

## RIDA® GENE Flu & SARS-CoV-2

**REF** PG6825



## 1. Campo di applicazione

Uso per la diagnostica in vitro. Il test RIDA®GENE Flu & SARS-CoV-2, eseguito sullo strumento di PCR real-time LightCycler® 480II, è un test di RT-PCR real-time multiplex per la rivelazione qualitativa diretta e la differenziazione dell'RNA del virus influenzale A/B e del coronavirus (SARS-CoV-2) in tamponi nasali/faringei umani provenienti da persone con segni e sintomi di infezione respiratoria.

Il test RIDA®GENE Flu & SARS-CoV-2 ha lo scopo di supportare la diagnosi differenziale delle infezioni da virus influenzale A/B e da SARS-CoV-2 in pazienti con sintomi di infezione respiratoria, in connessione con altri risultati clinici e di laboratorio.

I risultati negativi non escludono l'infezione da virus influenzale A/B o SARS-CoV-2 e non devono essere utilizzati come unica base per la diagnosi. Il prodotto è destinato all'uso da parte di professionisti che lavorano in laboratori ospedalieri, laboratori di riferimento, privati o pubblici.

## 2. Sintesi e spiegazione del test

Alla fine di dicembre 2019, nella metropoli cinese di Wuhan, si sono verificati numerosi casi di polmonite di eziologia sconosciuta.<sup>1</sup> All'inizio di gennaio 2020, le autorità cinesi hanno identificato un nuovo coronavirus (SARS-CoV-2) come causa di queste malattie.<sup>1</sup> La malattia causata da SARS-CoV-2 è stata ufficialmente denominata COVID-19 ("malattia da coronavirus 2019") e si trasmette da uomo a uomo.<sup>2</sup> Trattandosi di un patogeno nuovo, l'epidemia si è rapidamente trasformata in una pandemia.

In tutto il mondo all'9 febbraio 2020 sono già stati registrati 105.805.951 casi.<sup>3</sup> Alla fine di gennaio 2021 sono stati registrati i primi casi anche in Germania. Alla data dell'9 febbraio 2021 la Germania ha registrato 2.291.924 casi.<sup>4</sup> Il 31 gennaio 2020 l'OMS ha dichiarato un'emergenza di sanità pubblica di portata internazionale.<sup>1</sup>

I virus SARS-CoV-2 e quelli dell'influenza condividono alcune analogie. Per esempio, entrambi si trasmettono principalmente per via aerea tramite goccioline cariche di virus diffuse respirando, tossendo, parlando e starnutendo.<sup>5,6</sup> I sintomi nella fase iniziale sono tipici dei patogeni virali respiratori. I sintomi più spesso riportati per entrambi i patogeni sono febbre, tosse e congestione nasale. Poiché il decorso della malattia da SARS-CoV-2 può variare notevolmente in termini di sintomi e gravità (dalla forma asintomatica alla polmonite grave con insufficienza polmonare ed esito fatale), la differenziazione tra i virus della SARS-CoV-2 e quelli influenzali è importante per instaurare la terapia idonea.

### 3. Principio del test

Il test RIDA®GENE Flu & SARS-CoV-2 è un test di RT-PCR real-time multiplex per la rivelazione qualitativa diretta e la differenziazione dell'RNA del virus influenzale A/B e del coronavirus (SARS-CoV-2) in tamponi nasali/faringei umani.

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. Successivamente si utilizza la PCR real-time per amplificare i frammenti del gene del virus dell'influenza A (gene M), dell'influenza B (gene NP1) e del SARS-CoV-2 (gene E e gene RdRp). 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-Polymerase** 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 Flu & 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 200 determinazioni)

Codice del kit	Reagente	Quantità		Colore del coperchio
1	Reaction Mix	4x	1050 µl	Giallo
2	Enzyme Mix	1x	160 µl	Rosso
R	Internal Control RNA	4x	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 da +2 °C a +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 (da 2 a 8 °C).

## 6. Reagenti necessari ma non in dotazione

Il test RT-PCR real-time multiplex RIDA®GENE Flu & SARS-CoV-2 è stato verificato con le seguenti piattaforme di estrazione abbinata a strumenti di PCR real-time:

**Tabella 2a:** Attrezzatura necessaria (verificata)

Piattaforma di estrazione	
Promega	Maxwell® RSC
Strumento di PCR real-time	
Roche	LightCycler® 480II

Inoltre, il test di RT-PCR real-time multiplex RIDA®GENE Flu & SARS-CoV-2 è compatibile con gli strumenti di PCR real-time elencati di seguito:

**Tabella 2b:** Attrezzatura necessaria (compatibile)

Strumenti di PCR real-time	
R-Biopharm	RIDA®CYCLER
Applied Biosystems	ABI 7500 Fast Dx
Bio-Rad	CFX96™ Dx
QIAGEN	Rotor-Gene Q
qTOWER <sup>3</sup>	Analytik Jena
Impostazione della PCR	
CyBio Felix	Analytik Jena

**Nota:** quando si utilizza il Rotor-Gene Q (QIAGEN), utilizzare solo cuvette di reazione da 0,1 ml.

Se si desidera utilizzare altre procedure di estrazione o strumenti di PCR real-time diversi, contattare R-Biopharm all'indirizzo [mdx@r-biopharm.de](mailto:mdx@r-biopharm.de) per verificare la compatibilità.

- RIDA®GENE Color Compensation Kit IV (PG0004) per LightCycler® 480II
- Materiali di consumo per PCR real-time (piastre, cuvette di reazione, pellicole)
- 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

Per la diagnostica *in vitro*.

- 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 contaminazioni incrociate.
- 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 dei dati di sicurezza (SDS) sul sito web di R-Biopharm.

## 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]) o un sistema di estrazione dell'acido nucleico (come Maxwell® RSC [Promega]). Attenersi alle istruzioni del produttore.

Il test RIDA®GENE Flu & 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 solo come 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.

## 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 dell'uso, scongelare la **Reaction Mix**, la **Enzyme Mix**, il **Positive Control**, il **No Template Control** e l' **Internal Control RNA** e miscelare accuratamente (tranne l'enzyme mix), quindi centrifugare brevemente. Raffreddare adeguatamente i reagenti durante le fasi di lavoro (da 2 a 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	<b>Reaction Mix</b>	19,3 µl	212,3 µl
2	<b>Enzyme Mix</b>	0,7 µl	7,7 µl
	<b>Totale</b>	<b>20 µl</b>	<b>220 µl</b>

Mescolare la Master Mix e quindi centrifugare per breve tempo.

**Tabella 4:** Esempio di calcolo e preparazione della Master Mix per 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
	<b>Totale</b>	<b>21,0 µl</b>	<b>231,0 µl</b>

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 con una pipetta 1 µl di Internal Control RNA alla RT-PCR Mix del controllo negativo.

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

**Controllo positivo:** Aggiungere 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 nello strumento di PCR real-time. Avviare la PCR in base alle impostazioni dello strumento (vedere Tabella 5, Tabella 6, Tabella 7).

### 9.3 Impostazione dello strumento di PCR

#### 9.3.1 Profilo universale RT-PCR real-time

**Tabella 5:** Profilo RT-PCR real-time universale per la serie LightCycler® 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 RT-PCR real-time universale per ABI 7500 Fast Dx, Rotor-Gene Q, CFX96™ Dx e qTOWER<sup>3</sup>

<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

Strumento di PCR real-time	Rivelazione	Canale di rivelazione	Commento
<b>R-Biopharm RIDA®CYCLER</b>	Influenza A/B	Verde	-
	ICR	Giallo	
	Gene E SARS-CoV-2	Arancione	
	Gene RdRp SARS-CoV-2	Rosso	
<b>Roche LightCycler® 480II</b>	Influenza A/B	465/510	<b>È necessario RIDA®GENE Color Compensation Kit IV (PG0004)</b>
	ICR	533/580	
	Gene E SARS-CoV-2	533/610	
	Gene RdRp SARS-CoV-2	618/660	
<b>ABI 7500 Fast Dx</b>	Influenza A/B	FAM	<b>Impostare il colorante di riferimento passivo ROX su nessuno.</b>
	ICR	VIC	
	Gene E SARS-CoV-2	ROX	
	Gene RdRp SARS-CoV-2	Cy5	
<b>Bio-Rad CFX96™ Dx</b>	Influenza A/B	FAM	-
	ICR	VIC	
	Gene E SARS-CoV-2	ROX	
	Gene RdRp SARS-CoV-2	Cy5	
<b>Qiagen Rotor-Gene Q</b>	Influenza A/B	Verde	<b>Il guadagno deve essere impostato su 5 (impostazione di fabbrica) per tutti i canali.</b>
	ICR	Giallo	
	Gene E SARS-CoV-2	Arancione	
	Gene RdRp SARS-CoV-2	Rosso	
<b>qTOWER<sup>3</sup></b>	Influenza A/B	FAM	-
	ICR	VIC	
	Gene E SARS-CoV-2	ROX	
	Gene RdRp SARS-CoV-2	Cy5	

## 10. Controllo qualità

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

Il **Positive Control** è presente a una concentrazione di  $10^3$  copie/ $\mu$ l. Viene utilizzato in una quantità totale di  $5 \times 10^3$  copie in ogni esecuzione della 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 quanto segue:

- Data di scadenza dei reagenti utilizzati
- Funzionalità dell'attrezzatura utilizzata
- Procedura di esecuzione del test corretta

Il controllo positivo è costituito da frammenti di RNA sintetico e copre almeno un sistema di rivelazione del canale di rivelazione corrispondente. Pertanto, un solo controllo positivo non copre necessariamente tutti i sistemi di rivelazione utilizzati. Per un ulteriore controllo di qualità, raccomandiamo quindi di eseguire regolarmente controlli esterni e campioni di pazienti certamente positivi.

## 11. Interpretazione del campione

Il risultato viene interpretato in base alla Tabella 9.

**Tabella 9:** Interpretazione del campione

Rivelazione di				
Gene E (SARS-CoV-2)	Gene RdRp (SARS-CoV-2)	Gene M/ gene NP1 (Influenza A/B)	ICR	Risultato
negativo	negativo	<b>positivo</b>	<b>positivo/ negativo</b>	<b>Influenza A/B rivelabile</b>
<b>positivo</b>	<b>positivo</b>	negativo	<b>positivo/ negativo</b>	<b>SARS-CoV-2 rivelabile</b>
<b>positivo</b>	<b>positivo</b>	<b>positivo</b>	<b>positivo/ negativo</b>	<b>SARS-CoV-2 e influenza A/B rivelabile</b>
<b>positivo</b>	negativo	negativo	<b>positivo/ negativo</b>	<b>SARS-CoV-2 rivelabile</b>
negativo	<b>positivo</b>	negativo	<b>positivo/ negativo</b>	<b>SARS-CoV-2 rivelabile*</b>
negativo	negativo	negativo	<b>positivo</b>	<b>Gene target non rivelabile</b>
negativo	negativo	negativo	<b>negativo</b>	<b>Non valido</b>

\* Potenziale reattività crociata debole a SARS-CoV-1

Un campione è positivo se sia l'RNA del campione sia l'**Internal Control RNA** mostrano un segnale di amplificazione nel sistema di rivelazione.

Il segmento del gene E rivelato in questo test è un frammento specifico di SARS-CoV-2. Nell'allineamento BLAST, il segmento del gene RdRp rivelato mostra alcune corrispondenze con il segmento della sequenza di SARS-CoV-1 corrispondente. In questo caso non si può escludere completamente l'amplificazione.

La sensibilità di questi due frammenti nei campioni di SARS-CoV-2 nell'intervallo del LoD può variare leggermente, con la conseguenza che uno solo dei due geni risulterà positivo nell'intervallo del LoD.

Un campione è positivo anche se l'RNA del campione mostra un segnale di amplificazione, ma non è presente alcun segnale di amplificazione per l'**Internal Control RNA** nel sistema di rivelazione. In questo caso non è necessario rivelare l'**Internal Control RNA** perché concentrazioni elevate di ampliconi possono far sì che il segnale dell'**Internal Control RNA** sia debole o assente.

Un campione è negativo se l'RNA del campione non mostra alcun segnale di amplificazione, ma è visibile un segnale di amplificazione 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<sup>®</sup>GENE con LightCycler<sup>®</sup> 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 solo ai tamponi nasali/faringei 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. Mutazioni o polimorfismi nei siti di legame del primer o della sonda possono interferire con la rivelazione delle varianti nuove o sconosciute e produrre risultati falsi negativi utilizzando il test RIDA<sup>®</sup>GENE Flu & SARS-CoV-2.
4. Come per tutti i test diagnostici *in vitro* basati sulla PCR, possono essere identificate concentrazioni delle sequenze target estremamente basse, sotto il limite di rivelazione (LoD), ma i risultati ottenuti non sono sempre riproducibili.
5. Un risultato positivo non indica necessariamente la presenza di organismi vitali. Un risultato positivo indica la presenza dei geni target per l'influenza A (gene M), l'influenza B (gene NP1) e il SARS-CoV-2 (gene E; gene RdRp).
6. Questo test deve essere eseguito in conformità con il regolamento sulle buone pratiche di laboratorio (BPL). Gli operatori devono seguire esattamente le istruzioni del produttore.
7. A partire da una concentrazione testata del 3,0%, la diidrocodeina mostra un effetto inibitore sulla rivelazione dell'influenza A/B.

## 13. Prestazioni e caratteristiche

### 13.1 Precisione

La precisione del test di PCR real-time RIDA®GENE Flu & SARS-CoV-2 è stata determinata per i seguenti livelli di considerazione.

Precisione intra-test: determinazione di cinque campioni di controllo utilizzando 20 replicati ciascuno su LightCycler® 480II in condizioni identiche.

Precisione inter-test: determinazione di cinque campioni di controllo in duplicato in dieci giorni lavorativi, eseguiti da diversi tecnici in condizioni riproducibili.

Precisione inter-lotto: i test di precisione intra- e inter-test sono stati effettuati utilizzando tre diversi lotti.

I coefficienti di variazione ottenuti di ogni misurazione utilizzando il test di PCR real-time RIDA®GENE Flu & SARS-CoV-2 su LightCycler® 480II sono stati inferiori al 2,5%.

### 13.2 Sensibilità analitica

#### 13.2.1 Limite di rivelazione dello strumento

Per determinare il limite di rivelazione dello strumento sono stati misurati 20 replicati di un campione di controllo (ciascuno con 50 copie/reazione) su LightCycler® 480II. Tutti i replicati erano positivi.

Il limite di rivelazione dello strumento è quindi di 50 copie/reazione.

### 13.3 Specificità analitica

Il test di PCR real-time RIDA®GENE Flu & SARS-CoV-2 è specifico per il virus SARS-CoV-2 e i virus influenzali A/B umani in tamponi nasali/faringei.

Sono stati testati anche altri microrganismi. Non sono state rivelate reattività crociate con le seguenti specie (vedere Tabella 10):

**Tabella 10:** Test di reattività incrociata

<i>Acinetobacter baumannii</i> , ceppo 5377	-	Adenovirus 1, umano, ceppo Adenoid 71	-	Adenovirus 7, umano, ceppo Gomen	-	<i>Bordetella parapertussis</i> , ceppo 12822	-
<i>Bordetella pertussis</i> Tohama 1	-	<i>Candida albicans</i>	-	<i>Chlamydomphila pneumoniae</i>	-	<i>Corynebacterium diphtheriae</i>	-
Echovirus Tipo 11	-	Virus di Epstein-Barr, ceppo B95-8	-	<i>Escherichia coli</i> (O26:H-)	-	<i>Escherichia coli</i> (O6)	-

<i>Escherichia coli</i> (O157:H7)	-	<i>Enterobacter cloacae</i>	-	Enterovirus tipo 71, ceppo 2003 isolato	-	<i>Haemophilus influenzae</i>	-
Virus dell'herpes simplex 1, ceppo McIntyre	-	Virus dell'herpes simplex 2, ceppo MS	-	Coronavirus 229E umano	-	Coronavirus OC43 umano	-
Coronavirus HKU1 umano	-	Coronavirus NL63 umano	-	Coxsackievirus umano A2, ceppo Fleetwood	-	Coxsackie B4 umano	-
Cytomegalovirus umano	-	Metapneumovirus umano	-	Virus parainfluenzale umano 1, ceppo C35	-	Virus parainfluenzale umano 2, ceppo Greer	-
Virus parainfluenzale umano, sierotipo 3	-	Virus parainfluenzale umano 4a, ceppo M-25	-	Virus parainfluenzale umano 4b, ceppo CH19503	-	Virus respiratorio sinciziale umano, ceppo Long	-
Virus respiratorio sinciziale umano, ceppo 9320	-	Rhinovirus umano genogruppo A	-	<i>Klebsiella pneumoniae</i> ceppo MGH 78578	-	<i>Lactobacillus plantarum</i>	-
<i>Legionella pneumophila</i> sottosp. Pneumophila	-	MERS	-	<i>Moraxella catarrhalis</i>	-	Virus della parotite genotipo G-198	-
<i>Mycoplasma pneumoniae</i> , ceppo FH di agente Eaton	-	<i>Neisseria meningitidis</i> , ceppo FAM18	-	<i>Pneumocystis jirovecii</i>	-	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	-
<i>Serratia marcescens</i>	-	<i>Streptococcus pneumoniae</i> , ceppo NCTC 7465	-	<i>Streptococcus pyogenes</i>	-	<i>Streptococcus salivarius</i>	-
<i>Staphylococcus aureus</i>	-	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	-		-		-

### 13.4 Reattività analitica

La reattività analitica del test di RT-PCR real-time multiplex RIDA®GENE Flu & SARS-CoV-2 è stata esaminata utilizzando diversi ceppi dei virus influenzali A/B e SARS-CoV-2 (vedere Tabella 11).

**Tabella 11:** Test di reattività analitica

<b>Ceppo</b>	<b>Influenza A/B</b>	<b>SARS-CoV-2 (gene E)</b>	<b>SARS-CoV-2 (gene RdRp)</b>
SARS-CoV-2 (isolato: USA-WA1/2020)	negativo	positivo	positivo
SARS-CoV-2 (isolato: Italia-INMI1)	negativo	positivo	positivo
A/Brisbane/02/2018	positivo	negativo	negativo
A/Michigan/45/2015	positivo	negativo	negativo
A/California/7/2009	positivo	negativo	negativo
A/Brisbane/59/2007	positivo	negativo	negativo
A/Guangdong-Maonan/SWL1536/2019	positivo	negativo	negativo
A/Kansas/14/2017	positivo	negativo	negativo
A/Singapore/INFIMH-16-0019/2016	positivo	negativo	negativo
A/Hong Kong/2671/2019	positivo	negativo	negativo
A/Texas/50/2012	positivo	negativo	negativo
A/Perth/16/2009	positivo	negativo	negativo
A/Anhui/1/2013	positivo	negativo	negativo
B/Colorado/06/2017	positivo	negativo	negativo

B/Brisbane/60/2008	positivo	negativo	negativo
B/Washington/02/2019	positivo	negativo	negativo
B/Phuket/3073/2013	positivo	negativo	negativo

### 13.5 Sostanze interferenti

La presenza di inibitori della RT-PCR e sostanze interferenti può portare a risultati falsi negativi o non validi. Per questa ragione sono stati testati gli effetti di diverse sostanze che potrebbero essere presenti nei campioni in quanto ampiamente utilizzate nelle infezioni del tratto respiratorio o a causa della prevalenza diffusa (vedere Tabella 12) della sostanza diidrocodeina; è stato osservato un effetto inibitore a partire da una concentrazione testata del 3,0% (vedere Limiti del metodo). Non sono state individuate interferenze per le altre sostanze elencate (Tabella 12):

**Tabella 12:** Elenco delle sostanze e delle concentrazioni usate nel test

Farmaco / Ingrediente attivo	Concentrazione
Etanolo	5% [v/v]
Guanidina cloridrato	5% [p/v]
Azitromicina	84 mg/ml
Mucine	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]
Cloruro di sodio	10% [v/v]
Oseltamivir fosfato	25 mg/ml
Benzidamina cloridrato	10% [v/v]












## 14. Cronologia delle versioni

Numero della versione	Sezione e denominazione
2020-12-08	Versione precedente
2021-02-16	2. Sintesi e spiegazione del test 5. Istruzioni di conservazione 6. Reagenti necessari ma non in dotazione 9. Esecuzione del test 10. Controllo qualità 11. Interpretazione del campione 12. Limiti del metodo 13.5 Sostanze interferenti

## 15. Descrizione dei simboli

### Simboli generali

	Usò per la diagnostica in vitro
	Leggere le istruzioni per l'uso
	Numero di lotto
	Data di scadenza
	Temperatura di conservazione
	Numero di catalogo
	Quantità di test
	Data di produzione
	Produttore

### Simboli specifici del test

Reaction Mix

Enzyme Mix

Internal Control RNA

No Template Control

Positive Control

## 16. Bibliografia

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