

Allplex™

SARS-CoV-2 Assay

(N. cat. RV10248X)

Multiplex real-time one-step RT-PCR sistema per la rilevazione di SARS-CoV-2 dall'aspirato nasofaringeo, dal tampone nasofaringeo, dal lavaggio broncoalveolare, dal tampone orofaringeo (gola) e dall'espettorato.

Per l'uso con

- 1. Microlab NIMBUS IVD e Microlab STARlet IVD**
- 2. Seegene NIMBUS e Seegene STARlet**

Per l'uso con

- 1. CFX96™ Real-time PCR System (CFX Manager™ Software-IVD v1.6)**
- 2. CFX96™ Dx System (CFX Manager™ Dx Software v3.1)**
- 3. Applied Biosystems™ 7500 (SDS software v2.0.5)**



Solo per uso diagnostico *in vitro*



**Seegene Inc.,
Taewon Bldg., 91 Ogeum-ro, Songpa-gu, Seoul, Repubblica di Corea
05548**



**Medical Technology Promedt Consulting GmbH
Altenhofstrasse 80, D-66386 St. Ingbert, Germany**

Non disponibile in U.S.A.

INDICE

AVVISO -----	3
INDICAZIONI D'USO -----	4
PANORAMICA SUI PRINCIPI E LE PROCEDURE -----	5
INFORMAZIONI DI BACKGROUND -----	6
REAGENTI -----	7
CONSERVAZIONE E TRATTAMENTO -----	8
MATERIALI RICHIESTI MA NON FORNITI -----	8
PROTOCOLLO -----	9
IMPOSTAZIONE STRUMENTO REAL-TIME PCR E ANALISI DEI RISULTATI -----	16
CFX96™ Real-time PCR System (CFX Manager™ Software-IVD v1.6) -----	16
CFX96™ Dx System (CFX Manager™ Dx Software v3.1) -----	26
Applied Biosystems™ 7500 (SDS software v2.0.5)-----	36
RISULTATI -----	45
RISOLUZIONE DEI PROBLEMI -----	49
PRESTAZIONE -----	51
RIFERIMENTI -----	55
SIMBOLI -----	58
INFORMAZIONI PER GLI ORDINI -----	59

AVVISO

- Solo per uso diagnostico *in vitro*.
- L'Allplex™ SARS-CoV-2 Assay deve essere effettuato da personale qualificato.
- L'attendibilità dei risultati dipende dall'appropriata raccolta del campione, dalla conservazione, dal trasporto e dal processo di elaborazione.
- **Questo prodotto è indicato solo per l'uso con Microlab NIMBUS IVD, Microlab STARlet IVD, Seegene NIMBUS e Seegene STARlet in un massimo di 5 cicli separati.**
- **Questo test è stato accreditato per i seguenti tipi di campioni: aspirato nasofaringeo, tampone nasofaringeo, lavaggio broncoalveolare, tampone orofaringeo (gola) ed espettato.** Questo test non è stato accreditato per altri tipi di campioni.
- **Conservare i campioni di RNA a ≤ -20°C fino all'utilizzo e tenere nel ghiaccio durante l'uso.**
- La sensibilità dell'analisi può diminuire se i campioni vengono ripetutamente congelati/scongelati o conservati a lungo.
- Il flusso di lavoro in laboratorio deve procedere in maniera unidirezionale.
- Indossare guanti monouso e cambiarli prima di accedere ad aree diverse. Cambiare i guanti immediatamente se contaminati o trattarli con il reagente decontaminante DNA.
- Le forniture e le attrezzature devono essere dedicate alle aree di lavoro e non spostate da un'area all'altra.
- Non usare le pipette in bocca.
- Non mangiare, bere o fumare nelle aree di lavoro del laboratorio. Indossare guanti monouso senza talco, camici da laboratorio e occhiali di protezione durante il trattamento dei campioni e dei reagenti. Lavare le mani accuratamente dopo il trattamento dei campioni e dei reagenti.
- Evitare la contaminazione dei reagenti durante la rimozione di parti aliquote dalle provette dei reagenti. Si raccomanda l'uso di pipette sterilizzate monouso aerosol resistenti.
- Non mettere insieme reagenti di lotti diversi o di provette diverse dello stesso lotto.
- Non usare il prodotto dopo la data di scadenza.
- Non riutilizzare i prodotti monouso.
- Utilizzare provette con tappo a vite ed evitare ogni possibile fuoriuscita o contaminazione incrociata dei campioni durante la preparazione.
- Prestare attenzione a non contaminare i reagenti con gli acidi nucleici estratti, i prodotti PCR e il controllo positivo. Per impedire la contaminazione dei reagenti, si raccomanda l'uso di

filtri.

- Usare aree separate e isolate per ogni sperimentazione.
- Per impedire la contaminazione delle aree di lavoro con i prodotti amplificati, aprire le provette di reazione PCR o le strisce solo nelle aree di lavoro designate dopo l'amplificazione.
- Conservare i materiali positivi separati dai reagenti del kit.
- Le procedure di sicurezza di laboratorio (consultare la Documentazione di Biosicurezza nei Laboratori Microbiologici e Biomedici e CLSI) devono essere rispettate durante il trattamento dei campioni. Pulire e disinfeccare accuratamente tutte le superfici con ipoclorito di sodio al 0.5% (in acqua deionizzata o distillata). I componenti dei prodotti, compresi i residui di prodotto e gli imballaggi, possono essere considerati rifiuti di laboratorio. Smaltire i reagenti inutilizzati e i rifiuti secondo le leggi federali, statali e locali applicabili.
- La data di scadenza è di 8 mesi dalla data di produzione a ≤ -20°C. Si prega di leggere l'etichetta per la data di scadenza.
- La correlazione clinica con la storia del paziente e altre informazioni diagnostiche sono necessarie per determinare lo stato di infezione del paziente.
- Seegene NIMBUS e Seegene STARlet sono strumenti simili a Microlab NIMBUS IVD e Microlab STARlet IVD rispettivamente sebbene il produttore sia differente. Non essendoci modifiche hardware sul dispositivo, i risultati del test sono gli stessi.
- Il brand name “CFX96™ Real-time PCR Detection System-IVD” è cambiato in “CFX96™ Dx System”. Non essendoci modifiche nell'hardware dei sistemi, sono previsti gli stessi risultati per entrambi i sistemi.
- “CFX Manager™ Dx Software v3.1” è una versione aggiornata di “CFX Manager™ Software-IVD v1.6”. Il software aggiornato comprende delle migliorie al menu “Avvia”. Queste migliorie non hanno effetto sui risultati dell'analisi dei dati; pertanto, i risultati saranno gli stessi.
- Il kit è un test qualitativo *in vitro* per la rilevazione singola o multipla di 4 tipi di gene (E gene, RdRP gene, S gene e N gene).

INDICAZIONI D'USO

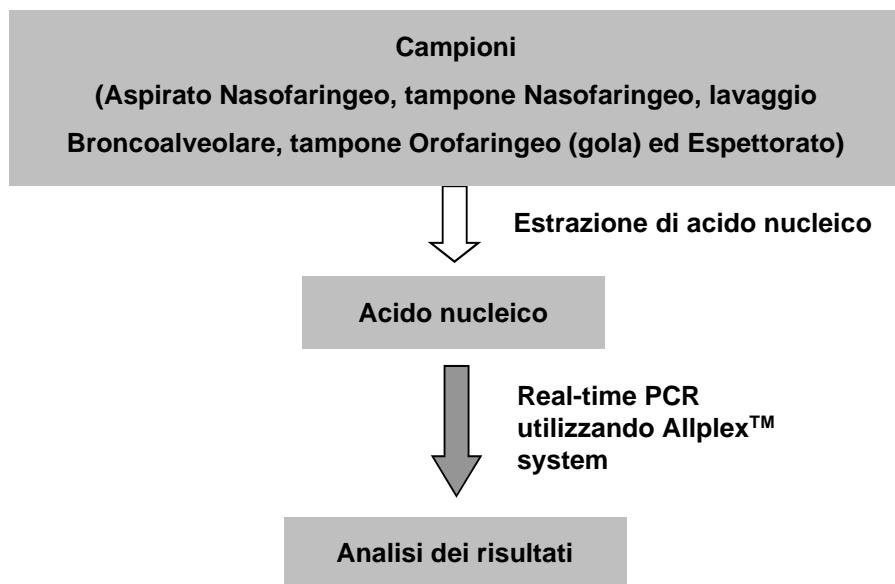
Allplex™ SARS-CoV-2 Assay è un dispositivo medico diagnostico *in vitro* studiato per la rilevazione qualitativa di SARS-CoV-2 con trascrittasi inversa in tempo reale della PCR dall'aspirato nasofaringeo dal tampone nasofaringeo, dal lavaggio broncoalveolare, dal tampone orofaringeo (gola) e dall'espettorato.

PANORAMICA SUI PRINCIPI E LE PROCEDURE**1. Principi**

Allplex™ SARS-CoV-2 Assay è un test multiplex in tempo reale della RT-PCR che consente l'amplificazione simultanea e la rilevazione degli acidi nucleici target di E gene, RdRP gene, S gene e N gene con Controllo Interno (IC). La presenza di specifiche sequenze di geni nella reazione è riportata come un valore Ct mediante il software di analisi Seegene Viewer.

Un gene esogeno viene usato come Controllo Interno (IC) per monitorare l'intero processo della raccolta dei campioni, dell'estrazione dell'acido nucleico e per verificare ogni eventuale inibizione della PCR.

Per evitare che il prodotto di amplificazione agisca come potenziale contaminante, il sistema Uracil-DNA glycosylase (UDG)-dUTP è impiegato in Allplex™ SARS-CoV-2 Assay. Il Sistema UDG-dUTP viene comunemente usato durante il PCR per eliminare il carry-over dell'amplicone utilizzando UDG per escindere i residui di uracil dal DNA rompendo il legame N-glicosidico.

2. Panoramica sulla procedura

< Allplex™ SARS-CoV-2 Assay panoramica della procedura >

INFORMAZIONI DI BACKGROUND**1. Sindrome respiratoria acuta severa coronavirus 2 (SARS-CoV-2)**

Sindrome respiratoria acuta severa coronavirus 2 (SARS-CoV-2), precedentemente nota con il nome provvisorio 2019 nuovo coronavirus (2019-nCoV), è la causa della malattia respiratoria coronavirus 2019 (COVID-19). Tassonomicamente, è una forma della sindrome respiratoria acuta severa collegata al coronavirus (SARS-CoV), un virus RNA a senso positivo a singolo filamento. È contagioso negli umani e l'Organizzazione Mondiale della sanità (WHO) ha stabilito l'attuale pandemia di COVID-19 un'Emergenza Pubblica Sanitaria di Interesse Internazionale.

Si ritiene che la SARS-CoV-2 abbia origini zoonotiche. Ha strette similarità genetiche con i coronavirus del pipistrello, il che suggerisce che si sia originato da un virus trasmesso dai pipistrelli. Si pensa che una fonte animale intermedia come il pangolino sia anch'essa coinvolta nella trasmissione agli umani. I ricercatori cinesi dapprima hanno isolato SARS-CoV-2 il 7 gennaio 2020 da pazienti a Wuhan, Cina che hanno avuto una polmonite di cause sconosciute a dicembre 2019.

REAGENTI

I reagenti contenuti in un kit sono sufficienti per 100 reazioni.

Informazioni Ordine (**REF** N. cat. RV10248X)

Allplex™ SARS-CoV-2 Assay			
Simbolo	Contenuti	Volume	Descrizione
PRIMER	SARS2 MOM	500 µL	Oligo Mix : - Amplificazione e reagente di rilevazione
PREMIX	EM8	500 µL	- RTase - DNA polimerasi - Uracil-DNA glicosilasi (UDG) - Tampone contenente dNTPs
CONTROL +	SARS2 PC	50 µL	Controllo Positivo (PC): - Mix di patogeni e cloni IC
CONTROL IC	RP-V IC 2	1,000 µL	Controllo Interno Esogeno (IC)
WATER	RNase-free Water	1,000 µL	Qualità ultrapura, PCR-grade
	Manuale d'uso		

CONSERVAZIONE E TRATTAMENTO

Tutti i componenti di Allplex™ SARS-CoV-2 Assay devono essere conservati a ≤ -20°C.

Tutti i componenti sono stabili sotto le condizioni di conservazione raccomandate fino a data di scadenza indicata sulla confezione. La performance dei componenti del kit non si altera fino a 5 congelamenti e scongelamenti. Se i reagenti sono usati solo in modo discontinuo, devono essere conservati in parti aliquote.

MATERIALI RICHIESTI MA NON FORNITI

- Guanti monouso senza talco (lattice o nitrile)
- Pipette (regolabili) e puntali pipette sterili
- Provette per microcentrifuga da 1,5 mL
- Sistema di Estrazione dell'Acido Nucleico (leggere Estrazione Acido Nucleico)
- Banco con cappa di aspirazione
- Macchina per ghiaccio
- Centrifuga da banco
- Vortex mixer
- CFX96™ Real-time PCR Detection system (Bio-Rad)
- CFX96™ Dx System (Bio-Rad)
- Applied Biosystems™ 7500 (Thermo Fisher Scientific)
- Strip di 8 provette da 0,2 mL a basso profilo senza tappo (colore bianco, N. cat. TLS0851, Bio-Rad)*
- Strip da 8 tappi piatti ottici (N. cat. TCS0803, Bio-Rad)*
- Hard-Shell® 96-Well PCR Plates, profilo basso, spessore sottile, con bordo, bianco/bianco (N. cat. HSP9655, Bio-Rad)*
- Hard-Shell® 96-Well PCR Plates, profilo basso, spessore sottile, con bordo, bianco/bianco, con codice a barre (N. cat. HSP9955, Bio-Rad)*
- Termosigillante trasparente (N. cat. 1814035, Bio-Rad) *§
- Sigillante piastra PX1 PCR (auto-sigillante, N. cat. 181-4000, Bio-Rad) *§
- EU Strip da 8 provette da 0.1ml, LP, W, Extra Robust (Cat. No. B70679, BIOPlastics)*
- EU Strip da 8 tappi ad ampia area ottica (Cat. No. B57801, BIOPlastics)*
- Piastra da 96 x 0.1ml, LP, W, FULL, piastra da 96 pozetti (Cat. No. 157300, BIOPlastics)*
- MicroAmp® Optical 96-Well Reaction Plate (N. cat. N8010560, ThermoFisher Scientific)**
- MicroAmp™ Optical 96-Well Reaction Plate con codice a barre (N. cat. 4306737, Thermo Fisher Scientific)**
- Optical Adhesive Covers (N. cat. 4360954, Thermo Fisher Scientific)**
- MicroAmp™ Optical 8-Tube Strip, 0,2 mL (N. cat. 4316567, Thermo Fisher Scientific)**
- MicroAmp™ Optical 8-Cap Strips (N. cat. 4323032, Thermo Fisher Scientific)**

* Prodotti per CFX96™Real-time PCR Detection e CFX96™ Dx System

** Prodotti per Applied Biosystems™ 7500

§ Assicurarsi di usare insieme il termosigillante e il sigillo della piastra elencati sopra.

PROTOCOLLO

1. Raccolta, Conservazione e Trasporto dei campioni

Nota: Tutti i campioni devono essere trattati come materiali potenzialmente infettivi. Sono permessi solo quei materiali dei campioni, che sono raccolti, trasportati e conservati rispettando strettamente le seguenti regole e istruzioni.

Nota: Per garantire l'alta qualità dei campioni, questi devono essere trasportati il più velocemente possibile alla temperatura indicata.

A. Raccolta campioni

Aspirato nasofaringeo, tampone nasofaringeo, lavaggio broncoalveolare, tampone o orofaringeo (gola)

- I campioni di aspirato nasofaringeo, tampone nasofaringeo, lavaggio broncoalveolare, tampone orofaringeo (gola) sono esaminati abitualmente per i patogeni respiratori comuni.
- Può risultare difficile prelevare i campioni respiratori in alcuni pazienti. In questi casi, i tamponi nasofaringei possono essere raccolti semplicemente ed efficacemente con i nuovi tamponi in nylon floccato (COPAN, Italia) e Universal Transport Medium (UTM).

Espettorato

- Fornire istruzioni chiare ai pazienti quando si raccolgono i campioni di espettorato. I pazienti devono sia raccogliere i campioni all'aria aperta, sia lontano da altre persone. I pazienti non devono raccogliere i campioni in spazi chiusi come le toilettes.
- Sciacquare la bocca con acqua prima di raccogliere l'espettorato. Il paziente non deve tossire fortemente ed espellere l'espettorato direttamente nel contenitore.
- Un campione di espettorato deve avere un volume di 3~5 mL.

Produttore	Dispositivo per la raccolta del campione	N. cat.
COPAN	ESwab	482CE
COPAN	ENAT PM 2ML PERNASAL APPLICATOR (APPLICATORE ENAT PM 2 ML PERNASAL)**	606CS01P*
COPAN	UTM with Flocked Swabs (UTM con Tamponi Floccati)	360C / 305C
DIAGNOSTICS HYBRIDS	UTM with Flexible Minitip Flocked Swab (UTM con Tampone Floccato Flessibile con Minipunta)	403C / 406C

COPAN	MSwab® kit (Kit MSwab®)	6E012N / 6E013N
COPAN	MSwab® bulk (Confezione sfusa MSwab®)	6E011N
Noble Biosciences	CTM (Clinical Virus Transport Medium)	UTNFS-3B-2-N1P / UTNFS-3B-2
SG Medical	GeneTM Set (GTS2)**	T5001
SG Medical	GeneTM Set (GTS1)**	T5002

*Utilizzare i numeri di catalogo indicati sopra per acquistare prodotti da Seegene INC.

**ENAT PM 2ML PERNASAL APPLICATOR, Gene TM Set (GTS2) e Gene TM Set (GTS1) non sono applicabili all'estrazione grezza

B. Conservazione e trasporto dei Campioni

Campioni	Conservazione e trasporto		Note
	Temp.	Durata*	
Aspirato nasofaringeo	2~8°C	3 giorni	<ul style="list-style-type: none"> - Le prestazioni possono essere condizionata da una conservazione prolungata dei campioni. - Anche i campioni devono rispettare le istruzioni locali e nazionali per il trasporto dei materiali patogeni
Tampone nasofaringeo			
Lavaggio broncoalveolare			
Tampone orofaringeo (gola)			
Espettorato			

* Durata: Il periodo di tempo tra la raccolta dei campioni e il test finale (comprende il trasporto e la conservazione dei campioni prima del test).

2. Estrazione dell'acido nucleico

[Metodi di estrazione in campioni diversi]

Nota: Si prega di usare il Sistema di estrazione automatica secondo il campione mostrato nella tabella seguente.

Sistema automatico di estrazione							
Campioni	Microlab		Seegene				Estrazione grezza**
	NIMBUS IVD / STARlet IVD		NIMBUS / STARlet		KingFisher	MagNA	
	Universal	Viral DNA/RNA	Universal	Viral DNA/RNA	Flex*	Pure 96*	
	Cartridge Kit	200 C Kit **	Cartridge Kit	200 C Kit **			
Aspirato nasofaringeo	O	X	O	X	O	O	X
Tampone nasofaringeo	O	O	O	O	O	O	O
Lavaggio broncoalveolare	O	X	O	X	X	X	X
Tampone orofaringeo (gola)	O	O	O	O	O	O	O
Espettorato	O	X	O	X	O	O	X

* Il lavaggio broncoalveolare non è stato validato con KingFisher Flex e MagNA Pure 96.

** L'aspirato nasofaringeo, il lavaggio broncoalveolare e l'espettorato non sono stati validati con STARMag 96 x 4 Viral DNA/RNA 200 C Kit e estrazione grezza.

*** I campioni raccolti utilizzando tamponi ENAT PM 2ML PERNASAL APPLICATOR, GeneTM Set (GTS2) and GeneTM Set (GTS1) non sono stati validati con estrazione grezza.

2-1. Estrazione Standard

A. Pretrattamento dei campioni

Espettorato

- Aggiungere 2 volumi di 1X PBS o soluzione salina al campione da 1 volume nella provetta conica da 15 mL e centrifugare bene per dissolvere il campione.
- Trasferire il volume consigliato (vedere Vol. consigliato di 2-C) di campione a una nuova provetta.
- Seguire il protocollo del kit di estrazione.

Nota: In caso di campioni senza viscosità, il pretrattamento NON è necessario.

B. Controllo Interno

Nota: L'IC, incluso nel kit, consente non solo di verificare la procedura di estrazione dell'acido nucleico, ma anche di identificare eventuali inibizioni della PCR.

- Il tubo del controllo interno RP-V IC 2 deve essere caricato su Microlab NIMBUS IVD, Microlab STARlet IVD, Seegene NIMBUS o Seegene STARlet prima dell'estrazione dell'acido nucleico.
- Quando si usa KingFisher Flex o MagNA Pure 96, 10 µL di RP-V IC 2 devono essere aggiunti a ogni campione prima dell'Estrazione dell'Acido Nucleico.

C. Sistema di estrazione automatico di acido nucleico

Nota: Usare i volumi raccomandati di campione e di eluizione come indicato sotto. Per altre informazioni, consultare il manuale del produttore.

C-1. Microlab NIMBUS IVD

Nota: Leggere il manuale operativo di **Microlab NIMBUS IVD**.

Sistema automatico di estrazione	Produttore	N. cat.	Vol. raccomandato
Microlab NIMBUS IVD	Hamilton	65415-02*	-
STARMag 96 X 4 Universal Cartridge Kit	Seegene	744300.4. UC384	Campione: 300 µL Eluizione: 100 µL



Allplex™ SARS-CoV-2 Assay

STARMag 96 X 4 Viral DNA/RNA 200 C Kit**	Seegene	EX00013C	Campione: 300 µL Eluizione: 100 µL
---	---------	----------	---------------------------------------

*Usare i numeri di catalogo indicati sopra per acquistare i prodotti di Seegene Inc.

** Aspirato nasofaringeo, lavaggio broncoalveolare e espettorato non sono stati validati

C-2. Microlab STARlet IVD

Nota: Leggere il manuale operativo **Microlab STARlet IVD**.

Sistema automatico di estrazione	Produttore	N. cat.	Vol. raccomandato
Microlab STARlet IVD	Hamilton	173000-075*	-
STARMag 96 X 4 Universal Cartridge Kit	Seegene	744300.4. UC384	Campione: 300 µL Eluizione: 100 µL
STARMag 96 X 4 Viral DNA/RNA 200 C Kit**	Seegene	EX00013C	Campione: 300 µL Eluizione: 100 µL

*Usare i numeri di catalogo indicati sopra per acquistare i prodotti di Seegene Inc.

** Aspirato nasofaringeo, lavaggio broncoalveolare e espettorato non sono stati validati

C-3. Seegene NIMBUS

Nota: Leggere il manual operativo **Seegene NIMBUS**.

Sistema automatico di estrazione	Produttore	N. cat.	Vol. raccomandato
Seegene NIMBUS	Seegene	65415-03	-
STARMag 96 X 4 Universal Cartridge Kit	Seegene	744300.4. UC384	Campione: 300 µL Eluizione: 100 µL
STARMag 96 X 4 Viral DNA/RNA 200 C Kit*	Seegene	EX00013C	Campione: 300 µL Eluizione: 100 µL

*Usare i numeri di catalogo indicati sopra per acquistare i prodotti di Seegene Inc.

C-4. Seegene STARlet

Nota: Leggere il manuale operativo **Seegene STARlet**.

Sistema automatico di estrazione	Produttore	N. cat.	Vol. raccomandato
Seegene STARlet	Seegene	67930-03	-
STARMag 96 X 4 Universal Cartridge Kit	Seegene	744300.4. UC384	Campione: 300 µL Eluizione: 100 µL
STARMag 96 X 4 Viral DNA/RNA 200 C Kit*	Seegene	EX00013C	Campione: 300 µL Eluizione: 100 µL

*Usare i numeri di catalogo indicati sopra per acquistare i prodotti di Seegene Inc.

C-5. KingFisher™ Flex Purification System, KingFisher with 96 Deep-well Head

Nota: Consultare il manuale operativo di **KingFisher Flex** .

Sistema automatico di estrazione	Produttore	N. Cat.	Vol. raccomandato
KingFisher™ Flex Purification System, KingFisher with 96 Deep-well Head	Thermo Fisher Scientific	5400630	-
MagMAX™ Viral/Pathogen Nucleic Acid Isolation Kit	Thermo Fisher Scientific	A42352	Campione: 200 µL Eluizione: 80 µL

C-6. MagNA Pure 96

Nota: Consultare il manuale operativo di **MagNA Pure 96** .

Sistema automatico di estrazione	Produttore	N. Cat.	Vol. raccomandato
MagNA Pure 96	Roche Diagnostics	06541089001	-
MagNA Pure 96 DNA and Viral NA Small Volume Kit	Roche Diagnostics	06543588001	Campione: 200 µL Eluizione: 100 µL

2-2. Estrazione Grezza (Crude Extraction)

Nota: RP-V IC 2 deve essere aggiunto alla Mastermix durante la preparazione della PCR.

Vedere *Preparazione della Real-time One-step RT-PCR* (pagina 16) per maggiori informazioni.

- 1) Aliquotare 45µL di acqua Nuclease-free nelle provette da PCR
- 2) Aggiungere 15µL di ciascun campione nelle provette contenenti l'aliquota di acqua Nuclease-free
- 3) Chiudere il tappo, vortexare velocemente e centrifugare brevemente
- 4) Incubare a 98°C per 3 min*
- 5) Raffreddare a 4°C per 5 min*

*Nota: si consiglia di eseguire i passaggi 4) ~5) sullo strumento di PCR con tappi singoli su ogni provetta.

Nota: Se è necessario ripetere il test, iniziare con il campione originale e non con il lisato.

3. Preparazione per Real-time One-step RT-PCR

Nota: Devono essere utilizzate provette e tappi corretti (consultare MATERIALI RICHIESTI MA NON FORNITI).

Nota: Filtri aerosol resistenti e guanti aderenti devono essere usati quando si preparano le reazioni di One-step RT-PCR. Prestare estrema attenzione alla prevenzione della contaminazione crociata.

Nota: Scongelare completamente i reagenti.

Nota: Centrifugare brevemente le provette dei reagenti per raccogliere le gocce residue all'interno del tappo.

Nota: Le fasi A-D sono automaticamente elaborate su **Microlab NIMBUS IVD, Microlab STARlet IVD, Seegene NIMBUS e Seegene STARlet**. Consultare ogni manuale operativo.

A. Preparare il Mastermix di reazione

A-1 Estrazione Standard

5 µL	SARS2 MOM
5 µL	EM8
5 µL	Acqua RNase-free
15 µL	Volume Totale Mastermix

A-2 Estrazione Grezza (Crude Extraction)

5 µL	SARS2 MOM
5 µL	EM8
4 µL	Acqua RNase-free
1 µL	RP-V IC 2
15 µL	Volume Totale Mastermix

Nota: Calcolare il totale di ogni reagente necessario in base al numero di reazioni, compresi i campioni e i controlli.

B. Miscelare rapidamente con il vortex e centrifugare brevemente.

C. Aliquotare 15 µL di Miscela di Reazione nelle provette PCR.

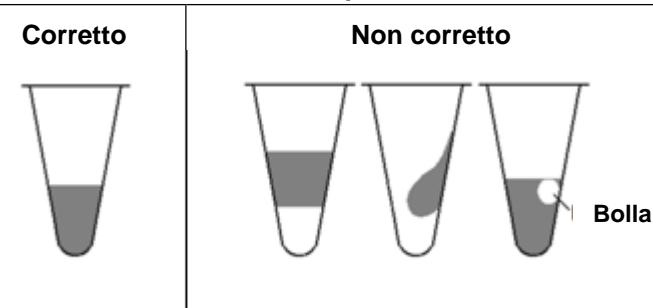
D. Aggiungere 5 µL degli acidi nucleici di ogni campione nella provetta contenente la Miscela di Reazione.

15 µL	Mastermix di reazione
5 µL	Acido nucleico del campione
20 µL	Volume totale di reazione

E. Chiudere e centrifugare brevemente le provette PCR.

F. Verificare che il liquido contenente tutti i componenti PCR sia sul fondo di ogni provetta PCR. In caso contrario, centrifugare di nuovo a rpm maggiori e più a lungo.

Nota: Si raccomanda di centrifugare le provette PCR prima di eliminare le bolle d'aria e raccogliere tutti i liquidi residui sul fondo delle provette.



Nota: Usare un nuovo puntale di pipetta sterile per ogni campione.

Nota: Per **Negativo (NC)** il **Cont**, usare 5 µL di “**RNase-free Water**” invece dell’acido nucleico del campione.

Nota: Per **Positivo (PC)** il **Cont**, usare 5 µL di “**SARS2 PC**” invece dell’acido nucleico del campione.

Nota: Fare attenzione alla contaminazione crociata del Mastermix di reazione e dei campioni con il Controllo Positivo.

Nota: Non etichettare la provetta di reazione sul tappo. La fluorescenza è rilevata dalla sommità di ogni provetta di reazione.

IMPOSTAZIONE STRUMENTO REAL-TIME PCR E ANALISI DEI RISULTATI**1. CFX96™ Real-time PCR Detection System (CFX Manager™ Software-IVD v1.6)****1.1. Impostazione strumento Real-time PCR**

Nota: L'impostazione della sperimentazione CFX96™ Real-time PCR Detection System (Bio-Rad) può essere divisa in tre fasi: Impostazioni del protocollo, Impostazioni della piastra e Inizio del ciclo.

A. Protocol Setup (Impostazioni del protocollo)

- 1) Nel menu principale, selezionare “File” → “New (Nuovo)” → “Protocol (Protocollo)” per aprire “Protocol Editor (Editor Protocollo)”.

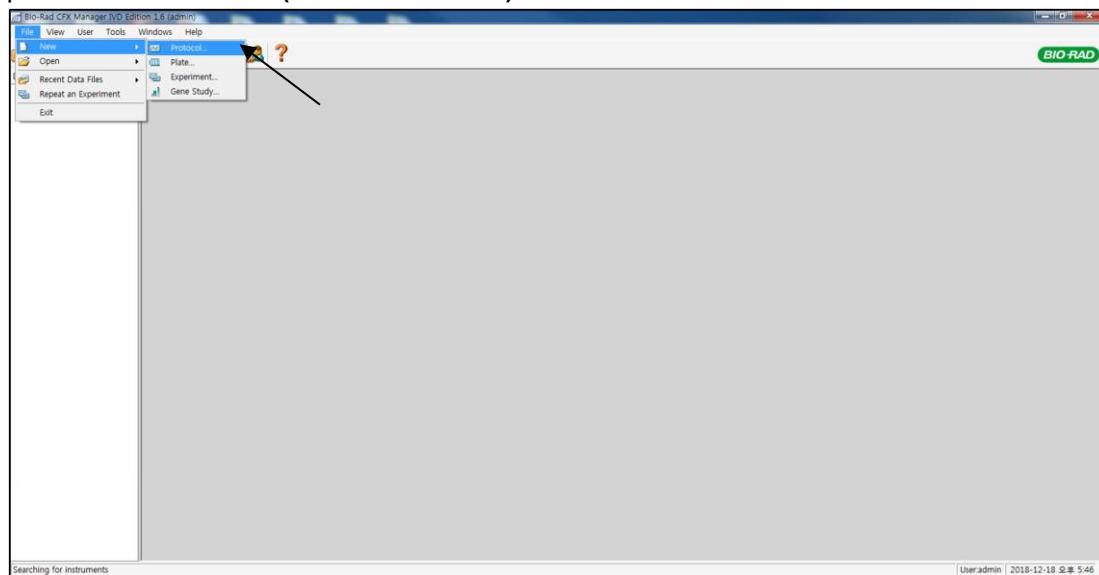


Fig. 1. Protocol Setup (Configurazione del Protocollo)

2) In “Protocol Editor(Editor Protocollo)”, definire il profilo termico come segue:

Fase	N. di cicli	Temperatura	Durata
1	1	50°C	20 min
2		95°C	15 min
3		95°C	10 sec
4*	45	60°C	15 sec
5*		72°C	10 sec
6		GOTO Step 3, 44 volte in più	

Note*: Fase Lettura Piastra. La fluorescenza è rilevata a 60°C e 72°C.

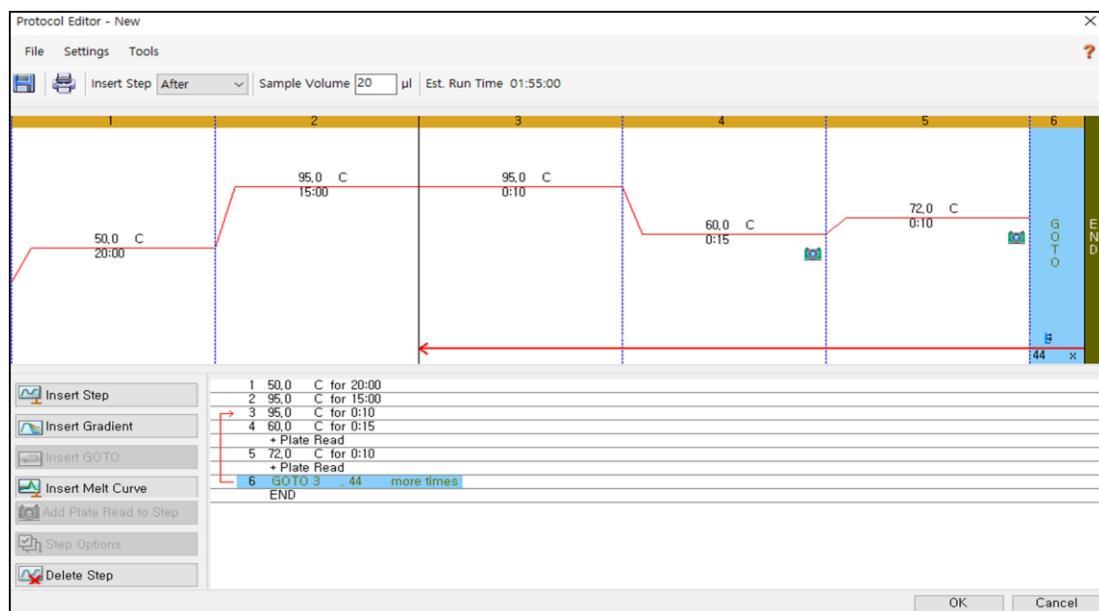


Fig. 2. Protocol Editor (Editor Protocollo)

3) Cliccare la casella vicino a “Sample Volume (Volume Campione)” per inserire direttamente 20 µL.

- 4) Fare clic su “OK” e salvare il protocollo per aprire la finestra “**Experiment Setup (Impostazioni di sperimentazione)**”.

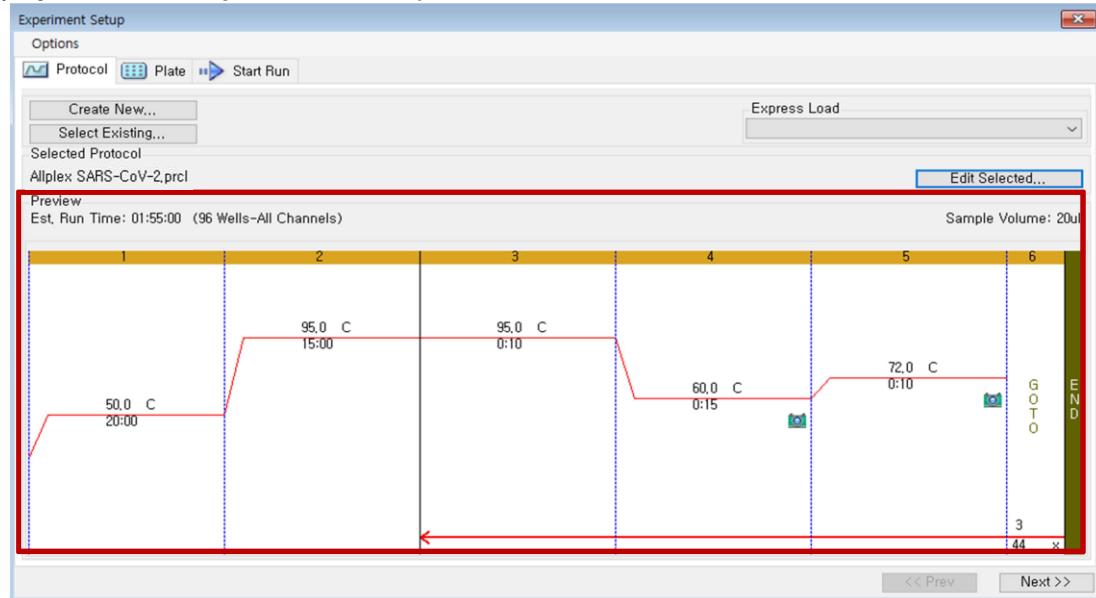


Fig. 3. **Experiment Setup (Impostazioni di sperimentazione): Protocol (Protocollo)**

B. Impostazioni della Piastra

- 1) Dalla scheda “**Plate (Piastra)**” digitare “**Experiment Setup (Impostazioni di sperimentazione)**”, fare clic su “**Create New (Crea Nuovo)**” per aprire la finestra “**Plate Editor (Editor Piastra)**”.

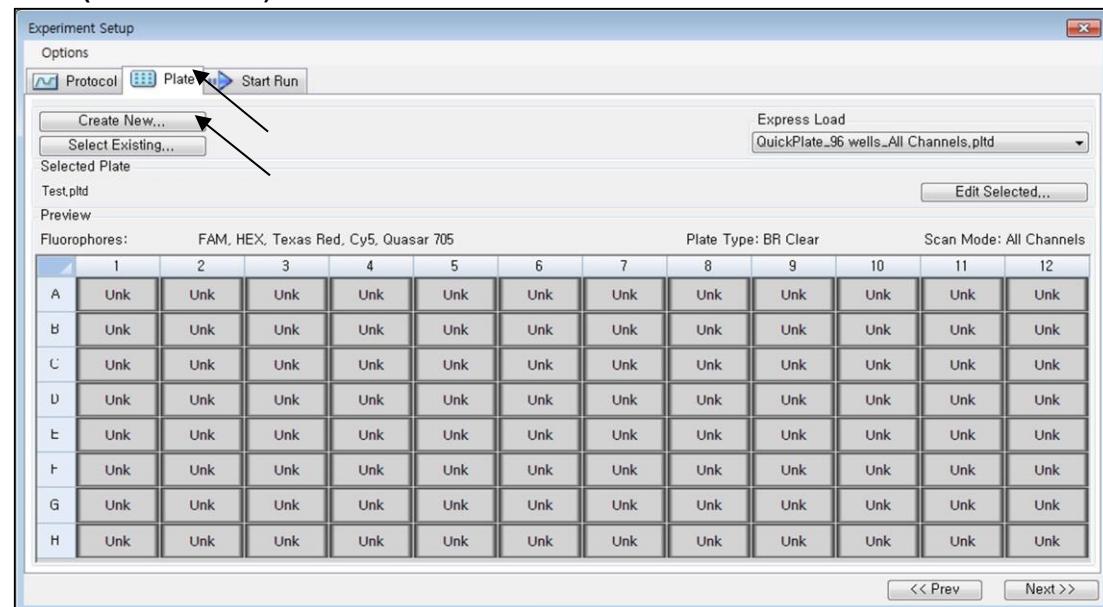


Fig. 4. **Plate Editor (Editor Piastra)**

- 2) Cliccare “**Select Fluorophores (Selezione Fluorocromi)**” per indicare i fluorocromi (**FAM**, **HEX**, **Cal Red 610**, **Quasar 670**) che saranno utilizzati e cliccare “**OK**”.

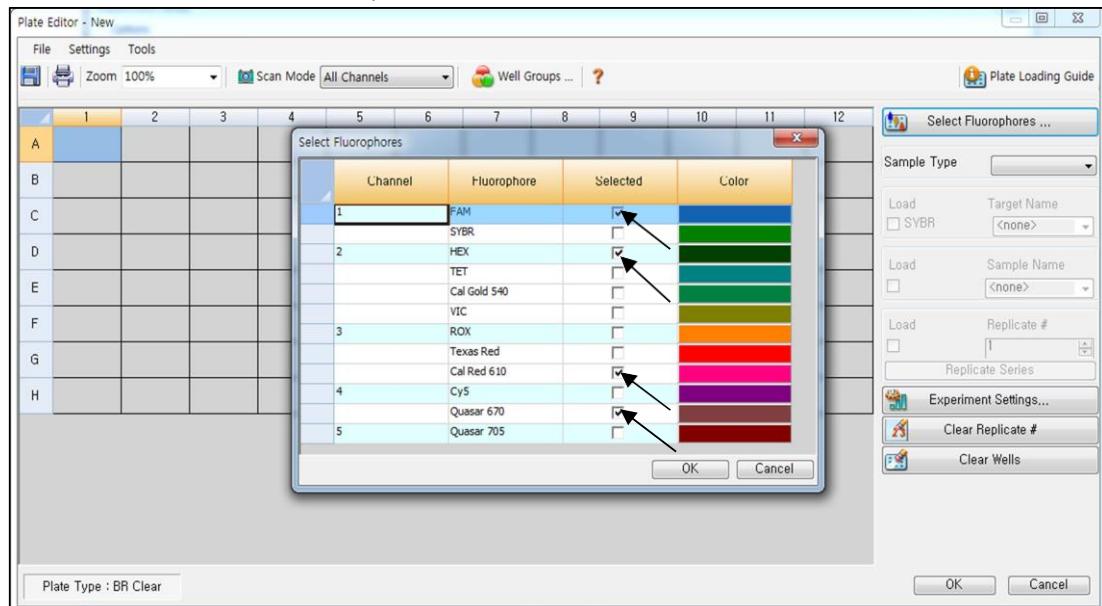


Fig. 5. **Select Fluorophores (Selezionare i fluorocromi) (FAM, HEX, Cal Red 610, e Quasar 670)**

- 3) Selezionare i pozzetti in cui le provette PCR saranno inserite e selezionare i relativi tipi di campione dal menu a tendina “**Sample Type (Tipo Campione)**”.

- **Sconosciuto:** Campioni clinici
- **Controllo Negativo**
- **Controllo Positivo**

- 4) Cliccare sulla casella appropriata (**FAM, HEX, Cal Red 610, e Quasar 670**) per specificare i fluorocromi da identificare nei pozzetti selezionati.

- 5) Digitare “**Sample Name (Nome Campione)**” e premere Invio.

- 6) In “Settings (Impostazioni)” del menu principale “Plate Editor (Editor Piastra)”, scegliere “Plate Size” (96 wells) (Grandezza Piastra (96 pozzetti)) e “Plate Type” (BR White (Tipo Piastra (Bianco BR))).

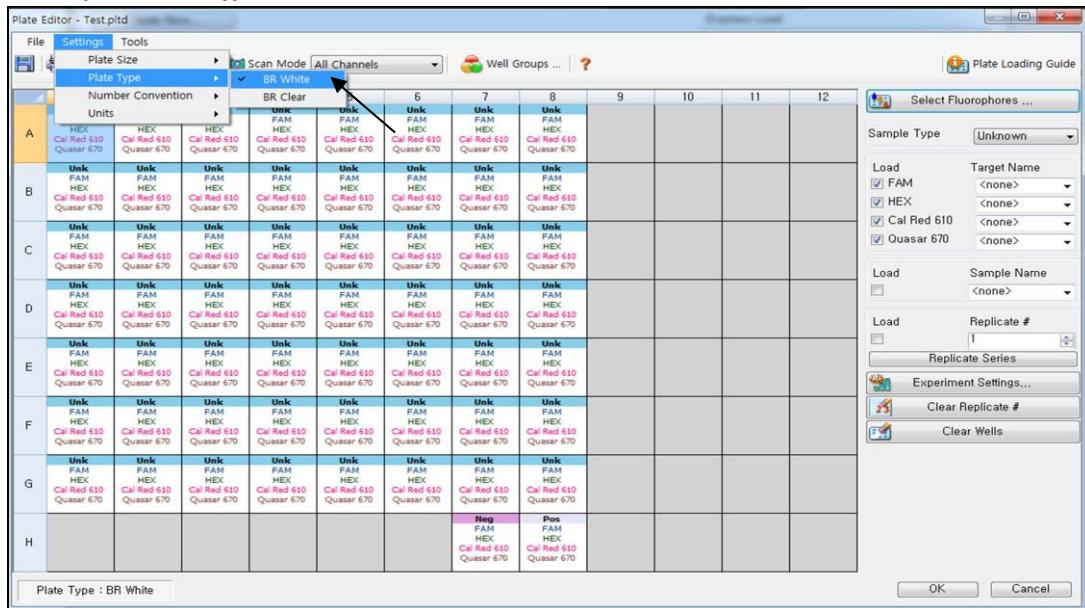


Fig. 6. Plate Setup (Impostazioni della Piastra)

- 7) Fare clic su “OK” per salvare la nuova piastra.

- 8) Sarete reindirizzati alla finestra “Experiment Setup (Impostazioni di Sperimentazione)”.

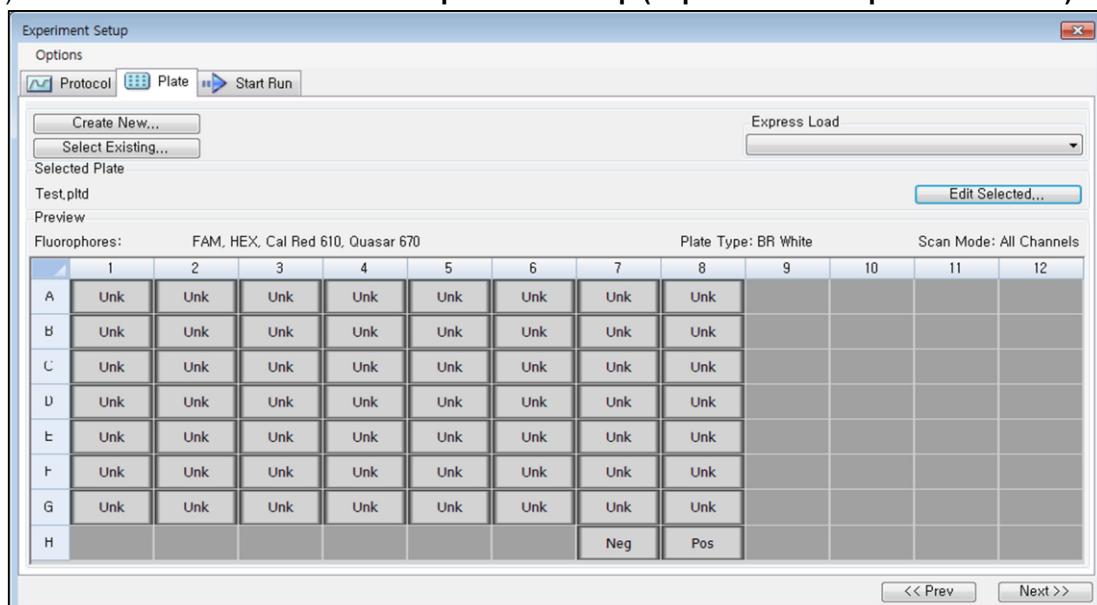


Fig. 7. Experiment Setup (Impostazioni di sperimentazione): Plate (Piastra)

- 9) Fare clic su “Next (Successivo)” per iniziare il ciclo.

C. Start Run (Inizio del ciclo)

- 1) Dalla scheda “Start Run (Inizio del ciclo)” in “Experiment Setup (Impostazioni di sperimentazione)”, fare clic su “Close Lid (Chiudere il coperchio)” per chiudere il coperchio dello strumento.

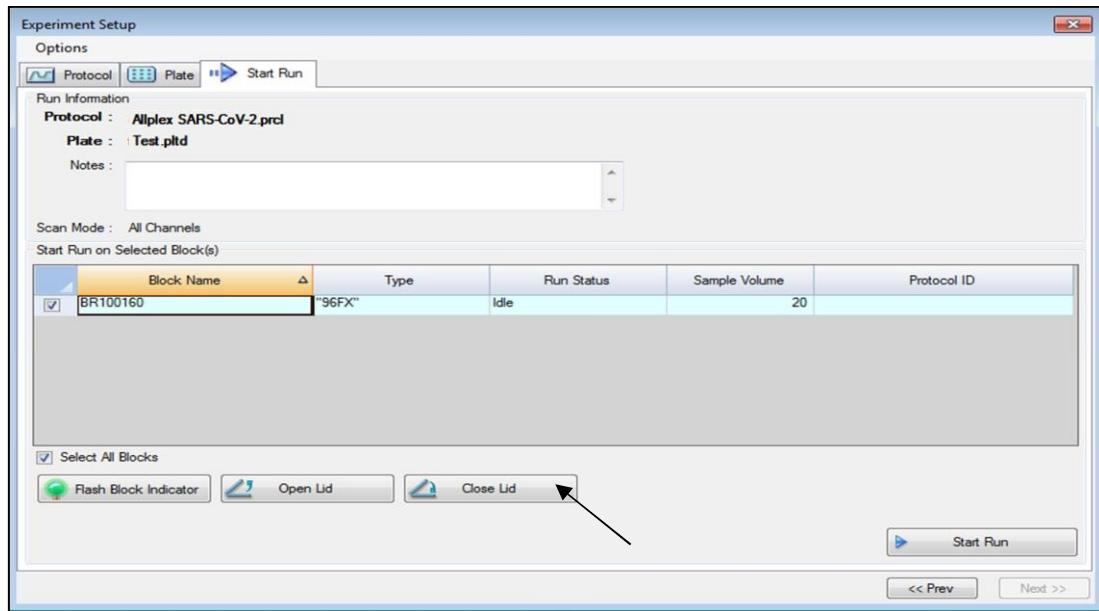


Fig. 8. “Close Lid (Chiudere il coperchio)”

- 2) Fare clic su “Start Run (Inizio del ciclo)”.
- 3) Conservare il file del ciclo sia in My Documents (I miei documenti) che in una cartella designata. Inserire il nome file, cliccare **SAVE (SALVA)** e il ciclo comincerà.

1.2. Analisi Dati

A. Creare cartelle per l'esportazione dei dati

- 1) Per salvare i dati di tutte le fasi di rilevazione delle curve di amplificazione dal file dei risultati, creare una cartella.
- 2) Il nome della cartella può essere scelto dall'utente (Per la funzione ‘Seegene Export’, le cartelle “QuantStep4” e “QuantStep5” vengono automaticamente create per salvare tutti i dati della curva di amplificazione sotto la cartella creata dall'utente).

B. Predisposizione delle impostazioni per l'Analisi dei dati in CFX96™

- 1) Dopo il test, fare clic su “**Quantitation (Quantitazione)**” per leggere i risultati della curva di amplificazione.

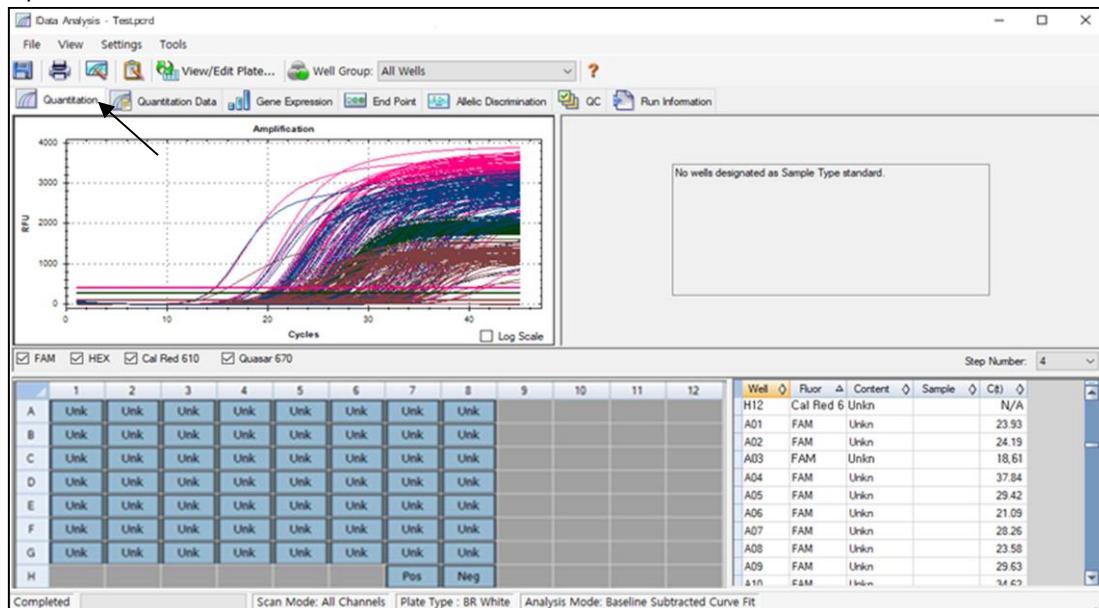


Fig. 9. Risultati della curva di Amplificazione

- 2) Selezionare “**No Baseline Subtraction (Nessuna sottrazione della baseline)**” dalla Modalità Analisi del menu **Settings (Impostazioni)**.

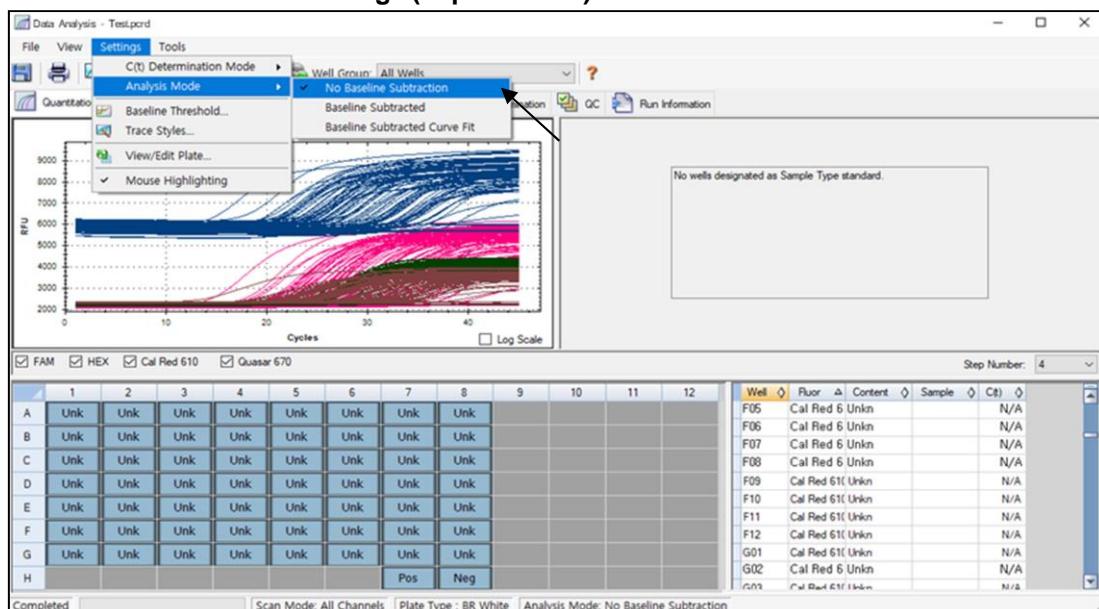


Fig. 10. No Baseline Subtraction (Nessuna sottrazione della baseline)

3) Selezionare “Seegene Export (Esportare Seegene)” dal menu Tools (Strumenti) .

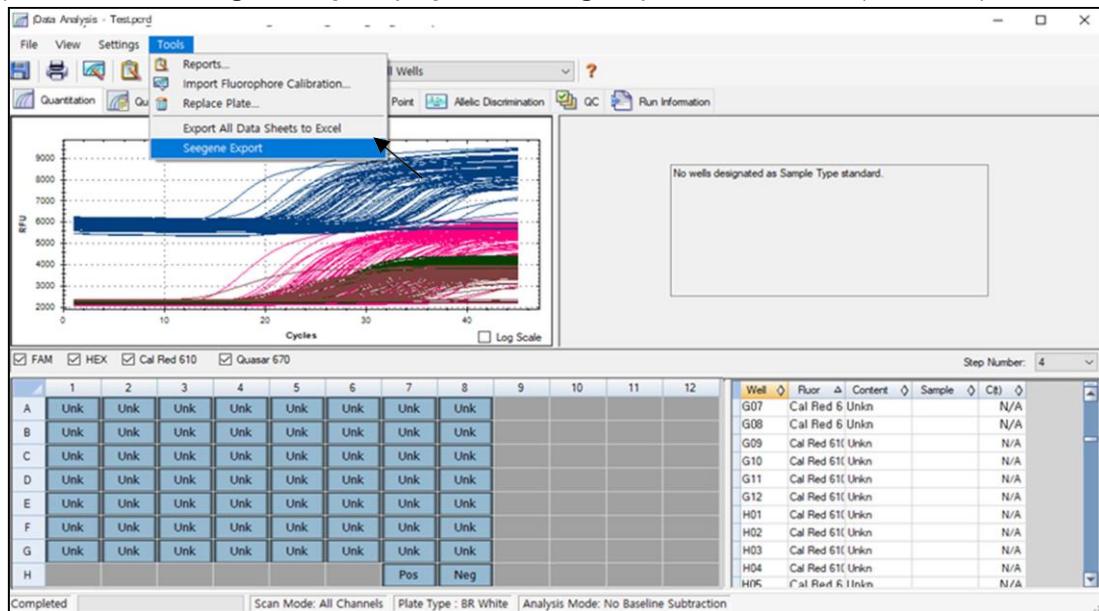


Fig. 11. Seegene Export (Esportare Seegene)

4) Scegliere una destinazione per salvare i dati e fare clic su “OK”.

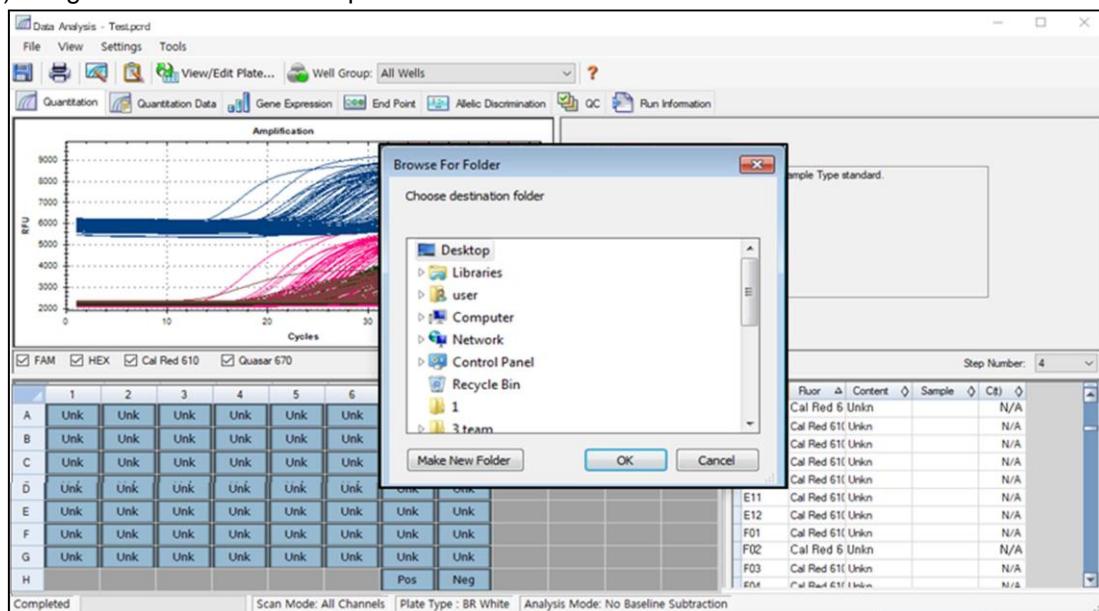


Fig. 12. Seegene Export (Esportare Seegene) in una cartella designata

C. Impostazioni per l'Analisi dei dati in Seegene Viewer

- 1) Aprire il programma Seegene Viewer e fare clic su “**Option (Opzioni)**” per selezionare **CFX96 or CFX96 Dx** in “Instrument. (Strumento)”.

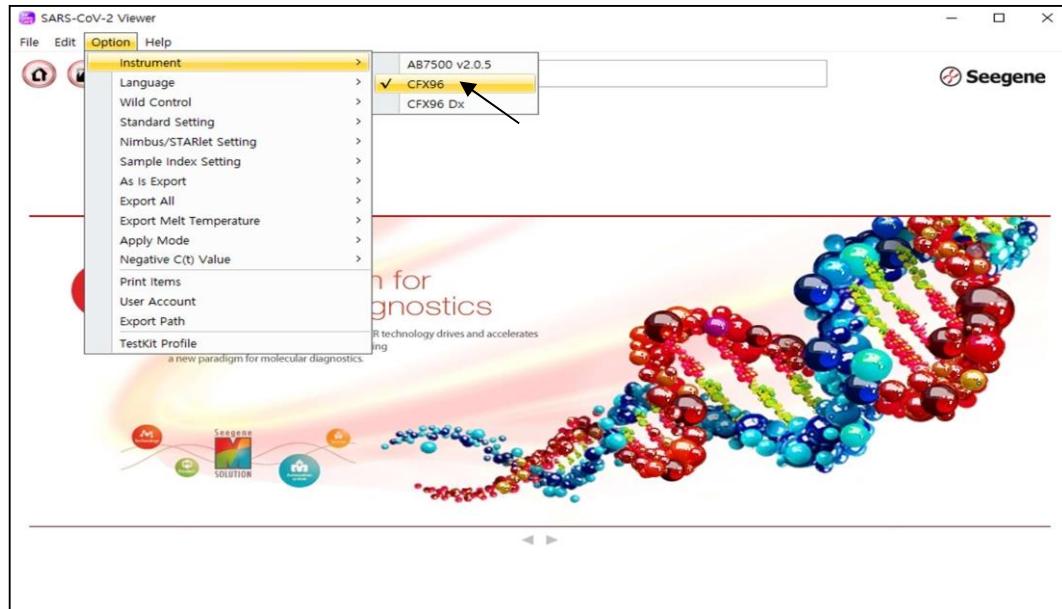


Fig. 13. Seegene Viewer

- 2) Fare clic su “**Open (Apri)**” per trovare il file salvato nella cartella “QuantStep4”, aprire il file dei risultati e selezionare il kit per il test dal menu “**PRODUCT (PRODOTTO)**”.

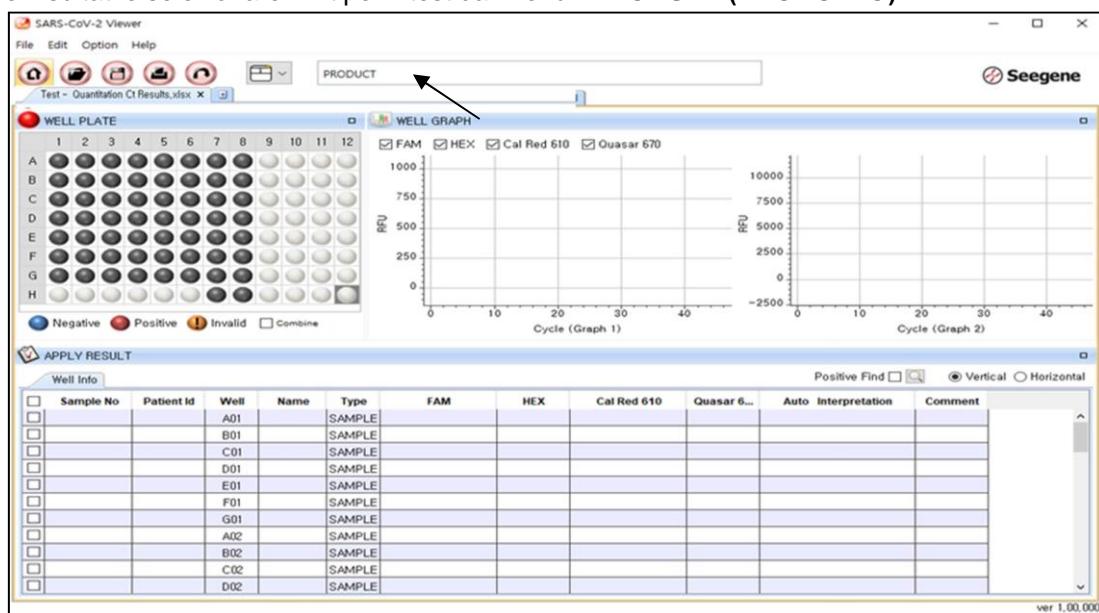


Fig. 14. Impostazioni per l'Analisi dei dati in Seegene Viewer

3) Controllare il risultato di ogni pozzetto.

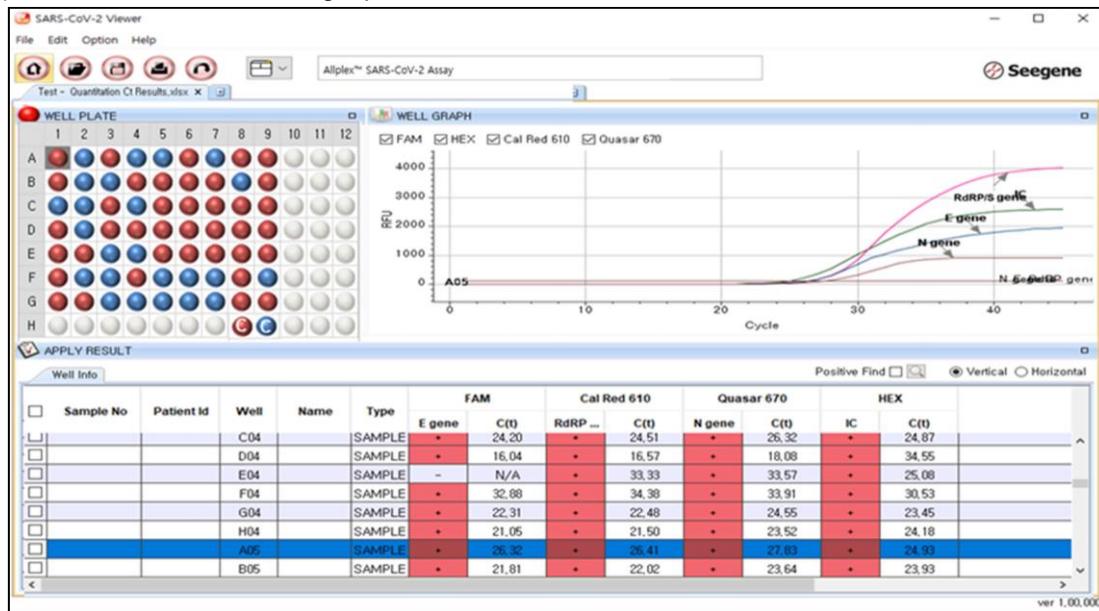


Fig. 15. Il risultato del test su Seegene Viewer

4) Criteri di validità dei risultati di controllo

a. Ciclo di test valido

Per controllare la validità degli esperimenti, i cicli PCR devono essere accompagnati con PC (Controllo Positivo) e NC (Controllo Negativo). Il ciclo dell'esame è considerato valido quando tutti i criteri seguenti sono rispettati:

1) Estrazione Standard

Controllo	Risultato Seegene Viewer					Autointerpretazione
	FAM (C _t)	Cal Red 610 (C _t)	Quasar670 (C _t)	HEX (C _t)		
	E gene	RdRP/S gene	N gene	IC		
SARS 2 Controllo Positivo	≤ 40	≤ 40	≤ 40	≤ 40	Controllo Positivo (+)	
Controllo Negativo	N/A	N/A	N/A	N/A	Controllo Negativo (-)	

2) Estrazione grezza (Crude extraction)

Controllo	Risultato Seegene Viewer					Autointerpretazione
	FAM (C _t)	Cal Red 610 (C _t)	Quasar670 (C _t)	HEX (C _t)		
	E gene	RdRP/S gene	N gene	IC		
Controllo Positivo	≤ 40	≤ 40	≤ 40	≤ 40	Controllo Positivo (+)	
Controllo Negativo	N/A	N/A	N/A	≤ 40	Controllo Negativo (-)	

- b. Ciclo di test non valido

In caso di mancata validità, i risultati non devono essere interpretati o riportati. La reazione della PCR deve essere ripetuta.

2. CFX96™ Dx System (CFX Manager™ Dx v3.1)

2.1 Real-time PCR Instrument Setup (Impostazioni Strumento Real-time PCR)

Nota: L'impostazione della sperimentazione CFX96™ Dx System (Bio-Rad) può essere divisa in tre fasi: Impostazioni del protocollo, Impostazioni della piastra e Inizio del ciclo.

A. Protocol Setup (Impostazioni del protocollo)

- 1) Nel menu principale, selezionare “File” → “New (Nuovo)” → “Protocol (Protocollo)” per aprire “Protocol Editor (Editor Protocollo)”.

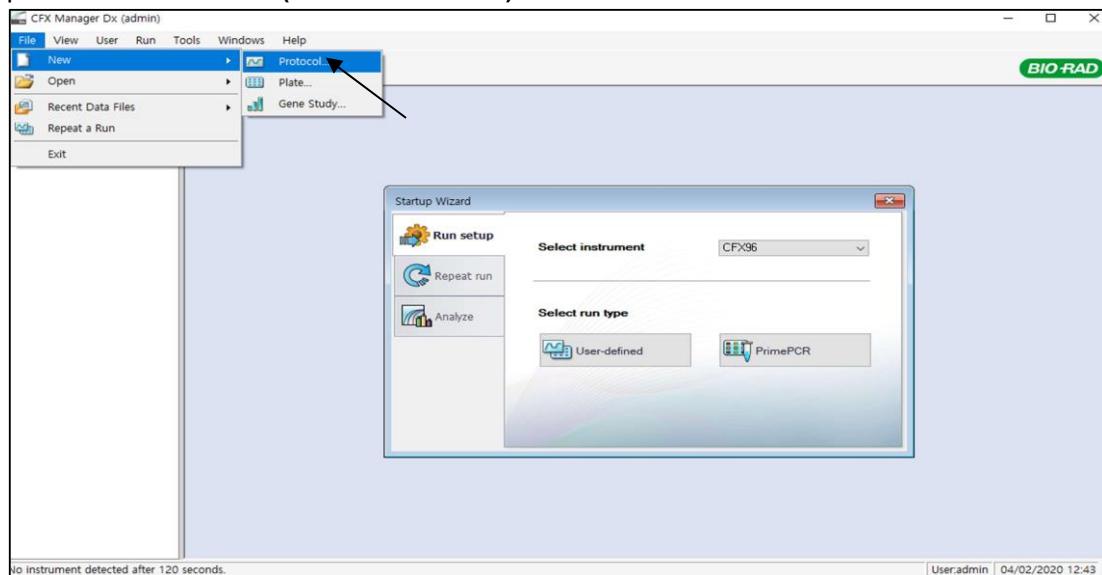


Fig. 16. Protocol Setup (Configurazione del Protocollo)

2) In “**Protocol Editor (Editor Protocollo)**”, definire il profilo termico come segue:

Fase	N. di cicli	Temperatura	Durata
1	1	50°C	20 min
2		95°C	15 min
3		95°C	10 sec
4*	45	60°C	15 sec
5*		72°C	10 sec
6		GOTO Step 3, 44 volte in più	

Note*: Fase Lettura Piastra. La fluorescenza è rilevata a 60°C e 72°C.

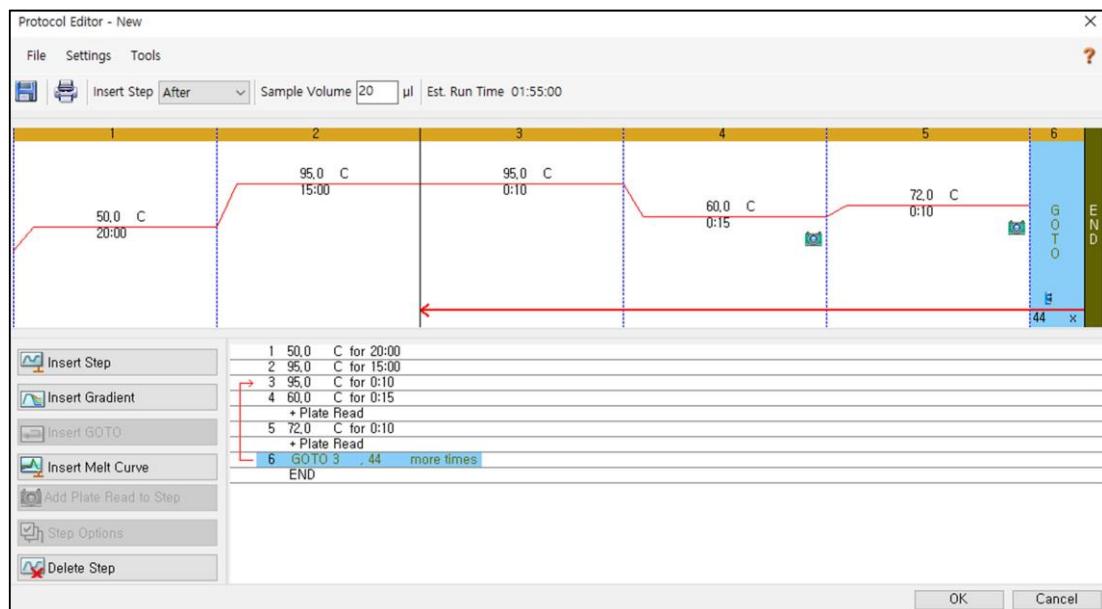


Fig. 17. **Protocol Editor (Editor Protocollo)**

3) Cliccare la casella vicino a “**Sample Volume (Volume Campione)**” per inserire direttamente 20 μL.

- 4) Fare clic su “OK” e salvare il protocollo per aprire la finestra “Run Setup (Configurazione Inizio)”.

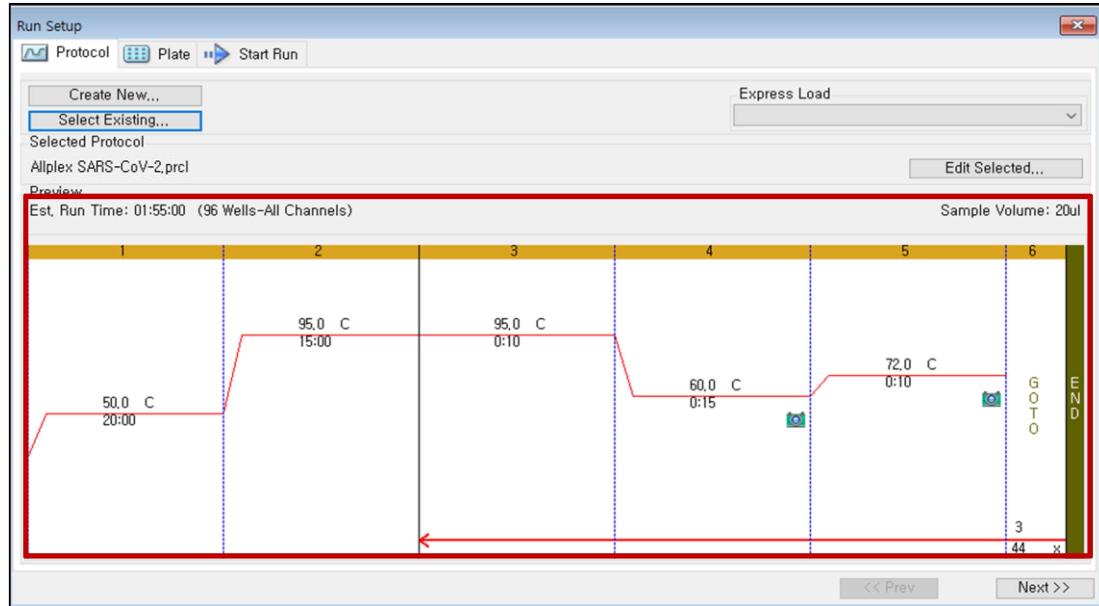


Fig. 18. Run Setup (Configurazione Inizio): Protocol (Protocollo)

B. Plate Setup (Impostazioni della Piastra)

- 1) Dalla scheda “Plate (Piastra)” in “Run Setup (Configurazione Inizio)”, fare clic su “Create New (Crea Nuovo)” per aprire la finestra “Plate Editor (Editor Piastra)”.

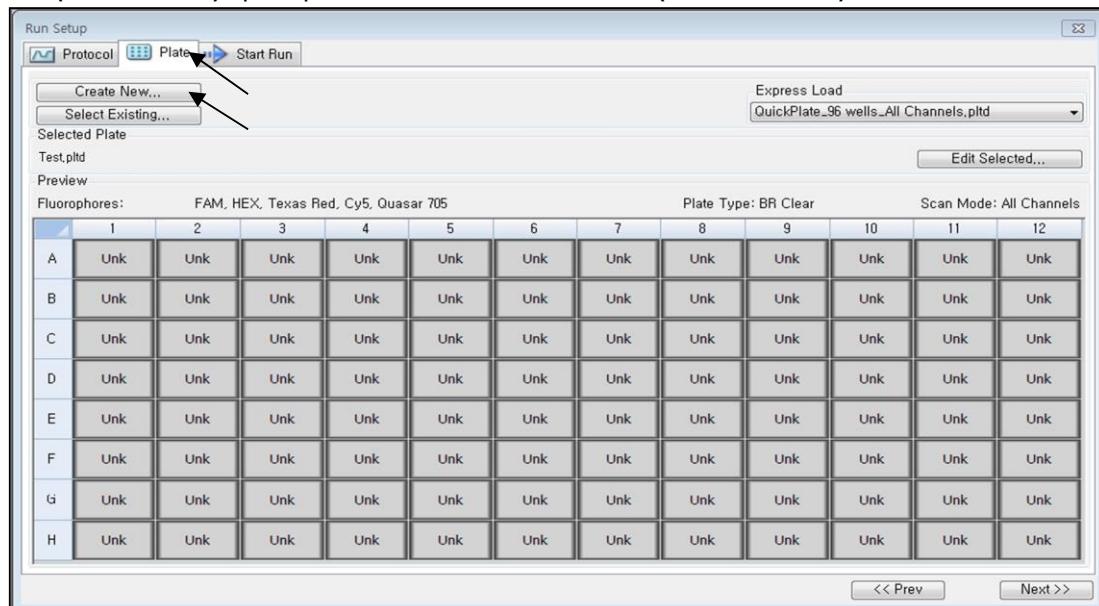


Fig. 19. Plate Editor (Editor Piastra)

- 2) Cliccare “Select Fluorophores (Selezione Fluorocromi)” per indicare i fluorocromi (**FAM**, **HEX**, **Cal Red 610**, **Quasar 670**) che saranno utilizzati e cliccare “OK”.

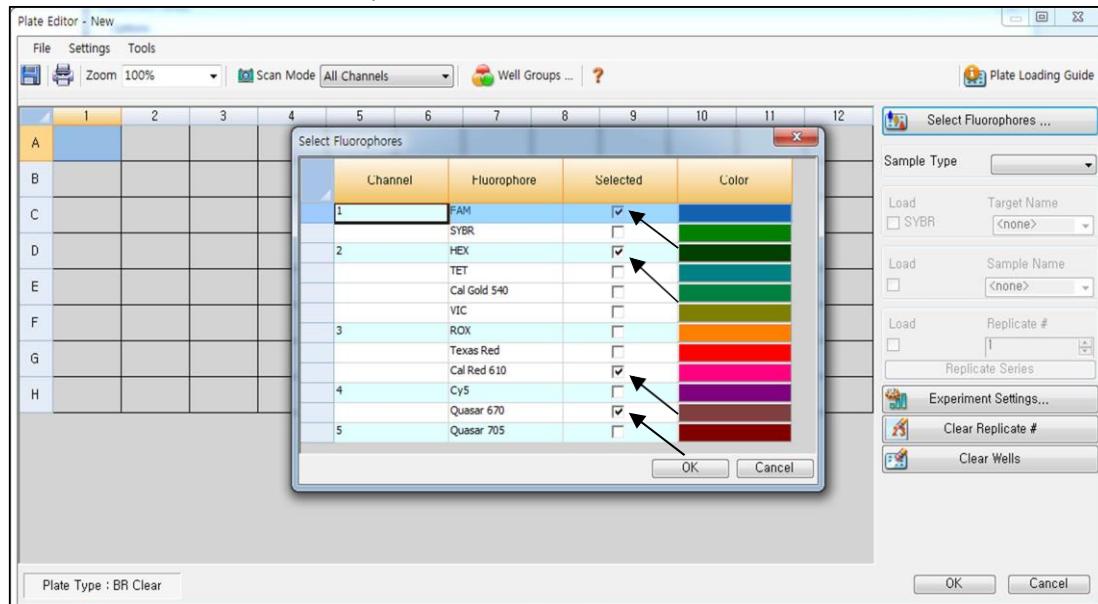


Fig. 20. “Select Fluorophores (Selezionare Fluorocromi)” (**FAM**, **HEX**, **Cal Red 610** e **Quasar 670**)

- 3) Selezionare i pozzetti in cui le provette PCR saranno inserite e selezionare i relativi tipi di campione dal menu a tendina “Sample Type (Tipo Campione)” .

- **Sconosciuto:** *Campioni clinici*
- **Controllo Negativo**
- **Controllo Positivo**

- 4) Cliccare sulla casella appropriata (**FAM**, **HEX**, **Cal Red 610**, e **Quasar 670**) per specificare i fluorocromi da identificare nei pozzetti selezionati.

- 5) Digitare “**Sample Name (Nome Campione)**” e premere Invio.

- 6) In “Settings (Impostazioni)” del menu principale “Plate Editor (Editor Piastra)”, scegliere “Plate Size” (96 wells) (Grandezza Piastra (96 pozzetti)) e “Plate Type” (BR White (Tipo Piastra (Bianco BR))).

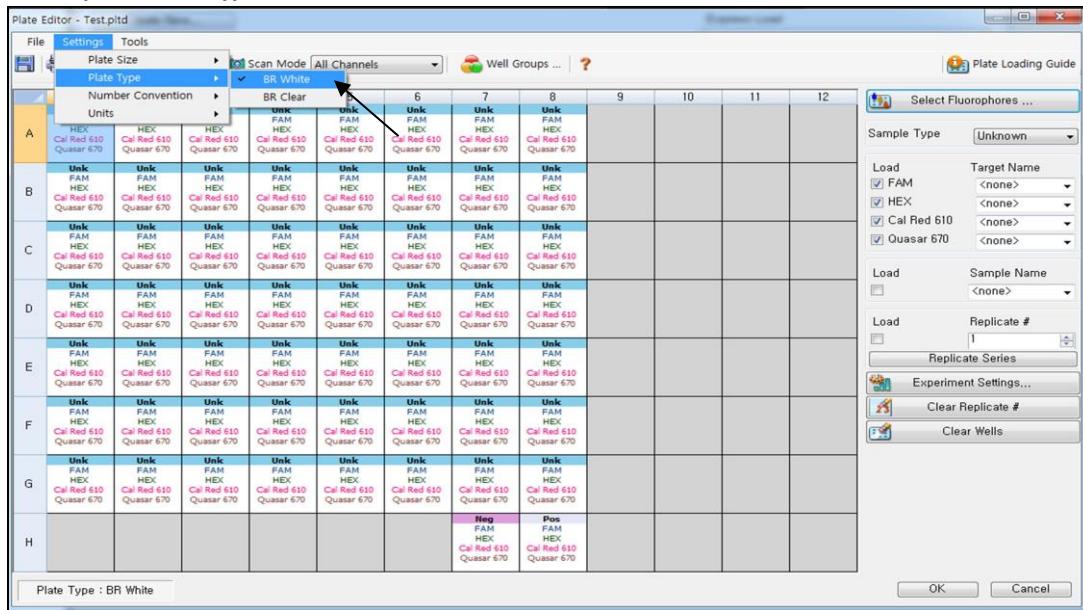


Fig. 21. Plate Setup (Impostazioni del Piastra)

- 7) Fare clic su “OK” per salvare la nuova piastra.
8) Sarete reindirizzati alla finestra “Run Setup (Configurazione Inizio)”.

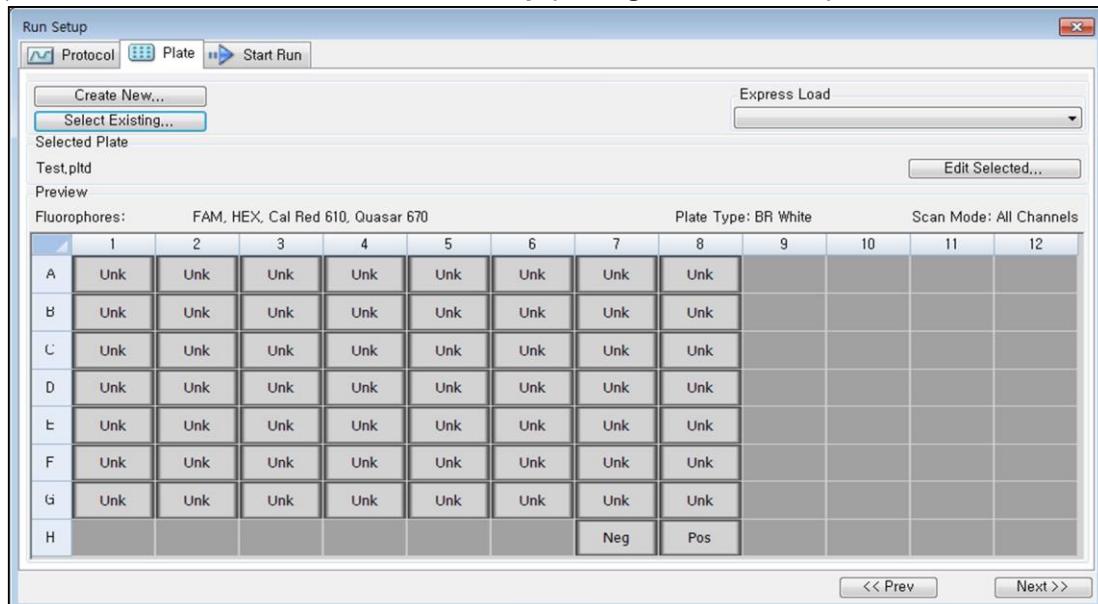


Fig. 22. Run Setup (Configurazione Inizio): Plate (Piastra)

- 9) Fare clic su “Next (Successivo)” per iniziare il ciclo.

C. Start Run (Inizio del ciclo)

- 1) Dalla scheda “Start Run (Inizio del ciclo)” in “Run Setup (Configurazione Inizio)”, fare clic su “Close Lid (Chiudere il coperchio)” per chiudere il coperchio dello strumento.

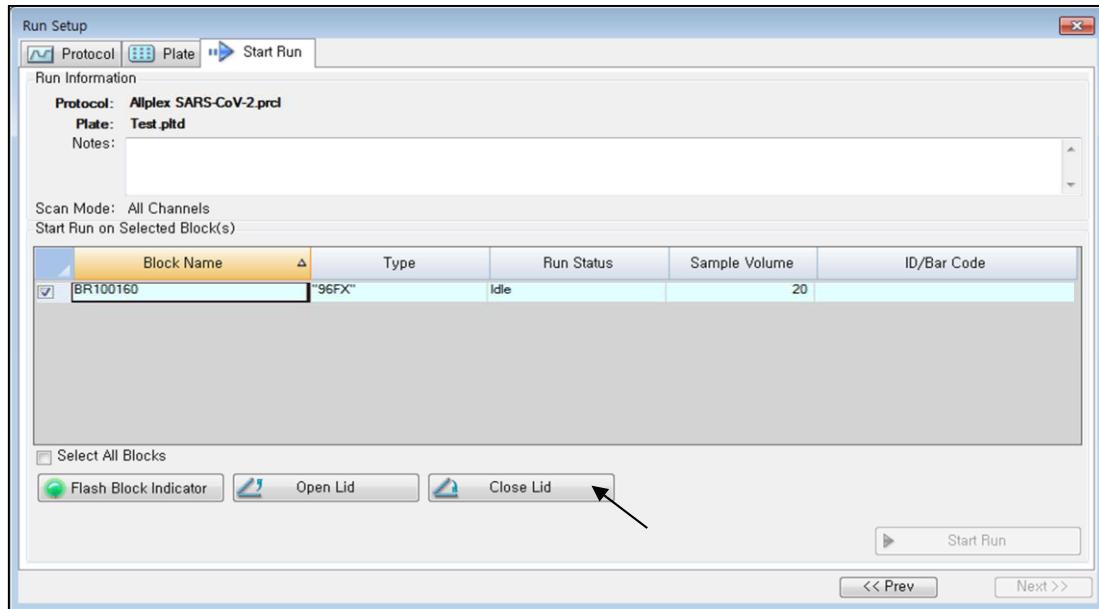


Fig. 23. Close Lid (Chiudere il coperchio)

- 2) Fare clic su “Start Run (Inizio del ciclo)”.
- 3) Conservare il file del ciclo sia in My Documents (I miei documenti) che in una cartella designata. Inserire il nome file, cliccare **SAVE (SALVA)** e il ciclo comincerà.

2.2. Analisi Dati

A. Creare cartelle per l'esportazione dei dati

- 1) Per salvare i dati di tutte le fasi di rilevazione delle curve di amplificazione dal file dei risultati, creare una cartella.
- 2) Il nome della cartella può essere scelto dall'utente (Per la funzione ‘Seegene Export’, le cartelle “QuantStep4” e “QuantStep5” vengono automaticamente create per salvare tutti i dati della curva di amplificazione sotto la cartella creata dall'utente).

B. Predisposizione delle impostazioni per l'Analisi dei dati in CFX96™

- 1) Dopo il test, fare clic su “**Quantitation (Quantitazione)**” per leggere i risultati della curva di amplificazione.

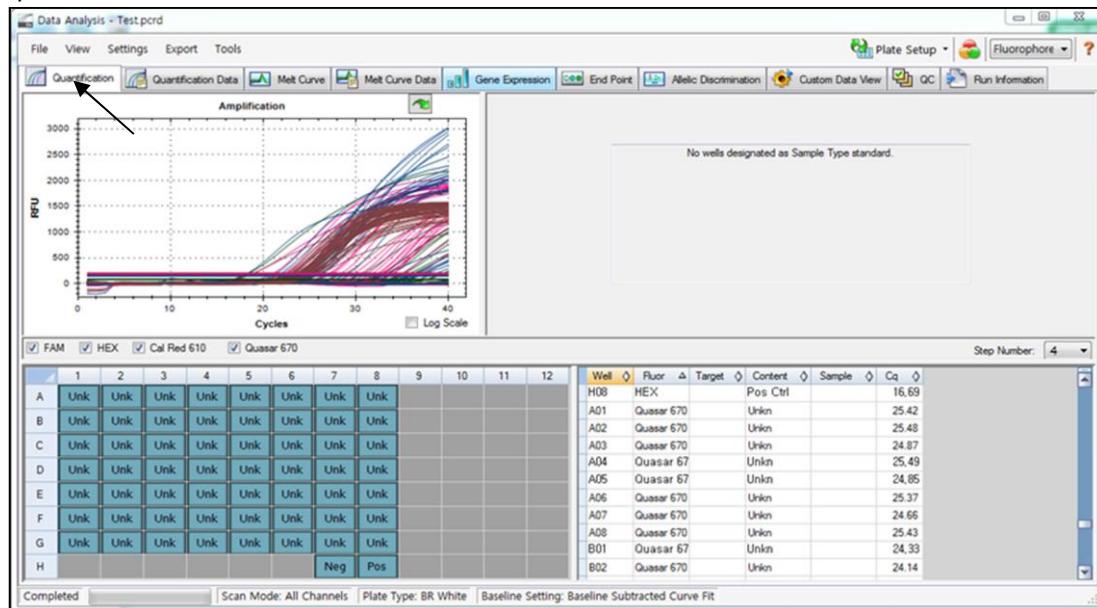


Fig. 24. Risultati della curva di amplificazione

- 2) Selezionare “**No Baseline Subtraction (Nessuna Sottrazione della Baseline)**” dalle Impostazioni Baseline del menu Impostazioni.

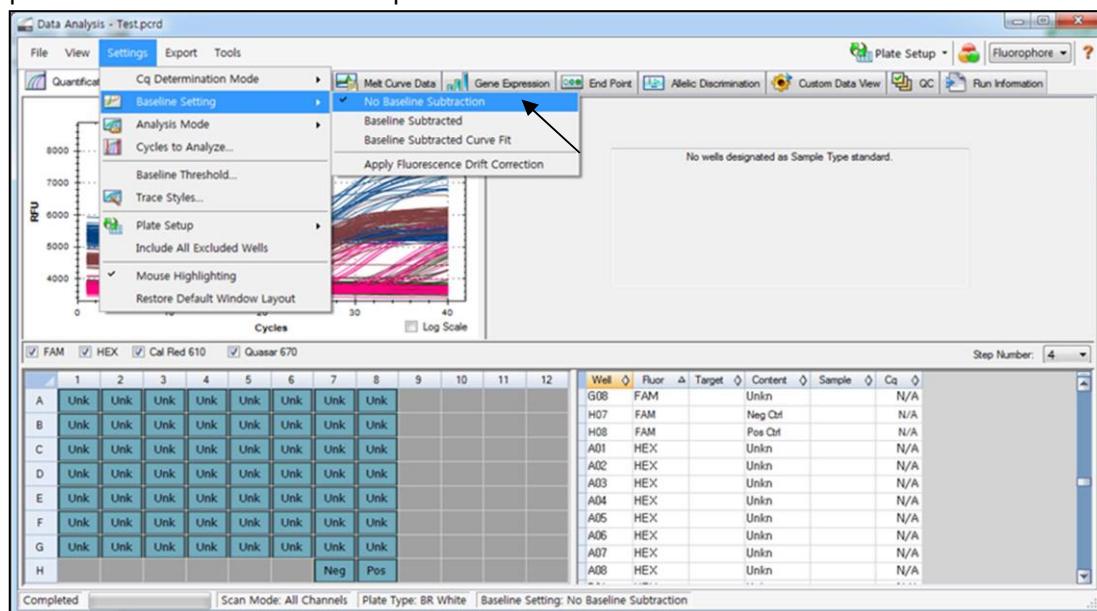


Fig. 25. No Baseline Subtraction (Nessuna Sottrazione della Baseline)

3) Selezionare “Seegene Export (Esportare Seegene)” dal menu Export.

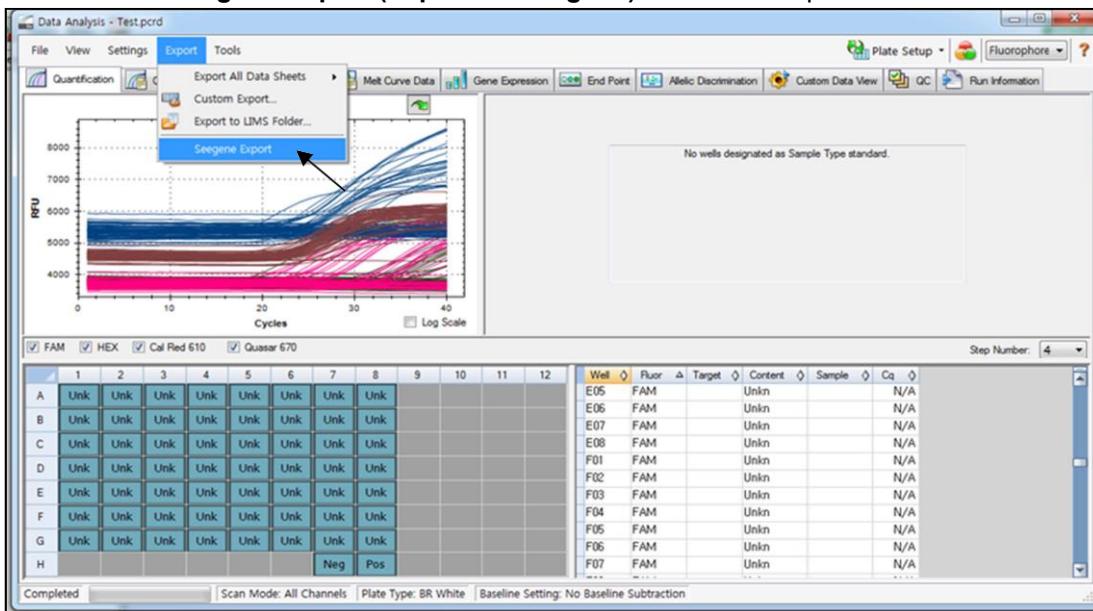


Fig. 26. “Seegene Export (Esportare Seegene)”

4) Scegliere una destinazione per salvare i dati e fare clic su “OK”.

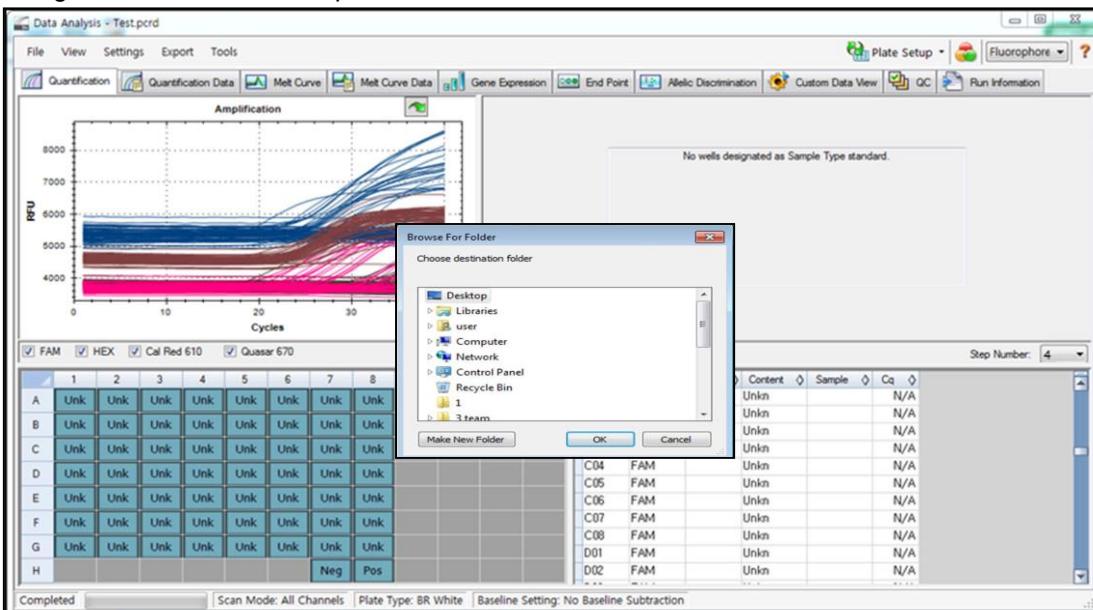


Fig. 27. Seegene Export (Esportare Seegene) in una cartella designata

C. Impostazioni per l'Analisi dei dati in Seegene Viewer

- 1) Aprire il programma Seegene Viewer e fare clic su “**Option (Opzioni)**” per selezionare **CFX96 or CFX96 Dx** in “Instrument (Strumento)”.

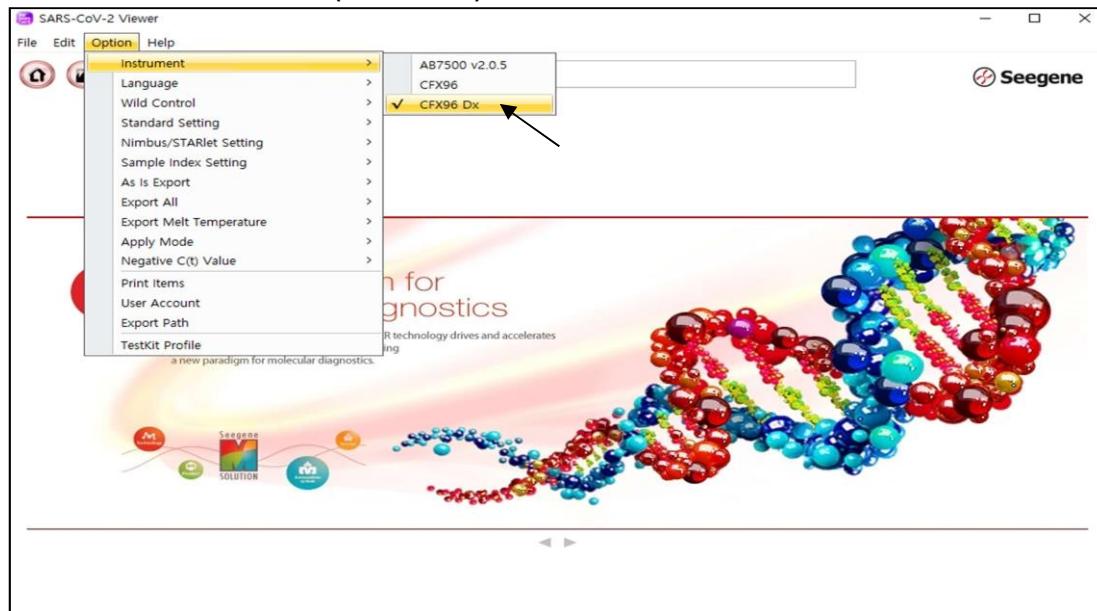


Fig. 28. **Seegene Viewer**

- 2) Fare clic su “**Open (Apri)**” per trovare il file salvato nella cartella “QuantStep4”, aprire il file dei risultati e selezionare il kit per il test dal menu “**PRODUCT (PRODOTTO)**”.

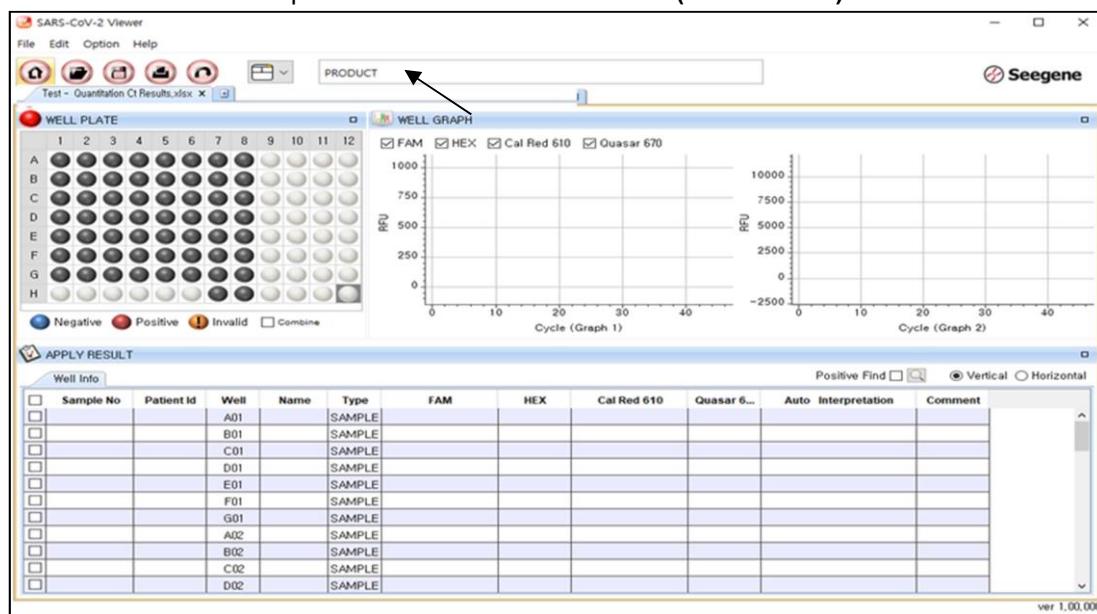


Fig. 29. **Impostazioni per l'Analisi dei dati in Seegene Viewer**

Nota: In caso di estrazione grezza (crude extraction), selezionare “Allplex™ SARS-CoV-2 Assay (crude extraction)” dal menu PRODUCT.

3) Controllare il risultato di ogni pozzetto.

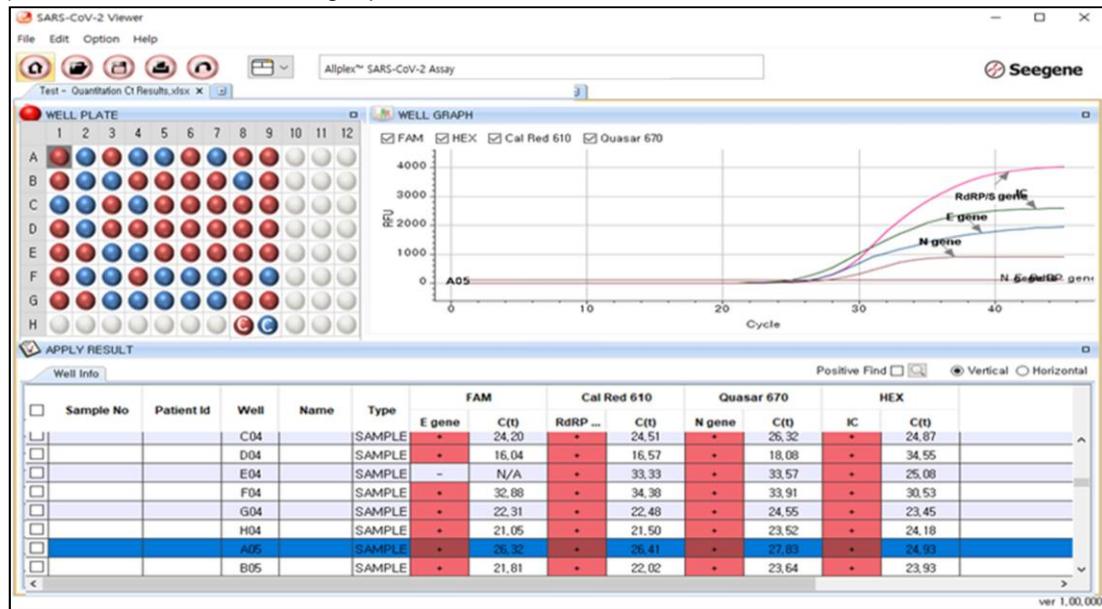


Fig. 30. Il risultato del test su Seegene Viewer

4) Criteri di validità dei risultati di controllo

a. Ciclo di test valido

Per controllare la validità degli esperimenti, i cicli PCR devono essere accompagnati con PC (Controllo Positivo) e NC (Controllo Negativo). Il ciclo dell'esame è considerato valido quando tutti i criteri seguenti sono rispettati:

1) Estrazione Standard

Controllo	Risultato Seegene Viewer				
	FAM (C _t)	Cal Red 610 (C _t)	Quasar670 (C _t)	HEX (C _t)	Autointerpretazione
	E gene	RdRP/S gene	N gene	IC	
SARS 2 Controllo Positivo	≤ 40	≤ 40	≤ 40	≤ 40	Controllo Positivo (+)
Controllo Negativo	N/A	N/A	N/A	N/A	Controllo Negativo (-)

2) Estrazione grezza (Crude extraction)

Controllo	Risultato Seegene Viewer				
	FAM (C _t)	Cal Red 610 (C _t)	Quasar670 (C _t)	HEX (C _t)	Autointerpretazione
	E gene	RdRP/S gene	N gene	IC	
Controllo Positivo	≤ 40	≤ 40	≤ 40	≤ 40	Controllo Positivo (+)
Controllo Negativo	N/A	N/A	N/A	≤ 40	Controllo Negativo (-)

b. Ciclo di test non valido

In caso di mancata validità, i risultati non devono essere interpretati o riportati. La reazione della PCR deve essere ripetuta.

3. Applied Biosystems™ 7500 (SDS software v2.0.5)

3.1. Real-time PCR Instrument set up

Nota: Lo strumento deve essere calibrato prima dell'uso.

Nota: La co Applied Biosystems™ 7500(Thermo Fisher Scientific) possono essere divise in due step: Configurazione e Avvio

A. Configurazione

- 1) Nel menu principale, selezionare “Set Up (Configurazione)” → “Advanced Setup (Configurazione Avanzata)”

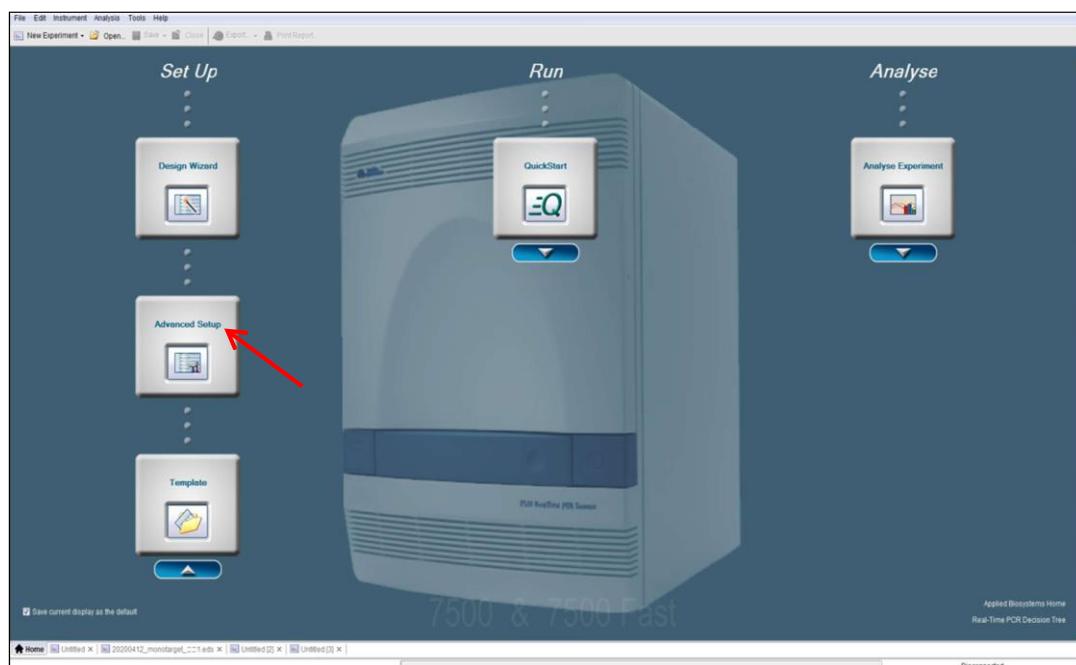


Fig 31. Configurazione

- 2) Nel tab “Experiment properties (Proprietà Esperimento)” inserir “Experiment Name (Nome Esperimento)” e selezionare Instrument, “Experiment type (Tipo esperimento)”, “Reagents” (Reagenti), e “Ramp speed (Velocità di rampa)” come segue.

Instrument (Strumento)	7500 (96 Wells (96 pozzetti))
Experiment type (Tipo esperimento)	Quantitation (Quantitazione)–Standard Curve (Curva Standard)
Reagents (Reagenti)	Taqman® Reagents (Taqman® Reagenti)
Ramp speed (Velocità di rampa)	Standard (Standard)

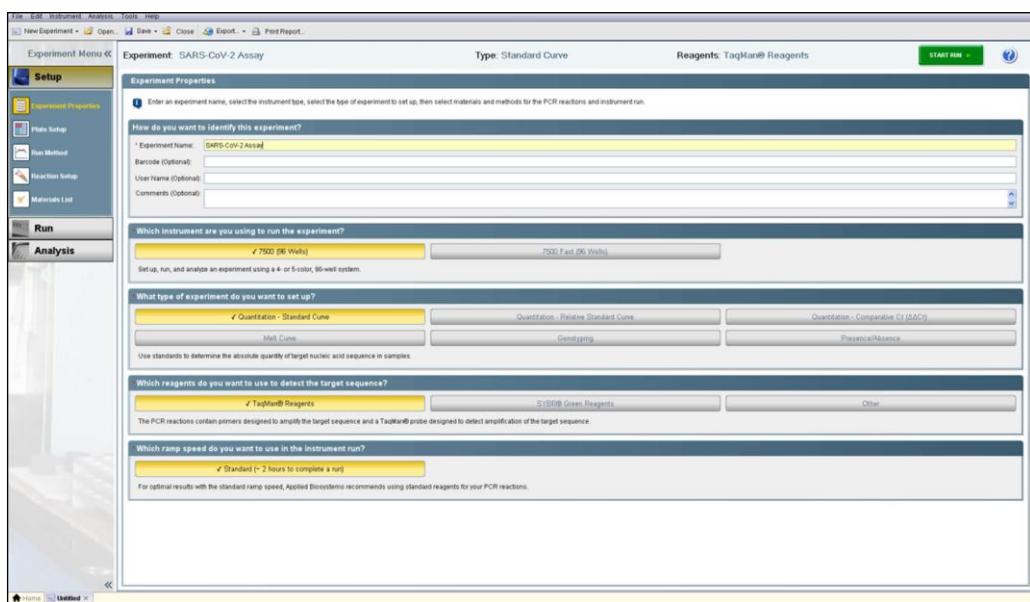


Fig. 32. Tab proprietà esperimento

- 3) Cliccare su “Plate setup (Impostazioni del Piatra)” tab. In “Define Targets and Samples (Definisci Target e Campioni)” inserire “Target Name (Nome Target) “e selezionare “Reporter” e “Quencher” come segue.

Target Name (Nome Target)	Reporter (Reporter)	Quencher (Quencher)
E gene	FAM	Nessuno
IC	VIC	Nessuno
RdRP/S gene	ROX	Nessuno
N gene	CY5	Nessuno

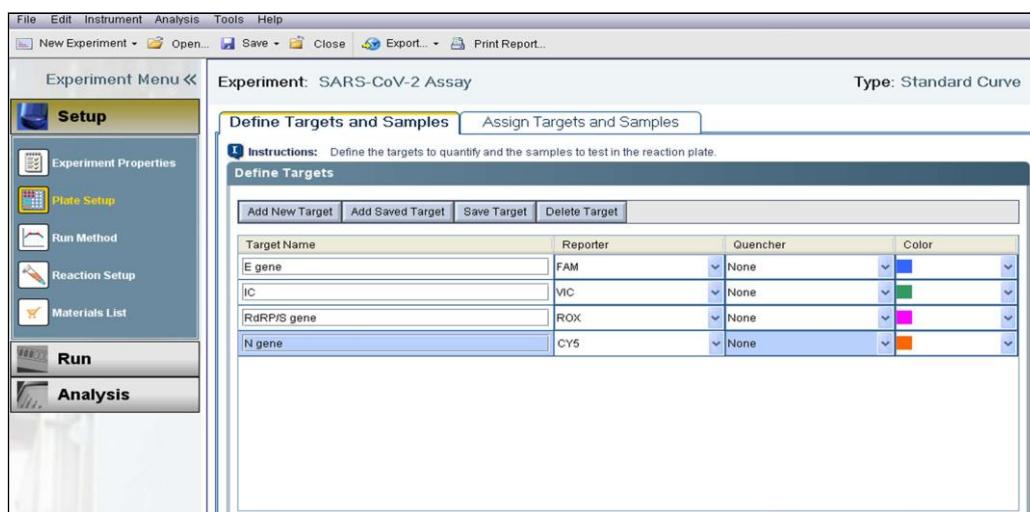


Fig. 33. Tab Definisci Target e Campioni

4) Cliccare su “**Assign Targets and Samples (Assegna Target e Campioni)**” , selezionare i pozzetti in cui la provetta di PCR sarà posizionata e assegnare i targets. Selezionare Nessuno per referenza Passiva.

NOTE: Se si seleziona un pozzetto senza campione o mastermix, può accendersi un segnale. Assicurarsi che siano selezionati solo i pozzetti contenenti campioni o mastermix.

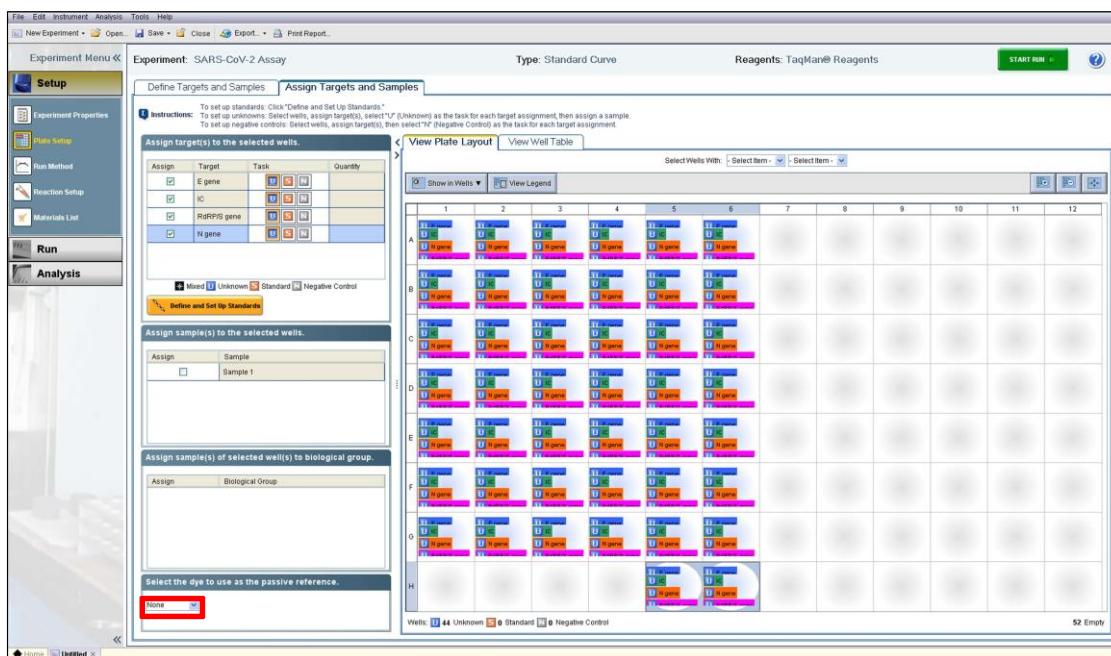


Fig. 34. Tab Assegna Target e Campioni

5) Cliccare su “**Run Method (Avvia Metodo)**”. In “**Graphical View (Visualizzazione Grafica)**” o “**Tabular View tab (Visualizzazione Tabellare)**”, inserire 20 µL come campo “**Reaction Volume per Well**” (**Volume di Reazione per Pozzetto**). Definire il profilo termico secondo la tabella sottostante.

Fase	N. di cicli	Temperatura	Durata
1	1	50°C	20 min
2		95°C	15 min
3		95°C	10 sec
4*	45	60°C	30 sec
5		72°C	10 sec
6		GOTO Step 3, 44 volte in più	

Note*: Plate Read a **Step 4**. La fluorescenza è rilevata a 60°C.

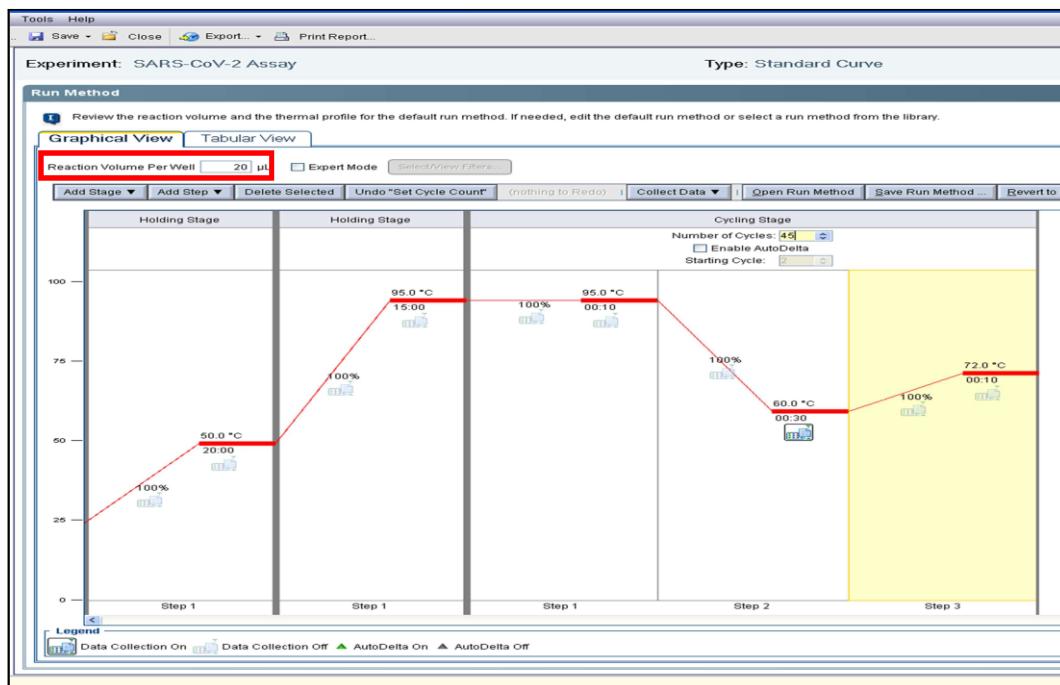


Fig. 35. Visualizzazione Grafica

6) Cliccare su “File (File)” → “Save as Template (Salva come Template)” per salvare il nuovo “template” in “.edt” format. Inserire il nome del file, selezionare un luogo per il template, quindi cliccare “Save (Salva)”. Il “template (template)” può essere utilizzato per i test futuri.

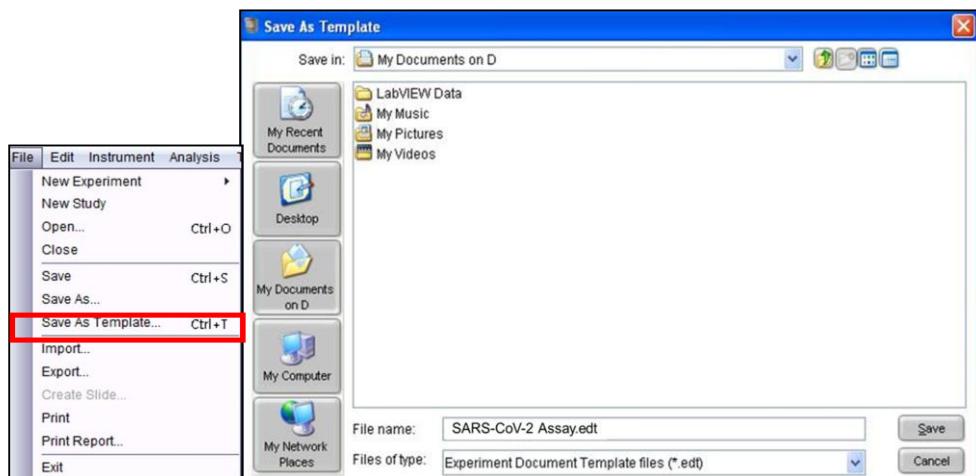


Fig. 36. Salva come Template (.edt)

B. Avvia

- 1) Accendere il laptop e Applied Biosystems™ 7500 real-time PCR system. Assicurarsi che il laptop sia connesso allo strumento.
- 2) Spingere lo sportello della vaschetta per aprire lo strumento. Caricare la piastra PCR sul sostegno dello strumento.
- 3) Spingere lo sportello della vaschetta per chiudere lo strumento.
- 4) Cliccare su “File (File)” → “Save as Template (Salva come Template)” per salvare il nuovo template in “.eds” format. Inserire il nome del file, selezionare un luogo per il template, quindi cliccare “Save (Salva)”.

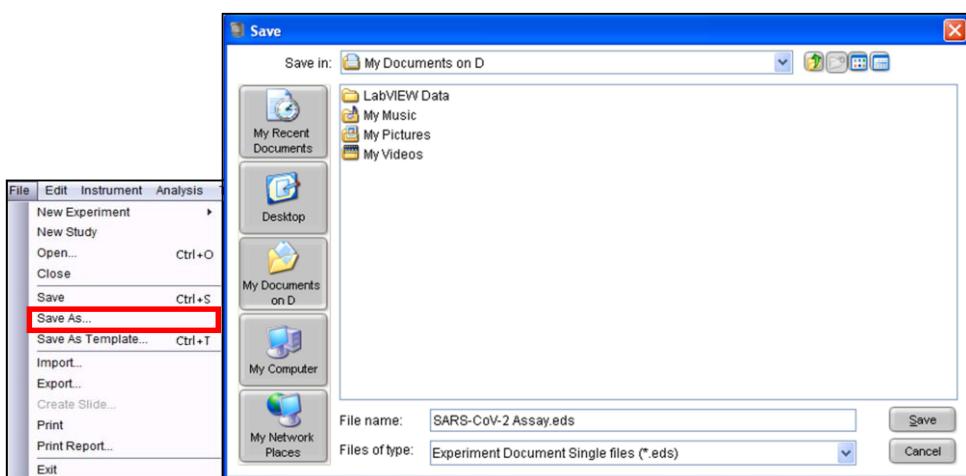


Fig. 37. **Salva come (.eds)**

5) Cliccare START RUN (INIZIO DEL CICLO).

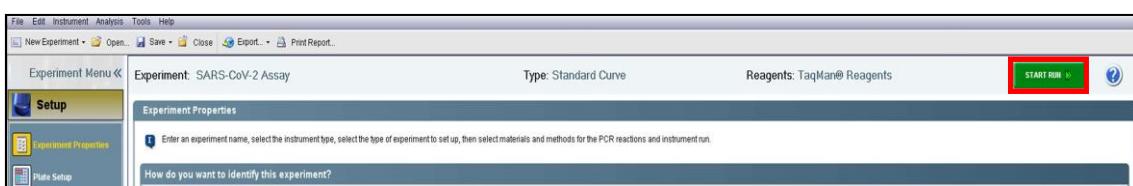


Fig. 38. **INIZIO DEL CICLO**

3.2. Esportare i dati e analisi

A. Preimpostazioni per Esportare i dati e analisi

- 1) Creare una cartella per salvare i dati per tutti gli step di rilevazione della curva di amplificazione dal file dei risultati.
- 2) Inserire il nome della cartella se necessario.

3) Cliccare su “File (File)” → “Export (Esporta)”



Fig. 39. Esporta file

4) Cliccare su “Export Properties (Esporta Proprietà)” (default) e selezionare “Sample Setup (Configurazione Campione)”, “Raw data (Dati grezzi)”, “Amplification Data (Dati di Amplificazione)”, “Results (Risultati)” e “Multicomponent Data (Dati Multicomponenti)” sotto “1. Select data to export (Seleziona dati da esportare)”.

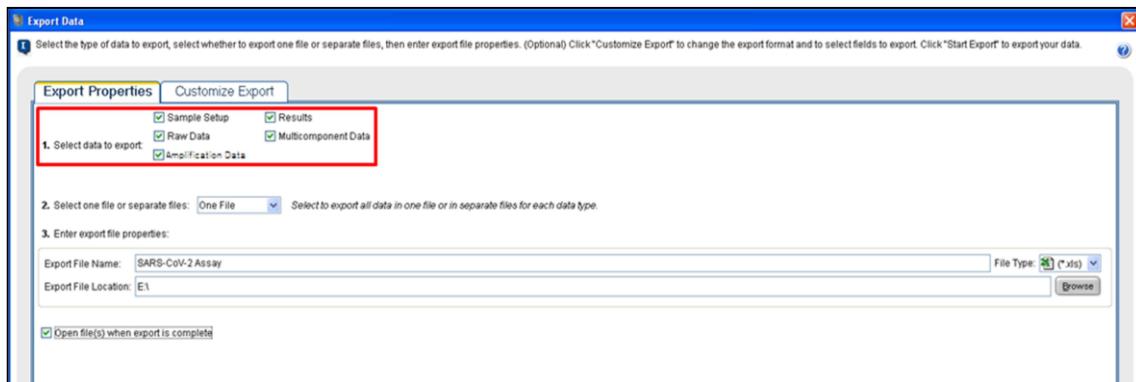


Fig. 40. 1. Seleziona dati da esportare

5) Selezionare “One File (File Unico)” sotto “2. Selezionare one or separate files (un file unico o file separati):”.

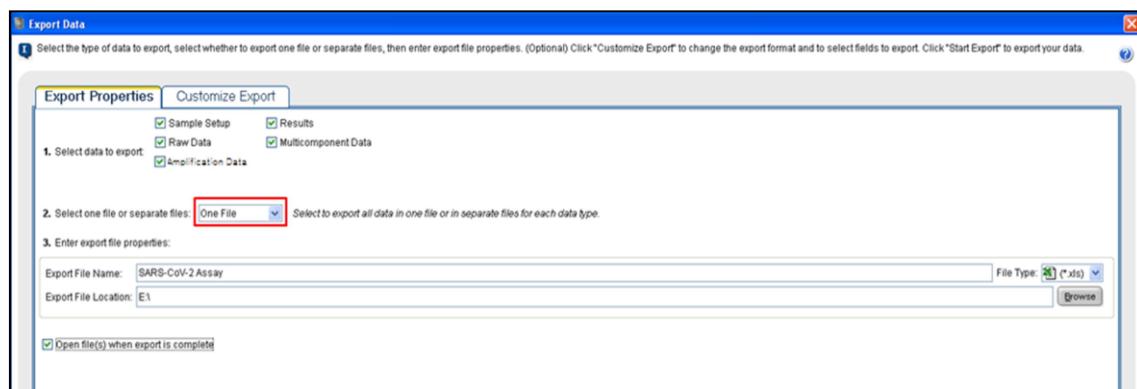


Fig. 41. 2. Seleziona un file unico o file separati

- 6) Inserire “**Export File Name (Nome del File di Esportazione)**”, quindi selezionare “**Export File Location (Luogo del File di Esportazione)**”. Selezionare “**.xls**” dall’elenco “**File Type (Tipo File)**”.

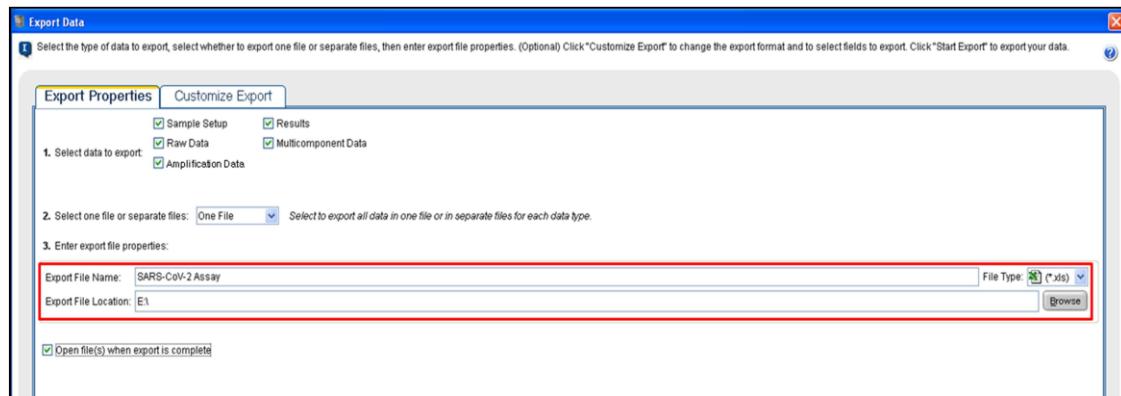


Fig. 42. 3. Inserisci le proprietà del file di esportazione

- 7) Cliccare “**Start Export (Avvia Esportazione)**”.

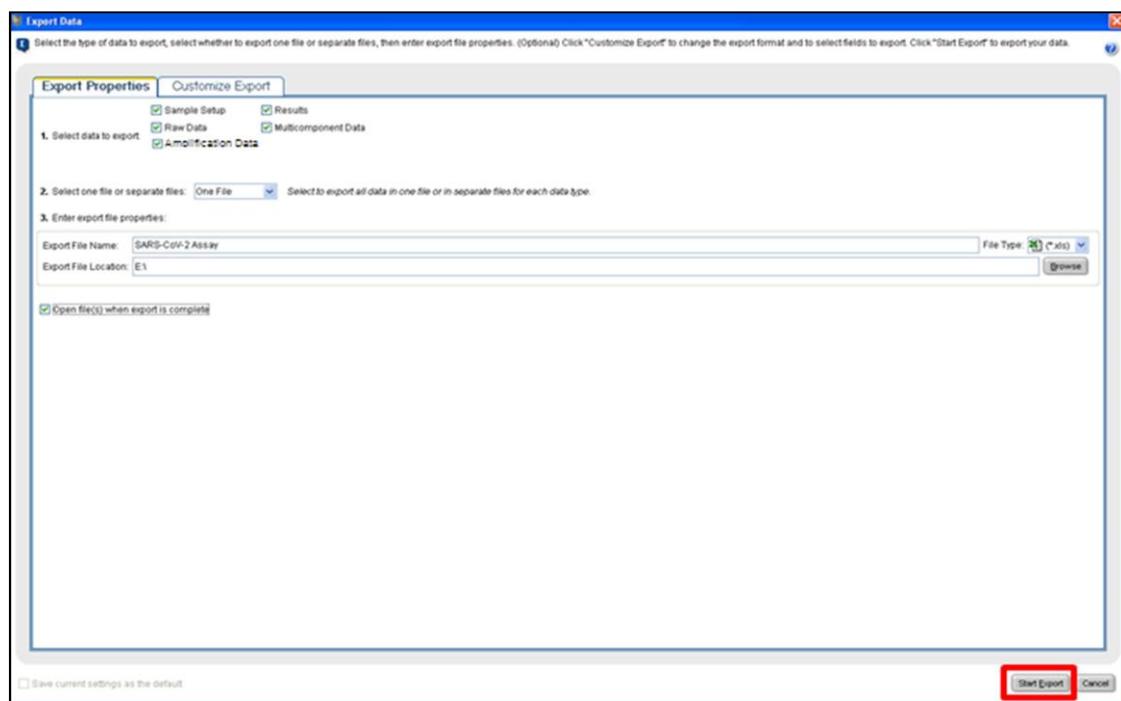


Fig. 43. Avvia Esportazione

B. Configurazione per l'analisi dei Data in Seegene Viewer

- 1) Aprire il software Seegene Viewer installato sul laptop connesso a Applied Biosystems™ 7500. Cliccare su “**Option (Opzioni)**” per selezionare AB7500 v2.0.5 dal “**Instrument menu (Menu strumento)**”.



Fig. 44. Seegene Viewer

- 2) Cliccare su “**Open (Apri)**” e localizzare i dati di esportazione Applied Biosystems™ 7500 dove sono stati salvati i dati Applied Biosystems™ 7500. After opening the results file, select ‘Allplex™ SARS-CoV-2 Assay’ from the PRODUCT (PRODUCT) menu.

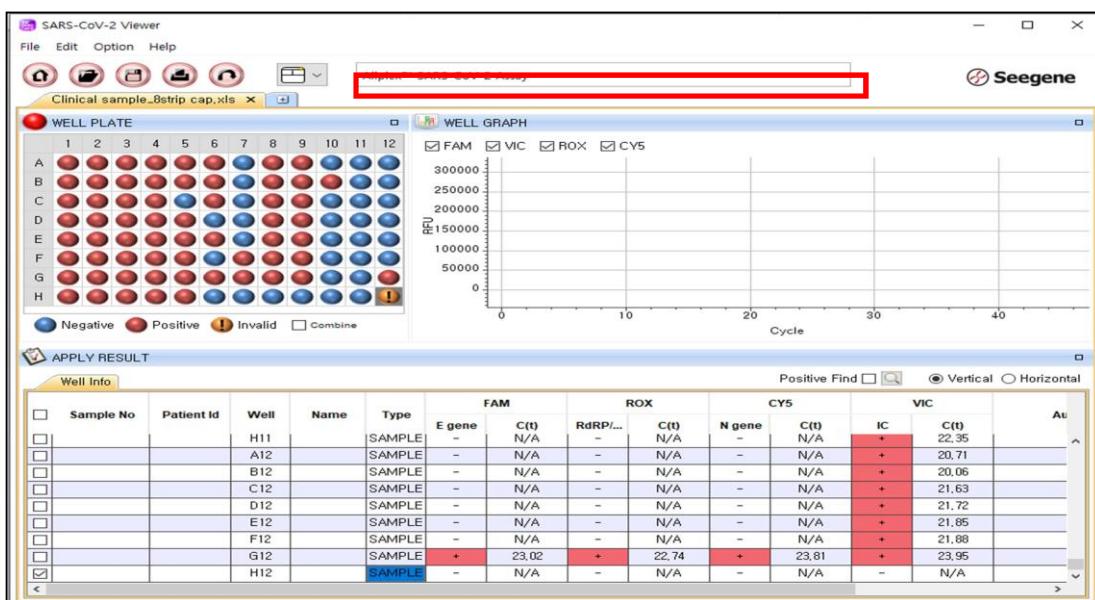


Fig. 45. Impostazioni per l'Analisi dei dati in Seegene Viewer

Nota: In caso di estrazione grezza (crude extraction), selezionare “Allplex™ SARS-CoV-2 Assay (crude extraction)” dal menu PRODUCT.

- 3) Assegnare il controllo Positivo e Negativo conformemente selezionando PC, NC sotto il menu a tendina Type (Tipo).

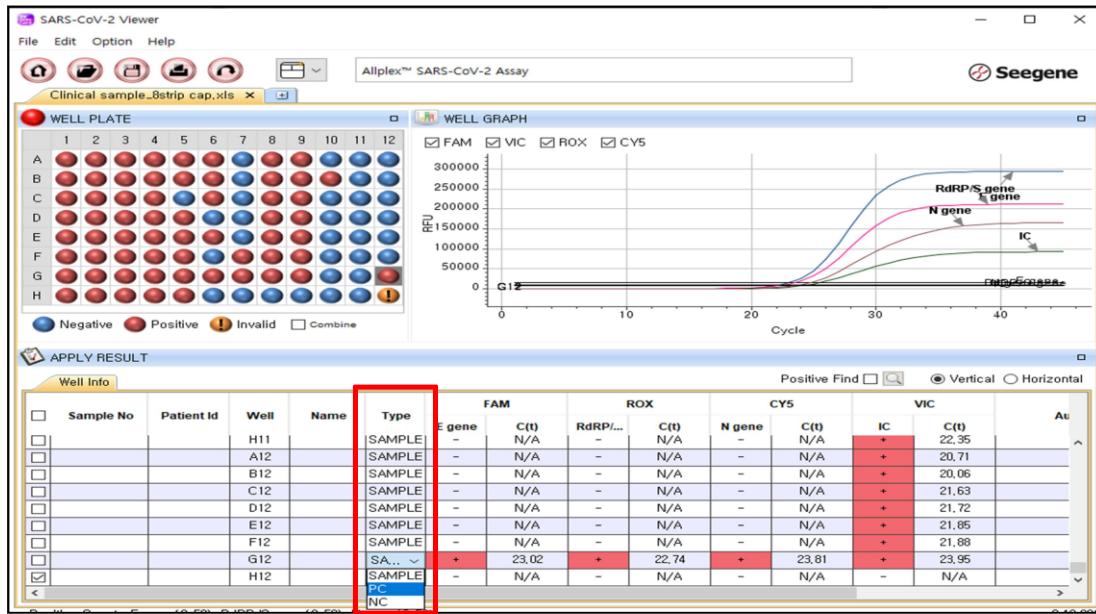


Fig. 46. Configurazione per tipo di Campione in Seegene Viewer

- 4) Visualizza i risultati del test. I risultati autointerpretati per ogni campione possono essere visualizzati cliccando su ogni pozzetto.

- 5) Criteri di validità dei risultati di controllo

- a. Ciclo di test valido

Per controllare la validità degli esperimenti, i cicli PCR devono essere accompagnati da PC (Controllo Positivo) e NC (Controllo Negativo). Il ciclo di test è considerato valido quando tutti i seguenti criteri sono rispettati:

1) Estrazione Standard

Controllo	Risultato Seegene Viewer				
	FAM (C _t)	Cal Red 610 (C _t)	Quasar670 (C _t)	HEX (C _t)	Autointerpretazione
	E gene	RdRP/S gene	N gene	IC	
SARS 2 Controllo Positivo	≤ 40	≤ 40	≤ 40	≤ 40	Controllo Positivo (+)
Controllo Negativo	N/A	N/A	N/A	N/A	Controllo Negativo (-)

2) Estrazione grezza (Crude extraction)

Controllo	Risultato Seegene Viewer				
	FAM (C _t)	Cal Red 610 (C _t)	Quasar670 (C _t)	HEX (C _t)	Autointerpretazione
	E gene	RdRP/S gene	N gene	IC	
Controllo Positivo	≤ 40	≤ 40	≤ 40	≤ 40	Controllo Positivo (+)
Controllo Negativo	N/A	N/A	N/A	≤ 40	Controllo Negativo (-)

- b. Ciclo di test non valido

In caso di invalidità, i risultati non devono essere interpretati o riportati. La reazione della PCR deve essere ripetuta.

RISULTATI

1. Informazioni Analita

CFX96	AB7500	Analytes
Fluorocromi	Fluorocromi	
FAM	FAM	E gene
HEX	VIC	IC
Cal Red 610	ROX	RdRP gene, S gene
Quasar 670	CY5	N gene

2. Interpretazione dei risultati

Analiti	Valore C _t	Risultato
Target	≤ 40	Rilevati (+)
	> 40 or N/A	Non rilevati (-)
IC	≤ 40	Rilevati (+)
	> 40 or N/A	Non rilevati (-)

Risultato Target					
E gene	RdRP/S gene	N gene	Risultato IC*	Auto-interpretazione	Descrizione
+	+	+	+/-	SARS-CoV-2	Tutti i Risultati Target erano validi. Il risultato di SARS-CoV-2 RNA è rilevato.
+	-	+	+/-		- Tutti i Risultati Target erano validi. Il risultato di SARS-CoV-2 RNA è rilevato.
-	+	+	+/-		- I risultati target negative suggeriscono
+	+	-	+/-		1) Un campione a concentrazioni vicine o sotto il limite di rilevazione del test,
-	+	-	+/-		2) Una mutazione nella regione target corrispondente,
	-	+	+/-		3) Altri fattori.
				SARS-CoV-2 Probabile positivo	- Tutti i Risultati Target erano validi. Il risultato per Sarbecovirus RNA è rilevato. Il risultato per SARS-CoV-2 RNA è Probabile Positivo.
+	-	-	+/-		- I risultati target negative suggeriscono
					1) Un campione a concentrazioni vicine o sotto il limite di rilevazione del test,
					2) Una mutazione nella regione target corrispondente,
					3) Altri fattori.
					- Ripetere il test con più acido nucleico (fino a 10ul)
					- Per i campioni con lo stesso risultato sul test ripetuto, può essere effettuato un ulteriore test

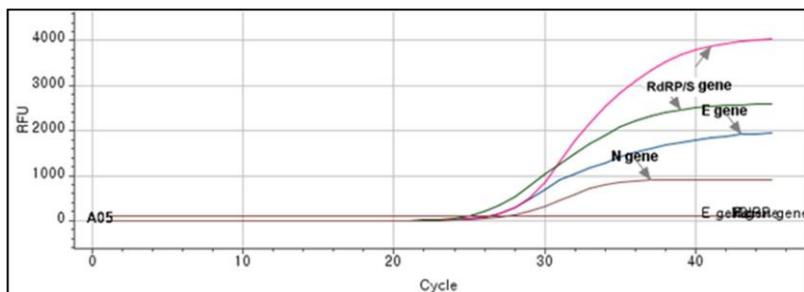
					di conferma, se necessario a differenziare tra SARS-CoV-2 e altri Sarbecovirus attualmente sconosciuti nelle infezioni umane, per scopi epidemiologici o gestione clinica.
-	-	-	+	Non rilevati (-)	Tutti i risultati target erano validi. Il risultato per SARS-CoV-2 RNA non è rilevato.
-	-	-	-	Non valido**	<ul style="list-style-type: none">- I risultati suggeriscono una raccolta o un'elaborazione dei campioni inadeguate o (e.g., nessun IC esogeno aggiunto) o la presenza di inhibitori di PCR.- Ripetere il test dall'estrazione dell'acido nucleico utilizzando un'altra parte aliquota del campione originale.- Se lo stesso risultato è mostrato nell'acido nucleico diluito, si prega di raccogliere di nuovo i campioni.

* Un alto livello di acidi nucleici target può causare interferenza nella rilevazione e visualizzazione del Controllo Interno. Un segnale IC non valido non indica che i risultati positivi per i target non siano validi.

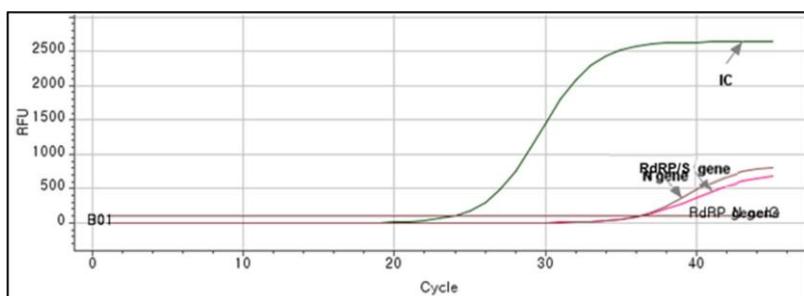
** Vedere la sezione RISOLUZIONE DEI PROBLEMI per le istruzioni dettagliate.

3. Applicazione ai campioni clinici

Campione Clinico 1



Campione Clinico 2



CFX96	FAM		Cal Red 610		Quasar 670		HEX		Auto interpretazione	
AB7500	FAM		ROX		CY5		VIC			
Campione	E gene	C(t)	RdRP/ S gene	C(t)	N gene	C(t)	IC	C(t)		
1	+	26,32	+	26,41	+	27,83	+	24,93	SARS-CoV-2	
2	-	N/A	+	36,25	+	36,36	+	23,85	SARS-CoV-2	

RISOLUZIONE DEI PROBLEMI

Allplex™ SARS-CoV-2 Assay		
OSSERVAZIONE	PROBABILI CAUSE	SOLUZIONE
Nessun segnale	I fluorocromi per l'analisi dei dati non sono conformi al protocollo	Selezionare i fluorocromi corretti per l'analisi dei dati.
	Impostazioni non corrette del termociclato real-time	Controllare le condizioni dei cicli termici e ripetere il test con le impostazioni corrette.
	Conservazione non corretta o scadenza del kit per il test	Controllare le condizioni di conservazione (Consultare pag. 8) e la data di scadenza (sull'etichetta) del kit per il test e utilizzare un nuovo kit se necessario.
	Estrazione dell'acido nucleico fallita	Se l'IC è stato aggiunto esogenamente al campione prima dell'estrazione, l'assenza del segnale IC può indicare la perdita di acidi nucleici durante l'estrazione. Assicurarsi di utilizzare il metodo di estrazione raccomandato. Se a causa degli inibitori, riestrarre il campione originale oppure il campione può essere diluito con tampone salino 1/3~1/10 parti, quindi aggiungere "RP-V IC 2" al campione diluito.
Nessun segnale di Internal Control	Alto carico di acido nucleico del patogeno	Se il segnale di patogeno target è osservato ma non l'IC, allora l'amplificazione IC può essere inibita dal titolo alto del patogeno target. Se si vuole osservare il segnale IC, diluire il campione (1/3~1/10) in tampone salino e ripetere il test dalla fase di estrazione.
	Presenza di inibitore di PCR	Diluire il campione (1/3~1/10) in tampone salino e ripetere il test dalla fase di estrazione.

Allplex™ SARS-CoV-2 Assay		
OSSERVAZIONE	PROBABILI CAUSE	SOLUZIONE
Falsi positivi putativi o segnali target osservati nel Controllo Negativo	Contaminazione	Decontaminare tutte le superfici e gli strumenti con ipoclorito di sodio ed etanolo. Usare solo filtri per tutta la durata della procedura e cambiarli tra le provette. Ripetere l'intera procedura dall'estrazione dell'acido nucleico con il nuovo set di reagenti.
Falsi negativi putativi o nessun segnale osservato nel Controllo Positivo	Errore nella raccolta del campione	Controllare il metodo di raccolta del campione e raccogliere di nuovo il campione.
	Conservazione non corretta del campione	Raccogliere di nuovo il campione e ripetere l'intera procedura. Assicurarsi che il campione sia conservato come raccomandato.
	Errore nell'estrazione dell'acido nucleico	Controllare la procedura di estrazione e la concentrazione dell'acido nucleico e riestrarre l'acido nucleico.
	Errore nell'aggiunta di acido nucleico alle provette di PCR corrette	Controllare i numeri dei campioni delle provette contenenti acido nucleico e assicurarsi di aggiungere acido nucleico nelle corrette provette PCR e ripetere attentamente il test se necessario.
	Presenza di inibitore	Diluire il campione (1/3~1/10) in tampone salino e ripetere il test dalla fase di estrazione.
	Mix PCR non corretto	Confermare che tutti i componenti siano aggiunti al mix di reazione (La sensibilità è compromessa con il premix precomposto). Tutti i reagenti devono essere omogeneizzati e centrifugati prima dell'uso.
Picchi nei cicli della curva di amplificazione	Bolla nella provetta PCR	Centrifugare la provetta PCR prima del ciclo.

PRESTAZIONE**1. Specificità**

L'alta specificità di Allplex™ SARS-CoV-2 Assay è assicurata dagli oligonucleotidi selezionati specificatamente per i target di interesse. Allplex™ SARS-CoV-2 Assay è stato testato per la reattività crociata a 57 patogeni diversi e l'amplificazione e rilevazione della PCR sono state identificate solo per i target specificati.

NO.	Organismo	Fonte	N. isolato	Risultato†
1	SARS-CoV-2 isolate Australia/VIC01	TWIST BIOSCIENCE	102019	E, RdRP/S, N gene rilevato
2	SARS-CoV-2 isolate Wuhan-Hu-1	TWIST BIOSCIENCE	102024	E, RdRP/S, N gene rilevato
3	Human coronavirus HKU1	Korean isolate		Non Rilevato
4	Human coronavirus OC43	ATCC	VR-1558	Non Rilevato
5	Human coronavirus NL63	ZMC	0810228CF	Non Rilevato
6	Human coronavirus 229E	Korean isolate		Non Rilevato
7	SARS-coronavirus, Tor2	BEI	NR-19270	E gene Rilevato (Analisi <i>In silico</i>)
8	MERS-coronavirus, EMC/2012	BEI	NR-45843	Non Rilevato (Analisi <i>In silico</i>)
9	Influenza A virus (H1N1)	ATCC	VR-95 (H1N1)	Non Rilevato
10	Influenza A virus (H3N2)	ATCC	VR-547	Non Rilevato
11	Influenza B virus	ATCC	VR-523	Non Rilevato
12	Human Rhinovirus 1	KBPV	VR-81	Non Rilevato
13	Rhinovirus 21	KBPV	VR-40	Non Rilevato
14	Human rhinovirus type 90	ATCC	VR-1291	Non Rilevato
15	Human rhinovirus type 16	ATCC	VR-283	Non Rilevato
16	Human rhinovirus type 42	ATCC	VR-338	Non Rilevato
17	Human rhinovirus type 8	ATCC	VR-488	Non Rilevato
18	Human rhinovirus type 14	ATCC	VR-284	Non Rilevato
19	Human enterovirus type 68	ATCC	VR-1826	Non Rilevato
20	Human enterovirus type 70	ATCC	VR-836	Non Rilevato
21	Human enterovirus type 71	ATCC	VR-784	Non Rilevato
22	Human respiratory syncytial virus A	ATCC	VR-26	Non Rilevato
23	human respiratory syncytial virus B	ATCC	VR-955	Non Rilevato

NO.	Organismo	Fonte	N. isolato	Risultato†
24	Parainfluenza 1 virus	ATCC	VR-1380	Non Rilevato
25	Human parainfluenza virus 2	ATCC	VR-92	Non Rilevato
26	Human parainfluenza virus 3	ATCC	VR-93	Non Rilevato
27	human parainfluenza 4 virus 4a	ATCC	VR-1378	Non Rilevato
28	Human parainfluenza virus 4b	ATCC	VR-1377	Non Rilevato
29	Human Metapneumovirus (MPV)	KBPV	VR-87	Non Rilevato
30	Human adenovirus 1	ATCC	VR-1	Non Rilevato
31	Human adenovirus 11	KBPV	VR-63	Non Rilevato
32	Human adenovirus 18	ATCC	VR-1095	Non Rilevato
33	Human adenovirus 23	ATCC	VR-1101	Non Rilevato
34	Human adenovirus 3	ATCC	VR-3	Non Rilevato
35	Human adenovirus 4	ATCC	VR-1572	Non Rilevato
36	Human adenovirus 8	ATCC	VR-1368	Non Rilevato
37	Human adenovirus type 31	ATCC	VR-1109	Non Rilevato
38	Human adenovirus type 40	ATCC	VR-931	Non Rilevato
39	Human adenovirus type 5	KBPV	VR-61	Non Rilevato
40	Human adenovirus type 35	ATCC	VR-718	Non Rilevato
41	Human Bocavirus (HBoV)	Korean isolate		Non Rilevato
42	Legionella pneumophila Serotype 2	ATCC	33154	Non Rilevato
43	<i>Legionella pneumophila</i> subsp. <i>fraseri</i> Serotype 4	ATCC	33156	Non Rilevato
44	<i>Legionella pneumophila</i> Serotype 7	ATCC	33823	Non Rilevato
45	<i>Legionella pneumophila</i> Serotype 10	ATCC	43283	Non Rilevato
46	<i>Legionella pneumophila</i> Serotype 11	ATCC	43130	Non Rilevato
47	<i>Legionella pneumophila</i> Serotype 12	ATCC	43290	Non Rilevato
48	<i>Legionella pneumophila</i> Serotype 13	ATCC	43736	Non Rilevato
49	<i>Legionella pneumophila</i> Serotype 14	ATCC	43703	Non Rilevato
50	<i>Legionella pneumophila</i> subsp. <i>fraseri</i> Serotype 15	ATCC	35251	Non Rilevato
51	<i>Mycoplasma pneumoniae</i>	ATCC	15293	Non Rilevato
52	<i>Streptococcus salivarius</i>	KCTC	5512	Non Rilevato
53	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	KCCM	40416	Non Rilevato
54	<i>Haemophilus influenzae</i>	ATCC	51907	Non Rilevato

NO.	Organismo	Fonte	N. isolato	Risultato†
55	<i>Mycobacterium tuberculosis</i>	ATCC	25177	Non Rilevato
56	<i>Alphacoronavirus 1 (feline infectious Peritonitis Virus), 79-1146</i>	BEI	NR-49097	Non Rilevato
57	<i>Porcine Respiratory Coronavirus, ISU-1</i>	BEI	NR-48572	Non Rilevato

† I test di specificità sono stati ripetuti 3 volte

※ ATCC: American Type Culture Collection,

BEI: BEI Resources

KBPV: Korea Bank for Pathogenic Viruses

ZMC: ZeptoMetrix Corporation

KCTC : Korean Collection for Type Cultures

2. Sensibilità

Per determinare la sensibilità di Allplex™ SARS-CoV-2 Assay, l'RNA genomico da SARS-CoV-2, ottenuto da TWIST BIOSCIENCE (N. cat. 102024) e BEI Resources (Cat. No. NR-52286) è stato diluito serialmente in matrice di campione negativo. Gli acidi nucleici sono stati estratti da ogni diluizione usando Microlab NIMBUS IVD e analizzati con Allplex™ SARS-CoV-2 Assay. Il limite di rilevazione di Allplex™ SARS-CoV-2 Assay verificato utilizzando l'RNA genomico di TWIST BIOSCENCE è di 5000 copie / mL (= 50 copie RNA / rxn). Il limite di rilevazione di Allplex™ SARS-CoV-2 Assay verificato utilizzando il virus SARS-CoV-2 inattivato di BEI Resources è pari a 1.000 equivalenti del genoma virale / mL (= 1,0 GE / µL. Al fine di determinare la sensibilità del test Allplex™ SARS-CoV-2 per l'estrazione grezza (crude extraction), il virus SARS-CoV-2 inattivato di BEI Resources è stato estratto con il metodo di estrazione grezza. Il limite di rilevazione per il metodo di estrazione grezza è di 10.000 equivalenti del genoma virale / mL (= 10 GE / µL).

3. Riproducibilità

Il test di riproducibilità è stato preparato includendo campioni Alto Negativi (0.1X LoD), Basso positivi (1X LoD) e Moderato positivi (3X LoD). In ogni luogo di test, il kit è stato testato per cinque giorni, due cicli al giorno da due sperimentatori diversi e triplici per ogni target. I valori positivi sono stati osservati per ogni target per lo studio di riproducibilità: 100.0% per i campioni Moderato positivi, ≥95% per i campioni Basso positivi. La riproducibilità del Allplex™ SARS-CoV-2 Assay è stata valutata tra cicli, luoghi e lotti di prodotto. I valori positivi per tutte le concentrazioni e i valori CV hanno rispettato i criteri di meno di 10 (<10).

I risultati sono stati soddisfatti con I Criteri impostati sopra, confermando così le performance riproducibili di Allplex™ SARS-CoV-2 Assay.

4. Sostanze interferenti

Non c'è stato effetto sul risultato aggiungendo le sostanze: rilevazione non specifica o inibizione sull'amplificazione target. In base ai risultati, 7 sostanza interferente non ha avuto effetto sui risultati di Allplex™ SARS-CoV-2 Assay.

No.	Sostanze interferenti	Fonte	Test concentrazioni
1	Mucin (bovine submaxillary gland, type I-S)	Sigma-Aldrich (Cat.No.M3895)	60 µg/ml
2	Mupirocin (Antibiotic, nasal ointment)	Sigma-Aldrich (Cat.No.1448901)	6,6 mg/ml
3	Oxymetazoline (Afrin Nasal Spray)	Sigma-Aldrich (Cat.No.O2378)	15% (v/v)
4	Blood	Human	2% (v/v)
5	Tobramycin (Antibacterial, systemic)	Sigma-Aldrich (Cat.No.T4014)	4,0 µg/mL
6	Zanamivir (Anti-viral drug-Relesta)	Sigma-Aldrich (Cat.No.SML0492)	3,3 mg/mL
7	Oseltamivir (Anti-viral drug-Tamiflu)	Sigma-Aldrich (Cat.No.1479304)	25 mg/mL

5. Performance clinica

Un totale di 187 campioni sono stati inclusi in questa performance clinica. I campioni consistono in 5 campioni di aspirato nasofaringeo, 61 campioni di tampone nasofaringeo, 5 campioni di lavaggio broncoalveolare, 59 campioni di tampone orofaringeo (gola) e 57 campioni di espettorato. La performance clinica dell' Allplex™ SARS-CoV-2 Assay è stata valutata mediante comparazione con un altro SARS-CoV-2 Real-Time RT-PCR Diagnostic Panel CE-IVD approvato in precedenza. Questo test di comparazione ha dimostrato più del 95% di concordanza nel campione clinico. Quindi, si conferma valida la qualità di Allplex™ SARS-CoV-2 Assay. La performance è riassunta nella tabella.

CE-IVD Risultato Approvato della Comparazione		
Positivo	Negativo	Totale
88	3*	91
0	96	96
88	99	187

- ORA (Valori totali di concordanza): 98,40% (95% CI: 95,38% a 99,67%)
- PPA (Percentuale di Concordanza Positiva): 100% (95% CI: 95,89% a 100,00%)
- NPA (Percentuale di Concordanza Negativa): 96,97% (95% CI: 91,40% a 99,37%)

* Mettendo in sequenziamento confermato il vero positivo.

5-2. Estrazione grezza (Crude extraction)

Un totale di 111 campioni di tampone è stato incluso in questa prestazione clinica di estrazione grezza. L'estrazione grezza è stata confrontata con l'estrazione standard per dimostrare la validità clinica dell'estrazione grezza per il saggio con Allplex™ SARS-CoV-2 Assay. Questo test comparativo mostra un tasso di concordanza superiore al 95% nel campione clinico. Pertanto, si conferma che la qualità dell'estrazione grezza per il test Allplex™ SARS-CoV-2 Assay è valida. Le prestazioni sono riassunte in tabella.

Estrazione Standard		
Positivi	Negativi	Totale
78	0	78
1*	32	33
79	32	111

- ORA (Valori totali di concordanza): 99.1% (95% CI: 95.07% to 99.8%)
- PPA (Percentuale di Concordanza Positiva): 98.7% (95% CI: 93.17 % to 99.78%)
- NPA (Percentuale di Concordanza Negativa): 100% (95% CI: 89.57% to 100%)
- * Mettendo in sequenziamento confermato il vero positivo.

RIFERIMENTI

1. J. Y. Chun. [High Multiplex Molecular Diagnostics.] Seegene Bulletin. (2012) 1:1-4
2. D. H. Lee. [TOCE: Innovative Technology for High Multiplex Real-time PCR.] Seegene Bulletin (2012) 1: 5-10
3. Y.J. Lee, et al. [Single-channel multiplexing without melting curve analysis in real-time PCR] Scientific Reports (2014) 4:7439
4. J. Y. Chun, et al. [Dual priming oligonucleotide system for the multiplex detection of respiratory viruses and SNP genotyping of CYP2C19 gene.] Nucleic Acids Research. (2007) 35(6):e40
5. Gobalenya AE, Baker SC, Baric RS, de Groot RJ, Drosten C, Gulyaeva AA, et al. (March 2020). "The species Severe acute respiratory syndrome-related coronavirus: classifying 2019-nCoV and naming it SARS-CoV-2". Nature Microbiology. 5 (4): 536–544. doi:10.1038/s41564-020-0695-z. PMID 32123347. Archived from the original on 5 March 2020. Retrieved 3 March 2020
6. "Coronavirus disease named Covid-19". BBC News Online. 11 February 2020. Archived from the original on 15 February 2020. Retrieved 15 February 2020
7. Surveillance case definitions for human infection with novel coronavirus (nCoV): interim guidance v1, January 2020 (Report). World Health Organization. January 2020. hdl:10665/330376. WHO/2019-nCoV/Surveillance/v2020.1
8. "Healthcare Professionals: Frequently Asked Questions and Answers". United States Centers for Disease Control and Prevention (CDC). 11 February 2020. Archived from the original on 14 February 2020. Retrieved 15 February 2020

-
9. "About Novel Coronavirus (2019-nCoV)". United States Centers for Disease Control and Prevention (CDC). 11 February 2020. Archived from the original on 11 February 2020. Retrieved 25 February 2020
 10. "CoV2020". GISAID EpifluDB. Archived from the original on 12 January 2020. Retrieved 12 January 2020
 11. "WHO Director-General's opening remarks at the media briefing on COVID-19 - 11 March 2020". World Health Organization (WHO) (Press release). 11 March 2020. Archived from the original on 11 March 2020. Retrieved 12 March 2020
 12. Wee SL, McNeil Jr. DG, Hernández JC (30 January 2020). "W.H.O. Declares Global Emergency as Wuhan Coronavirus Spreads". The New York Times. Archived from the original on 30 January 2020. Retrieved 30 January 2020
 13. Chan JF, Yuan S, Kok KH, To KK, Chu H, Yang J, et al. (February 2020). "A familial cluster of pneumonia associated with the 2019 novel coronavirus indicating person-to-person transmission: a study of a family cluster". *The Lancet*. 395 (10223): 514–523. doi:10.1016/S0140-6736(20)30154-9

PMID 31986261

14. Zhou P, Yang XL, Wang XG, Hu B, Zhang L, Zhang W, et al. (February 2020). "A pneumonia outbreak associated with a new coronavirus of probable bat origin". *Nature*. 579 (7798): 270–273. doi:10.1038/s41586-020-2012-7. PMC 7095418. PMID 32015507
15. Perlman S (February 2020). "Another Decade, Another Coronavirus". *The New England Journal of Medicine*. 382 (8): 760–762. doi:10.1056/NEJMMe2001126. PMID 31978944
16. Benvenuto D, Giovanetti M, Ciccozzi A, Spoto S, Angeletti S, Ciccozzi M (April 2020). "The 2019-new coronavirus epidemic: Evidence for virus evolution". *Journal of Medical Virology*. 92 (4): 455–459. doi:10.1002/jmv.25688. PMID 31994738
17. Novel Coronavirus (2019-nCoV): situation report, 22 (Report). World Health Organization. 11 February 2020. hdl:10665/330991
18. Shield C (7 February 2020). "Coronavirus: From bats to pangolins, how do viruses reach us?". Deutsche Welle. Retrieved 13 March 2020
19. Hui DS, I Azhar E, Madani TA, Ntoumi F, Kock R, Dar O, et al. (February 2020). "The continuing 2019-nCoV epidemic threat of novel coronaviruses to global health – The latest 2019 novel coronavirus outbreak in Wuhan, China". *The International Journal of Infectious Diseases*. 91: 264– 266. doi:10.1016/j.ijid.2020.01.009. PMID 31953166. open access

SIMBOLI

Simboli usati nel manuale e nelle etichette.

Simbolo	Spiegazione
	Dispositivo medico diagnostico in vitro
	Codice batch
	Numero catalogo
	Uso per data
	Limite massimo di temperatura
	Mix di oligonucleotide per l'amplificazione e la rilevazione
	Mix di Enzimi
	RNase-free Water
	Positive Control (PC)
	Internal Control (IC)
	Consultare le istruzioni per l'uso
	Produttore
	Data di produzione
	Rappresentante autorizzato nella Comunità Europea
	Attenzione
	Contiene a sufficienza per <n> test

INFORMAZIONI PER GLI ORDINI

N. cat.	Prodotto	Dimensioni
Allplex™ series		
RV10247Y	Allplex™ SARS-CoV-2 Assay	50 rxns
RV10248X	Allplex™ SARS-CoV-2 Assay	100 rxns*
* Solo per l'uso con Microlab NIMBUS IVD, Microlab STARlet IVD, Seegene NIMBUS e Seegene STARlet		
Prodotto accessorio		
SG1701	Ribo_spin vRD (Viral RNA/DNA Extraction Kit)	50 prep
Sistemi di estrazione automatica		
65415-02	Microlab NIMBUS IVD	EA
173000-075	Microlab STARlet IVD	EA
65415-03	Seegene NIMBUS	EA
67930-03	Seegene STARlet	EA
744300.4.UC384	STARMag 96 X 4 Universal Cartridge Kit	384T / 1box
EX00013C	STARMag 96 X 4 Viral DNA/RNA 200 C Kit	384T / 1box
SGprep32-180701	SGprep32	EA
EX00003P	STARMag 96 UniPlate	96 T / 1box
EX00004T	STARMag 96 UniTube	96 T / 1box
SG71100	SEEPREP32	EA
EX00009P	STARMag 96 ProPrep (Plate Type)	96 T / 1box
EX00009T	STARMag 96 ProPrep (Tube Type)	96 T / 1box