

RIDA® GENE Flu & SARS-CoV-2

REF PG6825



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 usage diagnostique in vitro. Le test RIDA®GENE Flu & SARS-CoV-2, exécuté sur le dispositif de RT-PCR en temps réel LightCycler® 480II, est un test de RT-PCR en temps réel multiplexe pour la détection qualitative directe et la différenciation de l'ARN de la grippe A/grippe B et du coronavirus (SARS-CoV-2) dans des frottis nasaux/de gorge humains provenant de personnes présentant des signes et des symptômes d'infection respiratoire aiguë.

Le test RIDA®GENE Flu & SARS-CoV-2 est conçu pour étayer le diagnostic différentiel d'infections par la grippe A/grippe B et 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 la grippe A/grippe B ou 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 publics.

2. Résumé et explication du test

Fin décembre 2019, dans la métropole chinoise de Wuhan, de nombreux cas de pneumonie de cause inconnue ont été observés¹. Début janvier 2020, les autorités chinoises ont identifié un nouveau coronavirus (SARS-CoV-2) comme en étant la cause¹. La maladie provoquée par le SARS-CoV-2 a été officiellement appelée COVID-19 (« maladie à coronavirus 2019 ») et se transmet d'une personne à l'autre². En raison de la nouveauté de cet agent pathogène, l'épidémie s'est rapidement transformée en pandémie.

105 805 951 cas ont déjà été enregistrés à travers le monde (en date du 9 février 2021)³. En Allemagne, les premiers cas ont été confirmés fin janvier 2020. À ce jour, 2 291 924 cas ont été recensés en Allemagne (en date du 9 février 2021)⁴. Le 31 janvier 2020, l'OMS a qualifié l'épidémie d'« urgence de santé publique de portée internationale »¹.

Le SARS-CoV-2 et les virus de la grippe présentent des similitudes. Par exemple, la principale voie de transmission de ces agents pathogènes est la voie aérienne par l'intermédiaire de gouttelettes respiratoires chargées de virus qui sont produites lorsque l'on respire, tousse, parle et éternue.^{5,6} Au premier stade, les symptômes sont habituellement ceux des agents pathogènes viraux respiratoires. Parmi les symptômes les plus fréquemment associés à ces agents pathogènes, on trouve la fièvre, la toux et la congestion nasale. Étant donné que l'évolution de la maladie à SARS-CoV-2 peut considérablement varier sur le plan des symptômes et de la gravité (de l'absence de symptômes à une pneumonie grave provoquant une

insuffisance pulmonaire et la mort), la différenciation du SARS-CoV-2 et des virus de la grippe est importante pour des traitements ultérieurs.

3. Principe du test

Le test RIDA®GENE Flu & SARS-CoV-2 est un test de RT-PCR en temps réel multiplexe pour la détection qualitative directe et la différenciation de l'ARN de la grippe A/grippe B et du coronavirus (SARS-CoV-2) dans des frottis nasaux/de gorge humains.

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. Ensuite, la PCR en temps réel est utilisée pour amplifier les fragments de gène pour la grippe A (gène M), la grippe B (gène NP1) et le SARS-CoV-2 (gène E et gène RdRp). Les séquences cibles amplifiées sont détectées à l'aide de sondes d'hydrolyse qui sont marquées avec un extincteur à une extrémité et avec un colorant fluorescent indicateur (fluorophore) à l'autre extrémité. Les sondes s'hybrident avec l'amplicon en présence d'une séquence cible. Pendant l'extension, la Taq-Polymerase sépare l'indicateur de l'extincteur. L'indicateur émet un signal fluorescent qui est détecté par l'unité optique d'un dispositif de PCR en temps réel. Le signal fluorescent augmente avec la quantité d'amplicons formés. Le test RIDA®GENE Flu & SARS-CoV-2 contient un Internal Control RNA (ICR) pour contrôler la préparation de l'échantillon et/ou l'éventuelle inhibition de la PCR.

4. Contenu du paquet

Tableau 1: Contenu du paquet (les réactifs fournis dans le kit permettent de réaliser 200 déterminations.)

Code du kit	Réactif	Quantité		Couleur du couvercle
1	Reaction Mix	4x	1 050 µl	Jaune
2	Enzyme Mix	1x	160 µl	Rouge
R	Internal Control RNA	4x	1 700 µl	Brun
N	No Template Control	1x	450 µl	Blanc
P	Positive Control	1x	200 µl	Bleu

5. Instructions de conservation

- Tous les réactifs doivent être conservés à -20 °C et à l'abri de la lumière et, s'ils ne sont pas ouverts, peuvent être utilisés jusqu'à la date de péremption figurant sur l'étiquette. Après la date de péremption, la qualité n'est plus garantie.
- Tous les réactifs doivent être soigneusement décongelés avant leur utilisation (par ex., dans un réfrigérateur entre 2 et 8 °C).
- Il est possible de congeler/décongeler les produits jusqu'à 20 fois sans altérer 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 à 8 °C).

6. Réactifs requis, mais non fournis

Le test de RT-PCR en temps réel multiplexe RIDA®GENE Flu & SARS-CoV-2 a été testé à l'aide de la combinaison de plateforme d'extraction et de dispositif de PCR en temps réel suivante:

Tableau 2a: Matériel nécessaire (vérifié)

Plateforme d'extraction	
Promega	Maxwell® RSC
Dispositif de PCR en temps réel	
Roche	LightCycler® 480II

De plus, le test de RT-PCR en temps réel multiplexe RIDA®GENE Flu & SARS-CoV-2 est compatible avec les dispositifs de PCR en temps réel suivants:

Tableau 2b: Matériel nécessaire (compatible)

Dispositifs de PCR en temps réel	
R-Biopharm	RIDA®CYCLER
Applied Biosystems	ABI 7500 Fast Dx
Bio-Rad	CFX96™ Dx
QIAGEN	Rotor-Gene Q
qTOWER ³	Analytik Jena
Configuration de la PCR	
CyBio Felix	Analytik Jena

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

Si vous devez utiliser d'autres plateformes d'extraction ou instruments de PCR en temps réel, contactez R-Biopharm 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, flacons de réaction, films)
- Centrifugeuse avec rotor pour les flacons ou les plaques de réaction
- Agitateur-mélangeur vortex
- Pipettes (0,5 à 20 µl, 20 à 200 µl, 100 à 1 000 µl)
- Pointes pour pipette dotées de filtres
- Gants jetables non poudrés
- Eau de PCR (sans nucléase)

7. Mesures de précaution

Pour le diagnostic *in vitro*.

- Ce test doit uniquement être réalisé par un personnel de laboratoire formé. Il convient de respecter les directives de travail dans les laboratoires médicaux.
- Les instructions d'exécution du test doivent être respectées à la lettre.
- Ne pas pipeter les échantillons ou les réactifs à la bouche. Éviter tout contact avec les plaies et les membranes muqueuses.
- Lors de la manipulation des réactifs et des échantillons, porter un équipement de protection individuelle (gants adaptés, blouse, lunettes de protection) et se laver les mains à l'issue du test.
- Ne pas fumer, manger, ni boire dans les zones où des échantillons sont manipulés.
- L'extraction, la préparation de la PCR et l'exécution de la PCR doivent être effectuées dans des salles différentes afin d'éviter toute contamination croisée.

- Les échantillons cliniques doivent être considérés comme du matériel potentiellement infectieux, de même que tous les réactifs et le matériel exposés à des échantillons potentiellement infectieux, et doivent être éliminés comme il se doit.
- Éliminer le kit de test à l'échéance de la date de péremption.
- Après utilisation, les utilisateurs sont responsables de la mise au rebut appropriée de tous les réactifs et matériaux. Pour la mise au rebut, respecter les règlements nationaux.

Pour en savoir plus, consulter les fiches de données de sécurité (FDS) sur le site Internet R-Biopharm.

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]) 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 Flu & 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 pour chaque échantillon pendant l'extraction. Le **Internal Control RNA** doit toujours être ajouté au mélange spécimen-tampon de lyse et **non** directement à l'échantillon. Il convient d'ajouter 1 µl au mélange pour la PCR pour le contrôle négatif et le contrôle positif pour chaque réaction du **Internal Control RNA**.

9. Réalisation du test

9.1 Préparation du mélange maître

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

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

Tableau 3: Exemple de calcul et de préparation du mélange maître pour 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 préparation 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 contrôle de l'extraction pour la préparation de l'échantillon et comme contrôle de l'inhibition, il convient d'en ajouter 1 µl, à l'aide d'une pipette, 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, 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 du dispositif de PCR (voir tableaux 5, 6 et 7).

9.3 Configuration du dispositif de PCR

9.3.1 Profil universel de RT-PCR en temps réel

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

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

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

Tableau 6: Profil universel de RT-PCR en temps réel pour ABI 7500 Fast Dx, Rotor-Gene Q, CFX96™ Dx et qTOWER³

<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 RIDA®CYCLER	Grippe A/B	Vert	-
	ICR	Jaune	
	SARS-CoV-2 gène E	Orange	
	SARS-CoV-2 gène RdRp	Rouge	
Roche LightCycler® 480II	Grippe A/B	465/510	Le kit RIDA®GENE Color Compensation Kit IV (PG0004) est nécessaire.
	ICR	533/580	
	SARS-CoV-2 gène E	533/610	
	SARS-CoV-2 gène RdRp	618/660	
ABI 7500 Fast Dx	Grippe A/B	FAM	Régler le colorant de référence passif ROX sur aucun.
	ICR	VIC	
	SARS-CoV-2 gène E	ROX	
	SARS-CoV-2 gène RdRp	Cy5	
Bio-Rad CFX96™ Dx	Grippe A/B	FAM	-
	ICR	VIC	
	SARS-CoV-2 gène E	ROX	
	SARS-CoV-2 gène RdRp	Cy5	
Qiagen Rotor-Gene Q	Grippe A/B	Vert	Les réglages de gain doivent être définis sur 5 (valeur par défaut d'usine) pour tous les canaux.
	ICR	Jaune	
	SARS-CoV-2 gène E	Orange	
	SARS-CoV-2 gène RdRp	Rouge	
qTOWER³	Grippe A/B	FAM	-
	ICR	VIC	
	SARS-CoV-2 gène E	ROX	
	SARS-CoV-2 gène RdRp	Cy5	

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** est présent à 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
- Capacité de fonctionnement de l'équipement utilisé
- Réalisation correcte du test

Le contrôle positif est constitué de fragments d'ARN synthétiques et couvre au moins un système de détection du canal de détection correspondant. Par conséquent, tous les systèmes de détection utilisés ne sont pas nécessairement couverts par un contrôle positif. Pour un contrôle de qualité supplémentaire, nous recommandons donc d'effectuer des contrôles externes et des échantillons positifs prédéterminés de patients à intervalles réguliers.

11. Interprétation des échantillons

Les résultats sont interprétés conformément au tableau 9.

Tableau 9: Interprétation des échantillons

Détection			ICR	Résultat
Gène E (SARS-CoV-2)	Gène RdRp (SARS-CoV-2)	Gène M / Gène NP1 (Grippe A/B)		
négatif	négatif	positif	positif/ négatif	Grippe A/B détectable
positif	positif	négatif	positif/ négatif	SARS-CoV-2 détectable
positif	positif	positif	positif/ négatif	SARS-CoV-2 et grippe A/B détectables
positif	négatif	négatif	positif/ négatif	SARS-CoV-2 détectable
négatif	positif	négatif	positif/ négatif	SARS-CoV-2 détectable*
négatif	négatif	négatif	positif	Gène cible non détectable
négatif	négatif	négatif	négatif	Non valide

* Possibilité de faible réaction croisée avec SARS-CoV-1.

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

Le segment de gène E détecté dans ce test est un fragment spécifique du SARS-CoV-2. Dans l'alignement BLAST, le segment de gène RdRp détecté présente quelques correspondances avec le segment de séquence SARS-CoV-1 correspondant. L'amplification ne peut être totalement exclue dans ce cas.

La sensibilité de ces deux fragments dans les échantillons de SARS-CoV-2 dans la plage de LD peut varier légèrement, ce qui peut conduire au test positif d'un seul des deux gènes dans la plage de LD.

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

Un échantillon est négatif si l'ARN de l'échantillon ne présente pas de signal d'amplification dans le système de détection, mais en présente un visible pour le

Internal Control RNA. Une inhibition de la réaction de PCR peut être exclue par la détection du **Internal Control RNA**.

Un échantillon est non valide si l'ARN de l'échantillon et le **Internal Control RNA** ne présentent aucun signal d'amplification dans le système de détection. Des inhibiteurs de la PCR sont présents dans l'échantillon ou une erreur est survenue pendant le processus d'extraction. L'échantillon extrait doit être dilué selon un rapport 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 destiné uniquement aux frottis nasaux/de gorge.
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. 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 Flu & SARS-CoV-2.
4. 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 (LD) peuvent être détectées, mais les résultats peuvent ne pas être reproductibles.
5. Un résultat positif du test ne signifie pas nécessairement que des organismes viables sont présents. Un résultat positif indique que les gènes cibles correspondants de la grippe A (gène M), de la grippe B (gène NP1) et du SARS-CoV-2 (gène E ; gène RdRp) sont présents.
6. Ce test est destiné à être réalisé conformément aux BPL (Bonnes pratiques de laboratoire). Les utilisateurs doivent suivre scrupuleusement les instructions du fabricant lors de la réalisation du test.
7. À partir d'une concentration testée de 3,0 %, la dihydrocodéine montre un effet inhibiteur sur la détection de la grippe A/B.

13. Performances

13.1 Précision

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

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

Précision inter-essais: détermination de cinq échantillons de contrôle en double pendant 10 jours ouvrables par différents techniciens dans des conditions reproductibles.

Précision inter-lots: les tests pour la précision intra-essai et inter-essais sont réalisés à l'aide de trois lots différents.

Les coefficients de variation obtenus pour chaque mesure à l'aide du test de PCR en temps réel RIDA®GENE Flu & SARS-CoV-2 sur le LightCycler® 480II étaient inférieurs à 2,5 %.

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 (chacun avec 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.

13.3 Spécificité analytique

Le test de PCR en temps réel RIDA®GENE Flu & SARS-CoV-2 est spécifique pour le SARS-CoV-2 humain et la grippe A/grippe B présents dans des frottis nasaux/de gorge.

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

Tableau 10: Test de la réactivité croisée

<i>Acinetobacter baumannii</i> souche 5377	-	Adénovirus 1, humain, souche Adénoïde 71	-	Adénovirus 7, humain, souche Gomen	-	<i>Bordetella parapertussis</i> souche 12822	-
<i>Bordetella pertussis</i> Tohama 1	-	<i>Candida albicans</i>	-	<i>Chlamydomphila pneumoniae</i>	-	<i>Corynebacterium diphtheriae</i>	-
Échovirus 11	-	Virus d'Epstein-Barr souche B95-8	-	<i>Escherichia coli</i> (O26:H-)	-	<i>Escherichia coli</i> (O6)	-

<i>Escherichia coli</i> (O157:H7)	-	<i>Enterobacter cloacae</i>	-	Entérovirus type 71 souche 2003 isolat	-	<i>Haemophilus influenzae</i>	-
Virus Herpes simplex 1 souche McIntyre	-	Virus Herpes simplex 2 souche MS	-	Coronavirus humain 229E	-	Coronavirus humain OC43	-
Coronavirus humain HKU1	-	Coronavirus humain NL63	-	Coxsackievirus humain A2, souche Fleetwood	-	Coxsackievirus humain B4	-
Cytomégalovirus humain	-	Metapneumovirus humain	-	Virus parainfluenza humain 1 souche C35	-	Virus parainfluenza humain 2 souche Greer	-
Virus parainfluenza sérotype 3	-	Virus parainfluenza humain 4a souche M-25	-	Virus parainfluenza humain 4b souche CH19503	-	Virus respiratoire syncytial humain souche Long	-
Virus respiratoire syncytial humain souche 9320	-	Rhinovirus humain génogroupe A	-	<i>Klebsiella pneumoniae</i> souche MGH 78578	-	<i>Lactobacillus plantarum</i>	-
<i>Legionella pneumophila</i> subsp. Pneumophila	-	MERS	-	<i>Moraxella catarrhalis</i>	-	Virus des oreillons génotype G-198	-
<i>Mycoplasma pneumoniae</i> souche FH d'Eaton Agent	-	<i>Neisseria meningitidis</i> souche FAM18	-	<i>Pneumocystis jirovecii</i>	-	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	-
<i>Serratia marcescens</i>	-	<i>Streptococcus pneumoniae</i> souche NCTC 7465	-	<i>Streptococcus pyogenes</i>	-	<i>Streptococcus salivarius</i>	-
<i>Staphylococcus aureus</i>	-	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	-		-		-

13.4 Réactivité analytique

La réactivité analytique du test de RT-PCR en temps réel multiplexe RIDA®GENE Flu & SARS-CoV-2 a été examinée en utilisant différentes souches du virus de la grippe A/B et du SARS-CoV-2 (voir tableau 11).

Tableau 11: Test de la réactivité analytique

Souche	Grippe A/B	SARS-CoV-2 (gène E)	SARS-CoV-2 (gène RdRp)
SARS-CoV-2 (isolat: USA-WA1/2020)	négatif	positif	positif
SARS-CoV-2 (isolat: Italie-INMI1)	négatif	positif	positif
A/Brisbane/02/2018	positif	négatif	négatif
A/Michigan/45/2015	positif	négatif	négatif
A/Californie/7/2009	positif	négatif	négatif
A/Brisbane/59/2007	positif	négatif	négatif
A/Guangdong-Maonan/SWL1536/2019	positif	négatif	négatif
A/Kansas/14/2017	positif	négatif	négatif
A/Singapour/INFIMH-16-0019/2016	positif	négatif	négatif
A/Hong Kong/2671/2019	positif	négatif	négatif
A/Texas/50/2012	positif	négatif	négatif
A/Perth/16/2009	positif	négatif	négatif
A/Anhui/1/2013	positif	négatif	négatif
B/Colorado/06/2017	positif	négatif	négatif

B/Brisbane/60/2008	positif	négatif	négatif
B/Washington/02/2019	positif	négatif	négatif
B/Phuket/3073/2013	positif	négatif	négatif

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 différentes substances qui pourraient être présentes dans les échantillons respectifs en raison de leur utilisation répandue dans les infections des voies respiratoires ou de leur prévalence généralisée (voir tableau 12) ont été testés pour la substance dihydrocodéine, et un effet inhibiteur a été observé à partir d'une concentration testée de 3,0 % (voir Limites de la méthode). Aucune interférence n'a été identifiée pour les autres substances énumérées (tableau 12):

Tableau 12: Liste des substances et concentrations utilisées lors du test (frottis)

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 bécloéthasone	10 % (v/v)
Paracétamol	10 mg/ml
Amoxicilline	1 mg/ml
Sang humain	2 % (v/v)
Chlorure de sodium	10 % (v/v)
Phosphate d'oseltamivir	25 mg/ml
Chlorhydrate de benzydamine	10 % (v/v)

14. Historique des versions

Numéro de version	Section et désignation
2020-12-08	Version précédente
2021-02-16	2. Résumé et explication du test 5. Instructions de conservation 6. Réactifs requis, mais non fournis 9. Réalisation du test 10. Contrôle qualité 11. Interprétation des échantillons 12. Limites de la méthode 13.5 Substances interférentes

15. Signification des symboles

Symboles généraux

	Pour usage diagnostique in vitro
	Consulter le mode d'emploi
	Numéro de lot
	Date de péremption
	Température de stockage
	Numéro d'article
	Nombre de tests
	Date de fabrication
	Fabricant

Symboles spécifiques des tests

Reaction Mix

Enzyme Mix

Internal Control RNA

No Template Control

Positive Control

16. Bibliographie

1. https://www.rki.de/DE/Content/InfAZ/N/Neuartiges_Coronavirus/nCoV.html.
Dernier accès: 16.09.2020
2. <https://www.spiegel.de/wissenschaft/medizin/covid-19-weltgesundheitsorganisation-verkuendet-neuen-namen-des-coronavirus-a-810ce436-7081-43d2-b8e0-f0b315503e0b>. Dernier accès: 12.02.2020
3. <https://covid19.who.int/>. Dernier accès: 09.02.2021
4. https://www.rki.de/DE/Content/InfAZ/N/Neuartiges_Coronavirus/Fallzahlen.html.
Dernier accès: 09.02.2021
5. https://www.rki.de/DE/Content/InfAZ/N/Neuartiges_Coronavirus/Steckbrief.html.
Dernier accès: 16.09.2020
6. https://www.rki.de/DE/Content/InfAZ/I/Influenza/IPV/Influenza.html?cms_box=1&cms_current=Influenza&cms_lv2=2961756. Dernier accès: 16.09.2020