

## Test per SARS-CoV-2 Gen 2 VitaPCR™

**REF** PCRAE0120

Da utilizzare con lo strumento VitaPCR™

Per campioni da tampone rinofaringeo (RF) o orofaringeo (OF)

Solo per uso diagnostico *in vitro*.

---

### DESTINAZIONE D'USO

---

Il test SARS-CoV-2 Gen 2 VitaPCR™ eseguito dallo strumento VitaPCR™ è un esame diagnostico molecolare rapido *in vitro* che utilizza una tecnologia di amplificazione della reazione a catena della polimerasi per trascrizione inversa in tempo reale (RT-PCR, Reverse Transcription Polymerase Chain Reaction) per la determinazione qualitativa dell'RNA virale della malattia causata dal Coronavirus 2019 (COVID-19) in tamponi rinofaringei (RF) o orofaringei (OF) prelevati da pazienti sospettati di infezione da COVID-19 da parte di personale sanitario.

I risultati servono per la presunta identificazione del SARS-CoV-2. L'identificazione definitiva dell'infezione da SARS-CoV-2 richiede ulteriori test e procedure di conferma in collaborazione con il sistema sanitario pubblico o altri enti ai quali è obbligatoria la segnalazione. La diagnosi dell'infezione da SARS-CoV-2 deve essere effettuata sulla base di anamnesi, segni, sintomi, probabilità di esposizione e altre prove di laboratorio, oltre all'identificazione del SARS-CoV-2.

I test molecolari rapidi che identificano il virus bersaglio nei pazienti infetti da SARS-CoV-2 possono aiutare nel controllo efficace dell'epidemia a livello globale. L'infezione da SARS-CoV-2 non è preclusa da risultati negativi. I risultati non devono essere utilizzati come unica base per la diagnosi, per il trattamento o per prendere decisioni relative alla gestione del paziente.

Il test SARS-CoV-2 Gen 2 VitaPCR™ è destinato all'uso da parte di tutti i Professionisti Sanitari.

---

### RIEPILOGO E SPIEGAZIONE

---

La malattia da Coronavirus 2019 (COVID-19) è una malattia respiratoria acuta causata dall'infezione da parte del virus SARS-CoV-2, inizialmente segnalato all'OMS a Wuhan (Cina) il 31 dicembre 2019. Il virus SARS-CoV-2 appartiene alla stessa famiglia di virus responsabili della SARS (sindrome respiratoria acuta grave) e si trasmette da una persona all'altra. Le goccioline contenenti il virus emesse da una persona infetta possono essere trasmesse ad un'altra persona attraverso il naso, gli occhi o la bocca.

I sintomi dell'infezione da SARS-CoV-2 possono variare da lievi malesseri, come raffreddore, mal di gola, tosse e febbre; nei casi gravi, può portare a polmonite, difficoltà respiratorie o morte.

Il test SARS-CoV-2 Gen 2 VitaPCR™ eseguito con lo strumento VitaPCR™ è un esame diagnostico molecolare rapido *in vitro* che utilizza la tecnologia di amplificazione della reazione a catena della polimerasi per trascrizione inversa in tempo reale (RT-PCR) per la determinazione qualitativa del SARS-CoV-2. Il prodotto contiene primer, sonde marcate con fluorofori e materiali di controllo che vengono utilizzati nella RT-PCR per il rilevamento qualitativo *in vitro* dell'RNA specifico del virus SARS-CoV-2 in campioni provenienti dall'apparato respiratorio.

---

### PRINCIPIO DEL TEST

---

Il test SARS-CoV-2 Gen 2 VitaPCR™ eseguito con lo strumento VitaPCR™ è un esame diagnostico rapido molecolare *in vitro* che utilizza una tecnologia real-time di amplificazione della reazione a catena della polimerasi per trascrizione inversa (RT-PCR) per il rilevamento e la determinazione qualitativa dell'RNA virale del virus SARS-CoV-2 in tamponi rinofaringei (RF) o orofaringei (OF) ottenuti da pazienti sospettati di infezione da COVID-19 da parte di personale sanitario. Il test rileva sia l'RNA specifico del SARS-CoV-2 che l'RNA del virus SARS-like universale (che comprende SARS-CoV-2, SARS-CoV e coronavirus SARS-like del pipistrello), ed entrambi i bersagli si trovano sulle regioni del gene del nucleocapside (N) del virus. Il test comprende un RNA a singolo filamento artificiale che funge da controllo interno (IC) per il monitoraggio dell'intero processo RT-PCR.

Il rilevamento delle sequenze bersaglio avviene attraverso la misurazione real-time della sonda di rilevamento marcata con fluorofori clivata specifica per il SARS-CoV-2, della sonda del SARS-CoV-2 universale e della sonda di rilevamento dell'RNA del controllo interno in seguito all'amplificazione della sequenza mediante coppie di primer rispettivamente specifici. La provetta del reagente viene quindi caricata sullo strumento VitaPCR™ e il tempo di risposta per l'analisi di un campione è di circa 20 minuti.

## REAGENTI E MATERIALI

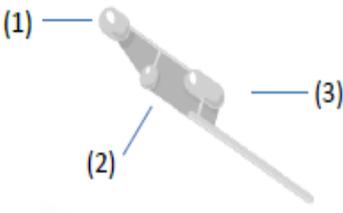
### Materiali forniti

Test per SARS-CoV-2 Gen 2 VitaPCR™	
	<b>Buffer di prelievo campione_A VitaPCR™:</b> provetta di plastica con tappo a vite contenente 4 ml di buffer per il prelievo del campione.
	<b>Provetta del reagente:</b> provetta trasparente per l'analisi con reagenti liofilizzati per l'amplificazione mirata dell'RNA del virus SARS-CoV-2.
	<b>Tappo della provetta del reagente:</b> tappo in plastica utilizzato per chiudere ermeticamente la provetta del reagente dopo l'aggiunta del campione.
Guida di riferimento rapido del test per SARS-CoV-2 Gen 2 VitaPCR™	

### Materiali necessari ma non forniti

	Strumento VitaPCR™
	Rack
	Adattatore di alimentazione (INGRESSO: AC 100-240V, 2.0A max, 50-60Hz. USCITA: DC 12V, 5A)
	<b>Tampone rinofaringeo o tampone orofaringeo:</b> per prestazioni ottimali, utilizzare SOLO tamponi conformi ai requisiti della Direttiva CE per i dispositivi medici. Per evitare interferenze, non utilizzare tamponi con bastoncini in legno, né tamponi con alginato di calcio poiché potrebbero contenere inibitori della reazione. Si consiglia vivamente l'uso di tamponi floccati o in fibra sintetica con bastoncini in plastica.
Manuale d'uso dello strumento VitaPCR™ Guida di riferimento rapido dello strumento VitaPCR™	

### Materiali non forniti, da acquistare separatamente

	<b>Pipetta per il trasferimento:</b> Componente in plastica monouso dotate di tre bulbi. Il <b>bulbo superiore (1)</b> serve per aspirare e rilasciare la soluzione. Il <b>bulbo centrale (2)</b> serve per pipettare. Il <b>bulbo inferiore (3)</b> è la camera di troppopieno. La pipetta viene utilizzata per trasferire l'estratto del campione dal buffer di prelievo campione alla provetta del reagente.
	<b>Pipetta regolabile e puntale con filtro:</b> Le pipette regolabili erogano la stessa quantità di liquido ogni volta. Viene utilizzata per trasferire l'estratto del campione dal buffer per il prelievo del campione alla provetta del reagente.

## **Materiali disponibili in commercio, ma da acquistare separatamente**

Controllo esterno	
Set per controllo esterno SARS-CoV-2 Gen 2 VitaPCR™	Il controllo esterno è disponibile in commercio, ma non fornito nella confezione di questo test. Se necessario, contattare il distributore di zona.

---

## **PRECAUZIONI**

---

1. Solo per uso diagnostico *in vitro*.
2. Evitare il contatto tra il tampone di prelievo del campione e la pelle. Indossare i guanti prima di eseguire l'analisi.
3. Utilizzare esclusivamente con lo strumento VitaPCR™
4. Trattare tutti i campioni come agenti potenzialmente infettivi. Adottare le abituali precauzioni generali nella manipolazione dei campioni, di questo kit e del relativo contenuto. Fare riferimento alle linee-guida per la manipolazione dei campioni.
5. Per ottenere risultati corretti è essenziale effettuare correttamente il prelievo, la conservazione e il trasporto dei campioni. Utilizzare solo i tipi di campioni approvati descritti nel paragrafo "Destinazione d'uso".
6. Si sconsiglia di utilizzare tamponi precedentemente conservati in VTM o UTM poiché il test non sarebbe valido.
7. Non aprire la busta di alluminio della provetta del reagente prima di eseguire l'analisi.
8. Non utilizzare il kit dopo la data di scadenza.
9. Se uno dei componenti del test cade a terra, si rompe, viene danneggiato o viene trovato aperto al momento della ricezione, NON UTILIZZARLO e gettarlo via. Non utilizzare forbici o oggetti appuntiti per aprire le buste di alluminio, poiché potrebbe esserne danneggiato il contenuto.
10. Se il tampone di prelievo del campione viene versato durante l'apertura, pulire l'area di lavoro come indicato nel Manuale d'uso del dispositivo. Se necessario o se si sospetta una contaminazione, ripetere l'analisi con un nuovo tampone di prelievo del campione.
11. Non lasciare nulla sul rack e sul dispositivo dopo l'analisi. Smaltire i vari materiali del test come previsto dalle norme locali e nazionali, e come indicato nel Manuale d'uso del dispositivo. Per lo smaltimento corretto dei rifiuti attenersi alle normative locali o statali.
12. Tutti i materiali del kit sono monouso. Non applicare su più campioni.
13. La provetta del reagente contiene molti segmenti di virus dopo la reazione. Gettarlo e non aprire il coperchio al termine del test.
14. Raramente i campioni di analisi possono contenere inibitori che impediscono l'esecuzione dell'analisi. Il tasso di errore è un risultato caso per caso.
15. I campioni positivi precedenti lasciati intorno all'area di lavoro possono causare risultati falsi positivi. Maneggiare i campioni in base alle prassi di laboratorio standard. Pulire il dispositivo e le superfici circostanti attenendosi al Manuale d'uso.
16. Una quantità eccessiva di sangue nel campione può interferire con le prestazioni dello strumento.
17. Non toccare le teste dei tamponi di campionamento: potrebbero verificarsi contaminazioni che interferirebbero con le prestazioni dello strumento.

---

## **CONTROLLO QUALITÀ**

---

### **Controllo interno (CI)**

Ogni provetta di reagente contiene un controllo interno per verificare l'intero processo di PCR. Il controllo interno verifica la validità del reagente per le reazioni PCR associate al campione. Tra tutti i risultati generali, il controllo interno mostra costantemente il segnale. In alcune circostanze speciali, è possibile che il target venga rilevato senza il segnale del controllo interno a causa dell'inibizione molecolare.

### **Controlli positivi e negativi esterni**

- Il controllo positivo è costituito da un trascritto dell'RNA del segmento del gene N del SARS-CoV-2, sequenza che viene utilizzata come bersaglio sia per primer/sonde universali che per primer/sonde specifici.
- Aggiungere 40 µl di controllo positivo nel buffer di prelievo del campione del test SARS-CoV-2 Gen 2 VitaPCR™ ed eseguire immediatamente la procedura di analisi del controllo positivo.

- Il buffer di prelievo campione (SCB) può essere usato come controllo negativo seguendo la procedura per l'esecuzione dell'analisi del controllo negativo.
- Questi controlli vengono utilizzati per i test di controllo qualità e vanno eseguiti ogni volta al momento della ricezione di nuovi kit o quando si addestra un nuovo operatore secondo le normative locali, statali e/o federali, le procedure di controllo della qualità di gruppi di accreditamento o le procedure di controllo qualità standard di laboratorio.
- Se non si supera il CQ esterno, ripetere l'analisi o contattare il distributore locale.

Controllo di qualità					
Tipo di controllo	Nome del controllo esterno del tipo di controllo	Usato per monitorare	RNA specifico del SARS-CoV-2	RNA SARS-like universale	Controllo interno
Controllo positivo	Segmento del gene N del SARS-CoV-2	Errore sostanziale del reagente, compresa l'integrità del primer e della sonda di rilevamento	+	+	+
Controllo negativo	Buffer di prelievo campione	Contaminazione da reagente e/o ambientale	-	-	+

## CONSERVAZIONE E STABILITÀ

Conservare il kit reagente a 5-25°C. Il test SARS-CoV-2 Gen 2 VitaPCR™ è stabile prima della data di scadenza indicata sull'esterno della confezione e sui contenitori. Assicurarsi che tutti i materiali del test abbiano raggiunto la temperatura ambiente prima dell'uso.

## PRELIEVO E GESTIONE DEL CAMPIONE

Per ottenere prestazioni ottimali utilizzare campioni appena prelevati. Un prelievo del campione inadeguato o una manipolazione/conservazione/trasporto del campione non corretti possono produrre risultati errati.

Per prestazioni ottimali, utilizzare SOLO tamponi conformi ai requisiti della Direttiva CE per i dispositivi medici. Per evitare interferenze, non utilizzare tamponi con bastoncini in legno, né tamponi con alginato di calcio poiché potrebbero contenere inibitori della reazione. Si consiglia vivamente l'uso di tamponi floccati o in fibra sintetica con bastoncini in plastica. Collocare immediatamente i tamponi rinofaringei o orofaringei prelevati dal paziente nel buffer di raccolta del campione.

### **Tampone rinofaringeo (tampone RF)**

Inserire con cautela il tampone nella narice e strofinarlo direttamente all'indietro senza inclinare la sua testa verso l'alto o verso il basso. Con una rotazione delicata, inserire il tampone nelle narici anteriori parallelamente al palato, facendo avanzare il tampone nella rinofaringe, lasciarlo in posizione per alcuni secondi, quindi ruotare lentamente il tampone durante l'estrazione. Per un prelievo corretto il tampone deve essere strofinato per una distanza pari alla metà della distanza che c'è tra il naso e la punta dell'orecchio, NON ESERCITARE FORZA durante l'inserimento del tampone.

### **Tampone orofaringeo (tampone OF, ad es. tampone per la gola)**

Strofinare con il tampone sia la faringe posteriore che le tonsille, evitando la lingua.

## TRASPORTO E CONSERVAZIONE DEL CAMPIONE

I campioni prelevati su tampone devono essere analizzati il più presto possibile. Se non è possibile analizzarli immediatamente, attenersi alle seguenti indicazioni per il trasporto e lo stoccaggio:

1. i campioni su tampone devono essere conservati ad una temperatura compresa tra 2°C e 8°C per un massimo di 24 ore;
2. i campioni eluiti nel buffer di prelievo possono essere conservati alle seguenti temperature:
  - tra 2°C e 25°C fino a 7 giorni (idealmente tra 2°C e 8°C in frigorifero).
  - Per lo stoccaggio a lungo termine i campioni devono essere congelati a -80°C.

Si sconsiglia di utilizzare tamponi precedentemente conservati in VTM o UTM poiché il test non sarebbe valido.

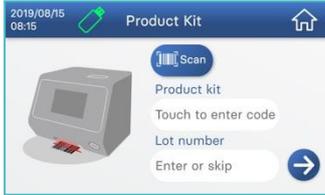
**Nota: Conservare il campione alle temperature sopra indicate. Non congelare e scongelare ripetutamente il campione.**

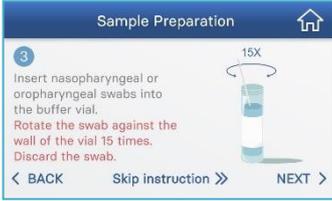
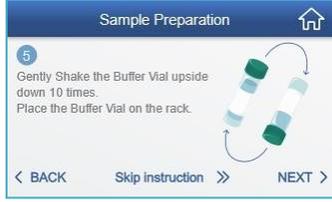
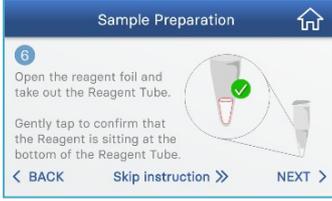
## PROCEDURA DI ANALISI

Prima di eseguire il test per il SARS-CoV-2 Gen 2 VitaPCR™:

- portare tutti i campioni a temperatura ambiente;
- portare tutti i materiali per il test a temperatura ambiente.

Per ottenere i risultati migliori, i tamponi rinofaringei o orofaringei diretti devono essere analizzati immediatamente dopo il prelievo.

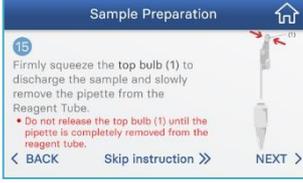
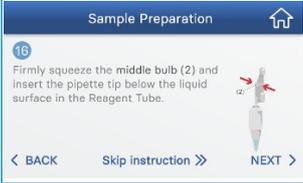
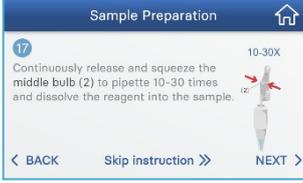
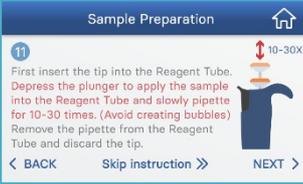
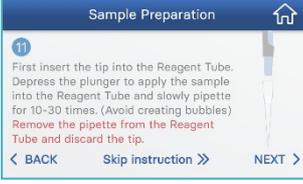
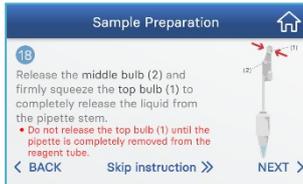
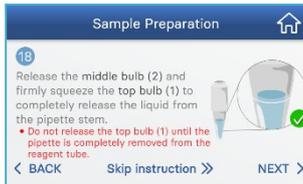
<p>Posizionare lo strumento VitaPCR™ su una superficie piana. Accendere lo strumento VitaPCR™ premendo il pulsante di accensione che si trova sul lato anteriore dello strumento.</p>	
<p>Selezionare l'identificativo dell'utente (User ID). Immettere la password dell'utente. Premere "Log in".</p>	
<p>Premere "Run Test" (Esegui analisi).</p>	
<p>Eseguire la scansione del codice a barre sulla confezione del reagente tramite il lettore di codici a barre integrato nella parte bassa del pannello anteriore dello strumento VitaPCR™.</p>	
<p>Eseguire la scansione o immettere l'identificativo del paziente. Confermare il tipo di kit prodotto e l'ID del paziente.</p>	
<p>1. Etichettare il flacone del tampone con l'identificativo e la data del paziente.</p>	

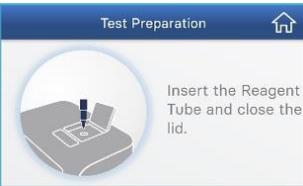
<p>2. Svitare il tappo del flacone del tampone.</p>	
<p>3. Inserire tamponi rinofaringei o orofaringei nel flaconcino del tampone. Far ruotare il tampone contro la parete del flaconcino <b>almeno 15 volte</b>. Gettare il tampone.</p>	 
<p>4. Avvitare il tappo del flacone del tampone.</p>	
<p>5. Capovolgere il flacone del tampone <b>10 volte</b>. Posizionare il flacone del tampone sul rack.</p>	
<p>6. Aprire la busta di alluminio del reagente ed estrarre la provetta del reagente. Picchiettare delicatamente per verificare che il reagente sia presente sul fondo della provetta.</p>	
<p>7. Posizionare il flacone del buffer e la provetta del reagente nel portaprovette.</p>	

Scegliere la pipetta che si intende utilizzare.

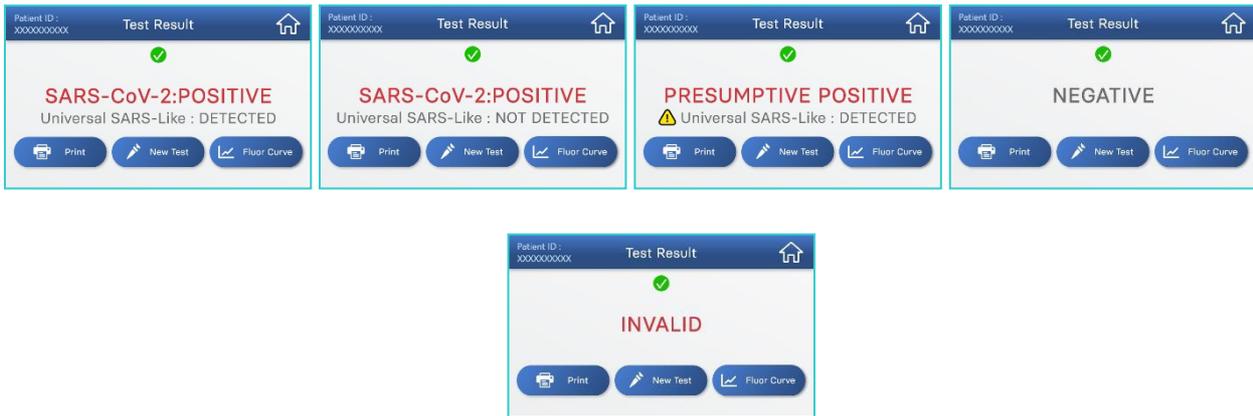


	Pipetta regolabile e puntale con filtro		Pipetta per il trasferimento
<p>8. Togliere il sigillo in alluminio dalla provetta del reagente. Svitare il tappo del flacone del buffer.</p>		<p>8. Togliere il sigillo in alluminio dalla provetta del reagente. Svitare il tappo del flacone del tampone. Estrarre la pipetta dalla confezione.</p> <p>9. Il <b>bulbo superiore (1)</b> serve per aspirare e rilasciare la soluzione. Il <b>bulbo centrale (2)</b> serve per pipettare. Il bulbo <b>inferiore (3)</b> è la camera di troppopieno.</p> <p><i>* NON schiacciare il bulbo inferiore (3) durante l'intera operazione.</i></p>	
<p>9. Se si sta utilizzando una pipetta a volume regolabile, impostare il volume a 30 µl. Inserire bene il puntale sulla pipetta.</p>		<p>10. Premere con decisione il <b>bulbo superiore (1)</b> e non rilasciare.</p> <p>11. Tenere premuto il <b>bulbo superiore (1)</b> e posizionare la punta della pipetta al di sotto della superficie liquida del <b>Buffer di raccolta campione</b>.</p> <p>12. Tenere la punta della pipetta sotto la superficie del liquido e rilasciare delicatamente il <b>bulbo superiore (1)</b>.</p> <p>13. Controllare che lo stelo della pipetta sia pieno di liquido senza bolle.</p>	

<p>10. Tenere premuto il pistone e inserire il puntale nel buffer di prelievo campione.</p> <p>Rilasciare il pistone lentamente per aspirare il liquido.</p> <p><i>* Fare attenzione a non lasciare che si formino bolle nel puntale.</i></p>	 	<p>14. Inserire il puntale della pipetta nella <b>provetta del reagente</b>.</p> <p>15. Premere con decisione il <b>bulbo superiore (1)</b> per far fuoriuscire il campione e rimuovere lentamente la pipetta dalla provetta del reagente.</p> <p><i>* NON rilasciare il bulbo superiore (1) fino a quando la pipetta non è completamente uscita dalla provetta del reagente.</i></p>	 
		<p>16. Premere con decisione il <b>bulbo centrale (2)</b> e inserire la punta della pipetta sotto la superficie del liquido nella provetta del reagente.</p> <p>17. Continuare a rilasciare e premere il <b>bulbo centrale (2)</b> pipettando <b>10-30 volte</b> e sciogliere il reagente nel campione.</p>	 
<p>11. Prima inserire il puntale nella provetta del reagente.</p> <p>Premere il pistone per applicare il campione nella provetta del reagente e pipettare lentamente per 10-30 volte.</p> <p>Togliere la pipetta dalla provetta del reagente e gettare il puntale.</p> <p><i>* Nota: evitare la formazione di bolle.</i></p>	  	<p>18. Rilasciare il <b>bulbo centrale</b> e premere con forza il <b>bulbo superiore (1)</b> in modo da far uscire il liquido dallo stelo della pipetta.</p> <p><i>* Non rilasciare il bulbo superiore (1) fino a quando la pipetta non è completamente uscita dalla provetta del reagente.</i></p>	 

<p>12. Recuperare il tappo del reagente. Chiudere la provetta con il tappo (premere il tappo fino a che non si sente il 'click'.)</p> <p><i>* Nota: accertarsi che non vi sia spazio tra il tappo e la provetta del reagente.</i></p> <p>13. Far oscillare la provetta con un movimento rapido e netto verso il basso per <b>tre volte</b> per eliminare le bolle.</p>	 	<p>19. Recuperare il tappo del reagente. Chiudere la provetta con il tappo (premere il tappo fino a che non si sente il 'click'.)</p> <p><i>* Nota: accertarsi che non vi sia spazio tra il tappo e la provetta del reagente.</i></p> <p>20. Far oscillare la provetta con un movimento rapido e netto verso il basso per <b>tre volte</b> per eliminare le bolle.</p>	 
<p>Premere il pulsante per aprire il coperchio.</p> <p>Inserire la provetta del reagente e chiudere il coperchio.</p> <p>Premere "Run" (esegui) per avviare la reazione.</p>	  		
<p>Verificare che la percentuale di processo sullo schermo VitaPCR™ avanzi. La barra di avanzamento circolare diventa progressivamente blu durante l'esecuzione dell'analisi.</p> <p><b>Nota:</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• La schermata continuerà a mostrare la percentuale fino al completamento (100%). Al termine dell'esecuzione dell'analisi lo strumento VitaPCR™ emette un segnale acustico.</li> <li>• Durante la reazione il coperchio è bloccato. Non tentare di riaprire il coperchio dello strumento VitaPCR™ fino a che il display non indica che l'analisi è terminata.</li> <li>• Per interrompere il test, premere "End Run" (interrompi analisi) e attendere le istruzioni sullo schermo.</li> <li>• Non spostare, né scollegare lo strumento VitaPCR™ durante l'esecuzione dell'analisi.</li> </ul>			

## Interpretazione dei risultati:



**Nota:** Premere il pulsante "New test" (nuovo test) per avviare una nuova analisi.

## INTERPRETAZIONE DEI RISULTATI E REFERTO

Nella tabella che segue sono elencati i risultati attesi per il test SARS-CoV-2 Gen 2 VitaPCR™.

Rilevamento dell'RNA specifico del SARS-CoV-2	Rilevamento di RNA SARS-like universale	Controllo interno	Risultato	Interpretazione
+	+	±	<b>Positivo</b>	RNA di SARS-CoV-2 rilevato (vengono rilevati sia l'RNA specifico del SARS-CoV-2 che l'RNA SARS-like universale)
+	-	±		RNA di SARS-CoV-2 rilevato (se l'RNA SARS-like universale non viene rilevato, ciò potrebbe essere dovuto ad una bassa carica virale nel campione o all'accumulo di mutazioni nel tempo)
-	+	±	<b>Presunto positivo</b>	<p>Presunto positivo all'RNA del SARS-CoV-2.</p> <p>(se l'RNA specifico del SARS-CoV-2 non viene rilevato, ciò potrebbe essere dovuto ad una bassa carica virale nel campione o all'accumulo di mutazioni nel tempo)</p> <p>Il campione deve essere testato nuovamente. Sui campioni che danno ripetutamente un risultato "presunto positivo" potrebbe essere necessario eseguire ulteriori test di conferma se necessario per distinguere tra SARS-CoV-2 e SARS-CoV-1 o altri coronavirus SARS-like attualmente sconosciuti che potrebbero infettare l'uomo, a fini epidemiologici o di gestione clinica.</p>
-	-	+	<b>Negativo</b>	SARS-CoV-2 non rilevato
-	-	-	<b>Non valido</b>	Inibizione della RT-PCR o mancato funzionamento del reagente. Prelevare un altro campione e ripetere l'analisi.

**NOTA:**  
A causa dell'evoluzione molecolare del SARS-CoV-2, esiste un rischio intrinseco per qualsiasi apparecchiatura di analisi basata su PCR che l'accumulo di mutazioni nel tempo possa portare a risultati falsi negativi.

---

## PULIZIA DEL DISPOSITIVO

---

Si consiglia di pulire lo strumento VitaPCR™ ogni giorno dopo l'uso.

### **Procedura:**

1. Scollegare il cavo di alimentazione dalla presa a muro e dallo strumento VitaPCR™.
2. Chiudere il coperchio.
3. Utilizzando etanolo al 70% o una salvietta monouso germicida, pulire delicatamente le superfici esterne dello strumento VitaPCR™ rimuovendo l'eventuale sporcizia.

**NOTA: Non premere la salvietta contro le aperture dello strumento VitaPCR™.**

4. Con un'altra salvietta pulire la parte anteriore dello strumento strofinando due volte dall'alto verso il basso, quindi due volte da sinistra verso destra. Ripetere questo passaggio per la parte posteriore, superiore e inferiore dello strumento VitaPCR™.
5. Eliminare ogni ristagno di liquido intorno alle aperture. Accertarsi che non entri liquido nel dispositivo.
6. Lasciare asciugare l'apparecchio per almeno 10 minuti e controllare che sia completamente asciutto prima di ricollegare il cavo di alimentazione dell'adattatore CA.

---

## LIMITI

---

- Le prestazioni del test del SARS-CoV-2 Gen 2 VitaPCR™ sono determinate dalle procedure descritte nel presente documento. La mancata osservanza delle istruzioni può alterare le prestazioni del test.
- Il test del SARS-CoV-2 Gen 2 VitaPCR™ deve essere utilizzato su campioni da tampone rinofaringeo o orofaringeo.
- Il prelievo, la conservazione o il trasporto non corretti del campione possono portare a risultati falsi negativi.
- I risultati dei test devono essere esaminati insieme all'anamnesi del paziente, ai segni e ai sintomi clinici e i risultati di altri test diagnostici.
- Come per altri test, i risultati negativi non precludono l'infezione da SARS-CoV-2 e non devono essere utilizzati come base unica delle decisioni di gestione relative al paziente.
- Se i livelli di virus sono inferiori al limite di rivelabilità, possono verificarsi falsi risultati negativi.
- Si possono avere falsi negativi anche in caso di mutazioni nelle regioni interessate dal test.
- La presenza di inibitori nel campione può portare a risultati non validi.

## CARATTERISTICHE PRESTAZIONALI

### Sensibilità analitica (limite di rivelabilità)

Gli studi LoD (limite di rivelabilità) calcolano la concentrazione più bassa rilevabile alla quale  $\geq 95\%$  (19/20) dei replicati erano positivi. Il virus ricombinante contenente RNA di SARS-CoV-2 (Seracare, SARS-CoV-2 AccuPlex, codice materiale 0505-0129) è stato diluito in serie in matrice clinica simulata per lo studio di determinazione del LoD. Il SARS-CoV-2 AccuPlex è stato aggiunto al buffer di prelievo del campione (BPC) costituito da una matrice clinica negativa in modo da mimare il campione clinico. La matrice clinica negativa viene creata dai campioni RF o OF prelevati dai singoli pazienti, conservati a  $-20^{\circ}\text{C}$  in una provetta di plastica pulita, asciutta ed ermeticamente chiusa per un tempo massimo di 24 ore prima dell'esecuzione dell'analisi. I campioni sono sottoposti alla procedura operativa standard con il test SARS-CoV-2 Gen 2 VitaPCR™ in conformità alle istruzioni per l'uso.

I dati raccolti dimostrano che il test SARS-CoV-2 Gen 2 VitaPCR™ rileva 1,0 copie/ $\mu\text{l}$  di virus ricombinante SARS-CoV-2 con una confidenza del  $\geq 95\%$ . Questa concentrazione vale dunque come limite di rivelabilità.

Sensibilità analitica (LoD) della rilevabilità della regione specifica del SARS-CoV-2			
Concentrazione di RNA (copie/ $\mu\text{l}$ )	% di rilevamento repliche	TC media	Deviazione standard (CT)
1,0	100 (20/20)	37,00	1,45
0,5	90 (18/20)	37,94	0,94

Sensibilità analitica (LoD) della rilevabilità della regione specifica del SARS-like universale			
Concentrazione di RNA (copie/ $\mu\text{l}$ )	% di rilevamento repliche	TC media	Deviazione standard (CT)
1,0	100 (20/20)	37,95	1,10
0,5	85 (17/20)	39,47	0,94

### Analisi della specificità *in silico* (reattività crociata)

È stata eseguita una analisi BLASTn con il primer e la sonda del test SARS-CoV-2 Gen 2 VitaPCR™ rispetto a tutte le sequenze di acidi nucleici disponibili al pubblico presenti nella GenBank al 06 marzo 2020. La raccolta dei nucleotidi è costituita dalle sequenze della GenBank, EMBL, DDBJ, PDB e RefSeq, ma esclude le sequenze brevettate EST, STS, GSS, WGS, TSA, nonché le sequenze HTGS di fase 0, 1 e 2 e le sequenze più lunghe di 100 Mb. I punteggi di corrispondenza e mancata corrispondenza (match e mismatch) sono rispettivamente 1 e -3. Le penalità per la creazione e l'estensione di un gap sono rispettivamente 5 e 2.

#### **Primer/sonda specifici per il SARS-CoV-2**

Le sequenze di primer dirette e inverse dell'RNA specifico del SARS-CoV-2 hanno mostrato una omologia di sequenza elevata ai coronavirus del pipistrello. Tuttavia, la sequenza della sonda non ha mostrato alcuna omologia di sequenza con i coronavirus SARS, SARS-like del pipistrello e con altri genomi del coronavirus (tranne che per il coronavirus RaTG13 rilevato nei pipistrelli) o il genoma umano. Combinando primer e sonda, non si prevedono possibili falsi positivi alla RT-PCR.

#### **Primer/sonda per il SARS-like universale**

L'analisi delle sequenze di primer e sonde dirette e inverse dell'RNA del virus SARS-like universale ha mostrato un'omologia significativa solo al coronavirus SARS umano che al coronavirus SARS-like del pipistrello. Combinando primer e sonda, non si osservano omologie significative con il genoma umano, né con altri coronavirus (ad eccezione dell'RaTG13 del coronavirus del pipistrello) che potrebbero comportare risultati falsi positivi alla RT-PCR.

In sintesi, non si prevede una potenziale reattività crociata per entrambi i bersagli.

### Analisi della specificità (reattività crociata)

Le prestazioni in termini di reattività crociata (cross-reattività) del test SARS-CoV-2 Gen 2 VitaPCR™ sono state valutate analizzando gli organismi interi o gli idonei campioni rappresentativi sotto elencati. Questi organismi sono stati testati in tre repliche in questo studio. Sono stati analizzati livelli elevati di questi organismi (precisamente  $10^6$  CFU/ml per i batteri e  $10^5$  TCID<sub>50</sub>/ml per i virus) mediante aggiunta al buffer di prelievo campione con matrice clinica e poi è stato eseguito il test SARS-CoV-2 Gen 2 VitaPCR™ con la stessa procedura operativa per osservare eventuali reazioni false positive.

Alle concentrazioni testate con il test SARS-CoV-2 Gen 2 VitaPCR™ con gli organismi selezionati non è stata osservata alcuna reattività crociata. Per come è stato progettato il test, il coronavirus SARS dovrebbe essere rilevato mediante un combinato primer/sonda per virus SARS-like universale (i risultati sono stati illustrati come “presunto positivo”).

Organismi	Concentrazione	Rilevamento di RNA specifico di SARS-CoV-2	Rilevamento di RNA di SARS-like universale
		Risultati (x/3)	Risultati (x/3)
Coronavirus umano 229E	1.00x10 <sup>7</sup> TCID <sub>50</sub> /ml	0/3	0/3
Adenovirus umano tipo 1	5,62 x 10 <sup>8</sup> TCID <sub>50</sub> /ml	0/3	0/3
Influenza A/California/7/2009 (H1N1)	3,16x10 <sup>6</sup> TCID <sub>50</sub> /ml	0/3	0/3
Influenza A/Wisconsin/67/2005 (H3N2)	3,16x10 <sup>7</sup> TCID <sub>50</sub> /ml	0/3	0/3
Influenza B/Malaysia/2506/2004 (B/Victoria)	3,16x10 <sup>5</sup> TCID <sub>50</sub> /ml	0/3	0/3
Virus respiratorio sinciziale di tipo A	1.17x10 <sup>5</sup> TCID <sub>50</sub> /ml	0/3	0/3

### Studio sulle interferenze di sostanze endogene

Per dimostrare che la funzione prevista del test SARS-CoV-2 Gen 2 VitaPCR™ sarà operativa se il campione viene testato in presenza di sostanze endogene comuni abbiamo analizzato le sostanze interferenti ad una ad una aggiungendo rispettivamente a dei campioni positivi con un LoD di 3x le sostanze interferenti al fine di osservare se venissero prodotti risultati imprevisti. Di ciascun test sono state eseguite tre repliche.

**Sostanze interferenti: La tabella che segue mostra la valutazione delle sostanze interferenti per la capacità di generare risultati falsi positivi:**

Sostanze potenzialmente interferenti	Concentrazione	Risultati (rilevato x/3)
Mucina	0,05%	0/3
Sangue	0,1%	0/3

**Sostanze interferenti: La tabella che segue mostra la valutazione delle sostanze interferenti per la capacità di generare risultati falsi negativi:**

Sostanze potenzialmente interferenti	Concentrazione	Risultati su SARS-CoV-2 con spike 3xLoD (rilevato x/3)
Mucina	0,05%	3/3
Sangue	0,1%	3/3

## Prestazioni cliniche

A causa della difficoltà di ottenere campioni clinici da pazienti con infezione da SARS-CoV-2, le caratteristiche prestazionali del test del SARS-CoV-2 Gen 2 VitaPCR™ sono state valutate utilizzando campioni clinici creati artificialmente. Per tale prova è stato utilizzato virus ricombinante contenente RNA di SARS-CoV-2 (Seracare, SARS-CoV-2 AccuPlex, codice materiale 0505-0129). Questo virus ricombinante contenente RNA di SARS-CoV-2 a titolo noto è stato preparato aggiungendo 30 singoli campioni da tampone RF o OF a diverse concentrazioni. Questi sono stati trattati in cieco, randomizzati e aggiunti al buffer per il prelievo del campione, in cui sono stati lavati i singoli campioni negativi da tampone RF o OF. A 20 campioni di tampone RF o OF sono stati aggiunti LoD di 1,5x - 5 ad un LoD di 3x e 5 ad un LoD di 5x. Altri 30 singoli campioni di tampone RF o OF negativi sono stati lasciati senza aggiunta. In breve, abbiamo aggiunto in spike campioni di tamponi RF o OF in campioni artificiali a varie concentrazioni, quindi abbiamo eseguito l'analisi descritta in questa sezione.

Tutti e 60 i campioni sono stati distribuiti in cieco ad operatori imparziali per essere analizzati con il test SARS-CoV-2 Gen 2 VitaPCR™ per generare la percentuale di concordanza positiva (PPA), la percentuale di concordanza negativa (NPA) e la percentuale di concordanza positiva totale (OPA) come misura dell'accuratezza diagnostica stimata:

Campioni rinofaringei (RF)		Campione clinico creato artificialmente (risultato atteso)	
Variabile	Stato	Positivo	Negativo
Test per SARS-CoV-2 Gen 2 VitaPCR™	Positivo	30	0
	Negativo	0	30
Percentuale di concordanza positiva (PPA) (CI al 95%) <sup>1</sup>		100% (88,4 - 100)	
Percentuale di concordanza negativa (NPA) (CI al 95%) <sup>2</sup>		100% (88,4 - 100)	
Percentuale di concordanza totale (OPA) (CI al 95%) <sup>3</sup>		100% (94,0 - 100)	
Nota:			
1 Percentuale di concordanza positiva = [veri positivi / (veri positivi + falsi negativi)] *100%			
2 Percentuale di concordanza negativa = [veri negativi / (veri negativi + falsi positivi)] *100%			
3 Percentuale di concordanza totale = [(veri positivi + veri negativi) / (veri positivi + falsi negativi + veri negativi + falsi positivi)] *100%			

Campioni orofaringei (OF)		Campione clinico creato artificialmente (risultato atteso)	
Variabile	Stato	Positivo	Negativo
Test per SARS-CoV-2 Gen 2 VitaPCR™	Positivo	30	0
	Negativo	0	30
Percentuale di concordanza positiva (PPA) (CI al 95%) <sup>1</sup>		100% (88,4 - 100)	
Percentuale di concordanza negativa (NPA) (CI al 95%) <sup>2</sup>		100% (88,4 - 100)	
Percentuale di concordanza totale (OPA) (CI al 95%) <sup>3</sup>		100% (94,0 - 100)	
Nota:			
1 Percentuale di concordanza positiva = [veri positivi / (veri positivi + falsi negativi)] *100%			
2 Percentuale di concordanza negativa = [veri negativi / (veri negativi + falsi positivi)] *100%			
3 Percentuale di concordanza totale = [(veri positivi + veri negativi) / (veri positivi + falsi negativi + veri negativi + falsi positivi)] *100%			

## DATI DI RECAPITO, ORDINAZIONI E ASSISTENZA SUL PRODOTTO

Per assistenza tecnica e sul prodotto, scrivere un'email all'indirizzo : [service@credodxbiomed.com](mailto:service@credodxbiomed.com)

## SIMBOLI

	Non riutilizzare		Fabbricante
	Consultare le istruzioni per l'uso		Controllo positivo
	Attenzione		Controllo negativo
	Limite di temperatura		Numero a catalogo
	Data di scadenza		Contiene materiali sufficienti per <n> test
	Lotto		Numero paziente
	Dispositivo medico-diagnostico <i>in vitro</i>		Tenere lontano dalla luce solare
	Non utilizzare se la confezione è danneggiata		Tenere all'asciutto
	Marchio CE		Rappresentante autorizzato nella Comunità Europea
	WEEE (RAEE) - Le apparecchiature elettroniche contrassegnate con questo simbolo sono soggette alla Direttiva 2012/19/EU (rifiuti di apparecchiature elettriche ed elettroniche) dell'Unione europea e non possono essere smaltite con i rifiuti urbani.		

 **Trenton Biomedical Ltd.**  
 (Building A) 35F, No. 99, Sec. 1, Xintai 5th Rd.,  
 Xizhi Dist., New Taipei City 22175, Taiwan  
 (R.O.C.) Tel.: +886-2-2697-2728  
 Fax: +886-2-2697-1876  
 E-mail: [service@credodxbiomed.com](mailto:service@credodxbiomed.com)



MedNet GmbH  
 Borkstraße 10, 48163 Münster,  
 Germania

ver. 1.1