

## RIDA® GENE Pediatric Viral Panel

**REF** PG4725



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](http://www.r-biopharm.com)



## 1. Application

Pour usage diagnostique *in vitro* Le test RIDA®GENE Pediatric Viral Panel test, réalisé avec l'instrument de PCR en temps réel LightCycler® 480 II est une RT-PCR pour la détection qualitative directe de la différenciation des ARN de rhinovirus/entérovirus/paréchovirus, des ADN de bocavirus et des ADN d'adénovirus dans les frottis nasopharyngés humains non traités de personnes présentant des signes et symptômes d'infection respiratoire.

Le test RIDA®GENE Pediatric Viral Panel est conçu pour étayer le diagnostic différentiel d'infections par rhinovirus/entérovirus/paréchovirus, bocavirus et adénovirus chez des patients présentant des symptômes d'infection respiratoire conjointement à d'autres résultats cliniques et de laboratoire.

Des résultats négatifs n'excluent pas une infection par rhinovirus/entérovirus/paréchovirus, bocavirus ou adénovirus et ne doivent pas être utilisés comme seule base de diagnostic.

Ce produit est destiné à un usage professionnel.

## 2. Résumé et explication du test

Les infections virales des voies respiratoires sont l'une des causes principales d'hospitalisation et de consultation en clinique chez les enfants et les personnes âgées.<sup>(1-6)</sup> En plus des virus respiratoires connus comme la grippe et le SARS-CoV-2, les adénovirus, les bocavirus, les entérovirus, les paréchovirus et les rhinovirus peuvent causer des infections des voies respiratoires.

Les adénovirus humains (HAdV) appartiennent à la famille des Adenoviridae et au genre Mastadenovirus. Ce sont des virus en forme d'icosaèdre, non enveloppés et à ADN double brin dont le diamètre est compris entre 65 nm et 110 nm. Ils sont divisés en 7 espèces (de A à G), qui comprennent 67 sérotypes.<sup>(7,8)</sup>

Les bocavirus humains (HBoV) sont des parvovirus icosaédriques, petits et non enveloppés.<sup>(9-11)</sup> Leur diamètre est d'environ 18 nm à 26 nm, ils ont un ADN simple brin et la taille de leur génome est comprise entre 4 kb et 6 kb (plus les séquences terminales de 32 à 52 nucléotides). Le rôle des HBoV en tant que passagers inoffensifs fait toujours l'objet de débats controversés car ils sont souvent isolés en association à d'autres pathogènes. Les HBoV comprennent 4 sous-types : HBoV1, HBoV2, HBoV3 et HBoV4.<sup>(9,10)</sup>

Les entérovirus et les rhinovirus sont des virus isocédriques, non enveloppés et à ADN simple brin et la taille de leur génome est d'environ 7,2 kb.<sup>(12-15)</sup> Avant l'apparition des outils moléculaires pour classifier les pathogènes, les rhinovirus et les entérovirus étaient considérés comme étant deux pathogènes très différents.<sup>(15)</sup> Nous savons aujourd'hui qu'ils sont liés sur le plan génétique. Ils appartiennent tous les deux au genre Enterovirus au sein de la famille des Picornaviridae.<sup>(13-17)</sup> Les entérovirus humains (HEV) comprennent 4 espèces (HEV-A, HEV-B, HEV-C et HEV-D), avec plus de 200 différents sérotypes. Les rhinovirus sont divisés en 3 espèces

(rhinovirus A, rhinovirus B et rhinovirus C) qui comprennent environ 150 types différents.<sup>(12-18)</sup> Tout comme les entérovirus et les rhinovirus, les paréchovirus humains (HPeV) appartiennent à la famille des Picornaviridae, mais ils sont classifiés sous le genre Parechovirus.<sup>(16,17,19-22)</sup> Les HPeV sont des virus non enveloppés à ARN simple brin. Les HPeV comprennent 19 génotypes (HPeV1 à HPeV19) ; HPeV1 et HPeV3 sont les plus fréquents.<sup>(19,20)</sup>

Les infections par HAdV qui affectent les voies respiratoires sont signalées comme ayant des symptômes semblables à ceux du rhume, avec notamment de la fièvre, un mal de gorge, des vomissements et de la diarrhée, et les infections graves sont signalées en association avec une conjonctivite et une inflammation pulmonaire.<sup>(3,7,8)</sup> Les symptômes fréquents des infections par HBoV sont une respiration sifflante et une toux. Les deux virus sont présents dans le monde entier et tout au long de l'année, tandis que les HBoV connaissent un pic pendant les mois d'hiver et du printemps.<sup>(8,9)</sup>

Les symptômes signalés pour les infections par HEV des voies respiratoires comprennent la toux, l'essoufflement, la respiration sifflante et la fièvre.<sup>(14)</sup> Les infections par HEV sont plus fréquentes en été et à l'automne dans les climats tempérés et peuvent survenir toute l'année dans les régions tropicales.<sup>(13)</sup> Les rhinovirus sont présents dans le monde entier, et leur prévalence est plus élevée au printemps et à l'automne.<sup>(12,15)</sup> Ils sont fréquents chez les patients présentant une pneumonie, une bronchiolite, ou une infection de l'oreille moyenne, avec ou sans copathogènes. Les rhinovirus provoquent des symptômes tels que la rhinorrhée, le mal de gorge, la toux, le mal de tête, la congestion nasale et des malaises.<sup>(15)</sup> Les symptômes fréquents des infections par HPeV sont les symptômes du rhume comme la congestion nasale et la fièvre, ainsi que la toux.<sup>(20,21,23)</sup>

Habituellement, les infections virales respiratoires sont limitées ou asymptomatiques, mais chez les enfants, les personnes âgées et les patients immunodéprimés, elles peuvent causer une maladie grave.<sup>(7-9,14-16,19,22)</sup>

### 3. Principe du test

Le test RIDA®GENE Pediatric Viral Panel est une RT-PCR multiplexe en temps réel pour la détection qualitative directe et la différenciation des ARN de rhinovirus/ entérovirus/ paréchovirus, des ADN de bocavirus et des ADN d'adénovirus dans les frottis nasopharyngés humains.

Après isolation de l'ADN, les fragments génétiques spécifiques de rhinovirus/entérovirus/paréchovirus (5'UTR), de bocavirus (5'NTR) et d'adénovirus (hexon) sont amplifiés (s'ils sont présents). Les séquences cibles amplifiées sont détectées à l'aide de sondes d'hydrolyse qui sont marquées par un extincteur à une extrémité et par 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 Pediatric Viral Panel contient un Internal Control DNA (ICD) pour contrôler la préparation de l'échantillon et/ou toute éventuelle inhibition de la PCR.

### 4. Contenu du paquet

Les réactifs fournis dans le kit permettent de réaliser 100 déterminations.

Tableau 1 : Contenu du paquet

Code du kit	Réactif	Quantité		Couleur du bouchon
1	Reaction Mix	2 ×	1050 µL	jaune, prêt à l'emploi
2	Enzyme Mix	1 ×	80 µL	rouge, prêt à l'emploi
R	Internal Control RNA	2 ×	1700 µL	brun, prêt à l'emploi
N	No Template Control	1 ×	450 µL	blanc, prêt à l'emploi
P	Positive Control	1 ×	200 µL	bleu, prêt à l'emploi

## 5. Instructions de conservation des réactifs

- Respecter les consignes de manipulation figurant dans le tableau 2 et stocker le kit directement après utilisation conformément aux instructions.
- 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 - 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 - 8 °C).

**Tableau 2** : Informations et conditions de conservation

	Température de conservation	Durée maximale de conservation
non ouvert	-20 °C	Utilisable jusqu'à la date de péremption figurant sur l'étiquette
ouvert	-20 °C	20 cycles de congélation-décongélation

## 6. Réactifs requis, mais non fournis

### 6.1 Réactifs

Aucun.

### 6.2 Matériel de laboratoire

Le matériel suivant est nécessaire pour réaliser le test RIDA®GENE Pediatric Viral Panel :

Matériel
Plateforme d'extraction : Instrument MagNA Pure 96 (Roche)
Instrument de PCR en temps réel : LightCycler® 480 II (Roche)
Le kit RIDA®GENE Color Compensation Kit IV (PG0004) (R-Biopharm) est nécessaire.
Consommables de PCR en temps réel (plaques [profil bas, puits blancs, support transparent], flacons de réaction, films)
Centrifugeuse avec rotor pour plaques
Agitateur-mélangeur vortex
Pipettes (0,5 - 20 µL, 20 - 200 µL, 100 - 1 000 µL)
Pointes de pipettes dotées de filtres
Gants jetables non poudrés

Pour toute question concernant l'utilisation d'équipements pour le traitement automatisé, veuillez contacter R-Biopharm AG à l'adresse [pcr@r-biopharm.de](mailto:pcr@r-biopharm.de).

## 7. Mesures de précaution

Exclusivement réservé au diagnostic *in vitro*.

Ce test doit être réalisé uniquement par un personnel de laboratoire formé. Il convient de respecter les directives de travail dans les laboratoires médicaux.

Toujours respecter strictement le manuel d'utilisation lors de la réalisation du test.

Ne pas pipeter les échantillons ou les réactifs à la bouche. Éviter tout contact avec des plaies et des 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 ou boire dans les zones de manipulation des échantillons.

Des pièces séparées, des vêtements spéciaux et des instruments pour l'extraction, la préparation de la PCR et la PCR doivent être utilisés pour éviter la contamination croisée et les résultats faux positifs.

Éviter de contaminer les échantillons et les composants du kit avec des microbes et des nucléases (DNase/RNase).

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.

Ne pas échanger ou mélanger les composants (Reaction Mix, Enzyme Mix, Internal Control RNA, Positive Control, No Template Control) d'un lot d'un kit avec les composants d'un autre lot.

Ne pas utiliser le kit après sa date de péremption. Après utilisation, les utilisateurs sont responsables de l'élimination correcte de tous les réactifs et matériaux. Pour l'élimination, respecter les règlements nationaux.

De plus amples informations sur la Safety Data Sheet (SDS) sont disponibles sous le numéro d'article à l'adresse suivante <https://clinical.r-biopharm.com/search/>.

Pour les utilisateurs de l'Union européenne : signaler tout événement indésirable grave associé au produit à R-Biopharm AG et aux autorités nationales compétentes.

## 8. Prélèvement et conservation des échantillons

### 8.1 Préparation de l'ADN/ARN à partir de frottis nasopharyngés

Pour la préparation de l'ADN/ARN à partir de frottis nasopharyngés, il est recommandé d'utiliser le kit MagNA Pure 96 DNA/Viral NA SV sur l'instrument MagNA Pure 96 (Roche). Pour ce faire, utiliser le protocole Pathogen Universal 200 et éluer dans 50 µL. Il convient de respecter les instructions du fabricant.

Le test RIDA®GENE Pediatric Viral Panel 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 des acides nucléiques. Le **Internal Control DNA** peut être utilisé comme un contrôle de l'inhibition seule, ou comme un contrôle du processus (contrôle de l'inhibition et de l'extraction).

Si le **Internal Control DNA** est utilisé comme contrôle de l'inhibition seule pour l'amplification, il convient d'ajouter 1 µL du **Internal Control RNA** au mélange maître (voir le tableau 4).

Si le **Internal Control DNA** est utilisé comme contrôle de l'extraction pour la préparation de l'échantillon **et** comme contrôle de l'inhibition pour l'amplification, il convient d'utiliser 20 µL du **Internal Control RNA** pendant l'extraction. Si possible, il est recommandé d'ajouter le **Internal Control DNA** dans la cartouche d'échantillon avant d'ajouter l'échantillon. Il est recommandé de pipeter 1 µL du **Internal Control DNA** par réaction dans le mélange de PCR du contrôle négatif et du contrôle positif.

## 9. Réalisation du test

### 9.1 Préparation du mélange maître

Il est nécessaire de 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 supplémentaire au mélange maître afin de compenser la perte au pipetage (voir les 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 passer à l'agitateur-mélangeur vortex (à l'exception du mélange enzymatique) et les centrifuger brièvement. Les réactifs doivent toujours être refroidis de manière appropriée pendant les étapes de travail (2 °C - 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	<b>Reaction Mix</b>	19,3 µL	212,3 µL
2	<b>Enzyme Mix</b>	0,7 µL	7,7 µL
	<b>Total</b>	<b>20 µL</b>	<b>220 µL</b>

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	<b>Reaction Mix</b>	19,3 µL	212,3 µL
2	<b>Enzyme Mix</b>	0,7 µL	7,7 µL
R	<b>Internal Control RNA</b>	1,0 µL	11 µL
	<b>Total</b>	<b>21,0 µL</b>	<b>231,0 µL</b>

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 (plaques).

**Contrôle négatif :** Pipeter 5 µL de **No Template Control** dans chaque mélange maître pré-pipeté.

**Remarque :** Si le **Internal Control DNA** est utilisé comme contrôle de l'extraction pour la préparation de l'échantillon et comme contrôle de l'inhibition, il convient d'ajouter 1 µL du **Internal Control RNA** à chaque mélange de contrôle négatif pour la PCR.

**Échantillons :** Ajouter 5 µL d'éluat à chaque mélange maître pré-pipeté.

**Contrôle positif :** Ajouter 5 µL de **Positive Control** à chaque mélange maître pipeté au préalable.

**Remarque :** Si le **Internal Control DNA** est utilisé comme contrôle de l'extraction pour la procédure de préparation de l'échantillon et comme contrôle de l'inhibition, il convient d'ajouter 1 µL du **Internal Control RNA** à chaque mélange de contrôle positif pour la PCR.

Fermer hermétiquement les plaques, les centrifuger brièvement à faible vitesse et les transférer vers un dispositif de PCR en temps réel. Démarrer la PCR selon la configuration de l'instrument de PCR (voir les tableaux 5 et 6).

## 9.3 Configuration de l'instrument de PCR

### 9.3.1 Profil universel de PCR en temps réel

Pour harmoniser les tests RIDA®GENE, le test RIDA®GENE Pediatric Viral Panel a été vérifié par rapport au profil universel. Il est ainsi possible de combiner les tests ADN et ARN entre eux.

**Tableau 5** : Profil universel de PCR en temps réel pour LightCycler® 480 II

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

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

## 9.4 Réglage du canal de détection

**Tableau 6** : Sélection des canaux de détection adéquats

Instrument de PCR en temps réel	Détection	Canal de détection	Commentaire
Roche LightCycler® 480 II	Rhinovirus/ entérovirus/ paréchovirus	465/510	<b>Le kit RIDA®GENE Color Compensation Kit IV (PG0004) est nécessaire.</b>
	ICR	533/580	
	Bocavirus	533/610	
	Adénovirus	618/660	

## 10. Contrôle qualité - signes d'instabilité ou de détérioration des réactifs

Les échantillons sont évalués à l'aide du logiciel d'analyse du dispositif de PCR en temps réel, conformément aux instructions du fabricant. Le contrôle négatif et le contrôle positif doivent afficher les résultats corrects (voir le tableau 7).

Le **Positive Control** est présent à une concentration de  $10^3$  copies/ $\mu$ L. Chaque analyse par PCR utilise une quantité totale de  $5 \times 10^3$  copies.

**Tableau 7** : Pour être valide, une analyse de PCR doit remplir les conditions suivantes :

Échantillon	Résultat	Ct ICR	Ct gène cible
Contrôle positif	Positif	S/O *1	Voir le Certificate of Analysis
Contrôle négatif	Négatif	Ct > 20	0

*\*1 Aucune valeur de Ct n'est requise pour obtenir un résultat positif de l'ICR pour le contrôle positif.*

Si le contrôle positif ne se situe pas dans la plage de Ct spécifiée, mais que le contrôle négatif est valide, toutes les réactions doivent être de nouveau analysées, y compris les contrôles.

Si le contrôle négatif n'est pas négatif, mais que le contrôle positif est valide, 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
- Procédure de test correcte

Si les conditions ne sont toujours pas satisfaites après avoir renouvelé le test, consulter le fabricant ou un distributeur R-Biopharm local.

## 11. Interprétation des résultats

**Tableau 8** : Interprétation des résultats\*

Détection de				
Rhinovirus/ entérovirus/ paréchovirus	Bocavirus	Adénovirus	ICR	Résultat
+	-	-	+/-	Détection de rhinovirus/entérovirus/paréchovirus
-	+	-	+/-	Détection de bocavirus
-	-	+	+/-	Détection d'adénovirus
+	+	-	+/-	Détection de rhinovirus/entérovirus/paréchovirus et de bocavirus
+	-	+	+/-	Détection de rhinovirus/entérovirus/paréchovirus et d'adénovirus
-	+	+	+/-	Détection de bocavirus et d'adénovirus
+	+	+	+/-	Détection de rhinovirus/entérovirus/paréchovirus ; détection de bocavirus et d'adénovirus
-	-	-	+	Gènes cibles non détectables
-	-	-	-	Non valide

\* + = positif  
- = négatif

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.

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** (ICR) n'est pas indispensable dans ce cas, car une concentration élevée d'amplicons peut 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 signal visible pour le **Internal Control RNA**. Une inhibition de la réaction de PCR peut être exclue par la détection du **Internal Control DNA**.

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.

## 12. Limites de la méthode

1. Le RIDA<sup>®</sup>GENE Pediatric Viral Panel test détecte l'ARN de rhinovirus/entérovirus/paréchovirus, l'ADN de bocavirus, et l'ADN d'adénovirus DNA dans les frottis nasopharyngés humains non traités. Ce test ne permet pas d'établir de rapport entre la valeur de Ct mesurée et la gravité des symptômes cliniques. Les résultats obtenus doivent toujours être interprétés au regard des symptômes cliniques dans leur ensemble.
2. Le diagnostic ne doit pas reposer uniquement sur le résultat du test de biologie moléculaire. Il doit toujours tenir compte des antécédents médicaux et des symptômes du patient.
3. Ce test est uniquement validé pour les frottis nasopharyngés.
4. Un échantillonnage, un transport, un stockage et un traitement incorrects du spécimen ou une charge en agents pathogènes inférieure à la sensibilité analytique du test peuvent entraîner des résultats faux négatifs.
5. La présence d'inhibiteurs de la PCR peut donner lieu à des résultats faux négatifs ou non valides.
6. À l'instar de tous les tests de diagnostic *in vitro* basés sur la PCR, des concentrations extrêmement faibles des séquences cibles sous la limite de détection (LoD 95 %) peuvent être détectées, mais les résultats peuvent ne pas être reproductibles.
7. 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<sup>®</sup>GENE Pediatric Viral Panel.
8. Un résultat positif du test ne signifie pas nécessairement que des organismes viables sont présents. Un résultat positif indique la présence des gènes cibles (rhinovirus/entérovirus/paréchovirus (5'UTR), bocavirus (5'NTR) et adénovirus (hexon)).
9. Les substances dipropionate de bécloéthasone et dihydrocodéine peuvent avoir des propriétés interférentes, même à des faibles doses. À partir d'une concentration de 5 % [v/v], ratioAllerg<sup>®</sup> 50 µg (dipropionate de bécloéthasone) peut interférer sur la détection des adénovirus. Paracodin<sup>®</sup> N gouttes (dihydrocodéine) peut interférer sur la détection des entérovirus/rhinovirus/paréchovirus et sur la détection de l'IC à partir de la plus faible concentration testée de 3,0 % [v/v].
10. Ce test doit être réalisé conformément aux BPL (Bonnes pratiques de laboratoire). L'utilisateur doit suivre avec précision les instructions du fabricant lors de l'exécution du test.

## 13. Performances

### 13.1 Performances analytiques

#### 13.1.1 Limite de détection du dispositif

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

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

#### 13.1.3 Spécificités analytiques

##### Substances interférentes

La présence d'inhibiteurs de la PCR en temps réel et de substances interférentes peut donner lieu à des résultats faux négatifs ou non valides. De ce fait, les effets de diverses substances ont été étudiés, compte tenu de leur utilisation répandue en cas d'infections respiratoires ou de leur présence répandue dans les échantillons correspondants (frottis nasopharyngés).

Les substances susceptibles d'influencer de manière significative les résultats des tests ont été examinées dans un premier temps à des concentrations élevées (le triple de la dose quotidienne ou la simulation du pire cas) dans un test d'interférence. Si une interférence potentielle était trouvée lors de ce test de réactivité pour une substance examinée, une relation dose-effet était établie entre la concentration de la substance en question et l'interférence.

Aucune interférence n'a été identifiée pour les substances figurant dans le tableau 10.

**Tableau 10 :** Substances potentiellement interférentes

Substance potentiellement interférente	Concentration
Amoxicillin-ratiopharm® 1000 mg comprimés pelliculés (amoxicilline)	1 mg/mL
Azithromycin-ratiopharm® 500 mg comprimés pelliculés (azithromycine)	84 mg/mL
Sang humain	2 % [v/v]
Mucines	60 µg/mL
Nasenspray-ratiopharm® spray nasal (xylometazoline)	10 % [v/v]
Chlorure de sodium	10 % [v/v]
Neo-angin® spray (chlorhydrate de benzydamine)	10 % [v/v]
Phosphate d'oseltamivir	25 mg/mL
Paracetamol-ratiopharm® 500 mg comprimés (paracétamol)	10 mg/mL

Des effets inhibiteurs ont été observés pour les substances ratioAllerg® 50 µg (dipropionate de béclo méthasone) (5 % [v/v]) et Paracodin® N gouttes (dihydrocodéine) (3,0 % [v/v]) (voir la section Limites de la méthode).

### Réactivité croisée

Ont également été étudiés divers organismes (bactéries, virus, champignons) que l'on trouve couramment dans la matrice des frottis nasopharyngés. Les micro-organismes étudiés dans le cadre de ce test ont été sélectionnés soit en raison de leur présence naturelle dans la matrice, soit en raison des symptômes qu'ils provoquent en tant que pathogènes respiratoires. Ont été utilisés aux fins de ces analyses des cultures bactériennes (entre 10<sup>6</sup> et 10<sup>9</sup> CFU\*/mL), fongiques ou virales, des surnageants de cultures bactériennes, de champignons ou virales, des isolats, ou des standards LGC ou NIBSC des organismes concernés.

Le test RIDA®GENE Pediatric Viral Panel est une RT-PCR multiplexe en temps réel est spécifique aux rhinovirus/entérovirus/paréchovirus, bocavirus et adénovirus. Aucune réactivité croisée avec les espèces suivantes n'a été décelée (voir le tableau 11) :

**Tableau 11 :** Organismes à réaction croisée potentielle

Organisme	Résultat du test*		
	Rhinovirus/ entérovirus/ paréchovirus	Bocavirus	Adénovirus
<i>Acinetobacter baumannii</i> souche 5377	-	-	-
<i>Aspergillus terreus</i>	-	-	-
<i>Bordetella parapertussis</i> souche 12822	-	-	-
<i>Bordetella pertussis</i> Tohama 1	-	-	-
<i>Candida albicans</i>	-	-	-
<i>Chlamydomydia pneumoniae</i>	-	-	-
<i>Chlamydia psittaci</i>	-	-	-
<i>Clostridium perfringens</i>	-	-	-
<i>Corynebacterium diphtheriae</i>	-	-	-
Virus d'Epstein-Barr souche B95-8	-	-	-
<i>Escherichia coli</i> (O157:H7)	-	-	-
<i>Enterobacter cloacae</i>	-	-	-
<i>Haemophilus influenzae</i>	-	-	-
Virus Herpes simplex 1 souche McIntyre	-	-	-
Virus Herpes simplex 2 souche MS	-	-	-
Coronavirus humain 229E	-	-	-

Coronavirus humain OC43	-	-	-
Coronavirus humain SARS-CoV-2 (isolat : Italie-INMI1)	-	-	-
MERS-CoV souche : Floride/USA-2 Arabie saoudite 2014	-	-	-
Cytomégalovirus humain	-	-	-
Métapneumovirus humain	-	-	-
Virus parainfluenza humain 1 souche C35	-	-	-
Virus parainfluenza humain 2 souche Greer	-	-	-
Virus parainfluenza, sérotype 3	-	-	-
Virus parainfluenza 4a souche M-25	-	-	-
Virus respiratoire syncytial humain souche Long	-	-	-
Virus respiratoire syncytial humain souche 9320	-	-	-
Grippe A/Hong Kong/2671/2019 (H3N2)	-	-	-
Grippe A/Victoria/2570/2019 (H1N1)	-	-	-
Virus de la grippe B/Washington/02/2019	-	-	-
Grippe B/Phuket/3073/2013/ (lignée Yamagata)	-	-	-
<i>Klebsiella pneumoniae</i> souche MGH 78578	-	-	-
<i>Legionella pneumophila</i> subsp. <i>pneumophila</i>	-	-	-
<i>Moraxella catarrhalis</i>	-	-	-
<i>Mycoplasma pneumoniae</i> souche FH d'Eaton Agent	-	-	-
<i>Neisseria meningitidis</i> souche FAM18	-	-	-
<i>Proteus vulgaris</i>	-	-	-
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	-	-	-
<i>Serratia marcescens</i>	-	-	-
<i>Staphylococcus aureus</i>	-	-	-
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	-	-	-
<i>Streptococcus pneumoniae</i> souche NCTC 7465	-	-	-
<i>Streptococcus pyogenes</i>	-	-	-
<i>Streptococcus salivarius</i>	-	-	-

- = négatif

### 13.1.4 Précision

La précision du test de PCR en temps réel RIDA®GENE Pediatric Viral Panel a été déterminée pour les niveaux de considération suivants.

Précision *intra*-essai : déterminée sur 5 échantillons de contrôle, à raison de 20 réplicats par échantillon, sur le LightCycler® 480 II dans des conditions identiques.

Précision *inter*-essais : déterminée sur 5 échantillons de contrôle testés en double au cours de 20 analyses réalisées sur 10 jours (2 analyses par jour) par deux opérateurs dans des conditions reproductibles.

Les tests de précision *intra*-essai et *inter*-essais ont été réalisés à l'aide de trois lots différents.

Les données relatives à la précision ont été obtenues en utilisant cinq échantillons de contrôle, ainsi que le PTC et le NTC du test.

Le coefficient de variation maximal obtenu pour chaque mesure à l'aide du test PCR en temps réel RIDA®GENE Pediatric Viral Panel sur LightCycler® 480 II était de 3,16 %.

**Tableau 12 :** Résultats relatifs à la précision du test RIDA®GENE Pediatric Viral Panel test pour les rhinovirus/ entérovirus/ paréchovirus.

Valeur Ct/CV moyenne	<i>Intra</i> -essai			<i>Inter</i> -essais			<i>Inter</i> -lots
	Lot du kit 1	Lot du kit 2	Lot du kit 3	Lot du kit 1	Lot du kit 2	Lot du kit 3	Lots des kits 1 à 3
1	Ct	nég.	nég.	nég.	nég.	nég.	nég.
	CV (%)	s/o	s/o	s/o	s/o	s/o	s/o
2	Ct	31,0	30,6	30,9	31,9	31,9	31,6
	CV (%)	1,11 %	1,49 %	0,75 %	2,09 %	2,43 %	2,06 %
3	Ct	32,0	31,9	31,8	33,3	32,8	33,0
	CV (%)	1,22 %	1,29 %	1,19 %	2,04 %	2,50 %	1,91 %
4	Ct	22,8	22,8	22,5	23,9	23,7	23,7
	CV (%)	1,12 %	0,96 %	0,91 %	2,87 %	3,16 %	2,45 %
5	Ct	26,1	25,9	26,2	27,2	26,9	27,0
	CV (%)	0,83 %	0,83 %	0,78 %	2,12 %	2,00 %	2,19 %

**Tableau 13 :** Résultats relatifs à la précision du test RIDA®GENE Pediatric Viral Panel pour les bocavirus.

Valeur Ct/CV moyenne	Intra-essai			Inter-essais			Inter-lots	
	Lot du kit 1	Lot du kit 2	Lot du kit 3	Lot du kit 1	Lot du kit 2	Lot du kit 3	Lots des kits 1 à 3	
1	Ct	nég.	nég.	nég.	nég.	nég.	nég.	nég.
	CV (%)	s/o	s/o	s/o	s/o	s/o	s/o	s/o
2	Ct	30,5	30,5	30,5	30,9	30,9	30,8	30,9
	CV (%)	0,91 %	0,67 %	0,70 %	1,25 %	1,03 %	1,16 %	1,16 %
3	Ct	31,4	31,5	31,6	32,2	32,1	32,2	32,2
	CV (%)	0,91 %	0,77 %	1,15 %	1,24 %	1,43 %	1,83 %	1,52 %
4	Ct	22,5	23,0	22,6	23,5	23,4	23,4	23,4
	CV (%)	1,03 %	0,76 %	0,53 %	1,26 %	1,66 %	1,56 %	1,50 %
5	Ct	25,7	25,7	26,2	26,5	26,5	26,6	26,5
	CV (%)	0,69 %	0,49 %	0,74 %	1,17 %	1,15 %	0,96 %	1,10 %

**Tableau 14 :** Résultats relatifs à la précision du test RIDA®GENE Pediatric Viral Panel pour les adénovirus.

Valeur Ct/CV moyenne	Intra-essai			Inter-essais			Inter-lots	
	Lot du kit 1	Lot du kit 2	Lot du kit 3	Lot du kit 1	Lot du kit 2	Lot du kit 3	Lots des kits 1 à 3	
1	Ct	nég.	nég.	nég.	nég.	nég.	nég.	
	CV (%)	s/o	s/o	s/o	s/o	s/o	s/o	
2	Ct	31,1	31,3	31,3	31,7	31,8	31,8	31,7
	CV (%)	1,15 %	1,08 %	1,38 %	1,50 %	1,51 %	1,09 %	1,38 %
3	Ct	32,7	32,5	32,4	33,0	32,9	33,0	33,0
	CV (%)	0,87 %	0,80 %	1,11 %	2,05 %	1,39 %	1,66 %	1,72 %
4	Ct	23,7	23,9	23,6	24,3	24,4	24,4	24,4
	CV (%)	1,05 %	0,77 %	0,65 %	1,98 %	1,46 %	1,69 %	1,72 %
5	Ct	27,1	26,8	27,4	27,3	27,4	27,5	27,4
	CV (%)	0,93 %	0,83 %	0,68 %	1,85 %	1,65 %	1,23 %	1,62 %

### 13.1.5 Réactivité analytique

La réactivité du test RT-PCR en temps réel RIDA® GENE Pediatric Viral Panel a été examinée sur un panel défini de souches/sous-types de virus (voir le tableau 15).

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

Souche	Concentration	Résultat*		
		Rhinovirus/ entérovirus/ paréchéovirus	Bocavirus	Adénovirus
Adénovirus 1, humain souche Adénoïde 71 (sous-groupe C)	1 x 10 <sup>-5</sup> µg/mL	-	-	+
Adénovirus 40, humain, souche Dugan (sous- groupe F)	1,26 U/mL	-	-	+
Adénovirus 41, humain, souche Tak (sous-groupe F)	1,17 x 10 <sup>1</sup> TCID <sub>50</sub> /mL	-	-	+
Adénovirus, type 2 (sous-groupe C)	8,51 x 10 <sup>3</sup> TCID <sub>50</sub> /mL	-	-	+
Adénovirus, type 3 (sous-groupe B)	1 x 10 <sup>3,23</sup> U/mL	-	-	+
Adénovirus, type 4 (sous-groupe E)	1,41 U/mL	-	-	+
Adénovirus type 11 (sous- groupe B)	1 x 10 <sup>0,29</sup> U/mL	-	-	+
Adénovirus type 31 (sous- groupe A)	1 x 10 <sup>0,15</sup> U/mL	-	-	+
Adénovirus type 37 (sous- groupe D)	1 x 10 <sup>-1,98</sup> U/mL	-	-	+
Adénovirus type 5 souche stock S/O (sous-groupe C)	1:100	-	-	+
Adénovirus type 7A (sous- groupe B)	1 x 10 <sup>3,06</sup> U/mL	-	-	+
Bocavirus, HBoV1	1:10 <sup>6</sup>	-	+	-
Entérovirus A - coxsackievirus A2, souche Fleetwood	1,51 x 10 <sup>2</sup> U/mL	+	-	-
Entérovirus A - entérovirus type 71, (souche 2003 isolat)	4,57 TCID <sub>50</sub> /mL	+	-	-
Entérovirus B - coxsackievirus B4	1 x 10 <sup>2,5</sup> U/mL	+	-	-
Entérovirus B - échovirus 11	5,89 x 10 <sup>1</sup> U/mL	+	-	-

Entérovirus C - coxsackievirus A21, souche Kuykendall	1 x 10 <sup>3,29</sup> U/mL	+	-	-
Entérovirus C - coxsackievirus A24, souche DN-19	1:10 <sup>4</sup>	+	-	-
Entérovirus D - entérovirus type 68 souche 2007 isolat	1,26 x 10 <sup>2</sup> TCID <sub>50</sub> /mL	+	-	-
Entérovirus D - entérovirus type 70, souche J670/71	1:10 <sup>5</sup>	+	-	-
Paréchovirus type 1, souche Harris	3,39 x 10 <sup>4</sup> U/mL	+	-	-
Paréchovirus type 3	4,07 x 10 <sup>3</sup> TCID <sub>50</sub> /mL	+	-	-
Rhinovirus type 1A	4,17 x 10 <sup>1</sup> U/mL	+	-	-
Rhinovirus A16	1,26 x 10 <sup>2</sup> U/mL	+	-	-
Rhinovirus A80	1,17 x 10 <sup>1</sup> U/mL	+	-	-
Rhinovirus B14	1,05 x 10 <sup>1</sup> TCID <sub>50</sub> /mL	+	-	-
Rhinovirus B42	2,45 x 10 <sup>2</sup> U/mL	+	-	-
Rhinovirus B70	1,70 x 10 <sup>2</sup> U/mL	+	-	-

\*+ = positif (au moins 2 réplicats positifs sur 3)

- = négatif

#### 14. Historique des versions

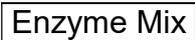
Numéro de version	Section et désignation
2022-03-03	Version de la publication

## 15. Signification des symboles

### Symboles généraux

	Pour usage diagnostique <i>in vitro</i>
	Respecter le manuel d'utilisation
	Numéro de lot
	Date de péremption
	Température de conservation
	Numéro d'article
	Nombre de tests
	Date de fabrication
	Fabricant

### Symboles spécifiques aux tests

	Mélange réactionnel
	Mélange d'enzymes
	Contrôle de l'extraction/inhibition
	Contrôle négatif
	Contrôle positif

## 16. Références

1. Brini I, Guerrero A, Hannachi N, Bouguila J, Orth-Höller D, Bouhlel A, u. a. Epidemiology and clinical profile of pathogens responsible for the hospitalization of children in Sousse area, Tunisia. PloS One. 2017;12(11):e0188325.
2. Huang H-S, Tsai C-L, Chang J, Hsu T-C, Lin S, Lee C-C. Multiplex PCR system for the rapid diagnosis of respiratory virus infection: systematic review and meta-analysis. Clin Microbiol Infect Off Publ Eur Soc Clin Microbiol Infect Dis. Oktober 2018;24(10):1055-63.
3. Ma X, Conrad T, Alchikh M, Reiche J, Schweiger B, Rath B. Can we distinguish respiratory viral infections based on clinical features? A prospective pediatric cohort compared to systematic literature review. Rev Med Virol. September 2018;28(5):e1997.
4. Mummidi PS, Tripathy R, Dwibedi B, Mahapatra A, Baraha S. Viral aetiology of wheezing in children under five. Indian J Med Res. Februar 2017;145(2):189-93.

5. Sonawane AA, Shastri J, Bavdekar SB. Respiratory Pathogens in Infants Diagnosed with Acute Lower Respiratory Tract Infection in a Tertiary Care Hospital of Western India Using Multiplex Real Time PCR. *Indian J Pediatr.* Mai 2019;86(5):433-8.
6. PERCH study group (The Pneumonia Etiology Research for Child Health Study Group). Causes of severe pneumonia requiring hospital admission in children without HIV infection from Africa and Asia: the PERCH multi-country case-control study. *Lancet Lond Engl.* 31. August 2019;394(10200):757-79.
7. Robert-Koch-Institut. *Epidemiologisches Bulletin* 22/2019. 29. Mai 2019;6.
8. Ison MG, Hayden RT. Adenovirus. *Microbiol Spectr.* August 2016;4(4).
9. Guido M, Tumolo MR, Verri T, Romano A, Serio F, De Giorgi M, u. a. Human bocavirus: Current knowledge and future challenges. *World J Gastroenterol.* 21. Oktober 2016;22(39):8684-97.
10. Christensen A, Kesti O, Elenius V, Eskola AL, Døllner H, Altunbulakli C, u. a. Human bocaviruses and paediatric infections. *Lancet Child Adolesc Health.* Juni 2019;3(6):418-26.
11. Jartti T, Hedman K, Jartti L, Ruuskanen O, Allander T, Söderlund-Venermo M. Human bocavirus-the first 5 years. *Rev Med Virol.* Januar 2012;22(1):46-64.
12. Greenberg SB. Update on rhinovirus and coronavirus infections. *Semin Respir Crit Care Med.* August 2011;32(4):433-46.
13. Muehlenbachs A, Bhatnagar J, Zaki SR. Tissue tropism, pathology and pathogenesis of enterovirus infection. *J Pathol.* Januar 2015;235(2):217-28.
14. Messacar K, Abzug MJ, Dominguez SR. The Emergence of Enterovirus-D68. *Microbiol Spectr.* Juni 2016;4(3).
15. To KKW, Yip CCY, Yuen K-Y. Rhinovirus - From bench to bedside. *J Formos Med Assoc Taiwan Yi Zhi.* Juli 2017;116(7):496-504.
16. Hayes A, Nguyen D, Andersson M, Antón A, Bailly J-L, Beard S, u. a. A European multicentre evaluation of detection and typing methods for human enteroviruses and parechoviruses using RNA transcripts. *J Med Virol.* August 2020;92(8):1065-74.
17. Simonen-Tikka M-L, Klemola P, Suomenrinne S, Kaijalainen S, Söderström D, Savolainen-Kopra C, u. a. Virus infections among young children--the first year of the INDIS study. *J Med Virol.* September 2013;85(9):1678-84.
18. Cox DW, Le Souëf PN. Rhinovirus and the developing lung. *Paediatr Respir Rev.* September 2014;15(3):268-74.
19. Chen B-C, Chang J-T, Huang T-S, Chen J-J, Chen Y-S, Jan M-W, u. a. Parechovirus A Detection by a Comprehensive Approach in a Clinical Laboratory. *Viruses.* 12. Dezember 2018;10(12).

20. McNeale D, Wang CYT, Arden KE, Mackay IM. HPeV-3 predominated among Parechovirus A positive infants during an outbreak in 2013-2014 in Queensland, Australia. *J Clin Virol Off Publ Pan Am Soc Clin Virol*. Januar 2018;98:28-32.
21. Piralla A, Furione M, Rovida F, Marchi A, Stronati M, Gerna G, u. a. Human parechovirus infections in patients admitted to hospital in Northern Italy, 2008-2010. *J Med Virol*. April 2012;84(4):686-90.
22. Sillanpää S, Oikarinen S, Sipilä M, Seppälä E, Nurminen N, Rautiainen M, u. a. Human parechovirus as a minor cause of acute otitis media in children. *J Clin Virol Off Publ Pan Am Soc Clin Virol*. Januar 2015;62:106-9.
23. Mizuta K, Yamakawa T, Nagasawa H, Itagaki T, Katsushima F, Katsushima Y, u. a. Epidemic myalgia associated with human parechovirus type 3 infection among adults occurs during an outbreak among children: findings from Yamagata, Japan, in 2011. *J Clin Virol Off Publ Pan Am Soc Clin Virol*. September