

RIDA® GENE Flu

REF PG0505



1. Application

Pour usage diagnostique *in vitro*. Le test RIDA®GENE Flu, exécuté sur le Roche LightCycler® 480II, est un test de RT-PCR en temps réel multiplexe pour la détection qualitative directe et la différenciation de l'ARN du virus de la grippe (grippe A, grippe B et H1N1v) dans des frottis nasaux/de gorge humains non traités provenant de personnes présentant des signes et des symptômes d'infection respiratoire aiguë. Le test RIDA®GENE Flu est conçu pour étayer le diagnostic différentiel d'infections par un virus grippal chez des patients présentant des symptômes d'infection respiratoire conjointement à d'autres résultats cliniques et de laboratoire.

Des résultats négatifs n'excluent pas une infection par un virus grippal et ne doivent pas être utilisés comme seule base de diagnostic.

L'utilisation de ce produit est réservée aux professionnels travaillant dans des laboratoires hospitaliers, des laboratoires de référence, des laboratoires privés ou des laboratoires publics.

2. Résumé et explication du test

Causée par des virus grippaux, la grippe est l'une des maladies respiratoires infectieuses les plus importantes.

Trois à cinq millions de personnes dans le monde contractent la grippe chaque année et environ 290 000 à 650 000 personnes en meurent. Les épidémies de grippe annuelles peuvent avoir des répercussions majeures sur le système de santé et l'économie¹.

En Allemagne, on estime à environ 3,8 millions le nombre de consultations médicales liées à la grippe pendant la saison 2018/2019. Le nombre d'hospitalisations liées à la grippe en provenance de cabinets de médecine générale a été estimé à 18 000 cas².

Le Groupe de travail sur la grippe (AGI) de l'Institut Robert Koch estime que le nombre de consultations médicales liées à la grippe est compris entre un et sept millions par an. Lors des vagues sévères de grippe, telles que celles des saisons 2012/2013 et 2017/2018, les estimations s'élevaient à 30 000 hospitalisations et à 20-25 000 décès liés à la grippe. En revanche, lors des saisons plus clémentes (comme en 2013/2014), seules 3 000 hospitalisations ont été constatées, et aucune surmortalité associée à la grippe n'a été détectée^{2,3}.

Les virus grippaux sont des virus à ARN appartenant à la famille des orthomyxovirus et sont divisés en sous-types A, B et C. Les virus grippaux se caractérisent par la grande variabilité de leurs antigènes de surface, l'hémagglutinine (HA) et la neuraminidase (NA), due à des mutations (dérive antigénique). Les types de grippe A et B provoquent les épidémies annuelles de grippe, tandis que les infections par les virus grippaux C ne provoquent qu'une maladie bénigne.

Sur le plan épidémiologique, les virus de la grippe A sont les plus importants en raison de leur diversité: ils sont responsables de trois pandémies survenues au XXe siècle, ainsi que de la plupart des épidémies de grippe. Chez les humains, la plupart

des infections grippales de type A sont causées par les sous-types H1N1 et H3N2. À la dérive antigénique résultant des mutations s'ajoute le fait que la fusion de souches de grippe A humaines et non humaines peut entraîner la formation de nouveaux sous-types de grippe A (dérive antigénique), ce qui peut déclencher une pandémie. Le sous-type H1N1 de la grippe A est associé à des pandémies de grippe antérieures et potentiellement nouvelles (par exemple, la grippe espagnole en 1918/1919 et la grippe porcine en 2009). Aujourd'hui, ce sous-type de la grippe A est appelé H1N1v. Les virus grippaux sont transmis par gouttelettes et aérosols. La période d'incubation peut être d'environ un à quatre jours. Touchant principalement les voies respiratoires, les symptômes cliniques sont graves et généralement accompagnés de toux et d'une forte fièvre. Ces virus se caractérisent par une apparition soudaine des symptômes. En cas d'évolution vers une maladie grave, des pneumonies et des surinfections bactériennes peuvent survenir et s'avérer mortelles, en particulier pour les personnes âgées et les enfants⁴.

3. Principe du test

Le test RIDA[®]GENE Flu est un test de RT-PCR en temps réel multiplexe pour la détection qualitative directe et la différenciation des virus grippaux (grippe A, grippe B et grippe A sous-type H1N1v). La détection se fait dans un format de RT-PCR en temps réel en une seule étape: la transcription inverse (RT) et la PCR ultérieure se produisent dans le même flacon de réaction. Pendant le processus, l'ARN isolé est transcrit en ADNc à l'aide d'une transcriptase inverse. Les fragments de gènes spécifiques de la grippe A (gène de la protéine M), de la grippe B (gène NP) et de la grippe A sous-type H1N1v (gène H1) sont alors amplifiés par RT-PCR en temps réel.

Les séquences cibles amplifiées sont détectées à l'aide de sondes d'hydrolyse qui sont marquées avec un extincteur à une extrémité et avec un colorant fluorescent indicateur (fluorophore) à l'autre extrémité. Les sondes s'hybrident avec l'amplicon en présence d'une séquence cible. Pendant l'extension, la **Taq-Polymerase** sépare l'indicateur de l'extincteur. L'indicateur émet un signal fluorescent qui est détecté par l'unité optique d'un dispositif de PCR en temps réel. Le signal fluorescent augmente avec la quantité d'amplicons formés. Le test RIDA[®]GENE Flu contient un **Internal Control RNA** (ICR) pour contrôler la préparation de l'échantillon et/ou toute éventuelle inhibition de la PCR.

4. Contenu du paquet

Tableau 1: Contenu du paquet (les réactifs fournis dans le kit permettent de réaliser 100 déterminations.)

| Code du kit | Réactif | Quantité | | Couleur du couvercle |
|-------------|----------------------|----------|---------|----------------------|
| 1 | Reaction Mix | 2x | 1050 µl | Jaune |
| 2 | Enzyme Mix | 1x | 80 µl | Rouge |
| R | Internal Control RNA | 2x | 1700 µl | Brun |
| N | No Template Control | 1x | 450 µl | Blanc |
| P | Positive Control | 1x | 200 µl | Bleu |

5. Instructions de conservation

- Tous les réactifs doivent être conservés à -20 °C et à l'abri de la lumière et, s'ils ne sont pas ouverts, peuvent être utilisés jusqu'à la date de péremption figurant sur l'étiquette. Après la date de péremption, la qualité n'est plus garantie.
- Tous les réactifs doivent être soigneusement décongelés avant leur utilisation (par ex., dans un réfrigérateur entre 2 et 8 °C).
- Il est possible de congeler/décongeler les produits jusqu'à 20 fois sans altérer les propriétés du test (au besoin, créer des aliquotes après la première décongélation et recongeler immédiatement les réactifs).
- Refroidir correctement tous les réactifs pendant la préparation de la PCR (2 à 8 °C).

6. Réactifs requis, mais non fournis

Le test de RT-PCR en temps réel multiplexe RIDA®GENE Flu a été testé à l'aide de la combinaison suivante de plateforme d'extraction et d'instrument de PCR en temps réel:

Tableau 2a: Matériel nécessaire (vérifié)

| | |
|---|--------------------|
| Tampon d'extraction | |
| Promega | Maxwell® RSC |
| Dispositifs de PCR en temps réel | |
| Roche | LightCycler® 480II |

De plus, le test de RT-PCR en temps réel multiplexe RIDA®GENE Flu est compatible avec la plateforme d'extraction et les instruments de PCR en temps réel suivants:

Tableau 2b: Matériel nécessaire (compatible)

| Tampon d'extraction | |
|---|------------------|
| R-Biopharm | RIDA® Xtract |
| Dispositifs de PCR en temps réel | |
| R-Biopharm | RIDA®CYCLER |
| Agilent Technologies | Mx3005P |
| Applied Biosystems | ABI 7500 Fast Dx |
| Bio-Rad | CFX96™ |
| QIAGEN | Rotor-Gene Q |

Remarque: en cas d'utilisation du Rotor-Gene Q (QIAGEN), utiliser uniquement des flacons de réaction de 0,1 ml.

Si vous devez utiliser d'autres procédures d'extraction ou instruments de PCR en temps réel, contactez R-Biopharm à l'adresse mdx@r-biopharm.de.

- Système de prélèvement sur écouvillons stériles (p. ex., milieu eSwab® Amies, Copan Diagnostic Inc.)
- RIDA®GENE Color Compensation Kit IV (PG0004) lors de l'utilisation avec l'appareil LightCycler® 480II
- Consommables de PCR en temps réel (plaques, flacons de réaction, films)
- Centrifugeuse avec rotor pour les flacons ou les plaques de réaction
- Agitateur-mélangeur vortex
- Pipettes (0,5 à 20 µl, 20 à 200 µl, 100 à 1 000 µl)
- Pointes pour pipette dotées de filtres
- Gants jetables non poudrés
- Eau de PCR (sans nucléase)

7. Mesures de précaution

Exclusivement réservé au diagnostic *in vitro*.

- Ce test doit uniquement être réalisé 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.
- Ne pas pipeter les échantillons ou les réactifs à la bouche. Éviter tout contact avec les plaies et les membranes muqueuses.
- Lors de la manipulation des réactifs et 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.

- L'extraction, la préparation de la PCR et l'exécution de la PCR doivent être effectuées dans des salles différentes afin d'éviter toute contamination croisée.
- Les échantillons cliniques doivent être considérés comme du matériel potentiellement infectieux, de même que tous les réactifs et le matériel exposés à des échantillons potentiellement infectieux, et doivent être éliminés comme il se doit.
- Éliminer le kit de test à l'échéance de la date de péremption.
- Après utilisation, les utilisateurs sont responsables de la mise au rebut appropriée de tous les réactifs et matériaux. Pour la mise au rebut, respecter les règlements nationaux.

Pour en savoir plus, consulter les fiches de données de sécurité (FDS) sur www.r-biopharm.com.

8. Prélèvement et conservation des échantillons

8.1 Préparation de l'ARN à partir de frottis nasaux et de gorge

Un kit d'extraction d'acides nucléiques disponible dans le commerce (par ex., RIDA® Xtract [R-Biopharm]) ou un système d'extraction d'acides nucléiques (par ex., Maxwell® RSC [Promega]) est recommandé pour la préparation de l'ARN à partir de frottis. Il convient de respecter les instructions du fabricant.

Il est recommandé d'utiliser la quantité de milieu spécifiée par le fabricant dans le kit d'extraction d'acide nucléique ou le système d'extraction d'acide nucléique, et de suivre les instructions du fabricant.

Le test RIDA®GENE Flu comprend un **Internal Control DNA** qui indique une éventuelle inhibition de la PCR, vérifie l'intégrité des réactifs et confirme la réussite de l'extraction d'acides nucléiques. Le **Internal Control RNA** peut être utilisé uniquement comme un contrôle de l'inhibition ou comme un contrôle de l'extraction pour la préparation des échantillons en plus d'un contrôle de l'inhibition.

Si le **Internal Control RNA** est utilisé uniquement comme contrôle de l'inhibition, il convient d'en ajouter 1 µl au mélange maître (voir Tableau 3).

Si le **Internal Control RNA** est utilisé comme contrôle de l'extraction pour la préparation de l'échantillon et comme contrôle de l'inhibition, il convient d'en utiliser 20 µl pendant l'extraction. Le **Internal Control RNA** doit toujours être ajouté au mélange spécimen-tampon de lyse et **non** directement à l'échantillon. Il est recommandé de pipeter 1 µl de **Internal Control RNA** dans le mélange RT-PCR pour le contrôle négatif et le contrôle positif.

9. Réalisation du test

9.1 Préparation du mélange maître

Calculer le nombre total de réactions (échantillons et réactions de contrôle) nécessaires à la PCR. Un contrôle positif et un contrôle négatif doivent être inclus à chaque exécution du test.

Il est recommandé d'ajouter 10 % de volume de mélange maître de plus afin de compenser la perte au pipetage (voir Tableaux 3 et 4). Avant utilisation, décongeler le **Reaction Mix**, le **Enzyme Mix**, le **Positive Control**, le **No Template Control** et le **Internal Control RNA**, les mélanger soigneusement (à l'exception du mélange enzymatique) et les centrifuger brièvement. Toujours refroidir les réactifs correctement pendant les étapes de travail (2 à 8 °C).

Tableau 3: Exemple de calcul et de préparation du mélange maître pour dix (10) réactions (ICR pour extraction et contrôle de l'inhibition)

| Code du kit | Composants du mélange maître | Quantité par réaction | 10 réactions (plus 10 %) |
|-------------|------------------------------|-----------------------|--------------------------|
| 1 | Reaction Mix | 19,3 µl | 212,3 µl |
| 2 | Enzyme Mix | 0,7 µl | 7,7 µl |
| | Total | 20 µl | 220 µl |

Mélanger le mélange maître, puis centrifuger brièvement.

Tableau 4: Exemple de calcul et de production du mélange maître pour dix (10) réactions (ICR uniquement comme contrôle de l'inhibition)

| Code du kit | Composants du mélange maître | Quantité par réaction | 10 réactions (plus 10 %) |
|-------------|------------------------------|-----------------------|--------------------------|
| 1 | Reaction Mix | 19,3 µl | 212,3 µl |
| 2 | Enzyme Mix | 0,7 µl | 7,7 µl |
| R | Internal Control RNA | 1,0 µl | 11 µl |
| | Total | 21,0 µl | 231,0 µl |

Mélanger le mélange maître, puis centrifuger brièvement.

9.2 Préparation du mélange pour la PCR

Pipeter 20 µl du mélange maître dans chaque flacon de réaction (flacon/plaque).

Contrôle négatif: Pipeter 5 µl de **No Template Control** dans le mélange maître pré-pipeté.

Remarque: Si le **Internal Control RNA** est utilisé comme un contrôle de l'extraction pour la préparation de l'échantillon et comme un contrôle de l'inhibition, il convient d'en ajouter 1 µl à chaque mélange de contrôle négatif pour la RT-PCR.

Échantillons: Ajouter 5 µl d'éluat à chaque mélange maître pipeté au préalable.

Contrôle positif: Pipeter 5 µl de **Positive Control** dans le mélange maître pré-pipeté.

Remarque: Si le **Internal Control RNA** est utilisé comme contrôle de l'extraction pour la procédure de préparation de l'échantillon et comme contrôle de l'inhibition, il convient d'en ajouter 1 µl à chaque mélange de contrôle positif pour la RT-PCR.

Fermer hermétiquement les flacons ou les plaques de réaction, les centrifuger brièvement à faible vitesse et les transférer vers un dispositif de PCR en temps réel. Démarrer la RT-PCR selon la configuration de l'instrument de PCR (voir Tableaux 5 et 6).

9.3 Configuration de l'instrument de PCR

9.3.1 Profil universel de PCR en temps réel

Tableau 5: Profil universel de PCR en temps réel pour la série LightCycler® et RIDA®CYCLER

| | |
|--|---------------|
| <u>Transcription inverse</u> | 10 min, 58 °C |
| Dénaturation initiale | 1 min, 95 °C |
| Cycles | 45 cycles |
| <u>PCR</u> Dénaturation | 10 s, 95 °C |
| Hybridation/extension | 15 s, 60 °C |
| Vitesse de transition/ vitesse de montée de température | Maximale |

Remarque: L'hybridation et l'extension se produisent au cours de la même étape.

Tableau 6: Profil universel de PCR en temps réel pour Mx3005P, ABI 7500 Fast Dx, Rotor-Gene Q et CFX96™

| | |
|--|---------------|
| <u>Transcription inverse</u> | 10 min, 58 °C |
| Dénaturation initiale | 1 min, 95 °C |
| Cycles | 45 cycles |
| <u>PCR</u> Dénaturation | 15 s, 95 °C |
| Hybridation/extension | 30 s, 60 °C |
| Vitesse de transition/ vitesse de montée de température | Maximale |

Remarque: L'hybridation et l'extension se produisent au cours de la même étape.

Remarque: Le profil universel de PCR en temps réel peut aussi être utilisé pour les tests d'ADN si les tests de PCR en temps réel RIDA®GENE DNA et RIDA®GENE RNA sont combinés dans un même test.

9.4 Réglage du canal de détection

Tableau 7: Sélection des canaux de détection adéquats

| Dispositif de PCR en temps réel | Détection | Canal de détection | Remarque |
|--|-----------|--------------------|--|
| R-Biopharm RIDA®CYCLER | H1N1v | Vert | - |
| | ICR | Jaune | |
| | Grippe B | Orange | |
| | Grippe A | Rouge | |
| Roche LightCycler® 48 0II | H1N1v | 465/510 | Le RIDA®GENE Color Compensation Kit IV (PG0004) est nécessaire. |
| | ICR | 533/580 | |
| | Grippe B | 533/610 | |
| | Grippe A | 618/660 | |
| Agilent Techn. Mx3005P | H1N1v | FAM | Régler le colorant de référence sur aucun. |
| | ICR | HEX | |
| | Grippe B | ROX | |
| | Grippe A | Cy5 | |
| ABI 7500 Fast Dx | H1N1v | FAM | Régler le colorant de référence passif ROX sur aucun. |
| | ICR | VIC | |
| | Grippe B | ROX | |
| | Grippe A | Cy5 | |
| Bio-Rad CFX96™ | H1N1v | FAM | - |
| | ICR | VIC | |
| | Grippe B | ROX | |
| | Grippe A | Cy5 | |
| Qiagen Rotor-Gene Q | H1N1v | Vert | Les réglages de gain doivent être définis sur 5 (valeur par défaut d'usine) pour tous les canaux. |
| | ICR | Jaune | |
| | Grippe B | Orange | |
| | Grippe A | Rouge | |

10. Contrôle qualité

Les échantillons sont évalués à l'aide du logiciel d'analyse du dispositif de PCR en temps réel correspondant conformément aux instructions du fabricant. Les contrôles négatif et positif doivent afficher des résultats corrects (voir Tableau 8, Figures 1, 2 et 3).

Le contrôle positif Positive Control est présent à une concentration de 10^3 copies/ μ l. Chaque analyse par PCR utilise une quantité totale de 5×10^3 copies.

Tableau 8: Pour être valide, une exécution de PCR doit remplir les conditions suivantes:

| Échantillon | Résultat | Ct ICR | Gène Ct cible |
|------------------|----------|---------|-------------------------------------|
| Contrôle positif | Positif | SO *1 | Voir Certificat d'assurance qualité |
| Contrôle négatif | Négatif | Ct > 20 | Non détectable |

**1 Aucune valeur de Ct n'est requise pour obtenir un résultat positif de l'ICR pour le contrôle positif.*

Si le contrôle positif n'est pas dans la plage de Ct spécifiée, mais que le contrôle négatif est valide, toutes les réactions doivent être de nouveau analysées, y compris les contrôles.

Si le contrôle négatif n'est pas négatif, mais que le contrôle positif est valide, toutes les réactions doivent être de nouveau analysées, y compris les contrôles.

Si les valeurs spécifiées ne sont pas obtenues, vérifier les points suivants avant de renouveler le test:

- Date de péremption des réactifs utilisés
- Capacité de fonctionnement de l'équipement utilisé
- Réalisation correcte du test

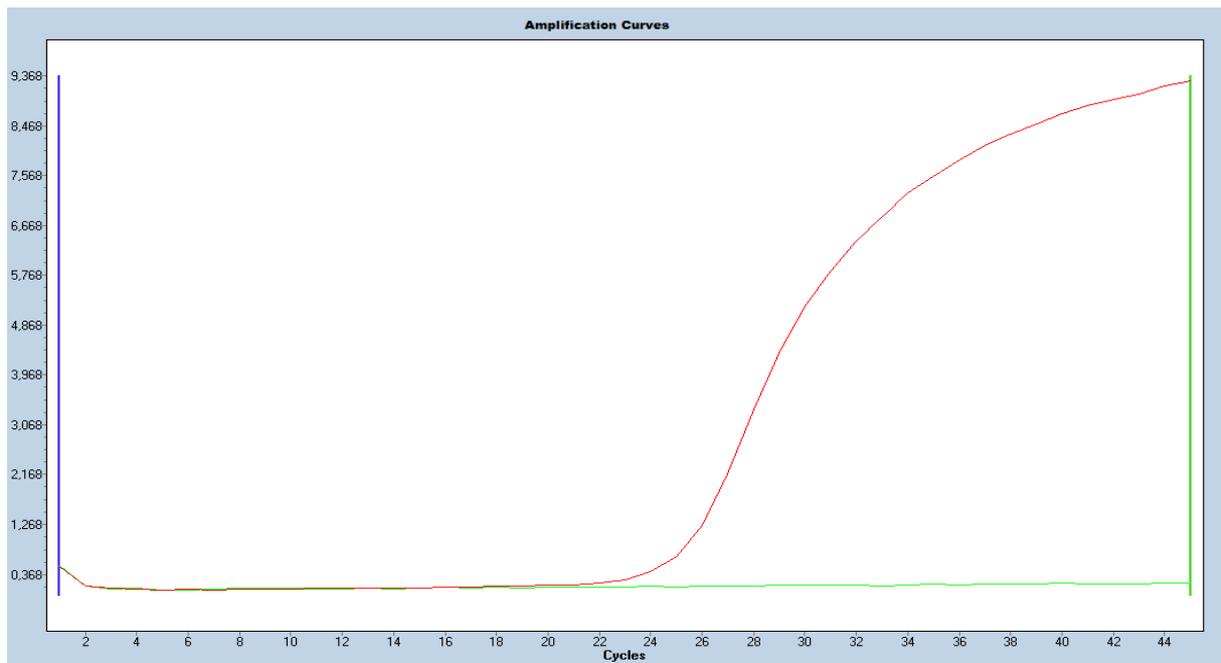


Figure 1: Exécution correcte des contrôles (H1N1v) positif (rouge) et négatif (vert) sur le LightCycler® 480II

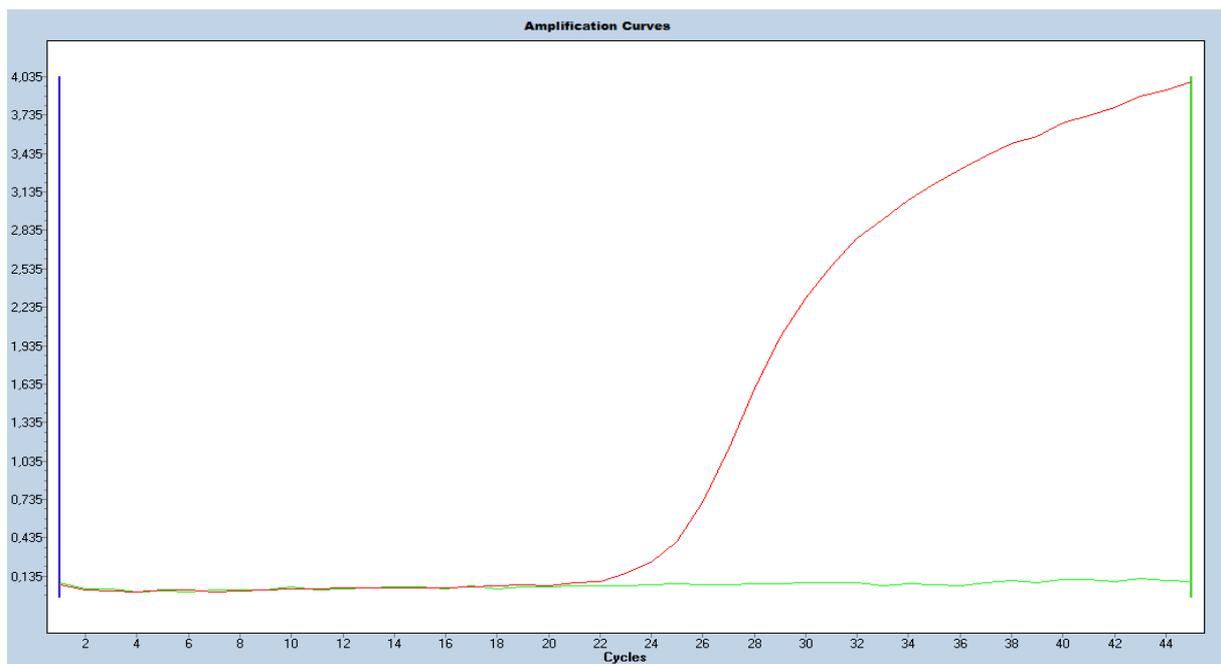


Figure 2: Exécution correcte des contrôles (grippe B) positif (rouge) et négatif (vert) sur le LightCycler® 480II

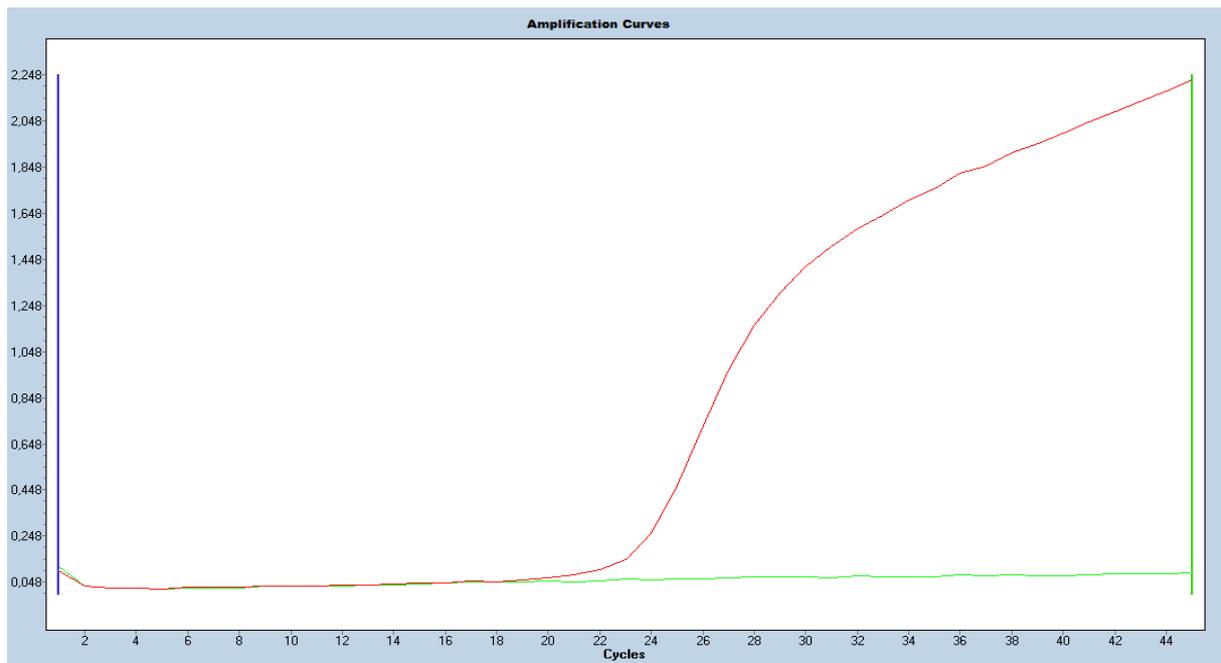


Figure 3: Exécution correcte des contrôles (grippe A) positif (rouge) et négatif (vert) sur le LightCycler® 480II

11. Interprétation des échantillons

Les résultats sont interprétés conformément au tableau 9.

Tableau 9: Interprétation des échantillons

| Détection | | | ICR | Résultat |
|----------------|----------------|----------------|------------------------|--|
| H1N1v | Grippe B | Grippe A | | |
| positif | négatif | négatif | positif/négatif | Non valide* |
| négatif | positif | négatif | positif/négatif | Grippe B détectable |
| négatif | négatif | positif | positif/négatif | Grippe A détectable |
| positif | positif | négatif | positif/négatif | Grippe B détectable, détection non valide pour la grippe A H1N1v* |
| positif | négatif | positif | positif/négatif | Grippe A H1N1v détectable |
| négatif | positif | positif | positif/négatif | Grippe A et grippe B détectables |
| positif | positif | positif | positif/négatif | Grippe A H1N1v et grippe B détectables |
| négatif | négatif | négatif | positif | Gène cible non détectable |
| négatif | négatif | négatif | négatif | Non valide |

* Se reporter également à la Section 12, Rubrique 9.

Un échantillon est positif si l'ARN de l'échantillon et le Internal Control RNA présentent un signal d'amplification dans le système de détection.

Un échantillon est également positif si l'ARN de l'échantillon présente un signal d'amplification dans le système de détection, mais aucun pour le Internal Control RNA. La détection du Internal Control RNA n'est pas indispensable dans ce cas, car les concentrations élevées d'amplicons peuvent provoquer un signal faible ou absent du Internal Control RNA.

Un échantillon est négatif si l'ARN de l'échantillon ne présente pas de signal d'amplification dans le système de détection, mais en présente un visible pour le Internal Control RNA. Une inhibition de la réaction de PCR peut être exclue par la détection du Internal Control RNA.

Un échantillon est non valide si l'ARN de l'échantillon et le Internal Control RNA ne présentent aucun signal d'amplification dans le système de détection. Des inhibiteurs de la PCR sont présents dans l'échantillon ou une erreur est survenue pendant le processus d'extraction. L'échantillon extrait doit être dilué à 1/10 avec de l'eau de

PCR et de nouveau amplifié, ou il convient d'améliorer l'isolation et la purification de l'échantillon.

12. Limites de la méthode

1. Ce test est destiné uniquement aux frottis nasaux et de gorge.
2. Un prélèvement, échantillonnage, transport, stockage et traitement incorrects du spécimen ou une charge virale inférieure à la sensibilité analytique du test peuvent entraîner des résultats faux négatifs.
3. La présence d'inhibiteurs de la PCR peut empêcher l'évaluation des résultats.
4. Des mutations ou polymorphismes au niveau des sites de liaison des amorces ou des sondes peuvent empêcher la détection de nouveaux variants ou de variants inconnus et entraîner des résultats faux négatifs avec le test RIDA®GENE Flu.
5. À l'instar de tous les tests de diagnostic *in vitro* basés sur la PCR, des concentrations extrêmement faibles des séquences cibles sous la limite de détection (LDD) peuvent être détectées, mais les résultats peuvent ne pas être reproductibles.
6. Un résultat positif du test ne signifie pas nécessairement que des organismes capables de se reproduire sont présents. Un résultat positif indique que les gènes cibles correspondants (gène H1, gène NP, gène de la protéine M) sont présents.
7. Ce test ne différencie que la grippe A sous-type H1N1v. Les autres sous-types de grippe ne sont pas différenciés.
8. Ce test ne peut pas être utilisé pour détecter les virus de la grippe C.
9. Si un nouveau variant du sous-type H1N1v est présent avec une mutation au niveau des sites de liaison des amorces et des sondes pour la grippe A, cela peut entraîner un signal positif dans le canal H1N1v, mais un signal négatif dans le canal de la grippe A. Ce résultat peut être interprété comme un résultat positif pour la grippe A H1N1v.

13. Performances

13.1 Sensibilité analytique

La limite de détection du test de RT-PCR en temps réel multiplexe RIDA®GENE Flu est de ≥ 50 copies d'ARN/réaction pour H1N1v, la grippe B et la grippe A.

Les Figures 4, 5 et 6 ci-dessous illustrent une série de dilutions de H1N1v, grippe B et grippe A (chacun avec 5×10^5 à 5×10^1 copies d'ARN/réaction) sur le LightCycler® 480II.

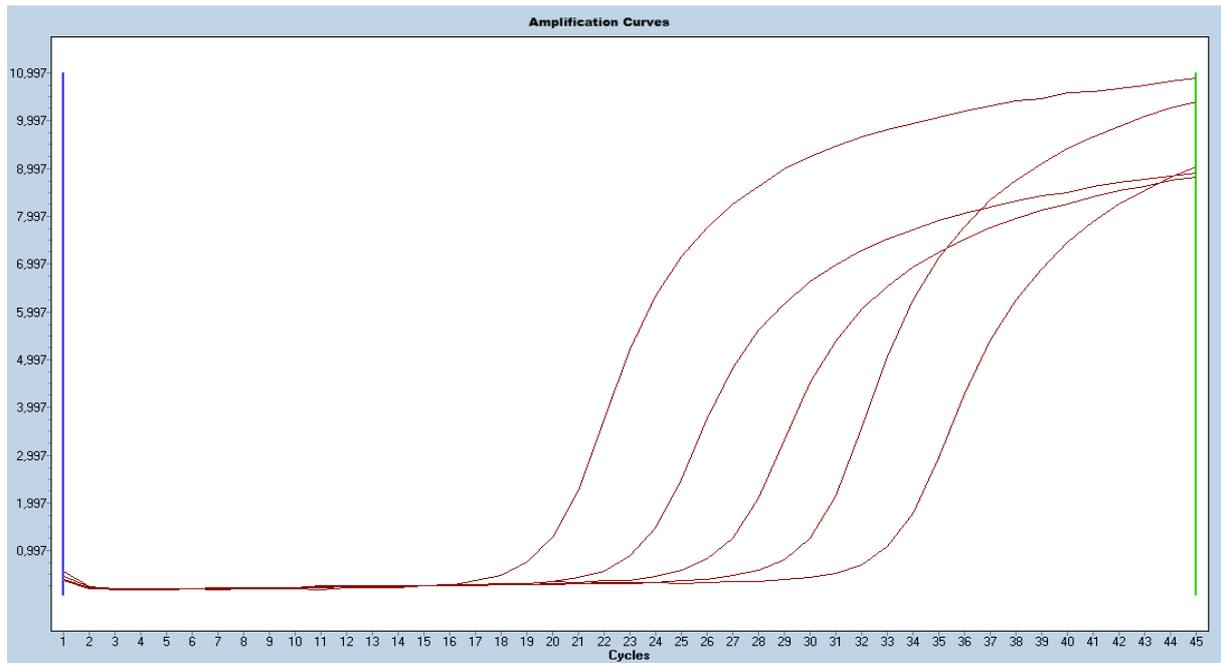


Figure 4: Série de dilutions de H1N1v (5×10^5 à 5×10^1 copies d'ARN/réaction) sur le LightCycler® 480II

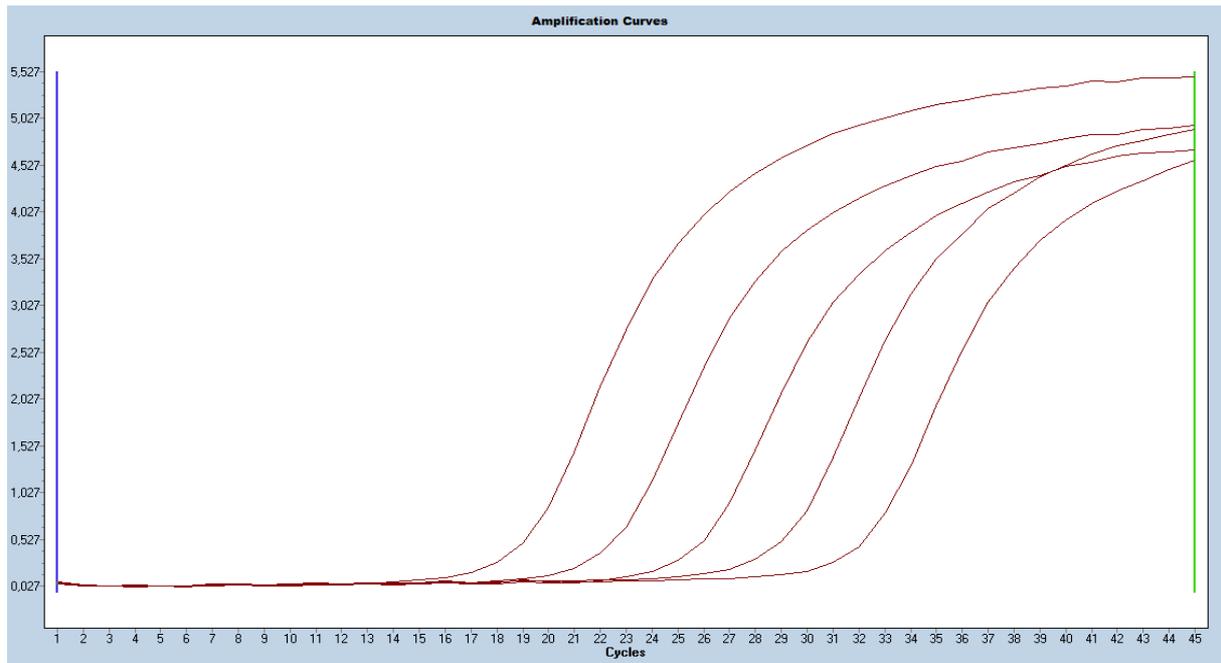


Figure 5: Série de dilutions de grippe B (5×10^5 à 5×10^1 copies d'ARN/réaction) sur le LightCycler® 480II

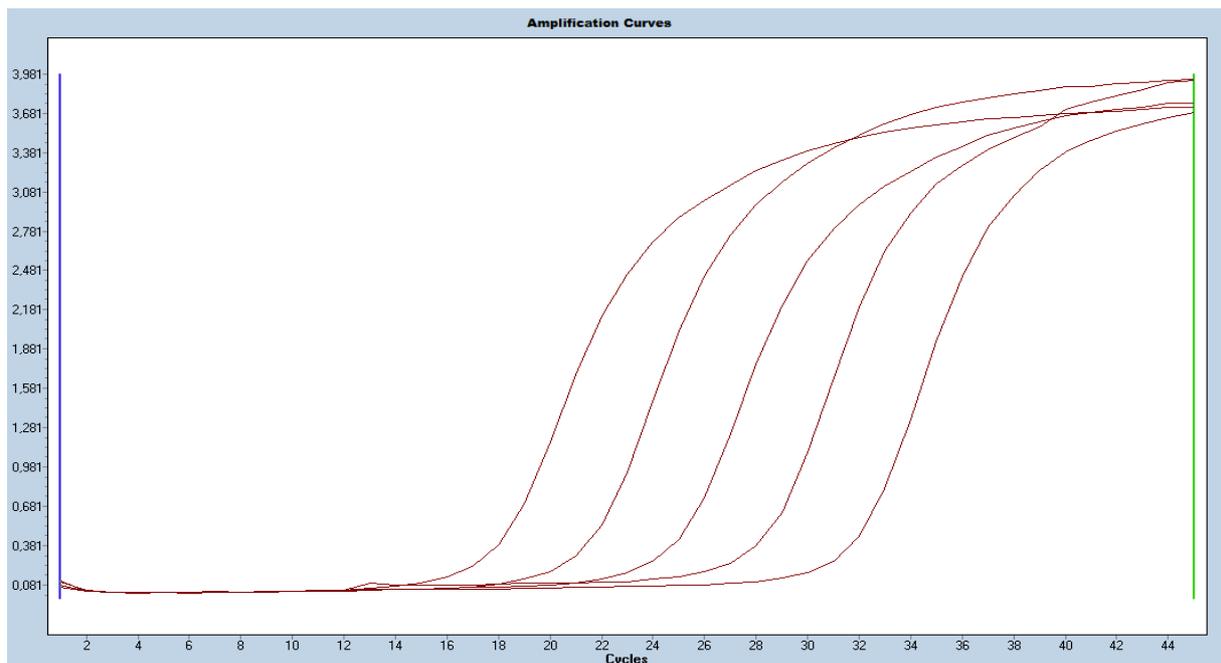


Figure 6: Série de dilutions de grippe A (5×10^5 à 5×10^1 copies d'ARN/réaction) sur le LightCycler® 480II

La limite de détection de l'ensemble du processus dépend de la matrice de l'échantillon, de l'extraction de l'ARN et de la concentration en ARN.

13.2 Spécificité analytique

Le test de RT-PCR en temps réel multiplexe RIDA®GENE Flu est spécifique au H1N1v, à la grippe B et à la grippe A. Aucune réactivité croisée avec les espèces suivantes n'a été détectée (voir Tableau 10).

Tableau 10: Test de la réactivité croisée

| | | | | | |
|--|---|--|---|--|---|
| <i>Acinetobacter baumannii</i> souche 5377 | - | <i>Escherichia coli</i> (O6) | - | VRS humain souche 9320 | - |
| Adénovirus 1, humain, souche Adénoïde 71 | - | <i>Escherichia coli</i> (O157:H7) | - | Rhinovirus humain génogroupe A | - |
| Adénovirus 4 | - | <i>Enterobacter cloacae</i> | - | <i>Klebsiella pneumoniae</i> souche MGH 78578 | - |
| Adénovirus 7, humain, souche Gomen | - | Entérovirus type 71 souche 2003 isolat | - | <i>Lactobacillus plantarum</i> | - |
| Adénovirus 31 | - | <i>Haemophilus influenzae</i> | - | <i>Legionella pneumophila</i> sous-esp. Pneumophila | - |
| Adénovirus 34 | - | Virus Herpes simplex 1 souche McIntyre | - | <i>Moraxella catarrhalis</i> | - |
| Adénovirus 37 | - | Virus Herpes simplex 2 souche MS | - | <i>Mycoplasma pneumoniae</i> souche FH d'Eaton Agent | - |
| <i>Aspergillus terreus</i> | - | Coronavirus humain 229E | - | <i>Neisseria meningitidis</i> souche FAM18 | - |
| <i>Bordetella parapertussis</i> souche 12822 | - | Coronavirus humain OC43 | - | <i>Proteus vulgaris</i> | - |
| <i>Bordetella pertussis</i> Tohama 1 | - | Coxsackievirus humain A2, souche Fleetwood | - | <i>Pseudomonas aeruginosa</i> | - |
| <i>Candida albicans</i> | - | Coxsackievirus humain B4 | - | <i>Serratia marcescens</i> | - |
| <i>Chlamydophila pneumoniae</i> | - | Cytomégalovirus humain | - | <i>Streptococcus pneumoniae</i> souche NCTC 7465 | - |

| | | | | | |
|------------------------------------|---|---|---|-----------------------------------|---|
| <i>Chlamydia psittaci</i> | - | Metapneumovirus humain | - | <i>Streptococcus pyogenes</i> | - |
| <i>Clostridium perfringens</i> | - | Virus parainfluenza humain 1 souche C35 | - | <i>Streptococcus salivarius</i> | - |
| <i>Corynebacterium diphtheriae</i> | - | Virus parainfluenza humain 2 souche Greer | - | <i>Staphylococcus aureus</i> | - |
| Échovirus 11 | - | Virus parainfluenza sérotype 3 | - | <i>Staphylococcus epidermidis</i> | - |
| Virus d'Epstein-Barr souche B95-8 | - | Virus parainfluenza humain 4a souche M-25 | - | | |
| <i>Escherichia coli</i> (O26:H-) | - | VRS humain souche Long | - | | |

13.3 Réactivité analytique

La réactivité du test RT-PCR en temps réel multiplexe RIDA®GENE Flu a été examinée en utilisant différentes souches des virus de la grippe A et de la grippe B (voir Tableau 11).

Tableau 11: Test de la réactivité analytique

| Sous-type | Souche | H1N1v | Grippe B | Grippe A |
|-----------|--|----------------|----------|----------------|
| H1N1 | Grippe A/Brisbane/59/2007 | négatif | négatif | positif |
| H1N1v | Grippe A/Brisbane/02/2018 | positif | négatif | positif |
| H1N1v | Grippe A/Michigan/45/2015 | positif | négatif | positif |
| H1N1v | Grippe A/Californie/7/2009 | positif | négatif | positif |
| H3N2 | Grippe A/Perth/16/2009 | négatif | négatif | positif |
| H3N2 | Grippe A/Brisbane/10/2007 | négatif | négatif | positif |
| H3N2 | Grippe A/ Australie-Méridionale/34/2019 | négatif | négatif | positif |

| | | | | |
|------|--|---------|----------------|----------------|
| H3N2 | Grippe A/Texas/50/2012 | négatif | négatif | positif |
| H3N2 | Grippe A/Victoria/361/2011 | négatif | négatif | positif |
| H3N2 | Grippe A/Hong Kong/4801/2014 | négatif | négatif | positif |
| H3N2 | Grippe A/Singapour/INFIMH-16-0019/2016 | négatif | négatif | positif |
| H3N2 | Grippe A/Kansas/14/2017 | négatif | négatif | positif |
| H3N2 | Grippe A/ Suisse/9715293/2013 | négatif | négatif | positif |
| H7N9 | Grippe A/Anhui/1/2013 | négatif | négatif | positif |
| | Grippe B/Brisbane/60/2008/ lignée Victoria | négatif | positif | négatif |
| | Grippe B/Washington/02/2019/ lignée Victoria | négatif | positif | négatif |
| | Grippe B/Colorado/06/2017/ lignée Victoria | négatif | positif | négatif |
| | Grippe B/Wisconsin/1/2010/ lignée Yamagata | négatif | positif | négatif |
| | Grippe B/ Massachusetts/2/2012/ lignée Yamagata | négatif | positif | négatif |
| | Grippe B/Phuket/3073/13/ lignée Yamagata | négatif | positif | négatif |

14. Historique des versions

| Numéro de version | Section et désignation |
|-------------------|--|
| 2013-12-10 | Version précédente |
| 2020-09-30 | Révision générale: 1. Application 2. Résumé et explication du test 4. Contenu du paquet 5. Instructions de conservation 6. Réactifs requis, mais non fournis 7. Mesures de précaution 8. Prélèvement et conservation des échantillons 9. Réalisation du test 10. Contrôle qualité 11. Interprétation des échantillons 12. Limites de la méthode 13. Performances 14. Historique des versions 15. Signification des symboles 16. Bibliographie |

15. Signification des symboles

Symboles généraux

| | |
|---|---|
|  | Pour usage diagnostique <i>in vitro</i> |
|  | Consulter 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 des tests

Reaction Mix

Enzyme Mix

Internal Control RNA

No Template Control

Positive Control

16. Bibliographie

1. World Health Organisation 2009, Fact Sheet N°211, Influenza (Saisonal)
www.who.int/mediacentre/factsheets/fs211/en/index.html. Last accessed: 09.10.2020.
2. Robert Koch Institut
RKI_Influenzabericht_2018-19
https://edoc.rki.de/bitstream/handle/176904/6253/RKI_Influenzabericht_2018-19.pdf. Last accessed: 30.10.2020
3. Robert Koch Institut
https://www.rki.de/DE/Content/Infekt/EpidBull/Merkblaetter/Ratgeber_Influenza_saisonal.html. Last accessed: 09.10.2020.
4. World Health Organisation 2011, Manual for the laboratory diagnosis and virological surveillance of influenza.