

## RIDA® GENE Enterovirus

**REF** PG4705



R-Biopharm AG, An der neuen Bergstraße 17, 64297 Darmstadt, Allemagne  
Tél: +49 (0) 61 51 81 02-0 / Fax: +49 (0) 61 51 81 02-20



## 1. Application

Pour le diagnostic *in vitro*. Le test RIDA®GENE Enterovirus est un test de RT-PCR en temps réel multiplexe pour la détection qualitative directe de l'entérovirus dans des échantillons de selles humaines et de liquide céphalo-rachidien (LCR)<sup>1</sup>.

Le test de RT-PCR en temps réel RIDA®GENE Enterovirus est destiné à faciliter le diagnostic des infections provoquées par des entérovirus (poliovirus, échovirus, coxsackievirus, entérovirus humain 70/71).

## 2. Résumé et explication du test

Les entérovirus appartiennent à la famille des *Picornaviridae* et, selon la classification en vigueur, les entérovirus englobent 15 espèces (entérovirus A-L et rhinovirus A-C), d'après laquelle les espèces d'entérovirus E-L sont décrites comme n'étant pas pathogènes pour l'être humain<sup>2,3,4</sup>. L'espèce d'entérovirus A englobe les entérovirus humains A et les coxsackievirus A, et l'espèce d'entérovirus B englobe les entérovirus humains B, les coxsackievirus B et aussi les échovirus. De plus, les entérovirus humains C, les coxsackievirus C et les poliovirus appartiennent à l'espèce entérovirus C<sup>2,3,4</sup>. Les entérovirus infectent principalement les nourrissons et les jeunes enfants et sont transmis par voie oro-fécale, mais parfois par des gouttelettes et de l'eau contaminée. La plupart des infections par entérovirus sont asymptomatiques ou présentent des symptômes légers de type rhume. Néanmoins, en raison de la grande diversité des espèces d'entérovirus, le tableau clinique est très diversifié lorsque la maladie est grave et symptomatique. Les infections graves par entérovirus comprennent la poliomyélite, le syndrome pieds-mains-bouche, la méningite et la myocardite<sup>4</sup>.

Les poliovirus sont des virus à ARN simple brin (ARNsb) et étaient présents dans le monde entier avant leur éradication partielle. Mis à part les symptômes légers comme la fièvre et la toux, les poliovirus peuvent aussi provoquer la poliomyélite. Même si des épidémies de poliomyélite localisées sont souvent signalées, le nombre de cas est en diminution à l'échelle globale. Ainsi, seulement 37 infections par le virus de la poliomyélite de type 1 ont été signalées en 2016, mais pas d'infection par le virus de la poliomyélite de type 3. Le poliovirus de type 2 est considéré comme étant éradiqué depuis septembre 2015<sup>5</sup>.

En 1984, les coxsackievirus A et C ont été signalés pour la première fois et nommés selon le lieu de détection, à savoir Coxsackie, New York. Les coxsackievirus sont présents dans le monde entier et les deux souches provoquent la diarrhée dite « estivale ». Aux États-Unis, le syndrome pieds-mains-bouche est principalement provoqué par le coxsackievirus A16, et d'autres infections graves par le coxsackievirus provoquent une conjonctivite et une myocardite. Outre le coxsackievirus, une infection par l'entérovirus humain 70 peut entraîner une conjonctivite aiguë<sup>6,7</sup>.

L'entérovirus humain 71 provoque le syndrome pieds-mains-bouche mais, dans la plupart des cas, les infections par ce virus sont asymptomatiques. Ce virus à ARN

simple brin (ARNsb) est réparti dans le monde entier et se manifeste le plus souvent à la fin de l'été et en automne<sup>4,9</sup>.

L'échovirus est très infectieux et se manifeste principalement chez les enfants. Il peut aussi entraîner une méningite aseptique, l'échovirus 30 étant le sérotype le plus souvent associé à la méningite en Europe, en Amérique et en Asie<sup>8</sup>.

### 3. Principe du test

Le test de RT-PCR en temps réel multiplexe RIDA<sup>®</sup>GENE Enterovirus est un test de diagnostic moléculaire pour la détection qualitative directe de l'ARN d'entérovirus dans les échantillons de selles humaines et le LCR.

La détection se fait dans un format de RT-PCR en temps réel en une seule étape où la transcription inverse est suivie de la PCR dans le même tube de réaction. L'ARN isolé est transcrit en ADNc par une transcriptase inverse. Les fragments de gènes spécifiques aux entérovirus (5'-UTR, si présents) sont ensuite amplifiés par PCR en temps réel. Les cibles amplifiées sont détectées grâce à des sondes pour hydrolyse qui sont marquées à une extrémité par un extincteur et à l'autre extrémité par un colorant fluorescent indicateur (fluorophore). En présence d'une cible, les sondes s'hybrident aux amplicons. Pendant l'étape d'extension, la **Taq-Polymerase** rompt la proximité indicateur-extincteur. L'indicateur émet un signal de fluorescence qui est détecté par l'unité optique d'un instrument de PCR en temps réel. Le signal de fluorescence augmente avec le nombre d'amplicons formés. Le test RIDA<sup>®</sup>GENE Enterovirus contient un **Internal Control RNA** (ICR) en tant que contrôle interne de la procédure de préparation des échantillons et/ou pour déterminer une 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	<b>Reaction Mix</b>	2x	1050 µl	jaune
2	<b>Enzyme Mix</b>	1x	80 µl	rouge
R	<b>Internal Control RNA</b>	2x	1700 µl	brun
N	<b>No Template Contro</b>	1x	450 µl	blanc
P	<b>Positive Control</b>	1x	200 µl	bleu

## 5. Instructions de conservation des réactifs

- Protéger tous les réactifs de la lumière et les conserver à -20 °C. Tous les réactifs peuvent être utilisés jusqu'à la date de péremption. Après la date de péremption, la qualité n'est plus garantie.
- Décongeler délicatement tous les réactifs avant de les utiliser (par ex., dans un réfrigérateur entre 2 et 8 °C).
- Les réactifs peuvent supporter jusqu'à 20 cycles de congélation/décongélation sans que la performance du test soit affectée (par ex., après la première décongélation, séparer les réactifs en aliquotes et les congeler immédiatement).
- Pendant la préparation de la PCR, tous les réactifs doivent être conservés au frais de manière convenable (entre 2 et 8 °C).

## 6. Autres réactifs et matériel nécessaires

Le test de RT-PCR en temps réel multiplexe RIDA®GENE Enterovirus peut être utilisé avec les plateformes d'extraction et les instruments de PCR en temps réel suivants:

**Tableau 2:** Matériel nécessaire

Plateforme d'extraction	
R-Biopharm	RIDA® Xtract
Promega	Maxwell® RSC
Instruments de PCR en temps réel	
Roche	LightCycler® 2.0, LightCycler® 480II, LightCycler® 480z
Agilent Technologies	Mx3005P
Applied Biosystems	ABI 7500
Bio-Rad	CFX96™
QIAGEN	Rotor-Gene Q

**Remarque: utiliser uniquement des tubes de 0,1 ml sur le Rotor-Gene Q (QIAGEN).**

Si vous souhaitez utiliser d'autres plateformes d'extraction ou instruments de PCR en temps réel, contactez R-Biopharm à l'adresse [mdx@r-biopharm.de](mailto:mdx@r-biopharm.de).

- RIDA®GENE Color Compensation Kit II (PG0002) pour une utilisation avec l'appareil LightCycler® 2.0
- RIDA®GENE Color Compensation Kit IV (PG0004) pour une utilisation avec les appareils LightCycler® 480II ou LightCycler® 480z
- Consommables de PCR en temps réel (plaques, tubes, feuilles)
- Centrifugeuse avec rotor pour les flacons de réaction
- Agitateur-mélangeur vortex

- Pipettes (0,5 à 20 µl, 20 à 200 µl, 100 à 1 000 µl)
- Pointes à filtre
- Gants jetables non poudrés
- Eau de PCR (sans nucléase)

## 7. Mesures de précaution

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.
- Suivre le manuel d'instructions pour la réalisation du test.
- Ne pas pipeter les échantillons ou les réactifs à la bouche. Éviter tout contact avec une peau meurtrie ou les membranes muqueuses.
- Lors de la manipulation de réactifs ou d'échantillons, porter des vêtements de protection appropriés (gants adaptés, blouse, lunettes de protection) et se laver les mains à l'issue de la réalisation du test. Ne pas fumer, manger, ni boire dans les zones où des échantillons ou des réactifs sont utilisés.
- L'extraction, la préparation de la PCR et l'exécution de la PCR doivent être menées dans des salles différentes afin d'éviter toute contamination croisée.
- Les échantillons doivent être traités comme du matériel potentiellement infectieux de même que tous les réactifs et le matériel exposés aux échantillons. Ils doivent être manipulés conformément aux règlements nationaux en matière de sécurité.
- Ne pas utiliser le kit après sa date de péremption.
- Après utilisation, tous les réactifs et matériaux utilisés doivent être éliminés de façon appropriée. Veuillez vous conformer aux règlements nationaux applicables concernant la mise au rebut.

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

## 8. Prélèvement et conservation des échantillons

### 8.1 Préparation de l'échantillon à partir d'échantillons de selles

Pour isoler l'ARN des échantillons de selles humaines, utiliser un kit d'isolation d'ARN (par ex., RIDA® Xtract [R-Biopharm]) ou un système d'extraction d'ARN (par ex., Maxwell® RSC [Promega]) disponible dans le commerce. Extraire l'ARN conformément aux instructions du fabricant.

Il convient de diluer l'échantillon de selles avant extraction avec de l'eau selon un rapport de 1/10. Agiter fortement l'échantillon et le centrifuger à 13 000 x g pendant 1 min. Utiliser un volume adéquat de surnageant conformément aux instructions du fabricant.

Le test RIDA®GENE Enterovirus inclut un ARN de contrôle interne

**Internal Control RNA** qui détecte l'inhibition de la PCR, surveille l'intégrité du réactif

et confirme que l'extraction d'acides nucléiques a été suffisante. L'ARN de contrôle interne **Internal Control RNA** peut être utilisé comme contrôle de l'inhibition de la PCR ou comme contrôle de l'extraction pour la procédure de préparation de l'échantillon et en tant que contrôle de l'inhibition de la PCR.

Si le **Internal Control RNA** est utilisé uniquement comme contrôle de l'inhibition de la PCR, il convient d'ajouter 1 µl de **Internal Control RNA** au mélange maître (voir tableau 4).

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 de la PCR, il convient d'ajouter 20 µl de **Internal Control RNA** pendant la procédure d'extraction. Le **Internal Control RNA** doit toujours être ajouté au mélange spécimen-tampon de lyse et **non** directement à l'échantillon. Il est aussi recommandé d'ajouter 1 µl d'ARN de contrôle interne **Internal Control RNA** au mélange de contrôle négatif et contrôle positif de la PCR.

## 8.2 Préparation des échantillons à partir du LCR

Pour isoler l'ARN des échantillons de LCR, utiliser un kit d'isolation d'ARN (par ex., RIDA® Xtract [R-Biopharm]) ou un système d'extraction d'ARN (par ex., Maxwell® RSC [Promega]) disponible dans le commerce. Extraire l'ARN conformément aux instructions du fabricant.

Le test RIDA®GENE Enterovirus inclut un ARN de contrôle interne **Internal Control RNA** qui détecte l'inhibition de la PCR, surveille l'intégrité du réactif et confirme que l'extraction d'acides nucléiques a été suffisante. L'ARN de contrôle interne **Internal Control RNA** peut être utilisé comme contrôle de l'inhibition de la PCR ou comme contrôle de l'extraction pour la procédure de préparation de l'échantillon et en tant que contrôle de l'inhibition de la PCR.

Si le **Internal Control RNA** est utilisé uniquement comme contrôle de l'inhibition de la PCR, il convient d'ajouter 1 µl de **Internal Control RNA** au mélange maître (voir tableau 4).

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 de la PCR, il convient d'ajouter 20 µl de **Internal Control RNA** pendant la procédure d'extraction. Le **Internal Control RNA** doit toujours être ajouté au mélange spécimen-tampon de lyse et **non** directement à l'échantillon. Il est aussi recommandé d'ajouter 1 µl d'ARN de contrôle interne **Internal Control RNA** au mélange de contrôle négatif et contrôle positif de la PCR.

## 9. Réalisation du test

### 9.1 Préparation du mélange maître

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

Nous recommandons de calculer un volume supplémentaire de 10 % pour compenser l'imprécision du pipetage (voir tableaux 3, 4). Décongeler, mélanger délicatement et centrifuger brièvement le **Reaction Mix**, le **Enzyme Mix**, le **Positive Control**, le **No Template Control** et le **Internal Control RNA** avant utilisation. Conserver les réactifs à une température assez basse durant l'étape de travail (entre 2 et 8 °C).

**Tableau 3:** Exemple de calcul et de pipetage pour 10 réactions du mélange maître (ICR comme pour l'extraction et contrôle de l'inhibition de la PCR)

Code du kit	Composants du mélange maître	Volume par réaction	10 réactions (10 % de plus)
1	Reaction Mix	19,3 µl	212,3 µl
2	Enzyme Mix	0,7 µl	7,7 µl
	<b>Total</b>	<b>20 µl</b>	<b>220 µl</b>

Mélanger les composants du mélange maître et les centrifuger brièvement.

**Tableau 4:** Exemple de calcul et de pipetage pour 10 réactions du mélange maître (ICR uniquement comme pour le contrôle de l'inhibition de la PCR)

Code du kit	Composants du mélange maître	Volume par réaction	10 réactions (10 % de plus)
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
	<b>Total</b>	<b>21,0 µl</b>	<b>231,0 µl</b>

Mélanger les composants du mélange maître et les centrifuger brièvement.

## 9.2 Préparation du mélange pour la RT-PCR

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

**Contrôle négatif:** Ajouter 5 µl de contrôle sans matrice **No Template Control** au 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 de la PCR, il convient d'ajouter 1 µl de **Internal Control RNA** au mélange de contrôle négatif pour la RT-PCR.

**Échantillons:** Ajouter 5 µl d'éluat au mélange maître pré-pipeté.

**Contrôle positif:** Ajouter 5 µl de **Positive Control** au 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 de la PCR, il convient d'ajouter 1 µl de **Internal Control RNA** au mélange de contrôle positif pour la RT-PCR.

Recouvrir les tubes ou la plaque. Les centrifuger et les placer dans l'instrument de PCR en temps réel. La réaction de RT-PCR devrait commencer conformément à la configuration de l'instrument de PCR (voir tableaux 5, 6).

## 9.3 Configuration de l'instrument de PCR

### 9.3.1 Profil universel de RT-PCR en temps réel

**Tableau 5:** Profil universel de RT-PCR en temps réel pour la série LightCycler®

<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 RT-PCR en temps réel pour Mx3005P, ABI7500, 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 Configuration du canal de détection

Tableau 7: Sélection des canaux de détection adéquats

Instrument de PCR en temps réel	Détection	Canal de détection	Remarque
Roche LightCycler® 2.0	Entérovirus	530	<b>RIDA®GENE</b> Le kit de compensation de couleur II (PG0002) est nécessaire
	ICR	560	
Roche LightCycler® 480II	Entérovirus	465/510	<b>RIDA®GENE</b> Le kit de compensation de couleur IV (PG0004) est nécessaire
	ICR	533/580	
Roche LightCycler® 480z	Entérovirus	465/510	<b>RIDA®GENE</b> Le kit de compensation de couleur IV (PG0004) est nécessaire
	ICR	540/580	
Agilent Techn. Mx3005P	Entérovirus	FAM	Vérifier que le colorant de référence n'est pas précisé
	ICR	HEX	
ABI 7500	Entérovirus	FAM	Vérifier que l'option de référence passive ROX n'est pas sélectionnée
	ICR	VIC	
Bio-Rad CFX96™	Entérovirus	FAM	-
	ICR	VIC	
Qiagen Rotor-Gene Q	Entérovirus	Vert	Les paramètres de gain doivent être réglés sur 5, conformément aux paramètres par défaut
	ICR	Jaune	

## 10. Contrôle qualité

L'analyse des échantillons est effectuée par le logiciel de l'instrument de PCR en temps réel utilisé conformément aux instructions du fabricant. Le contrôle positif et le contrôle négatif doivent afficher des résultats corrects (voir tableau 8, figure 1) afin de déterminer qu'une série est valide.

Le **Positive Control** a une concentration de  $10^3$  copies/ $\mu$ l. Chaque série de PCR utilise au total  $5 \times 10^3$  copies de contrôle positif.

**Tableau 8:** Pour que l'exécution soit valide, les conditions suivantes doivent être satisfaites:

Échantillon	Résultat du test	Ct ICR	Ct cible
Contrôle positif	Positif	S/O *1	Voir Certificat d'assurance qualité
Contrôle négatif	Négatif	Ct > 20	0

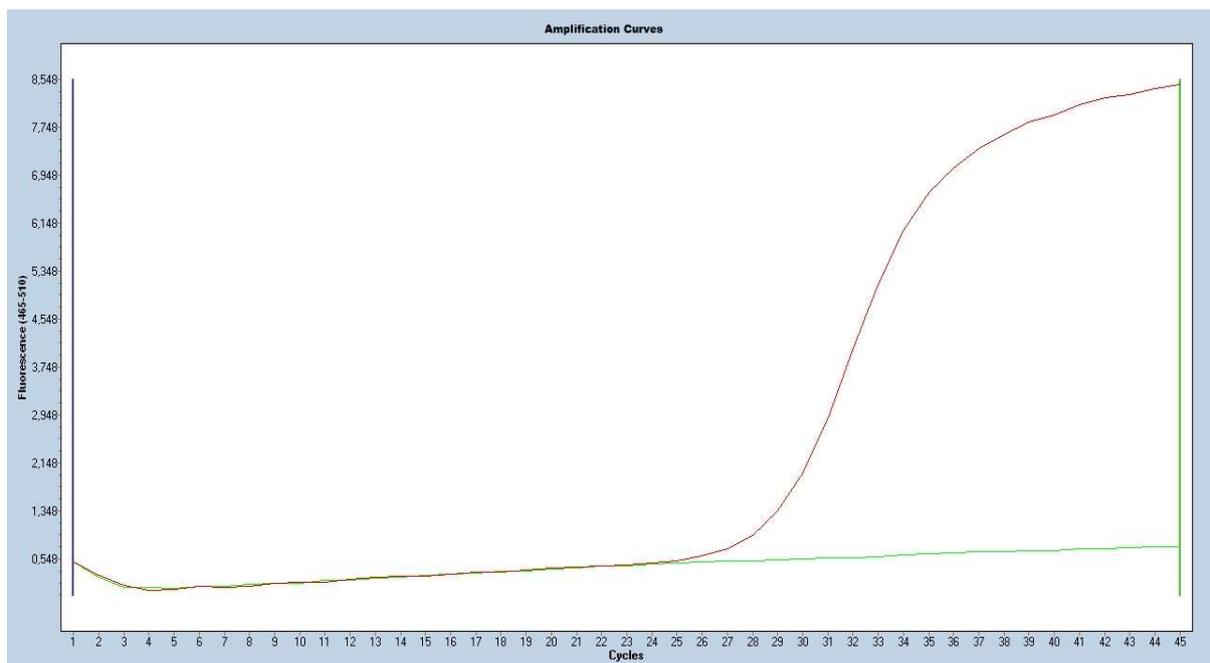
*\*1 Aucune valeur de Ct n'est requise pour que le résultat de l'ICR soit positif pour le contrôle positif.*

Si le contrôle positif n'est pas positif dans la plage de Ct spécifiée, mais que le contrôle négatif est valide, préparer des réactions entièrement neuves y compris les contrôles.

Si le contrôle négatif n'est pas négatif, mais le contrôle positif est valide, préparer des réactions entièrement neuves y compris les contrôles.

Si les critères requis ne sont pas satisfaits, les points suivants doivent être contrôlés avant de recommencer le test:

- Date de péremption des réactifs utilisés
- Fonctionnement de l'instrumentation utilisée
- Exécution correcte de la procédure de test



**Figure 1:** Exécution correcte des contrôles positif et négatif (Entérovirus) sur le LightCycler® 480II

## 11. Interprétation des résultats

Les résultats sont interprétés conformément au tableau 9.

**Tableau 9:** Interprétation des échantillons

Gène cible		
Entérovirus	ICR	Résultat
positif	positif/négatif	Entérovirus détecté
négatif	positif	Gènes cibles non détectés
négatif	négatif	Non valide

L'entérovirus est détecté si l'ARN de l'échantillon et le **Internal Control RNA** présentent un signal d'amplification dans le système de détection.

L'entérovirus est également détecté 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 nécessaire car les concentrations élevées de l'amplicon peuvent générer un signal faible ou absent du **Internal Control RNA**.

L'entérovirus n'est pas détecté si l'ARN de l'échantillon ne présente aucun signal d'amplification dans le système de détection, mais en présente un pour le

**Internal Control RNA**. Une inhibition de la réaction de PCR peut être exclue par la détection de l'ARN du contrôle interne **Internal Control RNA**.

Un échantillon est non valide si l'ARN de l'échantillon et l'ARN du contrôle interne **Internal Control RNA** ne présentent aucun signal d'amplification dans le système de détection. L'échantillon contient un inhibiteur de la PCR. L'échantillon extrait doit encore être dilué avec de l'eau de PCR (1/10) et de nouveau amplifié, ou il convient d'améliorer l'isolation et la purification de l'échantillon.

## 12. Limites de la méthode

1. Le résultat de l'analyse moléculaire ne doit pas mener au diagnostic, mais toujours être envisagé dans le contexte des antécédents médicaux et des symptômes du patient.
2. Ce test est uniquement adapté pour les échantillons de selles et les échantillons de LCR.
3. Les prélèvement, transport, stockage et traitement incorrects de l'échantillon ou une charge en agents pathogènes inférieure à la sensibilité analytique peuvent entraîner des résultats faux négatifs.
4. La présence d'inhibiteurs de la PCR peut donner lieu à des résultats non valides.
5. Des mutations ou des polymorphismes dans les régions de liaison à l'amorce ou à la sonde peuvent empêcher la détection de nouveaux variants et donner lieu à un résultat faux négatif avec le test RIDA®GENE Enterovirus.
6. À l'instar de tous les tests de diagnostic *in vitro* de type PCR, des niveaux de la cible extrêmement bas sous la limite de détection (LDD) peuvent être détectés, mais les résultats peuvent ne pas être reproductibles.
7. Un résultat positif du test ne signifie pas nécessairement que des organismes viables sont présents. Cependant, un résultat positif indique la présence du gène cible (5'-UTR).
8. Les rhinovirus appartiennent à la famille des *Picornaviridae*. En raison de la similarité de séquence, il n'est pas possible d'exclure que le test RIDA®GENE Enterovirus présente une réactivité croisée aux rhinovirus.

## 13. Performances

### 13.1 Performance clinique

Dans une étude de validation clinique rétrospective, 124 échantillons extraits de selles humaines à l'aide du test RIDA®GENE Enterovirus et d'un test de PCR en temps réel interne ont été analysés par un institut situé en Allemagne.

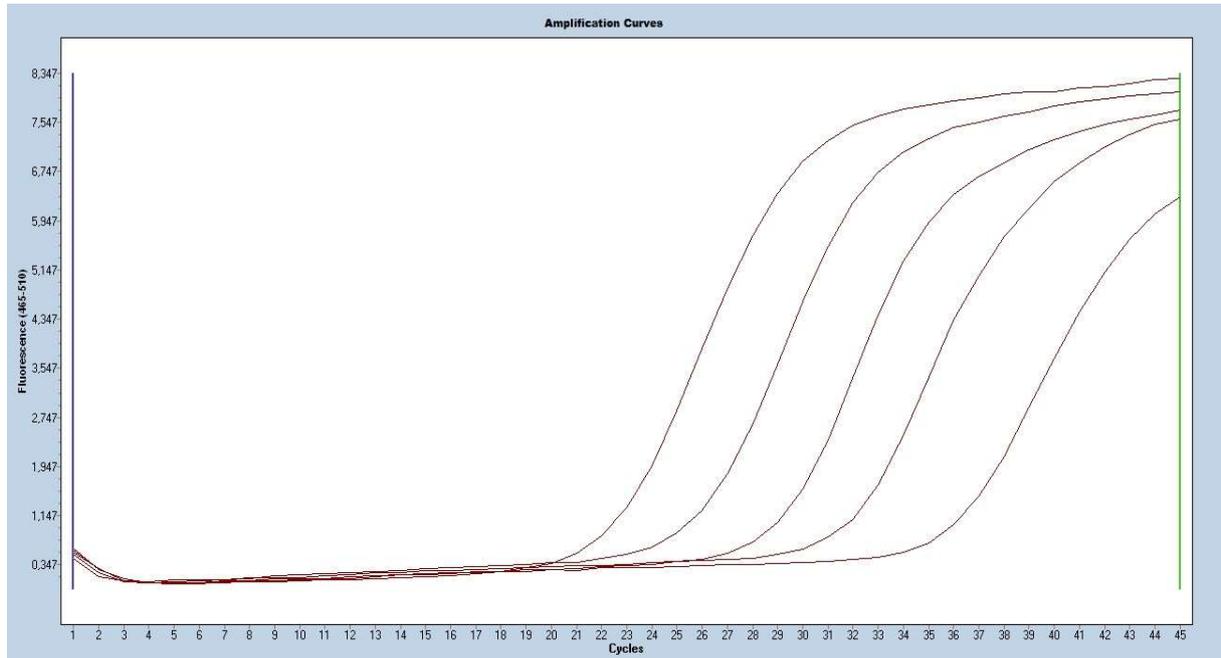
**Tableau 10:** Corrélation des résultats de l'entérovirus obtenus avec le test de RT-PCR en temps réel multiplexe RIDA®GENE Enterovirus et de la PCR en temps réel interne de référence.

		PCR en temps réel interne		Total	
		Positif	Négatif		
RIDA®GENE Enterovirus	Positif	40	0	40	VPP: 100,0 %
	Négatif	1	83	84	VPN: 98,8 %
	Total	41	83	124	

## 13.2 Sensibilité analytique

Pour le test de RT-PCR en temps réel multiplexe RIDA®GENE Enterovirus, la limite de détection est  $\geq 50$  copies d'ARN par réaction pour les entérovirus.

La figure 2 ci-dessous présente une série de dilutions d'entérovirus ( $10^5 - 10^1$  copies d'ARN par  $\mu\text{l}$ ) avec le LightCycler® 480II.



**Figure 2:** Série de dilutions pour les entérovirus ( $10^5 - 10^1$  copies d'ARN par  $\mu\text{l}$ ) avec le LightCycler® 480II

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

### 13.3 Spécificité analytique

La spécificité analytique du test de RT-PCR en temps réel multiplexe RIDA®GENE Enterovirus est spécifique pour les entérovirus dans les échantillons de selles humaines. Aucune réaction croisée n'a pu être détectée pour les espèces suivantes (voir tableau 11):

**Tableau 11:** Test de la réactivité croisée

<i>Acinetobacter baumannii</i>	-	<i>Clostridium bifermentans</i>	-	<i>Giardia lamblia</i>	-	<i>Staphylococcus aureus</i>	-
Adénovirus 1, humain, souche Adénoïde 71	-	<i>Clostridium difficile</i>	-	<i>Haemophilus influenzae Rd</i>	-	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	-
Adénovirus 40, humain, souche Dugan	-	<i>Clostridium novyi</i>	-	<i>Klebsiella oxytoca</i>	-	<i>Staphylococcus haemolyticus</i>	-
Adénovirus 41, humain, souche Tak	-	<i>Clostridium perfringens</i>	-	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	-	<i>Staphylococcus hominis</i>	-
Adénovirus 7, humain, souche Gomen	-	<i>Clostridium septicum</i>	-	<i>Legionella pneumophila</i>	-	<i>Streptococcus pneumoniae</i>	-
<i>Aeromonas hydrophila</i>	-	<i>Clostridium sordellii</i>	-	Métapneumovirus, humain	-	<i>Vibrio parahaemolyticus</i>	-
<i>Arcobacter butzleri</i>	-	<i>Clostridium sporogenes</i>	-	<i>Mycoplasma pneumoniae</i>	-	Virus d'Epstein-Barr souche B95-8	-
Astrovirus	-	Coronavirus 229E, humain	-	<i>Neisseria meningitidis</i>	-	Virus de la grippe A/PR/8/34	-
<i>Bacillus cereus</i>	-	<i>Cryptosporidium muris</i>	-	Norovirus GG I	-	Virus Herpes simplex 1 souche McIntyre	-
<i>Bacteroides fragilis</i>	-	<i>Cryptosporidium parvum</i>	-	Norovirus GG II	-	Virus Herpes simplex 2 souche MS	-
<i>Bordetella parapertussis</i>	-	Cytomégalovirus, humain	-	<i>Proteus vulgaris</i>	-	Virus parainfluenza 1, humain, souche C35	-
<i>Bordetella pertussis</i>	-	<i>E. coli</i> (O157:H7)	-	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	-	Virus parainfluenza 2, humain, souche Greer	-
<i>Campylobacter coli</i>	-	<i>E. coli</i> (O26:H-)	-	Rhinovirus, humain, génogroupe A	-	Virus parainfluenza 4b, humain, souche CH19503	-
<i>Campylobacter fetus</i> sous-esp. <i>fetus</i>	-	<i>E. coli</i> (O6)	-	Rotavirus	-	Virus parainfluenza, sérotype 3	-
<i>Campylobacter jejuni</i>	-	<i>Entamoeba histolytica</i>	-	<i>Salmonella enteritidis</i>	-	Virus respiratoire syncytial, humain, souche 9320	-
<i>Campylobacter lari</i> subsp. <i>lari</i>	-	<i>Enterobacter cloacae</i>	-	<i>Salmonella typhimurium</i>	-	Virus respiratoire syncytial, humain, souche Long	-

<i>Campylobacter upsaliensis</i>	-	<i>Enterococcus faecalis</i>	-	<i>Serratia liquefaciens</i>	-	Virus varicelle-zona (type B)	-
<i>Candida albicans</i>	-	<i>Giardia intestinalis</i> Portland 1	-	<i>Shigella flexneri</i>	-	<i>Yersinia enterocolitica</i>	-
<i>Citrobacter freundii</i>	-	<i>Giardia intestinalis</i> WB Clone C6	-				

### 13.4 Réactivité analytique

La réactivité du test de RT-PCR en temps réel multiplexe RIDA®GENE Enterovirus a été évaluée par rapport à plusieurs souches d'entérovirus (voir tableau 12). Toutes les souches du panel ont été détectées par le test de RT-PCR en temps réel RIDA®GENE Enterovirus ou par alignement de séquences (\*).

**Tableau 12:** Test de la réactivité analytique

Entérovirus					
<b>Entérovirus A</b>					
Entérovirus type 71	+	Coxsackievirus A9	+		
<b>Entérovirus B</b>					
Coxsackievirus B1	+	Coxsackievirus B2	+	Coxsackievirus B3	+
Coxsackievirus B4	+	Coxsackievirus B5	+	Échovirus type 6	+
Échovirus type 7	+	Échovirus type 11	+	Échovirus type 20	+
Échovirus type 25	+	Échovirus type 30	+		
<b>Entérovirus C</b>					
Poliovirus type 1	+	Poliovirus type 2	+	Poliovirus type 3	+
<b>Entérovirus D</b>					
Entérovirus type 68*	+				

## 14. Historique des versions

Numéro de version	Chapitre et désignation
2019-05-21	Version précédente
2021-01-29	Révision générale 10. Contrôle qualité (faute de frappe) 14. Historique des versions 15. Signification des symboles

## 15. Signification des symboles

### Symboles généraux

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

### Symboles spécifiques au test

Reaction Mix

Enzyme-Mix

Internal Control RNA

No Template Control

Positive Control

## 16. Bibliographie

1. Piqueur M *et al.* Improvement of a real-time PCR assay for the detection of enterovirus RNA. *Virology Journal* 2009, 6: 95-97.
2. ICTV Master Species List 2018 - (10th Report) - Master Species Lists - Master Species Lists - ICTV Collaboration". <https://talk.ictvonline.org/files/master-species-lists/m/msl/8266ictvonline.org>. (accessed 22.05.2019)
3. The Pirbright Institute, UK, The Picornavirus Pages (accessed 22.05.2019)
4. De Crom *et al.* Enterovirus and parechovirus infection in children: a brief overview. *Eur J Pediatr* 2016, 175 (8):1023-9.
5. Diop O *et al.* Virologic Monitoring of Poliovirus Type 2 after Oral Poliovirus Vaccine Type 2 Withdrawal in April 2016 — Worldwide, 2016–2017. *Morbidity and Mortality Weekly Report* 2016. 66, 20. Centers for Disease Control and Prevention.
6. Center for Disease Control and Prevention: Non-Polio Enterovirus infection – Outbreaks & Surveillance.
7. Kiehl H. Infektionen durch Enteroviren. RobertKoch Institut, Kompendium Infektiologie & Infektionsschutz. H. Hoffmann GmbH Verlag 2009.
8. Robert-Koch-Institut, Epidemiologisches Bulletin 7. Oktober 2013. Häufungen von Echovirus-30-bedingten Meningitiden 2013.
9. Robert-Koch-Institut, Epidemiologisches Bulletin 20. Mai 2008. Enterovirus-71-Infektionen: Zum Auftreten der Hand-Fuß-Mund-Krankheit in Südostasien. 2008.