fiches de données de sécurité (FDS) à l'adresse [www.r-biopharm.com](http://www.r-biopharm.com).

#### 5. Instructions de conservation des réactifs

Tous les réactifs doivent être conservés entre 2 et 8 °C. Dans ces conditions, ils peuvent être utilisés jusqu'à la date de péremption imprimée sur l'étiquette. Le tampon de lavage dilué doit être conservé entre 2 et 8 °C pendant 4 semaines maximum. La contamination microbienne doit être évitée. Après la date de péremption, la qualité n'est plus garantie.

Le sachet en aluminium doit être ouvert à l'aide de ciseaux sans déchirer le joint d'étanchéité. Les barrettes à micropuits qui ne sont pas nécessaires doivent être remises immédiatement dans le sachet en aluminium et conservées entre 2 et 8 °C.

Le substrat incolore doit également être protégé de la lumière directe pour éviter qu'il ne se décompose ou ne bleuisse sous l'effet d'une auto-oxydation. Lorsque le substrat est bleu, il ne doit pas être utilisé.

## 6. Réactifs requis, mais non fournis

### 6.1 Réactifs nécessaires

Les réactifs suivants sont nécessaires pour exécuter le test RIDASCREEN® Adenovirus:

Réactifs
Eau distillée ou désionisée

### 6.2 Matériel de laboratoire nécessaire

Le matériel suivant est nécessaire pour exécuter le test RIDASCREEN® Adenovirus:

Matériel
Tubes à essai
Pipettes à usage unique (réf. : Z0001)
Agitateur-mélangeur vortex (facultatif, voir rubrique 9.3.)
Micropipette pour volumes de 50 à 100 µl et 1 ml
Éprouvette graduée (1 000 ml)
Chronomètre
Appareil de lavage pour microplaques ou pipettes multicanaux (300 µl)
Photomètre pour microplaques (450 nm et filtre de référence à 620-650 nm)
Papier filtre (serviettes de laboratoire)

## 7. Mesures de précaution

Uniquement pour le diagnostic *in vitro*.

Ce test ne doit être réalisé que par un personnel de laboratoire formé. Il convient de respecter les directives de travail dans les laboratoires médicaux. Les instructions d'exécution du test doivent être respectées à la lettre.

Les échantillons ou réactifs ne doivent pas être pipetés à la bouche et tout contact avec une peau ou des membranes muqueuses lésées doit être évité. Lors de la manipulation des échantillons, porter un équipement de protection individuelle (gants adaptés, blouse, lunettes de protection) et se laver les mains à l'issue du test. Ne pas fumer, manger, ni boire dans les zones où des échantillons sont manipulés. Pour en savoir plus, consulter la Fiche de données de sécurité (FDS) à l'adresse [www.r-biopharm.com](http://www.r-biopharm.com).

La trousse comprend un contrôle positif qui contient l'antigène inactivé de l'adénovirus. Ce contrôle doit être traité comme du matériel potentiellement infectieux et manipulé conformément aux règlements de sécurité nationaux, de la même manière que les échantillons de patients.

Le tampon de lavage contient du thimérosal à 0,1 % en tant que conservateur. Cette substance ne doit pas entrer en contact avec la peau ou les membranes muqueuses.

Après utilisation, veiller à mettre au rebut tous les réactifs et matériels d'une manière adéquate et responsable. Pour la mise au rebut, respecter les règlements nationaux.

## 8. Prélèvement et conservation des échantillons

Les échantillons de selles doivent être obtenus dès que possible, dans les trois jours qui suivent la survenue des premiers symptômes de diarrhée. Avant utilisation, entreposer le matériel de test entre 2 et 8 °C. S'il n'est pas possible d'effectuer le test en l'espace de trois jours, il est préconisé de conserver le matériel à une température inférieure ou égale à -20 °C. Éviter de congeler et décongeler les échantillons plusieurs fois. Après dilution d'un échantillon de selles dans un tampon de dilution d'échantillon à 1/11, l'échantillon peut être conservé à 2 - 8 °C pour être utilisé dans les sept jours qui suivent (tableau 1).

**Tableau 1: Conservation des échantillons**

Échantillon de selles non dilué		Échantillon de selles dilué
2 - 8 °C	≤ - 20 °C	2 - 8 °C
≤ 3 jours	> 3 jours	≤ 7 jours

Les échantillons de selles et les frottis rectaux ne doivent pas être recueillis dans des conteneurs de transport renfermant un milieu de transport et des conservateurs, du sérum animal, des ions métalliques, des agents oxydants ou des détergents, car ces substances peuvent interférer avec le test RIDASCREEN® Adenovirus.

Lorsque des frottis rectaux sont utilisés, il faut veiller à disposer d'une quantité nécessaire de selles pour effectuer le test (env. 100 mg).

La recherche des contacts doit inclure des échantillons de selles provenant des personnes ayant été en contact qui ne présentent pas de symptômes cliniques, afin d'identifier des porteurs asymptomatiques.

## 9. Réalisation du test

### 9.1 Informations générales

Tous les réactifs et la Plate doivent être ramenés à température ambiante (20 à 25 °C) avant utilisation. Les barrettes à micropuits ne doivent pas être retirées du sachet en aluminium avant d'avoir atteint la température ambiante. Les réactifs doivent être bien mélangés immédiatement avant leur utilisation. Après utilisation, les barrettes à

micropuits (placées dans des sachets fermés hermétiquement) et les réactifs doivent être conservés entre 2 et 8 °C. Une fois utilisées, les barrettes à micropuits ne doivent pas être réutilisées. Les réactifs et les barrettes à micropuits ne doivent pas être utilisés si l'emballage est endommagé ou si les flacons fuient.

Pour éviter toute contamination croisée, les échantillons ne doivent pas entrer en contact direct avec les composants de la trousse.

Le test ne doit pas être réalisé à la lumière directe du soleil. Nous recommandons de couvrir la microplaque ou de placer un film plastique dessus pour éviter toute perte par évaporation.

## 9.2 Préparation du tampon de lavage

Mélanger 1 volume de concentré de tampon de lavage **Wash buffer** avec 9 volumes d'eau distillée. Les cristaux éventuellement présents dans le concentré doivent être dissouts au préalable, en les réchauffant dans un bain d'eau à 37 °C.

## 9.3 Préparation des échantillons

Remplir un tube à essai marqué avec 1 ml de tampon de dilution des échantillons RIDASCREEN® **Diluent | 1**, Aspirer un échantillon de selles liquides (environ 100 µl) au moyen d'une pipette à usage unique (réf. Z0001) jusqu'au-dessus du deuxième repère et ajouter au tampon du tube à essai pour obtenir une suspension. Pour obtenir une suspension avec des selles dures, ajouter une quantité équivalente de selles (environ 50 à 100 mg) prélevée à l'aide d'une spatule ou d'une anse de prélèvement à usage unique.

Homogénéiser la suspension de selles par aspiration, puis éjection avec une pipette à usage unique ou par mélange dans un agitateur-mélangeur vortex. Laisser la suspension reposer pendant une courte période (10 minutes) pour laisser aux particules grossières de selles le temps de se déposer ; le liquide clair surnageant la suspension de selles peut être directement utilisé pour le test. Si la procédure de test est effectuée dans un automate ELISA, ce liquide surnageant doit être dépourvu de particules. Dans ce cas, une centrifugation à 2 500 G pendant 5 minutes est recommandée.

**Remarque: Des échantillons de selles dilués dans le **Diluent | 1** peuvent être soumis à tous les tests RIDASCREEN® ELISA qui utilisent le **Diluent | 1**.**

## 9.4 Première incubation

Après avoir rempli une quantité suffisante de puits dans le support, ajouter 100 µl du **Control | +**, du **Control | -** ou de la suspension de l'échantillon de selles dans les puits. Ajouter ensuite 100 µl de l'anticorps conjugué à la biotine **Conjugate | 1** et mélanger (en tapotant légèrement le bord de la plaque), puis incuber pendant 60 minutes à température ambiante (20 à 25 °C).

## 9.5 Lavage

Un lavage soigneux est important afin d'obtenir des résultats corrects ; il convient donc de suivre les instructions fournies à la lettre. La substance incubée dans les puits doit être déversée dans un conteneur de déchets et mise au rebut conformément aux réglementations locales. Retourner ensuite la plaque sur du papier absorbant pour éliminer l'humidité résiduelle. Laver ensuite la plaque cinq fois systématiquement avec 300 µl de tampon de lavage **Wash buffer**. S'assurer que les puits sont complètement vidés en les tapotant après chaque lavage sur un morceau de papier absorbant encore sec et inutilisé.

En cas d'utilisation d'un laveur de microplaques ou d'un système ELISA entièrement automatisé, veiller à ce que l'appareil soit correctement réglé. Demander, au besoin, au fabricant de vous en fournir les réglages. Les appareils fournis par R-Biopharm sont déjà programmés avec des réglages et des protocoles de travail validés. Pour éviter d'obstruer les aiguilles de lavage, il convient de n'utiliser que des suspensions de selles dépourvues de particules (voir paragraphe 9.3, Préparation des échantillons). S'assurer également que tout le liquide est aspiré à chaque étape de lavage.

## 9.6 Seconde incubation

À l'aide d'une pipette, ajouter 100 µl de conjugué polyperoxydase-streptavidine **Conjugate 2** dans les puits, puis incuber pendant 30 minutes à température ambiante (20 à 25 °C).

## 9.7 Lavage

Laver en suivant les instructions de la rubrique 9.5.

## 9.8 Troisième incubation

Ajouter 100 µl de substrat **Substrate** dans tous les puits. Ensuite, incuber la plaque à température ambiante (20 - 25 °C), dans le noir, pendant 15 minutes. Remplir ensuite tous les puits avec 50 µl de réactif **Stop** afin d'arrêter la réaction. Après un mélange soigneux en tapotant légèrement le côté de la plaque, mesurer l'extinction à 450 nm (en variante : à 450/620 nm). L'ajustement de la valeur du blanc est effectué à l'air libre, c'est-à-dire sans la plaque de microtitrage.

**Note: des échantillons de patients fortement positifs peuvent entraîner des précipités noirâtres du substrat.**

## **10. Contrôle qualité – signes d'instabilité ou de détérioration des réactifs**

À des fins de contrôle qualité, chaque fois qu'un test est effectué, il est nécessaire d'utiliser des contrôles positif et négatif, pour vérifier la stabilité des réactifs et la réalisation correcte du test. Le test s'est déroulé correctement lorsque la valeur d'extinction (DO) du contrôle négatif à 450 nm est inférieure à 0,02 (inférieure à 0,160 à 450/620 nm) et lorsque la valeur mesurée du contrôle positif est supérieure à 0,8 à 450 nm ou à 450/620 nm. Une valeur supérieure à 0,2 (0,160) pour le contrôle négatif pourrait indiquer que le lavage n'a pas été suffisant. Tout écart par rapport aux valeurs requises, par exemple la présence de turbidité ou d'une coloration bleue du substrat incolore avant le remplissage des puits, pourrait indiquer une dénaturation des réactifs.

En cas d'écart par rapport aux valeurs indiquées, les points suivants doivent être contrôlés avant de recommencer le test :

- Date de péremption des réactifs utilisés
- Capacité de fonctionnement de l'équipement utilisé (par ex. étalonnage)
- Procédure de test correcte
- Inspection visuelle des composants de la trousse à la recherche d'une contamination ou de fuites ; une solution de substrat devenue bleue ne doit pas être utilisée.

Si les conditions ne sont toujours pas satisfaites après avoir recommencé le test, consulter le fabricant ou un distributeur R-Biopharm local.

## **11. Évaluation et interprétation**

### **11.1. Calcul de la valeur seuil**

Pour déterminer la valeur seuil, on ajoute 0,15 unité d'extinction à l'extinction mesurée du contrôle négatif.

$$\text{Valeur seuil} = \text{valeur d'extinction du contrôle négatif} + 0,15$$

### **11.2. Résultats du test**

Un échantillon est estimé comme étant positif lorsque sa valeur d'extinction est supérieure de plus de 10 % à la valeur seuil calculée.

Un échantillon est estimé comme étant limite si sa valeur d'extinction se situe dans une plage allant de -10 % à +10 % de la valeur seuil. Si un nouvel examen utilisant un nouvel échantillon de selles obtient une valeur comprise dans cette même plage d'ombre, l'échantillon est considéré comme étant négatif.

Des échantillons ayant des valeurs d'extinction inférieures à -10 % de la valeur seuil calculée doivent être considérés comme étant négatifs.

## **12. Limites de la méthode**

Le test RIDASCREEN® Adenovirus permet d'identifier les antigènes des adénovirus dans les échantillons de selles. Il n'est pas possible d'en déduire un rapport entre le niveau d'une valeur d'extinction déterminée et l'apparition ou la gravité des symptômes cliniques. Les résultats obtenus doivent toujours être interprétés conjointement aux signes et symptômes cliniques.

Un résultat positif n'exclut pas la présence d'autres agents pathogènes infectieux.

Un résultat négatif n'exclut pas une éventuelle infection à adénovirus. Un tel résultat peut être causé par l'élimination temporaire du virus ou par une quantité trop faible d'antigène dans l'échantillon. Si l'anamnèse est en faveur d'une suspicion d'infection par adénovirus, un autre prélèvement de selles doit être examiné.

Un résultat limite peut être causé par une répartition non homogène des virus dans l'échantillon des selles. Dans un tel cas, l'examen doit être répété avec une deuxième suspension provenant du même échantillon ou il convient de demander un autre prélèvement de selles à examiner.

## **13. Performances**

### **13.1 Étude de comparaison clinique**

Le test RIDASCREEN® Adenovirus a été validé par comparaison avec trois tests ELISA de détection des adénovirus disponibles dans le commerce. L'ensemble d'échantillons utilisé comprenait des échantillons frais prélevés le jour même dans un laboratoire habituel et des échantillons préparés et congelés au préalable à -20 °C pour une utilisation dans l'étude de comparaison. Une suspension homogène de référence a été testée par chacun des tests ELISA conformément aux instructions du fabricant. Un échantillon était considéré comme étant positif ou négatif si deux des trois tests de référence obtenaient des résultats semblables. Les résultats de cette étude sont indiqués dans le tableau 2.

**Tableau 2:** Corrélation entre le test RIDASCREEN® Adenovirus ELISA et trois autres tests ELISA disponibles dans le commerce

RIDASCREEN® Adenovirus	Test ELISA de la concurrence		Total
	+	-	
+	21	0	21
-	0	115	115
Total	21	115	136

Sensibilité : >99,9 %

Spécificité : >99,9 %

### 13.2 Réactivité croisée

Différents micro-organismes pathogènes du tractus intestinal ont été examinés avec le test RIDASCREEN® Adenovirus ELISA et n'ont pas présenté de réactivité croisée.

Ces études ont été réalisées avec des suspensions de bactéries dont les concentrations étaient de  $10^6$  à  $10^9$  organismes par ml. Les surnageants et toxines de la culture de virus ainsi que les échantillons de selles sont également indiqués. Les résultats de cette étude sont indiqués dans le tableau 3.

**Tableau 3:** Réactivité croisée avec des micro-organismes pathogènes

Organisme	Origine	Source	[DO 450 nm] valeur moyenne
<i>Acinetobacter Iwoffii</i>	Culture	DSM 2403	0,063
<i>Aeromonas hydrophila anaerogenes</i>	Culture	DSM 30020	0,091
<i>Aeromonas hydrophila hydrophila</i>	Culture	DSM 30016	0,074
Surnageant de culture cellulaire d'astrovirus	Culture	Micromun	0,052
Échantillon d'astrovirus	Selles	TU Dresden	0,074
<i>C. difficile</i>	Culture	VPI 1640	0,052
<i>C. perfringens</i> 50 µg/ml	Toxoïde	Contrôle de la trousse C. perfringens toxin	0,057
<i>C. sordellii</i>	Culture	tgcBiomics	0,052
<i>Campylobacter fetus</i>	Culture	DSM 5361	0,060
<i>Campylobacter jejuni</i>	Culture	DSM 4688	0,050
<i>Campylobacter</i> échantillon	Stool	Laboratoire habituel	0,037
<i>Candida albicans</i>	Culture	ATCC 10231	0,079
<i>Citrobacter freundii</i>	Culture	DSM 30039	0,094
<i>Citrobacter spp.</i>	Culture	DSM 30047	0,070
<i>Cryptosporidium parvum</i>	Culture	Waterborne Inc.	0,051
<i>E. coli</i>	Culture	LMU München	0,078
<i>E. coli</i>	Culture	LMU München	0,074
<i>E. coli</i>	Culture	LMU München	0,062
<i>E. coli</i> (O111:H-)	Culture	LMU München	0,079
<i>E. coli</i> (O116:H21)	Culture	LMU München	0,073
<i>E. coli</i> (O157:H-)	Culture	LMU München	0,096
<i>E. coli</i> (O22:H8)	Culture	LMU München	0,095
<i>E. coli</i> (O26:H11)	Culture	LMU München	0,078
<i>E. hermannii</i>	Culture	DSM 4560	0,049
<i>Entamoeba histolytica</i>	Selles	TI Berlin	0,043
<i>Enterobacter cloacae</i>	Culture	DSM 30054	0,071
<i>Enterococcus faecalis</i>	Culture	DSM 2570	0,078
<i>Enterococcus faecium</i>	Culture	DSM 20477	0,090
<i>Giardia lamblia</i> échantillon	Selles	TI Berlin	0,039

<i>H. pylori</i> échantillon	Inactivé H. pylori lysat	Contrôle de la trousse RS FemtoLab H. pylori	0,071
<i>Helicobacter pylori</i>	Culture	DSM 4867	0,051
<i>Lactococcus lactis</i>	Culture	DSM 20481	0,070
<i>Listeria innocua</i>	Culture	DSM 20649	0,060
<i>Morganella morganii</i>	Culture	DSM 6675	0,054
<i>Proteus mirabilis</i>	Culture	DSM 788	0,050
<i>Proteus mirabilis</i>	Culture	DSM 4479	0,052
<i>Proteus vulgaris</i>	Culture	DSM 30119	0,052
<i>Providencia stuartii</i>	Culture	DSM 6676	0,073
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Culture	DSM 939	0,058
<i>Pseudomonas fluorescens</i>	Culture	DSM 4358	0,058
<i>Pseudomonas fluorescens</i>	Culture	DSM 50124	0,069
<i>Pseudomonas putida</i>	Culture	DSM 291	0,056
Surnageant de culture cellulaire de rotavirus	Culture	Microbix	0,059
Échantillon de rotavirus	Selles	TU Dresden	0,059
<i>Salmonella agona</i>	Culture	LMU München	0,052
<i>Salmonella choleraesuis</i>	Culture	DSM 4224	0,053
<i>Salmonella enteritidis</i>	Culture	DSM 9898	0,065
<i>Salmonella enteritidis</i> échantillon	Culture	Laboratoire habituel	0,065
<i>Salmonella infantis</i>	Culture	LMU München	0,053
<i>Salmonella ohio</i>	Culture	LMU München	0,053
<i>Salmonella typhimurium</i>	Culture	DSM 554	0,050
<i>Sapovirus</i>	Selles	TU Dresden	0,066
<i>Serratia liquefaciens</i>	Culture	DSM 4487	0,039
<i>Shigatoxin STX1</i>	Toxoïde	Toxin Technology	0,054
<i>Shigatoxin STX2</i>	Toxoïde	Toxin Technology	0,054
<i>Shigella flexneri</i>	Culture	DSM 4782	0,040
<i>Shigella sonnei</i>	Culture	DSM 5570	0,048
<i>Staphylococcus aureus</i>	Culture	DSM 20372	0,064
<i>Streptococcus agalactiae</i>	Culture	DSM 2134	0,090
<i>Streptococcus dysgalactiae</i>	Culture	DSM 20662	0,074
<i>Streptococcus uberis</i>	Culture	DSM 20569	0,071

### 13.3 Précision

La reproductibilité du test RIDASCREEN® Adenovirus ELISA a été étudiée avec six références qui couvrent l'ensemble de la plage de mesure des valeurs faiblement à fortement positives.

Afin de déterminer la reproductibilité intra-test, 40 répétitions de ces références ont été mesurées. Les valeurs moyennes et les coefficients de variation (CV) ont été déterminés pour trois lots.

Pour ce qui est de la reproductibilité inter-tests, les références de dix jours de travail différents ont été mesurées en double, avec deux passages par jour. Les mesures ont été effectuées en trois lots par trois techniciens.

La reproductibilité inter-lots a été déterminée pour les trois lots. Les résultats de cette étude sont indiqués dans le tableau 4.

**Tableau 4:** Reproductibilité et précision du test RIDASCREEN® Adenovirus ELISA

Référence	Valeur moyenne / CV (%)	Intra-tests			Inter-tests			Inter-lots
		Lot de la trousse 1	Lot de la trousse 2	Lot de la trousse 3	Lot de la trousse 1	Lot de la trousse 2	Lot de la trousse 3	Lot de la trousse 1-3
1	VM	2,236	2,732	3,170	2,363	2,199	2,408	2,323
	CV (%)	5,11 %	6,67 %	6,08 %	15,39 %	20,81 %	19,91 %	18,95 %
2	VM	1,359	1,590	1,975	1,411	1,368	1,559	1,446
	CV (%)	5,16 %	4,03 %	9,64 %	14,28 %	21,66 %	18,81 %	19,35 %
3	VM	1,244	1,222	1,321	1,096	1,162	1,261	1,173
	CV (%)	8,07 %	6,14 %	8,16 %	13,66 %	17,75 %	18,93 %	18,23 %
4	VM	0,813	0,899	1,014	0,794	0,822	0,862	0,826
	CV (%)	7,75 %	7,81 %	15,22 %	16,20 %	24,41 %	18,37 %	20,03 %
5	VM	0,597	0,622	0,800	0,570	0,587	0,635	0,597
	CV (%)	7,88 %	5,78 %	11,73 %	16,92 %	23,77 %	16,84 %	19,79 %
6	VM	0,368	0,394	0,588	0,407	0,434	0,462	0,434
	CV (%)	8,27 %	6,63 %	19,65 %	24,65 %	24,35 %	17,00 %	22,43 %

### 13.4 Sensibilité analytique

Le seuil de détection du test RIDASCREEN® Adenovirus ELISA a été déterminé avec une dilution en série d'un échantillon de selles quantifié par microscopie immunoélectronique (MIE). Les mesures ont été prises en triple, d'après un titre de virus de  $1.3 \times 10^7$  particules/ml. Le seuil de détection a été défini à  $3.25 \times 10^2$  particules virales/ml de l'échantillon de selles. Les résultats de la série de titrage sont indiqués dans le tableau 5. À noter que la valeur positive de DO dans le test ELISA est le résultat de la présence de particules virales intactes, mais aussi de fragments du virus qui ne sont pas décomptés dans la MIE.

**Tableau 5:** Détermination de la sensibilité analytique du test RIDASCREEN® Adenovirus ELISA

MIE	RIDASCREEN® Adenovirus	
Particules virales/ml	Valeur moyenne [DO 450]	Résultats
$6,5 \times 10^5$	1,784	Positif
$6,5 \times 10^4$	3,993	Positif
$3,25 \times 10^4$	4,030	Positif
$1,63 \times 10^4$	4,032	Positif
$8,2 \times 10^3$	4,135	Positif
$6,5 \times 10^3$	4,245	Positif
$3,25 \times 10^3$	3,753	Positif
$1,63 \times 10^3$	2,858	Positif
$8,2 \times 10^2$	1,718	Positif
$6,5 \times 10^2$	1,126	Positif
$3,25 \times 10^2$	0,305	Positif
$1,63 \times 10^2$	0,054	Négatif

### 13.5 Substances interférentes

Les substances mentionnées ci-dessous n'ont pas présenté d'effet sur les résultats du test lorsqu'elles ont été mélangées dans les échantillons de selles positifs et négatifs pour l'adénovirus dans les concentrations indiquées:

Mucines	5,0 % p/p	Diclofénac	0,00263 % v/p
Sang humain	5,0 % v/p	Cyclamate	5,0 % v/p
Sulfate de baryum	5,0 % p/p	combinaison d'acide stéarique et d'acide palmitique	40 % p/p (mélange 1:1)
Lopéramide	5,0 % p/p		
Pepto-bismol	5,0 % v/p	Métronidazole 0,5 % solution	5,0 % v/p

### 14. Historique des versions

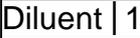
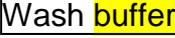
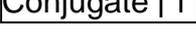
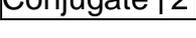
Numéro de version	Chapitre et désignation
2017-04-20	Version précédente
2019-07-09	Révision générale 4. Contenu du paquet 8. Prélèvement et conservation des échantillons 9.2 Préparation du tampon de lavage 9.5 Lavage

## 15. Signification des symboles

### Symboles généraux

	Pour le diagnostic <i>in-vitro</i>
	Respecter le mode d'emploi
	Numéro de lot
	Date de péremption
	Température de stockage
	Numéro d'article
	Nombre de tests
	Date de fabrication
	Fabricant

### Symboles spécifiques au test

	Plaque de microtitrage
	Tampon de dilution d'échantillon 1
	Tampon de lavage
	Contrôle positif
	Contrôle négatif
	Conjugué 1
	Conjugué 2
	Substrate
	Réactif stop

## 16. Bibliographie

1. Horwitz, M.S.: Adenoviral Diseases. In B.N. Fields, ed. Virology, Raven Press, New York, 477-495.
2. Wigand, R. and Th. Adrian: Die Diagnostik von Adenovirus-Infektionen. Internist 26, 109-112 (1985).
3. Wigand, R.: Klinische Relevanz von Adenovirusinfektionen. Laboratoriumsblätter 30, 118 -123 (1980).
4. Brandt, C.D., H.W.Kim, A.J. Vargosdo, B.C. Jeffries, J.O. Arrobio, B.Rindge, R.H. Parrot and R.M. Chanock: Infections in 18.000 infants and children in a controlled study of respiratory tract disease. I. Adenovirus pathogenicity in relation to serologic type and illness syndrome. Am. J. Epidemiol. 90, 484-500 (1969).
5. Mallet, R., M. Riberre, F. Bonnenfant, B. Labrune and L. Reyrole: Les pneumopathies graves a adeno-virus. Arch. Fr. Pediatr. 23, 1057-1073 (1966).
6. Kemp, M.C., J.C. Hierholzer, C.P. Cabradilla and J.F. Obijesti: The changing etiology of epidemic keratoconjunctivitis: Antigenic and restriction enzyme analysis of adenovirus types 19 and 37 isolated over a 10 year period. J. Infect. Dis. 148, 24-33 (1983).
7. Foy, H.M., M.K. Cooney and J.B. Hatlen: Adenovirus type 3 epidemic associated with intermittend chlorination of a swimming pool. Arch. Environ. Health 17, 795-802 (1968).
8. De Jong, P.J., G. Valderrama, I. Spigland and M.S. Horwitz: Adenovirus isolates from the urines of patients with the acquired immunodeficiency syndrome. Lancet 1, 1293-1296 (1983).
9. Takiff, H.F., S.E. Straus and C.F. Garon: Propagation and in vitro studies of previously non-cultivable enteric adenoviruses in 293 cells. Lancet 2, 832-834 (1981).
10. Herrmann, J.E., D.M. Perron-Henry, D. Stobbs-Walro and N.R. Blacklow: Preparation and characterization of monoclonal antibodies to enteric adenovirus types 40 and 41. Arch. Virology 94, 259-265 (1987).
11. Uhnoo, I., G. Wadell, L. Svensson and M.E. Johansson: Importance of enteric adenoviruses 40 and 41 in acute gastroenteritis in infants and young children. J. Clin. Microbiol. 20, 365-372 (1984).
12. Kidd, A.H., E.H. Harley and M.J. Erasmus: Specific detection and typing of adenovirus types 40 and 41 in stool specimens by dot-blot hybridization. J. Clin. Microbiol. 22, 934-939 (1985).
13. Cukor G. and N.R. Blacklow: Human viral gastroenteritis. Microbiological Reviews 48, 157 -179 (1984).
14. Mogabgab, W.J.: Mycoplasma pneumonia and adenovirus respiratory illnesses in military and university personnel, 1959-1966. Am. Rev. Respir. Dis. 97, (345 - 358) (1968).
15. Richmond, S.J., E.O. Caul, S.M. Dunn, C.R. Ashley, S.K.R. Clarken: An outbreak of gastroenteritis in young children caused by adenoviruses. Lancet 1, 1178-1180 (1979).

16. Chiba, S., S. Nakata, I. Nakamura, K. Taniguchi, S. Urasawa, K. Fujinaga and T. Nakao: Outbreak of infantile gastroenteritis due to type 40 adenovirus. *Lancet* 2, 954-957 (1983).
17. E.H. Lennette and N.J. Schmidt: *Diagnostic Procedures for Viral, Rickettsial and Chlamydial Infections*, Fifth edition, 1979, American Public Health Associates, Inc., Washington, D. C., 241 - 242, 229-255.
18. Cepko, C.L., C.A. Whetstone and P.A. Sharp: Adenovirus hexon monoclonal antibody that is group specific and potentially useful as a diagnostic reagent. *J. Clin. Microbiol.* 17, 360-364 (1983).