

RIDA® GENE SARS-CoV-2

REF PG6815



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



1. Campo di applicazione

Per la diagnostica in vitro. Il test RIDA®GENE SARS-CoV-2, da eseguire sul LightCycler® 480II Roche, è un test di RT-PCR real-time multiplex per la rivelazione qualitativa diretta dell'RNA del coronavirus (SARS-CoV-2) da tampone faringeo e rinofaringeo di pazienti con sintomi di infezione respiratoria.

Il test RIDA®GENE SARS-CoV-2 è concepito per supportare la diagnosi differenziale delle infezioni da SARS-CoV-2 in pazienti con sintomi di infezione respiratoria in combinazione con altri risultati clinici e di laboratorio.

I risultati negativi non escludono l'infezione da SARS-CoV-2 e non devono essere utilizzati come unica base per la diagnosi.

Il prodotto è destinato all'uso professionale in laboratori ospedalieri, laboratori di riferimento, laboratori privati o pubblici.

2. Sintesi e spiegazione del test

Alla fine di dicembre, nella metropoli cinese di Wuhan si sono verificati numerosi casi di polmonite di eziologia sconosciuta.¹ All'inizio di gennaio, le autorità cinesi hanno individuato la causa in un nuovo tipo di coronavirus (SARS-CoV-2).¹ La malattia causata da SARS-CoV-2 è ufficialmente denominata COVID-19 ("Malattia da coronavirus 2019") ed è trasmissibile da persona a persona.²

In tutto il mondo sono stati segnalati 3.925.815 casi (al 10 maggio 2020).³ I primi casi in Germania sono stati confermati alla fine di gennaio 2020.⁴ In Germania sono stati segnalati 169.575 casi (all'11 maggio 2020).^{4,5} L'OMS ha dichiarato l'emergenza sanitaria internazionale il 31 gennaio 2020.^{1,5}

Le linee guida originali dell'OMS raccomandavano una strategia a triplo target.⁶ Al momento della stesura di questa linea guida, le informazioni sulla sequenza del SARS-CoV-2 erano insufficienti, quindi gli intervalli di sequenza nelle singole regioni del gene target pubblicati dall'OMS erano troppo poco specifici per consentire una rivelazione affidabile dell'RNA del SARS-CoV-2. Al fine di aumentare la specificità dei test per il SARS-CoV-2, è stata perseguita di conseguenza una strategia a triplo target. Il 17 gennaio 2020, questa strategia è stata ridotta a una strategia a doppio target, poiché il terzo aveva una sensibilità insufficiente.

Per quanto riguarda i requisiti dei test di biologia molecolare, il 17 marzo 2020 l'OMS ha pubblicato una guida provvisoria per la diagnosi dei casi sospetti di malattia da coronavirus (COVID-19) causata dal virus SARS-CoV-2, in cui si afferma: "Nelle aree geografiche in cui il virus COVID-19 è ampiamente diffuso, potrebbe essere adottato un algoritmo più semplice in cui, ad esempio, lo screening mediante RT-PCR real-time di un singolo target SARS-CoV-2 discriminatorio (strategia a target singolo) è considerato sufficiente."

Nello sviluppo del test di RT-PCR real time RIDA®GENE SARS-CoV-2, R-Biopharm AG ha adottato la strategia del target singolo fin dall'inizio. Il nostro obiettivo era

definire una rivelazione sensibile e specifica del SARS-CoV-2 con un flusso di lavoro ottimizzato, ovvero senza bisogno di ulteriori conferme. È stato possibile adottare questa strategia anche in quel momento perché le sequenze del genoma del nuovo coronavirus SARS CoV-2 erano disponibili in numero elevato. Nel corso delle analisi del genoma, siamo stati in grado di identificare una regione all'interno del gene E che è altamente specifica del SARS-CoV-2 e che mostra un'alta sensibilità ai fini dello screening. Questa regione si trova a circa 200 coppie di basi a valle della regione non specifica del gene E del SARS-CoV-2 pubblicata dall'OMS. Nel rilevare questa specifica regione del gene E, siamo stati così in grado di ridurre la rivelazione dell'RNA del SARS-CoV-2 a un solo target.

3. Principio del test

Il test RIDA® GENE SARS-CoV-2 è un test RT-PCR real-time multiplex per la rivelazione qualitativa diretta di RNA di coronavirus (SARS-CoV-2) da tamponi faringei e rinofaringei in pazienti con sintomi di infezione respiratoria.

La rivelazione avviene mediante RT-PCR real-time in una singola fase: la trascrizione inversa (RT) e la successiva PCR hanno luogo nella medesima cuvetta di reazione. Nel processo, l'RNA isolato viene trascritto in cDNA con l'ausilio di una trascrittasi inversa. I frammenti genetici specifici per SARS-CoV-2 (gene E) vengono quindi amplificati mediante PCR real-time. Le sequenze target amplificate vengono rivelate con sonde a idrolisi etichettate con un quencher a un'estremità e un colorante reporter fluorescente (fluoroforo) all'altra estremità. In presenza di una sequenza target le sonde ibridano con l'amplicone. Durante l'estensione, la Taq-polimerasi separa il reporter dal quencher. Il reporter emette un segnale fluorescente che viene rivelato dall'unità ottica dello strumento di PCR real-time. Il segnale di fluorescenza aumenta con la quantità di ampliconi formati. Il test RIDA®GENE SARS-CoV-2 contiene un Internal Control RNA (ICR) per verificare la preparazione del campione e/o la potenziale inibizione della PCR.

4. Contenuto della confezione

Tabella 1: Contenuto della confezione (i reagenti inclusi nel kit sono sufficienti per 100 determinazioni.)

Codice del kit	Reagente	Quantità		Colore del coperchio
1	Reaction Mix	2x	1050 µl	giallo
2	Enzyme Mix	1x	80 µl	rosso
R	Internal Control RNA	2x	1700 µl	marrone
N	No Template Control	1x	450 µl	bianco
P	Positive Control	1x	200 µl	blu

5. Istruzioni di conservazione

- Tutti i reagenti devono essere conservati lontano dalla luce a una temperatura di -20 °C e prima dell'apertura possono essere utilizzati fino alla data di scadenza stampata sull'etichetta. Dopo la data di scadenza la garanzia di qualità non è più valida.
- Tutti i reagenti devono essere scongelati con cura prima dell'uso (ad esempio in frigorifero a 2 - 8 °C).
- Il congelamento/lo scongelamento ripetuto fino a 20 volte non influisce sulla proprietà del test (se necessario, creare aliquote dopo il primo scongelamento e ricongelare i reagenti immediatamente).
- Raffreddare adeguatamente tutti i reagenti durante la preparazione della PCR (2 - 8 °C).

6. Reagenti necessari ma non in dotazione

Il test PCR real-time multiplex RIDA®GENE SARS-CoV-2 è stato verificato con le piattaforme di estrazione e dispositivi per PCR real-time seguenti:

Tabella 2a: Attrezzatura necessaria (verificata)

Piattaforme di estrazione	
Promega	Maxwell®RSC
Dispositivi per PCR real-time	
Roche	LightCycler®480II

Il test di RT-PCR real-time multiplex RIDA®GENE SARS-CoV-2 è compatibile con le piattaforme di estrazione e gli strumenti per PCR real-time elencati di seguito:

Tabella 2b: Attrezzatura necessaria (compatibile)

Piattaforme di estrazione	
R-Biopharm AG	RIDA®Xtract
Roche	MagNA Pure 96 ⁷
Dispositivi per PCR real-time	
R-Biopharm AG	RIDA®CYCLER
Agilent Technologies	Mx3005P
Applied Biosystems	ABI 7500 Fast Dx
Bio-Rad	CFX96™ Dx
QIAGEN	Rotor-Gene Q

Nota: Quando si utilizza Rotor-Gene Q (QIAGEN), utilizzare solo provette da 0,1 ml.

Per utilizzare altre procedure di estrazione o dispositivi per la PCR real-time diversi, contattare R-Biopharm AG all'indirizzo mdx@r-biopharm.de per verificarne la compatibilità.

- RIDA®GENE Color Compensation Kit IV (PG0004) per LightCycler® 480II
- Materiali di consumo per PCR real-time (piastre, provette, pellicola)
- Centrifuga con rotore per cuvette di reazione o piastre
- Agitatore a vortice
- Pipette (0,5 - 20 µl, 20 - 200 µl, 100 - 1000 µl)
- Puntali per pipette con filtri
- Guanti monouso senza talco
- Acqua per PCR (priva di nucleasi)

7. Avvertenze e misure precauzionali

- Questo test deve essere eseguito esclusivamente da personale di laboratorio qualificato. Osservare le linee guida per il lavoro nei laboratori medici.
- Nell'esecuzione del test, attenersi rigorosamente alle istruzioni per l'uso.
- Non pipettare con la bocca campioni o reagenti. Evitare il contatto con lesioni cutanee e mucose.
- Durante la manipolazione di campioni e reagenti indossare gli appositi dispositivi di protezione individuale (guanti, camice e occhiali di sicurezza adatti) e lavarsi le mani dopo aver eseguito il test.
- Non fumare, mangiare o bere nelle aree in cui vengono manipolati i campioni.
- Assicurarsi che l'estrazione, la preparazione della PCR e la PCR avvengano in locali separati per evitare contaminazione crociata.
- I campioni clinici devono essere considerati come potenzialmente infettivi e devono essere smaltiti in modo appropriato, come tutti i reagenti e i materiali che entrano in contatto con campioni potenzialmente infettivi.
- Dopo la data di scadenza smaltire il kit.

- Gli operatori sono responsabili del corretto smaltimento di tutti i reagenti e materiali dopo l'uso. Per lo smaltimento attenersi alle disposizioni nazionali.

Per ulteriori dettagli consultare le schede di dati di sicurezza (SDS) su www.r-biopharm.com.

8. Raccolta e conservazione dei campioni

8.1 Preparazione dell'RNA da campioni respiratori umani

Per la preparazione dell'RNA da campioni respiratori umani si raccomanda un kit di estrazione dell'acido nucleico reperibile in commercio (come ad esempio RIDA®Xtract [R-Biopharm AG]) o un sistema di estrazione dell'acido nucleico (come Maxwell® RSC [Promega]). Attenersi alle istruzioni del produttore.

Il test RIDA®GENE SARS-CoV-2 contiene un **Internal Control RNA** che indica l'inibizione potenziale della PCR, verifica l'integrità dei reagenti e conferma l'avvenuta estrazione dell'acido nucleico. L'**Internal Control RNA** può essere utilizzato come solo controllo di inibizione oppure come controllo di estrazione per la preparazione del campione e come controllo di inibizione.

Se l'**Internal Control RNA** viene utilizzato solo come controllo di inibizione, è necessario aggiungere 1 µl di **Internal Control RNA** alla Master Mix di ogni reazione (vedere Tabella 4).

Se l'**Internal Control RNA** viene utilizzato come controllo di estrazione per la preparazione del campione e come controllo di inibizione, durante l'estrazione devono essere utilizzati 20 µl di **Internal Control RNA** per ogni campione.

L'**Internal Control RNA** deve essere aggiunto alla miscela campione/tampone di lisi e **non** direttamente al materiale del campione. Raccomandiamo di pipettare 1 µl di **Internal Control RNA** per reazione nella PCR mix sia per il controllo negativo, sia per il controllo positivo.

Per ulteriori informazioni sulla raccolta, la conservazione e il trasporto dei campioni, consultare le linee guida ad interim dell'OMS, 2 marzo 2020

<https://apps.who.int/iris/handle/10665/331329>.⁶

9. Esecuzione del test

9.1 Preparazione della Master Mix

Per la PCR è necessario calcolare il numero totale di reazioni (campioni e reazioni di controllo). Ogni volta che viene eseguito il test è necessario includere un controllo positivo e un controllo negativo.

L'aggiunta di un ulteriore 10 % di volume alla Master Mix è consigliata per compensare la perdita della pipetta (vedere Tabella 3 e Tabella 4). Prima di utilizzare la **Reaction Mix**, scongelare la **Enzyme Mix**, il **Positive Control**, il **No Template Control** e l'**Internal Control RNA**, mescolare accuratamente e centrifugare brevemente. Raffreddare adeguatamente i reagenti durante le fasi di lavoro (2 - 8 °C).

Tabella 3: Esempio di calcolo e produzione della Master Mix per 10 reazioni (ICR come controllo di estrazione e di inibizione)

Codice del kit	Componenti della Master Mix	Quantità per reazione	10 reazioni (più 10 %)
1	Reaction Mix	19,3 µl	212,3 µl
2	Enzyme Mix	0,7 µl	7,7 µl
	Totale	20 µl	220 µl

Mescolare la Master Mix e quindi centrifugare per breve tempo.

Tabella 4: Esempio di calcolo e produzione della Master Mix per dieci (10) reazioni (ICR solo come controllo di inibizione)

Codice del kit	Componenti della Master Mix	Quantità per reazione	10 reazioni (più 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
	Totale	21,0 µl	231,0 µl

Mescolare la Master Mix e quindi centrifugare per breve tempo.

9.2 Preparazione della PCR Mix

Pipettare 20 µl della Master Mix in ogni cuvetta di reazione (cuvetta o piastra).

Controllo negativo: Pipettare 5 µl di **No Template Control** nella Master Mix pre-pipettata.

Nota: se l'**Internal Control RNA** viene usato come controllo di estrazione per la preparazione del campione e come controllo di inibizione, si raccomanda di aggiungere 1 µl di **Internal Control RNA** alla RT-PCR Mix del controllo negativo.

Campioni: dispensare 5 µl di eluato nella Master Mix pre-pipettata.

Controllo positivo: dispensare 5 µl di **Positive Control** nella Master Mix pre-pipettata.

Nota: se l'**Internal Control RNA** viene usato come controllo di estrazione per la preparazione del campione e come controllo di inibizione, si raccomanda di aggiungere 1 µl di **Internal Control RNA** alla RT-PCR Mix del controllo positivo.

Chiudere le cuvette o le piastre di reazione, centrifugare brevemente a bassa velocità e trasferire nel dispositivo per PCR real-time. Avviare la PCR in base alle impostazioni dello strumento per PCR (vedere Tabella 5, Tabella 6, Tabella 7).

9.3 Impostazione dello strumento per PCR

9.3.1 Profilo per PCR real-time universale

Tabella 5: Profilo RT-PCR real-time universale per LightCycler® 480II e RIDA®CYCLER

<u>Trascrizione inversa</u>	10 min, 58 °C
Denaturazione iniziale	1 min, 95 °C
Cicli	45 cicli
<u>PCR</u> Denaturazione	10 s, 95 °C
Appaiamento/Estensione	15 s, 60 °C
Velocità di transizione della temperatura / velocità di rampa	Massima

Nota: l'appaiamento e l'estensione avvengono nella stessa fase.

Tabella 6: Profilo universale RT-PCR real-time per Mx3005P, ABI7500 Fast Dx, Rotor-Gene Q e CFX96™ Dx

<u>Trascrizione inversa</u>	10 min, 58 °C
Denaturazione iniziale	1 min, 95 °C
Cicli	45 cicli
<u>PCR</u> Denaturazione	15 s, 95 °C
Appaiamento/Estensione	30 s, 60 °C
Velocità di transizione della temperatura / velocità di rampa	Massima

Nota: l'appaiamento e l'estensione avvengono nella stessa fase.

Nota: il profilo per PCR real-time universale può essere utilizzato anche per i test del DNA se i test PCR real-time RIDA®GENE DNA e RIDA®GENE RNA vengono combinati in un unico ciclo.

9.4 Impostazione del canale di rivelazione

Tabella 7: Selezione dei canali di rivelazione appropriati

Dispositivo per PCR real-time	Rivelazione	Canale di rivelazione	Commento
R-Biopharm AG RIDA®CYCLER	SARS-CoV-2	Verde	-
	ICR	Giallo	
Roche LightCycler® 480II	SARS-CoV-2	465/510	È necessario RIDA®GENE Color Compensation Kit IV (PG0004)
	ICR	533/580	
Agilent Technologies Mx3005P	SARS-CoV-2	FAM	Impostare il colorante di riferimento su none (nessuno).
	ICR	HEX	
ABI 7500 Fast Dx	SARS-CoV-2	FAM	Impostare il colorante di riferimento passivo ROX su nessuno.
	ICR	VIC	
Bio-Rad CFX96™ Dx	SARS-CoV-2	FAM	-
	ICR	VIC	
Qiagen Rotor-Gene Q	SARS-CoV-2	Verde	Il guadagno deve essere impostato su 5 (impostazione di fabbrica) per tutti i canali.
	ICR	Giallo	

10. Controllo qualità

I campioni vengono valutati utilizzando il software di analisi del dispositivo per PCR real-time in base alle istruzioni del produttore. Il controllo negativo e il controllo positivo devono mostrare i risultati corretti (vedere Tabella 8).

Il **Positive Control** arriva a una concentrazione di 10^3 copie/ μ l. Viene utilizzato in una quantità totale di 5×10^3 copie in ogni esecuzione di PCR.

Tabella 8: Un ciclo di PCR valido deve soddisfare le seguenti condizioni:

Campione	Risultato	Ct ICR	Gene Ct target
Controllo positivo	Positivo	N/A *1	Vedere certificato di garanzia di qualità
Controllo negativo	Negativo	Ct >20	Non rivelabile

*1 Un valore Ct per l'ICR non è essenziale per ottenere un risultato positivo per il controllo positivo.

I controlli positivi e negativi sono validi quando soddisfano le condizioni specificate nella tabella. L'intervallo Ct per il controllo positivo è specificato nel Certificato di garanzia di qualità accluso al prodotto. Se uno dei due controlli non soddisfa le condizioni per un'esecuzione valida, è necessario analizzare nuovamente tutte le reazioni, compresi i controlli.

Se i valori specificati non sono soddisfatti, prima di ripetere il test è necessario verificare i seguenti punti:

- Data di scadenza dei reagenti utilizzati
- Funzionalità dei dispositivi utilizzati
- Correttezza della procedura di esecuzione del test

11. Interpretazione del campione

Il risultato viene interpretato in base alla Tabella 9.

Tabella 9: Interpretazione del campione

Rivelazione di		
SARS-CoV-2	ICR	Risultato
Positivo	Positivo/ Negativo	SARS-CoV-2 rivelabile
Negativo	Positivo	Gene target non rivelabile
Negativo	Negativo	Non valido

SARS-CoV-2 è comprovabile se sia l'RNA del campione sia l'**Internal Control RNA** mostrano un segnale di amplificazione nel sistema di rivelazione.

SARS-CoV-2 è comprovabile anche se l'RNA mostra un segnale di amplificazione, ma non è presente nessun segnale di amplificazione per l'**Internal Control RNA** nel sistema di rivelazione. In questo caso non è necessario rivelare l'**Internal Control RNA** (ICR), perché concentrazioni elevate di ampliconi possono far sì che il segnale dell'**Internal Control RNA** sia debole o assente.

SARS-CoV-2 non è comprovabile se l'RNA non mostra alcun segnale di amplificazione, ma è presente un segnale per l'**Internal Control RNA** nel sistema di rivelazione. La rivelazione dell'**Internal Control RNA** esclude l'inibizione della reazione PCR.

Un campione non è valido se né l'RNA del campione né l'**Internal Control RNA** mostrano segnali di amplificazione nel sistema di rivelazione. Il campione contiene inibitori della PCR nel campione o si è verificato un errore durante il processo di estrazione. Il campione estratto deve essere diluito 1:10 con acqua per PCR e nuovamente amplificato oppure è necessario migliorare l'isolamento e la purificazione del campione.

Il limite di rivelazione del test RIDA®GENE con LightCycler® 480II, è maggiore di 50 copie / reazione. I campioni con un valore CT > 35 rientrano nel limite di rivelazione. Ricordiamo che il limite di rivelazione della RT-PCR dipende dalla matrice del campione, dal ciclatore e dall'estrazione dell'RNA, e può variare di conseguenza. Pertanto raccomandiamo di valutare questi campioni come non conclusivi, di esaminare l'andamento sigmoide delle singole curve e di richiedere un campione di follow-up tenendo conto dei sintomi clinici. La valutazione di questi campioni deve essere demandata a personale adeguatamente addestrato.

12. Limiti del metodo

1. Questo test è destinato esclusivamente a campioni respiratori umani.
2. Procedure inadeguate di raccolta, trasporto, conservazione e trattamento dei campioni o un carico di agenti patogeni al di sotto della sensibilità analitica del test possono produrre falsi negativi.
3. La presenza di inibitori della PCR può condurre a risultati non valutabili.
4. Mutazioni o polimorfismi nel sito di legame del primer o della sonda possono interferire con la rivelazione di varianti nuove o sconosciute e possono portare il test RIDA®GENE SARS-CoV-2 a dare risultati falsi negativi.
5. Come per tutti i test diagnostici *in vitro* basati sulla PCR, concentrazioni estremamente basse delle sequenze target, sotto il limite di rivelazione (LoD), possono essere rivelate, ma i risultati ottenuti non sono sempre riproducibili.
6. Un risultato positivo non indica necessariamente la presenza di organismi vitali. Un risultato positivo indica la presenza del gene target (gene E).
7. La presenza di inibitori della RT-PCR e sostanze interferenti può portare a risultati falsi negativi o non validi. Non sono stati studiati gli effetti di vaccini, terapie

antivirali, antibiotici, chemioterapici o immunosoppressori per prevenire il COVID-19 o per trattare l'infezione o altre sostanze interferenti.

8. Questo test deve essere eseguito nel rispetto delle buone pratiche di laboratorio. Durante l'esecuzione del test, l'operatore deve seguire attentamente le istruzioni del produttore.

13. Prestazioni e caratteristiche

13.1 Precisione

La precisione del test PCR real-time RIDA[®]GENE SARS-CoV-2 è stata determinata per i seguenti livelli di osservazione.

Precisione intra-test: Determinazione di 5 campioni di controllo con 20 replicati ciascuno sul LightCycler[®] 480II in condizioni identiche.

Precisione inter-test: Determinazione di 5 campioni di controllo in duplicati nell'arco di 10 giorni lavorativi da parte di diversi operatori in condizioni riproducibili.

Precisione inter-lotto: I test per la precisione intra e inter-test sono eseguiti su tre lotti diversi.

I coefficienti di variazione ottenuti per le misurazioni con il test PCR real-time RIDA[®]GENE SARS-CoV-2 su LightCycler[®] 480II erano inferiori al 3 %.

13.2 Sensibilità analitica

13.2.1 Limite di rivelazione del dispositivo

Per determinare il limite di rivelazione del dispositivo, sono stati misurati 20 replicati di un campione di controllo (50 copie/reazione) con LightCycler[®] 480II. Tutte le repliche erano positive.

Il limite di rivelazione del dispositivo è quindi di 50 copie/reazione.

13.2.2 Limite di rivelazione (LoD 95 %)

Il limite di rivelazione del test PCR real-time RIDA[®]GENE SARS-CoV-2 è stato determinato in uno studio esterno utilizzando il kit MagNaPure 96 DNA and Viral NA Small Volume e il LightCycler[®] 480II. Il LoD 95 % determinato per il test PCR real-time RIDA[®]GENE SARS-CoV-2 è di 4,3 copie/ml.⁷

Il limite di rivelazione dell'intera procedura dipende dalla matrice del campione, dal ciclatore e dall'estrazione dell'RNA.

13.3 Specificità analitica

Il test PCR real-time RIDA®GENE SARS-CoV-2 è specifico per il SARS-CoV-2 umano da tampone rinofaringeo. L'abbinamento di sequenze utilizzando database di nucleotidi esistenti (National Center for Biotechnology Information, NCBI) ha mostrato specificità per SARS-CoV-2 e nessuna significativa omologia con altri organismi.

Sono stati testati anche vari organismi. Non sono state riscontrate reattività crociate con le seguenti specie (vedere Tabella 10):

Tabella 10: Test di reattività crociata

Coronavirus 229E umano	-	Parainfluenza 1 (ceppo C35)	-	Enterovirus (tipo 71)	-	<i>Streptococcus pyogenes</i>	-
Coronavirus OC43 umano	-	Parainfluenza 2 (ceppo Greer)	-	RSV (ceppo Long)	-	<i>Bordetella pertussis</i>	-
Coronavirus NL63 umano	-	Parainfluenza 3	-	RSV (ceppo 9320)	-	<i>Mycoplasma pneumoniae</i>	-
SARS	-	Parainfluenza 4 (b, ceppo CH19503)	-	Rhinovirus (genograppo A)	-	<i>Pneumocystis jirovecii</i>	-
MERS	-	Influenza A H1N1 Brisbane/59/07	-	<i>Chlamydia pneumoniae</i>	-	<i>Candida albicans</i>	-
Adenovirus 7, umano (ceppo Gomen)	-	Influenza A H3N2 Texas/50/12	-	<i>Haemophilus influenzae</i>	-	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	-
Adenovirus 1, umano, (ceppo Adenoid 71)	-	Influenza B/Washington/02/2019	-	<i>Legionella pneumophila</i>	-	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	-
Metapneumovirus umano	-	Virus dell'influenza B/Colorado/6/2017	-	<i>Streptococcus pneumoniae</i>	-	<i>Streptococcus salivarius</i>	-

13.4 Reattività analitica

La reattività analitica del test PCR real-time multiplex RIDA®GENE SARS-CoV-2 è stata dimostrata utilizzando il proficiency test (PT) INSTAND e.V. RV 340059 (vedere la Tabella 11).

Tabella 11: Reattività analitica

SARS-CoV-2 RV 340059					
SARS-CoV-2 RV 340059	+				

13.5 Sostanze interferenti

La presenza di inibitori della RT-PCR e sostanze interferenti può portare a risultati falsi negativi o non validi. Pertanto, sono stati esaminati gli effetti di varie sostanze che potrebbero essere presenti nei campioni in quanto spesso utilizzate nelle infezioni respiratorie o comunque ampiamente diffuse (vedere Tabella 12).

Tabella 12: Sostanze interferenti

Farmaco / Ingrediente attivo	Concentrazione
Etanolo	5 % [v/v]
Guanidina cloridrato	5 % [p/v]
Azitromicina	84 mg/ml
Mucina	60 µg/ml
Xilometazolina / spray nasale ratiopharm®	10 % [v/v]
Beclometasone dipropionato	10 % [v/v]
Paracetamolo	10 mg/ml
Amoxicillina	1 mg/ml
Sangue umano	2 % [v/v]
Diidrocodina	10 % [v/v]

Le sostanze elencate nella Tabella 12 non hanno mostrato alcun effetto interferente alle concentrazioni testate.

14. Cronologia delle versioni

Numero della versione	Sezione e denominazione
2020-05-15	Versione precedente
2020-06-17	Revisione generale: 2. Sintesi e spiegazione del test 5. Istruzioni di conservazione 11. Interpretazione del campione 13 Prestazioni e caratteristiche
2020-07-27	Revisione delle Istruzioni per l'uso in spagnolo 2. Sintesi e spiegazione del test

15. Descrizione dei simboli

Simboli generali

	Diagnostica in vitro
	Leggere le istruzioni per l'uso
	Codice identificativo
	Utilizzabile fino a
	Temperatura di conservazione
	Numero articolo
	Quantità di test
	Data di produzione

Simboli specifici del test

Non pertinente

16. Bibliografia

1. <https://www.rki.de/DE/Content/Infekt/Ausbrueche/respiratorisch/Pneumonien-China.html>. Zugriff am 24.01.2020
2. <https://www.spiegel.de/wissenschaft/medizin/covid-19-weltgesundheitsorganisation-verkuendet-neuen-namen-des-coronavirus-a-810ce436-7081-43d2-b8e0-f0b315503e0b>. Zugriff am 12.02.2020
3. <https://covid19.who.int/> Zugriff am 11.05.2020
4. https://www.rki.de/DE/Content/InfAZ/N/Neuartiges_Coronavirus/Fallzahlen.html. Zugriff am 11.05.2020
5. <https://www.rki.de/DE/Content/Infekt/Ausbrueche/respiratorisch/Pneumonien-China.html>. Zugriff am 03.02.2020
6. <https://apps.who.int/iris/handle/10665/331329>. Zugriff am 11.05.2020
7. van Kasteren, Puck B., et al. "Comparison of commercial RT-PCR diagnostic kits for COVID-19." bioRxiv (2020)