

Simplexa™ COVID-19 Direct

REF MOL4150
Rev. 01
(Italiano)



Saggio RT-PCR in tempo reale per il rilevamento qualitativo in vitro dell'RNA del virus Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2 (SARS-CoV-2) viral RNA

**Per esclusivo uso di ricerca
Non per uso diagnostico**

USO PREVISTO

Il saggio Simplexa™ COVID-19 Direct di DiaSorin Molecular e' un test di RT-PCR in tempo reale inteso per essere utilizzato in combinazione con lo strumento LIAISON® MDX per il rilevamento qualitativo in vitro dell'RNA del virus Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2 (SARS-CoV-2) in tamponi nasofaringei (NPS). Le caratteristiche prestazionali del prodotto non sono state determinate.

PRINCIPI DELLA PROCEDURA

Il saggio Simplexa™ COVID-19 Direct di DiaSorin Molecular e' un test di RT-PCR in tempo reale che consente l'amplificazione diretta dell'RNA del Coronavirus SARS-CoV-2 da campioni nasofaringei (NPS). Il sistema comprende: il saggio Simplexa™ COVID-19 Direct, lo strumento LIAISON® MDX (con il software LIAISON® MDX Studio), il disco Direct Amplification Disc e gli accessori associati.

Nel saggio Simplexa™ COVID-19 Direct, sonde fluorescenti vengono utilizzate congiuntamente a primers specifici per l'amplificazione del RNA virale di SARS-CoV-2 e del RNA del controllo interno. Il saggio è mirato a due regioni del genoma del virus SARS-CoV-2 corrispondenti alla regione ORF1ab e al gene S. Entrambi i target sono specifici per la rilevazione del virus SARS-CoV-2. Il gene S codifica per la glicoproteina "Spike" del virus SARS-CoV-2 ed e' il bersaglio per la rilevazione specifica della presenza del virus SARS-CoV-2, mentre la regione ORF1ab codifica per una proteina di struttura più conservata ed è conseguentemente meno suscettibile ai fenomeni di ricombinazione. L'uso dell'RNA di controllo interno permette di rilevare il mancato funzionamento e/o l'inibizione della RT-PCR

MATERIALI FORNITI

Il kit Simplexa™ COVID-19 Direct contiene reagenti sufficienti per 24 reazioni. Al ricevimento del materiale, conservare a temperature comprese tra -10 °C e -30 °C (non utilizzare un congelatore no-frost). Ogni flaconcino contiene materiale sufficiente per un singolo utilizzo. Utilizzare entro 30 minuti dalla rimozione dal congelatore.

DESCRIZIONE DEL KIT

Nome del Componente	REF	SIMBOLO SULL'ETICHETTA		Nome abbreviato	Colore del tappo	Numero di flaconcini	Reazioni per flaconcino/kit	Volume per flaconcino
Simplexa™ COVID-19 Direct Reaction Mix	MOL4151	REAG	C	Co19	Brown	24	1/24	50 µL

DESCRIZIONE DEI COMPONENTI

Nome del componente	Contenuto				
Simplexa™ COVID-19 Direct Reaction Mix (RM) (Miscela di Reazione)	DNA polimerasi, trascrittasi inversa, inibitore delle RNAsi, buffer e dNTPS, template RNA incapsulato, sonde fluorescenti e primer forward e reverse specifici per la rilevazione del RNA virale SARS-CoV-2 e del controllo interno (IC)				
	Bersaglio	Fluoroforo marcatore sonda	Eccitazione (nm)	Emissione (nm)	Gene Bersaglio
	Gene S	FAM	495	520	S gene
	ORF1ab	JOE	520	548	ORF1ab
	Controllo interno RNA (IC)	Q670	644	670	N/A
Scheda del codice a barre Simplexa™ COVID-19 Direct	Parametri specifici per il saggio e informazioni relative al lotto.				

MATERIALI FORNITI SEPARATAMENTE

- Kit Direct Amplification Disc ([REF](#) MOL1455)
 - Direct Amplification Discs per utilizzo su LIAISON® MDX

MATERIALI NECESSARI MA NON FORNITI

- LIAISON® MDX con software LIAISON® MDX Studio versione 1.1 o superiore
- Confezione del controllo positivo Simplexa™ COVID-19 Positive Control Pack ([REF](#) MOL4160).
- Pipetta a volume fisso da 50 µl (VWR Signature™ Fixed Volume Ergonomic High-Performance Pipettor Model VWR FE50 o equivalente)
- Puntali con filtro per pipette monouso, sterili e privi di nucleasi (si raccomanda l'uso di puntali Extra Long ≥ 91 mm per pipettare direttamente dalle provette di raccolta primarie dei tamponi nasofaringei).
- Congelatore (scongelo manuale) impostato tra -10 e -30 °C (per la conservazione, in condizioni di congelazione, dei componenti del kit e dei campioni)
- Frigorifero da 2 °C a 8 °C (per i campioni)
- Guanti monouso senza talco
- Vortex per il mixing dei reagenti
- Centrifuga per la raccolta del contenuto sul fondo della provetta

MATERIALI RACCOMANDATI

- Universal Transport Media (UTM) da utilizzare come controllo senza template (NTC, No Template Control).

MANIPOLAZIONE E STOCCAGGIO DEI REAGENTI

- Conservare i reagenti ad una temperatura compresa tra -10 e -30 °C (non usare un congelatore no-frost).
- Prima dell'uso, lasciare scongelare i reagenti a temperatura ambiente (tra 18 e 25 °C circa).
- Non utilizzare i kit o i reagenti dopo la data di scadenza.
- Dopo aver tolto dal congelatore la miscela di reazione, iniziare il test entro 30 minuti.
- Non agitare sul vortex la miscela di reazione.
- Non ricongelare la miscela di reazione.

AVVERTENZE E PRECAUZIONI

- Per esclusivo uso di ricerca. Non per uso in procedure diagnostiche.
- Per esclusivo uso di laboratorio.

3. Durante la manipolazione dei reagenti del kit e delle apparecchiature, indossare dispositivi di protezione individuale quali, in modo non limitativo, guanti e camice da laboratorio. Lavarsi bene le mani una volta terminato il test.
4. Non pipettare con la bocca.
5. Non fumare, bere, mangiare, manipolare lenti a contatto o truccarsi nelle aree in cui si stiano utilizzando i reagenti del kit e/o campioni.
6. Smaltire i reagenti del kit non utilizzati e i campioni in base alle normative locali, provinciali e nazionali.
7. Trattare tutti i campioni e tutti i dischi come materiali in grado di trasmettere agenti infettivi.
8. La contaminazione dei campioni o dei reagenti può determinare risultati errati. Utilizzare buone pratiche di laboratorio e controllare il flusso di lavoro.
9. Utilizzare unicamente il protocollo descritto nel presente foglio illustrativo. Ogni deviazione dal protocollo o l'uso di tempi o temperature diversi da quelli specificati possono comportare risultati errati.
10. L'allestimento del saggio deve essere eseguito a temperatura ambiente (in un intervallo compreso tra 18 e 25 °C).
11. Utilizzare pipette calibrate a volume fisso o equivalenti per trasferire il campione e la miscela di reazione.
12. Evitare di toccare il lato inferiore del foglio che entrerà in contatto con i pozzetti e con la superficie del disco.
13. Per prevenire potenziali risultati errati, verificare che il campione e i reagenti vengano dispensati nei corrispondenti pozzetti di destinazione.
14. Terminato il caricamento, applicare il foglio adesivo sul set di pozzetti per il campione (SAMPLE) e per la miscela di reazione (R) prima di procedere all'apertura del foglio adesivo corrispondente al set di pozzetti per il campione e la miscela di reazione adiacenti.
15. Avviare la sessione entro 30 minuti dal momento in cui si toglie la miscela di reazione dal congelatore.
16. Non tentare di rimuovere il foglio adesivo di copertura dai settori del disco già utilizzati e non tentare di riutilizzare i pozzetti per il campione e per la miscela di reazione utilizzati in analisi precedenti.
17. I dischi possono essere riutilizzati fino al completamento di tutti e 8 i pozzetti. Smaltire i dischi usati senza rimuovere il foglio di copertura in un contenitore per rifiuti a rischio biologico.
18. Dopo ogni utilizzo conservare il Direct Amplification Disc in posizione orizzontale con il foglio numerato rivolto verso l'alto.
19. Conservare i reagenti al riparo dalla luce.
20. La miscela di reazione contiene una percentuale di glicerolo > 1%. In caso di inalazione o contatto con la pelle, adottare le misure di primo soccorso.
21. Se la confezione o il contenuto del kit appaiono rotti o danneggiati, non utilizzarli e contattare DiaSorin Molecular. I recapiti si trovano nell'ultima pagina di questo documento.
22. La matrice spettrale ("spectral matrix") deve essere installata in ogni LIAISON® MDX e non deve essere modificata a meno che DiaSorin Molecular non fornisca un codice QR aggiornato per lo strumento. La matrice spettrale è specifica per ogni LIAISON® MDX. La matrice spettrale è stata fornita con lo strumento LIAISON® MDX sulla copertina del manuale dell'hardware di LIAISON® MDX. Se non si può scansionare o non si trova l'etichetta della matrice, contattare DiaSorin Molecular. I recapiti si trovano nell'ultima pagina di questo documento.
23. Se si modifica o se non si installa la matrice spettrale si possono ottenere risultati errati.

ISTRUZIONI PER L'USO

A. RACCOLTA E MANIPOLAZIONE DEI CAMPIONI

I tipi di campione accettabili comprendono i tamponi nasofaringei (NPS) in approssimativamente 3 ml di Universal Transport Media (UTM). Utilizzare solo tamponi con punta sintetica (ad es. dacron, nylon, o rayon) e asta in alluminio o plastica. Non utilizzare tamponi in alginate di calcio, poiché possono contenere sostanze che inibiscono il test PCR.

B. IMPOSTAZIONE DELLO STRUMENTO PER LA PCR IN TEMPO REALE



Fare riferimento al manuale per l'operatore di LIAISON® MDX per configurare il software LIAISON® MDX Studio e per aggiungere la definizione di un saggio, la sua impostazione e le sessioni analitiche su LIAISON® MDX.

C. CARICAMENTO DEL DISCO AD AMPLIFICAZIONE DIRETTA E AMPLIFICAZIONE PCR IN TEMPO REALE

NOTA: Non è necessario effettuare l'estrazione del campione prima della fase di amplificazione mediante PCR.

1. Selezionare i campioni da analizzare.
2. Scongellare i flaconcini di miscela di reazione a temperatura ambiente (in un intervallo compreso tra 18 e 25 °C circa). Scongellare un flaconcino di miscela di reazione per ogni campione o controllo da analizzare.
3. Effettuare la lettura del codice a barre del flaconcino di miscela di reazione Simplexa™ COVID-19 Direct e della card con codice a barre.
4. Effettuare la lettura del codice a barre del Direct Amplification Disc (DAD).
5. Effettuare la lettura o digitare il numero identificativo di ogni campione.

6. Staccare, il foglio adesivo, un pozzetto per volta, per esporre i pozzetti dei campioni (SAMPLE) e della miscela di reazione (R) senza rimuovere completamente il foglio di copertura adesivo (Figura 1 e 2). Evitare di toccare il lato inferiore del foglio che entrerà in contatto con i pozzetti e la superficie del disco.
7. Verificare che la miscela di reazione sia completamente scongelata. Centrifugare brevemente le provette se necessario. (Non agitare sul vortex la miscela di reazione)
8. Utilizzare la pipetta a volume fisso per trasferire 50 µl della miscela di reazione nel pozzetto Reazione (R).
9. Utilizzare la pipetta a volume fisso per trasferire 50 µl di campioni o controlli; pipettare il campione o il controllo nel pozzetto Campione (SAMPLE).
10. Coprire il settore sigillando i pozzetti con il foglio adesivo precedentemente staccato, premendo con fermezza in prossimità del bordo del settore. Se il foglio originale è lacerato, non caricare i pozzetti nel settore. Caricare un altro settore.
11. Rimuovere la linguetta della copertura del foglio lungo la perforazione.
12. Ripetere i passaggi da 6 a 11 per i(l) campione/i successivo/i.
13. Caricare il Direct Amplification Disc sigillato su LIAISON® MDX e avviare la sessione.

<p>Figura 1 – Disco con foglio sollevato, prima dell'uso, per scoprire i pozzetti della miscela di reazione [R] e del campione [SAMPLE] del settore N°3</p>	<p>Figura 2 – Pozzetti della miscela di reazione [R] e del campione [SAMPLE]</p>
	

NOTE (a scopo informativo – non è necessaria alcuna azione/interpretazione da parte dell'utilizzatore):

1. I kit DiaSorin Molecular possono contenere diversi numeri di versione delle definizioni del saggio. In presenza di un numero di versione, esso verrà aggiunto alla definizione del saggio, ad esempio "Sample IVD Assay.2". Se esistono più versioni, il software utilizza automaticamente la definizione del saggio associata al numero di lotto scansionato.

CONTROLLO DI QUALITÀ

Simplexa™ COVID-19 Positive Control Pack (MOL4160) può essere utilizzato come controllo esterno per il controllo qualità, per training o per la verifica delle prestazioni. Ogni laboratorio deve stabilire i propri intervalli per il controllo qualità e la frequenza di tali controlli, in base alle leggi e ai regolamenti locali applicabili e alle buone pratiche standard di laboratorio. Fare riferimento al foglio illustrativo del Simplexa™ COVID-19 Positive Control Pack (IFUC.EN.MOL4160.RUO) per le istruzioni relative all'esecuzione del controllo positivo.

Risultati attesi per il controllo di qualità'

Tipo di Controllo	ORF1ab target	S gene target	RNA Controllo Interno (RNA IC)
Simplexa™ COVID-19 Positive Control ¹	Rilevato	Rilevato	Not applicabile ²
Controllo senza template (NTC)	Non Rilevato	Non Rilevato	Valido

¹ I valori di Ct per il Positive Control sono tipicamente compresi tra 22 e 32.

² la rilevazione del controllo interno Simplexa™ RNA Internal Control (RNA IC) non è richiesta per avere un risultato valido quando le sequenze di SARS-CoV-2 sono rilevate.

INTERPRETAZIONE DEI RISULTATI

Al termine della sessione, il software interpreta e mostra automaticamente i risultati.

1. Per ogni ID d'accesso (ID del campione) inserito, il software presenta un risultato ["Detected" (Rilevato), "Not detected" (Non rilevato) o "Invalid" (Non valido), "EC500, EC505 o EC515"] per SARS-CoV-2 RNA.

Risultato	Interpretazione
Detected	Indica la presenza del SARS-CoV-2 RNA nel campione.
Not Detected	Indica l'assenza del SARS-CoV-2 RNA nel campione.
Invalid	Indica l'impossibilità di determinare in maniera conclusiva la presenza o l'assenza dell'RNA del virus SARS-CoV-2 nel campione. Questo risultato può essere dovuto a 1) mancato funzionamento del controllo interno (IC) oppure a 2) mancata rilevazione di un volume sufficiente del campione. Il campione deve essere analizzato nuovamente. Vedere il paragrafo successivo "Risultati non validi".
EC500	Errore di elaborazione dei dati a causa di rumore di fondo o amplificazione debole o tardiva del segnale. Ripetere l'analisi del campione. Se il problema persiste, contattare il servizio di assistenza tecnica.
EC505	Informazioni insufficienti per determinare la presenza o assenza di amplificazione. Se il problema persiste, contattare il servizio di assistenza tecnica.
EC515	L'amplificazione del controllo interno non rientra nelle specifiche. Il risultato non è valido, ripetere l'analisi del campione. Se il problema persiste, contattare il servizio di assistenza tecnica.

2. Se necessario, stampare il referto.

3. Se necessario, esportare i risultati.

RISULTATI NON VALIDI

In caso di risultato "Non valido", analizzare nuovamente il campione con un nuovo flaconcino di miscela di reazione proveniente dallo stesso kit o da un nuovo kit. Se non si riesce a risolvere il problema, contattare il reparto del servizio tecnico di DiaSorin Molecular. I recapiti si trovano nell'ultima pagina di questo documento.

AFFINITÀ DI LEGAME

L'amplificazione dei primer e probe usati in questo kit sono stati valutati in termini di affinità di legame attraverso analisi *in silico*.

Entrambi i set di primer e probe sono stati testate contro tutte le 175 sequenze del genoma del virus SARS-CoV-2 disponibili al 4 Marzo 2020. Le sequenze sono state mappate sulla sequenza di riferimento NC_045512.2 (genoma completo dell'isolato Wuhan-Hu-1 del virus della polmonite del mercato seafood di Wuhan) e i primer e probe sono state testate contro il consenso. L'analisi mostra che le regioni riconosciute dai primer e dalle sonde del kit hanno una omologia del 100% con tutte le sequenze disponibili di SARS-CoV-2.

NON AFFINITÀ DI LEGAME

La mancanza di affinità di legame è stata determinata *in silico* per altri sei coronavirus noti che possono infettare l'uomo causando malattie respiratorie: HCoV-229E, HCoV-OC43, HCoV-NL63, HKU1, SARS-CoV and MERS-CoV. Le seguenti sequenze Refseq sono state valutate:

- NC_002645.1 (Human coronavirus 229E, complete genome)
- NC_006213.1 (Human coronavirus OC43 strain ATCC VR-759, complete genome)
- NC_005831.2 (Human coronavirus NL63, complete genome)
- NC_006577.2 (Human coronavirus HKU1, complete genome)











- NC_004718.3 (SARS coronavirus, complete genome)
- NC_019843.3 (Middle East respiratory syndrome coronavirus, complete genome)

In aggiunta, i test di laboratorio ha indicato l'assenza di affinità di legame per influenza A, influenza B, Respiratory Syncytial virus, *Streptococcus pyogenes* (Group A Strep), Human Parainfluenza virus 1, Human Parainfluenza virus 3, Adenovirus, Enterovirus, SARS-CoV e *Haemophilus parainfluenzae*.

LIMITAZIONI

1. Per esclusivo uso di ricerca. Non per uso in procedure diagnostiche.
2. Per esclusivo uso di laboratorio.
3. Risultati falsi negativi possono verificarsi se il virus è presente a livelli inferiori alla sensibilità analitica del saggio o se il virus presenta mutazioni, inserzioni, delezioni o riarrangiamenti.
4. Come per altri test, risultati falsi positive possono verificarsi. In alcuni scenari, può essere indicato ripetere il test o eseguirlo con un dispositivo differente.
5. Questo è un test qualitativo e non fornisce informazioni sul valore quantitativo dei microrganismi rilevati presenti
6. Le informazioni contenute nel codice a barre del kit possono essere trasferite al software LIAISON® MDX Studio solo mediante un lettore di codice a barre. Se il lettore non funziona, o se, per qualsiasi altra ragione, non si riesce a trasferire le informazioni, contattare il servizio di assistenza tecnica di DiaSorin Molecular.
7. Media di trasporto non validati (e.g. eNAT) possono causare inibizione della reazione.

GLOSSARIO*

	Attenzione, consultare la documentazione allegata.		Telefono
	Consultare le istruzioni per l'uso		Fax
	Contenuto sufficiente per <n> test	REF	Numero di catalogo
	Limiti di temperatura	REV	Revisione
	Produttore	LOT	Codice del lotto
	Utilizzare entro	CONT	Contenuto del kit
	Non riutilizzare		
	Proteggere dalla luce solare		

*ISO 15223-1

REAG	C	Direct Reaction Mix
-------------	----------	---------------------

Il glossario dei simboli è disponibile in formato elettronico sul sito www.DiaSorin.com

L'uso delle sonde Scorpions® per la diagnostica in vitro nell'uomo è coperto da una licenza concessa da QIAGEN Manchester, Regno Unito, a DiaSorin Molecular LLC. Scorpions è un marchio registrato di QIAGEN Manchester, Regno Unito.

I coloranti Black Hole Quencher, CAL Fluor e Quasar sono a marchio Biosearch Technologies, Inc. I prodotti DiaSorin che incorporano la tecnologia con colorante Black Hole Quencher, CAL Fluor e Quasar sono concessi in licenza e venduti ai sensi dell'accordo con Biosearch Technologies, Inc., e tali prodotti sono venduti a solo scopo clinico, diagnostico o di ricerca e sviluppo.

RAPPRESENTANTE AUTORIZZATO

DiaSorin S.p.A. - Via Crescentino snc - 13040 Saluggia (VC) – Italia
Visitate il nostro sito web all'indirizzo www.DiaSorin.com

IFUK.ITA.MOL4150.RUO

Rev.01

Date written: 10 March 2020



DiaSorin Molecular LLC
11331 Valley View Street
Cypress, California 90630
U.S.A.

