

Les tests rapides grippe : leur utilisation en pratique de ville

Pr B Lina

Hospices Civils de Lyon, CNR des virus influenza (Sud), F69677, Bron
Université de Lyon, Université Lyon 1, F69372, Lyon



JNI

15^{èmes} Journées Nationales d'Infectiologie
Du mercredi 11 au vendredi 13 juin 2014
BORDEAUX

Liens d'intérêt

Au cours des trois dernières années,
avec les sociétés pharmaceutiques suivantes

- ❖ Recherches cliniques / travaux scientifiques :
Abbott, BioMérieux, Roche, Sanofi-Pasteur, SP-MSD,
- ❖ Advisory boards :
- ❖ Intérêts indirects (invitations à des congrès nationaux ou internationaux):
Pfizer, BioMérieux, GSK
- ❖ Autres
Conseil Scientifique du GEIG, Conseil Scientifique d'ESWI

Historique de la prise en charge de la grippe

- Façon 1918 : contemplative et déconcertée
- Façon 1957 : mesures d'hygiène plus ou moins adaptées
- Façon 1968 : très orientée diagnostic
- Façon 2009 : en temps réel
 - Nécessité de diagnostic étiologique rapide
 - Mise en place thérapeutique précoce
 - Formes simples prise en charge hors de l'hôpital
 - Besoin d'un crible rapide aux urgences
 - Besoin d'un diagnostic en ville sans avoir recours au labo
- Façon 2012 : pour les virus émergents
 - Capacité diagnostique pour les virus H3N2v
 - Capacité diagnostique pour les virus aviaires H7N9, H10N8, etc

Positionnement actuel des TDR ou TROD

- Intérêt pratique :
 - Biologie rapide pour les nuls (test bandelette)
 - Biologie au lit du patient donc réalisable hors de l'hôpital
 - Diagnostic factuel si positif
- Intérêt financier :
 - Cout parfois inférieur aux tests conventionnels
 - Permet une prise en charge orientée
 - Thérapeutique
 - Épidémiologique
- Intérêt en cas d'alerte pour des pathogènes émergents
 - Prise en charge adaptée

QUE SAVOIR DES TDR (TROD) GRIPPE?

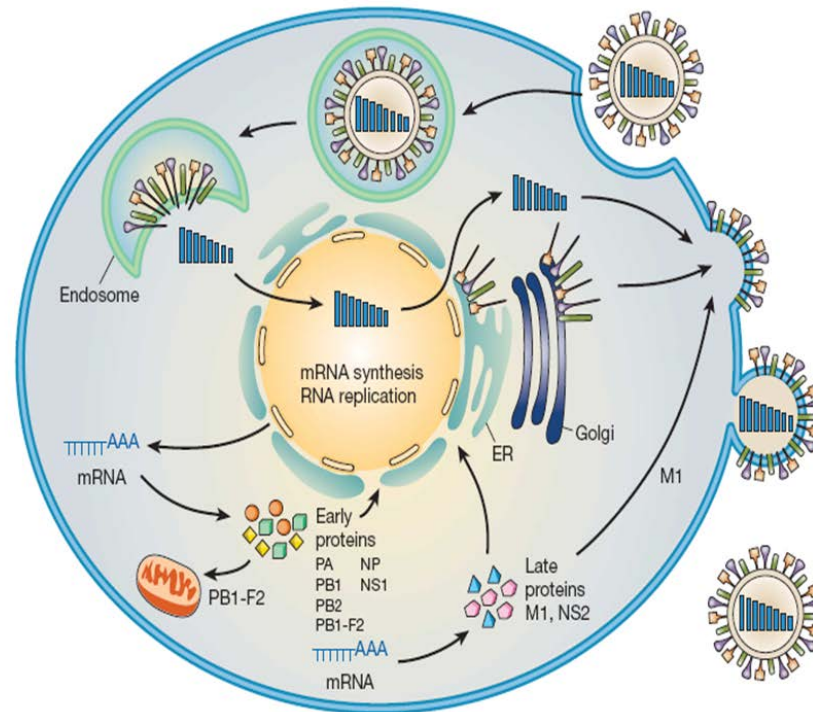
Le bon usage de ces tests suppose une bonne connaissance de la biologie des virus influenza et de ces tests!

Quelles questions doit-on se poser :

- Pourquoi les appellent-on TROD?
- Quel prélèvement faire
- Quand le faire chez le patient
- A quels patients faut-il/peut-on le faire
- Que détecte ce test rapide?
- Quelles sont ses limites
- Comment lire ce test (l'ai-je lu comme il faut?)
- Comment interpréter le résultat obtenu

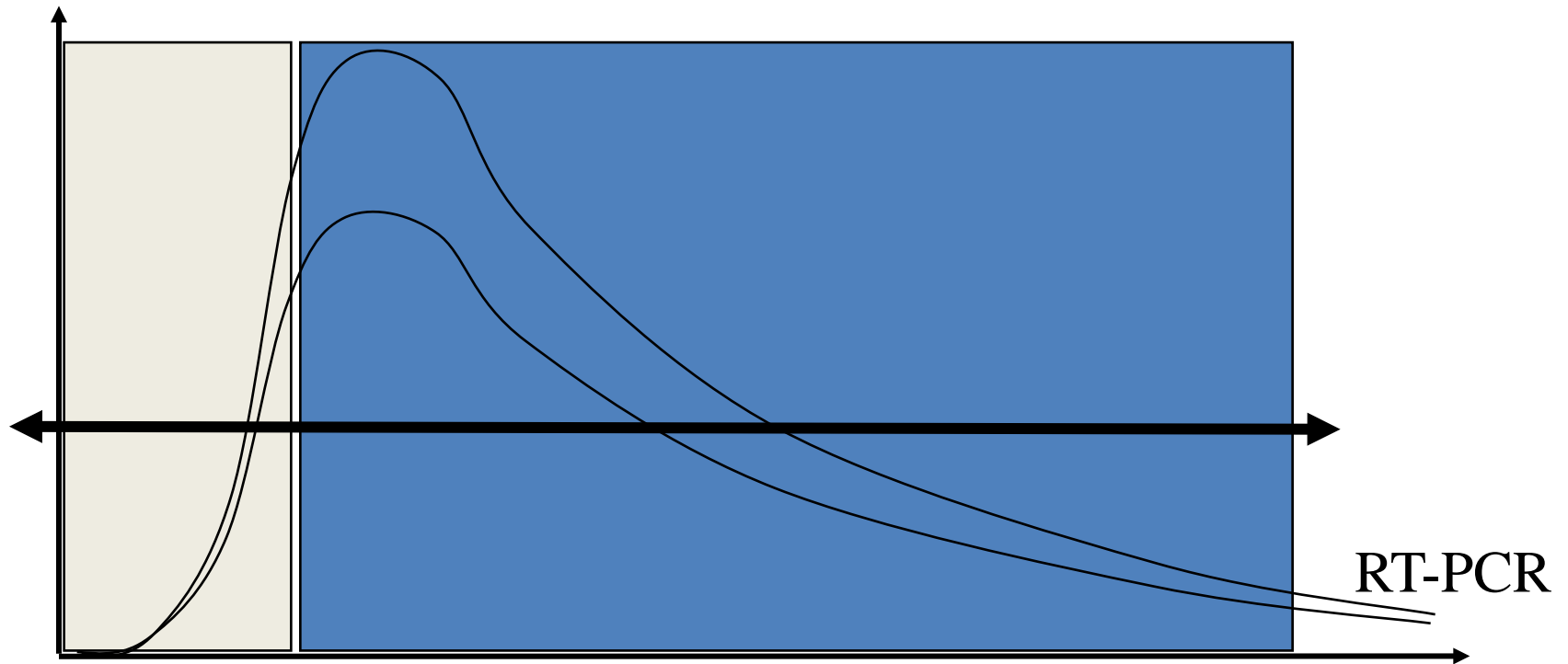
Biologie de la réplication des virus influenza

- La plupart (tous) les TDR grippe détectent la protéine NP, la protéine la plus abondante lors de l'infection cellulaire, et stable au sein d'un type de virus influenza

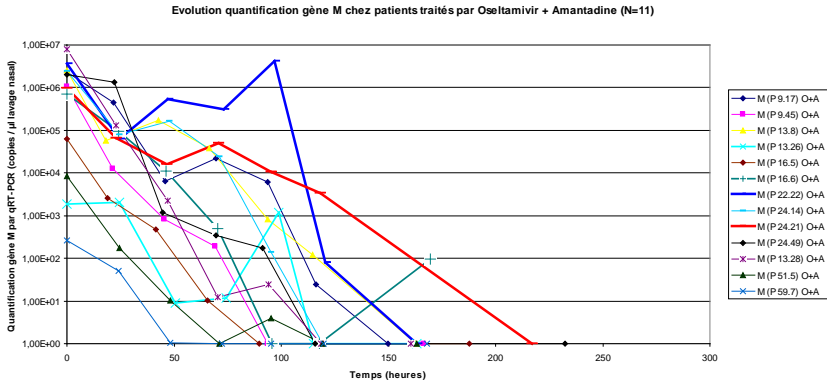
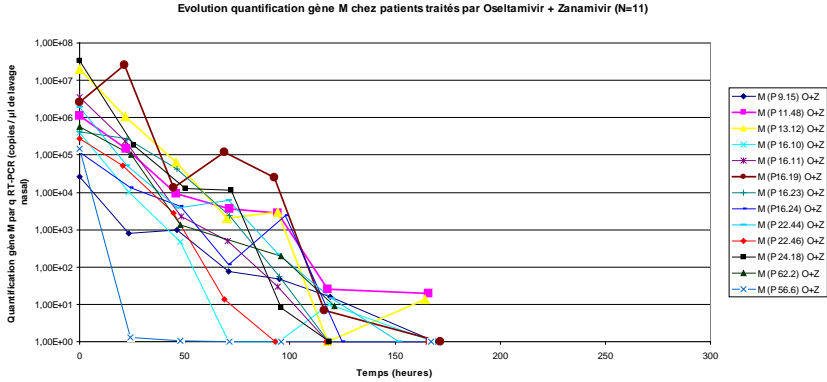
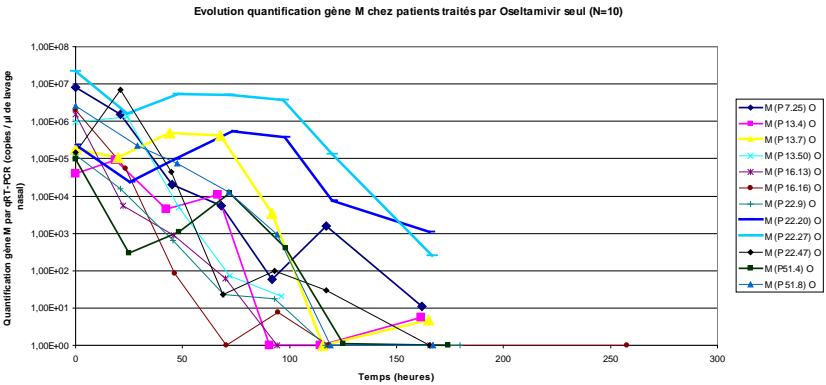


La quantité de virus présente au site de l'infection est évolutive au cours de la maladie

- Le pic est 12h après le début des signes cliniques, avec des valeurs très élevées chez l'enfant, et nettement plus basses chez la personne âgée. La décroissance est significative dès le 4^e jour.



Combina study : exemple de charges virales nasales mesurées par RT-PCR



Comment positionner les TROD grippe par rapport aux autres techniques diagnostiques

Evaluation of multiple test methods for the detection of the novel 2009 influenza A (H1N1) during the New York City outbreak

Christine C. Ginocchio^{a,*}, Frank Zhang^a, Ryhana Manji^a, Suman Arora^a, Mark Bornfreund^a, Leon Falk^a, Madhavi Lotlikar^a, Margaret Kowerska^a, George Becker^a, Diamanto Korologos^a, Marcella de Geronimo^b, James M. Crawford^a

Table 4
Comparison of rapid antigen testing, DFA, R-Mix culture and RVP for the detection of all influenza A subtypes combined and for novel H1N1.

	Sensitivity		Specificity		PPV		NPV	
	Flu A ^a (%)	H1N1 ^b (%)	Flu A (%)	H1N1 (%)	Flu A (%)	H1N1 (%)	Flu A (%)	H1N1 (%)
Rapid Ag	20.7	17.8	93.6	93.6	84.1	77.4	41.8	47.9
DFA	48.6	46.7	94.5	94.5	93.5	91.3	52.8	58.9
R-Mix	82.7	88.9	100	100	100	100	77.9	87.9
RVP	97.8	97.8	100	100	100	100	99.1	97.3

PPV, positive predictive value; NPV, negative predictive value; DFA, direct fluorescent antibody test. A total of 288 samples were tested by all four methods. There were 4 samples with no influenza A subtyping (positive by R-Mix only) and 175 samples positive for influenza A (seasonal H1N1, n = 1; seasonal H3N2, n = 42; novel H1N1, n = 132).

^a Comparison of all influenza A positive samples, including seasonal H1N1, H3N2 and novel H1N1.

^b Comparison of only novel H1N1 positive samples.

Connaissance du niveau d'excrétion virale dans les VAS d'un grippé banal

Performance of laboratory diagnostics for the detection of influenza A(H1N1)v virus as correlated with the time after symptom onset and viral load

Peter K.C. Cheng, Kitty K.Y. Wong, Gannon C. Mak, Ann H. Wong, Anita Y.Y. Ng, Salina Y.K. Chow, Ricky K.H. Lam, C.S. Lau, K.C. Ng, Wilina Lim*

Table 1
Comparison of viral culture and RT-PCR for the detection of influenza A(H1N1)v infection.

Days after symptom onset	All respiratory specimen types				Nasopharyngeal aspirate				Throat and nasal swabs			
	No. tested	Positive rate by the following methods			No. tested	Positive rate by the following methods			No. tested	Positive rate by the following methods		
		Viral culture and RT-PCR	Viral culture	RT-PCR		Viral culture and RT-PCR	Viral culture	RT-PCR		Viral culture and RT-PCR	Viral culture	RT-PCR
0	85	90.6	95.3	95.3	29	100.0	100.0	100.0	31	83.9	93.5	90.3
1	216	96.3	97.7	98.6	79	98.7	98.7	100.0	78	92.3	94.9	97.4
2	123	94.3	96.7	97.6	44	95.5	95.5	100.0	49	91.8	95.9	95.9
3	89	93.3	94.4	98.9	40	92.5	92.5	100.0	31	90.3	93.5	96.8
4	38	84.2	84.2	100.0	18	83.3	83.3	100.0	15	80.0	80.0	100.0
>4	36	66.7	66.7	100.0	19	63.2	63.2	100.0	11	72.7	72.7	100.0
Total	587	92.0	93.9	98.1	229	93.0	93.0	100.0	215	88.8	92.6	96.3

Evolution de la prise en charge de la grippe en 2009

- **Façon 2009 : diagnostic en temps réel**
 - Nécessité de diagnostic étiologique rapide
 - Besoin d'une mise en place thérapeutique précoce (INA)
 - Formes simples prise en charge hors de l'hôpital
 - Besoin d'un crible rapide aux urgences
 - Besoin d'un diagnostic en ville sans avoir recours au labo
 - Pas d'outil spécifique disponible dans les laboratoires hors CHU
- **Pression des fabricants pour utiliser leurs TDR**
- **Mais....**

Evaluation de tests rapides réalisée en Aout 2009 (travail IMMI)

Tableau 2 : Resultats des sensibilité et spécificité des TDR.

Marseille		RT-PCRq		
		Positif	Negatif	
TDR (BD)	Positif	21	0	
	Negatif	20	217	
258 fait				5 H3 ou H1 sais

Sens : 52% ; spécificité : 100%

Lyon		RT-PCRq		
		Positif	Negatif	
TDR (binax)	Positif	8	1	
	Negatif	13	10	
36 fait				4 H3 ou H1 sais

Sens : 38% ; spécificité : 91%

Lyon		RT-PCRq		
		Positif	Negatif	
TDR (clearview)	Positif	4	0	
	Negatif	15	17	
41 faits				4 H3 ou H1 sais

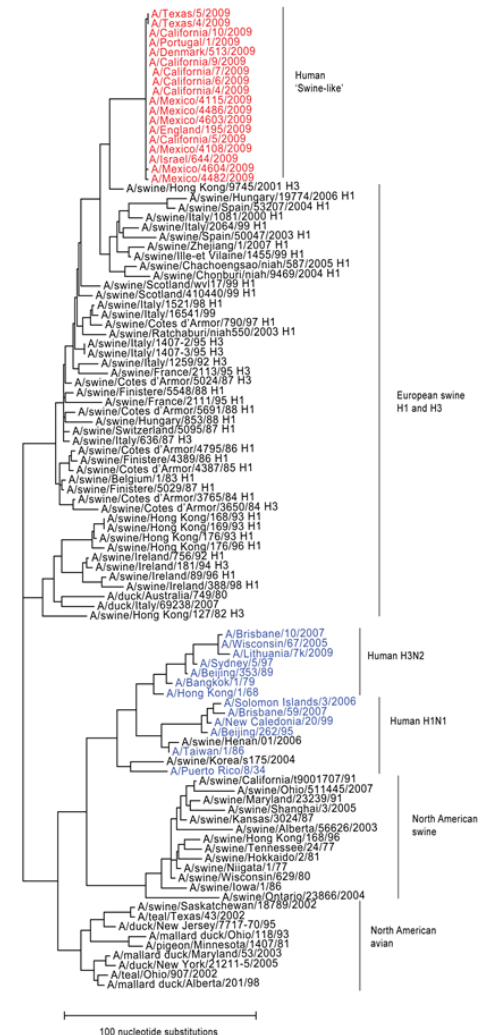
Sens : 21% ; spécificité : 100%

Lyon-caen-paris		RT-PCRq		
		Positif	Negatif	
TDR (quickvue)	Positif	28	1	
	Negatif	40	289	
106 faits				8 H3 ou H1 sais

Sens : 41% ; spécificité : 99%

Paris		RT-PCRq		
		Positif	Negatif	
TDR (eurobio)	Positif	10	0	
	Negatif	20	13	
43 faits				

Sens : 33% ; spécificité : 100%



Evaluation faite par le CDC US sur les TDR disponibles aux USA (2012)

Number of positive samples in each dilution and percentage of positive samples in each virus group, by RIDT kit — United States, 2012

RIDT kit (Company)	A (pH1N1)*					A (H1N1)†					A (H3N2)‡					Influenza B§				
	10 ⁻¹	10 ^{-1.5}	10 ^{-2.0}	10 ^{-2.5}	10 ^{-3.0}	10 ⁻¹	10 ^{-1.5}	10 ^{-2.0}	10 ^{-2.5}	10 ^{-3.0}	10 ⁻¹	10 ^{-1.5}	10 ^{-2.0}	10 ^{-2.5}	10 ^{-3.0}	10 ⁻¹	10 ^{-1.5}	10 ^{-2.0}	10 ^{-2.5}	10 ^{-3.0}
SAS FluAlert Influenza A&B (SA Scientific)	3	0	0	0	0	15	9	0	0	0	18	6	0	0	0	21	21	9	0	0
SAS FluAlert Influenza A**; FluAlert Influenza B** (SA Scientific)	6	0	0	0	0	3	0	0	0	0	3	0	0	0	0	21	18	3	0	0
3M Rapid Detection Flu A+B Test (Response Biomedical Corp. for 3M Healthcare)	12	9	0	0	0	18	13	7	0	0	18	16	10	0	0	21	21	19	5	0
BinaxNOW Influenza A&B** (Inverness Medical)	12	0	0	0	0	12	6	0	0	0	15	0	0	0	0	20	9	0	0	0
Remel X/pect Flu A&B (Thermo Fisher Scientific)	9	0	0	0	0	18	11	3	0	0	18	9	3	0	0	21	21	15	0	0
TRUFLU (Meridian Bioscience, Inc.)	12	9	0	0	0	18	12	3	0	0	18	18	6	0	0	21	18	5	0	0
OSOM Influenza A&B (Sekisui Diagnostics)	12	9	0	0	0	15	9	4	0	0	18	9	0	0	0	21	18	2	0	0
QuickVue Influenza A+B** (Quidel Corp.)	12	12	0	0	0	18	12	9	0	0	18	18	12	0	0	21	21	21	3	0
QuickVue Influenza** (Quidel Corp.)	12	9	0	0	0	18	12	9	0	0	18	18	6	0	0	21	21	18	3	0
BD Directigen EZ Flu A+B (Becton, Dickinson and Co.)	12	12	9	0	0	18	18	9	0	0	18	18	9	0	0	21	21	3	0	0
Status Flu A+B (Princeton BioMeditech Corp.)	12	9	3	0	0	18	18	9	3	0	18	15	9	3	0	18	15	9	0	0



Evaluation de la sensibilité analytique et de la convivialité d'utilisation des TROD grippe disponibles en France (étude DGS – ANSM – CNR influenza)

- La loi autorise depuis 2 ans l'utilisation des test rapide d'orientation diagnostic grippe par les médecins, ou les pharmaciens
- L'ANSM recense 22 kits TROD Grippe disponibles sur le marché
- Tous ces tests n'ont pas la même facilité d'emploi et d'utilisation
- Tous ces tests n'ont pas la même performance analytique
- Il va être nécessaire de communiquer sur les performances mesurées objectivement lors de l'évaluation de ces tests (notamment la sensibilité).

Protocole d'étude

- Une suspension calibrée des 4 références vaccinales de l'Hiver 2014-2015 sont produites (H1N1, H3N2, B Vic et B Yam)
- Une gamme de 4 dilutions de raison 10 est préparée pour chaque référence pour faire l'analyse simultanée des performances des 22 kits.
- Une fiche d'appréciation de la souplesse d'utilisation des kits préparée à l'avance avec l'ANSM et la DGS est remplie par l'utilisateur/évaluateur technique
- Les résultats sont colligés et les kits groupés par indice de performances
- Un tableau sera secondairement préparé reprenant les performances analytiques et les critères de convivialité d'utilisation pour diffusion aux utilisateurs potentiels (septembre 2014)



HERA safe



QUICKVUE
GUIDEL Influenza A+B TEST
25 Tests

SA Scientific
SAS Adeno Test
Lot No. 087000
25 Tests
Date of Mfg. 402031
JUN 3 0 2015

Rapid diagnostic test
actim
INFLUENZA A&B

ONE STEP Influenza virus A/B/A(H1N1) Pandemic RAPID TEST 25Tests
SD
Influenza Ag A/ B/ A(H1N1) Pandemic

OnSite Rapid Test

Influenza A+B

クイックナビ
Flu
QuickNavTM Flu

Influ-A&B Respi-Strip
Aere
CORIS



BD

ADIA

BD VeritorTM System Reader
258055
P220481
2016-01-31

Influenza A+B

Clearview Exact Influenza A & B

iPLINE Influenza A&B-N

BimaxNOW RSV Card

Influenza Ag

SD

SD



POWDER FREE

Nom du test :

N°

Fournisseur :

Date :

1) Les indispensables (scores)		5) Matériel fourni adéquat (score)	
Volume de la prise d'essai		Emballage individuel	
< 200 µL		Portoir	
Volume précisé dans la notice		Minuteur	
Présence de contrôles : deux types		Tube d'extraction	
. Contrôle interne de la réaction		Cassette fermée	
. Contrôle de spécificité :		Tube ouvert	
Positif		Etiquetage possible du test	
Négatif		6) Facilité de réalisation (score)	
Température de conservation du TDR :		Température de l'échantillon pour la réaction	
. Température ambiante		2 étapes	
Durée totale de la réaction :		3 étapes	
2) Présentation des réactifs (score)		> 3 étapes	
Présentation générale		Fragilité des bandelettes (oui / non)	
Identification des réactifs ou consommables		Projections (oui / non)	
3) Notice (score)		7) Autres critères (score /)	
Présentation générale			
Français			
Lisible			
Compréhensible			
Protocole résumé			
4) Production de déchets (score) :		Score total /	
(2 infectieux + emballage)			
>3 pièces		Réactions croisées (score / 20)	
		Réaction croisée avec le milieu (oui / non)	
		Réaction croisée A et B (oui / non)	

Premiers résultats analytiques

		1		2		3		4		5		6		7		8		9		10		11		12		13		14		15		16		17		18		19		20		21		22			
Grippe		A	B	A	B	A	B	A	B	A	B	A	B	A	B	A	B	A	B	A	B	A	B	A	B	A	B	A	B	A	B	A	B	A	B	A	B	A	B	A	B	A	B				
Dilutions de souches testées	1/100	■	■																																												
	1/1000	■	■	■	■	■	■	■	■																																						
	1/10000	■	■																																												
	1/100000	■	■																																												

Groupe 1: sensibilité maximale n=2

A = 10e-4

B = 10e-3

Groupe 2: sensibilité intermédiaire n=11

A = 10e-3

B = 10e-2 (n=6) ou 10e-3 (n=4) ou négatif (n= 1)

Groupe 3: sensibilité faible n=6

A = 10e-2

B = 10e-2 (n= 4) ou négatif (n= 2)

Groupe 4: Faux positifs dans nos conditions n=2

Conclusions

- ❖ **Un TROD doit être maîtrisé par son utilisateur pour être utilisé à bon escient**
- ❖ **Certains kits marqués CE ont une performance analytique jusqu'à 100 fois inférieure à celle des meilleurs kits disponibles**
- ❖ **Ces kits ne sont validés que pour la grippe saisonnière, et sont « a priori » inadaptés pour les virus influenza zoonotiques**
- ❖ **Un prélèvement de mauvaise qualité avec un très bon kit ne donnera jamais de bon résultat**
- ❖ **Les TROD grippe ont en général une excellente VPP, mais une VPN très variable et souvent mauvaise**

Remerciements

Maude Bouscambert

Remy Fanget

Clio Socratous

Gwendolyne Burfin

Martine Valette

Murielle Sabatier

Sylvie Fiorini

Jean Sebastien Casalegno

Emilie Frobert

Michelle Ottmann

Vanessa Escuret



Hôpitaux de Lyon



Réserve à Diapos



Histoire du diagnostic direct de la grippe

- Culture sur œuf embryonné de poule (1934)
- Culture sur lignées cellulaires (1957)
- Détection par immunofluorescence (1980)
- Détection par ELISA rapide (1985)
- Détection par RT-PCR (1990)
- Détection par test immunochromatographique sur mb (2000)
- Détection par real-time RT-PCR (2006)
- Détection par puce a ADN (2006)

Les TROD détectent-ils les virus émergents?

Comparative analytical sensitivities of six rapid influenza A antigen detection test kits for detection of influenza A subtypes H1N1, H3N2 and H5N1

K.H. Chan^a, S.Y. Lam^a, P. Puthavathana^b, T.D. Nguyen^c, H.T. Long^d, C.M. Pang^a,
K.M. Chan^a, C.Y. Cheung^a, W.H. Seto^a, J.S.M. Peiris^{a,*}

Table 1

The TCID₅₀ limit of detection of each influenza A virus in different rapid antigen detection test kits

Influenza A virus source and subtype	Virus designation	TCID ₅₀ (log ₁₀ /0.1 ml)	log ₁₀ TCID ₅₀ limit of detection					
			Quidel QuickVue A+B	BinaxNow	Directigen Flu A+B	Directigen EZ Flu A+B	Sysmex	Genzyme
Avian H5N1	A/Chicken/Vietnam/33/04	5.5	2.5	3.0	3.0	2.7	3.3	4.0
Human H5N1	A/Vietnam/3028/04	6.7	3.3	4.0	3.3	4.0	4.9	5.2
	A/Thailand/MK2/04	6.2	3.4	4.0	3.9	3.4	4.2	4.7
Mean detection limit for H5N1 viruses		6.1	3.1	3.7	3.4	3.4	4.1	4.6
Human H1N1	A/Hong Kong/31988/05	7.3	4.0	4.8	4.5	4.3	4.8	5.3
	A/Hong Kong/34220/05	6.0	2.6	3.7	2.6	2.7	3.7	4.5
Human H3N2	A/Hong Kong/37039/05	7.3	4.1	4.8	4.8	4.5	4.8	5.8
	A/Hong Kong/35048/05	6.5	3.5	4.5	3.7	4.0	4.5	5.0
Mean detection limit for H1N1 or H3N2 viruses		6.8	3.5	4.4	3.9	3.9	4.4	5.1
Overall mean detection limit		6.5	3.3	4.1	3.7	3.6	4.3	4.9
Equivalent volume of samples used in each test (μl)			280	100	60.7	128.3	21.2	21.2