



**HAL**  
open science

## Evaluation of seven immunochromatographic assays for the rapid detection of human rotaviruses in fecal specimens

Fabienne F. Bon, J. Kaplon, M.-H. Metzger, Pierre P. Pothier

► **To cite this version:**

Fabienne F. Bon, J. Kaplon, M.-H. Metzger, Pierre P. Pothier. Evaluation of seven immunochromatographic assays for the rapid detection of human rotaviruses in fecal specimens. *Pathologie Biologie*, 2006, 55 (3-4), pp.149-53. 10.1016/j.patbio.2006.07.044 . hal-00452265

**HAL Id: hal-00452265**

**<https://hal.science/hal-00452265>**

Submitted on 1 Feb 2010

**HAL** is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

Evaluation of seven immunochromatographic assays for the rapid detection of human rotaviruses in fecal specimens

**F. Bon<sup>a</sup>, J. Kaplon<sup>a</sup>, M.-H. Metzger<sup>b</sup> and P. Pothier<sup>a</sup>**

<sup>a</sup>Laboratoire de virologie et CNR des virus entériques, CHU de Dijon médecine, 1, boulevard de Lattre-de-Tassigny, 21079 Dijon, France

<sup>b</sup>Sanofi–Pasteur, MSD, Lyon, France

## **1. Introduction**

Les rotavirus du groupe A sont les principaux agents pathogènes à l'origine d'un nombre important de diarrhées infantiles à travers le monde [1] and [2]. Dans les pays développés ils sont responsables d'épidémies hivernales touchant principalement les enfants de moins de trois ans. La prise en charge thérapeutique rapide et adaptée a considérablement réduit la mortalité mais l'impact économique reste important. En France, ils sont responsables annuellement d'environ 140 000 consultations et 18 000 hospitalisations. Le diagnostic virologique rapide fait partie des procédures mises en place en milieu hospitalier pour mieux identifier les enfants infectés et limiter la diffusion des infections nosocomiales. Les méthodes ELISA, d'agglutination latex et plus récemment d'immunochromatographie (ICG) ont été utilisées en routine dans les laboratoires. Les réactifs d'immunochromatographie se révèlent être sensibles, spécifiques et d'utilisation simples pour être utilisés en routine voire même au lit du patient [3] and [4].

Le but de ce travail a été l'évaluation de la sensibilité et de la spécificité d'un test d'agglutination latex et de sept tests d'immunochromatographie pour la détection rapide des rotavirus dans les selles humaines par comparaison à une technique ELISA précédemment décrite [5] and [6], validée dans notre laboratoire et commercialisée par la société Argene. De plus, la simplicité d'utilisation de ces tests a été évaluée dans l'éventualité d'une utilisation au cabinet médical.

## **2. Matériels et méthodes**

### **2.1. Les troussees commerciales évaluées**

Les performances de huit trousse commerciales permettant de détecter les rotavirus (et pour certains les rotavirus et les adénovirus) ont été évaluées : un test d'agglutination latex (Slidex Rotakit, bioMérieux) et sept tests d'immunochromatographie (Combo Rota/Adeno Stick [All Diag (Strasbourg, France)], Diarlex<sup>®</sup>MB avec une étape de centrifugation ou Diarlex<sup>®</sup>MB/Entérofiltres avec une étape de filtration [Orion Diagnostica (Espoo, Finland)], Rota/Adeno Combi Stick [bmd (biomedical diagnostics, France)], Rotascreen<sup>®</sup> Dipstick [Microgen, UK], ROTA Strip quick Test [Cypress Diagnostic, Belgium], VIKIA Rota-Adeno [bioMérieux, France]).

Les tests ont été réalisés selon les indications des fabricants (procédures schématisées dans le Tableau 1). Brièvement, pour les tests par immunochromatographie, quelques gouttes de la suspension sont déposées sur la membrane du puits échantillon du dispositif. Pour le réactif Diarlex<sup>®</sup>MB, deux procédures ont précédé ce dépôt :

- une centrifugation de dix minutes à 1000 g environ de la suspension de selle ;
- ou bien une préparation dans un flacon spécifique (« Entérofiltre ») et dépôt par filtration sur la membrane.

**Tableau 1.**  
Résumé des principales caractéristiques et de la praticabilité des sept trousse commerciales d'immunochromatographie et du test d'agglutination latex

	<b>Matériel nécessaire</b>	<b>Facilité de la lecture</b>	<b>Virus détectés</b>
Combo Rota/Adeno All Diag	T-P	+	Rotavirus et adénovirus
Diarlex <sup>®</sup> MB avec centrifugation Orion Diagnostica	V-T-P Centrifugeuse	++	Rotavirus et adénovirus
Diarlex <sup>®</sup> MB avec système de filtration Orion Diagnostica	Aucun	+ <sup>a</sup>	
Rota/Adeno Combi Stick-bmd	V	+	Rotavirus et adénovirus
Rotascreen <sup>®</sup> -Microgen	V-T	++	Rotavirus
ROTA Strip-Cypress Diagnostics	V-T-P	++	Rotavirus
VIKIA Rota-Adeno-bioMérieux	Aucun	+++	Rotavirus et adénovirus

	<b>Matériel nécessaire</b>	<b>Facilité de la lecture</b>	<b>Virus détectés</b>
Slidex Rota/Adeno–bioMérieux (Latex)	V–T–P Centrifugeuse	++	Rotavirus et adenovirus

T : tube pour analyse. V : flacon pour dilution. P : pipettes et embouts.

<sup>a</sup> 20 % de résultats indéterminés.

L'échantillon migre par capillarité le long de la membrane, des bandes colorées apparaissent au niveau du contrôle et en cas de positivité au niveau des anticorps spécifiques. Le test d'agglutination latex met en présence des microbilles recouvertes d'anticorps et la suspension de selles. Le résultat est à comparer à la réaction témoin avec des billes non sensibilisées dont l'agglutination mettrait en évidence des interférences entraînant une impossibilité d'interprétation.

## **2.2. Les tests de référence**

### **2.2.1. ELISA**

Le test ELISA est réalisé sur microplaque et il permet la détection des rotavirus du groupe A en 1 heure 30 minutes. Cette technique avait été validée [5] and [6] dans notre laboratoire, elle est actuellement commercialisée par la société Argene.

### **2.2.2. RT-PCR**

Après extraction des acides nucléiques d'une suspension de selles, la détection du génome et la détermination du génotype des rotavirus de groupe A ont été effectuées par RT-PCR suivies d'une « nested PCR » amplifiant une séquence des gènes 9 [7], [8] and [9] et 4 [10].

## **2.3. Sélection des échantillons pour l'étude de la sensibilité**

Les échantillons provenaient de patients diarrhéiques prélevés lors de deux études en France [11] and [12] et avaient été considérés comme positifs par ELISA et RT-PCR. Des aliquotes de 97 échantillons de selles ont été conservées congelés à –40 °C puis décongelés de façon identique afin qu'ils puissent être analysés dans les mêmes conditions quels que soit les méthodes ou réactifs. Outre les réactifs en évaluation, ces échantillons décongelés ont été analysés de nouveau par ELISA afin d'estimer l'effet des étapes de congélation–décongélation

sur les résultats des tests d'immunologiques. Les prélèvements donnant des résultats négatifs en ELISA après décongélation ou discordants entre les différentes méthodes ont été de nouveau contrôlés par RT-PCR.

#### 2.4. Sélection des échantillons pour l'étude de la spécificité

La spécificité a été évaluée sur 100 échantillons de selles négatives (RT-PCR et ELISA) provenant d'enfants ou d'adultes de moins de 25 ans (71 patients diarrhéiques et 29 asymptomatiques). Ces échantillons conservés à +4 °C ont été analysés par immunochromatographie ou agglutination latex moins de 24 heures après leur prélèvement.

### 3. Résultats et discussion

Parmi les 97 échantillons considérés initialement rotavirus positifs par ELISA et RT-PCR, 17 (17,5 %) ont été retrouvés négatifs en ELISA après décongélation. Pour ces 17 prélèvements, la densité optique de l'ELISA initiale avant congélation était largement inférieure à celle obtenue pour les 80 prélèvements positifs après décongélation (Tableau 2). Ces 17 prélèvements ont été exclus des calculs pour la détermination de la sensibilité, même si la plupart d'entre eux (15/17) étaient aussi négatifs avec les tests d'immunochromatographie.

**Tableau 2.**

**Valeurs des densités optiques (DO) des 97 échantillons positifs obtenus avant et après congélation-décongélation. La valeur seuil se situait entre 0,105 et 0,163 pour les analyses effectuées avant congélation et à 0,106 pour celles effectuées après décongélation**

<b>DO EIA avant congélation</b>	<b>Résultats EIA après décongélation</b>	<b>DO EIA après décongélation</b>	
0,307 à 2,636	Négatifs ( <i>n</i> = 17)		
Moyenne = 0,949			
Médiane = 0,723			
	Positifs ( <i>n</i> = 80)	ICG positifs ( <i>n</i> = 48)	0,318 à 2,599
			Moyenne = 1,539
0,391 à 3,000			Médiane = 1,547
Moyenne = 1,940		ICG discordants ( <i>n</i> = 32)	0,106 à 2.415
Médiane = 2,162			Moyenne = 1,609
			Médiane = 1,855

Pour les 80 échantillons positifs en ELISA et retenus pour la suite de l'étude, la distribution des géotypes était ainsi : G1,P [8] 81 %, G4,P [8] 9 %, G3,P [8] 4 %, G2,P [4] 1 %, G1,P [6] 1 %, G1,P [4] 1 % et 4 % de souches non typables. Parmi ces 80 prélèvements, 48 étaient positifs avec tous les tests évalués dans cette étude et 32 donnaient des résultats discordant (Tableau 3) sans que l'on puisse relier ces discordances à l'intensité de la densité optique obtenue avec la réaction ELISA ni à un géotype particulier.

**Tableau 3.**

**Les résultats des densités optiques et des tests d'immunochromatographie ou d'agglutination latex pour tous les prélèvements donnant des résultats discordants. La valeur seuil se situait entre 0,105 et 0,163 pour les analyses effectuées avant congélation et à 0,106 pour celles effectuées après décongélation. Parmi ces 32 échantillons discordants, 19 ont été choisis au hasard pour être analysés par RT-PCR après décongélation. Tous les échantillons étaient positifs par cette technique**

N°	N° d'ICGP positive	DO EIA avant congélation	DO EIA après décongélation	Slide x (latex)	VIKI A Rota-Adeno	Diarlex® MB avec filtration	Diarlex® M B avec centrifugation	Rota scree n°	Rota/Ade no Combi Stick	Combo Rota/Ade no	ROT A Strip
R27	1	0,391	0,909	-	-	Ind	-	-	-	-	+
R39	1	1,434	0,106	-	-	-	-	-	-	+	-
R48	1	0,627	0,634	-	-	-	-	-	-	-	+
R79	2	n.e.	1,921	-	-	-	-	+	-	-	+
R86	2	n.e.	2,181	-	-	-	-	+	-	-	+
R31	4	2,242	1,804	-	-	Ind	-	+	+	+	+
R96	4	n.e.	1,874	-	+	-	-	+	+	-	+
R4	5	3,000	2,151	Ind	+	Ind	+	+	+	Ind	+
R6	5	3,000	2,275	-	+	Ind	+	+	+	-	+
R29	5	2,321	1,312	-	+	Ind	-	+	+	+	+
R42	5	2,162	2,331	-	+	-	+	+	-	+	+
R46	5	0,436	1,933	+	+	+	-	+	-	+	+
R52	5	1,482	2,078	+	+	Ind	+	+	-	+	+
R66	5	1,902	0,545	-	+	+	+	+	-	-	+
R80	5	n.e.	2,250	+	+	-	+	+	+	-	+
R93	5	n.e.	1,996	+	+	-	+	+	+	-	+
R17	6	1,589	2,070	-	+	-	+	+	+	+	+
R20	6	2,340	1,312	+	+	Ind	+	+	+	+	+
R22	6	2,216	2,415	-	+	+	+	+	-	+	+
R30	6	2,394	2,385	+	+	-	+	+	+	+	+
R34	6	2,734	0,665	+	+	Ind	+	+	+	+	+
R40	6	2,277	1,130	+	+	-	+	+	+	+	+
R41	6	2,321	0,563	+	+	Ind	+	+	+	+	+
R43	6	2,644	1,676	+	+	+	+	+	-	+	+
R44	6	2,126	2,084	+	+	-	+	+	+	+	+
R50	6	1,042	2,187	+	+	+	+	+	-	+	+
R53	6	0,560	2,127	+	+	+	+	+	-	+	+

N°	N° d'ICG positive	DO EIA avant congélation	DO EIA après décongélation	Slide x (latex)	VIKI A Rota-Adeno	Diarlex® MB avec filtration	Diarlex® M B avec centrifugation	Rota screen®	Rota/Adeno Combi Stick	Combo Rota/Adeno	ROT A Strip
R61	6	2,126	1,457	+	+	-	+	+	+	+	+
R67	6	1,953	1,395	+	+	-	+	+	+	+	+
R82	6	n.e.	0,755	+	+	+	+	-	+	+	+
R89	6	n.e.	1,836	+	+	+	+	+	-	+	+
R99	6	n.e.	1,120	+	+	Ind	+	+	+	+	+

ICG : immunochromatographie. Ind : Résultats indéterminés. Pour les tests ICG, ils correspondent à une absence de réaction au niveau des bandes rotavirus et contrôle négatif. Ces résultats ont été considérés comme négatifs pour le calcul de la sensibilité. n.e. : non effectué.

Quoique les prélèvements aient été congelés et décongelés une seule fois, nous avons observé une chute de la densité optique (17 %) qui est liée à cette étape de décongélation plutôt qu'à des réactions faussement positives obtenues lors de l'analyse ELISA initiale. De fait, les résultats ELISA avaient été confirmés par ceux obtenus en RT-PCR. Ainsi, bien que les recommandations des fabricants autorisent la congélation des selles avant leur analyse, ces observations suggèrent que les étapes de congélation-décongélation affectent le résultat des analyses immunologiques (dégradation ou non réactivité des antigènes). Ce facteur doit être pris en considération lors de l'utilisation de ces tests, tout spécialement lors d'analyses rétrospectives.

Pour ces 80 prélèvements sélectionnés, la sensibilité des tests en évaluation s'étalait de 70 à 98,8 % avec trois groupes de réactifs (Tableau 4) : un premier groupe incluant Rota Strip (98,8 %), Rotascreen® (95,0 %) et VIKIA Rota/Adeno (92,5 %) avait une sensibilité supérieure à 90 % ; un second groupe incluant Diarlex® MB avec centrifugation (88,8 %), Combo Rota/Adeno (87,5 %), Rota/Adeno Combi Stick (82,5 %) avait une sensibilité comprise entre 80 et 90 % et enfin deux tests avaient une sensibilité inférieure à 80 %, le test

d'agglutination latex Slidex Rotakit, bioMérieux (77,5 %) et le test Diarlex<sup>®</sup>MB avec filtration (70,0 %). Parmi les 17 prélèvements éliminés après leur négativité en ELISA, deux ont été retrouvés positifs, l'un avec le test Rota Strip quick test (Cypress diagnostic) et l'autre avec le test VIKIA Rota/Adeno (bioMérieux).

**Tableau 4.**

**Comparaison de la sensibilité et de la spécificité des sept tests d'immunochromatographie et du test d'agglutination latex en référence aux résultats de la détection des rotavirus du groupe A par ELISA**

	<i>Spécificité (100 selles rotavirus A négatives)</i>		<i>Sensibilité (80 selles rotavirus positives)</i>	
	<i>% [95 % IC]</i>	<i>Résultats indéterminés (%)<sup>a</sup></i>	<i>% [95 % IC]</i>	<i>Résultats indéterminés (%)<sup>a</sup></i>
Combo Rota/Adeno–All Diag	100 [96,4 ; 100]	0	87,5 [78,2 ; 93,8]	1,2
Diarlex <sup>®</sup> MB avec centrifugation–Orion Diagnostica	100 [96,4 ; 100]	0	88,8 [79,7 ; 94,7]	0,0
Diarlex <sup>®</sup> MB avec flacon de filtration–Orion Diagnostica	100 <sup>b</sup> [96,3 ; 100]	31	70,0 [58,7 ; 79,7]	12,5
Rota/Adeno Combi Stick–bmd	100 [96,4 ; 100]	0	82,5 [72,4 ; 90,0]	0,0
Rotascreen <sup>®</sup> –Microgen	100 [96,4 ; 100]	0	95,0 [87,7 ; 98,6]	0,0
ROTA Strip–Cypress Diagnostics	100 [96,4 ; 100]	0	98,8 [93,2 ; 99,9]	0,0
VIKIA Rota-Adeno–bioMérieux	100 [96,4 ; 100]	0	92,5 [84,4 ; 97,2]	0,0
Slidex Rota/Adeno–bioMérieux (Latex)	100 [96,4 ; 100]	0	77,5 [66,8 ; 86,0]	5,0

<sup>a</sup> Absence de réaction au niveau de la bande contrôle négative (considérés comme négatifs pour le calcul de la sensibilité).

<sup>b</sup> Spécificité évaluées sur 97 échantillons.

La spécificité a été évaluée sur 100 prélèvements rotavirus négatifs (ELISA et RT-PCR). Aucun des sept tests par immunochromatographie ou le test d'agglutination latex n'a donné de résultats faussement positifs. Cependant, le test Diarlex<sup>®</sup>MB avec filtration donnait 31 résultats indéterminés à cause de l'absence de réaction dans le témoin. Pour ce test, c'était 22,8 % (31/177) des résultats qui étaient indéterminés pour l'ensemble des analyses, c'est-à-dire 97 prélèvements rotavirus négatifs (trois des 100 prélèvements n'ont pas pu être analysés

plusieurs fois faute de quantité suffisante) et les 80 résultats positifs. D'un point de vue diagnostique de routine cela entraîne l'absence de résultat ou la nécessité de refaire l'analyse sur un autre prélèvement.

Les performances des tests d'immunochromatographie utilisés dans cette étude montrent qu'ils sont meilleurs que les tests d'agglutination latex à l'exception du réactif Diarlex MB<sup>®</sup> avec filtration qui est le moins sensible et avec souvent des résultats ininterprétables. Ces résultats sont similaires avec l'étude d'une autre trousse commerciale [4]. En ce qui concerne les réactifs de notre étude, les résultats rapportés par les fabricants se situent entre 92 et 100 % pour la sensibilité et entre 97,7 et 100 % pour la spécificité, soit des chiffres correspondant aux trois réactifs les plus performants dans les conditions de notre étude (Rota Strip, Rotascreen<sup>®</sup> et VIKIA Rota/Adeno). Cependant, il y a peu d'information quant aux conditions de ces études — nature des échantillons utilisés (congelés ou non) — et aucune précision sur la méthode de référence. À notre connaissance, seul le réactif Diarlex<sup>®</sup>MB avec centrifugation a été évalué individuellement en prenant comme méthode de référence une technique ELISA commercialisée (IDEA<sup>®</sup> Rotavirus DAKO) [13] and [14]. L'une de ces études [13] rapportait une sensibilité et une spécificité de 94,9 % et 100 %, soit des performances supérieures à celles obtenues dans notre étude. Cette différence — faible si l'on tient compte de l'intervalle de confiance de nos résultats — peut être due aux conditions de l'étude (sélection des selles positives, congélation ou non des prélèvements avant l'analyse). La seconde étude [14] obtenait pour ce réactif des résultats similaires aux nôtres soit une sensibilité d'environ 87,5 %.

Au regard de la praticabilité, tous les tests par immunochromatographie sont d'utilisation facile et rapide (environ 13 minutes par analyse). Ils ne requièrent pas d'équipement coûteux ni de personnel expérimenté à l'exception de la technique Diarlex<sup>®</sup>MB avec centrifugation. De plus, quatre trousse commerciales (Combo Rota/Adeno, Rota/Adeno Combi Stick, Rotascreen<sup>®</sup> et VIKIA Rota/Adeno) ont l'avantage de se conserver à température ambiante et deux trousse sont prêtes à l'emploi (Diarlex<sup>®</sup>MB avec filtration et VIKIA Rota/Adeno). La quantité d'échantillon nécessaire pour l'analyse est comprise entre 20 et 10 µl, à l'exception de la trousse Diarlex<sup>®</sup>MB avec filtration pour laquelle il faut 1000 µl. L'évaluation de la positivité et de l'intensité de la réaction est aisée et peut être appréciée par du personnel non spécialisé (Tableau 1). Les trousse Combo Rota/Adeno, Rota/Adeno Combi Stick sont relativement faciles d'utilisation, mais le délai de leur réponse, supérieure à dix minutes, est

un peu long. Par ailleurs, quatre trousseaux pourraient présenter l'avantage de détecter également les adénovirus. Mais, il s'agit de la détection de l'ensemble des adénovirus y compris les adénovirus non entériques dont la responsabilité dans l'étiologie des gastroentérites n'est pas établie [15].

Les techniques ELISA sont sensibles et spécifiques. Adaptées aux analyses de grandes séries, elles ne le sont pas pour les analyses unitaires ou en urgence car elles exigent un minimum d'équipement de laboratoire et ont une durée minimale d'analyse trop longue. Dans ce cas les tests d'agglutination latex ou surtout d'immunochromatographie sont une bonne alternative, même s'ils peuvent paraître un peu moins sensibles que les tests ELISA. Au final, le choix parmi ces réactifs dépendra de leur coût et de leur facilité d'utilisation.

#### **4. Conclusion**

Les tests d'immunochromatographie présentent une excellente sensibilité et spécificité et sont parfaitement adaptés pour le diagnostic des rotavirus en routine. Dans cette étude, trois trousseaux commerciaux ont d'excellentes performances en termes de sensibilité et de spécificité, il s'agit de Rota Strip, Rotascreen<sup>®</sup> et VIKIA Rota/Adeno. Cette dernière a en outre l'avantage d'être d'une utilisation plus pratique. Outre son utilisation en routine dans les laboratoires, ses caractéristiques la désignent tout particulièrement pour une utilisation en dehors de tout environnement technique, notamment en pratique ambulatoire.

#### **Remerciements**

Nous tenons à remercier Jean-Baptiste Bour pour une relecture du manuscrit et Camille Arberet, pédiatre (service de pédiatrie du CHU de Dijon), pour la lecture et l'interprétation des tests en double insu dans le cadre de leur évaluation par une personne non spécialiste.

#### **References**

- [1] R.I. Glass, D.R. Lang, B.N. Ivanoff and R.W. Compans, Introduction: rotavirus--from basic research to a vaccine, *J. Infect. Dis.* **174** (Suppl 1) (1996), pp. S1–S2.
- [2] U.D. Parashar, E.G. Hummelman, J.S. Bresee, M.A. Miller and R.I. Glass, Global illness and deaths caused by rotavirus disease in children, *Emerg. Infect. Dis.* **9** (2003), pp. 565–572.

- [3] P.H. Dennehy, M. Hartin, S.M. Nelson and S.F. Reising, Evaluation of the ImmunoCardSTAT! rotavirus assay for detection of group A rotavirus in fecal specimens, *J. Clin. Microbiol.* **37** (1999), pp. 1977–1979.
- [4] I. Wilhelmi, J. Colomina, D. Martin-Rodrigo, E. Roman and A. Sanchez-Fauquier, New immunochromatographic method for rapid detection of rotaviruses in stool samples compared with standard enzyme immunoassay and latex agglutination techniques, *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.* **20** (2001), pp. 741–743.
- [5] P. Pothier and E. Drouet, Development and evaluation of a rapid one-step ELISA for rotavirus detection in stool specimens using monoclonal antibodies, *Ann. Virol. Institut Pasteur.* **137E** (1986), pp. 401–410.
- [6] E. Kohli, P. Pothier, F. Denis, F. Freymuth and A. Goudeau, Multicentre evaluation of a new commercial latex agglutination test using a monoclonal antibody for rotavirus detection, *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.* **8** (1989), pp. 251–253.
- [7] B.K. Das, J.R. Gentsch, Y. Hoshino, S. Ishida, O. Nakagomi and M.K. Bhan *et al.*, Characterization of the G serotype and genogroup of New Delhi newborn rotavirus strain 116E, *Virology* **197** (1993), pp. 99–107.
- [8] V. Gouvea, R.I. Glass, P. Woods, K. Taniguchi, H.F. Clark and B. Forrester *et al.*, Polymerase chain reaction amplification and typing of rotavirus nucleic acid from stool specimens, *J. Clin. Microbiol.* **28** (1990), pp. 276–282.
- [9] D.D. Griffin, C.D. Kirkwood, U.D. Parashar, P.A. Woods, J.S. Bresee and R.I. Glass *et al.*, Surveillance of rotavirus strains in the United States: identification of unusual strains. The National Rotavirus Strain Surveillance System collaborating laboratories, *J. Clin. Microbiol.* **38** (2000), pp. 2784–2787.
- [10] J.R. Gentsch, R.I. Glass, P. Woods, V. Gouvea, M. Gorziglia and J. Flores *et al.*, Identification of group A rotavirus gene 4 types by polymerase chain reaction, *J. Clin. Microbiol.* **30** (1992), pp. 1365–1373.
- [11] F. Bon, P. Fascia, M. Dauvergne, D. Tenenbaum, H. Planson and A.M. Petion *et al.*, Prevalence of group A rotavirus, human calicivirus, astrovirus, and adenovirus type 40 and 41 infections among children with acute gastroenteritis in Dijon, France, *J. Clin. Microbiol.* **37** (1999), pp. 3055–3058.
- [12] F. Bon, C. Fromantin, S. Aho, P. Pothier, E. Kohli and AZAY group, G and P genotyping of rotavirus strains circulating in France over a three-year period: detection of G9 and P [6] strains at low frequencies, *J. Clin. Microbiol.* **38** (2000), pp. 1681–1683.

- [13] R.T. Taty and P. Lebon, Etude des réactifs Diarlex LA et Diarlex MB pour la détection directe des rotavirus et des adénovirus dans les selles, *Ann. Biol. Clin. (Paris)* **60** (2002), pp. 697–700.
- [14] C. Regagnon, M. Chambon, C. Archimbaud, F. Charbonne, F. Demeocq and A. Labbe *et al.*, Diagnostic rapide des infections à rotavirus : étude prospective comparative de deux techniques de détection d'antigènes dans les selles, *Pathol. Biol. (Paris)* (2006).
- [15] M.S. Horwitz, Adenoviruses. In: D.M. Knipe and P.M. Howley, Editors, *Fields Virology*, 4th ed, vol. 2, Lippincott Williams and Wilkins, Philadelphia (2001), pp. 2301–2321.