

Abbott RealTime High Risk HPV

vi

Abbott RealTime High Risk HPV

REF 02N09-092

H07300R04
B2NZ9V

Xem những thay đổi được tô sáng
Cập nhật tháng 05 năm 2020

Các ký hiệu được dùng trong tài liệu và trên nhãn sản phẩm	
	Mã sản phẩm
	Số lô
	Thiết bị y tế chẩn đoán In Vitro
	Hạn sử dụng
	Mẫu chứng âm tính
	Mẫu chứng dương tính
AMPLIFICATION REAGENT PACK	
	Bộ thuốc thử khuếch đại
	Giới hạn trên của nhiệt độ
	Giới hạn nhiệt độ
	CẢNH BÁO
	Đủ dùng cho <n> xét nghiệm
	Xem kỹ hướng dẫn sử dụng
	Nhà sản xuất

Xem phần **THUỐC THỬ** để có sự giải thích đầy đủ về các ký hiệu trong thành phần thuốc thử.

Dịch vụ hỗ trợ khách hàng: Vui lòng Liên lạc với đại diện của Abbott tại Việt Nam

Phải đọc kỹ hướng dẫn này trước khi sử dụng. Phải tuân theo các hướng dẫn trong tài liệu này. Độ tin cậy của các kết quả xét nghiệm sẽ không được đảm bảo nếu không làm đúng hướng dẫn trong tài liệu này.

TÊN SẢN PHẨM

Abbott RealTime High Risk HPV

MỤC ĐÍCH SỬ DỤNG

Abbott RealTime High Risk HPV là xét nghiệm định tính in vitro nhằm phát hiện DNA từ 14 chủng HPV (Human Papillomavirus) nguy cơ cao, đó là các chủng 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66, và 68 trong các mẫu xét nghiệm lâm sàng. Xét nghiệm xác định đặc hiệu các chủng HPV 16 và 18 trong khi vẫn đồng thời phát hiện các chủng nguy cơ cao khác ở các mức độ lây nhiễm liên quan về mặt lâm sàng.

Abbott RealTime High Risk HPV được chỉ định:

- Để sàng lọc các bệnh nhân có kết quả xét nghiệm phiến đồ cổ tử cung ASC-US (tế bào vảy không điển hình không rõ ý nghĩa) để xác định nhu cầu thực hiện soi cổ tử cung. Các kết quả của xét nghiệm này không được chỉ định để ngăn bệnh nhân thực hiện soi cổ tử cung.
- Sử dụng với phiến đồ cổ tử cung để sàng lọc thêm nhằm đánh giá việc có hoặc không có các chủng HPV nguy cơ cao.
- Sử dụng như bước xét nghiệm sàng lọc chính đầu tiên để xác định phụ nữ có nguy cơ gia tăng phát triển ung thư cổ tử cung hoặc có sự tồn tại của bệnh mức độ cao.
- Để đánh giá việc có hoặc không có các chủng HPV 16 và 18 nhằm xác định phụ nữ có nguy cơ gia tăng phát triển ung thư cổ tử cung hoặc có sự tồn tại của bệnh mức độ cao có hoặc không có phiến đồ cổ tử cung.

Các kết quả từ xét nghiệm Abbott RealTime High Risk HPV, cùng với đánh giá của bác sĩ điều trị về các kết quả phiến đồ, các yếu tố nguy cơ khác, và các hướng dẫn chuyên môn, có thể được dùng để hướng dẫn việc quản lý bệnh nhân.

TÓM TẮT VÀ GIẢI THÍCH XÉT NGHIỆM

HPV là một loại virus nhỏ, không có vỏ ngoài, DNA mạch kép (xấp xỉ 8.000 cặp base) sinh sôi trong nhân của các tế bào biểu mô vảy và gây ra các thương tổn tăng sinh quá mức.¹ Lây nhiễm HPV là một trong những bệnh lây truyền qua đường tình dục phổ biến nhất.² Hầu hết các ca nhiễm HPV có hậu quả lâm sàng nhẹ và tự khỏi.³ Tuy nhiên, nhiễm HPV dai dẳng có thể dẫn đến tiến triển thành ung thư cổ tử cung.⁴⁻⁷ Hơn một trăm chủng HPV khác nhau đã được xác định, trong đó có hơn bốn mươi chủng ảnh hưởng đến biểu mô niêm mạc và sinh dục.⁸ Các chủng HPV sinh dục được phân loại chung vào nhóm nguy cơ cao (high risk - HR) và nguy cơ thấp (low risk - LR) căn cứ vào khả năng gây ung thư của chúng. Các chủng HR HPV liên quan đến ung thư cổ tử cung xâm lấn hoặc các dạng tiền ung thư cổ tử cung (tổn thương nội biểu mô vảy mức độ cao, loạn sản nội biểu mô cổ tử cung hoặc ung thư biểu mô *in situ*), trong khi các chủng LR HPV lại gây ra các tổn thương nhẹ và không liên quan đến ung thư cổ tử cung.⁹⁻¹² Xấp xỉ 70% các trường hợp ung thư cổ tử cung xâm lấn trên thế giới là do chủng HPV 16 và HPV 18 gây ra.¹³ So với các chủng HR HPV khác, nhiễm HPV 16 hoặc HPV 18 sẽ làm nguy cơ tiến triển bệnh tử phát hiện đặc hiệu sự có mặt của HR HPV DNA trong các tế bào cổ tử cung có thể có khả năng tăng độ nhạy và hiệu quả chi phí của các chương trình sàng lọc ung thư cổ tử cung.¹⁵⁻²⁰ Ngoài ra, các xét nghiệm HPV DNA có thể được sử dụng hiệu quả trong phân loại những bệnh nhân có kết quả xét nghiệm tế bào không rõ ràng, trong theo dõi sau điều trị và trong giám sát hiệu quả của vắc-xin.²¹⁻²³

Xét nghiệm Abbott RealTime HR HPV là xét nghiệm định tính in vitro để khuếch đại và phát hiện HR HPV DNA trong các tế bào cổ tử cung được lấy trong môi trường chất lỏng. Việc phát hiện 14 chủng HR HPV (HPV 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66, và 68) được thực hiện thông qua một hỗn hợp đoạn mỗi nhắm đến một vùng bảo tồn của bộ gen HPV và các mẫu dò DNA mạch đơn. Xét nghiệm có thể phân biệt được giữa chủng HPV 16, HPV 18 và các chủng HPV không phải 16/18 (chủng HR HPV khác).

CÁC NGUYÊN LÝ SINH HỌC CỦA QUY TRÌNH

Xét nghiệm Abbott RealTime HR HPV sử dụng thiết bị Abbott m2000sp, Abbott m24sp, hoặc phương pháp chuẩn bị mẫu thủ công để xử lý các mẫu xét nghiệm và dùng thiết bị Abbott m2000rt để khuếch đại và phát hiện. Hỗn hợp đoạn mỗi bao gồm 3 đoạn mỗi xuôi (forward primers) và 2 đoạn mỗi ngược (reverse primers) nhằm đến một vùng bảo tồn L1 được dùng để khuếch đại các đích HPV. Tín hiệu tìm 14 chủng HR HPV (HPV 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66, và 68) được phát ra bằng cách sử dụng các mẫu dò có đánh dấu huỳnh quang. Các sản phẩm khuếch đại (amplicon) của mẫu chứng nội bộ (IC) được tạo ra với một bộ đoạn mỗi nhắm đến một chuỗi beta globin người nội sinh và được phát hiện bằng mẫu dò đặc hiệu của IC. Xét nghiệm Abbott RealTime HR HPV phát hiện chuỗi beta globin người nội sinh dùng làm mẫu chứng xác thực mức độ đầy đủ tế bào, sự chiết tách mẫu và hiệu quả khuếch đại. Các mẫu dò của chủng HPV 16, HPV 18, chủng HPV không phải 16/18 (chủng HR HPV khác) và IC được đánh dấu bằng các chất phát huỳnh quang khác nhau cho phép tín hiệu của chúng có thể phân biệt được trong một phản ứng.

Chuẩn bị mẫu

Mục đích của việc chuẩn bị mẫu là để chiết tách, cô đặc và tinh chế các phân tử DNA đích để khuếch đại.

Thuốc thử chuẩn bị mẫu Abbott mSample Preparation System_{DNA} sử dụng công nghệ vi hạt có từ tính để giữ các acid nucleic và rửa các vi hạt để loại bỏ các thành phần mẫu không gắn kết. Các acid nucleic gắn kết được tách rửa và khi đó đã sẵn sàng cho việc khuếch đại.

LƯU Ý: Một bộ thuốc thử chuẩn bị mẫu Abbott mSample Preparation System_{DNA} đủ để hoàn thành 4 x 48 (= 192) lần chuẩn bị mẫu HPV.

Có thể được sử dụng hai hệ thống thiết bị tự động, Abbott m2000sp hoặc Abbott m24sp, để chuẩn bị mẫu cho thực hiện xét nghiệm Abbott RealTime HR HPV. Abbott m2000sp thực hiện chức năng tự động chuyển dịch chiết tách mẫu và sắp xếp phản ứng trong đĩa phản ứng Abbott 96-Well Optical Reaction Plate, trong khi Abbott m24sp yêu cầu thực hiện thủ công việc chuyển dịch chiết tách mẫu và sắp xếp phản ứng.

Hoặc, các mẫu có thể được chuẩn bị thủ công theo hướng dẫn trong tài liệu **Chuẩn bị mẫu thủ công sử dụng thuốc thử Abbott mSample Preparation System_{DNA} cho xét nghiệm RealTime High Risk HPV** (Mã sản phẩm: 3N92). Phương pháp chuẩn bị mẫu thủ công yêu cầu chuyển thủ công dịch chiết tách mẫu sang đĩa phản ứng quang học Abbott 96-Well Optical Reaction Plate và sắp xếp phản ứng thủ công trước khi thực hiện khuếch đại.

Chuẩn bị thuốc thử và đĩa phản ứng

Abbott m2000sp kết hợp các thành phần Thuốc thử khuếch đại Abbott RealTime HR HPV Amplification Reagent (thuốc thử HPV Oligonucleotide, DNA Polymerase, và Thuốc thử Hoạt hóa). Abbott m2000sp phân bố master mix tạo thành vào đĩa phản ứng quang học Abbott 96-Well Optical Reaction Plate cùng với các mẫu acid nucleic do Abbott m2000sp điều chế. Sau khi dán kín đĩa phản ứng bằng màng quang học một cách thủ công, đĩa đã sẵn sàng để chuyển sang Abbott m2000rt.

Người sử dụng Abbott m24sp và người sử dụng phương pháp chuẩn bị mẫu thủ công sẽ tự kết hợp các thành phần của Thuốc thử khuếch đại Abbott RealTime HR HPV Amplification Reagent để tạo ra master mix khuếch đại và chuyển các lượng bằng nhau của master mix và dịch chiết tách mẫu sang đĩa phản ứng quang học Abbott 96-Well Optical Reaction Plate. Sau khi dán kín đĩa phản ứng bằng màng quang học một cách thủ công, đĩa đã sẵn sàng để chuyển sang Abbott m2000rt.

Khuếch đại

Trong quá trình phản ứng khuếch đại diễn ra trên Abbott m2000rt, DNA đích được khuếch đại bằng DNA Polymerase khi có mặt dNTPs và magiê. DNA Polymerase là enzyme ưa nhiệt (thermophilic) đã bị biến đổi trong vùng hoạt động của nó bởi một phân tử khiến nó bất hoạt. Khi enzyme được làm nóng trước khi bắt đầu quá trình PCR, phân tử ức chế được tách khỏi enzyme để nó lấy lại hoạt tính của mình. Theo cách này, enzyme chỉ hoạt động ở những nhiệt độ có xảy ra tương tác DNA-DNA đặc hiệu. Điều này làm giảm đáng kể các sản phẩm PCR giả (artifacts) không đặc hiệu ví dụ như primer dimers (mỗi đỉnh đôi). Trong xét nghiệm Abbott RealTime HR HPV, DNA Polymerase được hoạt hóa lần đầu ở nhiệt độ 92°C trong 10 phút. Trong các chu kỳ nhiệt sau đó, nhiệt độ cao được sử dụng để làm tách rời từng mạch của DNA mạch kép, sau đó dùng nhiệt độ thấp mà ở đó các đoạn mỗi sẽ gắn với các đích tương ứng của mình và nối dài để tạo ra các sản phẩm DNA mạch kép. Việc khuếch đại sản phẩm theo cấp số mũ đạt được thông qua các chu kỳ lặp lại giữa nhiệt độ cao và thấp, tạo ra sự khuếch đại gấp tỉ lần hoặc hơn nữa của các chuỗi đích. Phản ứng khuếch đại của cả hai đích (HPV và IC) xảy ra đồng thời trong cùng một phản ứng.

Chuỗi đích của xét nghiệm Abbott RealTime HR HPV nằm trong vùng bảo tồn L1 của bộ gen HPV. Một hỗn hợp đoạn mỗi chứa ba đoạn mỗi xuôi và hai đoạn mỗi ngược được thiết kế để lai với các vùng liên ứng giữa các chủng HPV gồm xấp xỉ 150 base. Chuỗi đích IC là một vùng gồm 136 base trong gen beta globin người nội sinh.

Phát hiện

Trong 38 chu kỳ khuếch đại cuối cùng, ở một bước đọc tín hiệu bổ sung, nhiệt độ được hạ thấp thêm để cho phép phát hiện tín hiệu huỳnh quang của các sản phẩm khuếch đại khi các mẫu dò HPV và IC gắn vào đích (được gọi là phát hiện huỳnh quang tại thời gian thực). Các mẫu dò HPV và IC là các oligonucleotide DNA mạch đơn được bổ sung cấu tử (moiety) phát huỳnh quang liên kết đồng hóa trị với một đầu của mẫu dò và cấu tử dập tắt huỳnh quang (quenching moiety) thì liên kết với đầu kia. Khi không có chuỗi HPV hoặc IC đích, mẫu dò có một loại cấu hình dạng ngẫu nhiên, một số trong đó sẽ mang quencher đến đủ gần chất phát huỳnh quang nhằm hấp thụ năng lượng trước khi chất đó phát ra huỳnh quang. Khi một mẫu dò gắn với chuỗi bổ sung của mình trong đoạn đích, chất phát huỳnh quang và quencher bị giữ cách xa nhau, cho phép phát huỳnh quang và Abbott m2000rt có thể phát hiện huỳnh quang.

Tín hiệu của 14 chủng HR HPV (HPV 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66 và 68) được phát ra bằng cách sử dụng các mẫu dò có đánh dấu huỳnh quang. Tín hiệu của IC được phát ra bằng một mẫu dò đặc hiệu của IC. Các mẫu dò của chủng HPV 16, HPV 18, các chủng HR HPV khác và IC được đánh dấu bằng các chất phát huỳnh quang khác nhau cho phép phát hiện đồng thời và có thể phân biệt trong một phản ứng. Tín hiệu của HPV 16, HPV 18, HR HPV khác, và IC được phát hiện lần lượt trong các kênh màu VIC, NED, FAM, và Cy5.

Kết quả xét nghiệm

Xét nghiệm Abbott RealTime HR HPV là một xét nghiệm định tính. Kết quả được báo cáo là "detected" (phát hiện được) hoặc "not detected" (không phát hiện được). Ngoài ra, mỗi tín hiệu phát hiện được (HPV 16, HPV 18, hoặc HR HPV khác) cũng được liệt kê trong kết quả được báo cáo. Xem phần **KẾT QUẢ** của hướng dẫn sử dụng này để biết thêm chi tiết.

THUỐC THỬ

Xét nghiệm Abbott RealTime HR HPV gồm 2 bộ kit:

- Thuốc thử khuếch đại Abbott RealTime High Risk HPV Amplification Reagent Kit (Mã sản phẩm: 02N09-092)
- Mẫu chứng Abbott RealTime High Risk HPV Control Kit (Mã sản phẩm: 2N09-80)

Abbott RealTime High Risk HPV Amplification Reagent Kit (Mã sản phẩm: 02N09-092)

AMPLIFICATION REAGENT PACK (4 bộ, 24 test/bộ)

Mỗi bộ thuốc thử gồm:

- 1 chai (0,070 mL) DNA Polymerase (5,4 đến 5,9 Unit/ μ L) trong dung dịch đệm với chất ổn định.
- 1 chai (0,502 mL) thuốc thử HPV Oligonucleotide. Oligonucleotide tổng hợp < 0,1% và dNTPs < 1%, trong dung dịch đệm với chất nhuộm reference dye.
Chất bảo quản: Natri azide và ProClin 950 0,16%.
- 1 chai (0,778 mL) Activation Reagent (thuốc thử hoạt hóa). Magnesium chloride 38 mM trong dung dịch đệm.
Chất bảo quản: Natri azide và ProClin 950 0,15%.

LƯU Ý: Các thành phần của thuốc thử Abbott RealTime Reagent (enzyme, thuốc thử oligonucleotide, thuốc thử hoạt hóa) được chỉ định dùng một lần và các thuốc thử không dùng hết phải hủy bỏ.

Mẫu chứng Abbott RealTime High Risk HPV Control Kit (Mã sản phẩm: 2N09-80)

Abbott RealTime High Risk HPV Negative Control

- **CONTROL₋** (12 chai, mỗi chai 0,5 mL)
< 0,01% DNA không lây nhiễm với chuỗi Beta Globin trong dung dịch đệm với DNA truyền tải.
Chất bảo quản: Natri azide và ProClin 950 0,15%.

Abbott RealTime High Risk HPV Positive Control

- **CONTROL₊** (12 chai, mỗi chai 0,5 mL)
< 0,01% DNA không lây nhiễm với chuỗi HPV và Beta Globin trong dung dịch đệm với DNA truyền tải.
Chất bảo quản: Natri azide và ProClin 950 0,15%.

LƯU Ý: Các Mẫu chứng Âm tính và Dương tính được chỉ định dùng một lần và các thuốc thử không dùng hết phải hủy bỏ.

CẢNH BÁO VÀ ĐỀ PHÒNG

- **IVD**
- Dùng cho chẩn đoán In Vitro
- Xét nghiệm In Vitro

Các đề phòng về an toàn

Tham khảo Tài liệu hướng dẫn vận hành Abbott *m2000sp* (Mã sản phẩm: 9K20), Abbott *m24sp* (Mã sản phẩm: 3N09), và Abbott *m2000rt* (Mã sản phẩm: 9K25), phần Nguy hiểm, và **Chuẩn bị mẫu thủ công sử dụng thuốc thử Abbott *mSample Preparation System_{DNA}* cho xét nghiệm RealTime HR HPV** (Mã sản phẩm: 3N92) để biết hướng dẫn về các đề phòng an toàn.

- Không có vật liệu có nguồn gốc từ người trong thuốc thử Abbott RealTime HR HPV Amplification Reagents hay mẫu chứng Abbott RealTime HR HPV Controls.
- Sản phẩm này yêu cầu thao tác với mẫu bệnh phẩm từ người. Khuyến cáo tất cả các vật liệu có nguồn gốc từ con người được xem là có nguy cơ lây nhiễm tiềm tàng và cần được xử lý theo các nguyên tắc an toàn sinh học phù hợp. Mang găng tay dùng một lần khi xử lý mẫu xét nghiệm và rửa tay kỹ sau đó. Khuyến cáo sử dụng kính bảo hộ.

Các mẫu chứng, thuốc thử HPV Oligonucleotide và thuốc thử hoạt hóa chứa methylisothiazolone (thành phần của ProClin).

Áp dụng các cảnh báo sau cho thuốc thử HPV Oligonucleotide, thuốc thử hoạt hóa và mẫu chứng.



Cảnh báo

Các thành phần gây nguy hiểm:

2-Methyl-2H-isothiazol-3-one

Natri azide

H317	Có thể gây dị ứng da.
EUH032	Tiếp xúc với acid sẽ tạo ra khí rất độc hại.
P261	Tránh hít phải dạng sương mù/hơi/bụi nước.
P280	Mang găng tay bảo hộ / quần áo bảo hộ / kính bảo hộ / mặt nạ bảo hộ.
P272	Không mang quần áo bị nhiễm bẩn ra khỏi khu vực làm việc.
P302+P352	NẾU TIẾP XÚC VỚI DA: Rửa với rất nhiều nước.
P333+P313	Nếu da bị kích ứng hoặc phát ban: Tham vấn bác sĩ.
P362+P364	Cởi bỏ quần áo bị lây nhiễm và giặt sạch trước khi sử dụng lại.
P501	Thải bỏ tất cả thành phần / vật chứa theo các quy định của địa phương.

Thu thập mẫu xét nghiệm và Đề phòng khi thao tác

- Các mẫu xét nghiệm được thu thập trong dung dịch PreservCyt (Hologic, Inc.) có thể được sử dụng với xét nghiệm Abbott RealTime HR HPV. Người sử dụng phải tuân theo hướng dẫn của nhà sản xuất về thu thập và xử lý các mẫu xét nghiệm cổ tử cung trong dung dịch PreservCyt.
- Các mẫu xét nghiệm được lấy trong dung dịch bảo quản SurePath Preservative Fluid (TriPath Imaging, Inc.) có thể được dùng với xét nghiệm Abbott RealTime HR HPV. Cả mẫu từ chai lấy mẫu SurePath gốc hay mẫu pellet tế bào còn lại thu được sau khi chuẩn bị tiêu bản xét nghiệm bằng máy TriPath Imaging PrepStain Slide Processor đều có thể sử dụng để xét nghiệm. Người sử dụng phải tuân theo hướng dẫn của nhà sản xuất về thu thập, thao tác và xử lý các mẫu xét nghiệm cổ tử cung trong dung dịch SurePath Preservative Fluid.
- Mẫu xét nghiệm được lấy bằng bộ lấy mẫu Abbott Cervi-Collect Specimen Collection Kit có thể được dùng cho xét nghiệm Abbott RealTime HR HPV. Người sử dụng phải tuân theo hướng dẫn trong hướng dẫn sử dụng Bộ lấy mẫu Abbott Cervi-Collect Specimen Collection Kit (Mã sản phẩm: 4N73) khi lấy mẫu và xử lý mẫu xét nghiệm cổ tử cung.

Các đề phòng trong phòng xét nghiệm

- Trong quá trình chuẩn bị mẫu, cần tuân theo các nguyên tắc Thực hành tốt phòng xét nghiệm (GLP) để giảm thiểu nguy cơ nhiễm chéo giữa các mẫu cũng như việc vô tình đưa nucleases vào mẫu trong và sau khi tiến hành chiết tách. Luôn phải sử dụng kỹ thuật vô trùng phù hợp khi làm việc với DNA.
- Khu vực làm việc và các bề mặt thiết bị được xem là nguồn có khả năng gây nhiễm.

Thay găng tay sau khi tiếp xúc với các chất có khả năng lây nhiễm (ví dụ như các DNase, mẫu xét nghiệm, dịch chiết tách, và/hoặc sản phẩm khuếch đại) trước khi thao tác với các thuốc thử, mẫu chứng dương tính, mẫu chứng âm tính chưa mở nắp và mẫu xét nghiệm. Tham khảo Tài liệu hướng dẫn vận hành Abbott *m24sp*, Abbott *m2000sp*, và Abbott *m2000rt* để biết quy trình vệ sinh thiết bị.

- Luôn luôn mang thiết bị bảo hộ cá nhân phù hợp.
- Sử dụng găng tay không bám bột.
- Để giảm nguy cơ lây nhiễm acid nucleic do khí dung (aerosols) hình thành trong quá trình hút mẫu, sử dụng các pipet có đầu chắn khí dung khi thực hiện thao tác hút thủ công. Chiều dài của đầu pipet phải đủ để ngăn ngừa việc gây nhiễm nòng pipet. Trong khi hút, cần thao tác cẩn thận để tránh nòng pipet chạm vào bên trong ống mẫu hoặc chai đựng mẫu. Khuyến cáo sử dụng các đầu pipet nối dài có chắn khí dung.
- Thay đầu pipet có chắn khí dung giữa TẤT CẢ những lần chuyển chất lỏng thủ công.
- Làm sạch và khử khuẩn phần rơi vãi của mẫu xét nghiệm và thuốc thử theo hướng dẫn trong các tài liệu sau: Tài liệu hướng dẫn vận hành Abbott *m24sp*, Tài liệu hướng dẫn vận hành Abbott *m2000sp*, Tài liệu Hướng dẫn Vận hành Abbott *m2000rt*, và **Chuẩn bị mẫu thủ công sử dụng thuốc thử Abbott *mSample Preparation System_{DNA}* cho xét nghiệm RealTime High Risk HPV.**

Các đề phòng về lây nhiễm

- Các phản ứng khuếch đại như PCR rất nhạy với sản phẩm từ những phản ứng khuếch đại trước vô tình bị đưa vào. Kết quả xét nghiệm có thể không chính xác nếu mẫu lâm sàng hoặc thuốc thử sử dụng bị nhiễm, cho dù chỉ một vài phân tử của sản phẩm khuếch đại bị vô tình đưa vào. Những biện pháp để giảm nguy cơ lây nhiễm trong phòng xét nghiệm bao gồm cả việc tách riêng từng khu vực cho các hoạt động thuộc quy trình PCR tuân theo các nguyên tắc Thực hành tốt phòng xét nghiệm GLP.
- Khuyến cáo sử dụng 3 khu vực chuyên biệt trong phòng xét nghiệm để thực hiện xét nghiệm Abbott RealTime HR HPV với thiết bị Abbott *m24sp* hoặc với quy trình chuẩn bị mẫu thủ công bằng thuốc thử Abbott *mSample Preparation System_{DNA}* và thiết bị Abbott *m2000rt*:
 - Khu vực chuẩn bị thuốc thử được dùng để kết hợp các thành phần Thuốc thử khuếch đại Abbott RealTime HR HPV Amplification Reagent để tạo master mix khuếch đại và chuyển các lượng bằng nhau của master mix vào đĩa phản ứng quang học Abbott 96-Well Optical Reaction Plate. Áo khoác phòng xét nghiệm, pipet, và đầu pipet được sử dụng trong Khu vực chuẩn bị thuốc thử phải để yên trong khu vực này và không được chuyển sang Khu vực chuẩn bị mẫu hay Khu vực khuếch đại. Không mang sản phẩm đích hoặc sản phẩm khuếch đại vào Khu vực chuẩn bị thuốc thử.
 - Khu vực chuẩn bị mẫu được dùng để xử lý các mẫu (mẫu xét nghiệm, mẫu chứng Abbott RealTime HR HPV) và để thêm các mẫu đã xử lý và mẫu chứng vào Đĩa phản ứng quang học Abbott 96-Well Optical Reaction Plate. Tất cả thuốc thử sử dụng trong Khu vực Chuẩn bị Mẫu phải luôn giữ nguyên trong khu vực này. Áo khoác phòng xét nghiệm, pipet, đầu pipet, và các máy lắc trộn được sử dụng trong Khu vực chuẩn bị mẫu phải được để yên trong khu vực này và không được chuyển sang Khu vực chuẩn bị thuốc thử hay Khu vực Khuếch đại. Không mang sản phẩm khuếch đại vào Khu vực Chuẩn bị Mẫu.
 - Khu vực khuếch đại được dùng cho quá trình khuếch đại và phát hiện sản phẩm khuếch đại. Áo khoác phòng xét nghiệm và thiết bị được dùng trong Khu vực Khuếch đại phải giữ nguyên trong khu vực này và không di chuyển sang Khu vực chuẩn bị thuốc thử hay Khu vực chuẩn bị mẫu.
- Chỉ khuyến cáo dùng 2 khu vực chuyên biệt, Khu vực chuẩn bị mẫu và Khu vực khuếch đại, khi sử dụng thiết bị Abbott *m2000sp* và Abbott *m2000rt*.
- Nếu quá trình chạy của Abbott *m2000sp* bị hủy, phải thải bỏ tất cả vật dụng và thuốc thử theo hướng dẫn của Tài liệu hướng dẫn vận hành Abbott *m2000sp*. Nếu quá trình chạy của Abbott *m24sp* bị hủy, phải hủy bỏ tất cả vật dụng và thuốc thử (nếu không cần dùng lại) theo hướng dẫn của Tài liệu hướng dẫn vận hành Abbott *m24sp*. Nếu quy trình chuẩn bị mẫu thủ công không được thực hiện chính xác hoặc bị gián đoạn tại một bước nào đó khiến thời gian thực hiện của các bước vượt quá thời gian khuyến cáo của hướng dẫn thao tác, thì cần phải hủy tất cả các vật dụng và thuốc thử (nếu không cần dùng lại) theo hướng dẫn trong tài liệu **Chuẩn bị mẫu thủ công sử dụng thuốc thử Abbott *mSample Preparation System_{DNA}* cho xét nghiệm RealTime High Risk HPV.**

- Nếu quy trình thêm master mix của Abbott *m2000sp* bị hủy sau khi đã cho Thuốc thử khuếch đại vào đĩa phản ứng Abbott 96-Well Optical Reaction Plate, cần dán kín đĩa phản ứng Abbott 96-Well Optical Reaction Plate trong một túi nhựa có thể dán miệng và hủy bỏ theo Tài liệu hướng dẫn vận hành Abbott *m2000sp*, phần Nguy hiểm, cùng với các găng tay đã sử dụng để xử lý đĩa. Không nạp lệnh xét nghiệm lên Abbott *m2000rt*. Nếu việc chuẩn bị thủ công hỗn hợp phản ứng PCR bị hủy sau khi đã thêm Thuốc thử khuếch đại vào Đĩa Phản ứng quang học Abbott 96-Well Optical Reaction Plate, dán kín đĩa phản ứng Abbott 96-Well Optical Reaction Plate trong một túi nhựa có thể dán miệng và hủy theo các hướng dẫn của phòng xét nghiệm, hủy cùng với găng tay đã dùng khi xử lý đĩa.
- Đối với tất cả các lần chạy đã hoàn thành, bị gián đoạn hoặc bị hủy của Abbott *m2000rt*, cần phải hủy bỏ Đĩa Phản ứng quang học Abbott 96-Well Optical Reaction trong một túi nhựa dán kín theo các hướng dẫn vận hành Abbott *m2000rt* cùng găng tay dùng xử lý đĩa.
- Hấp khử trùng Đĩa Phản ứng đã dán kín sẽ không làm suy biến sản phẩm khuếch đại và có thể góp phần vào việc làm giải phóng sản phẩm khuếch đại do làm mở đĩa. Khu vực phòng xét nghiệm có thể bị nhiễm sản phẩm khuếch đại nếu rác thải không được xử lý và chứa cẩn thận.**
- Khử nhiễm và hủy bỏ tất cả mẫu xét nghiệm, thuốc thử và các vật liệu có nguy cơ lây nhiễm theo quy định của địa phương, tỉnh thành và quốc gia.^{24,25} Tất cả vật liệu nên được xử lý theo cách làm giảm thiểu nguy cơ lây nhiễm khu vực làm việc.


Lây nhiễm từ sản phẩm khuếch đại bên ngoài chứa Deoxy-Uracil (dU)

- Xét nghiệm khuếch đại HPV chứa dU có thể gây lây nhiễm và cho kết quả không chính xác với xét nghiệm Abbott RealTime HR HPV. Khi mẫu chứng âm tính có phản ứng liên tục hoặc khi có khả năng xảy ra lây nhiễm bởi sản phẩm khuếch đại HPV chứa dU, khuyến cáo phòng xét nghiệm sử dụng quy trình kiểm soát lây nhiễm. Liên hệ với Đại diện của Abbott tại Việt Nam để lấy tài liệu về quy trình này (Mã sản phẩm: 2N09-66).

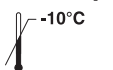
BẢO QUẢN VÀ XỬ LÝ THUỐC THỬ

LƯU Ý: Cẩn cẩn thận để riêng Abbott RealTime High Risk HPV Amplification Reagent Kit đang sử dụng không cho tiếp xúc trực tiếp với các mẫu xét nghiệm và các thuốc thử trong Abbott RealTime High Risk HPV Control Kit.

Abbott RealTime High Risk HPV Amplification Reagent Kit (Mã sản phẩm: 02N09-092)

- 
- Bộ Thuốc thử khuếch đại Abbott RealTime High Risk HPV Amplification Reagent Pack phải được bảo quản ở -25 đến -15°C khi không sử dụng.
 - Thuốc thử được vận chuyển trên đá khô.

Abbott RealTime High Risk HPV Control Kit (Mã sản phẩm: 2N09-80)

- 
- Mẫu chứng Âm tính và Dương tính Abbott RealTime High Risk HPV Negative và Positive Controls phải được bảo quản ở -10°C hoặc lạnh hơn.
 - Thuốc thử được vận chuyển trên đá khô.

THIẾT BỊ/PHƯƠNG PHÁP

Xét nghiệm Abbott RealTime HR HPV được thực hiện bằng phương pháp chuẩn bị mẫu thủ công hoặc trên thiết bị Abbott *m24sp* hoặc Abbott *m2000sp* để chiết tách mẫu và trên thiết bị Abbott *m2000rt* để khuếch đại và phát hiện. Tham khảo tài liệu **Chuẩn bị mẫu thủ công sử dụng thuốc thử Abbott *mSample Preparation System*_{DNA} cho xét nghiệm RealTime High Risk HPV** hoặc Tài liệu hướng dẫn vận hành Abbott *m24sp*, Abbott *m2000sp* hoặc Abbott *m2000rt* để biết quy trình vận hành chi tiết.

Cơ sở dữ liệu phù hợp chứa các quy trình chuẩn bị mẫu phải được cài đặt trên Abbott *m24sp* trước khi tiến hành xét nghiệm. Để biết thông tin chi tiết về cài đặt cơ sở dữ liệu, tham khảo Tài liệu hướng dẫn vận hành Abbott *m24sp*.

Chương trình xét nghiệm Abbott RealTime HR HPV phải được cài đặt trên thiết bị Abbott *m2000rt* và/hoặc Abbott *m2000sp* từ đĩa Abbott RealTime High Risk HPV Abbott *m2000 System ROW Combined Application CD-ROM* (Mã sản phẩm: 4N05) trước khi thực hiện xét nghiệm. Tham khảo Tài liệu hướng dẫn vận hành Abbott *m2000sp* và Abbott *m2000rt*, phần Hướng dẫn Vận hành để biết thông tin chi tiết cách cài đặt Chương trình xét nghiệm.

HƯỚNG DẪN THU THẬP VÀ XỬ LÝ MẪU XÉT NGHIỆM

Thu thập mẫu xét nghiệm

Những mẫu xét nghiệm thu thập trong dung dịch PreservCyt Solution (Hologic, Inc.) hoặc dung dịch bảo quản SurePath Preservative Fluid (TriPath Imaging, Inc.), hoặc thu thập bằng Abbott Cervi-Collect Specimen Collection Kit (Mã sản phẩm của Abbott: 4N73) có thể được dùng với xét nghiệm Abbott RealTime HR HPV. Đối với mẫu xét nghiệm SurePath, cả mẫu từ chai lấy mẫu SurePath gốc hoặc mẫu pellet tế bào còn lại thu được sau khi xử lý tế bào đều có thể dùng được. Người sử dụng phải tuân theo hướng dẫn của nhà sản xuất tương ứng về các bước lấy mẫu xét nghiệm cổ tử cung trong PreservCyt Solution hoặc SurePath Preservative Fluid. Người sử dụng phải tuân theo hướng dẫn trong hướng dẫn sử dụng Bộ lấy mẫu Abbott Cervi-Collect Specimen Collection Kit (Mã sản phẩm: 4N73) khi lấy mẫu xét nghiệm cổ tử cung bằng Abbott Cervi-Collect Specimen Collection Kit.

Vận chuyển và bảo quản mẫu xét nghiệm

Các mẫu xét nghiệm cổ tử cung được thu thập trong Dung dịch PreservCyt Solution có thể được vận chuyển ở 15 đến 30°C hoặc 2 đến 8°C và có thể được bảo quản trong 4 tháng ở 15 đến 30°C hoặc trong tối đa 6 tháng ở 2 đến 8°C và -10°C hoặc lạnh hơn sau khi được thu thập.

Các mẫu xét nghiệm cổ tử cung được thu thập trong SurePath Preservative Fluid (mẫu từ chai lấy mẫu SurePath gốc hoặc từ mẫu pellet tế bào còn lại thu được sau khi xử lý tế bào) có thể được vận chuyển ở nhiệt độ 15 đến 30°C hoặc 2 đến 8°C và có thể được bảo quản trong 2 tháng ở nhiệt độ 15 đến 30°C hoặc trong 6 tháng ở nhiệt độ 2°C đến 8°C và -10°C hoặc lạnh hơn sau khi được thu thập.

Các mẫu xét nghiệm cổ tử cung được thu thập bằng bộ lấy mẫu Abbott Cervi-Collect Specimen Collection Kit có thể được vận chuyển ở nhiệt độ 2 đến 30°C và có thể được bảo quản trong 14 ngày ở nhiệt độ 2°C đến 30°C hoặc trong tối đa 90 ngày ở -10°C hoặc lạnh hơn. Rã đông mẫu xét nghiệm ở 2 đến 30°C. Không nên đông lạnh/rã đông mẫu xét nghiệm quá bốn lần.

Tuân thủ theo điều kiện về thời gian và nhiệt độ bảo quản trong quá trình vận chuyển. Đối với các chuyến hàng trong nước và quốc tế, nên đóng gói và dán nhãn mẫu theo quy định của tỉnh thành, quốc gia và quốc tế về vận chuyển mẫu lâm sàng, chẩn đoán, hoặc sinh học.

QUY TRÌNH XÉT NGHIỆM

Hướng dẫn sử dụng xét nghiệm Abbott RealTime HR HPV gồm 3 quy trình xét nghiệm:

- Mẫu được chuẩn bị để khuếch đại bằng phương pháp chuẩn bị mẫu thủ công làm theo **QUY TRÌNH XÉT NGHIỆM I**.
- Mẫu được chuẩn bị để khuếch đại sử dụng thiết bị Abbott *m24sp* làm theo **QUY TRÌNH XÉT NGHIỆM II**.
- Mẫu được chuẩn bị để khuếch đại sử dụng thiết bị Abbott *m2000sp* làm theo **QUY TRÌNH XÉT NGHIỆM III**.

Nguyên vật liệu được cung cấp

- Thuốc thử khuếch đại Abbott RealTime High Risk HPV Amplification Reagent Kit (Mã sản phẩm: 02N09-092)

Nguyên vật liệu cần thiết nhưng không được cung cấp

- Mẫu chứng Abbott RealTime High Risk HPV Control Kit (Mã sản phẩm: 2N09-80)
- Đĩa phần mềm Abbott RealTime High Risk HPV *m2000 System ROW Combined Application CD-ROM* (Mã sản phẩm: 4N05)
- Các vật liệu cho Chuẩn bị mẫu thủ công (Quy trình xét nghiệm I)**

Khu vực Chuẩn bị mẫu

- Tham khảo phần Vật liệu và Thiết bị Cần thiết trong tài liệu **Chuẩn bị mẫu thủ công sử dụng thuốc thử Abbott *mSample Preparation System*_{DNA} cho xét nghiệm RealTime High Risk HPV** (Mã sản phẩm: 3N92).
- Màng dán đĩa phản ứng Abbott Optical Adhesive Covers (Mã sản phẩm: 04J71-75)
- Dụng cụ dán màng Abbott Adhesive Cover Applicator (Mã sản phẩm: 9K32-01)

Khu vực chuẩn bị thuốc thử

- Đĩa phản ứng Abbott 96-Well Optical Reaction Plate (Mã sản phẩm: 04J71-70)
- Đế đỡ Abbott Splash-Free Support Base (Mã sản phẩm: 09K31-01)
- Pipet đã hiệu chuẩn có khả năng hút 10 µL đến 1000 µL
- Đầu pipet có chặn khí dung dùng cho pipet 20 µL đến 1000 µL
- Ống hay chai đựng không có DNase, loại sử dụng một lần

- Các vật liệu dùng cho thiết bị Abbott m24sp (Quy trình xét nghiệm II)

Khu vực chuẩn bị mẫu

- Thiết bị Abbott m24sp chứa các tập lệnh (script) cần thiết để chạy xét nghiệm Abbott RealTime HR HPV (Cơ sở dữ liệu của m24sp phiên bản 3.0 hoặc cao hơn)
- Thuốc thử chuẩn bị mẫu Abbott mSample Preparation System_{DNA} (Mã sản phẩm: 06K12-24)

LƯU Ý: Một kit đủ để hoàn thành 192 lần chuẩn bị mẫu HPV.

- Pipet chính xác đã hiệu chuẩn có khả năng hút 10 µL đến 1000 µL
- Đầu pipet có chắn khí dung 20 µL đến 1000 µL dùng cho pipet chính xác
- Ống mẫu đầu vào (tham khảo phần **QUY TRÌNH XÉT NGHIỆM II** để biết thêm chi tiết)
- Đầu pipet dùng một lần, khả năng hút 1000 µL (Mã sản phẩm: 04J71-10)
- Đầu pipet dùng một lần, khả năng hút 200 µL (Mã sản phẩm: 04J71-17)
- Máy lắc trộn
- Ethanol USP Grade 190-200 Proof (Ethanol 95-100%).

Không dùng ethanol chứa các chất biến tính.

- Màng dán đĩa phản ứng Abbott Optical Adhesive Covers (Mã sản phẩm: 04J71-75)
- Dụng cụ dán màng Abbott Adhesive Cover Applicator (Mã sản phẩm: 9K32-01)
- Đĩa giếng sâu Abbott 96-Deep Well Plate (Mã sản phẩm: 04J71-30)
- Đế đỡ Abbott Splash-Free Support Base (Mã sản phẩm: 09K31-01)
- Giá mẫu 13 mm
- Ống phản ứng 1,5 mL và ống đầu ra (ống vi ly tâm 1,5 mL có nắp vận kèm nắp, Mã sản phẩm: 4J71-50 hoặc tương đương)

Khu vực chuẩn bị thuốc thử

- Đĩa phản ứng Abbott 96-Well Optical Reaction Plate (Mã sản phẩm: 04J71-70)
- Đế đỡ Abbott Splash-Free Support Base (Mã sản phẩm: 09K31-01)
- Pipet đã hiệu chuẩn có khả năng hút 10 µL đến 1000 µL
- Đầu pipet có chắn khí dung dùng cho pipet 20 µL đến 1000 µL
- Ống hay chai đựng không có DNase loại sử dụng một lần

- Các vật liệu dùng cho Abbott m2000sp (Quy trình xét nghiệm III)

Khu vực Chuẩn bị mẫu

- Thiết bị Abbott m2000sp với Phần mềm Phiên bản 3.0 trở lên
- Thuốc thử chuẩn bị mẫu Abbott mSample Preparation System_{DNA} (Mã sản phẩm: 06K12-24)

LƯU Ý: Một kit đủ để hoàn thành 192 lần chuẩn bị mẫu HPV.

- Ống phản ứng 5 mL (Mã sản phẩm: 4J71-20)
- Pipet chính xác đã hiệu chuẩn có khả năng hút 10 µL đến 1000 µL
- Đầu pipet có chắn khí dung 20 µL đến 1000 µL dùng cho pipet chính xác
- Ống mẫu đầu vào (tham khảo phần **QUY TRÌNH XÉT NGHIỆM II** để biết thêm chi tiết)
- Đầu pipet dùng một lần, khả năng hút 1000 µL (Mã sản phẩm: 04J71-10)
- Đầu pipet dùng một lần, khả năng hút 200 µL (Mã sản phẩm: 04J71-17)
- Máy lắc trộn
- Ethanol USP Grade 190-200 Proof (Ethanol 95-100%).

Không dùng ethanol chứa các chất biến tính.

- Màng dán đĩa phản ứng Abbott Optical Adhesive Covers (Mã sản phẩm: 04J71-75)
- Dụng cụ dán màng Abbott Adhesive Cover Applicator (Mã sản phẩm: 9K32-01)
- Đế đỡ Abbott Splash-Free Support Base (Mã sản phẩm: 09K31-01)
- Ống Master mix (Mã sản phẩm: 04J71-80)
- Cốc chứa thuốc thử 200 mL (Mã sản phẩm: 4J71-60)
- Đĩa giếng sâu Abbott 96-Deep Well Plate (Mã sản phẩm: 04J71-30)
- Đĩa phản ứng Abbott 96-Well Optical Reaction Plate (Mã sản phẩm: 04J71-70)
- Giá mẫu 13 mm

- Các vật liệu dùng cho thiết bị Abbott m2000rt

- Thiết bị Abbott m2000rt với Phần mềm Phiên bản 3.0 trở lên

- Bộ kit hiệu chuẩn quang học Abbott m2000rt Optical Calibration Kit (Mã sản phẩm: 4J71-93)

Các nguyên vật liệu khác

- Các tủ an toàn sinh học đã được phê duyệt có thể sử dụng với các vật liệu lây nhiễm
- Các túi nhựa có thể dán miệng
- Nước không nhiễm RNase (RNase-free)[†]
- Ống vi ly tâm[†]
- Que lấy mẫu đầu cotton (Puritan hoặc tương đương)[†]

[†] LƯU Ý: Ba vật liệu này được sử dụng trong quy trình Kiểm soát lây nhiễm phòng xét nghiệm. Tham khảo QUY TRÌNH KIỂM SOÁT CHẤT LƯỢNG của tài liệu này.

Để phòng khi thực hiện quy trình

- Vui lòng đọc kỹ hướng dẫn trong tài liệu này trước khi xử lý mẫu.
- Không sử dụng các bộ hoặc thuốc thử đã quá hạn sử dụng ghi trên nhãn.
- Các lô mẫu chứng và Thuốc thử khuếch đại có thể sử dụng thay thế cho nhau. Các thành phần có trong một bộ sản phẩm được chỉ định dùng chung với nhau. Ví dụ, không sử dụng mẫu chứng âm tính từ bộ mẫu chứng lô X với mẫu chứng dương tính từ bộ mẫu chứng lô Y.
- Các thành phần của Thuốc thử khuếch đại (enzyme, thuốc thử oligonucleotide và thuốc thử hoạt hóa) và các Mẫu chứng chỉ được sử dụng một lần và thải bỏ sau khi dùng. Sử dụng cốc thuốc thử mới và ống phản ứng mới cho mỗi lần chạy xét nghiệm Abbott RealTime HR HPV mới. Cuối mỗi lần chạy, hủy tất cả thuốc thử còn lại theo hướng dẫn trong các tài liệu sau: Tài liệu hướng dẫn vận hành Abbott m24sp, Tài liệu hướng dẫn vận hành Abbott m2000sp, và **Chuẩn bị mẫu thủ công sử dụng thuốc thử Abbott mSample Preparation System_{DNA} cho xét nghiệm RealTime High Risk HPV.**
- Mẫu chứng Abbott RealTime HR HPV Controls phải được xử lý với các mẫu sẽ được xét nghiệm. Việc sử dụng Mẫu chứng Abbott RealTime HR HPV Controls là không thể thiếu khi thực hiện xét nghiệm Abbott RealTime HR HPV. Tham khảo **QUY TRÌNH KIỂM SOÁT CHẤT LƯỢNG** của tài liệu này để biết chi tiết.
- Chỉ sử dụng Ethanol USP Grade 190-200 Proof (Ethanol 95%-100%) để chuẩn bị thuốc thử chuẩn bị mẫu mWash 2_{DNA}. **Không dùng ethanol chứa các chất biến tính.**
- Sử dụng pipet có chắn khí dung hoặc pipet dùng một lần chỉ một lần khi hút. Để ngăn ngừa gây nhiễm nòng pipet trong khi hút, nên cẩn trọng tránh để nòng pipet chạm vào bên trong ống đựng mẫu hay vật chứa mẫu. Khuyến cáo sử dụng các đầu pipet nối dài có chắn khí dung.
- Thay thế tất cả đầu pipet loại 200 µL và 1000 µL còn trống hay đã sử dụng một phần trên Abbott m2000sp hoặc Abbott m24sp bằng các khay đẩy trước mỗi lần chạy. Tham khảo Tài liệu hướng dẫn vận hành Abbott m2000sp và Abbott m24sp, phần Hướng dẫn Vận hành.
- Các quy trình theo dõi sự tồn tại của sản phẩm khuếch đại có thể xem trong phần **QUY TRÌNH KIỂM SOÁT CHẤT LƯỢNG** trong tài liệu này.
- Để giảm nguy cơ nhiễm nucleic acid, cần làm sạch và khử khuẩn khi bị đổ các mẫu xét nghiệm, thuốc thử và mẫu chứng bằng cách sử dụng một dung dịch tẩy rửa sau đó dùng chất diệt trực khuẩn lao như natri hypochlorite 1,0% (v/v) hoặc các chất diệt khuẩn phù hợp khác.

QUY TRÌNH XÉT NGHIỆM I: PHƯƠNG PHÁP CHUẨN BỊ MẪU THỦ CÔNG VÀ THIẾT BỊ ABBOTT m2000rt

Tham khảo phần **CẢNH BÁO VÀ ĐỂ PHÒNG** của tài liệu này trước khi chuẩn bị mẫu.

1. Lắc trộn mỗi mẫu xét nghiệm trong 15 đến 20 giây. Bảo đảm các thành phần trong từng chai lắng xuống đáy sau khi lắc trộn bằng cách gõ nhẹ chai xuống mặt bàn để đưa chất lỏng xuống đáy chai. Lập tức chuyển 400 µL của mỗi mẫu xét nghiệm vào một ống phản ứng.

LƯU Ý: Cần bảo đảm thể tích mẫu pellet tế bào SurePath sau khi xử lý tế bào là khoảng 2,8 mL. Sử dụng dung dịch SurePath Preservative Fluid để điều chỉnh thể tích mẫu được 6 mL trước khi lắc trộn và chuyển sang ống phản ứng.

2. Rửa đồng các mẫu chứng ở 15 đến 30°C hoặc 2 đến 8°C; xem phần **QUY TRÌNH KIỂM SOÁT CHẤT LƯỢNG** của tài liệu này.

- Trước khi sử dụng, lắc trộn từng mẫu chứng từ 15 đến 20 giây. Bảo đảm các thành phần trong từng chai lắng xuống đáy sau khi lắc trộn bằng cách gõ nhẹ chai xuống mặt bàn để đưa chất lỏng xuống đáy chai.

- Một khi đã ra đông, mẫu chứng có thể được bảo quản ở 2 đến 8°C trong 24 giờ trước khi dùng.
3. Rã đông các thuốc thử khuếch đại ở nhiệt độ 15 đến 30°C hoặc từ 2 đến 8°C và bảo quản ở nhiệt độ từ 2 đến 8°C cho đến khi cần thực hiện quy trình master mix khuếch đại.
- Sau khi rã đông, các Thuốc thử khuếch đại có thể được bảo quản ở 2 đến 8°C trong vòng 24 giờ nếu không được sử dụng ngay.

LƯU Ý: Một lần chạy tối đa 96 phản ứng.

Đối với lần chạy đến 24 phản ứng: 1 ống mẫu chứng dương tính, 1 ống mẫu chứng âm tính, 1 bộ thuốc thử khuếch đại, và 1 bộ thuốc thử chuẩn bị mẫu Abbott *mSample Preparation System_{DNA}*.

Đối với lần chạy từ 25 đến 48 phản ứng: 1 ống mẫu chứng dương tính, 1 ống mẫu chứng âm tính, 2 bộ thuốc thử khuếch đại, và 1 bộ thuốc thử chuẩn bị mẫu Abbott *mSample Preparation System_{DNA}*.

Đối với lần chạy từ 49 đến 72 phản ứng: 1 ống mẫu chứng dương tính, 1 ống mẫu chứng âm tính, 3 bộ thuốc thử khuếch đại, 1 chai *mMicroparticle_{DNA}* và đệm *mLysis_{DNA} Buffer*, và 2 chai *mWash 1_{DNA} Buffer*, *mWash 2_{DNA} Buffer* và *mElution Buffer_{DNA}*.

Đối với lần chạy từ 73 đến 96 phản ứng: 1 ống mẫu chứng dương tính, 1 ống mẫu chứng âm tính, 4 bộ thuốc thử khuếch đại, 1 chai *mMicroparticle_{DNA}* và đệm *mLysis_{DNA} Buffer*, và 2 chai *mWash 1_{DNA} Buffer*, *mWash 2_{DNA} Buffer* và *mElution Buffer_{DNA}*.

Khu vực Chuẩn bị mẫu

4. Tham khảo phần Quy trình Chiết tách của tài liệu **Chuẩn bị mẫu thủ công sử dụng thuốc thử Abbott *mSample Preparation System_{DNA}* cho xét nghiệm RealTime High Risk HPV** để biết quy trình chuẩn bị mẫu.

LƯU Ý: Có thể sử dụng thuốc thử Abbott *mSample Preparation System_{DNA}* tối đa 3 lần trong vòng 14 ngày cho tổng cộng 48 mẫu nếu được bảo quản đóng nắp ở 15°C đến 30°C. Nếu sử dụng lại thuốc thử Abbott *mSample Preparation System_{DNA}*, cần đánh dấu chai *mWash 2_{DNA}* để biết ethanol đã được thêm vào. Sau khi đã được điều chế, không được thêm ethanol vào chai *mWash 2_{DNA}* nữa. Nếu sử dụng lại thuốc thử Abbott *mSample Preparation System_{DNA}*, sau khi mở nắp các chai thuốc thử Abbott *mSample Preparation System_{DNA}*, nên giữ nắp ở một bề mặt sạch và thấm nước để đậy lại sau khi xét nghiệm.

LƯU Ý: Việc sắp xếp master mix khuếch đại và dịch tách chiết mẫu vào đĩa phản ứng quang học 96 giếng (Bước 12) phải được khởi động trong vòng 1 giờ sau khi hoàn thành Chuẩn bị Mẫu.

Khu vực Khuếch đại

5. Bật và khởi động Abbott *m2000rt*. Abbott *m2000rt* yêu cầu 15 phút khởi động trước khi chạy. Tham khảo Tài liệu hướng dẫn vận hành Abbott *m2000rt*, phần Hướng dẫn vận hành.
6. Tạo lệnh xét nghiệm trên Abbott *m2000rt*. Tham khảo phần Hướng dẫn vận hành trong Tài liệu hướng dẫn vận hành Abbott *m2000rt*. Chọn chương trình xét nghiệm phù hợp trên màn hình Protocol.

Khu vực chuẩn bị thuốc thử

LƯU Ý: Tất cả quy trình chuẩn bị thuốc thử phải diễn ra trong Khu vực chuẩn bị thuốc thử đã chỉ định. Tham khảo phần Các để phòng lây nhiễm trong tài liệu hướng dẫn sử dụng trước khi chuẩn bị thuốc thử. Thay găng tay trước khi sử lý thuốc thử khuếch đại.

7. Chuẩn bị master mix khuếch đại.
- Mỗi Bộ Thuốc thử khuếch đại hỗ trợ lên đến 24 phản ứng.
 - Trước khi mở thuốc thử khuếch đại, phải bảo đảm các thành phần của Bộ Thuốc thử khuếch đại nằm ở đáy bằng cách để Bộ Thuốc thử khuếch đại theo chiều thẳng đứng và gõ nhẹ xuống bàn để dồn chất lỏng xuống đáy chai.
 - Nhận diện các Thuốc thử khuếch đại như sau:
 - Thuốc thử hoạt hóa (Thuốc thử 1): chai trong, nắp màu xanh cổ vịt
 - Thuốc thử Oligonucleotide (Thuốc thử 2): Chai đen, nắp trắng
 - DNA Polymerase (Thuốc thử 3): chai trong, nắp trắng
 - Tháo và bỏ nắp.
 - Chuẩn bị master mix bằng một **PIPET DÙNG RIÊNG CHO THUỐC THỬ** để cho 278 μ L Thuốc thử hoạt hóa HPV (Thuốc thử 1) và 402 μ L thuốc thử HPV Oligonucleotide (Thuốc thử 2) cùng vào chai DNA Polymerase (Thuốc thử 3). Hút nhẹ nhàng lên xuống 6 lần để trộn đều chai có chứa hỗn hợp phản ứng (master mix). Tránh tạo bọt.

- Nếu thực hiện từ 25 đến 48 phản ứng, cần dùng 2 bộ thuốc thử khuếch đại để chuẩn bị master mix khuếch đại. Nếu thực hiện từ 49 đến 72 phản ứng, cần dùng 3 bộ thuốc thử khuếch đại để chuẩn bị master mix khuếch đại. Nếu thực hiện từ 73 đến 96 phản ứng, cần dùng 4 bộ thuốc thử khuếch đại để chuẩn bị master mix khuếch đại.

LƯU Ý: Quy trình Abbott *m2000rt* (bước 14) phải được khởi động trong vòng 1 giờ sau khi thêm thuốc thử hoạt hóa vào chai DNA Polymerase (bước 7).

8. Hút các thành phần master mix từ (các) chai Enzyme vào một ống không nhiễm DNase dùng một lần. Trộn đều bằng cách hút lên xuống nhẹ nhàng 6 lần. Tránh tạo bọt.
9. Trước khi thêm master mix và mẫu, đặt Đĩa phản ứng quang học 96 giếng lên đế đỡ Splash-Free Support Base để tránh lây nhiễm.
- Nếu đáy của Đĩa phản ứng quang học Abbott 96-Well Optical Reaction Plate bị nhiễm các chất huỳnh quang thì sẽ có nguy cơ ảnh hưởng đến kết quả xét nghiệm HPV. Đĩa phản ứng quang học Abbott 96-Well Optical Reaction Plate nên được giữ và vận chuyển trên đế đỡ Abbott Splash-Free Support Base để giảm thiểu lây nhiễm.
10. Sử dụng một **PIPET DÙNG RIÊNG**, cho 25 μ L dung dịch master mix khuếch đại vào từng giếng của đĩa phản ứng quang học Abbott 96-Well Optical Reaction Plate, số giếng được dùng tùy vào số lượng mẫu được xét nghiệm, bỏ gồm cả mẫu chứng. Có thể sử dụng một pipettor lặp lại đã hiệu chuẩn. Quan sát kiểm tra để bảo đảm đã cho 25 μ L dung dịch vào từng giếng.
- LƯU Ý: Đậy nắp phần master mix đã hoạt hóa còn lại và bảo quản ở -10°C hoặc lạnh hơn trong tối đa 14 ngày và sử dụng tiếp cho lần sau nếu đủ thể tích. Không nên đông lạnh/rã đông master mix đã hoạt hóa quá 3 lần. Master mix được đông lạnh có thể để rã đông ở nhiệt độ phòng trong tối đa 1 giờ trước khi khởi động quy trình khuếch đại và phát hiện trên Abbott *m2000rt*.**
11. Chuyển đĩa phản ứng quang học Abbott 96-Well Optical Reaction Plate trên đế đỡ Abbott Splash-Free Support Base sang Khu vực chuẩn bị mẫu.

Khu vực Chuẩn bị mẫu

12. Trong Khu vực chuẩn bị mẫu, chuyển 25 μ L dịch chiết tách mẫu sang đĩa phản ứng quang học Abbott 96-Well Optical Reaction Plate trên đế đỡ Abbott Splash-Free Support Base. **Sử dụng đầu pipet riêng cho mỗi lần chuyển dịch chiết tách mẫu.** Kiểm tra bằng mắt để bảo đảm đủ tổng cộng 50 μ L dung dịch đã được cho vào từng giếng.
13. Dán kín đĩa phản ứng Abbott 96-Well Optical Reaction Plate theo Hướng dẫn vận hành của Tài liệu hướng dẫn vận hành Abbott *m2000rt*.

Khu vực Khuếch đại

14. Đặt đĩa phản ứng quang học Abbott 96-Well Optical Reaction Plate vào Abbott *m2000rt* và khởi động quy trình Abbott RealTime HR HPV theo mô tả trong Tài liệu hướng dẫn vận hành Abbott *m2000rt*, phần Hướng dẫn Vận hành. Sau khi hoàn tất chạy, kết quả xét nghiệm được báo cáo trên Abbott *m2000rt*. Xem phần **KẾT QUẢ** của hướng dẫn sử dụng này để biết thêm chi tiết.
15. Sau khi Abbott *m2000rt* hoàn thành quy trình khuếch đại và phát hiện, lấy đĩa phản ứng quang học Abbott 96-Well Optical Reaction Plate ra và hủy theo hướng dẫn trong phần **Các Để phòng lây nhiễm** của hướng dẫn sử dụng này. Để đĩa phản ứng quang học Abbott 96-Well Optical Reaction Plate trong một túi nhựa dán kín và hủy theo Tài liệu hướng dẫn vận hành Abbott *m2000rt* cùng với găng tay dùng để xử lý đĩa.

Quy trình hậu xử lý

1. Tham khảo phần Vệ sinh của tài liệu **Chuẩn bị mẫu thủ công sử dụng thuốc thử Abbott *mSample Preparation System_{DNA}* cho xét nghiệm RealTime High Risk HPV.**
2. Làm sạch đế đỡ Abbott Splash-Free Support Base trước khi sử dụng lại, tham khảo Tài liệu hướng dẫn vận hành Abbott *m2000rt*.

QUY TRÌNH XÉT NGHIỆM II: THIẾT BỊ ABBOTT *m24sp* VÀ ABBOTT *m2000rt*

Tham khảo phần **CẢNH BÁO VÀ ĐỂ PHÒNG** của tài liệu này trước khi chuẩn bị mẫu.

1. Lắc trộn mỗi mẫu xét nghiệm trong 15 đến 20 giây. Bảo đảm các thành phần của từng chai đã xuống đáy sau khi lắc trộn bằng cách gõ nhẹ chai xuống mặt bàn để đưa chất lỏng xuống đáy chai. Ngay lập tức chuyển mẫu xét nghiệm sang ống mẫu đầu vào.
- LƯU Ý: Cần bảo đảm thể tích mẫu pellet tế bào SurePath sau khi xử lý tế bào xấp xỉ 2,8 mL. Sử dụng dung dịch SurePath**

Preservative Fluid để điều chỉnh thể tích mẫu được 6 mL trước khi lắc trộn và chuyển sang ống phản ứng.

Đối với mẫu xét nghiệm thu thập trong Dung dịch PreservCyt Solution hoặc SurePath Preservative Fluid, cần bảo đảm Abbott m24sp sẽ chuyển đủ 400 µL mỗi mẫu sang ống phản ứng:

- Chuyển tối thiểu 500 µL mỗi mẫu nếu dùng Ống Master Mix hoặc ống Abbott Transport Tubes làm ống mẫu đầu vào.
 - Chuyển tối thiểu 700 µL mỗi mẫu nếu dùng Ống Phản ứng 5 mL hoặc bất cứ loại ống 13 mm đáy tròn không có nắp đậy làm ống mẫu đầu vào.
- Đối với mẫu xét nghiệm thu thập bằng bộ lấy mẫu Abbott Cervi-Collect Specimen Collection Kit, nạp trực tiếp các ống không có nắp vào máy Abbott m24sp (các mẫu này không yêu cầu chuyển).
2. Rã đông các mẫu chứng ở 15 đến 30°C hoặc 2 đến 8°C; xem phần **QUY TRÌNH KIỂM SOÁT CHẤT LƯỢNG** của tài liệu này.
- Trước khi sử dụng, lắc trộn từng mẫu chứng từ 15 đến 20 giây. Bảo đảm các thành phần của từng chai đã xuống đáy sau khi lắc trộn bằng cách gõ nhẹ chai xuống mặt bàn để đưa chất lỏng xuống đáy chai.
 - Một khi đã rã đông, mẫu chứng có thể được bảo quản ở 2 đến 8°C trong 24 giờ trước khi dùng.
3. Rã đông các thuốc thử khuếch đại ở nhiệt độ 15 đến 30°C hoặc từ 2 đến 8°C và bảo quản ở nhiệt độ từ 2 đến 8°C cho đến khi cần thực hiện quy trình master mix khuếch đại.
- Một khi đã rã đông, các Thuốc thử khuếch đại có thể được bảo quản ở 2 đến 8°C trong vòng 24 giờ nếu không được sử dụng ngay.

LƯU Ý: Một lần chạy tối đa 24 phản ứng. Đối với lần chạy đến 24 phản ứng, dùng 1 ống mẫu chứng dương tính, 1 ống mẫu chứng âm tính, 1 bộ thuốc thử khuếch đại, và 1 bộ thuốc thử chuẩn bị mẫu Abbott mSample Preparation System_{DNA}.

Khu vực Chuẩn bị mẫu

4. Đặt các mẫu chứng và mẫu bệnh phẩm xét nghiệm vào giá đựng mẫu của thiết bị Abbott m24sp theo mô tả trong Tài liệu hướng dẫn vận hành Abbott m24sp, phần Hướng dẫn vận hành.

CẢNH TRỌNG: Chỉ sử dụng các giá đựng mẫu 13 mm. KHÔNG được bỏ trống bất cứ vị trí nào trên giá đựng mẫu. Nạp mẫu xét nghiệm và mẫu chứng vào các giá đựng mẫu 13 mm ở các vị trí liên tiếp nhau, bắt đầu từ vị trí số ba trong giá mẫu đầu tiên. Tất cả các vị trí trong giá đựng mẫu phải được lấp đầy trước khi nạp mẫu xét nghiệm vào giá đựng mẫu tiếp theo.

Đưa ống mẫu xét nghiệm và ống mẫu chứng vào các giá đựng mẫu cẩn thận để tránh mẫu bị bắn tung tóe. Bảo đảm mỗi ống được đặt an toàn trong giá mẫu sao cho phần đáy ống chạm đến phần đáy trong của giá.

Nạp các giá đựng mẫu đã đầy vào các vị trí liên tiếp nhau trên Abbott m24sp, với giá đầu tiên nằm ở vị trí ngoài cùng bên phải của khu vực làm việc, và tiếp theo là giá thứ hai - nếu có.

5. Mở bộ thuốc thử chuẩn bị mẫu Abbott mSample Preparation System_{DNA}. Chuẩn bị mWash 2_{DNA} bằng cách thêm 70 mL Ethanol USP grade 190-200 proof (ethanol 95-100%) vào chai mWash 2_{DNA} theo mô tả trong tờ thông tin sản phẩm Abbott mSample Preparation System_{DNA}. **Không dùng ethanol chứa các chất gây biến tính.** Đảo ngược nhẹ nhàng từng chai thuốc thử để bảo đảm dung dịch đồng nhất. Nếu quan sát thấy tinh thể ở bất cứ chai thuốc thử nào khi mở, cần để thuốc thử cân bằng ở nhiệt độ phòng đến khi tinh thể biến mất. Không sử dụng thuốc thử cho đến khi tinh thể tan hết.

LƯU Ý: Có thể sử dụng thuốc thử Abbott mSample Preparation System_{DNA} tối đa 3 lần trong vòng 14 ngày cho tổng cộng 48 mẫu nếu được bảo quản đóng nắp ở 15°C đến 30°C. Nếu sử dụng lại thuốc thử Abbott mSample Preparation System_{DNA}, cần đánh dấu chai mWash 2_{DNA} để biết ethanol đã được thêm vào. Sau khi được điều chế, không được thêm ethanol vào chai mWash 2_{DNA} nữa.

6. Khởi động quy trình Abbott m24sp theo mô tả trong Tài liệu hướng dẫn vận hành Abbott m24sp, phần Hướng dẫn Vận hành. Từ màn hình Protocol, chọn tập lệnh phù hợp để chạy xét nghiệm HPV tùy thuộc vào ống đầu ra (m24sp_HP_V_DNA_Tube đối với ống 1,5 mL hoặc m24sp_HP_V_DNA_DWP đối với đĩa 96-Deep-Well Plate). Khi thiết bị báo, cần khuấy hoặc lắc trộn mạnh chai mMicroparticle_{DNA} cho đến khi mMicroparticles_{DNA} phân tán hoàn toàn. Đặt chai mMicroparticle_{DNA} lên sàn thiết bị ở vị trí chỉ định.

LƯU Ý: Nếu sử dụng lại thuốc thử Abbott mSample Preparation System_{DNA}, sau khi mở nắp tất cả các chai thuốc thử Abbott mSample Preparation System_{DNA}, nên giữ nắp ở một bề mặt

sạch và thấm nước để đậy lại sau khi xét nghiệm.

LƯU Ý: Việc sắp xếp master mix khuếch đại và dịch tách chiết mẫu vào đĩa phản ứng Abbott 96-Well Optical Reaction Plate (Bước 14) phải được khởi động trong vòng 1 giờ sau khi hoàn thành Chuẩn bị Mẫu.

Khu vực Khuếch đại

7. Bật và khởi động Abbott m2000rt. Abbott m2000rt yêu cầu 15 phút khởi động trước khi chạy. Tham khảo Tài liệu hướng dẫn vận hành Abbott m2000rt, phần Hướng dẫn vận hành.
8. Tạo lệnh xét nghiệm trên Abbott m2000rt. Tham khảo phần Hướng dẫn vận hành trong Tài liệu hướng dẫn vận hành Abbott m2000rt. Từ màn hình Protocol, chọn chương trình xét nghiệm phù hợp.

Khu vực chuẩn bị thuốc thử

LƯU Ý: Tất cả quy trình chuẩn bị thuốc thử phải diễn ra trong Khu vực chuẩn bị thuốc thử đã chỉ định. Tham khảo phần Các đề phòng lây nhiễm trong tài liệu hướng dẫn sử dụng trước khi chuẩn bị thuốc thử. Thay găng tay trước khi xử lý thuốc thử khuếch đại.

9. Chuẩn bị master mix khuếch đại.
- Mỗi Bộ Thuốc thử khuếch đại hỗ trợ lên đến 24 phản ứng.
 - Trước khi mở thuốc thử khuếch đại, phải bảo đảm các thành phần của Bộ Thuốc thử khuếch đại nằm ở đáy bằng cách để Bộ Thuốc thử khuếch đại theo chiều thẳng đứng và gõ nhẹ xuống bàn để chất lỏng lắng xuống đáy chai.
 - Nhận diện các Thuốc thử khuếch đại như sau:
 - Thuốc thử hoạt hóa (Thuốc thử 1): chai trong, nắp màu xanh cổ vịt
 - Thuốc thử Oligonucleotide (Thuốc thử 2): Chai đen, nắp trắng
 - DNA Polymerase (Thuốc thử 3): chai trong, nắp trắng
 - Thảo và bỏ nắp.
 - Chuẩn bị master mix bằng một **PIPET DÙNG RIÊNG CHO THUỐC THỬ** để cho 278 µL Thuốc thử hoạt hóa HPV (Thuốc thử 1) và 402 µL thuốc thử HPV Oligonucleotide (Thuốc thử 2) cùng vào chai DNA Polymerase (Thuốc thử 3). Hút nhẹ nhàng lên xuống 6 lần để trộn đều chai có chứa hỗn hợp phản ứng (master mix). Tránh tạo bọt.

LƯU Ý: Quy trình Abbott m2000rt (bước 16) phải được khởi động trong vòng 1 giờ sau khi thêm thuốc thử hoạt hóa vào chai DNA Polymerase (bước 9).

10. Hút các thành phần master mix từ (các) chai Enzyme vào một ống không nhiễm DNase dùng một lần. Trộn đều bằng cách hút lên xuống nhẹ nhàng 6 lần. Tránh tạo bọt.
11. Trước khi thêm master mix và mẫu, đặt Đĩa phản ứng quang học 96 giếng lên để đỡ Splash-Free Support Base để tránh lây nhiễm.
- Nếu đáy của Đĩa phản ứng quang học Abbott 96-Well Optical Reaction Plate bị nhiễm các chất huỳnh quang thì sẽ có nguy cơ ảnh hưởng đến kết quả xét nghiệm HPV. Đĩa phản ứng quang học Abbott 96-Well Optical Reaction Plate nên được giữ và vận chuyển trên để đỡ Abbott Splash-Free Support Base để giảm thiểu lây nhiễm.
12. Sử dụng một **PIPET DÙNG RIÊNG**, cho 25 µL dung dịch master mix khuếch đại vào từng giếng của đĩa phản ứng quang học Abbott 96-Well Optical Reaction Plate, số giếng được dùng tùy vào số lượng mẫu được xét nghiệm, bao gồm cả mẫu chứng. Có thể sử dụng một pipettor lặp lại đã hiệu chuẩn. Kiểm tra bằng mắt để bảo đảm 25 µL dung dịch đã được cho vào từng giếng.

LƯU Ý: Phần master mix đã hoạt hóa còn lại có thể đậy nắp và bảo quản ở -10°C hoặc lạnh hơn trong tối đa 14 ngày và sử dụng tiếp cho lần sau nếu đủ thể tích. Không nên đông lạnh/rã đông master mix đã hoạt hóa quá 3 lần. Master mix được đông lạnh có thể để rã đông ở nhiệt độ phòng trong tối đa 1 giờ trước khi khởi động quy trình khuếch đại và phát hiện trên Abbott m2000rt.

13. Chuyển đĩa phản ứng quang học Abbott 96-Well Optical Reaction Plate trên để đỡ Abbott Splash-Free Support Base sang Khu vực chuẩn bị mẫu.

Khu vực Chuẩn bị mẫu

14. Trong Khu vực chuẩn bị mẫu, chuyển 25 µL dịch chiết mẫu sang đĩa phản ứng quang học Abbott 96-Well Optical Reaction Plate trên để đỡ Abbott Splash-Free Support Base. **Sử dụng đầu pipet riêng cho mỗi lần chuyển dịch chiết tách mẫu.** Kiểm tra bằng mắt để bảo đảm đủ tổng cộng 50 µL dung dịch đã được cho vào từng giếng.
15. Đán kín đĩa phản ứng Abbott 96-Well Optical Reaction Plate theo Hướng dẫn vận hành của Tài liệu hướng dẫn vận hành

Abbott m2000rt.

Khu vực Khuếch đại

16. Đặt đĩa phản ứng quang học Abbott 96-Well Optical Reaction Plate vào Abbott m2000rt và khởi động quy trình Abbott RealTime HR HPV theo mô tả trong Tài liệu hướng dẫn vận hành Abbott m2000rt, phần Hướng dẫn Vận hành. Sau khi hoàn tất chạy, kết quả xét nghiệm được báo cáo trên Abbott m2000rt. Xem phần **KẾT QUẢ** của hướng dẫn sử dụng này để biết thêm chi tiết.
17. Sau khi Abbott m2000rt hoàn thành quy trình khuếch đại và phát hiện, lấy đĩa phản ứng quang học Abbott 96-Well Optical Reaction Plate ra và hủy theo hướng dẫn trong phần **Các Để phòng lây nhiễm** của hướng dẫn sử dụng này. Để đĩa phản ứng quang học Abbott 96-Well Optical Reaction Plate trong một túi nhựa dán kín và hủy theo Tài liệu hướng dẫn vận hành Abbott m2000rt cùng với gang tay dùng để xử lý đĩa.

Quy trình hậu xử lý

1. Cuối mỗi lần chạy, lấy hết thuốc thử còn lại ra khỏi khu vực làm việc của Abbott m24sp và hủy như đã nêu trong Tài liệu hướng dẫn vận hành Abbott m24sp.
2. Khử nhiễm và hủy tất cả mẫu bệnh phẩm, thuốc thử (trừ master mix khuếch đại nếu thích hợp) và các vật liệu có khả năng lây nhiễm khác theo quy định của địa phương, tỉnh thành và quốc gia.
3. Làm sạch để đỡ Abbott Splash-Free Support Base trước khi sử dụng lại, tham khảo Tài liệu hướng dẫn vận hành Abbott m2000rt.

QUY TRÌNH XÉT NGHIỆM III: THIẾT BỊ ABBOTT m2000sp VÀ ABBOTT m2000rt

Tham khảo phần **CẢNH BÁO VÀ ĐỂ PHÒNG** của tài liệu này trước khi chuẩn bị mẫu.

1. Lắc trộn mỗi mẫu xét nghiệm trong 15 đến 20 giây. Bảo đảm các thành phần của từng chai đã xuống đáy sau khi lắc trộn bằng cách gõ nhẹ chai xuống mặt bàn để đưa chất lỏng xuống đáy chai. Ngay lập tức chuyển mẫu xét nghiệm sang ống mẫu đầu vào.

LƯU Ý: Cần bảo đảm thể tích mẫu pellet tế bào SurePath sau khi xử lý tế bào xấp xỉ 2,8 mL. Điều chỉnh bằng dung dịch SurePath Preservative Fluid để đạt được thể tích mẫu 6 mL trước khi lắc trộn và chuyển sang ống mẫu đầu vào.

- Đối với mẫu xét nghiệm thu thập trong Dung dịch PreservCyt Solution hoặc SurePath Preservative Fluid, cần bảo đảm Abbott m2000sp sẽ chuyển đủ 400 µL mỗi mẫu sang ống phản ứng:
 - Chuyển tối thiểu 500 µL mỗi mẫu nếu dùng Ống Master Mix hoặc ống Abbott Transport Tubes làm ống mẫu đầu vào.
 - Chuyển tối thiểu 700 µL mỗi mẫu nếu dùng Ống Phản ứng 5 mL hoặc bất cứ loại ống 13 mm đáy tròn không có nắp đậy làm ống mẫu đầu vào.
 - Đối với mẫu xét nghiệm thu thập bằng bộ lấy mẫu Abbott Cervi-Collect Specimen Collection Kit, nạp các ống không nắp trực tiếp vào máy Abbott m2000sp (các mẫu này không yêu cầu chuyển).
2. Rã đông các mẫu chứng ở 15 đến 30°C hoặc 2 đến 8°C; xem phần **QUY TRÌNH KIỂM SOÁT CHẤT LƯỢNG** của tài liệu này.
 - Trước khi sử dụng, lắc trộn từng mẫu chứng từ 15 đến 20 giây. Bảo đảm các thành phần của từng chai đã xuống đáy sau khi lắc trộn bằng cách gõ nhẹ chai xuống mặt bàn để đưa chất lỏng xuống đáy chai.
 - Một khi đã rã đông, mẫu chứng có thể được bảo quản ở 2 đến 8°C trong 24 giờ trước khi dùng.
 3. Rã đông các thuốc thử khuếch đại ở nhiệt độ 15 đến 30°C hoặc từ 2 đến 8°C và bảo quản ở nhiệt độ từ 2 đến 8°C cho đến khi cần thực hiện quy trình master mix khuếch đại.
 - Sau khi rã đông, các Thuốc thử khuếch đại có thể được bảo quản ở 2 đến 8°C trong vòng 24 giờ nếu không được sử dụng ngay.

LƯU Ý: Một lần chạy tối đa 96 phản ứng.

Đối với lần chạy đến 24 phản ứng: 1 ống mẫu chứng dương tính, 1 ống mẫu chứng âm tính, 1 bộ thuốc thử khuếch đại, và 1 bộ thuốc thử chuẩn bị mẫu Abbott mSample Preparation System_{DNA}.

Đối với lần chạy từ 25 đến 48 phản ứng: 1 ống mẫu chứng dương tính, 1 ống mẫu chứng âm tính, 2 bộ thuốc thử khuếch đại, và 1 bộ thuốc thử chuẩn bị mẫu Abbott mSample Preparation System_{DNA}.

Đối với lần chạy từ 49 đến 72 phản ứng: 1 ống mẫu chứng dương tính, 1 ống mẫu chứng âm tính, 3 bộ thuốc thử khuếch đại, 1 chai mMicroparticle_{DNA} và đệm mLysis_{DNA} Buffer, và

2 chai mWash 1_{DNA} Buffer, mWash 2_{DNA} Buffer và mElution Buffer_{DNA}.

Đối với lần chạy từ 73 đến 96 phản ứng: 1 ống mẫu chứng dương tính, 1 ống mẫu chứng âm tính, 4 bộ thuốc thử khuếch đại, 1 chai mMicroparticle_{DNA} và đệm mLysis_{DNA} Buffer, và 2 chai mWash 1_{DNA} Buffer, mWash 2_{DNA} Buffer và mElution Buffer_{DNA}.

LƯU Ý: Abbott mSample Preparation System_{DNA} chỉ sử dụng một lần và phải hủy sau khi dùng. Dùng các thuốc thử mới mới nắp cho mỗi lần chạy xét nghiệm Abbott RealTime HR HPV mới.

4. Đặt các mẫu chứng và mẫu bệnh phẩm vào giá đựng mẫu của Abbott m2000sp.

CẦN TRỌNG: Chỉ sử dụng các giá đựng mẫu 13 mm. KHÔNG được bỏ trống bất cứ vị trí nào trên giá đựng mẫu. Nạp mẫu xét nghiệm và mẫu chứng vào các giá đựng mẫu 13 mm ở các vị trí liên tiếp nhau, bắt đầu từ vị trí đầu tiên trong giá mẫu đầu tiên. Làm đầy tất cả các vị trí trong từng giá đựng mẫu không bỏ qua vị trí nào trước khi nạp mẫu xét nghiệm vào giá đựng mẫu kế tiếp.

Đưa ống mẫu xét nghiệm và ống mẫu chứng vào các giá đựng mẫu cẩn thận để tránh mẫu bị bắn tung tóe. Nếu có sử dụng, mã vạch trên nhãn ống phải hướng về phía máy quét. Bảo đảm mỗi ống được đặt an toàn trong giá mẫu sao cho phần đáy ống chạm đến phần đáy trong của giá.

Nạp các giá đựng mẫu đã đầy vào các vị trí liên tiếp nhau trên Abbott m2000sp, với giá đầu tiên nằm ở vị trí ngoài cùng bên phải của khu vực làm việc, và tiếp theo là giá thứ hai - nếu có.

5. Mở (các) bộ thuốc thử Abbott mSample Preparation System_{DNA}. Chuẩn bị mWash 2_{DNA} bằng cách thêm 70 mL Ethanol USP grade 190-200 proof (ethanol 95-100%) vào chai mWash 2_{DNA} theo mô tả trong tờ thông tin sản phẩm Abbott mSample Preparation System_{DNA}. **Không dùng ethanol chứa các chất gây biến tính.** Đảo ngược nhẹ nhàng từng chai thuốc thử để bảo đảm dung dịch đồng nhất và đổ các thành phần vào các cốc thuốc thử thích hợp theo Tài liệu hướng dẫn vận hành Abbott m2000sp, phần Hướng dẫn Vận hành. Nếu quan sát thấy tinh thể ở bất cứ chai thuốc thử nào khi mở, cần để thuốc thử cân bằng ở nhiệt độ phòng đến khi tinh thể biến mất. Không sử dụng thuốc thử cho đến khi tinh thể tan hết.
6. Khởi động quy trình chiết tách mẫu theo mô tả trong Tài liệu hướng dẫn vận hành Abbott m2000sp, phần Hướng dẫn Vận hành.
7. Khi Abbott m2000sp đang thực hiện chuẩn bị mẫu, bật và khởi động Abbott m2000rt. Abbott m2000rt yêu cầu 15 phút khởi động trước khi chạy. Tham khảo Tài liệu hướng dẫn vận hành Abbott m2000rt, phần Hướng dẫn vận hành.

LƯU Ý: Khi việc chuẩn bị mẫu hoàn tất, quy trình master mix phải được bắt đầu trong vòng 1 giờ.

8. Nạp các Thuốc thử khuếch đại và ống master mix vào hệ thống làm việc của thiết bị Abbott m2000sp.
 - Trước khi mở thuốc thử khuếch đại, phải bảo đảm các thành phần của (các) Bộ Thuốc thử khuếch đại nằm ở đáy bằng cách để Bộ Thuốc thử khuếch đại theo chiều thẳng đứng và gõ nhẹ xuống bàn để dồn chất lỏng xuống đáy chai.
 - Tháo và bỏ nắp.

LƯU Ý: Thay gang tay trước khi xử lý các thuốc thử khuếch đại.

9. Khởi động quy trình thêm Master Mix trên Abbott m2000sp theo mô tả trong Tài liệu hướng dẫn vận hành Abbott m2000sp, phần Hướng dẫn Vận hành.
10. Sau khi Abbott m2000sp hoàn thành thêm mẫu và các thuốc thử khuếch đại, dán kín đĩa phản ứng quang học Abbott 96-Well Optical Reaction Plate theo hướng dẫn của Tài liệu hướng dẫn vận hành Abbott m2000sp.

- Nếu đáy của Đĩa phản ứng quang học Abbott 96-Well Optical Reaction Plate bị nhiễm các chất huỳnh quang thì sẽ có nguy cơ ảnh hưởng đến kết quả xét nghiệm HPV. Đĩa phản ứng quang học Abbott 96-Well Optical Reaction Plate nên được giữ và vận chuyển trên để đỡ Abbott Splash-Free Support Base để giảm thiểu lây nhiễm.

LƯU Ý: Trong vòng 1 giờ sau khi bắt đầu quy trình master mix, nên chuyển đĩa phản ứng quang học Abbott 96-Well Optical Reaction Plate đã dán kín sang Abbott m2000rt để bắt đầu khuếch đại/phát hiện.

- Đặt đĩa phản ứng quang học Abbott 96-Well Optical Reaction Plate vào Abbott *m2000rt* và khởi động quy trình xét nghiệm Abbott RealTime HR HPV theo mô tả trong Tài liệu hướng dẫn vận hành Abbott *m2000rt*, phần Hướng dẫn Vận hành. Sau khi hoàn tất chạy, kết quả xét nghiệm được báo cáo trên Abbott *m2000rt*. Xem phần **KẾT QUẢ** của hướng dẫn sử dụng này để biết thêm chi tiết.
- Sau khi Abbott *m2000rt* hoàn thành quy trình khuếch đại và phát hiện, lấy đĩa phản ứng quang học Abbott 96-Well Optical Reaction Plate ra và hủy theo hướng dẫn trong phần **Các Để phòng lây nhiễm** của hướng dẫn sử dụng này. Để đĩa phản ứng quang học Abbott 96-Well Optical Reaction Plate trong một túi nhựa dán kín và hủy theo Tài liệu hướng dẫn vận hành Abbott *m2000rt* cùng với găng tay dùng để xử lý đĩa.

Quy trình hậu xử lý

- Cuối mỗi lần chạy, lấy hết thuốc thử còn lại ra khỏi hệ thống làm việc của thiết bị Abbott *m2000sp* và hủy như đã nêu trong Tài liệu hướng dẫn vận hành Abbott *m2000sp*.
- Khử nhiễm và hủy bỏ tất cả mẫu xét nghiệm, thuốc thử và các vật liệu khác có khả năng bị lây nhiễm tuân theo quy định của địa phương, tỉnh thành và quốc gia.
- Làm sạch để đỡ Abbott Splash-Free Support Base trước khi sử dụng lại, tham khảo Tài liệu hướng dẫn vận hành Abbott *m2000rt*.

QUY TRÌNH KIỂM SOÁT CHẤT LƯỢNG

Hiệu chuẩn Quang học thiết bị Abbott *m2000rt*

Hiệu chuẩn quang học thiết bị Abbott *m2000rt* là quy trình cần thiết để tính toán và phân biệt chính xác mức độ huỳnh quang trong quá trình tiến hành xét nghiệm Abbott RealTime HR HPV.

Các đĩa Hiệu chuẩn Quang học Abbott *m2000rt* Optical Calibration Plates sau đây được dùng để hiệu chuẩn Abbott *m2000rt* dùng trong xét nghiệm Abbott RealTime HR HPV:

- FAM Plate (Carboxyfluorescein)
- Cy5 Plate (Cyanine)
- NED Plate (Chất nhuộm độc quyền ABI)
- ROX Plate (Carboxy-X-rhodamine)
- VIC Plate (Chất nhuộm độc quyền)

Tham khảo phần Quy trình Hiệu chuẩn trong Tài liệu hướng dẫn vận hành Abbott *m2000rt* để có mô tả chi tiết cách thực hiện một quy trình hiệu chuẩn quang học Abbott *m2000rt*.

Phát hiện ức chế và/hoặc sự thiếu hụt tế bào

Xét nghiệm Abbott RealTime HR HPV phát hiện chuỗi beta globin người nội sinh dùng làm tín hiệu Mẫu chứng Nội bộ (IC) để đánh giá mức độ đầy đủ của tế bào, sự chiết tách mẫu và hiệu quả khuếch đại. Một cơ cảnh báo hoặc mã lỗi sẽ hiển thị khi giá trị số chu kỳ (cycle number- CN) của IC của một mẫu hoặc một mẫu chứng vượt quá khoảng giá trị đã thiết lập.

Mẫu chứng Âm tính và Dương tính

Yêu cầu một mẫu chứng âm tính và một mẫu chứng dương tính cho mỗi lần chạy để xác thực việc xử lý mẫu, khuếch đại, và các bước phát hiện được thực hiện chính xác. Các mẫu chứng Abbott RealTime HR HPV cần phải được xử lý cùng với các mẫu xét nghiệm trước khi chạy phần khuếch đại của xét nghiệm.

Mẫu chứng âm tính được bào chế bằng DNA chứa chuỗi IC. Tín hiệu duy nhất phát hiện được ở Mẫu chứng âm tính phải là tín hiệu của IC trong kênh màu Cy5. Mẫu chứng dương tính được bào chế bằng DNA có chứa các chuỗi HPV 16, HPV 18, HPV 58 và IC. Tất cả 4 tín hiệu (kênh màu VIC cho HPV 16, kênh màu NED cho HPV 18, kênh màu FAM cho HPV 58, và kênh màu Cy5 cho IC) phải được phát hiện trong mẫu chứng dương tính. Cơ cảnh báo lỗi sẽ hiển thị khi một kết quả mẫu chứng nằm ngoài khoảng giới hạn. Nếu mẫu chứng âm tính hoặc dương tính nằm ngoài khoảng giới hạn, thì tất cả mẫu xét nghiệm và mẫu chứng của lần chạy đó phải được xử lý lại, bắt đầu từ bước chuẩn bị mẫu.

HR HPV phải không được phát hiện trong mẫu chứng âm tính. HR HPV phát hiện được trong mẫu chứng âm tính là dấu hiệu cho thấy lây nhiễm từ các mẫu khác hoặc từ sản phẩm khuếch đại được đưa vào trong suốt quá trình chuẩn bị mẫu hoặc trong quá trình chuẩn bị đĩa phản ứng quang học Abbott 96-Well Optical Reaction Plate. Để loại bỏ lây nhiễm, cần làm sạch Abbott *m24sp* hoặc Abbott *m2000sp* và Abbott *m2000rt* theo Tài liệu hướng dẫn vận hành Abbott *m24sp*, Abbott *m2000sp*, và Abbott *m2000rt*. Đối với việc chuẩn bị mẫu thủ công, cần làm sạch thiết bị theo hướng dẫn của tài liệu **Chuẩn bị mẫu thủ công sử dụng thuốc thử Abbott *mSample Preparation System* DNA trong xét nghiệm RealTime High Risk HPV**. Sau khi làm sạch, làm lại quy trình xử lý mẫu

đối với mẫu chứng và mẫu xét nghiệm theo quy trình chuẩn bị mẫu phù hợp đã nêu trong tài liệu này.

Các kết quả IC đối với mẫu chứng âm tính và dương tính nằm ngoài khoảng giới hạn xác thực là dấu hiệu cho thấy có sự ức chế xảy ra trong quá trình chuẩn bị mẫu hoặc trong các bước phản ứng khuếch đại của xét nghiệm. Làm lại quy trình xử lý đối với mẫu chứng và mẫu xét nghiệm theo quy trình chuẩn bị mẫu phù hợp đã nêu trong tài liệu này.

Kiểm soát lây nhiễm phòng xét nghiệm

Khuyến cáo nên thực hiện quy trình sau đây ít nhất mỗi tháng một lần để kiểm soát độ lây nhiễm của các bề mặt và thiết bị trong phòng xét nghiệm. Việc kiểm tra tất cả các khu vực có thể đã phơi nhiễm các mẫu đã xử lý, và mẫu chứng và/hoặc sản phẩm khuếch đại là rất quan trọng. Quy trình này bao gồm cả các dụng cụ dụng thường quy như pipet, các phím chức năng của Abbott *m24sp*, Abbott *m2000sp*, và Abbott *m2000rt*, các bề mặt phòng xét nghiệm và thiết bị khác có mặt trong khu vực làm việc.

- Thêm 0,8 mL nước không nhiễm DNase vào ống Master Mix mới.
 - Làm ướt đầu cotton của que lấy mẫu (Puritan hoặc tương đương) trong nước không nhiễm DNase từ ống Master Mix.
 - Sử dụng đầu cotton đã ướt của que lấy mẫu, quét lên khu vực muốn kiểm tra. Đặt que lấy mẫu vào ống Master Mix.
 - Khuấy đầu cotton trong nước không nhiễm DNase 10 lần, sau đó ấn que lấy mẫu dọc theo bên trong ống để chất lỏng chảy hết xuống dung dịch ở đáy ống Master Mix. Thải bỏ que lấy mẫu đã dùng.
 - Đóng nắp ống Master Mix và lắc trộn.
 - Tháo nắp các Ống Master Mix và xét nghiệm mẫu theo quy trình xét nghiệm phù hợp trong tài liệu này.
 - Nếu phát hiện HR HPV trong các mẫu cotton tức là có lây nhiễm.
 - Nếu có lây nhiễm, thiết bị sẽ báo cáo là "HR HPV Detected" (không cần để ý cơ cảnh báo lỗi IC nếu có).
 - Nếu không có lây nhiễm, thiết bị sẽ báo cáo là "Not Detected" hoặc không hiển thị kết quả nào (không cần để ý mã lỗi 4951 hoặc 4952, nếu có).
 - Nếu lây nhiễm được phát hiện trên thiết bị, cần tuân theo hướng dẫn vệ sinh và khử khuẩn đã nêu trong Tài liệu vận hành thiết bị. Nếu phát hiện HR HPV trên các bề mặt, cần làm sạch các khu vực bị lây nhiễm với dung dịch natri hypochlorite 1,0% (v/v), sau đó là ethanol 70% hoặc nước.
- LƯU Ý: Dung dịch Chlorine có thể làm hỏng thiết bị và kim loại. Sử dụng lượng vừa đủ hoặc sử dụng nhiều lần ethanol 70% cho đến khi không còn phát hiện chlorine tồn dư.**
- Kiểm tra lại các khu vực bị lây nhiễm theo các bước từ 1 đến 6.
 - Nếu lại phát hiện lây nhiễm, thì làm lại bước 8 và 9 cho đến khi không còn phát hiện thấy khuếch đại HR HPV.

KẾT QUẢ

Xét nghiệm Abbott RealTime HR HPV là một xét nghiệm định tính. Yêu cầu tối thiểu 1 Mẫu chứng Âm tính và 1 Mẫu chứng Dương tính cho mỗi lần chạy. Mẫu chứng Âm tính dùng để xác nhận rằng việc lây nhiễm DNA HR HPV của Mẫu chứng Âm tính không xảy ra trong lúc chuẩn bị mẫu và lúc thiết lập phản ứng khuếch đại. Nếu phát hiện được tín hiệu HR HPV trong Mẫu chứng Âm tính, thì cơ -QC sẽ hiển thị kết quả mẫu của lần chạy. Các mẫu có cơ -QC có thể cũng bị lây nhiễm tương tự bởi đích xét nghiệm trong lúc được xử lý. Nếu không chạy Mẫu chứng Âm tính, cơ -QC sẽ hiển thị kết quả tất cả các kết quả mẫu của lần chạy đó.

Tín hiệu IC trong các mẫu là để xác nhận rằng mỗi mẫu đã có đủ lượng tế bào đầu vào cho phép phát hiện chính xác HR HPV và mỗi mẫu đã được xử lý chính xác và cho thấy rằng có mặt các chất ức chế khuếch đại hay không. Nếu IC nằm ngoài khoảng (tức là số chu kỳ IC (CN) không được trích xuất ra hoặc số chu kỳ lớn hơn hoặc bằng một chu kỳ ngưỡng cố định) và phát hiện HR HPV, mẫu sẽ được diễn giải là "HR HPV Detected" (phát hiện thấy HR HPV). Cơ IC sẽ hiển thị kết quả. Nếu IC nằm ngoài khoảng và không phát hiện HR HPV, thì sẽ không báo cáo kết quả và xuất hiện mã lỗi. Mẫu có mã lỗi phải được xét nghiệm lại bắt đầu từ bước chuẩn bị mẫu.

Chi tiết về mã và cơ cảnh báo lỗi, tham khảo Tài liệu hướng dẫn vận hành Abbott *m2000rt* Phiên bản 3.0 và Phụ lục Tài liệu vận hành Phiên bản 3.0.

Báo cáo kết quả

Mỗi mẫu được đánh giá ba tín hiệu HPV ứng với HPV 16, HPV 18 và HR HPV khác. Mỗi tín hiệu sẽ được xác định hoặc là "Detected" (Phát hiện được) nếu CN nhỏ hơn chu kỳ ngưỡng xét nghiệm cố định hoặc "Not Detected" (Không phát hiện) nếu không có CN hoặc CN lớn hơn hoặc

bảng chu kỳ ngưỡng xét nghiệm. Tất cả tín hiệu phát hiện được (HPV 16, HPV 18 hoặc HR HPV khác) được báo cáo trong kết quả mẫu cùng với giá trị CN tương ứng (trong dấu ngoặc đơn sau kết quả đích). Những mẫu phát hiện được bất kỳ tín hiệu nào trong 3 tín hiệu HR HPV sẽ được diễn giải là "HR HPV Detected" (Phát hiện HR HPV). Những mẫu không phát hiện được tín hiệu nào trong 3 tín hiệu HR HPV sẽ được diễn giải là "Not Detected" (Không phát hiện).

Kết quả xét nghiệm và diễn giải trông sẽ tương tự như bảng sau:

ID mẫu	Kết quả	Diễn giải	Giải thích
1	HPV 16 (20,76)	Phát hiện HR HPV	Phát hiện chủng HPV 16 với CN là 20,76 Không phát hiện chủng HPV 18 và chủng HR HPV khác
2	HPV 18 (21,20)	Phát hiện HR HPV	Phát hiện chủng HPV 18 với CN là 21,20 Không phát hiện chủng HPV 16 và chủng HR HPV khác
3	HR HPV khác (14,48)	Phát hiện HR HPV	Phát hiện chủng HR HPV khác với CN là 14,48 Không phát hiện chủng HPV 16 và HPV 18
4	HPV 16 (22,20); HR HPV khác (17,21)	Phát hiện HR HPV	Phát hiện chủng HPV 16 và chủng HR HPV khác với CN lần lượt là 22,20 và 17,21 Không phát hiện chủng HPV 18
5	HPV 18 (18,67); HR HPV khác (15,88)	Phát hiện HR HPV	Phát hiện chủng HPV 18 và chủng HR HPV khác với CN lần lượt là 18,67 và 15,88 Không phát hiện chủng HPV 16
6	HPV 16 (24,51); HPV 18 (23,11)	Phát hiện HR HPV	Phát hiện chủng HPV 16 và chủng HPV 18 với CN lần lượt là 24,51 và 23,11 Không phát hiện chủng HPV khác
7	HPV 16 (21,35); HPV 18 (22,60); HR HPV khác (19,45)	Phát hiện HR HPV	Phát hiện chủng HPV 16 và HPV 18 và chủng HR HPV khác với CN lần lượt là 21,35 và 22,60 và 19,45
8	Không phát hiện	Không phát hiện	Không phát hiện HR HPV

GIỚI HẠN CỦA QUY TRÌNH

- Dùng cho chẩn đoán In Vitro.
- Phương pháp này đã được kiểm tra với các mẫu xét nghiệm pap nhúng dịch PreservCyt và SurePath và các mẫu xét nghiệm thu thập bằng Abbott Cervi-Collect trên lâm sàng. Việc thực hiện phương pháp này với các loại mẫu xét nghiệm khác vẫn chưa được đánh giá.
- Để thực hiện một cách tối ưu xét nghiệm này yêu cầu việc lấy mẫu, xử lý mẫu và bảo quản mẫu phải phù hợp (tham khảo phần **HƯỚNG DẪN THU THẬP VÀ XỬ LÝ MẪU** trong tài liệu này).
- Xét nghiệm Abbott RealTime HR HPV chỉ được sử dụng bởi những người đã được đào tạo sử dụng thiết bị Abbott m24sp hoặc Abbott m2000sp hoặc phương pháp chuẩn bị mẫu thủ công đối với chiết tách mẫu và dùng Abbott m2000rt để thực hiện khuếch đại và phát hiện.
- Các thiết bị và quy trình xét nghiệm giảm thiểu nguy cơ lây nhiễm do sản phẩm khuếch đại. Tuy nhiên, nhiễm acid nucleic từ các mẫu chúng, mẫu xét nghiệm hoặc các sản phẩm khuếch đại phải được kiểm soát bằng nguyên tắc Thực hành tốt phòng xét nghiệm (GLP) và cẩn thận tuân thủ các quy trình được nêu cụ thể trong tài liệu này.
- Một kết quả âm tính không loại trừ khả năng bị nhiễm bởi vì các kết quả phụ thuộc vào quá trình lấy mẫu phù hợp. Các kết quả xét nghiệm có thể bị ảnh hưởng bởi việc lấy mẫu không đúng, lỗi kỹ thuật hoặc nhầm lẫn mẫu.
- Cũng như bất kỳ xét nghiệm chẩn đoán nào khác, kết quả xét nghiệm Abbott RealTime HR HPV nên được diễn giải kết hợp với các phát hiện khác trên lâm sàng và trong phòng xét nghiệm.

CÁC ĐẶC ĐIỂM HIỆU NĂNG CỤ THỂ

Phát hiện kiểu gen và Phân biệt kiểu gen không hoàn toàn

Khả năng phát hiện 14 chủng HR HPV (HPV 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66, và 68) và phân biệt chủng HPV 16 và HPV 18 với 12 chủng HR HPV khác của xét nghiệm Abbott RealTime HR HPV đã được

đánh giá. 51 mẫu chứa các đích DNA HPV từ 14 kiểu gen riêng lẻ và từ các loại kết hợp được xét nghiệm như đã liệt kê trong Bảng 1. Kết quả từ 51 mẫu xét nghiệm bao gồm 14 mẫu một kiểu gen, 25 mẫu 2 kiểu gen và 12 mẫu 3 kiểu gen đã được báo cáo một cách chính xác; sự hiện diện hoặc không hiện diện của DNA HPV 16 và HPV 18 được xác định chính xác trong từng trường hợp.

Bảng 1: Khả năng phát hiện và phân biệt kiểu gen không hoàn toàn

STT mẫu	Chủng HPV	Kết quả báo cáo
1	HPV 16	HPV 16
2	HPV 18	HPV 18
3	HPV 31	HR HPV khác
4	HPV 33	HR HPV khác
5	HPV 35	HR HPV khác
6	HPV 39	HR HPV khác
7	HPV 45	HR HPV khác
8	HPV 51	HR HPV khác
9	HPV 52	HR HPV khác
10	HPV 56	HR HPV khác
11	HPV 58	HR HPV khác
12	HPV 59	HR HPV khác
13	HPV 66	HR HPV khác
14	HPV 68	HR HPV khác
15	HPV 16 và HPV 18	HPV 16; HPV 18
16	HPV 16 và HPV 31	HPV 16; HR HPV khác
17	HPV 16 và HPV 33	HPV 16; HR HPV khác
18	HPV 16 và HPV 35	HPV 16; HR HPV khác
19	HPV 16 và HPV 39	HPV 16; HR HPV khác
20	HPV 16 và HPV 45	HPV 16; HR HPV khác
21	HPV 16 và HPV 51	HPV 16; HR HPV khác
22	HPV 16 và HPV 52	HPV 16; HR HPV khác
23	HPV 16 và HPV 56	HPV 16; HR HPV khác
24	HPV 16 và HPV 58	HPV 16; HR HPV khác
25	HPV 16 và HPV 59	HPV 16; HR HPV khác
26	HPV 16 và HPV 66	HPV 16; HR HPV khác
27	HPV 16 và HPV 68	HPV 16; HR HPV khác
28	HPV 18 và HPV 31	HPV 18; HR HPV khác
29	HPV 18 và HPV 33	HPV 18; HR HPV khác
30	HPV 18 và HPV 35	HPV 18; HR HPV khác
31	HPV 18 và HPV 39	HPV 18; HR HPV khác
32	HPV 18 và HPV 45	HPV 18; HR HPV khác
33	HPV 18 và HPV 51	HPV 18; HR HPV khác
34	HPV 18 và HPV 52	HPV 18; HR HPV khác
35	HPV 18 và HPV 56	HPV 18; HR HPV khác
36	HPV 18 và HPV 58	HPV 18; HR HPV khác
37	HPV 18 và HPV 59	HPV 18; HR HPV khác
38	HPV 18 và HPV 66	HPV 18; HR HPV khác
39	HPV 18 và HPV 68	HPV 18; HR HPV khác
40	HPV 16 và HPV 18 và HPV 31	HPV 16; HPV 18; HR HPV khác
41	HPV 16 và HPV 18 và HPV 33	HPV 16; HPV 18; HR HPV khác
42	HPV 16 và HPV 18 và HPV 35	HPV 16; HPV 18; HR HPV khác
43	HPV 16 và HPV 18 và HPV 39	HPV 16; HPV 18; HR HPV khác
44	HPV16 và HPV18 và HPV 45	HPV 16; HPV 18; HR HPV khác
45	HPV 16 và HPV 18 và HPV 51	HPV 16; HPV 18; HR HPV khác
46	HPV 16 và HPV 18 và HPV 52	HPV 16; HPV 18; HR HPV khác

Bảng 1: Khả năng phát hiện và phân biệt kiểu gen không hoàn toàn

STT mẫu	Chủng HPV	Kết quả báo cáo
47	HPV 16 và HPV 18 và HPV 56	HPV 16; HPV 18; HR HPV khác
48	HPV 16 và HPV 18 và HPV 58	HPV 16; HPV 18; HR HPV khác
49	HPV 16 và HPV 18 và HPV 59	HPV 16; HPV 18; HR HPV khác
50	HPV 16 và HPV 18 và HPV 66	HPV 16; HPV 18; HR HPV khác
51	HPV 16 và HPV 18 và HPV 68	HPV 16; HPV 18; HR HPV khác

Độ nhạy và độ đặc hiệu lâm sàng trong nhóm đối tượng được khuyến nghị tiến hành xét nghiệm: khả năng phát hiện bệnh

Tổng cộng 512 mẫu xét nghiệm pap nhúng dịch PreservCyt từ một nhóm đối tượng được khuyến nghị đã được kiểm tra với xét nghiệm Abbott RealTime HR HPV và xét nghiệm hc2 High-Risk HPV DNA (HC2). Độ nhạy và độ đặc hiệu lâm sàng để phát hiện bệnh đã được xác định cho cả hai xét nghiệm. Việc có bệnh được xác định dựa trên kết quả mô học cho thấy có loạn sản nội biểu mô cổ tử cung (CIN) mức độ 2 hoặc cao hơn. Đối với các đối tượng thiếu kết quả đánh giá mô học, tình trạng bệnh được xác định bằng kết quả xét nghiệm Pap nhúng dịch (LBC) cho thấy có tổn thương nội biểu mô vảy mức độ cao (HSIL) hoặc cao hơn tại thời điểm tham gia nghiên cứu ở các chuyên khoa nội soi cổ tử cung (colposcopy). Tỷ lệ mắc bệnh trong nhóm đối tượng nghiên cứu này là 24,6%. Trong số 126 đối tượng dương tính với bệnh, có 121 người được phát hiện bằng xét nghiệm Abbott RealTime HR HPV và 119 người được phát hiện bằng HC2. Trong số 386 mẫu âm tính với bệnh, có 154 mẫu không phát hiện có HPV bằng xét nghiệm Abbott RealTime HR HPV và 147 mẫu không phát hiện có HPV bằng HC2. Độ nhạy phát hiện bệnh của xét nghiệm Abbott RealTime HR HPV là 96,0% và của HC2 là 94,4%. Độ đặc hiệu của xét nghiệm Abbott RealTime HR HPV trong nhóm đối tượng được khuyến nghị tiến hành xét nghiệm là 39,9% và của xét nghiệm HC2 là 38,1% (Bảng 2).

Bảng 2: Hiệu quả phát hiện bệnh trên lâm sàng trong nhóm đối tượng được khuyến nghị tiến hành xét nghiệm

Xét nghiệm	Độ nhạy (Khoảng tin cậy 95%)	Độ đặc hiệu (Khoảng tin cậy 95%)	Giá trị dự đoán dương tính	Giá trị dự đoán âm tính
Abbott RealTime HR HPV	96,0% (91,0-98,7%)	39,9% (35,0-45,0%)	34,3%	96,9%
HC2	94,4% (88,9-97,7%)	38,1% (33,2-43,1%)	33,2%	95,5%

Tổng cộng 128 đối tượng trong nhóm này có kết quả xét nghiệm tế bào học cho thấy có các tế bào biểu mô vảy không điển hình không rõ ý nghĩa (ASCUS - atypical squamous cells of undetermined significance). Trong nhóm ASCUS này, độ nhạy lâm sàng là 100% cho cả hai xét nghiệm Abbott RealTime HR HPV và HC2. Độ đặc hiệu lâm sàng của xét nghiệm Abbott RealTime HR HPV là 46,2% và của HC2 là 45,2%.

Độ nhạy và độ đặc hiệu lâm sàng trong nhóm đối tượng được khuyến nghị tiến hành xét nghiệm: Khả năng phát hiện HPV nguy cơ cao

Độ nhạy và độ đặc hiệu của xét nghiệm Abbott RealTime HR HPV khi phát hiện HR HPV đã được đánh giá bằng cách kiểm tra 517 mẫu xét nghiệm pap nhúng dịch PreservCyt thu được từ nhóm đối tượng được khuyến nghị tiến hành xét nghiệm. Tình trạng HR HPV của các mẫu xét nghiệm cổ tử cung được xác định bằng sự phù hợp giữa các xét nghiệm Abbott RealTime HR HPV và HC2 và bằng những phân tích thêm đối với các mẫu có kết quả bất đồng bằng xét nghiệm LINEAR ARRAY HPV Genotyping (Linear Array). Tổng cộng 337 mẫu được phát hiện bằng cả hai xét nghiệm và 136 mẫu không phát hiện được ở cả hai xét nghiệm. Kết quả của 44 mẫu bất đồng được quyết định bằng Linear Array. Trong số 363 mẫu dương tính với HR HPV, có 354 mẫu được phát hiện bằng xét nghiệm Abbott RealTime HR HPV và 346 mẫu được phát hiện bằng HC2. Trong số 154 mẫu âm tính với HR HPV, có 153 mẫu không phát hiện có HR HPV bằng xét nghiệm Abbott RealTime HR HPV và 137 mẫu không phát hiện có HR HPV bằng HC2. Độ nhạy của xét nghiệm Abbott RealTime HR HPV khi phát hiện HR HPV là 97,5% và của HC2 là 95,3%.

Độ đặc hiệu của xét nghiệm Abbott RealTime HR HPV là 99,4% và của HC2 là 89,0% (Bảng 3).

Bảng 3: Độ nhạy và độ đặc hiệu khi phát hiện HR HPV

Xét nghiệm	Độ nhạy (Khoảng tin cậy 95%)	Độ đặc hiệu (Khoảng tin cậy 95%)
Abbott RealTime HR HPV	97,5% (95,3-98,9%)	99,4% (96,4-100%)
HC2	95,3% (92,6-97,2%)	89,0% (82,9-93,4%)

Độ đặc hiệu lâm sàng trong nhóm đối tượng sàng lọc chung có kết quả xét nghiệm tế bào bình thường (≥ 30 tuổi)

Tổng cộng 362 mẫu xét nghiệm pap nhúng dịch PreservCyt với kết quả xét nghiệm tế bào bình thường thu thập trong nhóm phụ nữ tầm soát chung từ 30 tuổi trở lên được xét nghiệm với xét nghiệm Abbott RealTime HR HPV và HC2. Độ đặc hiệu lâm sàng được xác định cho cả hai xét nghiệm. Xét nghiệm Abbott RealTime HR HPV đã phát hiện được 4,1% mẫu và HC2 phát hiện 3,0% mẫu. Trong nhóm này, độ đặc hiệu lâm sàng của xét nghiệm Abbott RealTime HR HPV và HC2 lần lượt là 95,9% và 97,0%.

Bảng 4: Độ đặc hiệu lâm sàng trong nhóm đối tượng sàng lọc chung có kết quả xét nghiệm tế bào bình thường (≥ 30 tuổi)

Xét nghiệm	Số lượng được phát hiện/xét nghiệm	Tỷ lệ phát hiện	Độ đặc hiệu (Khoảng tin cậy 95%)
Abbott RealTime HR HPV	15/362	4,1%	95,9% (93,3-97,7%)
HC2	11/362	3,0%	97,0% (94,6-98,5%)

Độ nhạy và độ đặc hiệu lâm sàng từ các Nghiên cứu bổ sung đối với nhóm đối tượng được khuyến nghị: khả năng phát hiện bệnh

Độ nhạy và độ đặc hiệu lâm sàng để phát hiện bệnh trong nhóm đối tượng được khuyến nghị đã được xác định cho xét nghiệm Abbott RealTime HR HPV trong 4 nghiên cứu²⁶⁻²⁹ so với HC2. Tất cả mẫu xét nghiệm được thu thập trong dung dịch PreservCyt. Kết quả từ các nghiên cứu đã được bình duyệt và công bố này được tóm tắt trong Bảng 5.

Bảng 5: Hiệu quả phát hiện bệnh trên lâm sàng trong nhóm đối tượng được khuyến nghị tiến hành xét nghiệm

Nghiên cứu	Số mẫu dương tính ^a	Số mẫu âm tính ^a	Độ nhạy (Khoảng tin cậy 95%)		Độ đặc hiệu (Khoảng tin cậy 95%)	
			Abbott RealTime HR HPV	HC2	Abbott RealTime HR HPV	HC2
126	229	473	97,8% (95,0-99,3%)	95,6% (92,1-97,9%)	32,8% (28,6-37,2%)	35,7% (31,4-40,2%)
227	39	76	90,0% (85,0-95,0%)	95,0% (91,0-99,0%)	50,0% (41,0-59,0%)	50,0% (41,0-59,0%)
328	359	740	93,3% (90,1-95,6%)	96,3% (93,8-98,0%)	27,3% (24,1-30,7%)	19,5% (16,7-22,6%)
429	156	163	92,4% (87,0-96,0%)	91,7% (86,3-95,5%)	61,7% (53,8-69,2%)	58,6% (50,6-66,3%)

^a Các mẫu dương tính với bệnh là các mẫu có kết quả mô học mức CIN2 hoặc cao hơn. Các mẫu âm tính với bệnh là các mẫu có kết quả mô học thấp hơn CIN2.

Độ nhạy và độ đặc hiệu lâm sàng từ các Nghiên cứu bổ sung đối với nhóm đối tượng ASC-US: khả năng phát hiện bệnh

Độ nhạy và độ đặc hiệu lâm sàng để phát hiện bệnh trong nhóm đối tượng ASC-US hoặc có kết quả phiến đồ tương đương được xác định cho xét nghiệm Abbott RealTime HR HPV trong 2 nghiên cứu^{26,30} so với HC2. Tất cả mẫu xét nghiệm được thu thập trong dung dịch PreservCyt. Kết quả từ các nghiên cứu đã được bình duyệt và công bố này được tóm tắt trong Bảng 6.

Bảng 6: Hiệu quả phát hiện bệnh trên lâm sàng trong nhóm đối tượng ASC-US

Nghiên cứu	Số mẫu dương tính	Số mẫu âm tính	Độ nhạy (Khoảng tin cậy 95%)		Độ đặc hiệu (Khoảng tin cậy 95%)	
			Abbott RealTime HR HPV	HC2	Abbott RealTime HR HPV	HC2
			126	52	141	96,2% (86,8-99,5%)
2a,30	37	240	97,3% ^b	97,4% ^b	39,6% ^b	33,6% ^b

^a Các đối tượng nghiên cứu bao gồm trong nghiên cứu này có kết quả phiến đồ với nhân tế bào biến đổi nhẹ, có tương quan với tế bào vảy không điển hình.³¹

^b Khoảng tin cậy 95% không được báo cáo trong nghiên cứu.³⁰

Độ nhạy và độ đặc hiệu lâm sàng trong nhóm đối tượng sàng lọc: khả năng phát hiện bệnh

Độ nhạy và độ đặc hiệu lâm sàng để phát hiện bệnh trong nhóm đối tượng sàng lọc được xác định cho xét nghiệm Abbott RealTime HR HPV trong 3 nghiên cứu³²⁻³⁴ so với các xét nghiệm so sánh. Tất cả mẫu xét nghiệm được thu thập trong dung dịch PreservCyt. Kết quả từ các nghiên cứu đã được bình duyệt và công bố này được tóm tắt trong Bảng 7.

Bảng 7: Hiệu quả lâm sàng để phát hiện bệnh trong nhóm đối tượng sàng lọc (≥ 30 tuổi)

Nghiên cứu	Số mẫu dương tính	Số mẫu âm tính	Độ nhạy (Khoảng tin cậy 95%)		Độ đặc hiệu (Khoảng tin cậy 95%)	
			Abbott RealTime HR HPV	Xét nghiệm so sánh ^a	Abbott RealTime HR HPV	Xét nghiệm so sánh ^a
			1 ³²	38	3.091	100% (86,5-100%)
2 ³³	68	858	95,6% (87,2-98,6%)	98,5% (90,3-99,8%)	92,0% (90,0-93,5%)	91,8% (89,9-93,4%)
3 ³⁴	16	4.629 ^b	100% (79,4-100%)	100% (79,4-100%)	90,3% (89,4-91,1%)	88,8% (87,9-89,7%)

^a Xét nghiệm so sánh cho Nghiên cứu 1 và 3 là HC2. Xét nghiệm so sánh cho Nghiên cứu 2 là GP5+/6+ PCR.

^b Dựa trên các mẫu xét nghiệm sử dụng Abbott RealTime HR HPV.

Độ chính xác khi nhận diện HPV 16 và/hoặc HPV 18 ở phụ nữ mắc bệnh cổ tử cung

Hiệu năng của Abbott RealTime HR HPV khi nhận diện HPV 16 và/hoặc HPV 18 trong các bệnh cổ tử cung (mức CIN2 hoặc cao hơn) được đánh giá dựa trên các kết quả từ một nhóm đối tượng được khuyến nghị tiến hành xét nghiệm.²⁶ Trong số 229 mẫu xét nghiệm bệnh cổ tử cung, 210 mẫu có kết quả Abbott RealTime HR HPV hợp lệ được diễn giải là "HR HPV Detected" và có kết quả xét nghiệm Linear Array hợp lệ đã báo cáo một hoặc nhiều chủng HPV nguy cơ cao mà Abbott RealTime HR HPV nhắm đến. Độ tương đồng trong phát hiện HPV 16 và/hoặc HPV 18 giữa Abbott RealTime HR HPV và Linear Array là 100% (210/210).

Bảng 8: Độ chính xác trong phát hiện kiểu gen HPV 16 và/hoặc HPV 18

Linear Array	HPV 16 và/hoặc HPV 18 được báo cáo ^c (Các kiểu gen HR HPV không phải HPV 16/18 được báo cáo ^d)	Abbott RealTime HR HPV	
		HPV 16 và/hoặc HPV 18 phát hiện được ^a	HR HPV khác phát hiện được ^b
		153	0
		0	57

^a Các mẫu xét nghiệm này phát hiện (các) tín hiệu HPV 16 và/hoặc HPV 18 có hoặc không phát hiện tín hiệu HR HPV khác.

^b Các mẫu xét nghiệm này không phát hiện tín hiệu HPV 16 hoặc HPV 18 và phát hiện tín hiệu HR HPV khác.

^c Các mẫu này được báo cáo có (các) kiểu gen HPV 16 và/hoặc HPV 18 có hoặc không có (các) kiểu gen HR HPV không phải HPV 16/18.

^d Các mẫu này được báo cáo có 1 hoặc nhiều kiểu gen HR HPV không phải HPV 16/18 là đích của xét nghiệm Abbott RealTime HR HPV. HPV 16 hoặc HPV 18 không được báo cáo.

Ước tính tỉ lệ nguy cơ mắc bệnh liên quan đến các kết quả kiểu gen khác nhau

Các tỉ lệ nguy cơ mắc bệnh cổ tử cung (CIN2 hoặc hơn) được ước tính cho HPV 16 và/hoặc HPV 18 phát hiện được so với các kết quả HR HPV khác phát hiện được dựa trên dữ liệu thu được trong một nhóm đối tượng được khuyến nghị,²⁶ một nhóm đối tượng ASC-US,²⁶ và một nhóm đối tượng sàng lọc (phụ nữ từ 30 tuổi trở lên).³²

Bảng 9: Tỉ lệ nguy cơ mắc bệnh cổ tử cung liên quan đến các kết quả kiểu gen khác nhau (HPV 16 và/hoặc HPV 18 phát hiện được so với các kết quả HR HPV khác phát hiện được)

Nghiên cứu	Tỉ lệ nguy cơ	Khoảng tin cậy 95%
Nhóm được khuyến nghị	2,1	(1,7; 2,7)
Nhóm ASC-US	2,6	(1,5; 4,6)
Nhóm sàng lọc (≥ 30 tuổi)	2,5	(1,4; 4,4)

Độ nhạy phân tích đối với các chủng HPV nguy cơ cao

Độ nhạy phân tích của xét nghiệm Abbott RealTime HR HPV được xác định bằng cách xét nghiệm DNA của HPV từ 14 chủng HR HPV khi có DNA của tế bào người trong dung dịch PreservCyt. Dùng 400 µL mẫu cho mỗi xét nghiệm. Đối với từng kiểu gen, xét nghiệm tối thiểu 4 nồng độ, mỗi nồng độ lặp lại 9 lần. Việc xét nghiệm được thực hiện với 3 lô thuốc thử khuếch đại trên 3 hệ thống Abbott m2000 RealTime.

Phân tích Probit xác định rằng với một xác suất lớn hơn 95%, HPV 16, 18, 35, 39, 45, 51, 59, 66, và 68 có thể được phát hiện ở nồng độ 500 copies mỗi xét nghiệm, HPV 31, 33, 52, và 56 có thể được phát hiện ở nồng độ 2.000 copies mỗi xét nghiệm và HPV 58 được phát hiện ở nồng độ 5.000 copies mỗi xét nghiệm.

Độ đặc hiệu phân tích (phản ứng chéo)

Một dàn mẫu gồm nhiều vi khuẩn, virus và nấm được dùng để đánh giá khả năng phản ứng chéo trong xét nghiệm Abbott RealTime HR HPV (Bảng 10). Dàn mẫu gồm 15 chủng HPV nguy cơ thấp (LR HPV) và các sinh vật khác có thể tìm thấy trong đường sinh dục nữ. DNA tế bào người cũng đã được dùng để đánh giá khả năng phản ứng chéo. Mỗi tác nhân có khả năng gây phản ứng chéo được pha thêm vào các mẫu âm tính HPV ở các mức nồng độ (trên 0,4 mL mẫu đầu vào) thể hiện trong Bảng 10. Các acid nucleic đã tinh chế được sử dụng, trừ khi có ghi chú. Không quan sát thấy phản ứng chéo trong bất kỳ mẫu sinh vật xét nghiệm nào.

Bảng 10: Dàn mẫu đánh giá độ phản ứng chéo

Sinh vật	Nồng độ	Sinh vật	Nồng độ
<i>Bacteroides fragilis</i>	10 ⁷ genomic copies	HPV 6	10 ⁷ genomic copies
<i>Candida albicans</i> ^a	10 ⁷ CFU	HPV 11	10 ⁷ genomic copies
<i>Chlamydia trachomatis</i> ^a	10 ⁷ EBs	HPV 13	10 ⁷ genomic copies
<i>Corynebacterium genitalium</i>	10 ⁷ genomic copies	HPV 26	10 ⁷ genomic copies
<i>Enterobacter cloacae</i>	10 ⁷ genomic copies	HPV 30	10 ⁷ genomic copies

Bảng 10: Dàn mẫu đánh giá độ phản ứng chéo

Sinh vật	Nồng độ	Sinh vật	Nồng độ
<i>Enterococcus faecalis</i>	10 ⁷ genomic copies	HPV 32	10 ⁷ genomic copies
<i>Escherichia coli</i>	10 ⁷ genomic copies	HPV 40	10 ⁷ genomic copies
<i>Gardnerella vaginalis</i>	10 ⁷ genomic copies	HPV 42	10 ⁷ genomic copies
<i>Haemophilus ducreyi</i>	10 ⁷ genomic copies	HPV 43	10 ⁷ genomic copies
<i>Lactobacillus acidophilus</i>	10 ⁷ genomic copies	HPV 44	10 ⁷ genomic copies
<i>Mycoplasma genitalium</i>	10 ⁷ genomic copies	HPV 53	10 ⁷ genomic copies
<i>Mycoplasma hominis</i>	10 ⁷ genomic copies	HPV 54	10 ⁷ genomic copies
<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	10 ⁷ genomic copies	HPV 55	10 ⁷ genomic copies
<i>Neisseria meningitidis</i>	10 ⁷ genomic copies	HPV 57	10 ⁷ genomic copies
<i>Proteus mirabilis</i>	10 ⁷ genomic copies	HPV 61	10 ⁷ genomic copies
<i>Staphylococcus aureus</i>	10 ⁷ genomic copies	HSV-I	10 ⁷ genomic copies
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	10 ⁷ genomic copies	HSV-II	10 ⁷ genomic copies
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	10 ⁷ genomic copies	HBV	10 ⁷ genomic copies
<i>Trichomonas vaginalis</i>	10 ⁶ genomic copies	HCV ^b	10 ⁶ viral RNA copies
<i>Ureaplasma urealyticum</i>	10 ⁷ genomic copies	HIV-1	10 ⁶ viral RNA copies
DNA tế bào người	10 ⁷ genomic copies		

^a Các vi sinh vật nuôi cấy.

^b Mẫu lâm sàng

Độ tái lập

Độ tái lập của xét nghiệm Abbott RealTime HR HPV đã được đánh giá bằng cách kiểm tra một dàn gồm 20 mẫu gộp lâm sàng đã xác định rõ ràng (10 mẫu dương tính HR HPV và 10 mẫu âm tính HR HPV). 20 thành phần dàn mẫu sẽ được xét nghiệm bởi 2 người vận hành. Mỗi người vận hành sử dụng một kết hợp duy nhất của lô thuốc thử và cặp thiết bị để xét nghiệm mỗi thành phần lặp lại 2 lần một ngày trong 4 ngày, tổng cộng 8 lần lặp lại. Kết quả phần trăm (%) tương đồng, dựa trên so sánh các kết quả xét nghiệm Abbott RealTime HR HPV với kết quả mong đợi, đối với riêng từng thành phần dàn mẫu và tổng các dàn mẫu âm tính và dương tính được tổng hợp trong Bảng 11. Đối với các mẫu dương tính, kết quả của mỗi tín hiệu HPV (HPV 16, HPV 18, và HR HPV khác) được báo cáo chính xác cho tất cả các lần lặp lại. Độ tương đồng của 319 kết quả so với kết quả mong đợi là 100%. Độ tương đồng của 159 so sánh giữa 2 người vận hành sử dụng 2 lô thuốc thử khác nhau và 2 thiết bị khác nhau là 100%.

Bảng 11: Độ tái lập

Số thứ tự dàn mẫu	Kết quả mong đợi	N	% Phát hiện được	% Độ tương đồng
1	Không phát hiện	16	0	100
2	Không phát hiện	16	0	100
3	Không phát hiện	16	0	100
4	Không phát hiện	16	0	100
5	Không phát hiện	16	0	100
6	Không phát hiện	16	0	100
7	Không phát hiện	16	0	100
8	Không phát hiện	16	0	100
9	Không phát hiện	16	0	100
10	Không phát hiện	16	0	100
11	Phát hiện được HR HPV (HR HPV khác)	16	100	100

Số thứ tự dàn mẫu	Kết quả mong đợi	N	% Phát hiện được	% Độ tương đồng
12	Phát hiện được HR HPV (HPV 16; HPV 18)	16	100	100
13	Phát hiện được HR HPV (HPV 16)	16	100	100
14	Phát hiện được HR HPV (HPV 16; HR HPV khác)	16	100	100
15	Phát hiện được HR HPV (HR HPV khác)	16	100	100
16	Phát hiện được HR HPV (HR HPV khác)	16	100	100
17	Phát hiện được HR HPV (HR HPV khác)	15 ^a	100	100
18	Phát hiện được HR HPV (HR HPV khác)	16	100	100
19	Phát hiện được HR HPV (HR HPV khác)	16	100	100
20	Phát hiện được HR HPV (HR HPV khác)	16	100	100
Các mẫu âm tính (dàn mẫu 1-10)		160	0	100
Các mẫu dương tính (dàn mẫu 11-20)		159	100	100

^a Phản ứng không hợp lệ bị loại khỏi phân tích.

So sánh độ tái lập giữa các phương pháp chuẩn bị mẫu thủ công, sử dụng Abbott m24sp, và Abbott m2000sp

Có ba phương thức xử lý mẫu khác nhau dùng cho xét nghiệm Abbott RealTime HR HPV: thủ công, Abbott m24sp, và Abbott m2000sp. Độ tái lập giữa Abbott m2000sp với phương pháp chuẩn bị mẫu thủ công và giữa Abbott m2000sp với Abbott m24sp được xác định bằng cách xét nghiệm các mẫu chiết riêng biệt của cùng mẫu xét nghiệm cổ tử cung bằng các phương pháp chuẩn bị mẫu khác nhau. Đối với mỗi cặp so sánh, tiến hành xét nghiệm 110 mẫu xét nghiệm pap nhúng dịch PreservCyt. Độ tương đồng giữa Abbott m2000sp với phương pháp chuẩn bị mẫu thủ công (Bảng 12) và giữa phương pháp Abbott m2000sp với Abbott m24sp (Bảng 13) đều là 100%.

Bảng 12: Độ tương đồng giữa Abbott m2000sp và phương pháp chuẩn bị mẫu thủ công

	Chuẩn bị mẫu thủ công		
	Phát hiện được	Không phát hiện	
Abbott m2000sp	Phát hiện được	55	0
	Không phát hiện	0	55

Bảng 13: Độ tương đồng giữa Abbott m2000sp và Abbott m24sp

	Abbott m24sp		
	Phát hiện được	Không phát hiện	
Abbott m2000sp	Phát hiện được	55	0
	Không phát hiện	0	55

Các chất có khả năng gây nhiễu

Khả năng gây nhiễu trong xét nghiệm Abbott RealTime HR HPV đã được đánh giá với các chất có thể có trong các mẫu xét nghiệm cổ tử cung. Các mẫu âm tính với HR HPV và dương tính với HR HPV được xét nghiệm khi có hoặc không có mỗi chất trong các chất liệt kê trong Bảng 14. Mẫu và chất nhạy được pha vào dung dịch PreservCyt ở nồng độ 5%, tất cả các chất còn lại ở nồng độ 0,5%. Không quan sát thấy sự gây nhiễu của bất kỳ chất nào được xét nghiệm.

Bảng 14: Các chất có khả năng gây nhiễu được xét nghiệm

Mẫu
Chất nhạy
Kem bôi âm đạo CLOTRIMAZOLE (2%)
Bột tránh thai Delfen
Kem trị ngứa Gynecort 1% Hydrocortisone
K-Y Jelly
Lubrin
MetroGel-Vaginal
Thuốc đạn Miconazole Nitrate

Bảng 14: Các chất có khả năng gây nhiễu được xét nghiệm

Thuốc điều trị Monistat-1 ngày hoặc đêm
 Thuốc đạn khử mùi Norforms
 Kem bôi âm đạo Terazol-3
 Vagi-gard Povidone Iodine Medicated Douche
 Kem trị ngứa Vagisil
 Vagisil Intimate Lubricant
 Yeast Gard Homeopathic Vaginal Suppositories
 Kem Zovirax (Acyclovir) 5%

Hiệu năng phát hiện HPV nguy cơ cao trong các mẫu thu được bằng bộ lấy mẫu Abbott Cervi-Collect Specimen Collection Kit

Các mẫu xét nghiệm được lấy bằng bộ lấy mẫu Abbott Cervi-Collect Specimen Collection Kit đã được xét nghiệm bằng Abbott RealTime HR HPV. Các mẫu xét nghiệm được lấy trong Dung dịch PreservCyt từ cùng đối tượng đã được xét nghiệm bằng Abbott RealTime HR HPV và HC2. Tổng cộng 153 mẫu ghép cặp có thể tích đủ cho cả 3 xét nghiệm được đem phân tích. Tình trạng HPV nguy cơ cao của các mẫu xét nghiệm cổ tử cung được xác định bằng sự phù hợp của kết quả xét nghiệm Abbott RealTime HR HPV và HC2, và bằng việc phân tích thêm các mẫu có kết quả không phù hợp sử dụng Linear Array. Với 70 mẫu dương tính HR HPV, tỉ lệ phát hiện lần lượt là 92,9%, 98,6% và 84,3% cho Abbott RealTime HR HPV sử dụng mẫu Cervi-Collect, Abbott RealTime HR HPV sử dụng mẫu pap nhúng dịch PreservCyt và HC2 (Bảng 15). Với 83 mẫu âm tính HR HPV, tỉ lệ phát hiện là 3,6%, 2,4% và 3,6% cho Abbott RealTime HR HPV sử dụng mẫu Cervi-Collect, Abbott RealTime HR HPV sử dụng mẫu pap nhúng dịch PreservCyt và HC2 (Bảng 15).

Bảng 15: Phát hiện HR HPV

Xét nghiệm	HR HPV Dương tính (N=70)		HR HPV Âm tính (N=83)	
	Số lượng được phát hiện	% Phát hiện được (Khoảng tin cậy 95%)	Số lượng được phát hiện	% Phát hiện được (Khoảng tin cậy 95%)
Abbott RealTime HR HPV với Cervi-Collect	65	92,9 (84,1-97,6)	3	3,6 (0,8-10,2)
Abbott RealTime HR HPV với pap nhúng dịch PreservCyt	69	98,6 (92,3-100)	2	2,4 (0,3-8,4)
HC2 với pap nhúng dịch PreservCyt	59	84,3 (73,6-91,9)	3	3,6 (0,8-10,2)

Độ tương đồng trong các kết quả Abbott RealTime HR HPV với các mẫu thu được trong Cervi-Collect so với các mẫu thu được trong Dung dịch PreservCyt từ cùng bệnh nhân là 94,4% (Bảng 16).

Bảng 16: Độ tương đồng giữa mẫu Cervi-Collect và mẫu pap nhúng dịch PreservCyt

Abbott RealTime HR HPV pap nhúng dịch PreservCyt	Phát hiện được	Abbott RealTime HR HPV Cervi-Collect	
		Phát hiện được	Không phát hiện
Phát hiện được	69	6	
Không phát hiện	3	83	

Độ tương đồng = 94,4% (152/161)

Hiệu năng phát hiện HPV nguy cơ cao với các mẫu thu được trong dung dịch bảo quản SurePath

Để đánh giá hiệu năng của xét nghiệm Abbott RealTime HR HPV với các mẫu thu được trong dung dịch bảo quản SurePath, có 263 mẫu thu được trong dung dịch bảo quản SurePath được xét nghiệm với Abbott RealTime HR HPV và HC2. Cả hai loại mẫu từ chai lấy mẫu SurePath gốc và mẫu pellet tế bào còn lại thu được sau khi xử lý tế bào được xét nghiệm với Abbott RealTime HR HPV. Mẫu pellet tế bào được xét nghiệm với HC2 theo hướng dẫn của nhà sản xuất. Tình trạng HPV nguy cơ cao của các mẫu xét nghiệm cổ tử cung được xác định bằng sự phù hợp của kết quả xét nghiệm Abbott RealTime HR HPV và HC2, và bằng việc phân tích thêm các mẫu có kết quả không phù hợp sử dụng Linear Array. Với 138 mẫu dương tính với HR HPV, tỉ lệ phát hiện lần lượt là

98,6%, 97,1% và 99,3% cho Abbott RealTime HR HPV sử dụng mẫu từ chai lấy mẫu gốc, Abbott RealTime HR sử dụng mẫu pellet tế bào và HC2 (Bảng 17). Với 125 mẫu âm tính với HR HPV, tỉ lệ phát hiện lần lượt là 0,0%, 0,0% và 13,6% cho Abbott RealTime HR HPV sử dụng mẫu từ chai lấy mẫu gốc, Abbott RealTime HR HPV sử dụng mẫu pellet tế bào và HC2 (Bảng 17).

Bảng 17: Phát hiện HR HPV

Xét nghiệm	HR HPV Dương tính (N=138)		HR HPV Âm tính (N=125)	
	Số lượng được phát hiện	% Phát hiện được (Khoảng tin cậy 95%)	Số lượng được phát hiện	% Phát hiện được (Khoảng tin cậy 95%)
Abbott RealTime HR HPV với mẫu SurePath từ chai lấy mẫu gốc	136	98,6 (94,9-99,8)	0	0 (0,0-2,9)
Abbott RealTime HR HPV với mẫu SurePath từ Pellet tế bào	134	97,1 (92,7-99,2)	0	0 (0,0-2,9)
HC2 với mẫu SurePath từ Pellet tế bào	137	99,3 (96,0-100)	17	13,6 (8,1-20,9)

Độ tương đồng trong các kết quả Abbott RealTime HR HPV với mẫu SurePath từ chai lấy mẫu gốc so với mẫu pellet tế bào là 99,2% (Bảng 18).

Bảng 18: Độ tương đồng giữa các mẫu SurePath từ chai lấy mẫu gốc và Pellet tế bào

Abbott RealTime HR HPV Chai lấy mẫu gốc	Phát hiện được	Abbott RealTime HR HPV Pellet tế bào	
		Phát hiện được	Không phát hiện
Phát hiện được	134	2	
Không phát hiện	0	129	

Độ tương đồng = 99,2% (263/265)

Tuổi thọ theo nghiên cứu độ ổn định: 18 tháng.

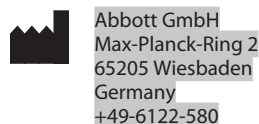
TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Howley PM. Papillomaviridae: the viruses and their replication. In: Fields BN, Knipe DM, Howley PM, eds. *Virology*, 3rd ed. Philadelphia, Lippincott-Raven Publishers 1996:947-78.
- CDC. Genital HPV Infection - CDC Fact Sheet. 2008; <http://www.cdc.gov/std/HPV/STDFact-HPV.htm>.
- zur Hausen H. Papillomaviruses and cancer: from basic studies to clinical application. *Nat Rev Cancer*. 2002;2:342-50.
- Walboomers JMM, Jacobs MV, Manos MM, et al. Human papillomavirus is a necessary cause of invasive cervical cancer worldwide. *J Pathol* 1999;189:12-19.
- Snijders PJ, Steenbergen RD, Heideman DA, et al. HPV-mediated cervical carcinogenesis: concepts and clinical implications. *J Pathol*. 2006;208:152-64.
- Kjaer SK, van den Brule AJC, Paull G, et al. Type specific persistence of high risk human papillomavirus (HPV) as indicator of high grade cervical squamous intraepithelial lesions in young women: population based prospective follow up study. *BMJ* 2002;325:572-578.
- Cuschieri KS, Cubie HA, Whitley MW, et al. Persistent high risk HPV infection associated with development of cervical neoplasia in a prospective population study. *J Clin Pathol*. 2005;58:946-50.
- de Villiers EM, Fauquet C, Broker TR, et al. Classification of papillomaviruses. *Virology* 2004;324:17-27.
- IARC Monographs on the evaluation of carcinogenic risks to humans. Human Papillomaviruses. Lyon: *International Agency for Research on Cancer* 2007; Volume 90.
- Muñoz N, Bosch FX, de Sanjosé S, et al. Epidemiologic classification of human papillomavirus types associated with cervical cancer. *N Engl J Med*. 2003;348:518-27.
- Clifford GM, Smith JS, Plummer M, et al. Human papillomavirus types in invasive cervical cancer worldwide: a meta-analysis. *Br J Cancer*. 2003;88:63-73.
- Muñoz N, Castellsagué X, de González AB, et al. Chapter 1: HPV in the etiology of human cancer. *Vaccine*. 2006;24 Suppl 3:S3/1-10.

13. Smith JS, Lindsay L, Hoots B, *et al.* Human papillomavirus type distribution in invasive cervical cancer and high-grade cervical lesions: a meta-analysis update. *Int J Cancer.* 2007;121:621-32.
14. Khan MJ, Castle PE, Lorincz AT, *et al.* The elevated 10-year risk of cervical precancer and cancer in women with human papillomavirus (HPV) type 16 or 18 and the possible utility of type-specific HPV testing in clinical practice. *J Natl Cancer Inst.* 2005;97:1072-9.
15. Davies P, Arbyn M, Dillner J, *et al.* A report on the current status of European research on the use of human papillomavirus testing for primary cervical cancer screening. *Int J Cancer.* 2006;118:791-6.
16. Cuzick J, Clavel C, Petry KU, *et al.* Overview of the European and North American studies on HPV testing in primary cervical cancer screening. *Int J Cancer.* 2006;119:1095-101.
17. Mayrand MH, Duarte-Franco E, Rodrigues I, *et al.* Human papillomavirus DNA versus Papanicolaou screening tests for cervical cancer. *N Engl J Med.* 2007;357:1579-88.
18. Goldie SJ, Gaffikin L, Goldhaber-Fiebert JD, *et al.* Cost-effectiveness of cervical-cancer screening in five developing countries. *N Engl J Med.* 2005;353:2158-68.
19. Kim JJ, Wright TC, Goldie SJ. Cost-effectiveness of human papillomavirus DNA testing in the United Kingdom, The Netherlands, France, and Italy. *J Natl Cancer Inst.* 2005;97:888-95.
20. Goldie SJ, Kim JJ, Wright TC. Cost-effectiveness of human papillomavirus DNA testing for cervical cancer screening in women aged 30 years or more. *Obstet Gynecol.* 2004;103:619-31.
21. Cuschieri KS, Cubie HA. The role of human papillomavirus testing in cervical screening. *J Clin Virol.* 2005;32 Suppl 1:S34-42.
22. Franco EL, Cuzick J. Cervical cancer screening following prophylactic human papillomavirus vaccination. *Vaccine.* 2008;26 Suppl 1:A16-23.
23. Stanley M, Villa LL. Monitoring HPV vaccination. *Vaccine.* 2008;26 Suppl 1:A24-7.
24. CLSI. Clinical Laboratory Waste Management; Approved Guideline - Third Edition. CLSI document GP05-A3. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2011.
25. US Environmental Protection Agency. EPA Guide for Infectious Waste Management Publication No. EPA/530-SW-86-014. Washington, DC: US Environmental Protection Agency, 1986:1-1-5-5, R1-R3, A1-A24.
26. Huang S, Erickson B, Tang N, *et al.* Clinical performance of Abbott RealTime High Risk HPV test for detection of high-grade cervical intraepithelial neoplasia in women with abnormal cytology. *J Clin Virol.* 2009;45(suppl 1):S19-23.
27. Halfon P, Benmoura D, Agostini A, *et al.* Evaluation of the clinical performance of the Abbott RealTime High-Risk HPV for carcinogenic HPV detection. *J Clin Virol.* 2010;48(4):246-50.
28. Szarewski A, Mesher D, Cadman L, *et al.* Comparison of seven tests for high-grade cervical intraepithelial neoplasia in women with abnormal smears: the Predictors 2 study. *J Clin Microbiol.* 2012;50(6):1867-73.
29. Jentschke M, Soergel P, Lange V, *et al.* Evaluation of a new multiplex real-time polymerase chain reaction assay for the detection of human papillomavirus infections in a referral population. *Int J Gynecol Cancer.* 2012;22(6):1050-6.
30. Mesher D, Szarewski A, Cadman L, *et al.* Comparison of human papillomavirus testing strategies for triage of women referred with low-grade cytological abnormalities. *Eur J Cancer.* 2013;49(9):2179-86. Supplementary table S1.
31. IARC Handbooks of Cancer Prevention. Volume 10. Cervix Cancer Screening. Lyon, France: International Agency for Research on Cancer; 2005.
32. Poljak M, Ostrbenk A, Seme K, Učakar V, Hillemanns P, Bokal EV, Jancar N, Klavs I. Comparison of clinical and analytical performance of the Abbott Realtime High Risk HPV test to the performance of hybrid capture 2 in population-based cervical cancer screening. *J Clin Microbiol.* 2011;49(5):1721-9.
33. Hesselink AT, Meijer CJLM, Poljak M, Berkhof J, van Kemenade FJ, van der Salm ML, Bogaarts M, Snijders PJF, Heideman DAM. Clinical validation of the Abbott RealTime High Risk (HR) HPV assay according to the guidelines for human papillomavirus DNA test requirements for cervical screening. *J Clin Microbiol.* 2013;51(7):2409-10.
34. Cuzick J, Cadman L, Mesher D, Austin J, Ashdown-Barr L, Ho L, Terry G, Liddle S, Wright C, Lyons D, Szarewski A. Comparing the performance of six human papillomavirus tests in a screening population. *Br J Cancer.* 2013;108(4):908-13. Supplementary table A1.

Abbott m, m2000, m2000rt, m2000sp, và Cervi-Collect là nhãn hiệu của Abbott Laboratories trên nhiều lĩnh vực pháp lý.
ProClin, FAM, ROX, NED, VIC, Cy5, PreservCyt, PrepStain, SurePath, TriPath Imaging, hc2 High-Risk HPV DNA Test, Linear Array, Delfen, Gynecort, K-Y Jelly, Lubrin, MetroGel-Vaginal, Monistat, Norforms, Terazol, Vagi-gard, Vagisil, Yeast Gard và Zovirax là sở hữu của các công ty tương ứng.

www.abbottmolecular.com



Tháng 05 năm 2020

© 2014, 2020 Abbott Laboratories

