

GGAGGGATATG  
GGACCTACACCTTCAAATAAATTGGGAAG  
GGACCTACACCTTTCAATATAAATTGGAAE  
ACACCTTCAAATAAATTGGAAEAAATATG  
TGTATG  
TATCAATACGGATGATTTGTATGT  
ATTATCTATCAATACGTGGATGATTTGTAT  
ATCTATCAATACGTGGATGATTTGTATGT  
GTCCATGTAG  
ATTATCATAGTAGCAGTCCATGTAGCC  
AAAAGTTATCATAGTAGCAGTCCATGTAGCC  
ATTATCATAGTAGCAGTCCATGTAGCC  
GGACCAG  
AGAGAGGACCAGGGAGAGCATTGTTACAA  
ATCCAGAGAGGACCAGGGAGAGCATTGTT  
AGAGGACCAGGGAGAGCATTGTTACAAATAG  
TTGTTACAA

RUO

# HCV

*Solution*

Rev. 01/2023

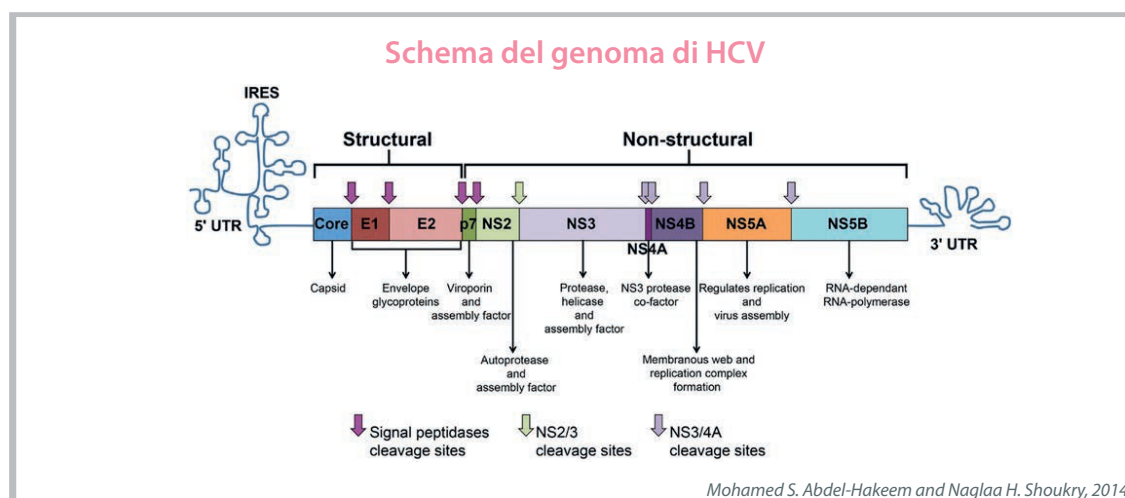
# HCV SOLUTION

## Background

Il virus dell'epatite C (HCV) appartiene alla famiglia Flaviviridae e ne sono stati descritti 6 genotipi principali e più di 60 sottotipi. Il virus HCV è endemico in tutto il mondo e costituisce un serio problema di salute. Circa 130 milioni di persone sono affette da virus dell'epatite C (Fonseca-Coronado *et al.*; 2012). Dal 2011, il trattamento dell'epatite C cronica è stato significativamente migliorato dall'introduzione di farmaci antiretrovirali pangenotipici ad azione diretta (DAA). Nonostante questo, i fallimenti terapeutici possono verificarsi in circa il 3-5% dei pazienti trattati. Molti fattori contribuiscono al fallimento del trattamento con farmaci DAA, compresi la compliance alla terapia del paziente e l'acquisita resistenza ai farmaci (Di Stefano *et al.*, 2021). In particolare, la RAS (*Resistance Associated Substitution*) è spesso causa del fallimento dei regimi DAA (Sorbo *et al.*, 2018; Di Maio *et al.*, 2018). Durante la replicazione, il virus HCV sviluppa un gran numero di mutazioni, che possono includere varianti con ridotta suscettibilità ai DAA. Per questo motivo è importante definire il genotipo virale e identificare la presenza di farmacoresistenze associate.

## Principio del test / Destinazione d'uso

Il kit AD4SEQ HCV Solution è un dispositivo *in vitro* standardizzato per la rilevazione del genotipo e la determinazione delle farmacoresistenze del virus HCV, basato sull'amplificazione in RT-PCR e successivo sequenziamento Next Generation Sequencing (NGS) dell'intero genoma virale (Whole Genome Sequencing - WGS) a partire da campioni di plasma/siero positivi al virus HCV. Un software dedicato permette la visualizzazione e l'analisi informatica dei dati ottenuti dal sequenziamento.



## Tipologia di campioni

- ✓ Plasma
- ✓ Siero
- ✓ ...positivi al virus HCV

## Sequenziamento NGS

- ✓ Illumina® MiSeq™
- ✓ Illumina® iSeq™ 100
- ✓ Illumina® MiniSeq™

## Performance

- ✓ Preparazione della libreria per il sequenziamento in ~ 16 ore
- ✓ Input: ≥ 1000 UI/mL
- ✓ Rilevamento delle farmacoresistenze
- ✓ Genotipizzazione del virus HCV
- ✓ Analisi dei dati mediante software dedicato (sviluppato da SmartSeq S.r.l.)

## Estrazione del DNA – Metodi validati

- ✓ QIAamp® UltraSens Virus Kit (Qiagen)
- ✓ Ogni altro metodo di estrazione presente in laboratorio può essere utilizzato previa validazione da parte dell'utente.

Flusso di Lavoro

15  
MIN

"setup"

- ✓ Estrazione dell'RNA genomico del virus HCV

35  
MIN

RT-PCR

- ✓ RT-PCR dell'intero genoma virale

330  
MIN

PCR  
Target

- ✓ Amplificazione dell'intero genoma virale

35  
MIN

"setup"

- ✓ Controllo di qualità dei prodotti della PCR Target  
(es. elettroforesi su gel di agarosio o alternativa digitale)
- ✓ Purifica dei prodotti della PCR Target con biglie magnetiche AMPure®XP

40  
MIN

PCR  
TAG

- ✓ Digestione dei prodotti purificati della PCR Target
- ✓ Purifica dei prodotti della PCR TAG con biglie magnetiche AMPure®XP

70  
MIN

PCR  
Index

- ✓ Indicizzazione dei campioni con indici univoci  
(fino a 96 indici)

35  
MIN

"setup"

- ✓ Controllo di qualità dei prodotti della PCR Index  
(es. elettroforesi su gel di agarosio o alternativa digitale)

60  
MIN

Purifica &  
Normalizzazione  
del Pool

- ✓ Purifica dei prodotti della PCR Index con biglie magnetiche AMPure®XP
- ✓ Quantificazione dei prodotti purificati della PCR Index  
(es. fluorimetro Qubit™ o metodi simili)
- ✓ Normalizzazione e pooling della libreria per il sequenziamento

fino a  
24  
ore

Sequenziamento  
NGS

- ✓ Illumina® MiSeq™
- ✓ Illumina® iSeq™ 100
- ✓ Illumina® MiniSeq™

Analisi  
Dati

- ✓ Analisi dei dati con software dedicato (sviluppato da SmartSeq s.r.l.)  
(software raccomandato per l'analisi dei dati)



## Performance

- ✓ Sequenziamento dell'intero genoma
- ✓ Preparazione della libreria per il sequenziamento in ~16 ore
- ✓ Input: ≥ 1000 UI/mL
- ✓ Rilevamento delle farmacoresistenze
- ✓ Genotipizzazione del virus HCV
- ✓ Analisi dei dati mediante software dedicato (sviluppato da SmartSeq S.r.l.)

## Informazioni per il sequenziamento

Strumento	Kit Illumina®	Numero di campioni	Tempo di Sequenziamento (Dati ufficiali Illumina™)
Illumina MiSeq™	MiSeq™ Reagent Nano Kit v2 (300 cicli)	fino a 10	~ 20 h
Illumina MiSeq™	MiSeq™ Reagent Nano Kit v2 (500 cicli)	fino a 10	~ 24 h
Illumina MiSeq™	MiSeq™ Reagent Micro Kit v2 (300 cicli)	fino a 40	~ 39 h
Illumina MiniSeq™	MiniSeq™ Mid Output (300 cicli)	fino a 75	~ 28 h
Illumina iSeq™ 100	iSeq™ 100i1 Reagent (300 cicli)	fino a 72	~ 20 h

## Informazioni per l'ordine

Cat. No.

AD4SEQ

HCV Solution

30 rxns

AD-006.030