

## Hướng dẫn sử dụng

**FlexStar<sup>®</sup>**

**SARS-CoV-2 Type & FLU  
RT-PCR Detection Mix 1.5**

02/2022 VI

**Respiratory**



# FlexStar®

## SARS-CoV-2 Type & FLU RT-PCR Detection Mix 1.5

Để sử dụng với

LightCycler® 480 Instrument II (Roche)

Rotor-Gene® Q5/6 plex Platform (QIAGEN)

CFX96™ Dx System (Bio-Rad)

CFX96™ Deep Well Dx System (Bio-Rad)



FS0021515



384



02 2022



altona Diagnostics GmbH • Mörkenstr. 12 • D-22767 Hamburg

## Mục lục

<b>1.</b>	<b>Về các hướng dẫn sử dụng này .....</b>	<b>6</b>
<b>2.</b>	<b>Mục đích sử dụng .....</b>	<b>6</b>
<b>3.</b>	<b>Nội dung sản phẩm .....</b>	<b>7</b>
<b>4.</b>	<b>Bảo quản .....</b>	<b>8</b>
<b>5.</b>	<b>Thông tin chung .....</b>	<b>9</b>
<b>6.</b>	<b>Mô tả sản phẩm .....</b>	<b>10</b>
6.1	Thành phần .....	11
6.2	Hệ thống realtime PCR.....	12
6.3	Các loại mẫu.....	12
<b>7.</b>	<b>Vật liệu cần thiết nhưng không được cung cấp .....</b>	<b>13</b>
<b>8.</b>	<b>Cảnh báo, thận trọng và hạn chế .....</b>	<b>14</b>
<b>9.</b>	<b>Quy trình .....</b>	<b>16</b>
9.1	Thu thập, xử lý và lưu trữ mẫu.....	16
9.2	Chuẩn bị mẫu .....	17
9.3	Thiết lập hóa chất phản ứng.....	19
9.4	Thiết lập phản ứng .....	20
<b>10.</b>	<b>Lập trình hệ thống realtime PCR .....</b>	<b>21</b>
10.1	Cài đặt .....	21
10.2	Bộ phận phát hiện huỳnh quang (thuốc nhuộm) .....	22
10.3	Chương trình nhiệt độ và ghi nhận màu thuốc nhuộm.....	22
<b>11.</b>	<b>Phân tích dữ liệu .....</b>	<b>22</b>
11.1	Tính hợp lệ của các lần chạy xét nghiệm chẩn đoán .....	23
11.1.1	Lần chạy xét nghiệm chẩn đoán hợp lệ .....	23

11.1.2	Lần chạy xét nghiệm chẩn đoán không hợp lệ.....	23
11.2	Diễn giải kết quả.....	23
11.2.1	Phân tích định tính.....	24
<b>12.</b>	<b>Đánh giá hiệu suất .....</b>	<b>25</b>
12.1	Mẫu dịch phết đường hô hấp .....	25
12.1.1	Độ nhạy phân tích .....	25
12.1.2	Độ đặc hiệu phân tích.....	29
12.1.2.1	Mẫu âm tính .....	30
12.1.2.2	Chất gây nhiễu .....	30
12.1.2.3	Phản ứng chéo.....	31
12.1.3	Tính bao quát (Inclusivity) .....	32
12.1.4	Độ đúng (Precision).....	35
12.1.5	Tổng tỷ lệ thất bại.....	37
12.1.6	Tồn đọng (Carry over).....	37
12.1.7	Hiệu suất lâm sàng.....	38
<b>13.</b>	<b>Thải bỏ .....</b>	<b>40</b>
<b>14.</b>	<b>Kiểm soát chất lượng .....</b>	<b>40</b>
<b>15.</b>	<b>Hỗ trợ kỹ thuật .....</b>	<b>41</b>
<b>16.</b>	<b>Tài liệu .....</b>	<b>41</b>
<b>17.</b>	<b>Nhãn hiệu và tuyên bố miễn trừ trách nhiệm.....</b>	<b>42</b>
<b>18.</b>	<b>Giải thích các ký hiệu .....</b>	<b>43</b>
<b>19.</b>	<b>Lịch sử chỉnh sửa .....</b>	<b>45</b>

## 1. Về các hướng dẫn sử dụng này

Trong hướng dẫn này, các cụm từ THẬN TRỌNG và LƯU Ý có nghĩa như sau:

### THẬN TRỌNG



Nêu rõ các hướng dẫn hoặc quy trình vận hành, nếu không được tuân thủ một cách chính xác, có thể dẫn đến các vấn đề thương tích về người hoặc ảnh hưởng đến hiệu suất của sản phẩm. Liên hệ với bộ phận hỗ trợ kỹ thuật của Altona Diagnostics để được hỗ trợ.

### LƯU Ý



Thông tin cung cấp cho người dùng là hữu ích nhưng không cần thiết cho nhiệm vụ hiện tại.

Đọc kỹ hướng dẫn sử dụng trước khi sử dụng sản phẩm.

## 2. Mục đích sử dụng

FlexStar® SARS-CoV-2 Type & FLU RT-PCR Detection Mix 1.5 là xét nghiệm chẩn đoán *in vitro*, dựa trên công nghệ realtime PCR, giúp phát hiện định tính và phân biệt giữa RNA đặc hiệu cho virus hội chứng hô hấp cấp tính nặng corona 2 (SARS-CoV-2) và virus cúm trong các mẫu bệnh phẩm dịch ngoáy (swab) đường hô hấp ở người. Quy trình nhận diện SARS-CoV-2 dựa trên phát hiện song song gen E của beta coronavirus dòng B (bao gồm SARS-CoV-2) và gen S của SARS-CoV-2.

FlexStar® SARS-CoV-2 Type & FLU RT-PCR Detection Mix 1.5 được sử dụng như một phương pháp hỗ trợ chẩn đoán nhiễm SARS-CoV-2 và virus cúm.

Kết quả thu được có FlexStar® SARS-CoV-2 Type & FLU RT-PCR Detection Mix 1.5 sẽ được diễn giải cùng với phát hiện lâm sàng và xét nghiệm khác.

FlexStar® SARS-CoV-2 Type & FLU RT-PCR Detection Mix 1.5 được thiết kế dành cho các chuyên viên đã qua đào tạo về kỹ thuật sinh học phân tử và quy trình chẩn đoán *in vitro*.

### 3. Nội dung sản phẩm

FlexStar® SARS-CoV-2 Type & FLU RT-PCR Detection Mix 1.5 bao gồm các thành phần sau:

**Bảng 1:** Thành phần bộ kit

Màu nắp	Thành phần	Số ống	Thể tích trên danh nghĩa [ $\mu$ l/ống]
Xanh lam	Detection Mix <sup>1)</sup>	8	240
Đỏ	PC <sup>2)</sup>	2	250
Trắng	NTC <sup>3)</sup>	2	250

<sup>1)</sup> Chứa vật liệu sinh học có nguồn gốc từ động vật

<sup>2)</sup> Đối chứng dương [RNA đặc hiệu cho  $\beta$ CoV dòng B (gen E), SARS-CoV-2 (gen S) và virus cúm]

<sup>3)</sup> Mẫu chứng âm (NTC)

#### THẬN TRỌNG



Trước khi sử dụng lần đầu tiên, hãy kiểm tra sản phẩm và các thành phần của sản phẩm để đảm bảo số lượng, loại và dung tích đầy đủ. Không sử dụng sản phẩm lỗi hoặc không hoàn chỉnh vì có thể ảnh hưởng đến hiệu suất của sản phẩm.

## 4. Bảo quản

- FlexStar® SARS-CoV-2 Type & FLU RT-PCR Detection Mix 1.5 được vận chuyển trong đá khô. Các thành phần của sản phẩm phải ở trạng thái đông lạnh khi giao đến. Nếu có từ một thành phần trở lên không đông lạnh tại thời điểm nhận hoặc các ống bị hỏng trong quá trình vận chuyển, vui lòng liên hệ với bộ phận hỗ trợ kỹ thuật của Altona Diagnostics để được hỗ trợ (xem chương 15. Hỗ trợ kỹ thuật).
- Tất cả các thành phần phải được bảo quản ở nhiệt độ từ -25 °C đến -15 °C tại thời điểm giao đến.
- Cần tránh đông - rã đông thành phần Detection Mix (hỗn hợp phát hiện) nhiều lần do có thể ảnh hưởng đến hiệu suất của sản phẩm.
- Cần tránh đông - rã đông đối chứng dương (PC) và mẫu chứng âm (NTC) nhiều lần (hơn 4 lần) do có thể ảnh hưởng đến hiệu suất của sản phẩm.
- Không bảo quản ở nhiệt độ phòng (tối đa +30 °C) quá 2 giờ.
- Không để thành phần Detection Mix (hỗn hợp phát hiện) tiếp xúc với ánh sáng.

### THẬN TRỌNG



Điều kiện bảo quản không phù hợp có thể ảnh hưởng đến hiệu suất của sản phẩm.

### THẬN TRỌNG



Không vượt quá số lần đông - rã đông và thời gian xử lý được chỉ định trong các hướng dẫn sử dụng này vì điều này có thể ảnh hưởng đến hiệu suất của sản phẩm.

### THẬN TRỌNG



Không sử dụng sản phẩm hết hạn sử dụng. Việc sử dụng các sản phẩm hết hạn có thể ảnh hưởng đến hiệu suất của sản phẩm.



## 5. Thông tin chung

### SARS-CoV-2

Virus hội chứng hô hấp cấp tính nặng corona 2 (SARS-CoV-2) là loại virus có bộ gen RNA mạch đơn sợi dương thuộc họ *Coronaviridae*, chi betacoronavirus, dòng B.

Tháng 12/2019, SARS-CoV-2 khởi phát tại khu vực Vũ Hán, Trung Quốc và đã lan rộng trên phạm vi toàn cầu chỉ trong vòng 2 tháng. Ban đầu, loại virus này có tên gọi 2019-nCoV (virus corona mới) và được “Ủy ban Quốc tế về Phân loại Virus” đổi tên thành SARS-CoV-2 vào ngày 11.02.2020. Cũng tại thời điểm đó, WHO đã đặt tên cho căn bệnh này là COVID-19, do SARS-CoV-2 gây ra. Ngày 12/03/2020, khi đánh giá tác động trầm trọng và mức độ lây lan nhanh chóng của COVID-19 trên toàn thế giới, WHO mô tả đây là một đại dịch.

SARS-CoV-2 có khả năng truyền nhiễm cao và lây truyền qua không khí và giọt bắn, đồng thời gây nhiễm trùng đường hô hấp cấp tính với các triệu chứng tương tự như cúm. Ở phần lớn (nhưng không phải tất cả) người cao tuổi và những người có bệnh nền, việc nhiễm SARS-CoV-2 có thể dẫn đến bệnh nghiêm trọng và đe dọa tính mạng. Đã có báo cáo về các trường hợp nhiễm trùng không triệu chứng, bệnh nhẹ, bệnh nghiêm trọng và tử vong [1,2].

### Virus cúm

Cúm là một bệnh truyền nhiễm do virus RNA thuộc họ *Orthomyxoviridae* (virus cúm) gây ra [3,4]. Virus cúm có đặc trưng là sự thay đổi liên tục của kháng nguyên bề mặt chính hemagglutinin (H) và neuraminidase (N) (biến thể kháng nguyên) [5]. Chúng lây nhiễm cho chim và động vật có vú qua không khí [6]. Virus cúm A và cúm B ở người gây nhiễm trùng nặng chủ yếu ở đường hô hấp với các triệu chứng thường gặp nhất là sốt và ho. Trong trường hợp nghiêm trọng hơn, cúm gây viêm phổi, đặc biệt là gây tử vong ở trẻ em và người cao tuổi [7].

#### LƯU Ý



Do một số RNA virus tiến hóa tương đối nhanh nên bất kỳ hệ thống xét nghiệm dựa trên RT-PCR nào cũng tiềm ẩn rủi ro khi các đột biến tích lũy theo thời gian, dẫn đến kết quả âm tính giả.

## 6. Mô tả sản phẩm

FlexStar® SARS-CoV-2 Type & FLU RT-PCR Detection Mix 1.5 là xét nghiệm chẩn đoán *in vitro*. Được sử dụng kết hợp với FlexStar® (RT-) PCR Amplification Mix 1.5 (hỗn hợp khuếch đại), giúp phát hiện định tính và phân biệt RNA đặc hiệu cho beta coronavirus dòng B ( $\beta$ CoV dòng B, gen E), SARS-CoV-2 (gen S) và virus cúm (A+B) trong các mẫu bệnh phẩm dịch ngoáy (swab) đường hô hấp ở người.

FlexStar® SARS-CoV-2 Type & FLU RT-PCR Detection Mix 1.5 dựa trên công nghệ realtime RT-PCR, sử dụng phản ứng phiên mã ngược (RT) để chuyển RNA thành DNA bổ sung (cDNA), phản ứng chuỗi polymerase (PCR) để khuếch đại các trình tự đặc hiệu của  $\beta$ CoV dòng B (gen E), SARS-CoV-2 (gen S) và cúm (A+B), đồng thời là các đầu dò đặc hiệu dán nhãn huỳnh quang để phát hiện cDNA đã khuếch đại.

Ngoài các hệ thống phát hiện và khuếch đại đặc hiệu RNA cho  $\beta$ CoV dòng B, SARS-CoV-2 và virus cúm, FlexStar® SARS-CoV-2 Type & FLU RT-PCR Detection Mix 1.5 bao gồm oligonucleotides để khuếch đại và nhận diện chất nội chuẩn (IC, AltoStar® Internal Control 1.5). IC được tự động bổ sung khi bắt đầu chu trình tinh sạch nucleic acid trên hệ thống tách chiết acid nucleic và chuẩn bị PCR tự động AltoStar® AM16 (trong phần tóm tắt dưới đây được gọi là AltoStar® AM16). Để biết thông tin chi tiết, hãy tham khảo hướng dẫn sử dụng AltoStar® Internal Control 1.5.

Đầu dò đặc hiệu cho RNA của  $\beta$ CoV dòng B (gen E) được dán nhãn huỳnh quang ROX™, đầu dò đặc hiệu cho RNA của SARS-CoV-2 (gen S) được dán nhãn huỳnh quang Cy5 và đầu dò đặc hiệu cho RNA của virus cúm (A+B) được dán nhãn huỳnh quang FAM™ tương ứng. Đầu dò đặc hiệu cho IC được dán nhãn huỳnh quang JOE™.

Sử dụng các đầu dò kết hợp với chất nhuộm có thể phân biệt để phát hiện đồng thời  $\beta$ CoV dòng B (gen E), SARS-CoV-2 (gen S), virus cúm (A+B) và IC trong các kênh nhận diện tương ứng của hệ thống realtime PCR.

## 6.1 Thành phần

FlexStar® SARS-CoV-2 Type & FLU RT-PCR Detection Mix 1.5 chứa đủ thuốc thử cho 384 phản ứng. Sản phẩm bao gồm các thành phần sau:

- Detection Mix<sup>1)</sup>
- PC<sup>2)</sup>
- NTC<sup>3)</sup>

<sup>1)</sup> Chứa vật liệu sinh học có nguồn gốc từ động vật

<sup>2)</sup> Đối chứng dương [RNA đặc hiệu cho  $\beta$ CoV dòng B (gen E), SARS-CoV-2 (gen S) và virus cúm]

<sup>3)</sup> Mẫu chứng âm (NTC)

Ngoại trừ DNA polymerase và enzyme phiên mã ngược, có trong FlexStar® (RT-) PCR Amplification Mix 1.5, thành phần của Detection Mix (hỗn hợp phát hiện) chứa tất cả các hóa chất (dung dịch đệm cho phản ứng PCR, muối magie, đoạn mồi và mẫu dò) để có thể phát hiện và phân biệt RNA đặc hiệu cho  $\beta$ CoV dòng B (gen E) và SARS-CoV-2 (gen S), phát hiện virus cúm (A+B), cũng như RNA đặc hiệu cho IC.

PC chứa RNA đặc hiệu cho  $\beta$ CoV dòng B (gen E) và SARS-CoV-2 (gen S), cũng như cho virus cúm. PC được sử dụng để xác minh chức năng của các hệ thống khuếch đại và nhận diện đặc hiệu cho  $\beta$ Cov dòng B, SARS-CoV-2 và virus cúm.

NTC không chứa RNA đặc hiệu cho  $\beta$ CoV dòng B, SARS-CoV-2 hoặc virus cúm (A+B) nhưng có chứa khuôn cho IC. NTC được sử dụng làm chứng âm realtime PCR đặc hiệu cho  $\beta$ CoV dòng B (gen E), SARS-CoV-2 (gen S) và virus cúm (A+B), đồng thời cho biết khả năng bị nhiễm của các thành phần trong Detection Mix (hỗn hợp phát hiện).

## 6.2 Hệ thống realtime PCR

FlexStar® SARS-CoV-2 Type & FLU RT-PCR Detection Mix 1.5 đã được phát triển và kiểm định có thể sử dụng với các hệ thống realtime PCR sau:

- LightCycler® 480 Instrument II (Roche)
- Rotor-Gene® Q5/6 plex Platform (QIAGEN)
- CFX96™ Dx System (Bio-Rad)
- CFX96™ Deep Well Dx System (Bio-Rad)

### LƯU Ý



Đảm bảo rằng tất cả các thiết bị cần sử dụng đã được lắp đặt, hiệu chuẩn, kiểm tra và bảo trì theo hướng dẫn và khuyến nghị của nhà sản xuất.

## 6.3 Các loại mẫu

FlexStar® SARS-CoV-2 Type & FLU RT-PCR Detection Mix 1.5 đã được kiểm định để sử dụng với loại mẫu sau:

- Mẫu dịch ngoáy (swab) đường hô hấp ở người

### THẬN TRỌNG



Không sử dụng các loại mẫu khác! Việc sử dụng các loại mẫu khác có thể ảnh hưởng đến hiệu suất của sản phẩm.

## 7. Vật liệu cần thiết nhưng không được cung cấp

Các dụng cụ và vật tư tiêu hao bổ sung sau đây là cần thiết để có thể sử dụng FlexStar® SARS-CoV-2 Type & FLU RT-PCR Detection Mix 1.5 nhưng không được cung cấp kèm theo sản phẩm này:

- Hệ thống realtime PCR thích hợp (xem chương 6.2 Hệ thống realtime PCR)
- Hệ thống hoặc kit tách chiết nucleic acid thích hợp (xem chương 9.2 Chuẩn bị mẫu)
- Máy trộn vortex
- Máy ly tâm (ví dụ: máy ly tâm để bàn) hóa chất bộ kit
- Máy ly tâm đĩa PCR
- Đĩa xét nghiệm quang hoá 96 giếng hoặc ống nghiệm thích hợp với nắp đóng (quang học) tương ứng
- Pipet (có thể điều chỉnh)
- Đầu tip có lọc (dùng một lần)
- Găng tay không bột (dùng một lần)

Các hóa chất cần thiết nhưng không có trong FlexStar® SARS-CoV-2 Type & FLU RT-PCR Detection Mix 1.5:

- FlexStar® (RT-)PCR Amplification Mix 1.5 (Mã đặt hàng FS0011515)
- AltoStar® Internal Control 1.5 (Mã đặt hàng IC15-16/IC15-46)

## 8. Cảnh báo, thận trọng và hạn chế

- Trước khi sử dụng lần đầu tiên, hãy kiểm tra sản phẩm và các thành phần của sản phẩm để đảm bảo số lượng, loại và dung tích đầy đủ. Không sử dụng sản phẩm lỗi hoặc không hoàn chỉnh vì có thể ảnh hưởng đến hiệu suất của sản phẩm.
- Điều kiện bảo quản không phù hợp có thể ảnh hưởng đến hiệu suất của sản phẩm.
- Không vượt quá số lần đông - rã đông và thời gian xử lý được chỉ định trong các hướng dẫn sử dụng này vì điều này có thể ảnh hưởng đến hiệu suất của sản phẩm.
- Không sử dụng sản phẩm hết hạn sử dụng. Việc sử dụng các sản phẩm hết hạn có thể ảnh hưởng đến hiệu suất của sản phẩm.
- Không sử dụng các loại mẫu khác! Việc sử dụng các loại mẫu khác có thể ảnh hưởng đến hiệu suất của sản phẩm.
- Việc xử lý các thành phần và mẫu sản phẩm không đúng cách có thể gây nhiễm và có thể ảnh hưởng đến hiệu suất của sản phẩm:
  - Không hoán đổi nắp lọ hoặc nắp chai.
  - Bảo quản vật liệu dương tính và/hoặc có khả năng là dương tính tách biệt với các thành phần bộ kit.
  - Sử dụng các khu vực làm việc riêng biệt cho các hoạt động chuẩn bị mẫu/đặt phản ứng và cho khuếch đại/phát hiện.
  - Luôn bỏ găng tay sau khi xử lý vật liệu dương tính và/hoặc có khả năng là vật liệu dương tính.
  - Không mở các đĩa PCR và/hoặc các ống sau khi khuếch đại.
- Không gộp thành phần của các lô FlexStar® SARS-CoV-2 Type & FLU RT-PCR Detection Mix 1.5 khác nhau vì điều này có thể ảnh hưởng đến hiệu suất của sản phẩm.
- Luôn coi mẫu là vật liệu lây nhiễm và nguy hiểm (về mặt sinh học) theo quy trình an toàn và phòng thí nghiệm. Khi xảy ra sự cố tràn vật liệu mẫu, ngay lập tức sử dụng chất khử trùng thích hợp. Xử lý các vật liệu bị ô nhiễm như các vật liệu nguy hiểm sinh học.
- Sự hiện diện của chất ức chế PCR có thể dẫn đến kết quả âm tính giả hoặc không hợp lệ.
- Việc xử lý chất thải nguy hại và chất thải sinh học phải tuân theo các quy định của địa phương và quốc gia để tránh ô nhiễm môi trường.

- Việc bảo quản sản phẩm rửa giải ở điều kiện không phù hợp có thể gây phân giải trình tự mục tiêu của  $\beta$ CoV dòng B (gen E), SARS-CoV-2 (gen S) và/hoặc virus cúm và ảnh hưởng đến hiệu suất của sản phẩm.
- Việc không ly tâm các thành phần của sản phẩm sau khi đã đông có thể gây nhiễm bởi hóa chất còn sót lại trong nắp và có thể ảnh hưởng đến hiệu suất của sản phẩm.
- Không bảo quản hỗn hợp PCR vượt quá thời gian quy định vì điều này có thể ảnh hưởng đến hiệu suất của sản phẩm.
- Giống với mọi xét nghiệm chẩn đoán, kết quả sẽ được giải thích dựa trên tất cả các phát hiện lâm sàng và xét nghiệm.
- Trường hợp mẫu chứa mầm bệnh khác không phải  $\beta$ CoV dòng B (gen E), SARS-CoV-2 (gen S) và/hoặc virus cúm, có thể xảy ra sự cạnh tranh với khuếch đại mục tiêu hoặc phản ứng chéo, khiến kết quả kiểm tra IVD không chính xác.
- Đột biến tiềm ẩn trong vùng mục tiêu (vùng bắt mồi và đầu dò) của bộ gen  $\beta$ CoV dòng B (gen E), SARS-CoV-2 (gen S) và/hoặc virus cúm mà bộ kit sử dụng có thể dẫn đến việc không phát hiện ra sự có mặt của mầm bệnh.

## 9. Quy trình

### THẬN TRỌNG

Việc xử lý các thành phần và mẫu sản phẩm không đúng cách có thể gây nhiễm và có thể ảnh hưởng đến hiệu suất của sản phẩm:



- Không thay đổi nắp lọ hoặc nắp chai.
- Bảo quản vật liệu dương tính và/hoặc có khả năng là dương tính tách biệt với các thành phần bộ kit.
- Sử dụng các khu vực làm việc riêng biệt cho các hoạt động chuẩn bị mẫu/đặt phản ứng và cho khuếch đại/phát hiện.
- Luôn bỏ găng tay sau khi xử lý vật liệu dương tính và/hoặc có khả năng là vật liệu dương tính.
- Không mở các đĩa PCR và/hoặc các ống sau khi khuếch đại.

### THẬN TRỌNG



Không gộp thành phần của các lô FlexStar® SARS-CoV-2 Type & FLU RT-PCR Detection Mix 1.5 khác nhau vì điều này có thể ảnh hưởng đến hiệu suất của sản phẩm.

### 9.1 Thu thập, xử lý và lưu trữ mẫu

Quá trình thu mẫu phải sử dụng các loại que phết (swab) có đầu bằng sợi dacron hoặc polyester gắn với thân nhựa có bán trên thị trường. Cần đưa que phết (swab) khô trở lại trạng thái huyền phù trong môi trường vận chuyển mẫu bệnh phẩm (ví dụ: UTM® từ Copan). Không sử dụng que phết canxi alginate, que phết có phần thân bằng gỗ và/hoặc que phết được thu thập trong gel agar. Quá trình vận chuyển phải tuân theo hướng dẫn của địa phương và quốc gia về vận chuyển vật liệu sinh học.

Trước khi sử dụng, không nên bảo quản mẫu dịch ngoáy đường hô hấp đã tái huyền phù trong UTM® quá 48 giờ ở nhiệt độ phòng (+20 °C đến + 25 °C), 5 ngày ở nhiệt độ +2 °C đến +8 °C hoặc 2 tháng ở nhiệt độ -25 °C đến -15°C.



### THẬN TRỌNG



Luôn coi mẫu là vật liệu lây nhiễm và nguy hiểm (về mặt sinh học) theo quy trình an toàn và phòng thí nghiệm. Khi xảy ra sự cố tràn vật liệu mẫu, ngay lập tức sử dụng chất khử trùng thích hợp. Xử lý các vật liệu bị ô nhiễm như các vật liệu nguy hiểm sinh học.

### LƯU Ý



Việc trữ đông các mẫu không làm ảnh hưởng đến hiệu năng của bộ kit xét nghiệm. Khi xử lý các mẫu đông lạnh, hãy đảm bảo các mẫu được rã đông hoàn toàn và hòa tan đúng cách trước khi sử dụng.

### LƯU Ý



Không sử dụng que phết canxi alginate do có thể dẫn đến kết quả không chính xác hoặc không hợp lệ do ức chế PCR.

### LƯU Ý



Không sử dụng que phết có phần thân bằng gỗ và/hoặc que phết trong môi trường vận chuyển là gel agar, vì phần còn lại của gỗ, bông và/hoặc agar có thể gây trở ngại cho quá trình chuyển mẫu trên AltoStar® AM16 và không thể xử lý các mẫu.

## 9.2 Chuẩn bị mẫu

RNA tách chiết được là nguyên liệu ban đầu cho FlexStar® SARS-CoV-2 Type & FLU RT-PCR Detection Mix 1.5. Chất lượng RNA tách chiết được có ảnh hưởng lớn đến hiệu suất của sản phẩm.

FlexStar® SARS-CoV-2 Type & FLU RT-PCR Detection Mix 1.5 đã được thẩm định với các mẫu dịch ngoáy (swab) đường hô hấp ở người bằng cách sử dụng AltoStar® AM16 kết hợp với AltoStar® Purification Kit 1.5.

Sau khi hoàn tất việc tách chiết nucleic acid bằng AltoStar® AM16, sản phẩm rửa giải trong đĩa rửa giải chưa niêm phong sẽ ổn định ở nhiệt độ phòng (tối đa +30 °C) trong tổng cộng 4 giờ.

Sản phẩm rửa giải trong đĩa rửa giải đã niêm phong có thể được lưu trữ ở nhiệt độ từ +2 °C đến +8 °C trong tối đa 24 giờ trước khi bắt đầu thiết lập phản ứng. Để biết thêm thông tin chi tiết về quá trình niêm phong đĩa rửa giải, hãy tham khảo hướng dẫn sử dụng AltoStar® Purification Kit 1.5.

Các hệ thống và bộ kit tách chiết nucleic acid thay thế cũng có thể sẽ phù hợp. Tuy nhiên, người dùng cần phải xác nhận tính phù hợp của chu trình tách chiết nucleic acid với FlexStar® SARS-CoV-2 Type & FLU RT-PCR Detection Mix 1.5.

### THẬN TRỌNG



Không sử dụng các loại mẫu khác! Việc sử dụng các loại mẫu khác có thể ảnh hưởng đến hiệu suất của sản phẩm.

### THẬN TRỌNG



Luôn coi mẫu là vật liệu lây nhiễm và nguy hiểm (về mặt sinh học) theo quy trình an toàn và phòng thí nghiệm. Khi xảy ra sự cố tràn vật liệu mẫu, ngay lập tức sử dụng chất khử trùng thích hợp. Xử lý các vật liệu bị ô nhiễm như các vật liệu nguy hiểm sinh học.

### THẬN TRỌNG



Sự hiện diện của chất ức chế PCR có thể dẫn đến kết quả âm tính giả hoặc không hợp lệ.

### THẬN TRỌNG



Việc xử lý chất thải nguy hại và chất thải sinh học phải tuân theo các quy định của địa phương và quốc gia để tránh ô nhiễm môi trường.

### THẬN TRỌNG



Việc bảo quản sản phẩm rửa giải ở điều kiện không phù hợp có thể gây phân giải trình tự mục tiêu của  $\beta$ CoV dòng B (gen E), SARS-CoV-2 (gen S) và/hoặc virus cúm và ảnh hưởng đến hiệu suất của sản phẩm.

Để biết thêm thông tin và tiếp cận dịch vụ hỗ trợ kỹ thuật về giai đoạn tiền xử lý và chuẩn bị mẫu, vui lòng liên hệ với bộ phận hỗ trợ kỹ thuật của Altona Diagnostics (xem chương 15. Hỗ trợ kỹ thuật).

### 9.3 Thiết lập hóa chất phản ứng

Tất cả các hóa chất và mẫu thử phải được rửa đồng hoàn toàn, hòa tan (bằng pipet hoặc vortex) và ly tâm trong thời gian ngắn trước khi sử dụng.

FlexStar® SARS-CoV-2 Type & FLU RT-PCR Detection Mix 1.5 được thiết lập để sử dụng với FlexStar® (RT-) PCR Amplification Mix 1.5 và AltoStar® Internal Control 1.5, cho phép kiểm soát quy trình chuẩn bị mẫu (tách chiết nucleic acid) và RT-PCR tiếp theo.

- ▶ IC được tự động được bổ sung vào ở đầu chu trình tinh sạch nucleic acid trên AltoStar® AM16.
- ▶ Khi áp dụng các phương pháp tách chiết nucleic acid khác, cần bổ sung IC vào trong bước ly giải theo cách thủ công hoặc tự động bằng thiết bị tương ứng.
- ▶ Không được bổ sung IC trực tiếp vào mẫu, bất kể phương pháp/hệ thống nào được sử dụng để tách chiết nucleic acid. Phải luôn bổ sung IC vào hỗn hợp mẫu/đệm ly giải. Thể tích IC cần bổ sung, luôn luôn và chỉ phụ thuộc vào thể tích sản phẩm rửa giải. Thể tích này đại diện cho 50 % thể tích sản phẩm rửa giải. Ví dụ, nếu chuẩn bị rửa giải nucleic acid trong 60 µl dung dịch đệm rửa giải hoặc nước, thì phải bổ sung 30 µl IC trên mỗi hỗn hợp mẫu/đệm ly giải.
- ▶ Pha Master Mix (hỗn hợp phản ứng) theo bảng hút nhả pipet sau:

**Bảng 2:** Bảng hút nhả pipet (pha Master Mix)

Số lượng phản ứng (rxns)	1	12
Detection Mix (hỗn hợp phát hiện)	5 µl	60 µl
Amplification Mix (hỗn hợp khuếch đại)	15 µl	180 µl
<b>Thể tích Master Mix</b>	<b>20 µl</b>	<b>240 µl</b>

**THẬN TRỌNG**

Việc không ly tâm các thành phần của sản phẩm sau khi rã đông có thể gây nhiễm bởi hóa chất còn sót lại trong nắp và có thể ảnh hưởng đến hiệu suất của sản phẩm.

**9.4 Thiết lập phản ứng**

- ▶ Pipet 20 µl hóa chất phản ứng vào mỗi giếng của đĩa xét nghiệm 96 giếng hoặc ống nghiệm có độ quang học thích hợp.
- ▶ Thêm vào 10 µl mẫu (sản phẩm rửa giải từ quá trình tách chiết nucleic acid) hoặc 10 µl chất đối chứng (PC hoặc NTC).

**Bảng 3:** Bảng hiệu chuẩn pipet (thiết lập phản ứng)

Thiết lập phản ứng	
Hóa chất phản ứng	20 µl
Mẫu hoặc chất kiểm chuẩn	10 µl
<b>Tổng thể tích</b>	<b>30 µl</b>

- ▶ Đảm bảo sử dụng ít nhất 1 PC và 1 NTC cho mỗi lần chạy.
- ▶ Trộn kỹ các mẫu và chất kiểm chuẩn với hóa chất phản ứng bằng cách hút nhả pipet.
- ▶ Đậy đĩa xét nghiệm 96 giếng bằng nắp đậy thích hợp hoặc màng keo quang học và đậy các ống nghiệm bằng nắp đậy thích hợp.
- ▶ Ly tâm đĩa xét nghiệm 96 giếng trong máy ly tâm với rôto đĩa thí nghiệm cùng các ống nghiệm trong một máy ly tâm thích hợp trong vòng 30 giây với tốc độ xấp xỉ 1.000 xg (~ 3.000 vòng/phút).
- ▶ NTC đã chứa mẫu IC với nồng độ chính xác.

Sau khi hoàn tất thiết lập hỗn hợp PCR, để hỗn hợp RT-PCR trong đĩa PCR được dán kín ở nhiệt độ phòng (tối đa +30 °C) trong tối đa 30 phút.

**THẬN TRỌNG**



Không bảo quản hỗn hợp PCR vượt quá thời gian quy định vì điều này có thể ảnh hưởng đến hiệu suất của sản phẩm.

## 10. Lập trình hệ thống realtime PCR

Để biết thông tin cơ bản về thao tác thiết lập và lập trình các hệ thống realtime PCR khác nhau, vui lòng tham khảo sách hướng dẫn sử dụng của thiết bị tương ứng.

Để biết hướng dẫn lập trình chi tiết về việc sử dụng FlexStar® SARS-CoV-2 Type & FLU RT-PCR Detection Mix 1.5 trên các hệ thống realtime PCR cụ thể, vui lòng liên hệ với bộ phận hỗ trợ kỹ thuật của Altona Diagnostics (xem chương 15. Hỗ trợ kỹ thuật).

### 10.1 Cài đặt

- Xác định những cài đặt sau:

**Bảng 4:** Cài đặt lần chạy

Cài đặt	
Thể tích phản ứng	30 µl
Tốc độ gia giảm	Mặc định
Tham chiếu thụ động	Không

## 10.2 Bộ phận phát hiện huỳnh quang (thuốc nhuộm)

- Xác định bộ phận hiện huỳnh quang (thuốc nhuộm):

**Bảng 5:** Bộ phận phát hiện huỳnh quang

Mục tiêu	Bộ phận phát hiện	Chất phát huỳnh quang (reporter)	Chất dập huỳnh quang (quencher)
RNA đặc hiệu cho $\beta$ CoV dòng B	E gene	ROX™	(Không có)
RNA đặc hiệu cho SARS-CoV-2	S gene	Cy5	(Không có)
RNA đặc hiệu cho virus cúm (A+B)	Flu	FAM™	(Không có)
Internal Control (Nội chuẩn)	IC	JOE™	(Không có)

## 10.3 Chương trình nhiệt độ và ghi nhận màu thuốc nhuộm

- Xác định chương trình nhiệt độ và ghi nhận màu thuốc nhuộm:

**Bảng 6:** Chương trình nhiệt độ và ghi nhận màu thuốc nhuộm

	Bước	Số chu kỳ lặp lại	Ghi nhận tín hiệu	Nhiệt độ [°C]	Thời gian [phút:giây]
Phiên mã ngược	Giữ	1	-	52	05:00
Biến tính	Giữ	1	-	95	00:05
Khuếch đại	Chu kỳ	45	-	95	00:05
			Có	58	00:25

## 11. Phân tích dữ liệu

Để biết thông tin cơ bản về thao tác phân tích dữ liệu trên các hệ thống realtime PCR cụ thể, vui lòng tham khảo sách hướng dẫn sử dụng của thiết bị tương ứng.

Để biết hướng dẫn chi tiết về thao tác phân tích dữ liệu được khởi tạo bằng FlexStar® SARS-CoV-2 Type & FLU RT-PCR Detection Mix 1.5 trên các hệ thống realtime PCR khác nhau, vui lòng liên hệ với bộ phận hỗ trợ kỹ thuật của Altona Diagnostics (xem chương 15. Hỗ trợ kỹ thuật).

## 11.1 Tính hợp lệ của các lần chạy xét nghiệm chẩn đoán

### 11.1.1 Lần chạy xét nghiệm chẩn đoán hợp lệ

Một lần chạy xét nghiệm chẩn đoán được coi là **hợp lệ** nếu đáp ứng được các điều kiện kiểm soát sau:

**Bảng 7:** Điều kiện kiểm soát cho lần chạy xét nghiệm hợp lệ

ID kiểm chuẩn	Kênh nhận diện			
	ROX™	Cy5	FAM™	JOE™
Đối chứng dương [βCoV dòng B (gen E), SARS-CoV-2 (gen S) và virus cúm]	+	+	+	Không áp dụng
Chứng âm	-	-	-	+

### 11.1.2 Lần chạy xét nghiệm chẩn đoán không hợp lệ

Một lần chạy xét nghiệm chẩn đoán là **không hợp lệ**, (i) nếu quá trình chạy chưa hoàn tất hoặc (ii) nếu chưa đáp ứng bất kỳ điều kiện kiểm soát nào cho một lần chạy thử nghiệm chẩn đoán **hợp lệ**.

Trong trường hợp lần chạy thử nghiệm chẩn đoán **không hợp lệ**, vui lòng lặp lại thử nghiệm bằng cách sử dụng lượng nucleic acid tinh khiết còn lại hoặc bắt đầu lại với các mẫu gốc.

## 11.2 Diễn giải kết quả

### THẬN TRỌNG



Giống với mọi xét nghiệm chẩn đoán, kết quả sẽ được giải thích dựa trên tất cả các phát hiện lâm sàng và xét nghiệm.

## 11.2.1 Phân tích định tính

**Bảng 8:** Diễn giải kết quả

Kênh nhận diện				Diễn giải kết quả
ROX™ (Gen E)	Cy5 (Gen S)	FAM™ [Cúm (A+B)]	JOE™ (IC)	
+	+	-	+/-*	Phát hiện RNA đặc hiệu cho βCoV dòng B và SARS-CoV-2.
+	-	-	+/-*	Chỉ phát hiện RNA đặc hiệu cho βCoV dòng B.**
-	+	-	+/-*	Chỉ phát hiện RNA đặc hiệu cho SARS-CoV-2.**
-	-	+	+/-*	Chỉ phát hiện RNA đặc hiệu cho virus cúm (A và/hoặc B)
+	-	+	+/-*	Phát hiện RNA đặc hiệu cho βCoV dòng B và virus cúm (A và/hoặc B).
-	+	+	+/-*	Phát hiện RNA đặc hiệu cho SARS-CoV-2 và virus cúm (A và/hoặc B).
+	+	+	+/-*	Phát hiện RNA đặc hiệu cho βCoV dòng B, SARS-CoV-2 và virus cúm (A và/hoặc B).
-	-	-	+	Không phát hiện RNA đặc hiệu của bất kỳ βCoV dòng B hay SARS-CoV-2, cũng như virus cúm (A và/hoặc B). Mẫu không chứa đủ lượng RNA đặc hiệu cho virus βCov dòng, SARS-CoV-2 hoặc virus cúm để có thể phát hiện.
-	-	-	-	Hóa chất bị hư hoặc phản ứng RT-PCR bị ức chế. Lặp lại xét nghiệm từ mẫu gốc hoặc thu thập và xét nghiệm mẫu mới.

\* Việc phát hiện IC trong kênh nhận diện JOE™ là không cần thiết khi kết quả trong kênh nhận diện ROX™ và/hoặc Cy5 và/hoặc FAM™ là dương tính. Tải lượng cao RNA của βCoV dòng B (gen E) và/hoặc SARS-CoV-2 (gen S) và/hoặc cúm (A+B) trong mẫu có thể dẫn đến giảm hoặc không có tín hiệu IC.

\*\* Chỉ phát hiện một trong hai kênh nhận diện tương ứng của βCoV dòng B (gen E) và SARS-CoV-2 (gen S), có thể do nồng độ RNA của virus thấp gần bằng giới hạn phát hiện hoặc do đột biến của một trong hai trình tự mục tiêu.



## 12. Đánh giá hiệu suất

Đánh giá hiệu suất FlexStar® SARS-CoV-2 Type & FLU RT-PCR Detection Mix 1.5 bằng cách sử dụng Tiêu chuẩn Quốc tế của WHO phiên bản 1 về SARS-CoV-2 RNA (mã NIBSC: 20/146), vật liệu virus cúm A (cúm A chủng H3N2 Wisconsin/67/05) và virus cúm B (chủng Florida/04/06) có trên thị trường.

### 12.1 Mẫu dịch phết đường hô hấp

#### 12.1.1 Độ nhạy phân tích

Để xác định giới hạn phát hiện (LoD) pha loãng bậc liên tiếp theo Tiêu chuẩn Quốc tế của WHO phiên bản 1 về SARS-CoV-2 RNA, loại virus cúm A (cúm A H3N2 chủng Wisconsin/67/05) và virus cúm B (chủng Florida/04/06) có sẵn trên thị trường ở dạng pha loãng trong môi trường vận chuyển mẫu (UTM®, Copan) có chứa chất nền mô phỏng dịch mũi [5 % w/v Mucin, 5 % v/v máu, 0,8 % v/v NaCl (95 % nước muối) và 0,00002 % w/v DNA gen người (510k Submission cho xét nghiệm BD MAX™ MRSA XT; số truy cập: K133605)].

Một lượng pha loãng bậc liên tiếp theo Tiêu chuẩn Quốc tế của WHO phiên bản 1 về SARS-CoV-2 RNA có phạm vi từ 1,00E+04 IU/ml đến 5,00E-01 IU/ml đã được xét nghiệm. Đã có xét nghiệm đối với virus cúm A và virus cúm B, pha loãng bậc liên tiếp từ 2,00E+03 bản sao/ml đến 1,00E+01 bản sao/ml.

Mỗi độ pha loãng được thử nghiệm trong 8 mẫu lặp với 3 lần chạy khác nhau (tổng n = 24 mỗi độ pha loãng) bằng cách sử dụng kết hợp:

- 3 lô FlexStar® SARS-CoV-2 Type & FLU RT-PCR Detection Mix 1.5
- 3 lô FlexStar® (RT-)PCR Amplification Mix 1.5
- 3 lô AltoStar® Purification Kit 1.5
- 3 lô AltoStar® Internal Control 1.5
- 3 hệ thống AltoStar® AM16
- 3 hệ thống CFX96™ DW Dx

Đối với mỗi virus, dữ liệu của tất cả những lần chạy được kết hợp lại và phân tích probit được thực hiện nhằm xác định giá trị 95 % LoD.

**Bảng 9:** Kết quả PCR được sử dụng để tính toán độ nhạy phân tích của FlexStar® SARS-CoV-2 Type & FLU RT-PCR Detection Mix 1.5 đối với SARS-CoV-2 (gen S)

Nồng độ [IU/ml]	N [tổng]	N [dương]	Tỉ lệ biểu hiện [%]
1,00E+04	24	24	100
3,16E+03	24	24	100
1,00E+03	24	24	100
3,16E+02	24	24	100
1,00E+02	24	24	100
3,16E+01	24	10	42
1,00E+01	24	4	17
3,16E+00	24	5	21
1,00E+00	24	1	4
5,00E-01	24	1	4

LoD của FlexStar® SARS-CoV-2 Type & FLU RT-PCR Detection Mix 1.5 để phát hiện SARS-CoV-2 (gen S) trong UTM® là 201 IU/ml (khoảng tin cậy 95 %: 107–501 IU/ml).

**Bảng 10:** Kết quả PCR được sử dụng để tính toán độ nhạy phân tích của FlexStar® SARS-CoV-2 Type & FLU RT-PCR Detection Mix 1.5 đối với SARS-CoV-2 (gen E)

Nồng độ [IU/ml]	N [tổng]	N [dương]	Tỉ lệ biểu hiện [%]
1,00E+04	24	24	100
3,16E+03	24	24	100
1,00E+03	24	24	100
3,16E+02	24	24	100
1,00E+02	24	23	96
3,16E+01	24	10	42
1,00E+01	24	4	17
3,16E+00	24	2	8
1,00E+00	24	1	4
5,00E-01	24	1	4

LoD của FlexStar® SARS-CoV-2 Type & FLU RT-PCR Detection Mix 1.5 để phát hiện SARS-CoV-2 (gen E) trong UTM® là 226 IU/ml (khoảng tin cậy 95 %: 124–545 IU/ml).

**Bảng 11:** Kết quả PCR được sử dụng để tính toán độ nhạy phân tích của FlexStar® SARS-CoV-2 Type & FLU RT-PCR Detection Mix 1.5 đối với virus cúm A

Nồng độ [bản sao/ml]	N [tổng]	N [dương]	Tỉ lệ biểu hiện [%]
2,00E+03	24	24	100
1,00E+03	24	24	100
7,50E+02	24	24	100
5,00E+02	24	23	96
2,50E+02	24	22	92
1,00E+02	24	17	71
5,00E+01	24	9	38
2,50E+01	24	6	25
1,00E+01	24	1	4

LoD của FlexStar® SARS-CoV-2 Type & FLU RT-PCR Detection Mix 1.5 để phát hiện virus cúm A trong UTM® là 341 bản sao/ml (khoảng tin cậy 95 %: 230–611 bản sao/ml).

**Bảng 12:** Kết quả PCR được sử dụng để tính toán độ nhạy phân tích của FlexStar® SARS-CoV-2 Type & FLU RT-PCR Detection Mix 1.5 đối với virus cúm B

Nồng độ [bản sao/ml]	N [tổng]	N [dương]	Tỉ lệ biểu hiện [%]
2,00E+03	24	24	100
1,00E+03	24	24	100
7,50E+02	24	24	100
5,00E+02	24	24	100
2,50E+02	24	19	79
1,00E+02	24	3	13
5,00E+01	24	6	25
2,50E+01	24	5	21
1,00E+01	24	1	4

LoD của FlexStar® SARS-CoV-2 Type & FLU RT-PCR Detection Mix 1.5 để phát hiện virus cúm B trong UTM® là 432 bản sao/ml (khoảng tin cậy 95 %: 286–780 bản sao/ml).

### 12.1.2 Độ đặc hiệu phân tích

Độ đặc hiệu phân tích của FlexStar® SARS-CoV-2 Type & FLU RT-PCR Detection Mix 1.5 được đảm bảo bằng cách lựa chọn kỹ lưỡng các oligonucleotide (đoạn mồi và đầu dò). Các oligonucleotide đã được kiểm tra bằng phân tích so sánh trình tự với các trình tự có sẵn công khai để đảm bảo có thể nhận diện tất cả các kiểu gen SARS-CoV-2 và virus cúm có liên quan.

Thí nghiệm sau đây đã được thực hiện để xác minh độ đặc hiệu phân tích của FlexStar® SARS-CoV-2 Type & FLU RT-PCR Detection Mix 1.5 (xem chương 12.1.2.1 Mẫu âm tính đến chương 12.1.2.3 Phản ứng chéo).

### 12.1.2.1 Mẫu âm tính

Đã có 30 mẫu dịch ngoáy đường hô hấp âm tính với SARS-CoV-2, virus cúm A và virus cúm B từ các cá nhân hiến tặng được xét nghiệm với FlexStar® SARS-CoV-2 Type & FLU RT-PCR Detection Mix 1.5. Tất cả (30/30) mẫu đã cho kết quả xét nghiệm đều âm tính với RNA đặc hiệu cho SARS-CoV-2, virus cúm A và virus cúm B và dương tính với IC. Độ đặc hiệu phân tích của FlexStar® SARS-CoV-2 Type & FLU RT-PCR Detection Mix 1.5 đối với mẫu dịch ngoáy đường hô hấp là  $\geq 95\%$ .

### 12.1.2.2 Chất gây nhiễu

Để đánh giá mức ảnh hưởng của các chất nội sinh và ngoại sinh có khả năng can thiệp vào hoạt động của FlexStar® SARS-CoV-2 Type & FLU RT-PCR Detection Mix 1.5, làm tăng mạnh đồng thời các cơ chất được chọn cả trong ống UTM® chứa SARS-CoV-2, virus cúm A và virus cúm B để đạt nồng độ  $3 \times \text{LoD}$  ( $6,03\text{E}+02$  IU/ml,  $1,02\text{E}+03$  bản sao/ml và  $1,29\text{E}+03$  bản sao/ml tương ứng), lẫn trong ống UTM® không chứa SARS-CoV-2, virus cúm A và virus cúm B.

Các kết quả thu được từ các mẫu có chứa các chất có khả năng gây nhiễu được so sánh với các kết quả thu được từ UTM® không chứa chất gây nhiễu. Mỗi mẫu được xử lý trong 3 mẫu lặp.

Không bắt gặp tình trạng nhiễu ở các mẫu có chứa nồng độ cao của:

- Chất nội sinh
  - DNA gen người
  - Máu người toàn phần
  - Mucin
- Chất ngoại sinh
  - Thuốc xịt mũi chống dị ứng (chứa beclomethasone dipropionate)
  - Thuốc xịt mũi giảm nghẹt mũi (chứa xylometazolinhydrochloride và dexpanthenol)
  - Mupirocin
  - Zanamivir

## THẬN TRỌNG



Sự hiện diện của chất ức chế PCR có thể dẫn đến kết quả âm tính giả hoặc không hợp lệ.

### 12.1.2.3 Phản ứng chéo

Độ đặc hiệu phân tích của FlexStar® SARS-CoV-2 Type & FLU RT-PCR Detection Mix 1.5 về phản ứng chéo với các tác nhân gây bệnh khác không phải SARS-CoV-2, virus cúm A và virus cúm B đã được đánh giá bằng cách xét nghiệm:

- Những tác nhân gây bệnh liên quan đến SARS-CoV-2 và virus cúm
- Những tác nhân gây bệnh gây ra các triệu chứng tương tự như nhiễm SARS-CoV-2 hoặc virus cúm

FlexStar® SARS-CoV-2 Type & FLU RT-PCR Detection Mix 1.5 không phản ứng chéo với bất kỳ tác nhân gây bệnh sau đây:

- Adenovirus
- *Bordetella pertussis*
- *Bordetella parapertussis*
- *Chlamydia pneumoniae*
- Enterovirus
- *Haemophilus influenzae*
- Virus corona 229E ở người
- Virus corona NL63 ở người
- Virus corona OC43 ở người
- Virus gây viêm phổi ở người (hMPV)
- *Legionella pneumophila*
- Virus MERS
- *Moraxella catarrhalis*
- *Mycoplasma pneumoniae*
- Virus Parainfluenza 1–4
- *Pneumocystis jirovecii*
- Virus hợp bào hô hấp A
- Virus hợp bào hô hấp B
- Rhinovirus
- *Streptococcus pneumoniae*

**THẬN TRỌNG**

Trường hợp mẫu chứa mầm bệnh khác không phải  $\beta$ CoV dòng B (gen E), SARS-CoV-2 (gen S) và/hoặc virus cúm, có thể xảy ra sự cạnh tranh với khuếch đại mục tiêu hoặc phản ứng chéo, khiến kết quả kiểm tra IVD không chính xác.

**12.1.3 Tính bao quát (Inclusivity)**

Có thể đảm bảo độ đặc hiệu của FlexStar® SARS-CoV-2 Type & FLU RT-PCR Detection Mix 1.5 trong việc nhận diện các biến thể SARS-CoV-2 và chủng virus cúm khác nhau qua việc lựa chọn đoạn mồi và đầu dò. Để xác minh FlexStar® SARS-CoV-2 Type & FLU RT-PCR Detection Mix 1.5 có thể nhận diện nhiều biến thể SARS-CoV-2 và các chủng virus cúm khác nhau, những biến thể/chủng sau đây đã được xét nghiệm (xem bảng 13 và 15).

**Bảng 13:** Những dòng SARS-CoV-2 được xét nghiệm

Biến thể (dòng)	Kênh ROX™ (gen E)	Kênh Cy5 (gen S)	Kênh VIC™ (IC)
BetaCoV/Munich/ChVir984/2020 (dạng tự nhiên)	+	+	+
2019-nCoV/Italy-INMI1 (dạng tự nhiên)	+	+	+
Alpha (B.1.1.7)	+	+	+
Beta (B.1.351)	+	+	+
Delta (B.1.617.2)	+	+	+
Gamma (P.1)	+	+	+



**Bảng 14:** Tính bao quát [Phân tích tổng quát *in silico* cho 2.993.884 trình tự toàn bộ bộ gen của SARS-CoV-2 được công bố qua GISAID e.V. ([www.gisaid.org](http://www.gisaid.org)) kể từ ngày 10/10/2021, trong đó 518.615 trình tự toàn bộ bộ gen được công bố qua Trung tâm Thông tin Công nghệ sinh học Quốc gia ([www.ncbi.nlm.nih.gov](http://www.ncbi.nlm.nih.gov)) kể từ ngày 10/10/2021 cho gen E và gen S: FlexStar® SARS-CoV-2 Type & FLU RT-PCR Detection Mix 1.5]

3.512.499 trình tự toàn bộ bộ gen		Trình tự cho thấy độ tương đồng là 100 %	Trình tự không khớp (số lượng điểm không khớp)
Gen E	Mỗi xuôi	3.505.942	6.549 (1) 8 (2)
	Mỗi ngược	3.509.461	3.032 (1) 5 (2) 1 (3)**
	Đầu dò	3.510.308	2.183 (1) 4 (2)
Gen S	Mỗi xuôi	3.491.594	20.728 (1) 160 (2)
	Mỗi ngược	3.490.361	22.061 (1) 77 (2)
	Đầu dò	3.498.798	13.653 (1) 44 (2) 3 (3) 1 (4)*

\* Trình tự (ID truy cập EPI\_ISL\_415593, GISAID) cho thấy 4 điểm không khớp trong vùng bám đầu dò gen S. Trình tự này được công bố vào ngày 10/03/2020, có nguồn gốc từ Washington, Hoa Kỳ. Kể từ đó, không có trình tự được công bố nào cho thấy có chứa nhiều điểm không khớp. Tác giả có lưu ý như sau về trình tự: “Thận trọng. Các đoạn dài của NNN (1,74 % trình tự tổng thể)”, cho thấy chất lượng giải trình tự không ở mức lý tưởng, do đó, tác động lên các oligonucleotide đặc hiệu của gen S chưa được nghiên cứu.

\*\* Trình tự (truy cập MW584978.1) cho thấy 3 điểm không khớp tại vùng bám mỗi ngược gen E. Mẫu này được thu thập vào ngày 03/04/2020 và được công bố vào tháng 02/2021, có nguồn gốc từ Cleveland, Hoa Kỳ. Kể từ đó, không có trình tự được công bố nào cho thấy có chứa nhiều điểm không khớp.

Tùy thuộc vào vị trí, các sự kiện đột biến dẫn đến  $\leq 2$  điểm không khớp trong trình tự oligonucleotide đơn rất khó có bất kỳ tác động tiêu cực đáng kể nào đến hiệu suất của xét nghiệm. Cho đến nay, tất cả các trình tự trên ( $\leq 2$  điểm không khớp) được xét nghiệm trong phòng thí nghiệm nhằm phục vụ cho việc giám sát sau khi đưa ra thị trường đối với bộ kit RealStar®, FlexStar® và AltoStar® để phát hiện SARS-CoV-2 đã xác nhận rằng hiệu suất không bị ảnh hưởng bởi những đột biến như vậy. Ngoại trừ một trình tự đặc biệt, không có trình tự được phân tích nào cho thấy nhiều hơn 1 điểm oligonucleotide không khớp, đồng thời không có trình tự không khớp nào xuất hiện điểm không khớp trên cả hai hệ thống phát hiện đặc hiệu (gen E và gen S), do đó phản ứng của các oligonucleotide đặc hiệu có trong bộ kit phát hiện SARS-CoV-2, gồm RealStar®, FlexStar® và AltoStar® dự kiến sẽ không bị ảnh hưởng.

**Bảng 15:** Xét nghiệm các chủng virus cúm A và cúm B

Phân loại/chủng	Kênh FAM™ (virus cúm A và B)	Kênh VIC™ (IC)
Virus cúm A, phân loại H1N1 (New Caledonia/20/98)	+	+
Virus cúm A, phân loại H1N1pdm09 (A/NY/02/2009)	+	+
Virus cúm A, phân loại A/H3N2 biến thể trôi (A/Sachsen/2/2015)	+	+
Virus cúm A, phân loại H5N1 (A/Anhui/1/05)	+	+
Virus cúm B (B/Colorado/6/2017, dòng B-Victoria)	+	+
Virus cúm B (B/Phuket/3073/2013, dòng B/Yamagata 16/88)	+	+

### 12.1.4 Độ đúng (Precision)

Độ đúng (precision) của FlexStar® SARS-CoV-2 Type & FLU RT-PCR Detection Mix 1.5 đã được đánh giá thông qua một bộ gồm có:

- 1 mẫu dương tính cao với SARS-CoV-2 [50 x LoD (1,00E+04IU/ml)] trong UTM® chứa chất nền mô phỏng dịch mũi
- 1 mẫu dương tính cao với virus cúm A [50 x LoD (1,70E+04 bản sao/ml)] trong UTM® chứa chất nền mô phỏng dịch mũi
- 1 mẫu dương tính cao với virus cúm B [50 x LoD (2,16E+04 bản sao/ml)] trong UTM® chứa chất nền mô phỏng dịch mũi
- 1 mẫu dương tính thấp với SARS-CoV-2 [3 x LoD (6,03E+02 IU/ml)] trong UTM® chứa chất nền mô phỏng dịch mũi
- 1 mẫu dương tính thấp với virus cúm A [3 x LoD (1,02E+03 bản sao/ml)] trong UTM® chứa chất nền mô phỏng dịch mũi
- 1 mẫu dương tính thấp với virus cúm B [3 x LoD (1,29E+03 bản sao/ml)] trong UTM® chứa chất nền mô phỏng dịch mũi
- 1 mẫu âm tính với SARS-CoV-2, virus cúm A và virus cúm B (UTM® chứa chất nền mô phỏng dịch mũi)

Từng mẫu trong nhóm đã được xét nghiệm trong tối thiểu là 6 mẫu lặp trong mỗi lần đo.

Thực hiện 5 lần chạy trong 5 ngày khác nhau bằng cách sử dụng kết hợp:

- 3 lô FlexStar® SARS-CoV-2 Type & FLU RT-PCR Detection Mix 1.5
- 3 lô FlexStar® (RT-)PCR Amplification Mix 1.5
- 3 lô AltoStar® Purification Kit 1.5
- 3 lô AltoStar® Internal Control 1.5
- 3 hệ thống AltoStar® AM16
- 3 hệ thống CFX96™ DW Dx

Độ lặp lại (biến thiên trong quá trình chạy), biến động giữa các lô và độ tái lập (hay biến động tổng số) được xác định dựa trên:

- Giá trị chu kỳ ngưỡng ( $C_q^*$ ) của mẫu dương tính cao với SARS-CoV-2, virus cúm A và virus cúm B (xem bảng 16 và 17)
- Giá trị chu kỳ ngưỡng ( $C_q^*$ ) của IC trong các mẫu âm tính với SARS-COV-2, virus cúm A và virus cúm B (xem bảng 18)

\* Xin lưu ý rằng thuật ngữ  $C_q$  đã chọn tương đương với ký hiệu  $C_t$  thường được sử dụng trong các máy luân nhiệt khác không phải hệ thống CFX96™ Deep Well Dx (Bio-Rad).

**Bảng 16:** Dữ liệu về độ đúng (CV% của giá trị  $C_q$ ) của các mẫu dương tính cao với SARS-CoV-2

	Mẫu dương tính cao với SARS-CoV-2 ( $C_q$ trong kênh ROX™, gen E đích)	Mẫu dương tính cao với SARS-CoV-2 ( $C_q$ trong kênh Cy5, gen S đích)
Biến động trong lần chạy	0,21–0,42	0,44–0,60
Biến động giữa các lô	0,59	0,52
Biến động tổng số	0,89	0,63

Tất cả các mẫu xét nghiệm ở nồng độ 3 x LoD (mẫu dương tính thấp) đều được phát hiện dương tính với SARS-CoV-2 (gen E và gen S).

**Bảng 17:** Dữ liệu về độ đúng (CV% của giá trị  $C_q$ ) của các mẫu dương tính cao với virus cúm A và virus cúm B

	Mẫu dương tính cao với virus cúm A ( $C_q$ trong kênh FAM™)	Mẫu dương tính cao với virus cúm B ( $C_q$ trong kênh FAM™)
Biến động trong lần chạy	0,93–1,16	0,52–1,48
Biến động giữa các lô	1,02	1,02
Biến động tổng số	1,48	1,69

Tất cả các mẫu xét nghiệm ở nồng độ 3 x LoD (mẫu dương tính thấp) đều được phát hiện dương tính với virus cúm A và virus cúm B.

**Bảng 18:** Dữ liệu về độ đúng (CV% của giá trị  $C_q$ ) của IC trong các mẫu âm tính với SARS-CoV-2, virus cúm A và virus cúm B

	IC
Biến động trong lần chạy	0,23–0,35
Biến động giữa các lô	0,38
Biến động tổng số	0,74

### 12.1.5 Tổng tỷ lệ thất bại

Độ mạnh (robustness) của FlexStar® SARS-CoV-2 Type & FLU RT-PCR Detection Mix 1.5 được đánh giá bằng cách xét nghiệm 30 mẫu dịch ngoáy đường hô hấp của người âm tính với SARS-CoV-2, virus cúm A và virus cúm B của các cá nhân hiến tặng được bổ sung với SARS-CoV-2, virus cúm A và virus cúm B để đạt nồng độ là 3 x LoD (6,03E+02 IU/ml của SARS-CoV-2, 1,02E+03 bản sao/ml virus cúm A và 1,29E+03 bản sao/ml virus cúm B). Tất cả (30/30) các mẫu đã được xét nghiệm đều dương tính cả trong các kênh nhận diện huỳnh quang đặc hiệu của SARS-CoV-2 (Cy5 và ROX™) và lẫn trong kênh nhận diện huỳnh quang đặc hiệu của virus cúm A và virus cúm B (FAM™).

### 12.1.6 Tồn đọng (Carry over)

Tồn đọng (Carry over) chủ yếu là một rủi ro phụ thuộc vào quy trình làm việc và không phụ thuộc vào xét nghiệm PCR được sử dụng. Đối với quy trình AltoStar®, bộ kit AltoStar® Parvovirus B19 PCR Kit 1.5 đã được sử dụng làm mô hình mẫu. Đánh giá khả năng nhiễm chéo do tồn đọng từ các mẫu dương tính cao bằng cách xét nghiệm xen kẽ parvovirus B19 dương tính cao (1,00E+07 IU/ml) và các mẫu âm tính (n = 44 mỗi lần chạy; 2 lần chạy) với AltoStar® Parvovirus B19 PCR Kit 1.5. Không quan sát thấy có sự tồn đọng, nghĩa là tất cả các mẫu âm tính với parvovirus B19 đều cho kết quả âm tính.

### 12.1.7 Hiệu suất lâm sàng

FlexStar® SARS-CoV-2 Type & FLU RT-PCR Detection Mix 1.5 đã được đánh giá trong một nghiên cứu so sánh với *ampliCube* Respiratory Flu & SARS-CoV-2 LC (Mikrogen Diagnostik) đã có CE. Trước đó, 165 mẫu dịch ngoáy đường hô hấp ở người đã được xét nghiệm song song.

*ampliCube* Respiratory Flu & SARS-CoV-2 LC (Mikrogen Diagnostik) được sử dụng kết hợp với MagnA Pure 96 DNA và Viral NA Small Volume Kit (Roche) và MagNA Pure 96 Extraction System (Roche).

FlexStar® SARS-CoV-2 Type & FLU RT-PCR Detection Mix 1.5 được sử dụng kết hợp với AltoStar® Purification Kit 1.5 và AltoStar® Internal Control 1.5 trên AltoStar® AM16 và CFX96™ DW Dx.

Đối với phân tích định tính, tất cả các mẫu có kết quả không hợp lệ trong một hoặc cả hai xét nghiệm đều bị loại trừ.

Kết quả cho các mẫu còn lại (164 mẫu cho SARS-CoV-2 và 152 mẫu cho virus cúm) được trình bày tương ứng trong bảng 19 và 20.

**Bảng 19:** Kết quả đánh giá độ nhạy và độ đặc hiệu chẩn đoán đối với SARS-CoV-2 trong mẫu dịch ngoáy đường hô hấp

		<i>ampliCube</i> Respiratory Flu & SARS-CoV-2 LC (Mikrogen Diagnostik)	
		DƯƠNG TÍNH	ÂM TÍNH
FlexStar® SARS-CoV-2 Type & FLU RT-PCR Detection Mix 1.5	DƯƠNG TÍNH	58	1
	ÂM TÍNH	0	105

Độ nhạy và độ đặc hiệu chẩn đoán của FlexStar® SARS-CoV-2 Type & FLU RT-PCR Detection Mix 1.5 so với *ampliCube* Respiratory Flu & SARS-CoV-2 LC (Mikrogen Diagnostik) tương ứng là 100 % (khoảng tin cậy 93,8 %–100 %) và 99,1 % (khoảng tin cậy 94,9 %–100 %).

**Bảng 20:** Kết quả đánh giá độ nhạy và độ đặc hiệu chẩn đoán của virus cúm trong mẫu dịch ngoáy đường hô hấp

		<i>ampliCube</i> Respiratory Flu & SARS-CoV-2 LC (Mikrogen Diagnostik)	
		DƯƠNG TÍNH	ÂM TÍNH
FlexStar® SARS-CoV-2 Type & FLU RT-PCR Detection Mix 1.5	DƯƠNG TÍNH	37	1
	ÂM TÍNH	0	114

Độ nhạy và độ đặc hiệu chẩn đoán của FlexStar® SARS-CoV-2 Type & FLU RT-PCR Detection Mix 1.5 so với *ampliCube* Respiratory Flu & SARS-CoV-2 LC (Mikrogen Diagnostik) tương ứng là 100 % (khoảng tin cậy 90,1 %–100 %) và 95,3 % (khoảng tin cậy 95,3 %–100 %).

### 13. Thải bỏ

Xử lý chất thải nguy hại và chất thải sinh học tuân thủ các quy định của địa phương và quốc gia. Không được để các thành phần sản phẩm còn sót lại và chất thải xâm nhập vào cống rãnh, các dòng nước hoặc đất.

#### THẬN TRỌNG



Luôn coi mẫu là vật liệu lây nhiễm và nguy hiểm (về mặt sinh học) theo quy trình an toàn và phòng thí nghiệm. Khi xảy ra sự cố tràn vật liệu mẫu, ngay lập tức sử dụng chất khử trùng thích hợp. Xử lý các vật liệu bị ô nhiễm như các vật liệu nguy hiểm sinh học.

#### THẬN TRỌNG



Việc xử lý chất thải nguy hại và chất thải sinh học phải tuân theo các quy định của địa phương và quốc gia để tránh ô nhiễm môi trường.

### 14. Kiểm soát chất lượng

Theo Altona Diagnostics GmbH Hệ thống Quản lý Chất lượng được chứng nhận EN ISO 13485, mỗi lô hàng FlexStar® SARS-CoV-2 Type & FLU RT-PCR Detection Mix 1.5 đều được kiểm tra dựa trên các thông số kỹ thuật đã ấn định trước để đảm bảo chất lượng sản phẩm nhất quán.



## 15. Hỗ trợ kỹ thuật

Để được hỗ trợ, khách hàng vui lòng liên hệ với bộ phận hỗ trợ kỹ thuật của Altona Diagnostics:

**Email:** [support@altona-diagnostics.com](mailto:support@altona-diagnostics.com)

**Số điện thoại:** +49-(0)40-5480676-0

### LƯU Ý



Mọi sự cố nghiêm trọng xảy ra liên quan đến sản phẩm này sẽ được báo cáo cho Altona Diagnostics và cơ quan có thẩm quyền tại quốc gia của bạn.

## 16. Tài liệu

- [1] Versalovic, James, Carroll, Karen C., Funke, Guido, Jorgensen, James H., Landry, Marie Louise and David W. Warnock (ed). Manual of Clinical Microbiology. 10<sup>th</sup> Edition. ASM Press, 2011.
- [2] Cohen, Jonathan, Powderly, William G, and Steven M Opal. Infectious Diseases, Third Edition. Mosby, 2010.
- [3] International Committee on Taxonomy of Viruses (ICTV). Index of Viruses — Orthomyxovirus (2019). Virus Taxonomy: 2018b Release. <https://talk.ictvonline.org/taxonomy/>, accessed on 24<sup>th</sup> March 2020.
- [4] Kawaoka Y, ed. (2006). "Influenza Virology: Current Topics". Caister Academic Press. ISBN 978-1-904455-06-6. <https://www.caister.com/flu>, accessed on 24<sup>th</sup> March 2020.
- [5] Bouvier NM, Palese P (2008). "The biology of influenza viruses". Vaccine. Vol.26, Suppl. 4:D49-D53. doi:10.1016/j.vaccine.2008.07.039. PMID 19230160.
- [6] Richard M, Fouchier RAM (2016) "Influenza A virus transmission via respiratory aerosols or droplets as it relates to pandemic potential". FEMS Microbiology Reviews. Vol.40, Issue 1:68-85. doi:10.1093/femsre/fuv039. PMID 26385895.
- [7] World Health Organization (WHO). Fact sheets - "Influenza (Seasonal)". 18<sup>th</sup> November 2018. [https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/influenza-\(seasonal\)](https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/influenza-(seasonal)), accessed on 24<sup>th</sup> March 2020.

## 17. Nhãn hiệu và tuyên bố miễn trừ trách nhiệm

AltoStar®, FlexStar® (altona Diagnostics); CFX96™ (Bio-Rad); UTM® (Copan); Rotor-Gene® (QIAGEN); LightCycler® (Roche); FAM™, JOE™, ROX™, VIC™ (Thermo Fisher Scientific).

Tên, nhãn hiệu đã đăng ký v.v. được sử dụng trong tài liệu này, ngay cả khi không được chỉ rõ, vẫn phải coi là được pháp luật bảo hộ.
















FlexStar® SARS-CoV-2 Type & FLU RT-PCR Detection Mix 1.5 là sản phẩm được gắn nhãn CE tuân thủ Chỉ thị 98/79/EC của châu Âu về chẩn đoán *in vitro*.




Sản phẩm không được Bộ Y tế Canada cấp phép và không được FDA chứng nhận hoặc phê duyệt.

Không có sẵn ở tất cả các quốc gia.

© 2023 altona Diagnostics GmbH; đã bảo lưu mọi quyền.

## 18. Giải thích các ký hiệu

Biểu tượng	Giải thích
	Thiết bị y tế chẩn đoán <i>in vitro</i>
	Mã số thương phẩm toàn cầu
	Mã lô
	Nội dung
	Màu nắp
	Số catalogue
	Mã số
	Thành phần
	Tham khảo hướng dẫn sử dụng
	Chứa đủ cho "n" xét nghiệm/phản ứng (rxns)
	Giới hạn nhiệt độ
	Hạn sử dụng
	Nhà sản xuất
	Thận trọng
	Số vật liệu

Biểu tượng	Giải thích
	Phiên bản
	Lưu ý
	Chứa vật liệu sinh học có nguồn gốc từ động vật

## 19. Lịch sử chỉnh sửa

**Bảng 21:** Lịch sử chỉnh sửa

Mã định danh	Ngày cấp [tháng / năm]	Các chỉnh sửa
MAN-FS0021510- VI-S01	02/2022	Phát hành lần đầu

**trang để trống có chủ ý**



altona Diagnostics GmbH  
Mörkenstr. 12  
22767 Hamburg, Germany

phone +49 40 548 0676 0  
fax +49 40 548 0676 10  
e-mail [info@altona-diagnostics.com](mailto:info@altona-diagnostics.com)

**[www.altona-diagnostics.com](http://www.altona-diagnostics.com)**

