

**SARS-CoV-2 Extended ELITE MGB® Kit (Cod.: RTS172ING)**  
**SARS-CoV-2 Extended - ELITE Positive Control (Cod.: CTR172ING)**  
in associazione con ELITE InGenius®



Documento disponibile in inglese o italiano.  
Per ulteriori informazioni: [ingenius.support@elitechgroup.com](mailto:ingenius.support@elitechgroup.com)



**ELITechGroup S.p.A.**  
C.so Svizzera, 185  
10149 Torino ITALY  
Offices: Tel. +39-011 976 191 Fax +39-011 936 76 11  
E. mail: [emd.support@elitechgroup.com](mailto:emd.support@elitechgroup.com)  
WEB site: [www.elitechgroup.com](http://www.elitechgroup.com)

## A. Uso Previsto

Il prodotto «SARS-CoV-2 Extended ELITE MGB® Kit» è parte di un saggio multiplex qualitativo di trascrizione inversa e amplificazione degli acidi nucleici e analisi delle curve di melting (Tm), per la rilevazione e la tipizzazione delle mutazioni L452R, L452Q, E484K, E484Q, E484A, Q498R e N501Y del gene S del Coronavirus 2 da Sindrome Respiratoria Acuta Grave (SARS-CoV-2) in campioni clinici di soggetti con infezione in corso.

Il saggio permette di rilevare le mutazioni associate alle seguenti varianti: variante Alpha (UK), lineage B.1.1.7, variante Beta (Sud Africa), lineage B.1.351, variante Gamma (Brasile), lineage P1, variante Delta (India), lineage B.1.617.2, variante Kappa (India), lineage B.1.617.1, variante Epsilon (USA), lineage B.1.427/9, variante Eta (diversi Paesi), lineage B.1.525, variante Iota (USA), lineage B.1.526, variante Lambda (Perù), lineage C.37, variante Mu (Colombia), lineage B.1.621 e variante Omicron (diversi Paesi), lineage B.1.1.529.

Il prodotto trova impiego come test reflex per l'identificazione della eventuale presenza delle mutazioni L452R e L452Q, N501Y e Q498R + N501Y, E484K, E484Q e E484A del gene S del SARS-CoV-2, in campioni già diagnosticati positivi per SARS-CoV-2.

Il test è inteso solo per uso di ricerca (RUO). Prima dell'uso è necessaria la validazione dell'intero processo da parte del laboratorio.

## B. Sequenze Amplificate

Target	Gene	Fluoroforo	Canale
Target 1	gene S, codone 484	FAM	484 (Ch1)
Target 2	gene S, codone 501	AP593	501 (Ch4)
Target 3	gene S, codone 452	AP639	452 (Ch5)
Controllo Interno (endogeno)	gene RNase P	AP525	IC (Ch3)

## C. Matrice

### › Tamponi Respiratori

**Nota bene:** Trasferire 200 µL di campione dallo "Swab tube" all'"Extraction tube". Non inserire direttamente il tubo primario nello strumento per l'esecuzione della corsa.

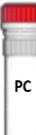
## D. Tubo per la raccolta dei campioni

Riferimento Copan	Descrizione
360C or 305C	UTM kit

## E. Contenuto del SARS-CoV-2 Extended ELITE MGB® KIT (RTS172ING)

CoV-2 Extended PCR Mix (Tappo Neutro)	RT EnzymeMix (Tappo Nero)	
 X 2	 X 2	Tempo massimo di conservazione: 12 mesi
2 tubi da 1200 µL 96 reazioni per kit 6 cicli di congelamento / scongelamento	2 tubi da 20 µL 96 reazioni per kit 6 cicli di congelamento / scongelamento	Temperatura di conservazione: uguale o inferiore a -20 °C
		Preparare la miscela di reazione in un tubo da 2 mL (Sarstedt Ref. 72694005, non incluso)

## F. Contenuto del SARS-CoV-2 Extended - ELITE Positive Control (CTR172ING)

CoV-2 Ext Wild Type Positive Control (Tappo Nero)	CoV-2 Ext Mutant Positive Control (Tappo Rosso)	
 X 2	 X 2	Tempo massimo di conservazione: 24 mesi
2 tubi da 160 µL 4 sessioni a tubo 4 cicli di congelamento / scongelamento	2 tubi da 160 µL 4 sessioni a tubo 4 cicli di congelamento / scongelamento	Temperatura di conservazione: uguale o inferiore a -20 °C

## G. Materiale richiesto non incluso nel kit

› Strumento ELITE InGenius:	INT030
› ELITE InGenius SP200 Extraction Cartridge:	INT032SP200
› ELITE InGenius PCR Cassette:	INT035PCR
› ELITE InGenius SP200 Consumable Set:	INT032CS
› ELITE InGenius Waste Box:	F2102-000
› 300 µL Filter Tips Axygen:	TF-350-L-R-S

## H. Protocollo ELITE InGenius®

Protocollo	Volume
Campione	200 µL
Volume totale eluato	100 µL
Volume input eluato per la PCR	10 µL
PCR Mix completa	20 µL
Frequenza Controlli	15 giorni

## I. Interpretazione dei risultati

### Risultati del campione:

Risultato della sessione del campione	Interpretazione
<b>452: RNA Detected. 452L Wild Type</b>	L'RNA di SARS-CoV-2 gene S con codone 452L wild type è stato rilevato nel campione.
<b>452: RNA Detected. 452R Mutant</b>	L'RNA di SARS-CoV-2 gene S con codone 452R mutante è stato rilevato nel campione.
<b>452: RNA Detected. 452Q Mutant</b>	L'RNA di SARS-CoV-2 gene S con codone 452Q mutante è stato rilevato nel campione.
<b>452: RNA Detected</b>	L'RNA di SARS-CoV-2 gene S stato rilevato nel campione.ma non è stato possibile effettuare l'analisi del codone 452.
<b>484: RNA Detected. 484E Wild Type</b>	L'RNA di SARS-CoV-2 gene S con codone 484E wild type è stato rilevato nel campione.
<b>484: RNA Detected. 484K Mutant</b>	L'RNA di SARS-CoV-2 gene S con codone 484K mutante è stato rilevato nel campione.
<b>484: RNA Detected. 484A Mutant</b>	L'RNA di SARS-CoV-2 gene S con codone 484A mutante è stato rilevato nel campione.
<b>484: RNA Detected</b>	L'RNA di SARS-CoV-2 gene S stato rilevato nel campione.ma non è stato possibile effettuare l'analisi del codone 484. Se la Tm cade nell'intervallo 57.3 – 59.3 °C il codone 484Q mutante è stato rilevato nel campione.
<b>501: RNA Detected. 501N Wild Type if 484A Not Detected</b>	L'RNA di SARS-CoV-2 gene S con codone 501N wild type è stato rilevato nel campione se la mutazione 484A non è stata rilevata.
<b>501: RNA Detected. 501Y Mutant</b>	L'RNA di SARS-CoV-2 gene S con codone 501Y mutante è stato rilevato nel campione.
<b>501: RNA Detected. 498R+501Y Mutant if 484A Detected</b>	L'RNA di SARS-CoV-2 gene S con codoni 498R+501Ymutanti è stato rilevato nel campione se è stata rilevata anche la mutazione 484A.
<b>501: RNA Detected</b>	L'RNA di SARS-CoV-2 gene S stato rilevato nel campione.ma non è stato possibile effettuare l'analisi del codone 501
<b>452: RNA Not Detected or below the LoD</b>	L'RNA di SARS-CoV-2 gene S non è stato rilevato dalla sonda 452 nel campione.
<b>484: RNA Not Detected or below the LoD</b>	L'RNA di SARS-CoV-2 gene S non è stato rilevato dalla sonda 484 nel campione.
<b>501: RNA Not Detected or below the LoD</b>	L'RNA di SARS-CoV-2 gene S non è stato rilevato dalla sonda 501 nel campione.
<b>Invalid – Retest sample</b>	Risultato del saggio non valido a causa di un problema rilevato dal Controllo Interno.
<b>Typing not determined</b>	L'RNA di SARS-CoV-2 è stato rilevato nel campione, ma non è possibile calcolare il valore di Tm o la Tm cade fuori dall'intervallo di valori stabilito

### Intervalli dei valori di Ct e Tm del campione:

Ct 452	Ct 484	Ct 501	Tm 452	Tm 484	Tm 501	Ct RNase P	Risultato
Det.	-	-	61.4 – 64.4	-	-	+/-	SARS-CoV-2 452L wild type
Det.	-	-	54.2 – 57.2	-	-	+/-	SARS-CoV-2 mutato L452R
Det.	-	-	57.3 – 59.7	-	-	+/-	SARS-CoV-2 mutato L452Q
-	Det.	-	-	66.0 – 68.6	-	+/-	SARS-CoV-2 484E wild type
-	Det.	-	-	59.4 – 61.9	-	+/-	SARS-CoV-2 mutato E484K
-	Det.	-	-	63.1 – 65.9	-	+/-	SARS-CoV-2 mutato E484A
-	-	Det.	-	-	56.8 – 58.6	+/-	SARS-CoV-2 501N wild type se 484A non è rilevata
-	-	Det.	-	-	62.6 – 65.6	+/-	SARS-CoV-2 mutato N501Y
-	-	Det.	-	-	54.3 – 56.7	+/-	SARS-CoV-2 mutato Q498R+N501Y se 484A è rilevata
Non Det.	Non Det.	Non Det.	-	-	-	Ct < 35	SARS-CoV-2 non amplificato
Non Det.	Non Det.	Non Det.	-	-	-	Ct > 35	Invalido

**Nota bene:** Per il target 484, se la temperatura di Tm cade nell'intervallo 57.3 - 59.3 °C, il codone 484Q mutante è stato rilevato nel campione.

#### Limiti dei valori di Ct e Tm dei Controlli Positivi:

Controlli	Target	Ct	452 Tm	484 Tm	501 Tm	Risultato
CoV-2 Ext Wild Type Positive Control	452L wt	Ct < 29	61.5 – 64.5	65.9 – 68.8	56.5 - 58.7	Controllo Positivo valido
	484E wt	Ct < 31				
	501N wt	Ct < 36				
CoV-2 Ext Mutant Positive Control	452R mut	Ct < 31	54.3 – 57.3	59.4 – 61.9	62.6 - 65.6	Controllo Positivo valido
	484K mut	Ct < 32				
	501Y mut	Ct < 31				
Negative Control	452	Non Det.		-		Controllo Negativo valido
	484	Non Det.				
	501	Non Det.				

## J. Preparazione del campione

- Inattivazione del campione non richiesta (linee guida WHO). Il campione può essere pretrattato con una soluzione denaturante o con trattamento termico sotto una cappa di sicurezza biologica di classe II (BSC2). In questo caso, dispensare 200 µL del campione e non più di 200 µL del denaturante nello stesso tubo. **Nota bene:** Questa procedura è un protocollo non approvato e necessita di essere validato prima dell'uso (linee guida WHO).
- Manipolare e smaltire tutti i campioni biologici come se fossero in grado di trasmettere agenti infettivi, anche in caso di inattivazione del campione.
- Possono essere utilizzati eluati di estrazione ottenuti in associazione ai prodotti SARS-CoV-2 ELITE MGB Kit (Cod. RTS170ING) o SARS-CoV-2 PLUS ELITE MGB Kit (Cod. RTS180ING).
- I risultati migliori sono ottenuti con un titolo virale medio – alto di SARS- CoV-2.

## K. Procedura

L'operatore viene guidato passo dopo passo dal software ELITE InGenius nella preparazione della corsa. Tutti i passaggi di estrazione, trascrizione inversa, amplificazione e interpretazione dei risultati sono eseguiti automaticamente dallo strumento. Tre modalità sono disponibili: corsa integrata (Extract + PCR), corsa di amplificazione (PCR only) o corsa di estrazione (extraction only).

### Prima della corsa

1. Accendere lo strumento ELITE InGenius e selezionare la modalità "OPEN".	2. Verificare che i risultati dei controlli di amplificazione (CoV-2 EXT Positive Control e CoV-2 EXT Negative Control) siano presenti, approvati e non scaduti.	3. Scongela la CoV-2 Extended PCR Mix e mantenere in ghiaccio la RT EnzymeMix. Mescolare lentamente con vortex e centrifugare per 5 secondi.
4. Ricostituire la miscela completa di reazione in un tubo da 2 mL (Sarstedt, Cod.72694005) come descritto nella tabella seguente:		5. Mescolare lentamente con vortex e centrifugare per 5 secondi. Conservare in ghiaccio e al riparo dalla luce.
<b>Numero di campioni (N)</b>	<b>CoV-2 Extended PCR Mix</b>	<b>RT EnzymeMix</b>
1 ≤ N ≤ 5	(N + 1) x 20 µL	(N + 1) x 0.3 µL
6 ≤ N ≤ 11	(N + 2) x 20 µL	(N + 2) x 0.3 µL
N = 12	290 µL	4.4 µL

### Procedura 1 – Sessione integrata: Extraction + PCR

1. Nella schermata "Home", selezionare "Perform Run".	2. Verificare che l'"Extraction Input Volume" sia di 200 µL e che l'"Extracted Elute Volume" sia di 100 µL.	3. Per ogni "Track" d'interesse compilare il "SampleID" (SID) digitando o scansionando il codice a barre.
4. Selezionare l'Assay Protocol da utilizzare nella colonna "Assay": SARS-CoV-2 EXT ELITE_Open_200_100.	5. Selezionare il protocollo "Extract + PCR" e "Extraction tube" nella colonna "Sample Position". <b>Nota bene:</b> 200 µL di campione devono essere trasferiti nell'"Extraction tube" (C e D).	6. Nell'"Inventory Block" selezionato caricare la miscela completa di reazione.
7. Caricare le cassette PCR, le cartucce di estrazione "ELITE InGenius SP 200", tutti i materiali di consumo necessari e i campioni da estrarre.	8. Chiudere lo sportello dello strumento e Premere "Start" per avviare la sessione.	9. Visualizzare, approvare e salvare i risultati.

### Procedura 2 - PCR only

<b>Da 1 a 4:</b> Seguire la Procedura 1 descritta sopra.	<b>5.</b> Selezionare il protocollo "PCR only" e "Elution tube" nella colonna "Sample Position".	<b>6.</b> Caricare i tubi degli eluati estratti nel rack degli "Elution tubes".
<b>7.</b> Nell'"Inventory Block" selezionato caricare la miscela completa di reazione. Caricare le cassette PCR e i puntali.	<b>8.</b> Chiudere lo sportello dello strumento e Premere "Start" per avviare la sessione.	<b>9.</b> Visualizzare, approvare e salvare i risultati.

### Procedura 3 - Extraction only

<b>Da 1 a 4:</b> Seguire la Procedura 1 descritta sopra.	<b>5.</b> Selezionare il protocollo "Extraction Only" e "Extraction tube" nella colonna "Sample Position". <b>Nota bene:</b> 200 µL di campione devono essere trasferiti nell'"Extraction tube".	<b>6.</b> Caricare le cartucce di estrazione "ELITE InGenius SP 200", tutti i materiali di consumo necessari e i campioni da estrarre.
<b>7.</b> Chiudere lo sportello dello strumento e Premere "Start" per avviare la sessione.	<b>8.</b> Archiviare i campioni estratti.	

## L. Riferenze

- 
- Referenza ECDC: "Assessing SARS-CoV-2 circulation, variants of concern, non-pharmaceutical interventions and vaccine rollout in the EU/EEA, 15th update", giugno 2021.
  - Referenza WHO: "Laboratory testing for coronavirus disease (COVID-19) in suspected human cases", marzo 2020.