

Subgenomic N (sgN) SARS-CoV-2 ONE-STEP RT-PCR KIT

CATALOGO

REF: INFET-004-100
Codice RDM: 2218988/R
Test: 100 Reazioni: 110
Codice CND: W0105040599
Produttore: BioMol Laboratories s.r.l.

CONTENUTO DEL KIT

Il kit è composto da: reagenti per la retrotrascrizione e amplificazione in Real-Time PCR* non forniti nel kit i reagenti per la estrazione di RNA.

PER USO DIAGNOSTICO IN VITRO



INFORMAZIONI SUL PRODOTTO



Metodica molecolare "NAT" (*Nucleic Acid Testing*): determinazione qualitativa del genoma virale di SARS-CoV-2 (geni ORF1ab-poliproteina, E-envelope e subgenomico-N) e del gene umano RNase P mediante tecnica RT-PCR (Reverse transcriptase-polymerase chain reaction) e successiva rilevazione in PCR-Real-time. La presenza del marcatore subgenomico-N consente la distinzione dei pazienti positivi con stato di carica virale attiva ed infettivi dai pazienti positivi con stato di carica virale non attiva e non infettivi. Kit ottimizzato per strumentazione Real-Time PCR Biorad CFX96 Dx, Biorad Opus Dx e Agilent AriaDx.

Il kit INFET-004 consente la determinazione del genoma virale anche nel caso di infezioni sostenute dalle varianti SARS-CoV-2.

BASI SCIENTIFICHE

SARS-CoV-2 è un virus con "envelope" e con genoma a RNA a filamento singolo di ~30 kb appartenente al genere betacoronavirus. E' noto che i coronavirus producono frammenti di RNA subgenomici (sgRNAs) e che tali frammenti possono essere considerati markers di replicazione virale. Gli RNA subgenomici, infatti, sono particolarmente abbondanti durante l'infezione precoce (fino a 70 volte più abbondante di RNA genomico del virus al picco della trascrizione dell'RNA). L'espressione di sgN mRNA, in particolare, riflette uno stadio di replicazione virale e consente di discriminare tra una fase attiva di replicazione ed uno stato di portatore a medio-lungo termine, in cui vi è accumulo di materiale genomico virale senza essere più infettivi.

§ The Architecture of SARS-CoV-2 Transcriptome Kim D, Lee JY, Yang JS, Kim JW, Kim VN, Chang H. Cell. 2020 May 14;181(4):914-921.e10.

§ SARS-CoV-2 Subgenomic N (sgN) Transcripts in Oro-Nasopharyngeal Swabs Correlate with the Highest Viral Load, as Evaluated by Five Different Molecular Methods. Zollo M, Ferrucci V, Izzo B, Quarantelli F, Domenico CD, Comegna M, Paolillo C, Amato F, Siciliano R, Castaldo G, Capoluongo E. Diagnostics (Basel). 2021 Feb 12;11(2):288.

§ Test on stool samples improves the diagnosis of hospitalized patients: Detection of SARS-CoV-2 genomic and subgenomic RNA. Moreira LVL, de Souza Luna LK, Barbosa GR, Perosa AH, Chaves APC, Conte DD, Carvalho JMA, Bellei N. J Infect. 2020 Dec 15;0163-4453(20)30753-2. doi: 10.1016/j.jinf.2020.11.034.

§ Diagnostic usefulness of subgenomic RNA detection of viable SARS-CoV-2 in patients with COVID-19. Kim JY, Bae JY, Bae S, Cha HH, Kwon JS, Suh MH, Lee HJ, Jung J, Kim MJ, Cui C, Park H, Lee J, Park MS, Kim SH. Clin Microbiol Infect. 2022 Jan;28(1):101-106. doi: 10.1016/j.cmi.2021.08.009. Epub 2021 Aug 13. PMID: 34400343.

§ SARS-CoV-2 Subgenomic RNA Kinetics in Longitudinal Clinical Samples. Verma R, Kim E, Martínez-Colón GJ, Jagannathan P, Rustagi A, Parsonnet J, Bonilla H, Khosla C, Holubar M, Subramanian A, Singh U, Maldonado Y, Blish CA, Andrews JR. Open Forum Infect Dis. 2021 Jun 11;8(7):ofab310. doi: 10.1093/ofid/ofab310. eCollection 2021 Jul. PMID: 34295944.

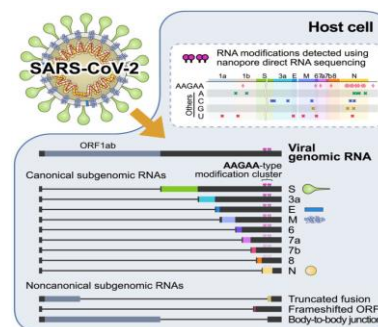
§ Viral Culture Confirmed SARS-CoV-2 Subgenomic RNA Value as a Good Surrogate Marker of Infectivity. Santos Bravo M, Berengua C, Marín P, Esteban M, Rodríguez C, Del Cuerdo M, Miró E, Cuesta G, Mosquera M, Sánchez-Palomino S, Vila J, Rabella N, Marcos MA. J Clin Microbiol. 2022 Jan 19;60(1):e0160921. doi: 10.1128/JCM.01609-21. Epub 2021 Oct 20. PMID: 34669457.

§ Loss of Detection of sgN Precedes Viral Abridged Replication in COVID-19-Affected Patients-A Target for SARS-CoV-2 Propagation. Ferrucci V, de Antonellis P, Quarantelli F, Asadzadeh F, Bibbò F, Siciliano R, Sorice C, Pisano I, Izzo B, Di Domenico C, Boccia A, Vargas M, Pierri B, Viscardi M, Brandi S, Fusco G, Cerino P, De Pietro L, Furfaro C, Napolitano LA, Paoletta G, Festa L, Marzino S, Conte MC, Gentile I, Servillo G, Curcio F, de Cristoforo T, Broccolo F, Capoluongo E, Zollo M. Int J Mol Sci. 2022 Feb 9;23(4):1941. doi: 10.3390/ijms23041941.

SIGNIFICATO CLINICO

La ricerca del genoma virale SARS-Cov-2 può essere effettuata su tampone naso-orofaringeo attraverso metodica molecolare NAT (*Nucleic Acid Testing*) in modo da identificare i soggetti in cui la infezione è presente.

Tale approccio, infatti, consente di identificare la presenza dei geni virali nel tampone naso-orofaringeo in modo altamente specifico e sensibile. I test comunemente usati, però, non forniscono informazioni sulla presenza di carica virale attiva o meno. E' noto, infatti, che la carica virale raggiunge un picco precoce nelle infezioni da SARS-CoV-2 e poi diminuisce gradualmente, con piccole quantità di RNA virale che possono rimanere nel tratto rinofaringeo per settimane o talvolta mesi.



Cell 2020 May 14;181(4):914-921.e10.

Subgenomic N (sgN) SARS-CoV-2 ONE-STEP RT-PCR KIT

CATALOGO

REF: INFET-004-100
Codice RDM: 2218988/R
Test: 100 Reazioni: 110
Codice CND: W0105040599
Produttore: BioMol Laboratories s.r.l.

CONTENUTO DEL KIT

Il kit è composto da: reagenti per la retrotrascrizione e amplificazione in Real-Time PCR* non forniti nel kit i reagenti per la estrazione di RNA.

CONTENUTO DEL KIT

DESCRIZIONE	ETICHETTA	VOLUME	CONSERVAZIONE
Mix RT-PCR	Mix RT-PCR 4X	1 x 560 µl	-20° C
Mix probes e oligonucleotidi Mix per geni subN, ORF1a, E envelope e RNaseP	Mix sgN SARS-CoV-2	1 x 560 µl	-20° C
RNA ricombinante Controllo positivo (200 copie/µl)	Control +	1 x 40 µl	-20° C
Buffer Controllo negativo	Control -	1 x 80 µl	-20° C

CARATTERISTICHE TECNICHE

COD. INFET-004- 100

STABILITÀ	18 mesi
STATO DEI REAGENTI	Pronti all'uso
MATRICE BIOLOGICA	RNA totale di cellule contenute in tampone rinofaringeo e/o orofaringeo
CONTROLLO POSITIVO	RNA ricombinante
STRUMENTI PCR REAL TIME VALIDATI	Biorad CFX96 Dx, Biorad Opus Dx e Agilent AriaDx
TECNOLOGIA	RT-PCR (Reverse transcriptase-polymerase chain reaction) e successiva rilevazione con qPCR-Real-time
TEMPO DI ESECUZIONE	75 min
PROFILO TERMICO	1 ciclo a 50 °C (15 min); 1 ciclo a 95 °C (2 min); 44 cicli a 95 °C (5 sec) + 60 °C (45 sec)
SPECIFICITÀ ANALITICA	Assenza di appaiamenti aspecifici di oligonucleotidi e sonde; assenza di cross-reattività
LIMIT OF DETECTION (LOD)	30 copie di genoma virale
LIMIT OF BLANK (LOB)	0% NCN
RIPRODUCIBILITÀ	99,9%
SPECIFICITA' DIAGNOSTICA/ SENSIBILITA' DIAGNOSTICA	100% /98%