

RIDA® GENE SARS-CoV-2

REF PG6815



R-Biopharm AG, An der neuen Bergstraße 17, 64297 Darmstadt, Allemagne

+49 (0) 61 51 81 02-0 / +49 (0) 61 51 81 02-20 / www.r-biopharm.com



1. Application

Pour le diagnostic in vitro. Le test RIDA®GENE SARS-CoV-2 qui sera exécuté sur le LightCycler® 480II, est un test de RT-PCR en temps réel multiplexe pour la détection qualitative directe de l'ARN du coronavirus (SARS-CoV-2) dans des frottis nasaux/de gorge humains de personnes présentant des symptômes d'une infection respiratoire. Le test RIDA®GENE SARS-CoV-2 est conçu pour étayer le diagnostic différentiel d'infections par le SARS-CoV-2 chez les patients présentant des symptômes d'une infection respiratoire conjointement à d'autres résultats cliniques et de laboratoire. Des résultats négatifs n'excluent pas une infection par le SARS-CoV-2 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 d'état.

2. Résumé et explication du test

Fin décembre, dans la métropole chinoise de Wuhan, de nombreux cas de pneumonie de cause inconnue ont été observés¹. Début janvier, les autorités chinoises ont identifié un nouveau type de coronavirus (SARS-CoV-2) comme en étant la cause¹. La maladie provoquée par le SARS-CoV-2 est officiellement appelée COVID-19 (« maladie à coronavirus 2019 ») et peut être transmise d'une personne à l'autre².

3 925 815 cas ont été signalés dans le monde entier (en date du 10 mai 2020)³. En Allemagne, les premiers cas ont été confirmés fin janvier 2020⁴. En Allemagne, 169 575 cas ont été signalés (en date du 11 mai 2020)^{4,5}. L'OMS a déclaré qu'il s'agissait d'une urgence de santé publique de portée internationale le 31 janvier 2020^{1,5}.

Les directives originales de l'OMS recommandaient une stratégie à trois cibles.⁶ Lorsque cette ligne directrice a été préparée, les informations sur la séquence du SARS-CoV-2 étaient insuffisantes, de sorte que les plages de séquences publiées par l'OMS dans les régions des gènes cibles individuels étaient trop non spécifiques pour permettre une détection fiable de l'ARN du SARS-CoV-2. Afin d'accroître la spécificité des tests pour le SARS-CoV-2, une stratégie à trois cibles a été poursuivie en conséquence. Le 17 janvier 2020, cette stratégie à trois cibles a été réduite à une stratégie à deux cibles car la troisième cible présentait une sensibilité insuffisante. Le 17 mars 2020, l'OMS a publié des directives provisoires pour le diagnostic des cas suspects de coronavirus (COVID-19), causé par le SARS-CoV-2, en ce qui concerne les exigences relatives aux tests de laboratoire de biologie moléculaire, qui stipulent: « Dans les régions où le virus de la COVID-19 est largement répandu, un algorithme plus simple pourrait être adopté pour lequel, par exemple, le dépistage par RT-PCR en temps réel d'une seule cible discriminatoire du SARS-CoV-2 (stratégie à cible unique) est considérée comme suffisante. »

En développant le test RT-PCR en temps réel RIDA®GENE SARS-CoV-2, R-Biopharm AG a suivi dès le départ la stratégie à cible unique. Notre objectif était d'établir une détection sensible et spécifique du SARS-CoV-2 avec un flux de travail optimisé, c'est-à-dire sans nécessité d'une autre confirmation. Cela était possible même à ce moment-là car un grand nombre de séquences du génome du nouveau coronavirus SARS CoV-2 étaient disponibles. Au cours des analyses du génome, nous avons pu identifier une région du gène E qui est hautement spécifique au SARS-CoV-2 et qui présente une sensibilité élevée à des fins de dépistage. Cette région est située à environ 200 paires de bases en aval de la région non spécifique du gène E du SARS-CoV-2 publiée par l'OMS. En détectant cette région spécifique du gène E, nous avons ainsi pu réduire la détection de l'ARN du SARS-CoV-2 à une seule cible.

3. Principe du test

Le test RIDA®GENE SARS-CoV-2 est un test de RT-PCR en temps réel multiplexe pour la détection qualitative directe de l'ARN du coronavirus (SARS-CoV-2) dans des frottis nasaux/de gorge humains de personnes présentant des symptômes d'une infection respiratoire.

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 gène spécifiques du SARS-CoV-2 (gène E) sont alors amplifiés avec la PCR en temps réel. Les séquences cibles amplifiées sont détectées à l'aide de sondes d'hydrolyse qui sont marquées à une extrémité avec un extincteur et à l'autre extrémité avec un colorant fluorescent indicateur (fluorophore). 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 SARS-CoV-2 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 des réactifs

- 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 °C et 8 °C).
- Il est possible de congeler/décongeler les produits jusqu'à 20 fois sans altérer la propriété 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 °C à 8 °C).

6. Réactifs requis, mais non fournis

Le test de PCR en temps réel multiplexe RIDA®GENE SARS-CoV-2 a été testé avec la combinaison de plateforme d'extraction et d'instrument de PCR en temps réel suivante:

Tableau 2a: Matériel nécessaire (vérifié)

Plateformes 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 SARS-CoV-2 est compatible avec les plateformes d'extraction et les dispositifs de PCR en temps réel suivants:

Tableau 2b: Matériel nécessaire (compatible)

Plateformes d'extraction	
R-Biopharm AG	RIDA®Xtract
Roche	MagNA Pure 96 ⁷
Dispositifs de PCR en temps réel	
R-Biopharm AG	RIDA®CYCLER
Agilent Technologies	Mx3005P
Applied Biosystems	ABI 7500 Fast Dx
Bio-Rad	CFX96™ Dx
QIAGEN	Rotor-Gene Q

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

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

- RIDA®GENE Color Compensation Kit IV (PG0004) lors de l'utilisation avec l'appareil LightCycler® 480II
- Consommables de PCR en temps réel (plaques, tubes, feuilles)
- 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

- 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 d'échantillons respiratoires humains

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

Le test RIDA®GENE SARS-CoV-2 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 pour chaque réaction (voir tableau 4).

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** par réaction au mélange pour la PCR pour le contrôle négatif et le contrôle positif.

Pour des informations supplémentaires sur le prélèvement, la conservation et le transport des échantillons, consulter les Lignes directrices provisoires de l'OMS, en date du 2 mars 2020 <https://apps.who.int/iris/handle/10665/331329>.⁶

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 d'utiliser le **Reaction Mix**, décongeler les **Enzyme Mix**, **Positive Control**, **No Template Control**, et **Internal Control RNA**, les mélanger soigneusement et les centrifuger brièvement. Toujours refroidir les réactifs correctement pendant les étapes de travail (2 °C à 8 °C).

Tableau 3: Exemple de calcul et de préparation du mélange maître pour 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 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 de la PCR, il convient d'en ajouter 1 µl au mélange de contrôle négatif pour la RT-PCR.

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

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

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'en ajouter 1 µl au 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 PCR selon les réglages de l'instrument de PCR (voir tableaux 5, 6 et 7).

9.3 Configuration de l'instrument de PCR

9.3.1 Profil universel de PCR en temps réel

Tableau 5: Profil universel de la RT-PCR en temps réel pour LightCycler® 480II 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 la RT-PCR en temps réel pour les appareils Mx3005P, ABI7500, Rotor-Gene Q et CFX96™ Dx

<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	Commentaire
R-Biopharm AG RIDA®CYCLER	SARS-CoV-2	Vert	-
	ICR	Jaune	
Roche LightCycler® 480II	SARS-CoV-2	465/510	Le kit RIDA®GENE Color Compensation Kit IV (PG0004) est nécessaire.
	ICR	533/580	
Agilent Technologies Mx3005P	SARS-CoV-2	FAM	Régler le colorant de référence sur aucun.
	ICR	HEX	
ABI 7500 Fast Dx	SARS-CoV-2	FAM	Régler le colorant de référence passif ROX sur aucun.
	ICR	VIC	
Bio-Rad CFX96™ Dx	SARS-CoV-2	FAM	-
	ICR	VIC	
Qiagen Rotor-Gene Q	SARS-CoV-2	Vert	Les réglages de gain doivent être définis sur 5 (valeur par défaut d'usine) pour tous les canaux.
	ICR	Jaune	

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. Le contrôle négatif et le contrôle positif doivent afficher les résultats corrects (voir tableau 8). Le contrôle positif **Positive Control** a une concentration de 10^3 copies/ μ l. Chaque analyse de 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.*

Les contrôles positif et négatif sont valides lorsqu'ils satisfont les conditions indiquées dans le tableau. La plage de Ct pour le contrôle positif est indiquée dans le Certificat d'assurance qualité inclus avec le produit. Si l'un des deux contrôles ne satisfait pas les conditions pour valider une exécution, 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
- Fonctionnalité des dispositifs utilisés
- Réalisation correcte du test

11. Interprétation des échantillons

Les résultats sont interprétés conformément au tableau 9.

Tableau 9: Interprétation des échantillons

Détection		
SARS-CoV-2	ICR	Résultat
positif	positif/ négatif	SARS-CoV-2 détectable
négatif	positif	Gène cible non détectable
négatif	négatif	Non valide

Le SARS-CoV-2 peut être détecté si l'ARN de l'échantillon et le Internal Control RNA présentent un signal d'amplification dans le système de détection.

Le SARS-CoV-2 peut également être détecté si l'ARN présente un signal d'amplification dans le système de détection, mais aucun pour le Internal Control RNA. La détection du Internal Control RNA (ICR) n'est pas indispensable dans ce cas, car les concentrations élevées d'amplicons peuvent provoquer un signal faible ou absent du Internal Control RNA.

Le SARS-CoV-2 ne peut pas être détecté si l'ARN 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 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.

La limite de détection du test RIDA®GENE, à l'aide du LightCycler® 480II, est supérieure à 50 copies / réaction. Les échantillons avec une valeur CT supérieure à 35 sont dans la limite de détection. Il convient de noter que la limite de détection de la RT-PCR dépend de la matrice de l'échantillon, du cycleur et de l'extraction de l'ARN, et peut varier en conséquence. Nous recommandons donc d'évaluer ces échantillons comme non concluants, d'examiner les courbes individuelles pour la sigmoïdité et de demander un échantillon de suivi correspondant en tenant compte des symptômes cliniques. Le personnel dûment formé est responsable de l'évaluation de ces échantillons.

12. Limites de la méthode

1. Ce test est uniquement conçu pour des échantillons respiratoires humains.
2. Un prélèvement, échantillonnage, transport, stockage et traitement incorrects du spécimen ou une charge en agents pathogènes 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 de l'amorce ou de la sonde peuvent empêcher la détection de nouveaux variants ou de variants inconnus et entraîner des résultats faux négatifs avec le test RIDA®GENE SARS-CoV-2.
5. À l'instar de tous les tests *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 viables sont présents. Un résultat positif indique que le gène cible (gène E) est présent.
7. La présence d'inhibiteurs de la RT-PCR et de substances interférentes peut donner lieu à des résultats faux négatifs ou non valides. Les effets de vaccins, traitements antiviraux, antibiotiques, médicaments de chimiothérapie ou immunosuppresseurs visant à prévenir la COVID-19 ou à traiter l'infection ou d'autres substances interférentes n'ont pas été étudiés.
8. Ce test doit être réalisé conformément aux BPL (Bonnes pratiques de laboratoire). L'utilisateur doit suivre scrupuleusement les instructions du fabricant lors de la réalisation du test.

13. Performances

13.1 Précision

La précision du test de PCR en temps réel RIDA®GENE SARS-CoV-2 a été déterminée pour les niveaux d'observation suivants.

Précision intra-essai Détermination de 5 échantillons de contrôle avec 20 réplicats chacun sur le LightCycler® 480II dans des conditions identiques.

Précision inter-essais: Détermination de 5 échantillons de contrôle en double pendant 10 jours ouvrables par différents opérateurs dans des conditions reproductibles.

Précision inter-essais: Les tests pour la précision intra-essai et inter-essais sont réalisés sur trois différents lots.

Les coefficients de variation obtenus pour les mesures correspondantes avec le test de PCR en temps réel RIDA®GENE SARS-CoV-2 sur le LightCycler® 480II étaient inférieurs à 3 %

13.2 Sensibilité analytique

13.2.1 Limite de détection du dispositif

Pour déterminer la limite de détection du dispositif, 20 réplicats d'un échantillon de contrôle (50 copies/réaction) ont été mesurés avec le LightCycler® 480II. Tous les réplicats ont été positifs.

La limite de détection du dispositif est donc de 50 copies/réaction.

13.2.2 Limite de détection (LdD 95 %)

La limite de détection du test de PCR en temps réel RIDA®GENE SARS-CoV-2 a été déterminée dans une étude externe utilisant le kit IMagNaPure 96 DNA and Viral NA Small Volume et le LightCycler® 480II. La LdD de 95 % déterminée ici pour le test de PCR en temps réel RIDA®GENE SARS-CoV-2 est de 4,3 copies/ml⁷.

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

13.3 Spécificité analytique

Le test de PCR en temps réel RIDA®GENE SARS-CoV-2 est spécifique pour le SARS-CoV-2 humain venant d'un frottis nasaux/de gorge. La correspondance de séquences en utilisant des bases de données de nucléotides (National Center for Biotechnology Information, NCBI) a montré la spécificité pour le SARS-CoV-2 et aucune homologie avec d'autres organismes.

Divers organismes ont également été testés. Aucune réactivité croisée avec les espèces suivantes n'a été trouvée (voir tableau 10):

Tableau 10: Test de la réactivité croisée

Coronavirus humain 229E	-	Virus parainfluenza 1 (souche C35)	-	Entérovirus (Type 71)	-	<i>Streptococcus pyogenes</i>	-
Coronavirus humain OC43	-	Virus parainfluenza 2 (souche Greer)	-	VRS (souche Long)	-	<i>Bordetella pertussis</i>	-
Coronavirus humain NL63	-	Virus parainfluenza 3	-	VRS (souche 9320)	-	<i>Mycoplasma pneumoniae</i>	-
SARS	-	Virus parainfluenza 4 (b, souche CH19503)	-	Rhinovirus (Génogroupe A)	-	<i>Pneumocystis jirovecii</i>	-
MERS	-	Grippe A H1N1 Brisbane/59/07	-	<i>Chlamydia pneumoniae</i>	-	<i>Candida albicans</i>	-
Adénovirus 7, humain (souche Gomen)	-	Grippe A H3N2 Texas/50/12	-	<i>Haemophilus influenzae</i>	-	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	-
Adénovirus 1, humain (souche Adénoïde 71)	-	Virus de la grippe B/Washington/02/2019	-	<i>Legionella pneumophila</i>	-	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	-
Metapneumovirus humain	-	Virus de la grippe B/Colorado/6/2017	-	<i>Streptococcus pneumoniae</i>	-	<i>Streptococcus salivarius</i>	-

13.4 Réactivité analytique

La réactivité analytique du test de PCR en temps réel multiplexe RIDA®GENE SARS-CoV-2 a été démontrée en utilisant l'essai d'aptitude INSTAND e.V. RV 340059 (voir le tableau 11).

Tableau 11: Réactivité analytique

SARS-CoV-2 RV 340059	+				

13.5 Substances interférentes

La présence d'inhibiteurs de la RT-PCR et de substances interférentes peut donner lieu à des résultats faux négatifs ou non valides. Par conséquent, les effets de diverses substances qui pourraient être présentes dans les échantillons correspondants en raison d'une utilisation généralisée dans les infections respiratoires ou d'une occurrence généralisée ont été examinés (voir le tableau 12).

Tableau 12: Substances interférentes

Ingrédient actif/pharmaceutique	Concentration
Éthanol	5 % (v/v)
Chlorhydrate de guanidine	5 % (p/v)
Azithromycine	84 mg/ml
Mucine	60 µg/ml
Xylométazoline/spray nasal ratiopharm®	10 % (v/v)
Dipropionate de béclo mé tasone	10 % (v/v)
Paracétamol	10 mg/ml
Amoxicilline	1 mg/ml
Sang humain	2 % (v/v)
Dihydrocodéine	10 % (v/v)









Les substances énumérées dans le tableau 12 n'ont montré aucun effet perturbateur aux concentrations testées.

14. Historique des versions

Numéro de version	Section et désignation
2020-07-27	Version précédente
2022-01-28	Révision 1. Application 3. Principe du test 13.3 Spécificité analytique

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

Symboles spécifiques des tests

Sans objet

16. Bibliographie

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)