



RELAZIONE ILLUSTRATIVA SULL'UTILIZZO DELL'EROGAZIONE LIBERALE

RU Responsabili: prof.ssa Elena Pariani

UO Responsabile: Dipartimento di Scienze Biomediche per la Salute

Nome progetto: Erogazione liberale per le attività di ricerca sul Coronavirus

Codice identificativo Progetto: LIB_VT20_COVID_19_EPARIANI

Lo strumento QuantStudio™ 5 Real-Time PCR System (ThermoFisher Scientific) è stato installato presso il nostro laboratorio di virologia del Dipartimento di Scienze Biomediche per la Salute il 16/09/2020.

Dalla messa in funzione è uno degli strumenti cardine per le indagini virologico-molecolari di SARS-CoV-2 e, più recentemente, è anche ampiamente usato per la ricerca di genomi virali di altri virus a trasmissione respiratoria.

Complessivamente, oltre 30 mila campioni respiratori sono stati analizzati mediante l'impiego di questo termociclatore per la ricerca del genoma virale di SARS-CoV-2 tramite saggi real-time one-step RT-singleplex-PCR che amplificano porzioni specifiche del gene virale codificante per la proteina del nucleocapside nell'ambito delle attività di indagine diagnostica dei casi di COVID-19 in Lombardia. L'applicazione di tali saggi real-time PCR con QuantStudio™ 5 ha permesso anche l'analisi di campioni di verifica SARS-CoV-2 positivi e negativi per accertare, per conto di Regione Lombardia, le capacità diagnostiche con test molecolari dei casi di COVID-19 dei laboratori pubblici e privati della regione. Inoltre, nell'ambito della sorveglianza molecolare regionale di SARS-CoV-2 è stato utilizzato come strumento di supporto al sequenziamento per la rilevazione di varianti virali in migliaia di campioni respiratori tramite specifici saggi real-time one-step RT-multiplex-PCR in grado di identificare polimorfismi di singoli nucleotidi caratterizzanti le principali varianti di SARS-CoV-2. Infine, in collaborazione con ditte private, QuantStudio™ 5 è stato utilizzato come strumento di riferimento per la validazione di protocolli commerciali di indagini molecolari tramite real-time PCR nell'ambito della rilevazione di SARS-CoV-2.

Questo strumento è attualmente utilizzato dal laboratorio per le indagini bio-molecolari nell'ambito delle attività di sorveglianza virologica delle sindromi simil-influenzali della rete nazionale Influnet&RespiVirNet per la regione Lombardia. Complessivamente, migliaia di tamponi naso-faringei raccolti a partire dalla stagione 2020/2021 sono stati analizzati con QuantStudio™ 5 per la rilevazione di genomi virali mediante specifici saggi real-time PCR. Più precisamente, i test condotti sono i seguenti:

- real-time one-step RT-multiplex-PCR per l'identificazione di SARS-CoV-2, virus influenzale di tipo A e di tipo B;
- real-time one-step RT-singleplex-PCR specifica per i sottotipi H1N1 e H3N2 dei virus influenzali A;
- real-time one-step RT-multiplex-PCR per la discriminazione dei lineaggi Yamagata e Victoria dei virus influenzali B;
- real-time one-step RT-multiplex-PCR per la rilevazione del virus respiratorio sinciziale e del metapneumovirus;
- real-time one-step RT-multiplex-PCR per la discriminazione dei sottogruppi A e B del virus respiratorio sinciziale;
- real-time one-step RT-singleplex-PCR per l'identificazione dei rhinovirus;
- real-time one-step RT-multiplex-PCR per la discriminazione di enterovirus e parechovirus;



- real-time one-step RT-singleplex-PCR per l'identificazione del genotipo di enterovirus D68
- real-time one-step RT-multiplex-PCR per l'identificazione dei virus parainfluenzali 1/3 e 2/4;
- real-time one-step RT-singleplex-PCR specifica per la discriminazione dei 4 tipi di virus parainfluenzali (1, 2, 3 e 4);
- real-time one-step singleplex-PCR per l'identificazione di adenovirus.

Infine, QuantStudio™ 5 Real-Time PCR System (Thermofisher Scientific) è lo strumento di elezione per la conduzione dei saggi real-time PCR precedentemente descritti e inclusi nei programmi di controllo di qualità esterna (VEQ) a cui partecipa mensilmente il laboratorio.

Firma del Responsabile¹

¹ Si consiglia, per maggior visibilità, di utilizzare la firma digitale in formato PADES (con estensione “_signed.pdf”); si fa presente che le firme effettuate direttamente su cellulare o tablet non sono considerate valide.