

## RIDA® GENE Legionella

**REF** PG8005



## 1. Application

Pour usage diagnostique *in vitro*. Le test RIDA®GENE Legionella est un test de PCR en temps réel multiplexe pour la détection qualitative directe et la différenciation de *Legionella pneumophila* et *Legionella* spp. à partir de liquide de lavage broncho-alvéolaire (LBA) humain.

Le test de PCR en temps réel multiplexe RIDA®GENE Legionella est destiné à faciliter le diagnostic des infections respiratoires provoquées par *Legionella*.

## 2. Résumé et explication du test

Le gène *Legionella* appartient à la famille des *Legionellaceae* et peut être divisé en plus de 40 espèces avec plus de 70 sérogroupes. Les *Legionella* sont des bactéries intracellulaires gram-négatives facultatives et leur pic d'infection survient en été et au début de l'automne. Le genre *Legionella* appartient à la famille des *Legionellaceae* et regroupe plus de 40 espèces avec plus de 70 sérogroupes. Les *Legionella* sont des bactéries intracellulaires gram-négatives facultatives et leur pic d'infection est atteint en été et au début de l'automne. On peut distinguer les infections acquises dans la collectivité, la maladie associée au voyage et les infections nosocomiales. Aux États-Unis, le taux de mortalité dû aux infections nosocomiales par *Legionella* atteint 15 à 20 %<sup>1,2</sup>. En Europe, 12 % des cas d'infections par *Legionella* sont mortels. Parmi la grande variété d'espèces de *Legionella*, deux représentent d'importants pathogènes. *L. pneumophila* cause principalement la maladie du légionnaire et *L. longbeachae* provoque une fièvre de Pontiac. La fièvre de Pontiac est une maladie aiguë auto-limitative ressemblant à la grippe, mais sans que survienne une pneumonie. Environ 7 % des personnes infectées par *Legionella* développent une fièvre de Pontiac<sup>3</sup>. *L. pneumophila* se décompose en 16 sérogroupes ; alors qu'en Europe, environ 70 % des infections à *Legionella* sont dues au séro groupe 1 de *L. pneumophila*. D'autres espèces de *Legionella* entraînant une infection sont par exemple *L. micdadei*, *L. bozemanii*, *L. dumoffii* et *L. longbeachae*<sup>4</sup>.

La maladie du légionnaire est une infection respiratoire aiguë due dans 90 % des cas à *L. pneumophila*. Cette maladie a été décrite pour la première fois en 1976, lors d'une réunion de la Légion américaine à Philadelphia, d'où le nom de la maladie. Deux autres épidémies de la maladie du légionnaire ont fait 6 morts en 2013 à Brisbane en Australie et à Reynoldsburg dans l'Ohio aux États-Unis. Fièvre, toux (sèche ou avec production de crachat) et frissons en sont les symptômes. La diarrhée, les vomissements, la bradycardie et l'hyponatrémie sont d'autres symptômes, moins fréquents<sup>3</sup>. Des individus de tout âge peuvent être infectés, mais les personnes âgées, ainsi que les fumeurs et les patients souffrant d'infections pulmonaires chroniques sont plus sensibles à ce type de maladie. Même dans les pays dotés d'un système de soins de santé efficace, presque 90 % des cas de maladie du légionnaire ne sont pas diagnostiqués, car les symptômes cliniques peuvent varier sensiblement et la maladie est assez rare. De plus, il est très difficile de distinguer la maladie du légionnaire d'autres pneumonies sur la seule base des

symptômes ou d'une radiographie du thorax. Par conséquent, des méthodes de détection sensibles et spécifiques telles que le test de PCR en temps réel offre un avantage pour la détection des infections à *Legionella*.

### 3. Principe du test

Le test RIDA®GENE Legionella est un test de PCR en temps réel multiplexe pour la détection qualitative directe et la différenciation de *Legionella* spp. et de *Legionella pneumophila* à partir de liquide de lavage broncho-alvéolaire (LBA). Après isolation de l'ADN, survient l'amplification des fragments de gène (16S-rRNA, si présent) spécifiques à *Legionella* spp. et *Legionella pneumophila*.

La cible amplifiée est détectée 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®GENE Legionella contient un Internal Control DNA (ICD) 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	Reaction Mix	2x	1050 µl	jaune
2	Taq-Polymerase	1x	80 µl	rouge
D	Internal Control DNA	2x	1700 µl	orange
N	No Template Control	1x	450 µl	blanc
P	Positive Control	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 15 cycles de congélation/décongélation sans que les performances du test ne soient affectées (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. Réactifs requis, mais non fournis

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

**Tableau 2:** Matériel nécessaire (compatible)

Plateformes d'extraction	
R-Biopharm	RIDA® Xtract
Promega	Maxwell® RSC
Instruments de PCR en temps réel	
Roche	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 IV (PG0004) pour une utilisation avec les appareils LightCycler® 480II et 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 (eau de qualité BioScience, sans nucléase)

## 7. Mesures de précaution

Pour usage diagnostique *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 Isolation de l'ADN à partir d'un lavage broncho-alvéolaire

Pour isoler l'ADN à partir d'un lavage broncho-alvéolaire, utiliser un kit d'isolation d'ADN (par ex., RIDA®Xtract [R-Biopharm]) ou un système d'extraction d'ADN (par ex., Maxwell® RSC [Promega]) disponible dans le commerce. Extraire l'ADN conformément aux instructions du fabricant.

Le test RIDA®GENE Legionella inclut un **Internal Control DNA** qui détecte l'inhibition de la PCR, surveille l'intégrité du réactif et confirme que l'extraction d'acides nucléiques a été suffisante. L'ADN de contrôle interne **Internal Control DNA** 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 DNA** est utilisé uniquement comme contrôle de l'inhibition de la PCR, il convient d'ajouter 1 µl de **Internal Control DNA** au mélange maître (voir tableau 4).

Si le **Internal Control DNA** 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 DNA** pendant la procédure d'extraction. Le **Internal Control DNA** 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'ADN de contrôle interne **Internal Control DNA** 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 les réactifs **Reaction Mix**, **Taq-Polymerase**, **Positive Control**, **No Template Control** et **Internal Control DNA** avant utilisation. Conserver les réactifs à une température assez basse durant l'étape de travail (entre 2 °C et 8 °C).

**Tableau 3:** Calcul et exemple de pipetage pour 10 réactions du mélange maître (ICD comme contrôle de l'extraction et de l'inhibition de la PCR)

Code du kit	Composants du mélange maître	Volume par réaction	10 réactions (10 % de plus)
1	<b>Reaction Mix</b>	19,3 µl	212,3 µl
2	<b>Taq-Polymerase</b>	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:** Calcul et exemple de pipetage pour 10 réactions du mélange maître (ICD uniquement comme contrôle de l'inhibition de la PCR)

Code du kit	Composants du mélange maître	Volume par réaction	10 réactions (10 % de plus)
1	<b>Reaction Mix</b>	19,3 µl	212,3 µl
2	<b>Taq-Polymerase</b>	0,7 µl	7,7 µl
D	<b>Internal Control DNA</b>	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 PCR

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

**Contrôle négatif:** Ajouter 5 µl de **No Template Control** au mélange maître pré-pipeté.

**Remarque:** si l'ADN de contrôle interne **Internal Control DNA** est utilisé à la fois 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'en ajouter 1 µl au mélange de contrôle négatif pour la PCR.

**Échantillon:** Ajouter 5 µl d'extrait d'ADN au mélange maître pré-pipeté.

**Contrôle positif:** Ajouter 5 µl de **Positive Control** au mélange maître pré-pipeté.

**Remarque:** si l'ADN de contrôle interne **Internal Control DNA** est utilisé à la fois 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'en ajouter 1 µl au mélange de contrôle positif pour la PCR.

Recouvrir les tubes ou la plaque. Les centrifuger et les placer dans l'instrument de PCR en temps réel. La réaction de PCR devrait commencer conformément à la configuration de l'instrument de PCR (voir tableaux 5, 6, 7 et 8).

## 9.3 Configuration de l'instrument de PCR

### 9.3.1 Profil de PCR en temps réel de l'ADN

**Tableau 5:** Profil de PCR en temps réel de l'ADN pour la série LightCycler® et Rotor-Gene Q

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 de PCR en temps réel de l'ADN pour Mx3005P, ABI7500, CFX96™

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.

### 9.3.2 Profil universel de PCR en temps réel

**Remarque:** le profil universel de PCR en temps réel doit seulement être utilisé pour les tests d'ADN si les tests PCR en temps réel RIDA®GENE DNA et ARN sont effectués lors d'une même exécution.

**Tableau 7:** Profil universel de 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 8:** Profil universel de 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.



## 9.4 Configuration du canal de détection

Tableau 9 : Sélection des canaux de détection adéquats

Instrument de PCR en temps réel	Détection	Canal de détection	Remarque
Roche LightCycler® 480II	<i>Legionella</i> spp.	465/510	Le RIDA®GENE Color Compensation Kit IV (PG0004) est nécessaire
	ICD	533/580	
	<i>Legionella pneumophila</i>	618/660	
Roche LightCycler® 480 z	<i>Legionella</i> spp.	465/510	Le RIDA®GENE Color Compensation Kit IV (PG0004) est nécessaire
	ICD	540/580	
	<i>Legionella pneumophila</i>	540/610	
Agilent Techn. Mx3005P	<i>Legionella</i> spp.	FAM	Vérifier que l'option de référence passive ROX n'est pas sélectionnée
	ICD	HEX	
	<i>Legionella pneumophila</i>	Cy5	
ABI 7500	<i>Legionella</i> spp.	FAM	Vérifier que l'option de référence passive ROX n'est pas sélectionnée
	ICD	VIC	
	<i>Legionella pneumophila</i>	Cy5	
Bio-Rad CFX96™	<i>Legionella</i> spp.	FAM	-
	ICD	VIC	
	<i>Legionella pneumophila</i>	Cy5	
Qiagen Rotor-Gene Q	<i>Legionella</i> spp.	Vert	Les paramètres de gain doivent être réglés sur 5
	ICD	Jaune	
	<i>Legionella pneumophila</i>	Rouge	

## 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. Les contrôles positifs et négatifs doivent afficher des résultats corrects (voir tableau 10, figures 1 et 2) afin de déterminer qu'une série est valide.

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

**Tableau 10:** Pour que l'exécution soit valide, les conditions suivantes doivent être satisfaites :

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

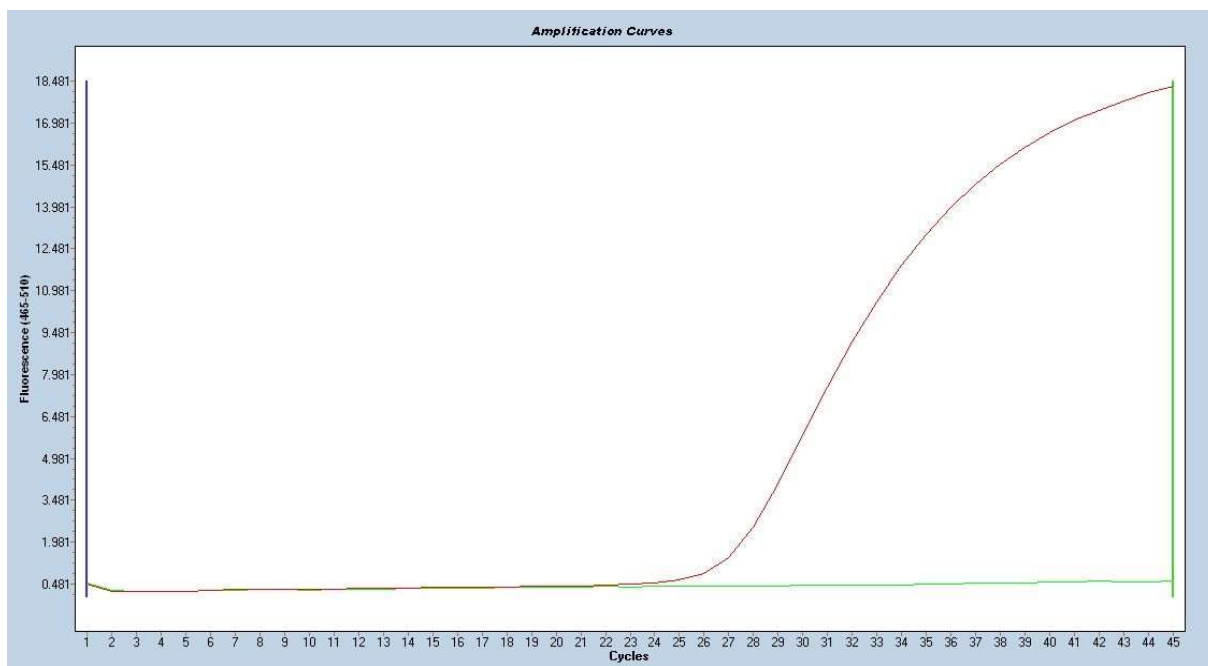
\*1 Aucune valeur de Ct n'est requise pour que le résultat de l'IAC soit positif pour le contrôle positif.

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.

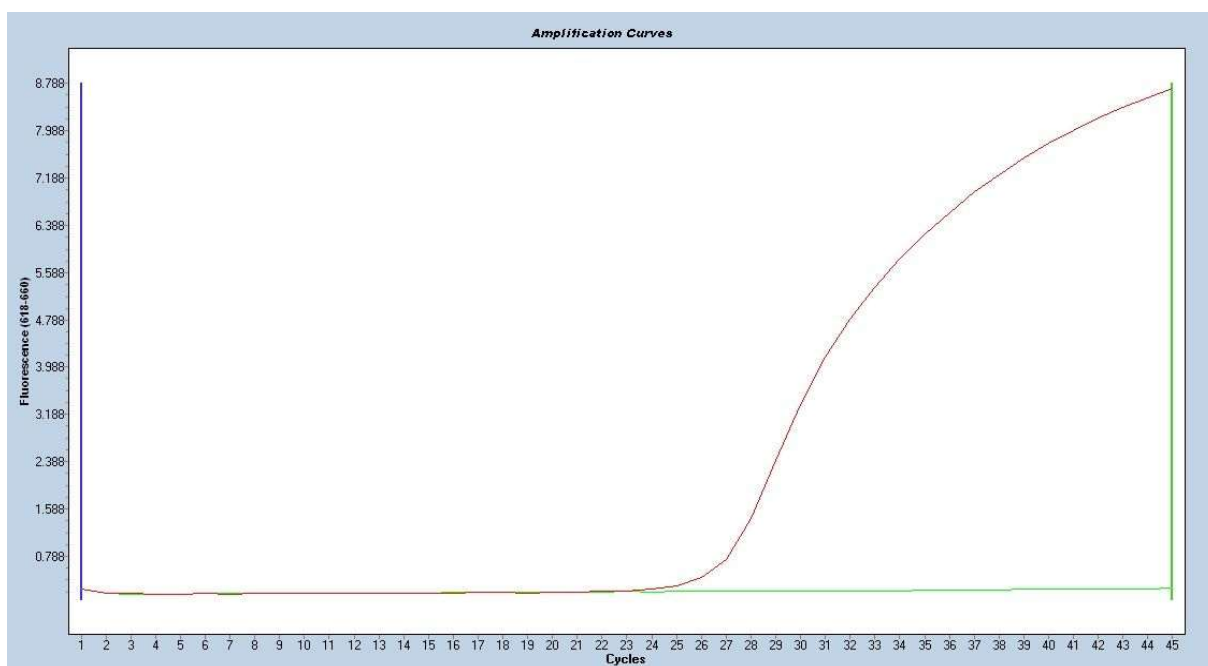
Si le contrôle négatif n'est pas négatif, mais que le contrôle positif est valide, préparer des réactions entièrement neuves y compris les contrôles.

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 (*Legionella* spp.) sur le LightCycler® 480II



**Figure 2:** Exécution correcte des contrôles positif et négatif (*Legionella pneumophila*) sur le LightCycler® 480II

## 11. Interprétation des résultats

Les résultats sont interprétés conformément au tableau 11.

**Tableau 11:** Interprétation des échantillons

Gènes cibles			
<i>Legionella</i> spp.	<i>L. pneumophila</i>	ICD	Ergebnis
positif	négatif	positif/négatif	<i>Legionella</i> spp. détecté
négatif	positif	positif/négatif	Non valide
positif	positif	positif/négatif	<i>L. pneumophila</i> détecté
négatif	négatif	positif	Gènes cibles non détectés
négatif	négatif	négatif	Non valide

*Legionella* est détecté si l'ADN de l'échantillon et le Internal Control DNA présentent un signal d'amplification dans le système de détection.

*Legionella* est également détecté si l'ADN de l'échantillon présente un signal d'amplification dans le système de détection, mais aucun pour le Internal Control DNA. La détection du contrôle d'amplification interne n'est pas nécessaire, car les concentrations élevées de l'amplicon peuvent générer un signal faible ou absent de l'ADN de contrôle interne Internal Control DNA.

*Legionella* n'est pas détecté si l'ADN de l'échantillon ne présente aucun signal d'amplification dans le système de détection, mais en présente un pour le Internal Control DNA. Une inhibition de la réaction de PCR peut être exclue par la détection de l'ADN du contrôle interne Internal Control DNA.

Un échantillon est non valide si l'ADN de l'échantillon et l'ADN de contrôle interne Internal Control DNA 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 examiné dans le contexte des antécédents médicaux et des symptômes du patient.
2. Ce test est seulement validé pour les échantillons de LBA.
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 Legionella.
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 des gènes cibles (ARNr 16S).

## 13. Performances

### 13.1 Performance clinique

Dans une étude de validation clinique rétrospective, 282 échantillons respiratoires extraits ont été analysés à l'aide du test RIDA®GENE Legionella et d'un test de PCR en temps réel interne dans un laboratoire situé en Allemagne (voir tableaux 12 et 13). L'extraction a été effectuée à l'aide de l'appareil MagNA Pure 96 et la PCR en temps réel a été réalisée sur le LightCycler® 480II.

**Tableau 12:** Corrélation des résultats d'analyse de *Legionella pneumophila* obtenus avec le test de PCR en temps réel RIDA®GENE Legionella et de la PCR en temps réel interne de référence.

		PCR en temps réel interne		Total	Commentaires
		Positif	Négatif		
RIDA®GENE Legionella	Positif	51	0	51	Corrélation positive : 100 %
	Négatif	0	231	231	Corrélation négative : 100 %
	Total	51	231	282	

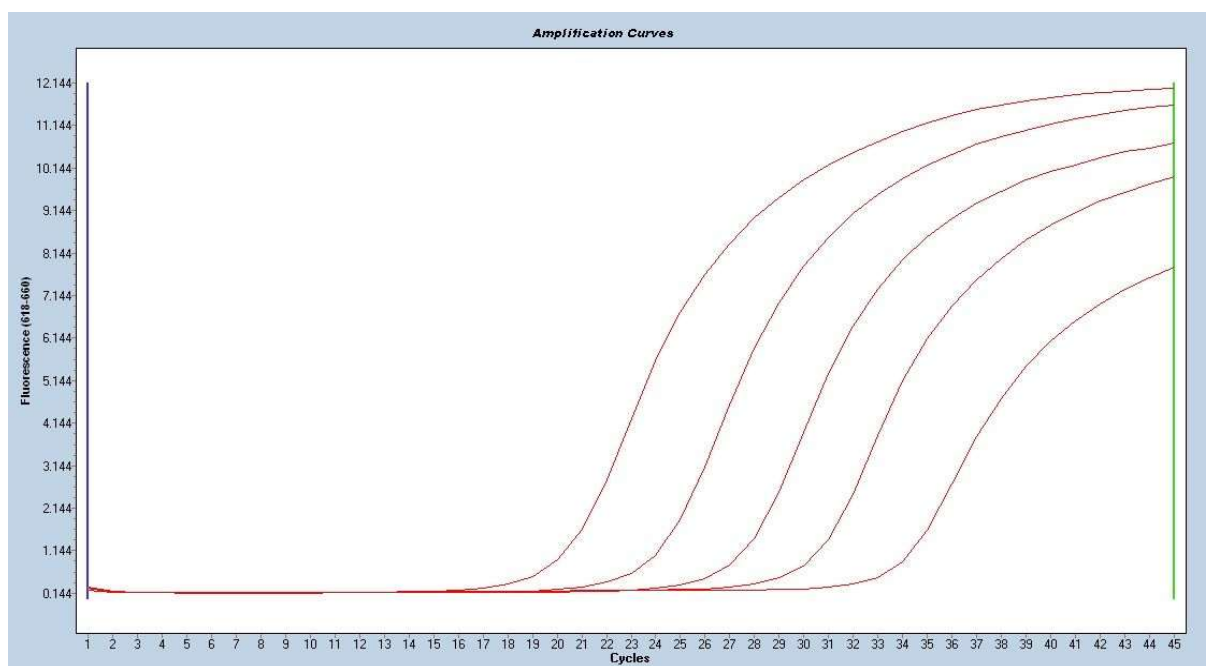
**Tableau 13:** Corrélation des résultats d'analyse de *Legionella* spp. obtenus avec le test de PCR en temps réel RIDA®GENE Legionella et de la PCR en temps réel interne de référence.

		PCR en temps réel interne		Total	Commentaires
		Positif	Négatif		
RIDA®GENE Legionella	Positif	70	0	70	Corrélation positive : 100 %
	Négatif	0	212	212	Corrélation négative : 100 %
	Total	70	212	282	

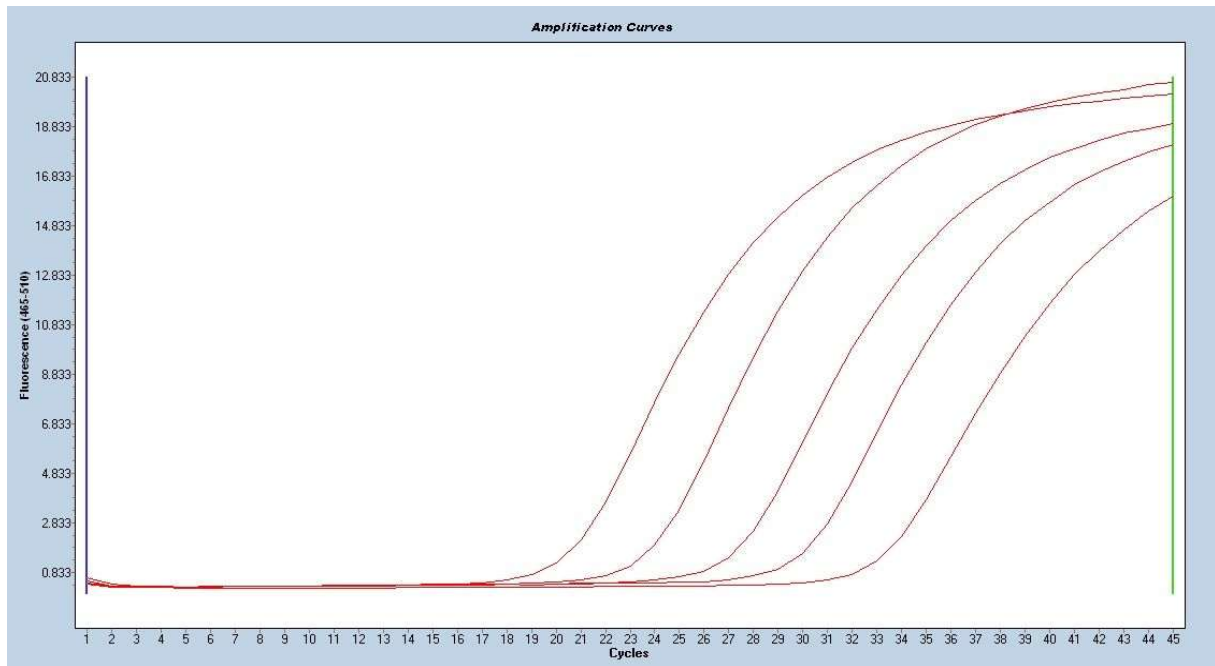
### 13.2 Sensibilité analytique

La limite de détection du test de PCR en temps réel multiplexe RIDA®GENE Legionella est  $\geq 10$  copies d'ADN par réaction.

Les figures 3 et 4 suivantes montrent la série de dilutions de *Legionella* spp. et de *Legionella pneumophila* ( $10^5$  -  $10^1$  copies d'ADN par  $\mu\text{l}$  chacune) dans le LightCycler® 480II.



**Figure 3:** Série de dilutions pour *Legionella* spp. ( $10^5$  –  $10^1$  copies d'ADN par  $\mu\text{l}$ ) avec le LightCycler® 480II



**Figure 4:** Série de dilutions pour *Legionella pneumophila* ( $10^5$  –  $10^1$  copies d'ADN 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'ADN et de la concentration de l'ADN.

### 13.3 Spécificité analytique

Le test de PCR en temps réel multiplexe RIDA®GENE Legionella est spécifique pour *Legionella* spp. et *L. pneumophila* issus d'un lavage broncho-alvéolaire humain. Aucune réaction croisée n'a pu être détectée pour les espèces suivantes (voir tableau 14):

**Tableau 14:** Test de la réactivité croisée

Adénovirus 1, humain, souche Adénoïde 71	-	Virus Coxsackie B4, humain	-	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	-	Virus parainfluenza, sérotype 3	-
Adénovirus 7, humain, souche Gomen	-	Échovirus 11	-	Métapneumovirus, humain	-	Virus parainfluenza 4b, humain, souche CH19503	-
<i>Bordetella parapertussis</i>	-	Entérovirus type 71	-	<i>Mycoplasma fermentans</i>	-	Virus respiratoire syncytial, humain, souche Long	-
<i>Bordetella pertussis</i>	-	<i>Haemophilus influenzae</i>	-	<i>Mycoplasma hominis</i>	-	Virus respiratoire syncytial, humain, souche 9320	-
<i>Chlamydia abortus</i>	-	Virus Herpes simplex 1, souche McIntyre	-	<i>Mycoplasma pneumoniae</i>	-	Rhinovirus humain, génogroupe A	-
<i>Chlamydia pneumoniae</i>	-	Virus Herpes simplex 2, souche MS	-	<i>Neisseria meningitidis</i>	-	<i>Staphylococcus haemolyticus</i>	-
<i>Chlamydia psittaci</i>	-	Virus de la grippe A (PR/8/34)	-	Virus parainfluenza 1, humain, souche C35	-	<i>Staphylococcus hominis</i>	-
Coronavirus 229E, humain	-	Virus influenza B (B/Lee/40)	-	Virus parainfluenza 2, humain, souche Greer	-	<i>Streptococcus pneumoniae</i>	-



### 13.4 Réactivité analytique

La réactivité du test de PCR en temps réel multiplexe RIDA®GENE Legionella a été évaluée par rapport à plusieurs souches de *Legionella* spp. (voir tableau 15). Toutes les souches du panel ont été détectées par le test de PCR en temps réel RIDA®GENE Legionella.

**Tableau 15:** Test de la réactivité croisée










Souche	Sérogroupe	<i>Legionella</i> spp.	<i>Legionella pneumophila</i>
<i>Legionella pneumophila</i>	1	positif	positif
<i>Legionella pneumophila</i>	2	positif	positif
<i>Legionella pneumophila</i>	3	positif	positif
<i>Legionella pneumophila</i>	4	positif	positif
<i>Legionella pneumophila</i>	5	positif	positif
<i>Legionella pneumophila</i>	6	positif	positif
<i>Legionella pneumophila</i>	7	positif	positif
<i>Legionella pneumophila</i>	8	positif	positif
<i>Legionella pneumophila</i>	9	positif	positif
<i>Legionella pneumophila</i>	10	positif	positif
<i>Legionella pneumophila</i>	11	positif	positif
<i>Legionella pneumophila</i>	12	positif	positif
<i>Legionella pneumophila</i>	13	positif	positif
<i>Legionella pneumophila</i>	14	positif	positif
<b>Legionella spp. non pneumophila</b>			
<i>Legionella anisa</i>	-	positif	négatif
<i>Legionella bozemanii</i>	-	positif	négatif
<i>Legionella dumoffi</i>	-	positif	négatif
<i>Legionella cardiaca</i>	-	positif	négatif
<i>Legionella feeleeii</i>	-	positif	négatif
<i>Legionella gormanii</i>	-	positif	négatif
<i>Legionella hackeliae</i>	-	positif	négatif
<i>Legionella jordanis</i>	-	positif	négatif
<i>Legionella longbeachae</i>	-	positif	négatif
<i>Legionella maceachernii</i>	-	positif	négatif
<i>Legionella micdadei</i>	-	positif	négatif
<i>Legionella oakridgensis</i>	-	positif	négatif

## 14. Historique des versions

Numéro de version	Chapitre et désignation
2018-07-30	Version précédente
2020-10-02	Révision générale 13.1 Performance clinique 14. Historique des versions 15. Signification des symboles

## 15. Signification des symboles

### Symboles généraux

	Pour usage diagnostique <i>in vitro</i>
	Consulter le mode d'emploi
	Numéro de lot
	Utiliser avant le
	Température de stockage
	Numéro d'article
	Nombre de tests
	Date de fabrication
	Fabricant

### Symboles spécifiques au test

Reaction Mix

Taq-Polymerase

Internal Control DNA

No Template Control

Positive Control

## 16. Bibliographie

1. Howden BP *et al.* Treatment and outcome of 104 hospitalized patients with Legionnaires' disease. *Internal Medicine Journal*. 2003, 33(11):484-488.
2. Benin AL *et al.* An outbreak of travel-associated Legionnaires' disease and Pontiac fever: the need for enhanced surveillance of travel-associated legionellosis in the United States. *Journal of Infectious Diseases*. 2002, 185(2):237-243.
3. Bartram *et al.* Legionella and the prevention of Legionellosis. 2012, World Health Organisation (WHO).
4. Joseph C *et al.* Surveillance of Legionnaires disease in Europe. *Legionella*, Washington DC, ASM Press. 2002, 311-320.