



Tháng 6 năm 2022

# Hướng dẫn Sử dụng EZ1<sup>®</sup> DSP Virus Kit (Đặc tính Hiệu năng)

Phiên bản 5



Dùng cho Mục đích Sử dụng Chẩn đoán trong Ống nghiệm  
Để sử dụng với EZ1 DSP Virus Kit (48)



62724



QIAGEN GmbH, QIAGEN Strasse 1, 40724 Hilden, Đức

R1

Đặc tính Hiệu năng có sẵn dưới dạng điện tử và có thể được tìm thấy trong tab resource (tài nguyên) của trang sản phẩm trên [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com).

## Giới thiệu Chung

EZ1 DSP Virus Kit được thiết kế để lọc các axit nucleic vi-rút và DNA vi khuẩn từ huyết tương, huyết thanh, CSF, phân và miếng gạc mũi họng được thu thập trong Môi trường Vận chuyển Phổ biến (Universal Transport Medium™, UTM®). Công nghệ hạt từ cung cấp các axit nucleic (Nucleic Acid, NA) chất lượng cao phù hợp để sử dụng trực tiếp trong các ứng dụng xuôi dòng, chẳng hạn như khuếch đại PCR và qPCR. Các dụng cụ EZ1 và EZ2® Connect MDx thực hiện tất cả các bước của quy trình chuẩn bị mẫu cho tối đa 6 mẫu (sử dụng EZ1 Advanced hoặc BioRobot® EZ1 DSP, cả hai đều đã ngừng hoạt động), cho tối đa 14 mẫu (sử dụng EZ1 Advanced XL) hoặc cho tối đa 24 mẫu (sử dụng EZ2 Connect MDx) trong một lần chạy.

Thể tích mẫu đầu vào có thể được chọn từ 100, 200 hoặc 400 µL và thể tích rửa giải NA có thể được chọn từ 60, 90, 120 hoặc 150 µL.

Hiệu năng của hệ thống EZ1 DSP Virus Kit đã được thiết lập trong các nghiên cứu đánh giá hiệu năng bằng cách sử dụng huyết tương, huyết thanh, CSF, phân và miếng gạc mũi họng được thu thập trong UTM để phân lập NA vi-rút và DNA vi khuẩn. Tuy nhiên, hiệu năng của bộ dụng cụ không được đảm bảo cho từng loài vi-rút hoặc vi khuẩn và phải được người dùng xác nhận. Trách nhiệm của người dùng là xác nhận hiệu năng của hệ thống đối với bất kỳ quy trình nào được sử dụng trong phòng thí nghiệm của họ mà không được đề cập trong các nghiên cứu đánh giá hiệu suất của QIAGEN®.

# Đặc tính Hiệu năng của Dụng cụ EZ1

Lưu ý: Đặc tính Hiệu năng phụ thuộc nhiều vào các yếu tố khác nhau và liên quan đến ứng dụng xuôi dòng cụ thể. Hiệu năng đã được thiết lập cho EZ1 DSP Virus Kit cùng với các ứng dụng xuôi dòng mẫu. Tuy nhiên, các phương pháp phân lập axit nucleic từ bệnh phẩm sinh học được sử dụng như một phương pháp phụ trợ cho nhiều ứng dụng xuôi dòng. Do đó, các thông số hiệu năng như ảnh hưởng của các chất gây nhiễu ngoại sinh, nhiễm bẩn chéo hoặc độ chụm lần chạy cần phải được thiết lập cho bất kỳ quy trình làm việc nào như một phần của quá trình phát triển ứng dụng xuôi dòng. Do đó, người dùng có trách nhiệm xác nhận toàn bộ quy trình làm việc để thiết lập các thông số hiệu năng phù hợp.

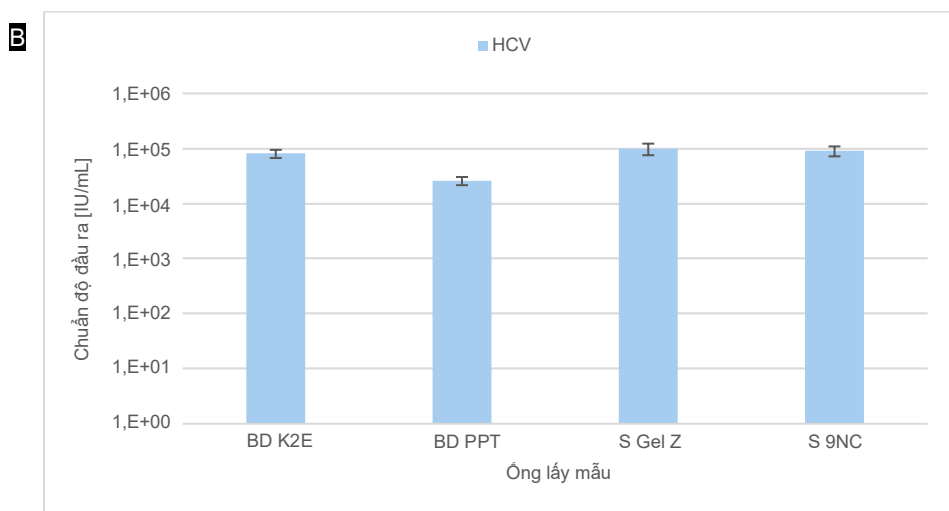
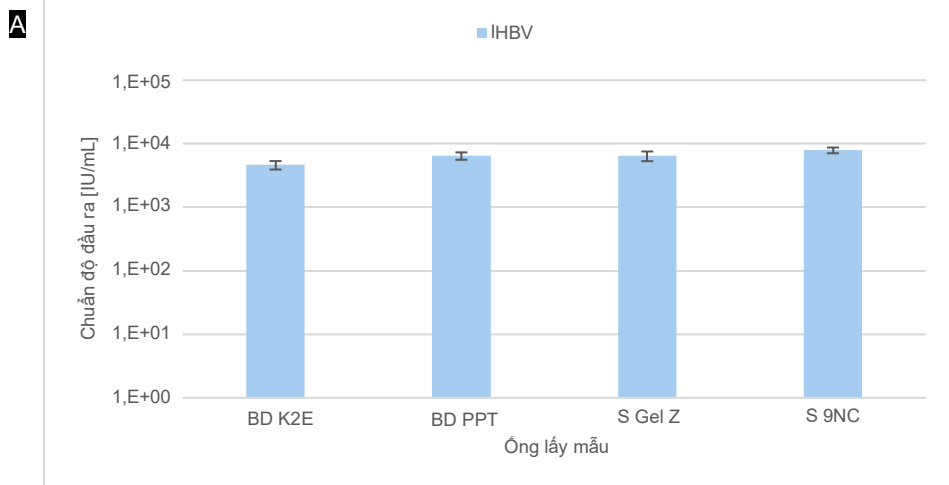
## Hiệu năng cơ bản và khả năng tương thích với các ứng dụng xuôi dòng khác nhau

Nhiều loại ống chính và thuốc chống đông máu khác nhau có thể được sử dụng để thu thập mẫu máu cho quy trình EZ1 DSP Virus. Hiệu năng cơ bản của EZ1 DSP Virus Kit được đánh giá bằng cách sử dụng 6 người hiến đơn lẻ để tách chiết NA vi-rút từ 4 ống lấy máu khác nhau. Bảng 1 cung cấp tổng quan về các ống lấy mẫu đã được sử dụng để đánh giá hệ thống. Sau khi chuẩn bị huyết tương hoặc huyết thanh, các mẫu được pha với chuẩn độ vi-rút chuyên dụng của bệnh viêm gan C (HCV) hoặc viêm gan B (HBV). Bằng cách sử dụng các hệ thống qPCR phù hợp, chuẩn độ vi-rút được xác định cho từng mẫu. Chuẩn độ vi-rút trung bình sử dụng các ống chính khác nhau được trình bày trong Hình 1.

**Bảng 1. Ống lấy máu được xét nghiệm với hệ thống EZ1 DSP Virus**

Ống chính	Nhà sản xuất	Số danh mục*	Chất bảo quản/chất chống đông máu
BD™ Vacutainer® PTT	BD	362788	K2EDTA – gel – huyết tương
BD Vacutainer K2E	BD	367525	K2EDTA – huyết tương
S-Monovette® 9NC	Sarstedt®	02.1067.001	Natri xitrat – huyết tương
S-Monovette Serum Gel Z	Sarstedt	02.1388.001	Gel – huyết thanh

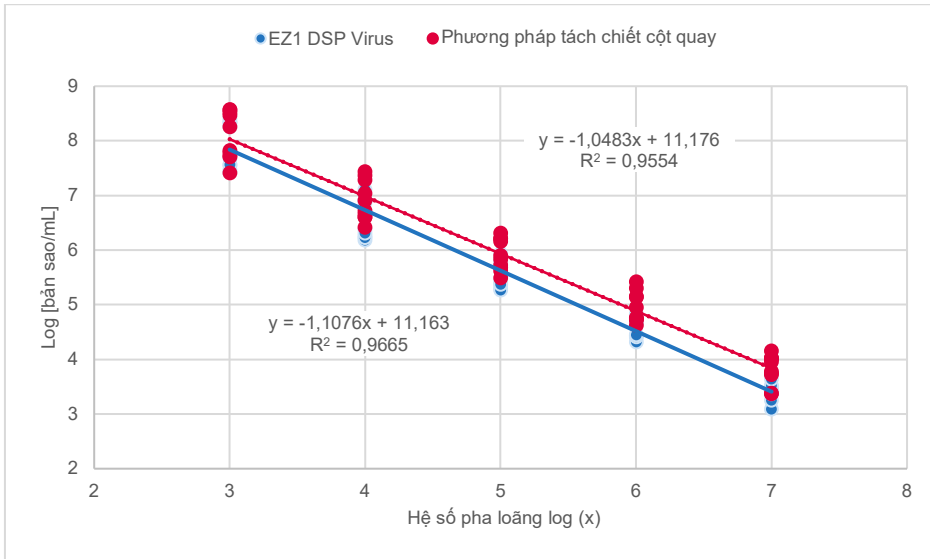
\* Số danh mục có thể thay đổi; vui lòng kiểm tra với nhà sản xuất hoặc nhà cung cấp.



**Hình 1. Hiệu năng cơ bản sử dụng các ống lấy mẫu và thuốc chống đông máu khác nhau.** Các mẫu máu được lấy từ 6 người hiến khỏe mạnh bằng các loại ống khác nhau để chuẩn bị huyết tương hoặc huyết thanh với 10 lần lặp lại trên mỗi ống của người hiến. Các ống được sử dụng được liệt kê trong Bảng 1 (BD: Becton Dickinson, S: S-Monovette). **A:** DNA vi-rút đã được lọc từ 200  $\mu$ L mẫu, rửa giải trong 90  $\mu$ L. **B:** RNA vi-rút đã được lọc từ 200  $\mu$ L mẫu, rửa giải trong 90  $\mu$ L. Sản lượng NA từ mỗi người hiến và ống được xác định bằng phân tích qPCR. Các thanh cho biết đầu ra chuẩn độ vi-rút trung bình với độ lệch chuẩn.

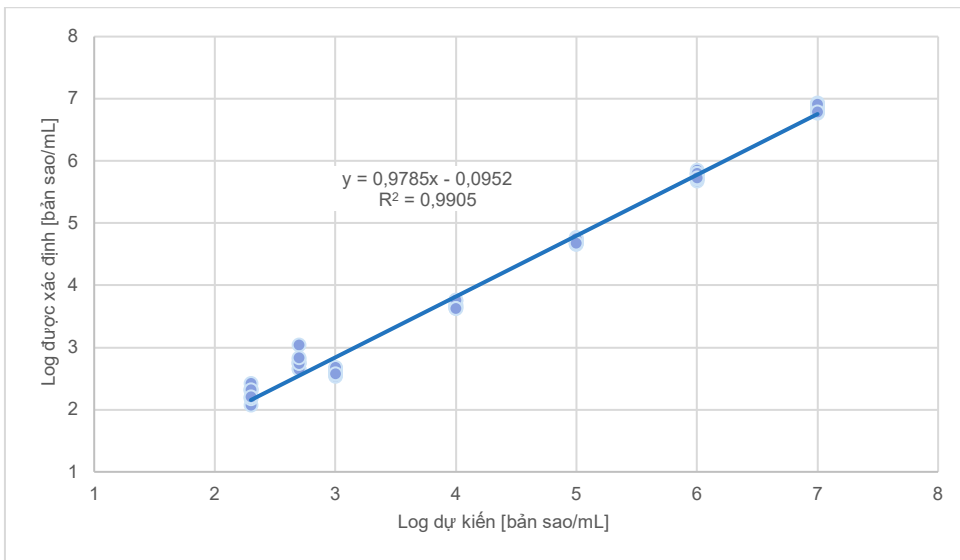
Phạm vi tuyến tính của EZ1 DSP Virus Kit được đánh giá bằng cách sử dụng Adenovirus 5 khi vi-rút DNA được pha vào các mẫu phân. Các xét nghiệm được thực hiện với độ pha loãng nối tiếp 10 lần của chất nổi trên bề mặt nuôi cấy tế bào trong phân âm tính với Adenovirus. Chuỗi pha loãng với 5 độ pha loãng vi-rút khác nhau được xét nghiệm với 10 lần lặp lại mỗi chuỗi. Các axit nucleic của vi-rút được tách chiết từ 200  $\mu$ L mẫu (1:10 được khuấy lại trong Buffer ASL\*) và rửa giải trong 120  $\mu$ L. Phạm vi tuyến tính của quy trình EZ1 DSP Virus đã được xác định kết hợp với xét nghiệm qPCR phù hợp so với phương pháp tách chiết DNA dựa trên cột quay (Hình 2).

\* QIAGEN GmbH, số danh mục 190822



**Hình 2. Phạm vi tuyến tính của chuẩn độ vi-rút sử dụng giao thức EZ1 DSP Virus.** Kết quả từ xét nghiệm PCR Adenovirus phù hợp được trình bày kết hợp với các dịch rửa giải từ tách chiết Adenovirus 5 từ các mẫu phân, bằng cách sử dụng EZ1 DSP Virus Kit hoặc phương pháp tách chiết DNA dựa trên cột quay.

Dữ liệu phạm vi tuyến tính bổ sung được tạo ra bằng cách pha cytomegalovirus (CMV) làm vi-rút DNA vào các mẫu huyết tương EDTA được chuẩn bị từ 1 người hiến. Chuỗi pha loãng với 7 độ pha loãng vi-rút khác nhau được xét nghiệm với 9 lần lặp lại mỗi chuỗi. Axit nucleic của vi-rút được tách chiết từ 400  $\mu$ L mẫu và được rửa giải trong 60  $\mu$ L trên EZ1 Advanced XL. Phạm vi tuyến tính đã được xác định kết hợp với xét nghiệm PCR CMV thích hợp.



**Hình 3. Phạm vi tuyến tính của chuẩn độ vi-rút sử dụng giao thức EZ1 DSP Virus.** Kết quả từ xét nghiệm PCR CMV phù hợp được hiển thị kết hợp với các dịch rửa giải từ tách chiết CMV từ các mẫu huyết tương EDTA.

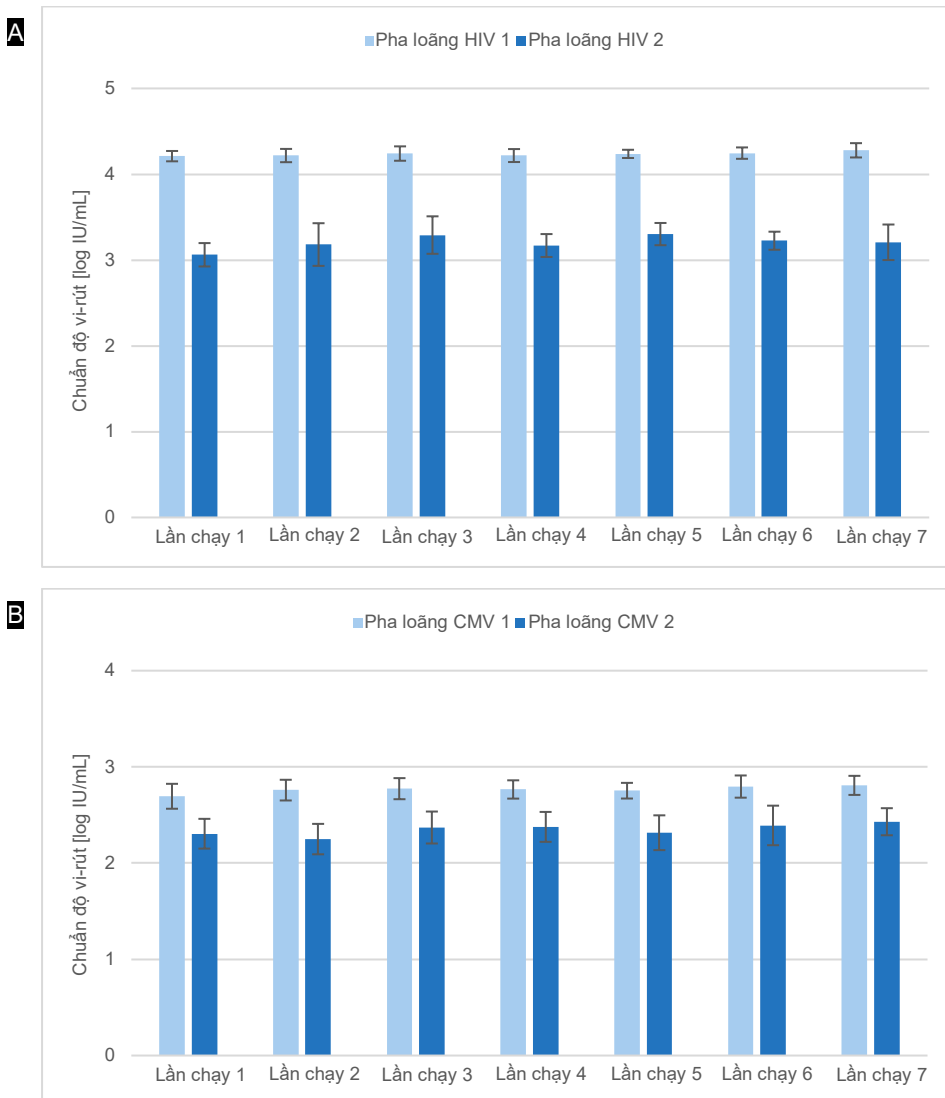
Các dịch rửa giải NA được lọc từ các vật liệu mẫu khác nhau bằng hệ thống EZ1 DSP Virus được phân tích và cho thấy khả năng tương thích với các xét nghiệm real-time PCR (qPCR) định lượng khác nhau.

## Đông lạnh – rã đông mẫu

Không nên đông lạnh lại các mẫu đã rã đông hoặc bảo quản mẫu trong hơn 6 giờ ở 2–8 °C, vì điều này dẫn đến giảm đáng kể sản lượng và chất lượng của axit nucleic của vi-rút hoặc DNA vi khuẩn.

## Độ chụm

Độ lệch chuẩn và CV được xác định đối với các dung dịch pha loãng HIV-1 và CMV trong phạm vi tuyến tính của các xét nghiệm xuôi dòng thích hợp. NA được tách chiết từ 400 µL mẫu huyết tương được pha với vật liệu vi-rút tương ứng và được rửa giải trong 120 µL. Tổng cộng, 7 lần chạy lọc cho mỗi dung dịch pha loãng vi-rút được thực hiện với một người vận hành, trên 3 dụng cụ và vào 3 ngày khác nhau. Dịch rửa giải khác được phân tích bằng xét nghiệm RT-PCR phù hợp với HIV và xét nghiệm PCR CMV. Dữ liệu độ chụm trong lần chạy được hiển thị dưới dạng độ lệch chuẩn trong Hình 4.



**Hình 4. Độ chụm trong lần chạy bằng hệ thống EZ1 DSP Virus.** Huyết tương được thu gom, tổng hợp và chuẩn bị với chuẩn độ vi-rút tương ứng trước khi sử dụng (A: HIV; B: CMV). NA đã được lọc từ các phần 400 µL trong 7 lần chạy với 14 lần lặp lại mỗi lần chạy trên EZ1 Advanced XL bằng cách sử dụng hệ thống EZ1 DSP Virus. Chuẩn độ vi-rút trung bình và độ lệch chuẩn được hiển thị cho mỗi lần chạy.

CV được xác định để tách chiết NA từ các mẫu huyết tương. Dữ liệu độ chụm được trình bày trong Bảng 2 và Bảng 3.

**Bảng 2. Phân tích các ước tính độ chụm – độ biến thiên trong lần chạy (HIV)**

<b>Độ chụm (HIV)</b>	<b>CV (%) (Pha loãng 1)</b>	<b>CV (%) (Pha loãng 2)</b>
Trong lần chạy (Lần chạy 1)	1,43	4,45
Trong lần chạy (Lần chạy 2)	1,83	7,82
Trong lần chạy (Lần chạy 3)	1,98	6,64
Trong lần chạy (Lần chạy 4)	1,79	4,21
Trong lần chạy (Lần chạy 5)	1,13	3,92
Trong lần chạy (Lần chạy 6)	1,56	3,27
Trong lần chạy (Lần chạy 7)	1,95	6,46

**Bảng 3. Phân tích các ước tính độ chụm – độ biến thiên trong lần chạy (CMV)**

<b>Độ chụm (CMV)</b>	<b>CV (%) (Pha loãng 1)</b>	<b>CV (%) (Pha loãng 2)</b>
Trong lần chạy (Lần chạy 1)	4,81	6,71
Trong lần chạy (Lần chạy 2)	3,90	7,03
Trong lần chạy (Lần chạy 3)	3,95	7,01
Trong lần chạy (Lần chạy 4)	3,44	6,54
Trong lần chạy (Lần chạy 5)	2,96	7,81
Trong lần chạy (Lần chạy 6)	4,13	8,60
Trong lần chạy (Lần chạy 7)	3,53	5,79

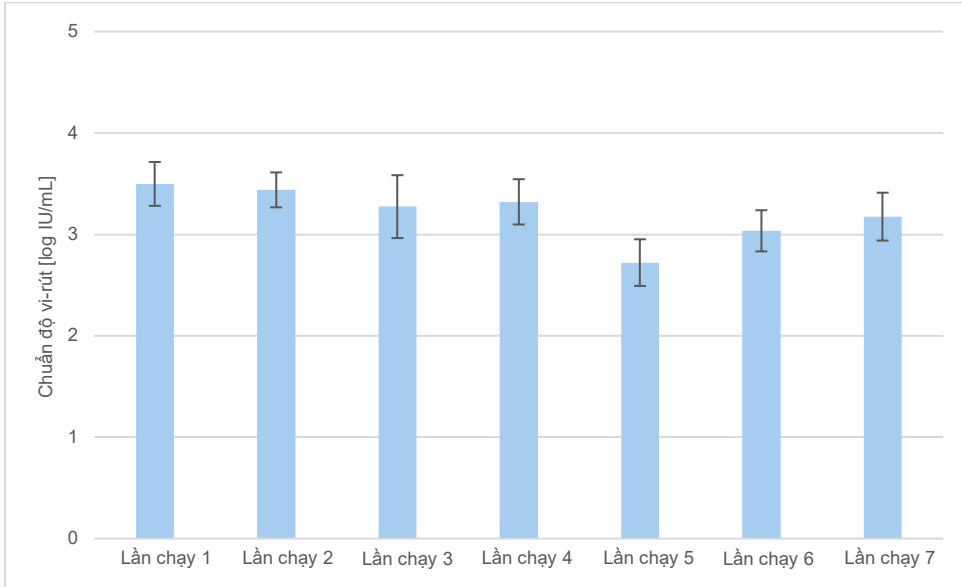
Ngoài ra, độ biến thiên giữa các lần chạy được xác định đối với cả hai dung dịch pha loãng vi-rút (Bảng 4).

**Bảng 4. Phân tích các ước tính độ chụm – độ biến thiên giữa các lần chạy (HIV, CMV)**

<b>Độ chụm (CMV)</b>	<b>CV (%) (Pha loãng 1)</b>	<b>CV (%) (Pha loãng 2)</b>
Giữa các lần chạy (Lần chạy 1–7) HIV	1,72	5,81
Giữa các lần chạy (Lần chạy 1–7) CMV	3,92	7,30

Độ lệch chuẩn và hệ số biến thiên (Coefficients of Variations, CV) đối với phân được xác định cho Adenovirus 5 bằng cách sử dụng xét nghiệm PCR tương thích với Adenovirus. Phân âm tính với Adenovirus được pha với chất nổi trên bề mặt nuôi cấy tế bào Adenovirus 5. DNA vi-rút được tách chiết từ 200 µL mẫu (1:10 được khuấy lại trong Buffer ASL\*) và được rửa giải trong 120 µL. Tổng cộng, 7 lần chạy lọc đã được thực hiện với một người vận hành, trên ba dụng cụ EZ1 Advanced XL, vào 3 ngày khác nhau và 3 tổ hợp lô EZ1 DSP Virus Kit/Buffer ASL. Tất cả các mẫu được phân tích trong cùng một lần chạy PCR. Dữ liệu độ chụm trong lần chạy được hiển thị dưới dạng độ lệch chuẩn trong Hình 5.

\* QIAGEN GmbH, số danh mục 19082



**Hình 5. Độ chụm trong lần chạy bằng hệ thống EZ1 DSP Virus.** Các mẫu phân được thu gom, tổng hợp và chuẩn bị với chuẩn độ vi-rút tương ứng trước khi sử dụng. NA đã được lọc từ các phần 200 µL trong 7 lần chạy với 9/10 lần lặp lại mỗi lần chạy trên EZ1 Advanced XL. Chuẩn độ vi-rút trung bình và độ lệch chuẩn được hiển thị cho mỗi lần chạy.

CV được xác định để tách chiết NA từ các mẫu phân. Các dữ liệu độ chụm được trình bày trong Bảng 5.

**Bảng 5. Phân tích các ước tính độ chụm (Adenovirus 5) – độ biến thiên trong lần chạy**

Độ chụm (CMV)	CV (%)
Trong lần chạy (Lần chạy 1)	6,56
Trong lần chạy (Lần chạy 2)	5,31
Trong lần chạy (Lần chạy 3)	10,05
Trong lần chạy (Lần chạy 4)	7,13
Trong lần chạy (Lần chạy 5)	8,96
Trong lần chạy (Lần chạy 6)	7,09
Trong lần chạy (Lần chạy 7)	7,84

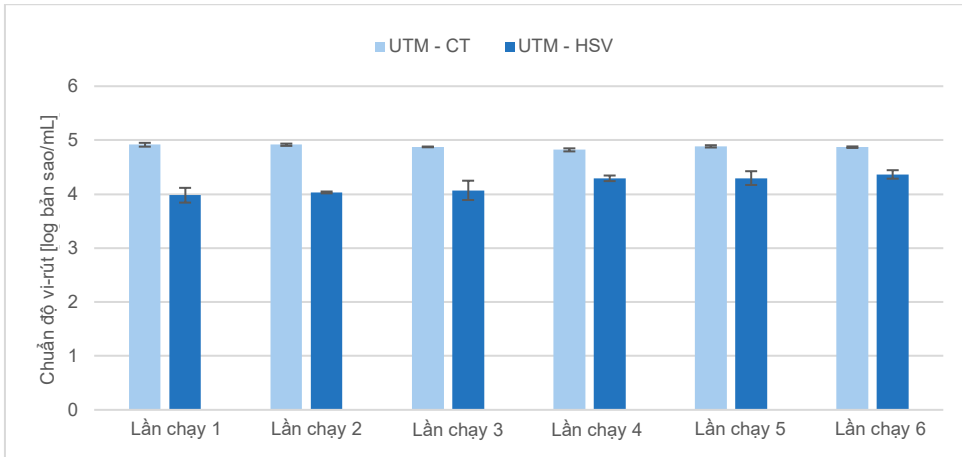
Ngoài ra, độ biến thiên giữa các lần chạy được xác định (Bảng 6).

**Bảng 6. Phân tích các ước tính độ chụm – độ biến thiên giữa các lần chạy**

Độ chụm	CV (%)
Giữa các lần chạy (Lần chạy 1–7)	10,54

Độ lệch chuẩn và CV đối với môi trường vận chuyển được xác định cho HSV-1 và *Chlamydia trachomatis* bằng cách sử dụng xét nghiệm PCR HSV1 thích hợp và xét nghiệm PCR *C. trachomatis* thích hợp. DNA vi-rút và vi khuẩn đã được tách chiết từ 400 µL UTM và được rửa giải trong 60 µL. Tổng cộng, 6 lần chạy lọc đã được thực hiện từ một người vận hành, trong 3 ngày với 3 lô EZ1 DSP Virus Kit. Tất cả các mẫu được phân tích trong cùng một lần chạy PCR. Dữ liệu độ chụm trong lần chạy được hiển thị dưới dạng các độ lệch chuẩn trong Hình 6.





**Hình 6. Độ chụm trong lần chạy bằng hệ thống EZ1 DSP Virus.** UTM được chuẩn bị với chuẩn độ vi-rút tương ứng trước khi sử dụng. NA đã được lọc từ các phần 400 µL trong 6 lần chạy với 2 lần lặp lại mỗi lần chạy trên EZ1 Advanced XL. Chuẩn độ vi-rút trung bình và độ lệch chuẩn được hiển thị cho mỗi lần chạy.

CV được xác định để tách chiết NA từ các mẫu UTM. Các dữ liệu độ chụm được trình bày trong Bảng 7.

**Bảng 7. Phân tích các ước tính độ chụm – độ biến thiên trong lần chạy (CT và HSV)**

Độ chụm (CMV)	CV (%) CT	CV (%) HSV
Trong lần chạy (Lần chạy 1)	0,72	3,44
Trong lần chạy (Lần chạy 2)	0,43	0,43
Trong lần chạy (Lần chạy 3)	0,15	4,40
Trong lần chạy (Lần chạy 4)	0,59	1,21
Trong lần chạy (Lần chạy 5)	0,43	2,97
Trong lần chạy (Lần chạy 6)	0,29	1,81

Ngoài ra, độ biến thiên giữa các lần chạy được xác định (Bảng 8).

**Bảng 8. Phân tích các ước tính độ chụm – độ biến thiên giữa các lần chạy**

Độ chụm	CV (%) CT	CV (%) HSV
Giữa các lần chạy (Lần chạy 1-6)	0,77	4,25

## Đầu vào mẫu/đầu ra dịch rửa giải

Hệ thống EZ1 DSP Virus trên dòng dụng cụ EZ1 cung cấp khả năng kết hợp các thể tích mẫu đầu vào khác nhau (100, 200 hoặc 400 µL) với các thể tích dịch rửa giải đầu ra khác nhau (60, 90, 120 hoặc 150 µL). Hiệu suất tổng thể của các quy trình tách chiết được sử dụng trên dòng dụng cụ EZ1 đã được xác minh bằng cách sử dụng các tổ hợp mẫu đầu vào và dịch rửa giải đầu ra khác nhau có thể có.

Dữ liệu của các nghiên cứu khác nhau đã chứng minh rằng sản lượng NA cao nhất với thể tích mẫu đầu vào cao kết hợp với thể tích dịch rửa giải đầu ra cao. Nồng độ NA cao nhất với thể tích mẫu đầu vào cao và thể tích dịch rửa giải đầu ra thấp. Tùy thuộc vào quy trình làm việc hoàn chỉnh (chuẩn bị mẫu kết hợp với ứng dụng xuôi dòng cụ thể), có thể có sự kết hợp có lợi nhất giữa thể tích mẫu đầu vào và thể tích rửa giải mà có thể giúp tối ưu hóa, ví dụ, sản lượng và nồng độ NA cuối cùng hoặc giảm thiểu hơn nữa tiềm năng ảnh hưởng của các chất gây nhiễu còn lại. Các ứng dụng xuôi dòng khác nhau ngay cả cho cùng một vật liệu mẫu có thể yêu cầu các tổ hợp mẫu đầu vào/dịch rửa giải đầu ra khác nhau. Do đó, người dùng có trách nhiệm xác thực toàn bộ quy trình làm việc trong ứng dụng cụ thể của họ để thiết lập các thông số hiệu năng phù hợp.

## Độ ổn định của dịch rửa giải

Độ ổn định của dịch rửa giải của EZ1 DSP Virus Kit được đánh giá bằng cách sử dụng RNA và DNA vi-rút được tách chiết từ các mẫu huyết tương EDTA ở người. Các dịch rửa giải được bảo quản ở các nhiệt độ khác nhau và các khoảng thời gian khác nhau và được phân tích độ ổn định bằng xét nghiệm PCR nội bộ đã được xác nhận.

Kết quả đã chứng minh độ ổn định của axit nucleic trong tối đa 24 giờ khi được bảo quản ở 2–8 °C, lên đến 12 tuần khi bảo quản ở –20 °C, lên đến 12 tháng khi bảo quản ở –80 °C.

Độ ổn định của axit nucleic có thể khác nhau đối với ứng dụng xuôi dòng cụ thể đang được sử dụng và cần được người dùng tự xác nhận.

## Các chất gây nhiễu

Ảnh hưởng của các chất gây nhiễu ngoại sinh lên hệ thống EZ1 DSP Virus được phân tích bằng cách xét nghiệm các nồng độ xác định (gấp 3 lần nồng độ đỉnh cấp tính sau khi điều trị bằng thuốc, theo khuyến cáo trong Hướng dẫn CLSI EP7-A2) của các chất khác nhau (Bảng 9). Các mẫu này được pha vào các mẫu huyết tương EDTA dương tính với CMV hoặc âm tính với CMV và được so sánh với huyết tương âm tính với chất gây nhiễu. Các dịch rửa giải NA được phân tích bằng xét nghiệm PCR CMV thích hợp.

Lưu ý: Xét nghiệm được thực hiện bằng cách sử dụng các ứng dụng xuôi dòng mẫu để đánh giá chất lượng của các axit nucleic được tách chiết. Tuy nhiên, các ứng dụng xuôi dòng khác nhau có thể có các yêu cầu khác nhau về độ tinh khiết (tức là không có các chất gây nhiễu tiềm ẩn), do đó, việc xác định và xét nghiệm các chất liên quan cũng cần được thiết lập như một phần của quá trình phát triển ứng dụng xuôi dòng cho bất kỳ quy trình làm việc nào liên quan đến EZ1 DSP Virus Kit.

**Bảng 9. Xét nghiệm nồng độ của các chất gây nhiễu tiềm ẩn được pha vào EDTA – huyết tương**

Các chất gây nhiễu	Nồng độ xét nghiệm cuối cùng
Sulfamethoxazole	200 mg/L
Trimethoprim	5,2 mg/L
Claforan (Cefotaxime)	1 g/L
Tazobac (Piperacillin + Tazobactam)	Piperacillin: 1 g/L Tazobactam: 125 mg/L
Ticarcillin	1 g/L
Augmentin (Amoxicillin + Axit clavulanic)	Amoxicillin: 125 mg/L Axit clavulanic 25 mg/L
Vancomycin	125 mg/L
Fluconazole	1 mg/L
Rapamycin	100 mg/L
Natri mycophenolat	80 mg/L

Tất cả nồng độ của các chất gây nhiễu được xét nghiệm cho thấy không có ảnh hưởng đáng kể đến hiệu năng của xét nghiệm PCR CMV kết hợp với Hệ thống EZ1 DSP Virus liên quan đến độ đặc hiệu, độ nhạy và định lượng đáng tin cậy.

Xét nghiệm bổ sung đối với các chất gây nhiễu ngoại sinh bằng cách sử dụng hệ thống EZ1 DSP Virus được thực hiện bằng cách pha nồng độ xác định của các chất khác nhau (Bảng 10) vào các miếng gạt mũi họng được thu gom trong UTM. Vật liệu mẫu đã được pha các chủng cúm A và cúm B và các dịch rửa giải NA được phân tích bằng cách sử dụng xét nghiệm RT-PCR cúm A/B phù hợp.

**Bảng 10. Nồng độ xét nghiệm của các chất gây nhiễu tiềm ẩn được pha vào các miếng gạc mũi họng được thu gom trong UTM**

Các chất gây nhiễu	Nồng độ xét nghiệm cuối cùng
Máu người	5% thể tích/thể tích
Zanamivir	3 mg/mL
Oseltamivir	15 mg/mL
NaCl với chất bảo quản	10% thể tích/thể tích mẫu
Phenylephrine	10% thể tích/thể tích mẫu
Oxymetazoline	10% thể tích/thể tích mẫu
Budesonide	40 µg/mL
Fluticasone propionate	2,5% thể tích/thể tích mẫu
Luffa operculata	4,5 mg/mL
Lưu huỳnh	4,5 mg/mL
Galphimia glauca	4,5 mg/mL
Histaminum hydrochloricum	4,5 mg/mL
Beclomethasone dipropionate	61,73 µg/mL
Flunisolide	25 µg/mL
Triamcinolone acetonide	27,5 µg/mL
Guaifenesin	1,33 mg/mL
Diphenhydramine hydrochloride	0,5 mg/mL
Dextromethorphan hydrobromide	1 mg/mL
Pseudoephedrine hydrochloride	20 µg/mL
Benzocaine	1,44 mg/mL
Menthol	5 mg/mL
Tobramycin	0,3 mg/mL
Mupirocin	2 mg/mL
Amoxicillin	1 mg/mL
Dexamethasone	1,53 µmol/L

Tất cả nồng độ của các chất gây nhiễu được xét nghiệm cho thấy không có ảnh hưởng đáng kể đến hiệu năng của xét nghiệm RT-PCR A/B kết hợp với hệ thống EZ1 DSP Virus.

## Nhiễm bản chéo

Nguy cơ nhiễm bản chéo của hệ thống EZ1 DSP Virus đã được phân tích bằng cách thực hiện 9 lần chạy trên EZ1 Advanced với kiểu bản cờ xen kẽ. Để phát hiện chuyển sang từ mẫu sang mẫu, các lần chạy được thực hiện với các mẫu huyết tương dương tính với ParvoB19/CMV và các mẫu huyết tương âm tính với ParvoB19/CMV ở các vị trí xen kẽ. Mỗi lần chạy thứ ba chỉ được thực hiện bằng cách sử dụng các mẫu huyết tương âm tính. Tất cả các dịch rửa giải được xét nghiệm bằng xét nghiệm PCR CMV phù hợp cũng như xét nghiệm PCR Parvo B19 phù hợp.

Tất cả các mẫu dương tính với ParvoB19/CMV được xét nghiệm dương tính trong PCR và tất cả các mẫu âm tính với ParvoB19/CMV được xét nghiệm âm tính. Không có sự lây nhiễm chéo nào được phát hiện đối với chuyển sang từ mẫu sang mẫu hoặc từ lần chạy sang lần chạy.

# Đặc tính Hiệu năng của EZ2 Connect MDx

Đặc tính Hiệu năng cho EZ2 Connect MDx đã được thiết lập trong các nghiên cứu về tính tương đương với EZ1 Advanced XL bằng cách sử dụng EZ1 DSP Virus Kit. Các đặc tính hiệu năng liên quan đến bộ công cụ như độ ổn định của dịch rửa giải hoặc hiệu năng cơ bản có hiệu lực đối với tất cả các hệ thống dụng cụ được liệt kê trong hướng dẫn sử dụng EZ1 DSP Virus Kit vì bộ dụng cụ là một phần của hệ thống không thay đổi đối với các nền tảng tự động khác nhau.

Lưu ý: Đặc tính Hiệu năng phụ thuộc nhiều vào các yếu tố khác nhau và liên quan đến ứng dụng xuôi dòng cụ thể. Hiệu năng đã được thiết lập cho EZ1 DSP Virus Kit cùng với các ứng dụng xuôi dòng mẫu. Tuy nhiên, các phương pháp phân lập axit nucleic từ bệnh phẩm sinh học được sử dụng như một phương pháp phụ trợ cho nhiều ứng dụng xuôi dòng. Do đó, các thông số hiệu năng như ảnh hưởng của các chất gây nhiễu ngoại sinh, nhiễm bẩn chéo hoặc độ chụm lần chạy cần phải được thiết lập cho bất kỳ quy trình làm việc nào như một phần của quá trình phát triển ứng dụng xuôi dòng. Do đó người dùng có trách nhiệm xác nhận toàn bộ quy trình làm việc để thiết lập các thông số hiệu năng phù hợp.

## Hiệu năng cơ bản và khả năng tương thích với các ứng dụng xuôi dòng khác nhau

Dữ liệu hiệu năng cơ bản của dịch rửa giải được tạo bằng EZ1 Advanced XL, EZ1 Advanced hoặc BioRobot EZ1 cũng áp dụng cho dụng cụ EZ2 Connect MDx (xem trang 2). Thành phần của mẫu và bộ dụng cụ giống hệt nhau đối với các hệ thống dụng cụ để sử dụng với EZ1 DSP DNA Blood Kit. Hơn nữa, tính tương đương của các quy trình tách chiết được sử dụng trên hệ thống EZ2 Connect MDx đã được xét nghiệm để cho thấy hiệu năng tương đương hoặc nâng cao của hệ thống. Trong quá trình xét nghiệm tính tương đương, khả năng tương thích với các ứng dụng xuôi dòng khác nhau (bao gồm cả qPCR) cũng đã được xác nhận.

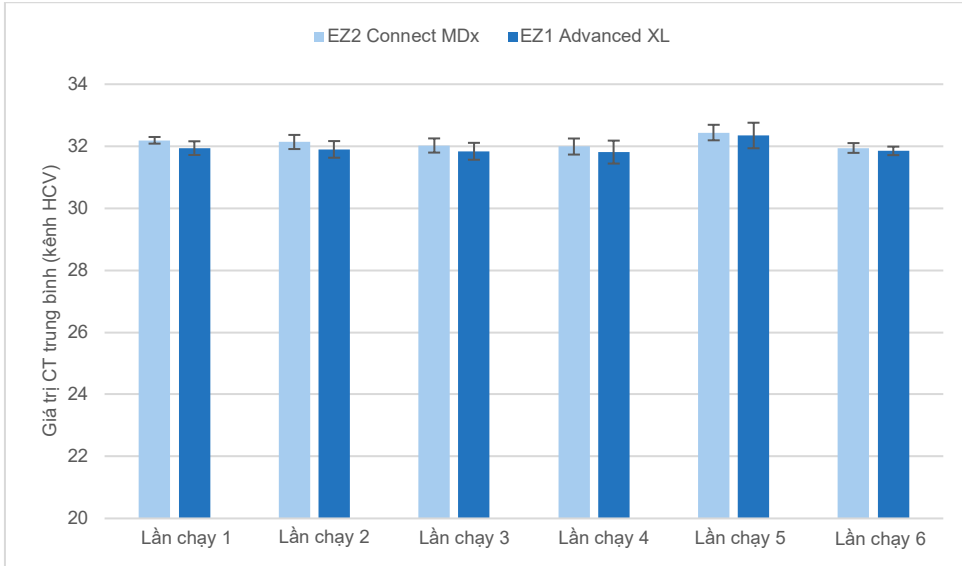
Tuy nhiên, vì chỉ các phương pháp xuôi dòng mẫu được sử dụng, người dùng có trách nhiệm xác thực toàn bộ quy trình làm việc trong ứng dụng cụ thể của họ để thiết lập các thông số hiệu năng phù hợp.

## Đông lạnh – rã đông mẫu

Không nên đông lạnh lại các mẫu đã rã đông hoặc bảo quản mẫu trong hơn 6 giờ ở 2–8 °C, vì điều này dẫn đến giảm đáng kể sản lượng và chất lượng của axit nucleic của vi-rút hoặc DNA vi khuẩn.

## Độ chụm

NA được tách chiết từ 200 µL mẫu huyết tương pha với HCV theo nồng độ 1E+04 IU/mL và được rửa giải trong 150 µL. Tổng cộng, 12 lần chạy lọc đã được thực hiện với ba người vận hành khác nhau, trên 3 dụng cụ khác nhau (trên mỗi loại dụng cụ) và vào 3 ngày khác nhau. Dữ liệu về độ chụm trong lần chạy được hiển thị dưới dạng độ lệch chuẩn của các giá trị CT (Hình 7).



**Hình 7. Giá trị Ct trung bình của tất cả các lần chạy bằng xét nghiệm RT-PCR HCv.** Huyết tương được thu gom, tổng hợp và chuẩn bị với chuẩn độ vi-rút tương ứng trước khi sử dụng. NA đã được lọc từ các phần 200 µL trong 6 lần chạy với 12 lần lặp lại mỗi lần chạy trên EZ1 Advanced XL và EZ2 Connect MDx bằng cách sử dụng hệ thống EZ1 DSP Virus. Giá trị Ct trung bình và độ lệch chuẩn được hiển thị cho mỗi lần chạy.

CV được xác định để tách chiết NA từ huyết tương. Các dữ liệu độ chụm được trình bày trong Bảng 11.

**Bảng 11. Phân tích các ước tính độ chụm – độ biến thiên trong lần chạy**

Độ chụm	CV (%) (EZ2 Connect MDx)	CV (%) (EZ1 Advanced XL)
Trong lần chạy (Lần chạy 1)	0,33	0,69
Trong lần chạy (Lần chạy 2)	0,71	0,84
Trong lần chạy (Lần chạy 3)	0,71	0,86
Trong lần chạy (Lần chạy 4)	0,81	1,16
Trong lần chạy (Lần chạy 5)	0,77	1,27
Trong lần chạy (Lần chạy 6)	0,49	0,43

Độ biến thiên trong lần chạy của dụng cụ EZ2 Connect MDx được xác định là tương đương với độ biến thiên trong lần chạy trên dụng cụ EZ1 Advanced XL khi sử dụng EZ1 DSP Virus Kit trong các xét nghiệm về độ tương đương.

Ngoài ra, độ biến thiên giữa các lần chạy được xác định cho dụng cụ EZ2 Connect MDx (Bảng 12).

**Bảng 12. Phân tích các ước tính độ chụm – độ biến thiên giữa các lần chạy**

Độ chụm	CV (%) (EZ2 Connect MDx)	CV (%) (EZ1 Advanced XL)
Giữa các lần chạy (Lần chạy 1-6)	0,82	1,06

Phân tích thống kê cho thấy EZ2 Connect MDx có hiệu năng tương đương so với dụng cụ EZ1 Advanced XL.

## Đầu vào mẫu/đầu ra dịch rửa giải

Hệ thống EZ1 DSP Virus trên dòng dụng cụ EZ2 Connect MDx cung cấp khả năng kết hợp các thể tích mẫu đầu vào khác nhau (100, 200 hoặc 400 µL) với các thể tích dịch rửa giải đầu ra khác nhau (60, 90, 120 hoặc 150 µL). Xét nghiệm hiệu năng tổng thể của các quy trình tách chiết được sử dụng trên hệ thống EZ2 Connect MDx cho thấy hệ thống có hiệu năng tương đương so với EZ1 Advanced XL.

Tùy thuộc vào quy trình làm việc hoàn chỉnh (chuẩn bị mẫu kết hợp với ứng dụng xuôi dòng cụ thể), có thể có sự kết hợp có lợi nhất giữa thể tích mẫu đầu vào và thể tích rửa giải mà có thể giúp tối ưu hóa, ví dụ, sản lượng và nồng độ NA cuối cùng hoặc giảm thiểu hơn nữa tiềm năng ảnh hưởng của các chất gây nhiễu còn lại. Các ứng dụng xuôi dòng khác nhau ngay cả cho cùng một vật liệu mẫu có thể yêu cầu các tổ hợp mẫu đầu vào/dịch rửa giải đầu ra khác nhau. Do đó, người dùng có trách nhiệm xác thực toàn bộ quy trình làm việc trong ứng dụng cụ thể của họ để thiết lập các thông số hiệu năng phù hợp.

## Độ nhạy

Sử dụng các mẫu huyết tương được pha với nồng độ HBV gần với giới hạn phát hiện (khoảng 18 IU/mL), 18 lần chạy lọc trên EZ2 Connect MDx và EZ1 Advanced XL được một người vận hành thực hiện trên ba dụng cụ khác nhau (trên mỗi loại dụng cụ) vào 3 ngày sử dụng 400 µL mẫu đầu vào và thể tích rửa giải 90 µL. Tất cả các dịch rửa giải đều được phân tích định tính bằng cách sử dụng xét nghiệm PCR HBV phù hợp cho dù có thể phát hiện được đích hay không. Gần với giới hạn phát hiện, không mong đợi tất cả các bản sao đều được xác định là dương tính. Có thể khẳng định rằng số lượng các bản sao dương tính là tương đương về mặt thống kê.

**Bảng 13. Tóm tắt kết quả xét nghiệm độ nhạy từ tất cả các lần chạy EZ2 Connect MDx**

EZ2 Connect MDx – Số lần dụng cụ của mẫu HBV dương tính									
Số lần dụng cụ	8	8	7	7	7	8	8	6	7
% lần dụng cụ	100%	100%	87,50%	87,50%	87,50%	100%	100%	75,00%	87,50%

**Bảng 14. Tóm tắt kết quả xét nghiệm độ nhạy từ tất cả các lần chạy EZ1 Advanced XL**

EZ1 Advanced XL – Số lần dụng cụ của mẫu HBV dương tính									
Số lần dụng cụ	8	8	8	7	7	8	8	7	7
% lần dụng cụ	100%	100%	100%	87,50%	87,50%	100%	100%	87,50%	87,50%

**Bảng 15. Tóm tắt độ nhạy hiển thị kết quả Xét nghiệm Chính xác Fisher**

Lệnh gọi chính xác EZ2	Lệnh gọi chính xác EZ1	Giá trị P Xét nghiệm Chính xác Fisher (2 đuôi)
91,55%	94,44%	0,532

Phân tích thống kê cho thấy EZ2 Connect MDx có hiệu năng tương đương so với dụng cụ EZ1 Advanced XL.

## Độ ổn định của dịch rửa giải

Dữ liệu độ ổn định của dịch rửa giải được tạo bằng EZ1 Advanced XL, EZ1 Advanced hoặc BioRobot EZ1 cũng áp dụng cho dụng cụ EZ2 Connect MDx (xem trang 2). Thành phần của mẫu và bộ dụng cụ giống hệt nhau đối với các hệ thống dụng cụ để sử dụng với EZ1 DSP Virus Kit. Hơn nữa, tính tương đương của các quy trình tách chiết được sử dụng trên hệ thống EZ2 Connect MDx đã được xét nghiệm để cho thấy hiệu năng tương đương của hệ thống. Hướng dẫn xử lý dịch rửa giải áp dụng cho tất cả các hệ thống tự động để sử dụng với bộ dụng cụ.

Tuy nhiên, người dùng có trách nhiệm xác thực toàn bộ quy trình làm việc trong ứng dụng cụ thể của họ để thiết lập các thông số hiệu năng phù hợp.

## Các chất gây nhiễu

Ảnh hưởng của các chất gây nhiễu được xác định bằng cách sử dụng EZ1 Advanced XL. Những dữ liệu này cũng áp dụng cho dụng cụ EZ2 Connect MDx (xem trang 12). Thành phần của mẫu và bộ dụng cụ giống hệt nhau đối với các hệ thống dụng cụ để sử dụng với EZ1 DSP Virus Kit. Thể tích mẫu đầu vào/dịch rửa giải đầu ra giống nhau để không ảnh hưởng đến loại hoặc nồng độ của các chất gây nhiễu trong dịch rửa giải. Hơn nữa, tính tương đương của các quy trình tách chiết được sử dụng trên hệ thống EZ2 Connect MDx đã được xét nghiệm để cho thấy hiệu năng tương đương của hệ thống. Hướng dẫn xử lý mẫu và dịch rửa giải áp dụng cho tất cả các hệ thống tự động để sử dụng với bộ dụng cụ.

Tuy nhiên, người dùng có trách nhiệm xác thực toàn bộ quy trình làm việc trong ứng dụng cụ thể của họ để thiết lập các thông số hiệu năng phù hợp.






## Nhiễm bản chéo

Nguy cơ nhiễm bản chéo của EZ1 DSP Virus Kit được sử dụng trên EZ2 Connect MDx đã được phân tích bằng cách thực hiện mười lần chạy (400 µL đầu vào, 60 µL rửa giải) với các kiểu bàn cờ luân phiên trong 2 ngày bởi một người vận hành. Để phát hiện chuyển sang từ mẫu sang mẫu, các lần chạy được thực hiện với các mẫu huyết tương dương tính (được pha với HBV) và âm tính (không pha) ở các vị trí xen kẽ. Mỗi lần chạy thứ hai chỉ được thực hiện bằng cách sử dụng các mẫu huyết tương âm tính với HBV. Tất cả các dịch rửa giải được phân tích bằng xét nghiệm PCR HBV thích hợp.

Tất cả các mẫu dương tính với HBV được xét nghiệm dương tính trong PCR và tất cả các mẫu huyết tương âm tính với HBV được xét nghiệm âm tính. Không có sự lây nhiễm chéo nào được phát hiện đối với chuyển sang từ mẫu sang mẫu hoặc từ lần chạy sang lần chạy.

## Biểu tượng

Các biểu tượng sau xuất hiện trong tài liệu này. Để biết danh sách đầy đủ các biểu tượng được sử dụng trong hướng dẫn sử dụng hoặc trên bao bì và nhãn mác, vui lòng tham khảo sổ tay.

Biểu tượng	Định nghĩa biểu tượng
	Sản phẩm này đáp ứng các yêu cầu của Quy định Châu Âu 2017/746 đối với các thiết bị y tế chẩn đoán trong ống nghiệm.
	Thiết bị y tế chẩn đoán trong ống nghiệm
	Số danh mục
Rn	R là lần sửa đổi Hướng dẫn Sử dụng và n là số sửa đổi
	Nhà sản xuất
	Lưu ý quan trọng



## Lịch sử Sửa đổi

Lần sửa đổi	Mô tả
R1, tháng 6 năm 2022	Phiên bản 5, Lần sửa đổi 1 <ul style="list-style-type: none"><li>Tạo tài liệu cho phiên bản bộ dụng cụ mới. Đã thêm dữ liệu cho EZ2 Connect MDx</li><li>Loại bỏ toàn bộ mẫu vật liệu là máu toàn phần, nước tiểu, miếng gạc khô, đờm ra khỏi mục đích sử dụng</li></ul>

Để biết thông tin cập nhật về cấp phép và tuyên bố từ bỏ trách nhiệm cụ thể theo sản phẩm, xem sổ tay hoặc hướng dẫn sử dụng bộ dụng cụ QIAGEN tương ứng. Sổ tay và hướng dẫn sử dụng bộ dụng cụ QIAGEN có sẵn tại [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com) hoặc có thể được yêu cầu từ bộ phận Dịch vụ Kỹ thuật QIAGEN hoặc nhà phân phối tại địa phương của bạn.

Nhãn hiệu: QIAGEN®, Sample to Insight®, BioRobot®, EZ1®, EZ2® (Tập đoàn QIAGEN); BD™, Vacutainer® (Becton Dickinson and Company); Universal Transport Medium™, UTM® (COPAN Diagnostics Inc.); Sarstedt®, S-Monovette® (Sarstedt AG and Co.). Các tên, nhãn hiệu, v.v. đã đăng ký được sử dụng trong tài liệu này, kể cả khi không được đánh dấu cụ thể như vậy được coi là được bảo vệ về pháp lý.  
06/2022 HB-3026-D01-001 © 2022 QIAGEN, tất cả quyền được bảo lưu.

