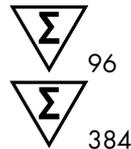


Desember 2018

# Petunjuk Penggunaan *digene*<sup>®</sup> HC2 High-Risk HPV DNA Test



## IVD

Uji kadar hibridisasi asam nukleat in vitro dengan amplifikasi sinyal menggunakan kemiluminesens pelat mikro untuk deteksi kualitatif dari 13 jenis DNA papilomavirus manusia (human papillomavirus, HPV) berisiko tinggi pada spesimen serviks dan vagina

Untuk digunakan dengan:

- *digene* HC2 DNA Collection Device
- *digene* Specimen Transport Medium
- Hologic PreservCyt<sup>®</sup> Solution
- BD SurePath<sup>®</sup> Preservative Fluid



## REF

5197-1330 (kit 1-pelat)  
618111 (kit 4-pelat)



QIAGEN  
19300 Germantown Road  
Germantown, MD 20874  
AMERIKA SERIKAT

## EC REP

QIAGEN GmbH  
QIAGEN Strasse 1  
40724 Hilden  
JERMAN

1058538ID Rev. 13



# Daftar Isi

Penggunaan yang Ditujukan .....	8
Ringkasan dan Penjelasan .....	9
Informasi patogen .....	10
Prinsip Prosedur .....	10
Penyiapan sampel menggunakan QIA Symphony SP .....	12
Penyiapan sampel menggunakan QIA Symphony DSP HPV Media Kit .....	12
Penyiapan sampel menggunakan QIA Symphony DSP AXpH DNA Kit .....	13
Pengujian menggunakan Rapid Capture System .....	13
Bahan yang Disediakan .....	15
Kit 1-pelat .....	15
Kit 4-pelat .....	15
Isi kit .....	16
Bahan yang Diperlukan tetapi Tidak Tersedia .....	17
Peralatan dan bahan diagnostik in vitro .....	17
Peralatan dan bahan yang umum digunakan di laboratorium .....	18
Peralatan dan bahan tambahan untuk penyiapan sampel PreservCyt .....	19
Peralatan dan bahan tambahan untuk penyiapan sampel SurePath .....	19
Peringatan dan Pencegahan .....	20
Peringatan .....	20
Spesimen .....	20
Natrium azida .....	21
Buffer N2 .....	21
Pengujian RCS otomatis .....	21
Pernyataan keselamatan dan risiko untuk komponen .....	22
Tindakan pencegahan .....	23
Penyimpanan dan Penanganan Reagen .....	25
Komponen kit .....	25

Reagen yang disiapkan .....	25
Pengumpulan dan Pembuatan Spesimen .....	25
Spesimen serviks dan vagina dalam STM.....	26
Biopsi serviks.....	26
Spesimen serviks dalam PreservCyt Solution .....	27
Spesimen serviks dalam SurePath Preservative Fluid .....	28
Penyiapan sampel otomatis dari spesimen SurePath .....	29
Penyiapan sampel otomatis dari sampel pelet sel pasca-gradien SurePath .....	29
Penyiapan sampel manual dari sampel pelet sel pasca-gradien SurePath. ....	29
Prosedur.....	30
Pembuatan reagen .....	30
Reagen Denaturasi .....	32
Reagen Denaturasi 2 .....	33
Campuran Kuar .....	33
Dapar Pencucian .....	35
Buat tata letak pelat.....	36
Penyiapan sampel.....	37
Penyiapan sampel dari spesimen PreservCyt menggunakan QIASymphony DSP HPV Media Kit.....	37
Penyiapan sampel dari spesimen SurePath dan pelet sel pasca-gradien SurePath menggunakan QIASymphony DSP HPV Media Kit.....	38
Penyiapan sampel dari spesimen PreservCyt menggunakan QIASymphony DSP AXpH DNA Kit .....	38
Penyiapan sampel manual dari spesimen PreservCyt.....	39
Pembuatan sampel manual dari pelet sel pasca-gradien SurePath.....	39
Denaturasi dan hibridisasi sampel yang disiapkan menggunakan QIASymphony SP .....	41
Denaturasi kalibrator, kendali mutu, dan eluat DNA untuk pengujian manual.....	41
Titik henti opsional dari eluat DNA .....	42
Hibridisasi eluat DNA .....	43
Denaturasi dan hibridisasi dari spesimen STM dan sampel pelet sel pasca-gradien PreservCyt dan SurePath yang disiapkan secara manual .....	43
Denaturasi kalibrator, kendali mutu, dan spesimen STM .....	43

Titik henti opsional dari sampel STM yang disiapkan dan sampel pelet sel pasca-gradien PreservCyt dan SurePath yang disiapkan secara manual .....	45
Hibridisasi sampel STM yang disiapkan dan sampel pelet sel pasca-gradien PreservCyt dan SurePath yang disiapkan secara manual .....	46
Hibridisasi menggunakan pelat mikro dan Microplate Heater I.....	46
Hibridisasi menggunakan tabung mikro dan penangas air .....	48
Tangkapan hibrida.....	49
Deteksi hibrida .....	51
Pencucian .....	52
Metode Pencuci Pelat Otomatis.....	52
Metode pencucian manual.....	53
Amplifikasi sinyal.....	54
Ukur pelat mikro tangkapan dan menghasilkan hasil.....	54
Interpretasi Hasil .....	55
Hasil pengujian spesimen STM .....	55
Hasil pengujian spesimen SurePath .....	55
Hasil pengujian spesimen PreservCyt.....	55
Nilai RLU/CO mendekati 1,0.....	56
Jenis HPV lain .....	56
Verifikasi Kalibrasi Uji Kadar.....	56
Negative calibrator (Kalibrator negatif) .....	56
Kalibrator positif .....	57
Rata-rata kalibrator positif/rata-rata kalibrator negatif .....	57
Perhitungan batas .....	57
Kendali mutu .....	57
Batasan.....	59
Karakteristik Kinerja.....	61
Kinerja klinis saat melakukan skrining pasien dengan hasil Pap smear normal sebagai bantuan dalam penilaian risiko untuk manajemen pasien .....	61
Kinerja klinis saat melakukan skrining pasien dengan hasil Pap smear ASC-US untuk menentukan perlunya rujukan ke kolposkopi.....	65

Sensitivitas dan spesifisitas klinis untuk penentuan risiko penyakit stadium-lanjut pada wanita dengan Pap smear LSIL atau HSIL .....	68
Kinerja vagina atau pengambilan sendiri .....	71
Sensitivitas analisis .....	72
Kesetaraan antara jenis spesimen .....	73
Kesetaraan antara spesimen STM dan PreservCyt .....	73
Kesetaraan antara penyiapan sampel manual dari spesimen PreservCyt dan penyiapan sampel dari spesimen PreservCyt menggunakan QIASymphony DSP HPV Media Kit .....	73
Kesetaraan antara penyiapan sampel manual dari spesimen PreservCyt dan penyiapan sampel dari spesimen PreservCyt menggunakan QIASymphony DSP AXpH DNA Kit .....	74
Kesetaraan antara penyiapan sampel STM dan manual dari sampel pelet sel pasca-gradien SurePath. ....	74
Kesetaraan antara penyiapan sampel manual dari sampel pelet sel pasca-gradien SurePath dan penyiapan sampel dari spesimen SurePath menggunakan QIASymphony DSP HPV Media Kit .....	75
Kesetaraan antara penyiapan sampel manual dari sampel pelet sel pasca-gradien SurePath dan penyiapan sampel dari sampel pelet sel pasca-gradien SurePath menggunakan QIASymphony DSP HPV Media Kit .....	76
Kesesuaian antara metode pengujian .....	77
Reproduksibilitas .....	79
Keseluruhan reproduksibilitas dari pengujian manual .....	79
Reproduksibilitas dengan spesimen STM klinis .....	80
Reproduksibilitas spesimen PreservCyt klinis .....	83
Reproduksibilitas spesimen SurePath klinis .....	93
Reaktivitas silang .....	98
Hibridisasi silang .....	100
Efek darah dan zat lain pada spesimen STM .....	100
Efek darah dan zat lain pada spesimen PreservCyt .....	101
Penyiapan sampel manual .....	101
Penyiapan sampel menggunakan QIASymphony DSP HPV Media Kit .....	101
Penyiapan sampel menggunakan QIASymphony DSP AXpH DNA Kit .....	102

---

Efek darah dan zat lain pada spesimen SurePath.....	102
Penyiapan sampel dari sampel SurePath menggunakan QIAasymphony DSP HPV Media Kit.....	102
Penyiapan sampel dari sampel pelet sel pasca-gradien SurePath menggunakan QIAasymphony DSP HPV Media Kit.....	103
Limpahan .....	104
Stabilitas reagen terpasang.....	105
Referensi .....	108
Simbol .....	113
Panduan Pemecahan Masalah .....	114
Pemeriksaan kontaminasi DR2 .....	123
Pemeriksaan kontaminasi dari Alat Pencucian dan/atau sumber air.....	123
Pemeriksaan kontaminasi dari Pencuci Pelat Otomatis .....	124
Informasi Kontak .....	125
Perubahan Signifikan.....	126

## Penggunaan yang Ditujukan

Untuk penggunaan diagnostik in vitro (in vitro diagnostic, IVD).

*digene* HC2 High-Risk HPV DNA Test yang menggunakan teknologi Hybrid Capture® 2 (HC2) adalah uji kadar hibridisasi asam nukleat dengan amplifikasi sinyal menggunakan kemiluminesens pelat mikro untuk deteksi kualitatif 13 jenis DNA HPV berisiko tinggi pada spesimen serviks dan vagina.

Spesimen serviks dan vagina yang dapat diuji dengan *digene* HC2 High-Risk HPV DNA Test termasuk yang berikut ini:

- Spesimen serviks yang dikumpulkan oleh dokter dalam *digene* HC2 DNA Collection Device
- Spesimen vagina yang dikumpulkan dengan *digene* HC2 DNA Collection Device
- Biopsi yang dikumpulkan di *digene* Specimen Transport Medium (STM)
- Spesimen yang dikumpulkan menggunakan alat pengumpul jenis sapu atau alat pengumpul kombinasi kuas/spatula, kemudian ditempatkan di PreservCyt Solution atau SurePath Preservative Fluid

Penggunaan uji ini diindikasikan:

- Untuk mendeteksi HPV berisiko tinggi jenis 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, dan 68, yang ditunjukkan menjadi faktor penyebab utama dalam perkembangan kanker serviks.
- Sebagai uji skrining populasi umum awal, untuk digunakan dengan atau tanpa Pap smear, untuk mengidentifikasi wanita yang berisiko tinggi terkena kanker serviks atau adanya penyakit serviks stadium lanjut. Diagnosis HPV semakin menjadi indikasi penyakit serviks seiring bertambahnya usia.
- Sebagai uji lanjutan bagi pasien setelah hasil Pap smear tidak normal atau penyakit serviks untuk menentukan perlunya rujukan ke kolposkopi atau prosedur lanjutan lainnya.
- Sebagai uji lanjutan bagi pasien dengan hasil Pap smear Lesi Intraepitelium Skuamus Stadium Rendah (Low-Grade Squamous Intraepithelial Lesion, LSIL) atau Lesi Intraepitelium Skuamus Stadium Lanjut (High-Grade Squamous Intraepithelial Lesion, HSIL) sebelum kolposkopi. Bagi pasien ini, hasil *digene* HC2 High-Risk HPV DNA Test akan membantu dokter dalam menangani pasien dengan membantu penilaian risiko pada wanita untuk menentukan tidak adanya panyakit stadium lanjut.

## Ringkasan dan Penjelasan

Adanya jenis HPV tertentu di saluran kelamin wanita dikaitkan dengan sejumlah penyakit, termasuk kondiloma, papulosis Bowenoid, neoplasia dan karsinoma intraepitelium serviks, vaginal, dan vulvar (1–3). Secara umum diterima bahwa virus ini sebagian besar ditularkan secara seksual dan jenis HPV berisiko tinggi ini adalah faktor risiko utama yang diketahui untuk perkembangan kanker serviks (4–8).

Sampai saat ini, HPV tidak dapat dibiakkan secara *in vitro*, dan uji imunologi tidak memadai untuk menentukan adanya infeksi serviks HPV. Bukti tidak langsung dari infeksi HPV anogenital dapat diperoleh melalui pemeriksaan fisik dan dengan adanya perubahan sel yang khas yang berhubungan dengan replikasi virus pada spesimen Pap smear atau biopsi. Sebagai alternatif, biopsi dapat dianalisis dengan hibridisasi asam nukleat untuk secara langsung mendeteksi adanya DNA HPV.

Secara historis, HPV jenis 16 dan 18 telah dianggap sebagai jenis yang berhubungan dengan kanker berisiko tinggi (8-10). HPV jenis 31, 33, dan 35 telah dibuktikan memiliki hubungan perantara dengan kanker (2, 11–14). Hubungan perantara ini disebabkan oleh fakta bahwa jenis ini lebih sering terdeteksi pada lesi intraepitelium skuamosa stadium tinggi pada kanker. Oleh karena itu, induksi kanker karena adanya jenis ini lebih kecil kemungkinannya daripada ketika terdapat jenis DNA HPV berisiko tinggi (15). Ke-5 jenis HPV ini bersama-sama menyumbang sekitar 73% dari infeksi HPV (16, 17). Jenis HPV tambahan, yang termasuk 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, dan 68, telah diidentifikasi sebagai jenis HPV utama yang dapat dideteksi pada lesi sisanya (17–27). Jenis HPV ini juga dapat dikategorikan ke dalam kelompok berisiko menengah dan tinggi berdasarkan pada distribusi relatifnya dalam berbagai kategori diagnosis histopatologi (16, 17, 24–28).

DNA HPV telah terbukti ada pada sekitar 10% wanita dengan epitelium serviks normal tetapi prevalensi yang sebenarnya pada kelompok wanita tertentu sangat dipengaruhi oleh usia dan variabel demografis lain (2, 10, 16, 29). Studi prospektif telah membuktikan bahwa 15–28% wanita yang diuji positif untuk DNA HPV mengembangkan lesi intraepitelium skuamosa (SIL) dalam waktu 2 tahun dibandingkan dengan hanya 1–3% wanita yang diuji negatif untuk DNA HPV (30, 31). Secara khusus, risiko perkembangan HPV jenis 16 dan 18 lebih besar (sekitar 40%) daripada jenis HPV lain (30).

---

## Informasi patogen

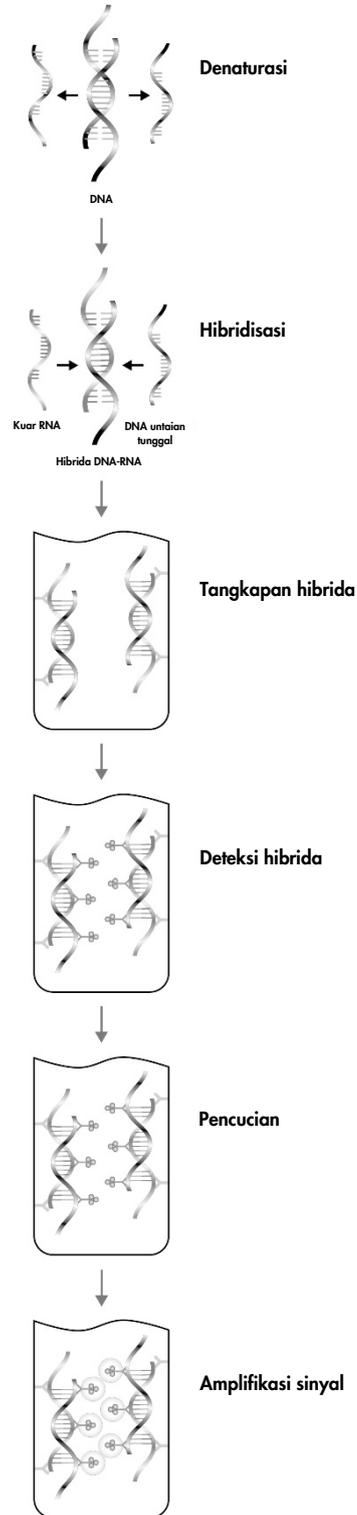
Virus papiloma manusia terdiri dari partikel virus ikosahedral (virion) yang mengandung 8000 pasangan basa dari molekul DNA melingkar dengan untaian rangkap dua yang dikelilingi oleh kapsid protein. Setelah infeksi sel epitelial, DNA virus terbentuk di seluruh ketebalan epitelium, tetapi virion utuh ditemukan hanya di lapisan atas jaringan. Dengan demikian, DNA virus dapat ditemukan baik pada virion atau sebagai sekuens HPV episomal atau terintegrasi, yang bergantung pada jenis dan stadium lesi.

## Prinsip Prosedur

*digene* HC2 High-Risk HPV DNA Test, yang menggunakan teknologi HC2, adalah uji kadar hibridisasi asam nukleat dengan amplifikasi sinyal yang menggunakan deteksi kemiluminesen pelat mikro. Spesimen yang mengandung DNA target terhibridisasi dengan kuar RNA HPV tertentu. Hibrida RNA–DNA yang dihasilkan ditangkap ke permukaan sumuran pelat mikro yang disalut dengan antibodi tertentu untuk hibrida RNA–DNA. Hibrida yang diimobilisasi kemudian direaksikan dengan antibodi yang dikonjugasikan dengan fosfatase alkali spesifik untuk hibrida RNA–DNA dan dideteksi dengan substrat kemiluminesen. Beberapa molekul fosfatase alkali dikonjugasikan dengan setiap antibodi. Antibodi majemuk yang dikonjugasikan berikatan dengan setiap hibrida yang ditangkap sehingga menghasilkan amplifikasi sinyal substansial. Saat substrat dibelah oleh fosfatase alkali terikat, cahaya dipancarkan, yang diukur sebagai unit cahaya relatif (Relative Light Units, RLU) dengan instrumen *digene* Microplate Luminometer (DML). Intensitas cahaya yang dipancarkan menunjukkan ada atau tidak adanya DNA target pada spesimen.

Pengukuran RLU sama dengan atau lebih besar daripada batas uji kadar (cutoff, CO) mengindikasikan adanya sekuens DNA HPV berisiko tinggi pada spesimen. Pengukuran RLU lebih sedikit daripada CO uji kadar mengindikasikan tidak adanya sekuens DNA HPV berisiko tinggi spesifik yang diuji atau level DNA HPV di bawah batas deteksi uji.

### Alur Kerja Hybrid Capture



---

## Penyiapan sampel menggunakan QIASymphony SP

Penyiapan sampel otomatis dari spesimen PreservCyt dapat dilakukan dengan menggunakan QIASymphony SP dengan QIASymphony DSP HPV Media Kit atau QIASymphony DSP AXpH DNA Kit.

### Penyiapan sampel menggunakan QIASymphony DSP HPV Media Kit

QIASymphony DSP HPV Media Kit memberikan ekstrak sampel pada pelat mikro hibridisasi yang siap untuk pengujian otomatis menggunakan Rapid Capture® System (RCS) dengan *digene* HC2 High-Risk HPV DNA Test QIASymphony SP melakukan semua tahap dari prosedur penyiapan sampel hingga 88 sampel, dalam kelompok hingga 24, dalam pengoperasian tunggal.

QIASymphony SP memproses 88 sampel PreservCyt dalam 2 jam 15 menit tanpa perlu campur tangan pengguna setelah instrumen diisi dengan sampel.

QIASymphony SP memproses 88 sampel SurePath dalam 1 jam 45 menit tanpa perlu campur tangan pengguna setelah instrumen diisi dengan sampel. Penyiapan sampel menggunakan QIASymphony SP segera diikuti dengan 90 menit inkubasi ekstrak sampel dalam pelat mikro hibridisasi pada pemanas pelat mikro. Selama inkubasi ekstrak sampel, kalibrator dan kontrol kualitas didenaturasi secara terpisah di penangas air dan kemudian secara manual dipipet ke dalam kolom pertama dari pelat mikro hibridisasi setelah inkubasi ekstrak sampel selesai. Penyiapan sampel dari spesimen SurePath dengan QIASymphony SP dan QIASymphony DSP HPV Media Kit dapat terjadi baik sebelum memulai pemrosesan sitologi atau setelah pemrosesan sitologi selesai.

**Penting:** Ekstrak sampel yang diproduksi sebagai hasil penyiapan sampel dari spesimen PreservCyt dan SurePath menggunakan QIASymphony DSP HPV Media Kit hanya dapat diuji menggunakan RCS. Kinerja manual pengujian dengan ekstrak sampel tidak divalidasi.

Saat melakukan penyiapan sampel otomatis menggunakan QIASymphony, rujuk ke panduan pengguna QIASymphony yang berlaku dan *Petunjuk Penggunaan QIASymphony DSP HPV Media Kit (Buku Pegangan)*, selain petunjuk penggunaan ini, untuk informasi prosedural dan deskriptif yang diperlukan.

## Penyiapan sampel menggunakan QIASymphony DSP AXpH DNA Kit

QIASymphony DSP AXpH DNA Kit memberikan eluat DNA pada pelat mikro hibridisasi yang siap untuk pengujian RCS manual atau otomatis dengan *digene* HC2 High-Risk HPV DNA Test. QIASymphony SP melakukan semua tahap dari prosedur penyiapan sampel hingga 88 sampel, dalam kelompok hingga 24, dalam pengoperasian tunggal. QIASymphony SP memproses 88 sampel 4 jam 30 menit tanpa perlu campur tangan pengguna setelah instrumen diisi dengan sampel.

Saat melakukan penyiapan sampel otomatis menggunakan QIASymphony, rujuk ke panduan pengguna QIASymphony yang berlaku dan *Buku Pegangan QIASymphony DSP AXpH DNA Kit*, selain petunjuk penggunaan ini, untuk informasi prosedural dan deskriptif yang diperlukan.

## Pengujian menggunakan Rapid Capture System

Pengujian hasil sampel bervolume tinggi dengan *digene* HC2 High-Risk HPV DNA Test dapat dilakukan menggunakan RCS. Kit 4-pelat (no. kat. 618111) hanya dapat digunakan dengan RCS dan tidak dapat digunakan untuk pengujian manual.

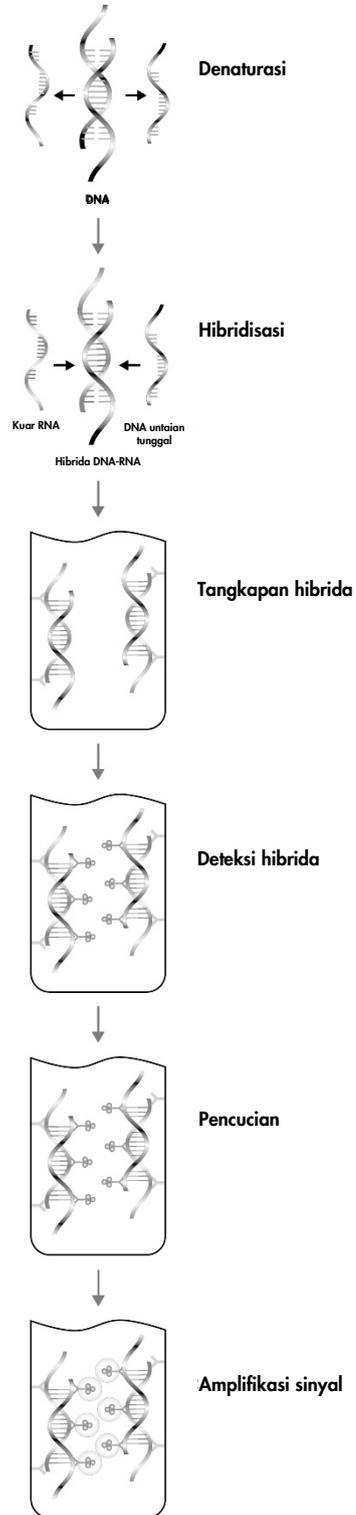
RCS adalah penggunaan umum sistem pemipetan dan pengenceran otomatis yang dapat digunakan dengan *digene* HC2 High-Risk HPV DNA Test untuk pengujian hasil sampel bervolume tinggi. Sistem ini memproses hingga 352 spesimen dalam 8 jam, termasuk periode 3,5 jam, selama periode ini campur tangan pengguna tidak diperlukan; hingga 704 hasil spesimen dapat dihasilkan dalam 13 jam.

Penyiapan sampel dilakukan secara independen dari RCS sebelum ditempatkan di dek RCS. Selain itu, deteksi sinyal kemiluminesen dan pelaporan hasil dilakukan menggunakan instrumen DML offline yang umum untuk kedua pengujian RCS manual dan otomatis.

Setiap langkah *digene* HC2 High-Risk HPV DNA Test dilakukan dalam urutan yang sama seperti pengujian manual. RCS memungkinkan pemrosesan bertingkat hingga 4 pelat mikro, dengan setiap pelat mikro mengandung sampel dan kalibrator uji dan kontrol kualitas yang diperlukan.

Saat melakukan pengujian RCS otomatis, rujuk ke *Panduan Pengguna Rapid Capture System* dan *Panduan Pengguna Rapid Capture System — Menjalankan digene HC2 DNA Tests Menggunakan Sampel yang Diproses QIASymphony SP*, selain petunjuk penggunaan ini, untuk informasi prosedural dan deskriptif yang diperlukan.

### Alur Kerja Hybrid Capture



Penyiapan sampel manual

Otomatis pada Rapid Capture System

## Bahan yang Disediakan

### Kit 1-pelat

Ada 96 pengujian dalam 1-pelat *digene* HC2 High-Risk HPV DNA Test (no. kat. 5197-1330).

Saat melakukan pengujian manual yang menggunakan kit 1-pelat, jumlah uji terkecil yang disarankan untuk setiap penggunaan adalah 24. Jika diinginkan kurang dari 24 pengujian per penggunaan, jumlah total pengujian per kit dapat dikurangi karena volume reagen yang terbatas. Jumlah hasil pasien akan bervariasi, tergantung pada jumlah penggunaan per kit, seperti yang ditentukan di bawah:

Jumlah penggunaan	Jumlah hasil pasien
1	88
2	80
3	72
4	64

Saat melakukan pengujian RCS otomatis dengan kit 1-pelat, penggunaan kit lengkap memerlukan pengujian pelat mikro penuh (88 sampel) per pengoperasian RCS. Pengujian pelat mikro parsial dapat diterima; namun, seluruh kit digunakan karena volume kosong yang diperlukan untuk pengoperasian instrumen.

### Kit 4-pelat

Ada 384 pengujian dalam 4-pelat *digene* HC2 High-Risk HPV DNA Test (no. kat. 618111).

Kit 4-pelat hanya dapat digunakan untuk pengujian RCS otomatis. Untuk mencapai 384 pengujian, kit 4-pelat harus digunakan dalam 1 atau 2 pengoperasian RCS. Jika diinginkan lebih dari 2 pengoperasian, jumlah total pengujian per kit dapat dikurangi karena volume reagen yang terbatas.

## Isi kit

<b><i>digene</i> HC2 High-Risk HPV DNA Test</b>		
<b>Nomor katalog</b>	<b>5197-1330</b>	<b>618111</b>
<b>Jumlah pengujian</b>	<b>96</b>	<b>384</b>
Indicator Dye (Pewarna Indikator) Mengandung 0,05% (b/v) natrium azida	0,35 ml	2,0 ml
Denaturation Reagent (Reagen Denaturasi)* Ecerkan larutan natrium hidroksida (NaOH)	50 ml	2 x 100 ml
Probe Diluent (Pengencer Kuar)* Larutan penyangga dengan 0,05% (b/v) natrium azida	5 ml	20 ml
High-Risk HPV Probe (Kuar HPV Berisiko Tinggi) Kuar RNA HPV 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59 dan 68 dalam larutan penyangga (tutup merah)	200 µl	3 x 200 µl
Low-Risk HPV Quality Control (Kendali Mutu HPV Berisiko Rendah) 5 pg/ml (500.000 tiruan/ml) DNA HPV 6 terkloning dan DNA pembawa dalam STM dengan 0,05% (b/v) natrium azida.	1 ml	1 ml
High-Risk HPV Quality Control (Kendali Mutu HPV Berisiko Tinggi) 5 pg/ml (500.000 tiruan/ml) DNA HPV 16 terkloning dan DNA pembawa dalam STM dengan 0,05% (b/v) natrium azida	1 ml	1 ml
Negative Calibrator (Kalibrator Negatif) DNA pembawa dalam STM dengan 0,05% (b/v) natrium azida	2 ml	2 ml
High-Risk HPV Calibrator (Kalibrator HPV Berisiko Tinggi) 1 pg/ml DNA HPV 16 terkloning dan DNA pembawa dalam STM dengan 0,05% (b/v) natrium azida	1 ml	2 ml
Capture Microplate (Pelat Mikro Tangkapan) Disalut dengan antibodi hibrida anti-RNA-DNA poliklonal kambing	1	4
Detection Reagent 1 (Reagen Deteksi 1) Antibodi yang dikonjugasi dengan fosfatase alkalin ke hibrida RNA-DNA dalam larutan penyangga dengan 0,05% (b/v) natrium azida	12 ml	40 ml
Detection Reagent 2 (Reagen Deteksi 2) CDP-Star® with Emerald II (substrat kemiluminesen)	12 ml	40 ml
Wash Buffer Concentrate (Konsentrat Dapar Pencucian)* Mengandung 1,5% (b/v) natrium azida	100 ml	2 x 100 ml

\* Lihat "Peringatan dan Pencegahan", halaman 20, untuk informasi kesehatan dan keselamatan.

## Bahan yang Diperlukan tetapi Tidak Tersedia

**Penting:** Pastikan instrumen yang digunakan dalam prosedur ini telah diperiksa dan dikalibrasi sesuai dengan saran produsen.

### Peralatan dan bahan diagnostik in vitro

Hanya peralatan dan bahan yang divalidasi dengan *digene* HC2 High-Risk HPV DNA Test tersedia dari QIAGEN.

- *digene* Hybrid Capture 2 System ("Sistem HC2 *digene*"), yang berisi luminometer yang disetujui QIAGEN ("instrumen DML"), komputer personal dan periferal komputer yang disetujui QIAGEN (monitor, keyboard, mouse, printer, dan kabel printer), *digene* HC2 System Software ("perangkat lunak analisis uji kadar *digene*"), *digene* HC2 System Assay Protocols untuk HPV, LumiCheck Plate Software, dan *Panduan Pengguna digene HC2 System*
- Hybrid Capture System Rotary Shaker I
- Hybrid Capture System Microplate Heater I
- Hybrid Capture System Automated Plate Washer
- Hybrid Capture System Multi-Specimen Tube (MST) Vortexer 2 (opsional)\*
- Conversion Rack and Lid\*
- *digene* Specimen Rack and Lid (opsional)\*
- Pipet danudukan EXPAND-4 (opsional)†
- Dispenser Penyegel Tabung dan alat pemotong (opsional, digunakan dengan MST Vortexer 2)
- Rapid Capture System (diperlukan untuk digunakan dengan kit 4-pelat; opsional untuk kit 1-pelat)
- Peralatan Cuci
- Pelat mikro hibridisasi
- Tutup pelat mikro
- Strip sumuran pelat mikro RCS\*
- Lewatan reagen RCS\*
- Tutup lewatan reagen RCS\*
- Ujung sekali pakai RCS\*
- Sumbat naik RCS\*

\* Diperlukan untuk melakukan pengujian RCS otomatis.

† Item khusus yang digunakan untuk mentransfer sampel STM ke pelat mikro hibridisasi. Pipet khusus yang dapat diperluas dan multi-saluran lainnya dapat digunakan, menyediakan jarak ujung 3,2 cm dapat diterima saat diperluas.

- Buffer N2\*
- Buffer D2\*
- Bejana Pencuci RCS Biru†
- Ujung pipet ekstra panjang
- Tabung pengumpul spesimen
- Rak tabung pengumpul spesimen
- Sumbat berulir tabung pengumpul spesimen
- Reservoir reagen sekali pakai
- Film penyegel tabung DuraSeal™
- Tabung mikro hibridisasi‡
- Rak tabung mikro‡
- Penyegel pelat‡

## Peralatan dan bahan yang umum digunakan di laboratorium

- 65 ± 2°C penangas air dengan ukuran yang cukup untuk menampung rak spesimen [21 cm lebar x 32 cm kedalaman x 18 cm tinggi]
- Sentrifugasi mikro
- Vortexer dengan pelengkap cawan
- Pipet saluran tunggal; pengaturan variabel untuk volume 20–200 µl dan 200–1000 µl
- Pipet pemindahan positif berulang, seperti pipet Eppendorf® Repeater®
- Pipet 8-saluran: pengaturan variabel untuk volume 25–200 µl
- Pengatur waktu
- Larutan natrium hipoklorit, 0,5% v/v
- Parafilm® atau yang setara
- Ujung pipet penghalang aerosol sekali pakai untuk pipet saluran tunggal (20–200 µl dan 200–1000 µl)
- Ujung sekali pakai untuk pipet pemindahan positif berulang (12,5, 5, 2,5, dan 1,25 ml)
- Ujung sekali pakai untuk pipet 8-saluran (25–200 µl)
- Penyeka Kimtowels® atau kertas tisu berserat rendah yang setara
- Penutup bangku sekali pakai
- Sarung tangan sekali pakai yang bebas serbuk
- 5 ml dan/atau 15 ml tabung polipropilena beralas bulat, kancing jepret
- Rak untuk menampung tabung 10 ml atau 15 ml
- 50 ml tabung kerucut polipropilena

\* Diperlukan untuk melakukan pengujian dengan sampel yang disiapkan menggunakan QIASymphony DSP AXpH DNA Kit.

† Diperlukan untuk pengujian RCS otomatis dengan sampel yang diproses menggunakan QIASymphony DSP HPV Media Kit.

‡ Diperlukan untuk melakukan hibridisasi menggunakan tabung mikro dan penangas air.

## Peralatan dan bahan tambahan untuk penyiapan sampel PreservCyt

 Rujuk ke *Petunjuk Penggunaan QIAasymphony DSP HPV Media Kit (Buku Pegangan)* untuk penyiapan sampel otomatis yang menggunakan QIAasymphony DSP HPV Media Kit.

 Rujuk ke *Buku Pegangan QIAasymphony DSP AXpH DNA Kit* untuk penyiapan sampel otomatis yang menggunakan QIAasymphony DSP AXpH DNA Kit.

 Rujuk ke petunjuk penggunaan *digene HC2 Sample Conversion Kit* untuk penyiapan sampel manual.

## Peralatan dan bahan tambahan untuk penyiapan sampel SurePath

 Rujuk ke *Petunjuk Penggunaan QIAasymphony DSP HPV Media Kit (Buku Pegangan)* untuk penyiapan sampel otomatis yang menggunakan QIAasymphony DSP HPV Media Kit..

Penyiapan sampel SurePath manual memerlukan peralatan dan bahan tambahan berikut:

- Sentrifugasi ember ayun yang mampu mencapai  $800 \pm 15 \times g$  dan menampung 15 ml tabung sentrifugasi polipropilena berbentuk kerucut
- *digene* HC2 Sample Conversion Tubes atau 15 ml tabung polipropilena VWR® atau Corning®  
**Penting:** *digene* HC2 Sample Conversion Tubes yang tersedia dari QIAGEN harus digunakan dengan MST Vortexer 2 atau RCS.
- 7 ml pipet transfer berujung standar atau yang setara
- *digene* Specimen Transport Medium

# Peringatan dan Pencegahan

Untuk penggunaan diagnostik in vitro.

Baca semua petunjuk dengan cermat sebelum menggunakan pengujian.

## Peringatan

Saat bekerja dengan bahan kimia, selalu kenakan jas lab yang sesuai, sarung tangan sekali pakai, dan kacamata pelindung. Untuk informasi lebih lanjut, silakan lihat lembar data keselamatan yang sesuai (LDK). Panduan tersedia online dalam format PDF yang mudah dan praktis di [www.qiagen.com/safety](http://www.qiagen.com/safety) di sana Anda dapat menemukan, melihat dan mencetak SDS untuk setiap kit dan komponen kit QIAGEN.

## Spesimen

### **PERHATIAN** Risiko agen infeksius



Spesimen dapat mengandung zat infeksi dan harus ditangani sebagaimana mestinya. Anggap semua spesimen berpotensi menular.

Tidak ada metode pengujian yang diketahui yang dapat menawarkan jaminan lengkap bahwa spesimen tidak akan menularkan infeksi. Disarankan bahwa spesimen manusia ditangani sesuai dengan praktik keamanan hayati nasional dan daerah yang berlaku. Gunakan praktik keamanan hayati ini dengan bahan yang mengandung atau dicurigai mengandung zat infeksi.

Pencegahan ini termasuk, tetapi tidak terbatas pada, yang berikut ini:

- Jangan menggunakan pipet dengan mulut.
- Jangan merokok, makan atau minum di tempat reagen atau spesimen ditangani.
- Kenakan sarung tangan sekali pakai yang bebas bubuk saat menangani reagen atau spesimen. Cuci tangan dengan bersih setelah melakukan pengujian.
- Bersihkan dan disinfeksi semua tumpahan spesimen yang menggunakan disinfektan tuberkulosidal seperti 0,5% v/v natrium hipoklorit atau disinfektan lain yang sesuai (32, 33).
- Dekontaminasi dan buang semua spesimen, reagen dan bahan lain yang berpotensi terkontaminasi sesuai dengan peraturan nasional dan daerah.

Setelah denaturasi dan inkubasi, spesimen tidak lagi dianggap infeksius (34); namun, petugas lab harus tetap mematuhi tindakan pencegahan nasional dan daerah.

## Natrium azida

Beberapa reagen mengandung natrium azida. Natrium azida telah dilaporkan membentuk timbal atau tembaga azida di pipa laboratorium. Azida ini dapat meledak saat penumbukan, seperti pemukulan. Untuk mencegah pembentukan timbal atau tembaga azida, bilas saluran pembuangan secara menyeluruh dengan air setelah membuang larutan yang mengandung natrium azida. Untuk menghilangkan kontaminasi dari saluran pembuangan lama yang diduga mengandung akumulasi azida, Badan Regulator Keselamatan dan Kesehatan Kerja di Amerika Serikat menyarankan hal berikut:

1. Sedot cairan dari perangkat yang menggunakan selang karet atau plastik.
2. Isi dengan 10% v/v larutan natrium hidroksida.
3. Biarkan selama 16 jam.
4. Bilas dengan air.

## Buffer N2

### **PERHATIAN** Risiko senyawa yang sangat reaktif



Jangan menambahkan pemutih atau larutan asam secara langsung ke larutan atau limbah apa pun yang mengandung Buffer N2.

Buffer N2 mengandung guanidin hidroklorida yang dapat membentuk senyawa yang sangat reaktif jika digabungkan dengan pemutih.

Jika cairan yang mengandung larutan penyangga ini tumpah, bersihkan dengan detergen laboratorium yang sesuai dan air. Jika cairan yang tumpah mengandung zat yang berpotensi menyebabkan infeksi, bersihkan area yang terkena terlebih dahulu dengan detergen laboratorium dan air dan kemudian dengan 1% (v/v) natrium hipoklorit.

## Pengujian RCS otomatis

Rujuk ke *Panduan Pengguna Rapid Capture System* untuk peringatan tambahan dan tindakan pencegahan khusus untuk penggunaan sistem untuk pengujian hasil sampel bervolume tinggi.

Penyataan keselamatan dan risiko untuk komponen

Frasa risiko dan keselamatan berikut berlaku untuk komponen dalam kit *digene* HC2 High-Risk HPV DNA Test:

### Reagen Denaturasi



Mengandung: natrium hidroksida. Bahaya! Dapat menyebabkan korosi pada logam. Menyebabkan luka bakar yang parah pada kulit dan kerusakan mata. Kenakan sarung tangan pelindung/pakaian pelindung/pelindung mata/pelindung wajah. JIKA TERKENA MATA: Bilas secara hati-hati dengan air selama beberapa menit. Lepaskan lensa kontak, jika ada dan mudah dilakukan. Lanjutkan membilas. Segera hubungi PUSAT BANTUAN KERACUNAN atau dokter/medis.

### Kalibrator HPV Berisiko Tinggi

Peringatan! Menyebabkan iritasi kulit ringan. Kenakan sarung tangan pelindung/pakaian pelindung/pelindung mata/pelindung wajah.

### Kendali Mutu HPV Berisiko Tinggi

Peringatan! Menyebabkan iritasi kulit ringan. Kenakan sarung tangan pelindung/pakaian pelindung/pelindung mata/pelindung wajah.

### Kendali Mutu HPV Berisiko Rendah

Peringatan! Menyebabkan iritasi kulit ringan. Kenakan sarung tangan pelindung/pakaian pelindung/pelindung mata/pelindung wajah.

### Kalibrator Negatif

Peringatan! Menyebabkan iritasi kulit ringan. Kenakan sarung tangan pelindung/pakaian pelindung/pelindung mata/pelindung wajah.

### Pengencer Kuar



Mengandung: asam asetat; asam poliakrilat. Bahaya! Menyebabkan luka bakar yang parah pada kulit dan kerusakan mata. Kenakan sarung tangan pelindung/pakaian pelindung/pelindung mata/pelindung wajah. JIKA TERKENA MATA: Bilas secara hati-hati dengan air selama beberapa menit. Lepaskan lensa kontak, jika ada dan mudah dilakukan. Lanjutkan membilas. Segera hubungi PUSAT BANTUAN KERACUNAN atau dokter/medis.

### Konsentrat Dapar Pencucian



Mengandung: natrium azida. Peringatan! Berbahaya jika tertelan. Berbahaya bagi kehidupan air dengan efek jangka panjang. Kenakan sarung tangan pelindung/pakaian pelindung/pelindung mata/pelindung wajah.

## Tindakan pencegahan

Pengguna harus selalu mematuhi tindakan pencegahan berikut saat melakukan *digene* HC2 High-Risk HPV DNA Test:

- Jangan gunakan reagen melebihi tanggal kedaluwarsa yang diindikasikan di sebelah simbol  pada label kotak luar atau tanggal kedaluwarsa dari reagen yang disiapkan.
- Melakukan pengujian di luar rentang waktu dan suhu yang disediakan dapat menghasilkan hasil yang tidak valid. Pengujian tidak termasuk dalam rentang waktu dan suhu yang ditetapkan adalah tidak valid dan harus diulang.
- Prosedur *digene* HC2 High-Risk HPV DNA Test, kalibrasi uji kadar, kendali mutu dan interpretasi hasil spesimen harus diikuti secara cermat untuk memperoleh hasil pengujian yang andal.
- Penting untuk memipet volume reagen yang tepat seperti yang diindikasikan dan mencampurnya dengan baik setelah penambahan reagen masing-masing. Kegagalan saat melakukannya dapat menghasilkan hasil pengujian yang salah. Pastikan bahwa perubahan warna yang tercatat terjadi akan mengonfirmasi bahwa kondisi ini telah terpenuhi.
- Kecuali Konsentrat Dapar Pencucian, komponen kit komponen telah diuji sebagai suatu unit. Jangan menukar komponen dari sumber lain atau dari banyak perbedaan. Namun, dapat diterima untuk menggabungkan komponen dari kit dengan banyak bilangan yang sama untuk memiliki volume reagen yang diperlukan untuk menguji berbagai pelat mikro dalam satu pengoperasian RCS.
- Asam nukleat sangat sensitif terhadap degradasi nuklease lingkungan. Nuklease ada pada kulit manusia dan pada permukaan atau bahan yang ditangani oleh manusia. Bersihkan dan tutupi permukaan kerja dengan penutup bangku sekali pakai dan kenakan sarung tangan bebas bubuk saat melakukan semua langkah pengujian.
- Pastikan untuk mencegah kontaminasi dari pelat mikro tangkapan dan Reagen Deteksi 2 (DR2) dengan fosfatase alkali eksogen selama pelaksanaan pengujian. Zat yang dapat mengandung fosfatase alkali termasuk Reagen Deteksi 1 (DR1), bakteri, air liur, rambut dan minyak dari kulit. Tutupi pelat mikro tangkapan setelah tahap pencucian dan selama inkubasi DR2 sangat penting karena fosfatase alkali eksogen dapat bereaksi dengan DR2, menghasilkan hasil positif palsu.
- Lindungi DR2 dari paparan cahaya langsung dalam waktu lama. Gunakan DR2 segera setelah melakukan alikuot dan hindari sinar matahari langsung.
- Pancing pipet berulang sebelum penghantaran reagen dan periksa gelembung udara besar secara berkala. Jumlah gelembung udara besar yang berlebihan di ujung pipet yang berulang dapat menyebabkan penghantaran yang tidak akurat dan dapat dihindari dengan mengisi pipet, mengeluarkan semua cairan dan mengisi ulang. Rujuk ke panduan pengguna pipet untuk petunjuk penggunaan spesifik.

- 
- Lakukan pemipetan multi saluran menggunakan teknik pemipetan terbalik (lihat “Deteksi hibrida,” halaman 51) untuk mengeluarkan DR1 dan DR2. Periksa setiap ujung pipet pada pipet multi-saluran untuk kesesuaian dan pengisian yang benar.
  - Pastikan bahwa setiap sumuran pelat mikro tangkapan dicuci bersih (lihat “Pencucian,” halaman 52). Pencucian yang tidak memadai akan menghasilkan latar belakang yang meningkat dan dapat menyebabkan hasil positif-palsu. Residu Dapar Pencucian di dalam sumuran pelat mikro tangkapan dapat mengakibatkan pengurangan sinyal atau reproduksibilitas yang buruk.

# Penyimpanan dan Penanganan Reagen

## Komponen kit

Setelah diterima, simpan kit pada suhu 2–8°C. Konsentrat Dapar Pencucian, Reagen Denaturasi dan Pewarna Indikator dapat disimpan pada suhu 2–30°C, sesuai keinginan. Semua reagen disediakan siap pakai, kecuali Reagen Denaturasi (Denaturation Reagent, DNR), Campuran Kuar dan Dapar Pencucian.

## Reagen yang disiapkan

Setelah disiapkan, DNR stabil selama 3 bulan pada suhu 2–8°C.

Setelah disiapkan, Dapar Pencucian stabil selama 3 bulan pada suhu 2–30°C.

Jika pengujian sampel PreservCyt yang diproses menggunakan QIASymphony DSP HPV Media Kit atau QIASymphony DSP AXpH DNA Kit, kalibrator dan kendali mutu yang terbuka dan tidak jenuh stabil selama 3 bulan pada suhu 2–8°C.

Jika sampel pengujian yang diproses menggunakan QIASymphony DSP AXpH DNA Kit, Reagen Denaturasi 2 (DNR2) yang dibuat stabil selama 8 jam pada suhu 15–30°C.

# Pengumpulan dan Pembuatan Spesimen

Kumpulkan dan pindahkan spesimen serviks dan vagina untuk pengujian dengan *digene* HC2 High-Risk HPV DNA Test menggunakan salah satu dari alat pengambil sampel berikut:

- *digene* HC2 DNA Collection Device (terdiri dari kuas serviks dan STM)
- Biopsi yang dikumpulkan di *digene* STM
- Alat pengumpul jenis sapu atau kombinasi alat pengumpul kuas/spatula yang ditempatkan di PreservCyt Solution atau SurePath Preservative Fluid

Spesimen yang dikumpulkan dengan alat pengambilan sampel lain atau dipindahkan dengan media pemindahan lain yang belum memenuhi syarat untuk digunakan dengan pengujian ini. Karakteristik kinerja pengujian ini ditetapkan hanya dengan kit pengumpulan yang diindikasikan.

*digene* HC2 DNA Collection Device tidak boleh digunakan untuk wanita hamil. Spesimen serviks harus dikumpulkan sebelum penerapan asam asetat atau iodine jika pemeriksaan kolposkopi dilakukan. Rujuk ke petunjuk penggunaan *digene* HC2 DNA Collection Device untuk prosedur pengumpulan dan penanganan spesimen tambahan.

---

Spesimen serviks dan vagina yang dikumpulkan dalam STM tidak memerlukan konversi sampel sebelum pengujian dengan *digene* HC2 High-Risk HPV DNA Test. Spesimen PreservCyt dan SurePath memerlukan konversi sampel sebelum pengujian dengan *digene* HC2 High-Risk HPV DNA Test.

## Spesimen serviks dan vagina dalam STM

**Penting:** Jangan mengambil spesimen serviks atau vagina STM jika ada krim anti-jamur, jeli kontrasepsi atau obat semprot dalam konsentrasi tinggi.

Spesimen STM dapat disimpan hingga 2 minggu pada suhu kamar dan dipindahkan tanpa pendinginan ke laboratorium pengujian. Kirim spesimen dalam wadah terisolasi menggunakan vendor pengiriman baik semalam atau 2-hari.

Di laboratorium pengujian, simpan spesimen pada suhu 2–8°C jika pengujian akan dilakukan dalam 1 minggu. Jika pengujian akan dilakukan lebih dari 1 minggu, tutupi sumbat tabung spesimen dengan Parafilm dan simpan spesimen pada suhu –20°C hingga 3 bulan. Saat mengeluarkan spesimen dari freezer untuk pengujian, segera ganti sumbat dengan sumbat berulir tabung pengumpul spesimen.

Pengawet telah ditambahkan ke STM untuk memperlambat pertumbuhan bakteri dan untuk mempertahankan integritas DNA. Hal tersebut tidak dimaksudkan untuk menjaga kelangsungan hidup organisme atau sel.

## Biopsi serviks

Biopsi serviks yang baru diambil dengan potongan melintang hingga 5 mm dapat diuji dengan *digene* HC2 High-Risk HPV DNA Test. Jangan gunakan biopsi dengan diameter kurang dari 2 mm. Segera tempatkan spesimen biopsi ke dalam 1,0 ml STM, tutupi sumbat tabung spesimen dengan Parafilm untuk mencegah sumbatnya lepas dan simpan beku pada suhu –20°C. Kirim spesimen biopsi pada suhu 2–30°C untuk dikirim semalaman ke laboratorium pengujian.

Di laboratorium pengujian, simpan pada suhu –20°C sampai diproses. Saat mengeluarkan spesimen dari freezer untuk pengujian, ganti segera sumbat dengan sumbat berulir tabung pengumpul spesimen.

## Spesimen serviks dalam PreservCyt Solution

**Penting:** Jangan mengambil spesimen serviks PreservCyt untuk penyiapan sampel dengan QIASymphony DSP HPV Media Kit jika ada krim anti-jamur, jeli pelumas vagina atau darah pada konsentrasi tinggi.

**Penting:** Jangan mengambil spesimen serviks PreservCyt untuk penyiapan sampel dengan QIASymphony DSP AXpH DNA Kit jika ada jeli kontraseptif.

Ambil spesimen secara rutin, dan siapkan kaca mikroskop ThinPrep® Pap Test sesuai dengan petunjuk penggunaan yang disediakan oleh produsen.

Setelah pengambilan, simpan spesimen PreservCyt hingga 3 bulan pada suhu 2–30°C sebelum penyiapan sampel untuk *digene* HC2 High-Risk HPV DNA Test. Spesimen PreservCyt tidak dapat dibekukan.

Metode berikut tersedia untuk penyiapan sampel:

- Penyiapan sampel otomatis menggunakan QIASymphony SP dan QIASymphony DSP HPV Media Kit  
Hasilnya berupa ekstrak sampel (mengandung partikel magnetik, STM dan DNR) yang siap dilanjutkan ke tahap denaturasi pengujian.
- Penyiapan sampel otomatis menggunakan QIASymphony SP dan QIASymphony DSP AXpH DNA Kit  
Hasilnya adalah eluat DNA siap untuk dilanjutkan ke tahap denaturasi pengujian.
- Penyiapan sampel manual menggunakan *digene* HC2 Sample Conversion Kit  
Hasil dari penyiapan sampel manual adalah sampel yang didenaturasi siap untuk dilanjutkan ke tahap hibridisasi pengujian.

Persyaratan volume spesimen berdasarkan pada metode penyiapan sampel sebagai berikut:

- Penyiapan sampel otomatis menggunakan QIASymphony DSP HPV Media Kit memerlukan 3 ml spesimen
- Penyiapan sampel otomatis menggunakan QIASymphony DSP AXpH DNA Kit memerlukan 4 ml spesimen
- Penyiapan sampel manual menggunakan *digene* HC2 Sample Conversion Kit memerlukan setidaknya 4 ml spesimen

Spesimen dengan volume spesimen lebih sedikit daripada yang diperlukan setelah Pap Test telah disiapkan mengandung bahan yang tidak mencukupi untuk pengujian dan dapat menyebabkan hasil negatif palsu dalam *digene* HC2 High-Risk HPV DNA Test.

## Spesimen serviks dalam SurePath Preservative Fluid

**Penting:** Jangan mengambil spesimen serviks SurePath untuk penyiapan sampel dengan QIASymphony DSP HPV Media Kit jika ada jeli kontraseptif, krim anti-jamur atau krim anti-peradangan pada konsentrasi tinggi.

Ambil spesimen dalam SurePath Preservative Fluid sesuai dengan petunjuk penggunaan yang berlaku.

Penyiapan sampel dari spesimen SurePath dapat terjadi baik sebelum memulai pemrosesan sitologi atau setelah menyelesaikan pemrosesan sitologi.

Jika sebelum memulai pemrosesan sitologi, gunakan sampel dari spesimen SurePath asli yang belum diproses menggunakan berbagai metode diagnostik lain, termasuk BD PrepMate® System dan BD PrepStain® Slide Processor. Dalam petunjuk penggunaan ini, sampel ini disebut sebagai "sampel SurePath" untuk mencegah kebingungan.

Jika setelah menyelesaikan pemrosesan sitologi, gunakan sampel dari pelet sel pasca-gradien yang tersisa setelah spesimen SurePath telah dibuat sesuai dengan petunjuk yang sesuai untuk BD PrepMate System dan BD PrepStain Slide Processor. Dalam petunjuk penggunaan ini, sampel ini disebut sebagai "sampel sel pasca-gradien SurePath" untuk mencegah kebingungan.

Metode berikut tersedia untuk penyiapan sampel:

- Penyiapan sampel otomatis dari sampel SurePath menggunakan QIASymphony SP dan QIASymphony DSP HPV Media Kit.  
Hasilnya berupa ekstrak sampel yang didenaturasi (mengandung partikel magnetik, STM dan DNR) yang siap dilanjutkan ke tahap hibridisasi pengujian.
- Penyiapan sampel otomatis dari sampel pelet sel pasca-gradien Sure Path menggunakan QIASymphony SP dan QIASymphony DSP HPV Media Kit.  
Hasilnya berupa ekstrak sampel yang didenaturasi (mengandung partikel magnetik, STM dan DNR) yang siap dilanjutkan ke tahap hibridisasi pengujian.
- Penyiapan sampel manual dari sampel pelet sel pasca-gradien SurePath .  
Hasil dari penyiapan sampel manual adalah sampel yang didenaturasi siap untuk dilanjutkan ke tahap hibridisasi pengujian.

Persyaratan volume sampel berdasarkan pada metode penyiapan sampel sebagai berikut:

- Penyiapan sampel otomatis menggunakan QIAAsymphony DSP HPV Media Kit memerlukan 950 µl
- Penyiapan sampel manual memerlukan 2,8 ml sampel pelet sel pasca-gradien SurePath

Penggunaan volume lebih sedikit dari yang diperlukan dapat menyebabkan hasil negatif palsu dalam *digene* HC2 High-Risk HPV DNA Test.

### Penyiapan sampel otomatis dari spesimen SurePath

Setelah pengambilan, simpan spesimen SurePath hingga 4 minggu pada suhu 5–25°C sebelum penyiapan sampel menggunakan QIAAsymphony SP dan QIAAsymphony DSP HPV Media Kit. Spesimen SurePath yang digunakan tidak boleh diproses menggunakan berbagai metode diagnostik lain, termasuk BD PrepMate dan BD PrepStain Slide Processor. Penyiapan sampel otomatis memerlukan 950 µl spesimen SurePath.

### Penyiapan sampel otomatis dari sampel pelet sel pasca-gradien SurePath

**Penting:** Segera setelah preparasi kaca mikroskop SurePath Pap, pipet 2,0 ml SurePath Preservative Fluid ke dalam tabung sentrifugasi yang mengandung pelet sel pasca-gradien. Hal ini menjaga integritas pelet sel pasca-gradien untuk kinerja *digene* HC2 High-Risk HPV DNA Test.

Pelet sel pasca-gradien dengan SurePath Preservative Fluid dapat disimpan hingga 4 minggu pada suhu 5–25°C sebelum penyiapan sampel untuk *digene* HC2 High-Risk HPV DNA Test. Penyiapan sampel otomatis memerlukan 950 µl pelet sel pasca-gradien SurePath.

### Penyiapan sampel manual dari sampel pelet sel pasca-gradien SurePath.

**Penting:** Segera setelah penyiapan kaca mikroskop SurePath Pap, pipet 2,0 ml SurePath Preservative Fluid ke dalam tabung sentrifugasi yang mengandung pelet sel sisa. Hal ini menjaga integritas pelet sel pasca-gradien untuk kinerja *digene* HC2 High-Risk HPV DNA Test.

Pelet sel pasca-gradien dengan SurePath Preservative Fluid dapat disimpan hingga 4 minggu pada suhu 2–30°C sebelum penyiapan sampel untuk *digene* HC2 High-Risk HPV DNA Test.

Spesimen SurePath pelet sel pasca-gradien dibuat seperti yang ditentukan dalam petunjuk penggunaan ini. Hasil dari penyiapan sampel manual adalah sampel yang didenaturasi siap untuk dilanjutkan ke tahap hibridisasi pengujian.

# Prosedur

## Hal yang harus dilakukan sebelum memulai

- Untuk pengujian manual, tunggu setidaknya 60 menit untuk Microplate Heater I untuk menyeimbangkan hingga  $65^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$  dari awal yang dingin. Tidak memberikan waktu untuk periode pemanasan ini dapat mengakibatkan pencairan pelat mikro hibridisasi. Rujuk ke *Panduan Pengguna Microplate Heater I* untuk petunjuk tambahan.
- Jika menggunakan penangas air selama tahap denaturasi dan hibridisasi, pastikan bahwa penangas air tersebut ada pada suhu  $65^{\circ}\text{C}$  dan ketinggian air untuk merendam seluruh volume spesimen di dalam tabung.

## Pembuatan reagen

- Keluarkan spesimen dan semua reagen yang diperlukan dari kulkas sebelum memulai pengujian. Biarkan mencapai suhu  $20\text{--}25^{\circ}\text{C}$  selama 15–30 menit. Siapkan sampel PreservCyt dan SurePath sebelum menyeimbangkan berbagai spesimen dan reagen yang didenaturasi sebelumnya hingga suhu kamar.
- Jika menggabungkan reagen siap pakai untuk pengoperasian RCS multi-pelat, campurkan masing-masing botol secara menyeluruh dan kemudian menggabungkan volume reagen yang berlaku ke dalam tabung kerucut polipropilena yang bersih dan sekali pakai.
- Untuk pengujian manual, reagen Dapar Pencucian dan Campuran Kuar dibuat selama tahap pengujian tertentu. Untuk pengujian RCS otomatis, semua reagen dibuat sebelum memulai pengoperasian RCS dan ditempatkan di dek RCS.
- Siapkan DNR dan DNR2, sebagaimana berlaku, sebelum menyiapkan reagen lain.
- Buang semua reagen yang disiapkan (kecuali ditentukan secara berbeda) dan aliquot reagen di akhir pengujian.
- Gunakan Tabel 1–5, di bawah, untuk menentukan volume yang diperlukan untuk setiap reagen berdasarkan pada jumlah pengujian/pelat mikro dan metode pengujian. Volume untuk pengujian RCS otomatis termasuk volume kosong reagen yang diperoleh oleh instrumen.

**Tabel 1. Volume yang diperlukan dari reagen yang disiapkan dan siap pakai untuk pengujian manual dari spesimen STM dan sampel pelet sel pasca-gradien PreservCyt dan SurePath yang disiapkan secara manual**

Jumlah uji/keping	Campuran Kuar	Dapar Pencucian	DR1	DR2
24/3	1,04 ml	>1 liter	3 ml	3 ml
48/6	2,08 ml	>1 liter	5 ml	5 ml
72/9	3,12 ml	>1 liter	7 ml	7 ml
96/12	4,16 ml	>1 liter	12 ml	12 ml

**Tabel 2. Volume yang diperlukan dari reagen yang disiapkan dan siap pakai untuk pengujian RCS otomatis dari spesimen STM, sampel pelet sel pasca-gradien PreservCyt dan SurePath yang disiapkan secara manual, dan SurePath dan sampel pelet sel pasca-gradien SurePath yang dibuat menggunakan QIASymphony DSP HPV Media Kit**

Jumlah pelat mikro	Campuran Kuar	Dapar Pencucian	DR1	DR2
≤1	5,20 ml	3 liter	10 ml	10 ml
≤1,5	6,24 ml	3 liter	14 ml	14 ml
≤2	8,32 ml	3 liter	18 ml	18 ml
≤2,5	9,36 ml	6 liter	22 ml	22 ml
≤3	10,40 ml	6 liter	26 ml	26 ml
≤3,5	12,48 ml	6 liter	30 ml	30 ml
≤4	13,52 ml	6 liter	34 ml	34 ml

**Tabel 3. Volume yang diperlukan dari reagen yang disiapkan dan siap pakai untuk pengujian RCS otomatis dari sampel PreservCyt yang dibuat menggunakan QIASymphony DSP HPV Media Kit**

Jumlah pelat mikro	DNR	Campuran Kuar	Dapar Pencucian	DR1	DR2
≤1	2,2 ml	5,20 ml	3 liter	10 ml	10 ml
≤1,5	2,2 ml	6,24 ml	3 liter	14 ml	14 ml
≤2	2,4 ml	8,32 ml	3 liter	18 ml	18 ml
≤2,5	2,4 ml	9,36 ml	6 liter	22 ml	22 ml
≤3	2,6 ml	10,40 ml	6 liter	26 ml	26 ml
≤3,5	2,6 ml	12,48 ml	6 liter	30 ml	30 ml
≤4	2,8 ml	13,52 ml	6 liter	34 ml	34 ml

**Tabel 4. Volume yang diperlukan dari reagen yang disiapkan dan siap pakai untuk pengujian manual dari sampel PreservCyt yang dibuat menggunakan QIASymphony DSP AXpH DNA Kit**

Jumlah uji/keping	DNR	DNR2	Campuran Kuar	Dapar Pencucian	DR1	DR2
24/3	0,6 ml	1,0 ml	1,04 ml	>1 liter	3 ml	3 ml
48/6	0,6 ml	2,0 ml	2,08 ml	>1 liter	5 ml	5 ml
72/9	0,6 ml	2,5 ml	3,12 ml	>1 liter	7 ml	7 ml
96/12	0,6 ml	5,0 ml	4,16 ml	>1 liter	12 ml	12 ml

**Tabel 5. Volume yang diperlukan dari reagen yang disiapkan dan siap pakai untuk pengujian RCS otomatis dari sampel PreservCyt yang dibuat menggunakan QIASymphony DSP AXpH DNA Kit**

Jumlah pelat mikro	DNR	DNR2	Campuran Kuar	Dapar Pencucian	DR1	DR2
≤1	2,2 ml	5,0 ml	5,20 ml	3 liter	10 ml	10 ml
≤1,5	2,2 ml	5,5 ml	6,24 ml	3 liter	14 ml	14 ml
≤2	2,4 ml	6,5 ml	8,32 ml	3 liter	18 ml	18 ml
≤2,5	2,4 ml	7,7 ml	9,36 ml	6 liter	22 ml	22 ml
≤3	2,6 ml	8,8 ml	10,40 ml	6 liter	26 ml	26 ml
≤3,5	2,6 ml	10,0 ml	12,48 ml	6 liter	30 ml	30 ml
≤4	2,8 ml	11,0 ml	13,52 ml	6 liter	34 ml	34 ml

## Reagen Denaturasi

Kit 1-pelat dilengkapi dengan 50 ml Reagen Denaturasi dan kit 4-pelat dilengkapi dengan 2 x 100 ml Reagen Denaturasi. Pastikan untuk menyiapkan DNR sesuai dengan volume yang disediakan dengan kit yang berlaku.

### Catatan:

- Setelah disiapkan, DNR stabil selama 3 bulan pada suhu 2–8°C.
- Jika warna memudar, tambahkan 3 tetes Pewarna Indikator tambahan dan aduk rata sebelum digunakan.

### Botol 50 ml

1. Tambahkan 5 tetes Pewarna Indikator ke botol 50 ml Reagen Denaturasi.
2. Aduk rata.  
DNR harus seragam, warna ungu tua.
3. Beri label DNR dengan tanggal kedaluwarsa yang baru.

### Botol 100 ml

1. Tambahkan 10 tetes Pewarna Indikator ke botol 100 ml Reagen Denaturasi.
2. Aduk rata.  
DNR harus seragam, warna ungu tua.
3. Beri label DNR dengan tanggal kedaluwarsa yang baru.

## Reagen Denaturasi 2

**Catatan:** DNR2 hanya diperlukan untuk menguji sampel PreservCyt yang dibuat menggunakan QIASymphony DSP AXpH DNA Kit.

1. Beri label tabung kerucut polipropilena bersih sekali pakai sebagai "DNR2".
2. Tambahkan volume Buffer N2 yang diperlukan (lihat Tabel 6, di bawah) ke wadah berlabel.

**Tabel 6. Persiapan DNR2**

Volume DNR2 yang diperlukan	Volume Buffer N2	Volume Buffer D2	Pewarna Indikator
1,0 ml	0,4 ml	0,6 ml	1–2 tetes
2,0 ml	0,8 ml	1,2 ml	1–2 tetes
2,5 ml	1,0 ml	1,5 ml	1–2 tetes
5,0 ml	2,0 ml	3,0 ml	1–2 tetes
5,5 ml	2,2 ml	3,3 ml	1–2 tetes
6,5 ml	2,6 ml	3,9 ml	1–2 tetes
7,7 ml	3,1 ml	4,6 ml	1–2 tetes
8,8 ml	3,5 ml	5,3 ml	1–2 tetes
10,0 ml	4,0 ml	6,0 ml	1–2 tetes
11,0 ml	4,4 ml	6,6 ml	1–2 tetes

3. Tambahkan volume Buffer D2 yang diperlukan (lihat Tabel 6, di atas) ke wadah berlabel.
4. Tambahkan jumlah Pewarna Indikator yang diperlukan (lihat Tabel 6, di atas) ke wadah berlabel.

**Catatan:** Gunakan Pewarna Indikator yang disuplai dengan *digene* HC2 High-Risk HPV DNA Test kit.

5. Vorteks selama tidak kurang dari 10 detik.

**Catatan:** Setelah disiapkan, DNR2 stabil selama 8 jam pada suhu 15–30°C.

## Campuran Kuar

- Untuk pengujian manual, siapkan Campuran Kuar selama inkubasi denaturasi spesimen (sebagaimana dapat diterapkan, lihat "Denaturasi kalibrator, kendali mutu, dan spesimen STM," halaman 43, atau "Denaturasi kalibrator, kendali mutu, dan eluat DNA untuk pengujian manual," halaman 41).
- Berhati-hatilah untuk mencegah kontaminasi RNase. Gunakan ujung pipet penghalang aerosol saat memipet kuar.
- Pengencer Kuar bersifat kental. Pastikan vorteks yang terlihat dicapai saat menyiapkan Campuran Kuar; pencampuran yang tidak lengkap dapat menyebabkan sinyal berkurang.
- Jika menggabungkan berbagai botol vial dari kuar untuk pengujian RCS otomatis, satukan kuar tersebut ke dalam satu botol vial dan campurkan dengan pipet.

1. Untuk menghindari terperangkapnya kuar dalam tutup botol vial, sentrifugasi setiap botol vial dari kuar sebentar untuk membawa cairan ke dasar botol vial.
2. Ketuk botol vial secara perlahan untuk mencampurkan zat di dalamnya.
3. Tentukan jumlah Campuran Kuar yang diperlukan.

**Saran:** Buat Campuran Kuar ekstra untuk menghitung volume yang mungkin hilang di ujung pipet atau di sisi botol vial. Volume yang ditentukan dalam Tabel 1–5, di atas, termasuk volume ekstra yang disarankan.

**Pengujian manual:** Tentukan volume yang diperlukan untuk pengenceran kuar 1:25 dalam Pengencer Kuar untuk menyiapkan Campuran Kuar (25 µl/pengujian). Volume disediakan dalam Tabel 1, halaman 30, dan Tabel 4, halaman 31, sebagaimana berlaku.

**Pengujian RCS otomatis:** Gunakan volume yang ditentukan dalam Tabel 2, halaman 31, Tabel 3, halaman 31, atau Tabel 5, halaman 32, sebagaimana berlaku.

4. Beri label wadah baru sekali pakai sebagai “Campuran Kuar HPV Berisiko Tinggi”. Bergantung pada jumlah pengujian, disarankan menggunakan baik tabung polipropilena 5 ml atau 15 ml dengan tutup bulat dan alas bulat.
5. Tambahkan jumlah Pengencer Kuar yang diperlukan (lihat Tabel 7, di bawah) ke tabung berlabel.
6. Pipet jumlah Campuran Kuar HPV Berisiko Tinggi yang diperlukan ke dalam Pengencer Kuar (lihat Tabel 7, di bawah) dengan menempatkan ujung pipet pada dinding dalam tabung tepat di atas meniskus dan keluarkan isinya.

**Penting:** Jangan celupkan ujung ke dalam Pengencer Kuar.

**Tabel 7. Persiapan Campuran Kuar**

Volume Campuran Kuar yang diperlukan	Volume Pengencer Kuar	Volume Kuar HPV Berisiko Tinggi
1,04 ml	1,0 ml	40 µl
2,08 ml	2,0 ml	80 µl
3,12 ml	3,0 ml	120 µl
4,16 ml	4,0 ml	160 µl
5,20 ml	5,0 ml	200 µl
6,24 ml	6,0 ml	240 µl
8,32 ml	8,0 ml	320 µl
9,36 ml	9,0 ml	360 µl
10,40 ml	10,0 ml	400 µl
12,48 ml	12,0 ml	480 µl
13,52 ml	13,0 ml	520 µl

7. Vorteks setidaknya selama 5 detik dengan kecepatan maksimum agar tercampur rata. Vorteks yang terlihat harus diproduksi.

## Dapar Pencucian

- Untuk pengujian manual, siapkan Dapar Pencucian selama langkah penangkapan hibrida (lihat "Tangkapan hibrida," halaman 49).
- Untuk meminimalkan paparan, tambahkan air ke Konsentrat Dapar Pencucian saat menyiapkan.
- Untuk metode pencucian pelat mikro manual, siapkan 3 liter Dapar Pencucian dalam Alat Pencucian.

**Saran:** Setiap 3 bulan, bersihkan Alat Pencucian dan masukkan ke dalam tabung dengan 0,5% larutan natrium hipoklorit dan bilas secara menyeluruh dengan air suling atau terdeionisasi untuk mencegah kemungkinan kontaminasi dari fosfatase alkali yang ada pada bakteri dan jamur.

- Untuk Pencuci Pelat Otomatis, siapkan Dapar Pencucian dan simpan dalam wadah tertutup, atau siapkan 1 liter dan tempatkan di reservoir pencucian Pencuci Pelat Otomatis.
  - Untuk pengujian RCS otomatis, siapkan jumlah yang ditentukan (sebagaimana dapat diterapkan, lihat Tabel 2, halaman 31, Tabel 3, halaman 31, atau Tabel 5, halaman 32) dalam Botol Cuci RCS.
1. Campurkan Konsentrat Dapar Pencucian dengan baik dan tambahkan volume Konsentrat Dapar Pencucian yang diperlukan (lihat Tabel 8, di bawah) ke wadah yang ditentukan.
  2. Tambahkan volume air suling atau terdeionisasi yang diperlukan (lihat Tabel 8, di bawah) ke wadah yang ditentukan.

**Tabel 8. Persiapan Dapar Pencucian**

Volume Dapar Pencucian yang diperlukan	Volume Konsentrat Dapar Pencucian	Volume air suling atau terdeionisasi
1 liter	33,3 ml	966,7 ml
2 liter	66,6 ml	1933,4 ml
3 liter	100,0 ml	2900,0 ml
6 liter	200,0 ml	5800,0 ml

3. Letakkan kertas tisu bersih berserat rendah di atas bukaan wadah dan aduk rata.
4. Tutup wadah untuk mencegah kontaminasi atau penguapan, atau tempatkan pada instrumen masing-masing, sebagaimana berlaku.
5. Beri label pada Dapar Pencucian dengan tanggal kedaluwarsa yang baru.

**Catatan:** Setelah disiapkan, Dapar Pencucian stabil selama 3 bulan pada suhu 2–30°C.

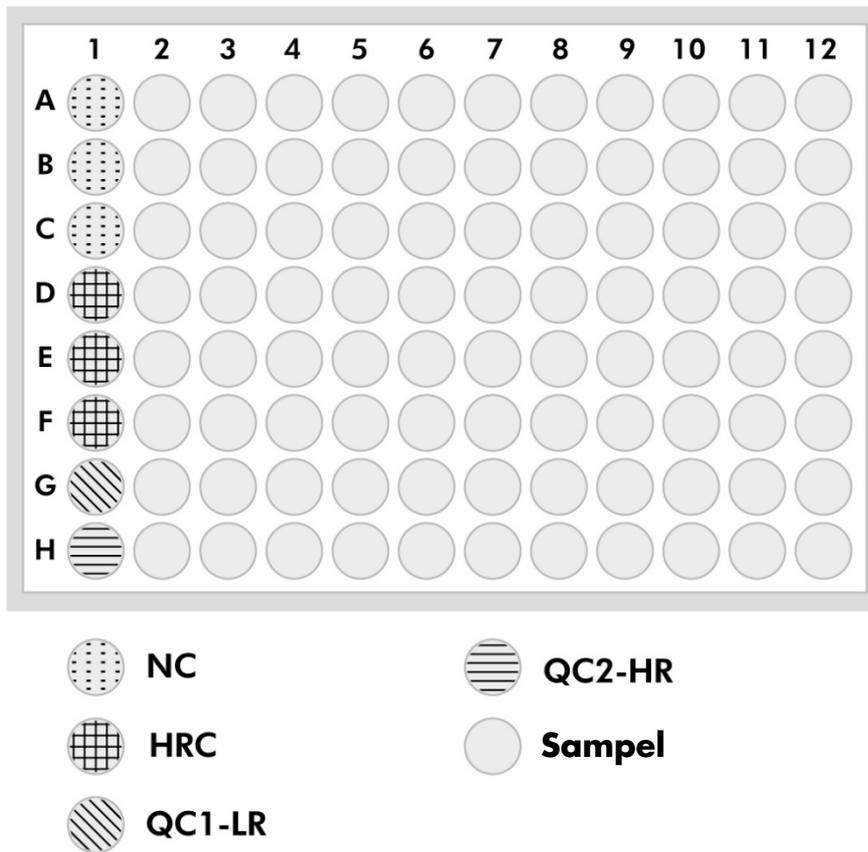
## Buat tata letak pelat

1. Buat tata letak pelat menggunakan perangkat lunak analisis uji kadar *digene* dengan protokol uji kadar *digene* untuk HPV.

Rujuk ke panduan pengguna perangkat lunak yang berlaku untuk petunjuk tentang cara membuat tata letak pelat dengan posisi yang tepat untuk kalibrator, kendali mutu, dan spesimen.

### Catatan:

- Kalibrator, kendali mutu, dan spesimen dioperasikan dalam konfigurasi kolom 8-sumuran.
- Uji kalibrator dan kendali mutu dalam posisi berikut pada pelat mikro (lihat Gambar 1, di bawah):
  - Negative Calibrator (NC) bereplikasi di sumuran pelat mikro A1, B1, C1
  - High-Risk HPV Calibrator (HRC) bereplikasi di sumuran pelat mikro D1, E1, F1
  - Low-Risk HPV Quality Control (QC1-LR) di sumuran pelat mikro G1
  - High-Risk HPV Quality Control (QC2-HR) di sumuran pelat mikro H1



Gambar 1. Posisi kalibrator, kendali mutu, dan sampel pada pelat mikro.

**Penting:** Saat melakukan pengujian RCS otomatis, gunakan protokol uji kadar khusus untuk RCS untuk membuat tata letak pelat dan menghasilkan hasil. Parameter yang ditentukan dari protokol uji kadar khusus untuk RCS berbeda dari parameter untuk protokol uji kadar pengujian manual (lihat “Perhitungan batas,” halaman 57).

2. Tempatkan kalibrator, kendali mutu, dan spesimen yang akan diuji di rak tabung pengumpul spesimen atau rak spesimen sesuai urutan pengujiannya.

**Penting:** Saat melakukan pengujian RCS otomatis, sangat penting bahwa tata letak pelat sesuai dengan spesimen yang benar yang diuji untuk mencegah pelaporan hasil spesimen yang tidak akurat. Untuk setiap rak dan tutup spesimen yang digunakan, konfirmasi bahwa nomor serinya cocok dan, sebagaimana berlaku, memberi label setiap rak dan tutup spesimen sesuai dengan urutan yang akan diuji pada RCS. Gunakan spidol dan label yang tidak akan luntur di penangas air 65°C.

## Penyiapan sampel

Spesimen PreservCyt dan SurePath memerlukan penyediaan sampel sebelum pengujian dengan *digene* HC2 High-Risk HPV DNA Test. Bergantung pada jenis penyiapan sampel yang dilakukan, sampel yang disiapkan siap untuk berbagai tahap dari *digene* HC2 High-Risk HPV DNA Test.

Metode penyiapan sampel yang tersedia adalah sebagai berikut:

- Penyiapan sampel otomatis dari spesimen PreservCyt menggunakan QIASymphony DSP HPV Media Kit
- Penyiapan sampel otomatis dari spesimen SurePath dan pelet sel pasca-gradien menggunakan QIASymphony DSP HPV Media Kit
- Penyiapan sampel otomatis dari spesimen PreservCyt menggunakan QIASymphony DSP AXpH DNA Kit
- Penyiapan sampel manual dari spesimen PreservCyt
- Pembuatan sampel manual dari pelet sel pasca-gradien SurePath.

Penyiapan sampel dari spesimen PreservCyt menggunakan QIASymphony DSP HPV Media Kit

 Rujuk ke *Petunjuk Penggunaan QIASymphony DSP HPV Media Kit (Buku Pegangan)* untuk petunjuk untuk menyiapkan sampel PreservCyt menggunakan QIASymphony DSP HPV Media Kit.

**Penting:** Ekstrak sampel yang diproduksi sebagai hasil penyiapan sampel dari spesimen PreservCyt menggunakan QIASymphony DSP HPV Media Kit hanya dapat diuji menggunakan RCS. Kinerja manual pengujian dengan ekstrak sampel tidak divalidasi.

Hasil penyiapan sampel dari spesimen PreservCyt menggunakan QIASymphony DSP HPV Media Kit adalah ekstrak sampel dalam pelat mikro hibridisasi dengan kolom pertama kosong. Ekstrak sampel mengandung partikel magnetik, STM dan DNR dan siap untuk pengujian RCS otomatis pada tahap denaturasi. Kalibrator, kendali mutu, dan ekstrak sampel didenaturasi secara bersamaan dalam pelat mikro hibridisasi selama pengujian RCS otomatis (lihat “Denaturasi dan hibridisasi sampel yang disiapkan menggunakan QIASymphony SP,” halaman 41).

 Saat melakukan pengujian RCS otomatis dari sampel yang disiapkan menggunakan QIASymphony SP, rujuk ke *Panduan Pengguna Rapid Capture System – Menjalankan digene HC2 DNA Tests Menggunakan Sampel yang Diproses QIASymphony SP* untuk petunjuk menyelesaikan pengujian.

Penyiapan sampel dari spesimen SurePath dan pelet sel pasca-gradien SurePath menggunakan QIASymphony DSP HPV Media Kit

 Rujuk ke *Petunjuk Penggunaan QIASymphony DSP HPV Media Kit (Buku Pegangan)* untuk petunjuk menyiapkan sampel SurePath dan sampel pelet sel pasca-gradien SurePath menggunakan QIASymphony DSP HPV Media Kit.

**Penting:** Ekstrak sampel yang diproduksi sebagai hasil penyiapan sampel dari spesimen SurePath menggunakan QIASymphony DSP HPV Media Kit hanya dapat diuji menggunakan RCS. Kinerja manual pengujian dengan ekstrak sampel tidak divalidasi.

Hasil penyiapan sampel dari spesimen SurePath dan sampel pelet sel pasca-gradien SurePath menggunakan QIASymphony DSP HPV Media Kit adalah kalibrator, kendali mutu, dan ekstrak sampel dalam pelat mikro hibridisasi siap untuk pengujian RCS otomatis pada tahap hibridisasi pengujian.

 Saat melakukan pengujian RCS otomatis dari sampel yang disiapkan menggunakan QIASymphony SP, rujuk ke *Panduan Pengguna Rapid Capture System – Menjalankan digene HC2 DNA Tests Menggunakan Sampel yang Diproses QIASymphony SP* untuk petunjuk menyelesaikan pengujian.

Penyiapan sampel dari spesimen PreservCyt menggunakan QIASymphony DSP AXpH DNA Kit

 Rujuk ke *Buku Pegangan QIASymphony DSP AXpH DNA Kit* untuk petunjuk tentang penyiapan sampel dari spesimen PreservCyt.

Hasil penyiapan sampel dari spesimen PreservCyt menggunakan QIASymphony DSP AXpH DNA Kit adalah eluat DNA dalam pelat mikro hibridisasi dengan kolom pertama kosong. Eluat DNA siap untuk tahap denaturasi pengujian. Kalibrator, kendali mutu, dan eluat DNA didenaturasi secara bersamaan pada pelat mikro hibridisasi (lihat “Denaturasi dan hibridisasi sampel yang disiapkan menggunakan QIASymphony SP,” halaman 41).

Penyiapan sampel manual dari spesimen PreservCyt

 Rujuk ke petunjuk penggunaan *digene HC2 Sample Conversion Kit* untuk penyiapan sampel manual dari spesimen PreservCyt.

Penyiapan sampel manual dari spesimen PreservCyt menggunakan *digene HC2 Sample Conversion Kit* menghasilkan sampel yang siap untuk tahap hibridisasi pengujian. Siapkan kalibrator dan kendali mutu secara terpisah (lihat “Denaturasi kalibrator, kendali mutu, dan spesimen STM,” halaman 43).

Pembuatan sampel manual dari pelet sel pasca-gradien SurePath.

Penyiapan sampel manual dari pelet sel pasca-gradien SurePath menghasilkan sampel yang siap untuk tahap hibridisasi pengujian. Siapkan kalibrator dan kendali mutu secara terpisah (lihat “Denaturasi kalibrator, kendali mutu, dan spesimen STM,” halaman 43).

**Penting:** Jika pelet sel pasca-gradien dari spesimen SurePath tampaknya mengandung lebih sedikit daripada 1 ml, pelet sel pasca-gradien tidak cocok untuk pengujian dengan *digene HC2 High-Risk HPV DNA Test* karena SurePath Preservative Fluid tidak ditambahkan pasca-sitologi.

1. Setarakan pelet sel pasca-gradien SurePath ke suhu kamar dan konfirmasi volume cairan yang diamati sama dengan sekitar 2,8 ml.
2. Sentrifugasi pelet sel pasca-gradien SurePath dalam rotor ember berayun pada  $800 \pm 15 \times g$  selama  $10 \pm 1$  menit.
3. Lepaskan tabung dari sentrifugasi.
4. Segera setelah sentrifugasi, dengan cermat tuang supernatan dan secara perlahan serap setiap tabung sekitar 3 kali di atas penyeka Kimtowels atau kertas tisu berserat rendah yang setara untuk menghilangkan kelebihan cairan. Amati pelet di setiap tabung.

**Penting:** Jangan biarkan pelet sel meluncur ke bawah tabung selama penyerapan.

5. Tempatkan tabung ke dalam rak.
6. Tambahkan 200  $\mu$ l STM ke setiap pelet menggunakan pipet berulang atau saluran tunggal.

- Suspensi ulang setiap pelet dengan melakukan vorteks setiap tabung satu per satu selama 15 detik dengan kecepatan tinggi.

Jika pelet sulit disuspensi ulang, vorteks selama 5–30 detik lagi atau sampai pelet mengapung lepas dari dasar tabung dan tampak larut.

**Catatan:** Tabung dapat dicampur tanpa penutup.

- Pipet 100 µl DNR ke dalam setiap spesimen SurePath menggunakan pipet berulang atau saluran tunggal.

**Penting:** Pastikan untuk tidak menyentuh sisi tabung atau dapat terjadi kontaminasi silang pada spesimen.

- Campurkan setiap tabung secara menyeluruh dengan melakukan vorteks satu per satu dengan kecepatan tinggi selama 5 detik.

**Catatan:** Tabung dapat dicampur tanpa penutup.

- Beri label *digene* HC2 Sample Conversion Tubes atau 15 ml tabung kerucut dengan identifikasi dan tipe sampel yang berlaku (contoh "SP" untuk spesimen SurePath) dan menempatkan tabung di rak tabung.

**Penting:** Untuk pengujian RCS otomatis, *digene* HC2 Sample Conversion Tubes harus digunakan.

- Transfer seluruh volume ke tabung kerucut 15 ml yang berlaku menggunakan 7 ml pipet transfer sekali pakai dengan ujung standar atau yang setara.

- Tutup tabung kerucut dan tempatkan di rak tabung.

- Inkubasi tabung dalam penangas air  $65 \pm 2^\circ\text{C}$  selama  $90 \pm 5$  menit.

**Catatan:** Waktu inkubasi ini lebih lama dari yang diperlukan untuk jenis spesimen lain yang disetujui.

Jika pengujian akan selesai pada hari yang sama, denaturasi kalibrator dan kendali mutu (lihat "Denaturasi kalibrator, kendali mutu, dan spesimen STM," halaman 43).

- Lepaskan rak tabung dari penangas air setelah inkubasi.

Jika menggunakan rak spesimen, jangan biarkan dingin sebelum melepas tutup rak. Segera lanjutkan dengan pengujian atau lepaskan tutup rak dan DuraSeal tube sealer film.

**Catatan:** Jika rak spesimen mendingin, tabung dapat menempel pada tutup rak dan selanjutnya tumpah.

Sampel SurePath yang disiapkan dapat berupa:

- Segera diuji (dilanjutkan ke "Hibridisasi sampel STM yang disiapkan dan sampel pelet sel pasca-gradien PreservCyt dan SurePath yang disiapkan secara manual," halaman 46)
- Disimpan (lihat "Titik henti opsional dari sampel STM yang disiapkan dan sampel pelet sel pasca-gradien PreservCyt dan SurePath yang disiapkan secara manual," halaman 45)

## Denaturasi dan hibridisasi sampel yang disiapkan menggunakan QIASymphony SP

Hasil penyiapan sampel pada QIASymphony SP adalah pelat mikro hibridisasi yang mengandung sampel minimal yang disiapkan.

Jika sampel PreservCyt dibuat menggunakan QIASymphony SP, kolom pertama dari pelat mikro hibridisasi adalah kosong. Isi pelat mikro siap untuk tahap denaturasi pengujian. Kalibrator dan kendali mutu ditambahkan ke pelat mikro hibridisasi baik secara manual atau selama pengujian RCS otomatis, dan kemudian tahap denaturasi dilakukan.

Jika sampel SurePath atau sampel pelet sel pasca-gradien SurePath dibuat menggunakan QIASymphony SP, pelat tersebut mengandung sampel yang disiapkan dengan kalibrator yang didenaturasi dan kendali mutu yang dipipet ke dalam kolom pertama dari pelat mikro hibridisasi. Isi pelat mikro siap untuk pengujian RCS otomatis pada tahap hibridisasi pengujian.

**Penting:** Ekstrak sampel yang diproduksi sebagai hasil penyiapan sampel menggunakan QIASymphony DSP HPV Media Kit hanya dapat diuji menggunakan RCS. Kinerja manual pengujian dengan ekstrak sampel tidak divalidasi.

 Saat melakukan pengujian RCS otomatis dari sampel yang disiapkan menggunakan QIASymphony SP, rujuk ke Panduan Pengguna Rapid Capture System — *Menjalankan digene HC2 DNA Tests Menggunakan Sampel yang Diproses QIASymphony SP* untuk petunjuk menyelesaikan pengujian.

### Denaturasi kalibrator, kendali mutu, dan eluat DNA untuk pengujian manual

- Prosedur ini adalah untuk pengujian manual dari sampel spesimen PreservCyt yang dibuat menggunakan QIASymphony DSP AXpH DNA Kit. Jika melakukan pengujian RCS otomatis, rujuk ke *Panduan Pengguna Rapid Capture System — Menjalankan digene HC2 DNA Tests Menggunakan Sampel yang Diproses QIASymphony SP* untuk petunjuk menyelesaikan pengujian.
  - Denaturasi kalibrator dan kendali mutu dilakukan menggunakan DNR, sedangkan denaturasi dari eluat DNA dilakukan menggunakan DNR2.
1. Vorteks setiap kalibrator dan kendali mutu selama 10 detik pada pengaturan maksimum.
  2. Balikkan setiap tabung untuk mengambil bahan dari sumbat tabung.
  3. Lepaskan sumbat dari kalibrator dan tabung kendali mutu, lalu buang.

4. Dengan menggunakan pipet saluran tunggal, tambahkan 50 µl kalibrator atau kendali mutu yang berlaku ke bagian bawah dari sumuran pelat mikro hibridisasi kosong sesuai dengan tata letak pelat yang dibuat.

Jika kalibrator dan kendali mutu akan digunakan untuk pengujian tambahan, sumbat tabung dengan sumbat berulir tabung pengumpul spesimen yang baru, beri label dengan tanggal kedaluwarsa yang baru dan simpan pada suhu 2–8°C.

**Catatan:** Kalibrator dan kendali mutu yang terbuka dan tidak didenaturasi bersifat stabil selama 3 bulan pada suhu 2–8°C.

5. Lakukan vorteks secara menyeluruh DNR dan DNR2 yang disiapkan, dan alikuot masing-masing ke dalam reservoir reagen sekali pakai yang diberi label yang sesuai.

**Penting:** Pastikan untuk menambahkan reagen yang benar ke kolom pelat mikro eluat yang benar.

6. Dengan menggunakan pipet 8-saluran, tambahkan 25 µl DNR ke kolom pertama dari pelat mikro hibridisasi yang berisi kalibrator dan kendali mutu.
7. Dengan menggunakan pipet 8-saluran, tambahkan 25 µl DNR2 ke setiap hibridisasi sumuran pelat mikro yang berisi eluat DNA.
8. Tutupi pelat mikro hibridisasi dengan penutup pelat mikro dan kocok selama 30 detik pada Rotary Shaker I yang diatur pada  $1100 \pm 100$  rpm.
9. Tempatkan pelat mikro di Microplate Heater I yang disetarakan dengan  $65 \pm 2^\circ\text{C}$ , pastikan tidak menyebabkan percikan. Inkubasi pelat mikro hibridisasi selama  $45 \pm 5$  menit. Siapkan Campuran Kuar selama inkubasi ini (lihat "Campuran Kuar," halaman 33).
10. Lepaskan pelat mikro hibridisasi dari Microplate Heater I.

Kalibrator yang didenaturasi, kendali mutu, dan eluat DNA dapat berupa:

- Disimpan (lihat "Titik henti opsional dari eluat DNA," halaman 42)
- Segera diuji (dilanjutkan ke "Hibridisasi eluat DNA," halaman 43)

#### Titik henti opsional dari eluat DNA

Eluat DNA yang didenaturasi, termasuk kalibrator dan kendali mutu, ditutupi dengan penutup pelat mikro dapat disimpan pada suhu 2–8°C selama 2 minggu.

## Hibridisasi eluat DNA

1. Jika pelat mikro hibridisasi yang mengandung kalibrator yang didenaturasi, kendali mutu, dan eluat DNA telah disimpan, lepaskan penutup pelat mikro dan biarkan pelat mikro hibridisasi untuk menyeimbangkan hingga suhu 20–25°C.
2. Lakukan vorteks secara menyeluruh Campuran Kuar dan alikuot ke dalam reservoir reagen sekali pakai.
3. Secara hati-hati pipet 25 µl Campuran Kuar ke dalam setiap hibridisasi sumuran pelat mikro menggunakan pipet 8-saluran dan ujung baru untuk setiap penambahan Campuran Kuar. Hindari percikan ke belakang dan sentuh sisi hibridisasi sumuran pelat mikro.
4. Tutupi pelat mikro hibridisasi dengan penutup pelat mikro dan kocok selama  $3 \pm 2$  menit pada Rotary Shaker I yang diatur pada  $1100 \pm 100$  rpm.  
Setelah pengocokan, kalibrator, kendali mutu, dan eluat DNA harus menguning.  
Sampel yang tetap ungu mungkin tidak menerima jumlah Campuran Kuar yang tepat. Tambahkan 25 µl Campuran Kuar tambahan ke sampel yang tetap ungu dan kocok lagi. Jika sampel tetap ungu setelah mengikuti prosedur ini, uji ulang spesimen.
5. Tempatkan pelat mikro di Microplate Heater I yang disetarakan dengan  $65 \pm 2^\circ\text{C}$ , pastikan tidak menyebabkan percikan. Inkubasi pelat mikro hibridisasi selama  $60 \pm 5$  menit.
6. Lanjutkan ke “Tangkapan hibrida,” halaman 49, untuk melanjutkan pengujian.

## Denaturasi dan hibridisasi dari spesimen STM dan sampel pelet sel pasca-gradien PreservCyt dan SurePath yang disiapkan secara manual

- Saat menguji sampel pelet sel pasca-gradien PreservCyt dan SurePath yang disiapkan secara manual, tahap denaturasi tidak diperlukan untuk sampel. Namun, kalibrator dan kendali mutu yang diperlukan dengan pengujian didenaturasi sesuai dengan petunjuk di bawah.
- Beberapa spesimen STM dapat mengandung darah atau bahan biologis lain yang dapat menutupi perubahan warna pada penambahan DNR. Spesimen yang menunjukkan warna gelap sebelum penambahan DNR mungkin tidak memberikan perubahan warna yang sesuai pada tahap ini. Dalam kasus ini, kegagalan untuk menunjukkan perubahan warna yang sesuai tidak akan memengaruhi hasil pengujian. Pencampuran yang tepat dapat diverifikasi dengan mengamati perubahan warna kalibrator dan kendali mutu.

## Denaturasi kalibrator, kendali mutu, dan spesimen STM

- Jangan lepaskan alat pengumpul spesimen dari tabung spesimen setiap saat.
- Untuk menghindari hasil positif palsu, penting bahwa semua bahan spesimen harus bersentuhan dengan DNR. Pencampuran setelah penambahan DNR adalah langkah penting.

- Spesimen STM yang didenaturasi menggunakan metode MST Vortexer 2 harus menggunakan metode “Hibridisasi menggunakan pelat mikro dan Microplate Heater I” pada halaman 46. Metode “Hibridisasi menggunakan tabung mikro dan penangas air” (halaman 48) belum divalidasi dengan spesimen STM yang didenaturasi menggunakan MST Vortexer 2.

1. Lepaskan dan buang sumbat dari tabung.

**Penting:** Pertimbangkan sumbat yang dilepas dari tabung spesimen STM sebagai berpotensi menular (lihat “Peringatan dan Pencegahan,” halaman 20, untuk informasi tambahan).

2. Pipet volume DNR yang ditentukan (lihat Tabel 9, di bawah) ke dalam tabung menggunakan pipet berulang atau yang dapat disesuaikan.

Pastikan untuk tidak menyentuh sisi tabung atau dapat terjadi kontaminasi silang pada spesimen.

**Penting:** Kit 1-pelat dan 4-pelat memiliki volume berbeda untuk kalibrator HPV Berisiko Tinggi. Pastikan untuk menambahkan volume DNR yang benar.

**Catatan:** Volume DNR yang ditambahkan setara dengan setengah volume cairan di dalam tabung.

**Tabel 9. Penambahan DNR**

Kalibrator, kendali mutu, atau spesimen STM	Volume DNR yang diperlukan
Kalibrator Negatif, 2 ml	1000 µl
Kalibrator HPV Berisiko Tinggi, 1 ml	500 µl
Kalibrator HPV Berisiko Tinggi, 2 ml	1000 µl
Kendali Mutu HPV Berisiko Tinggi atau HPV Berisiko Rendah, 1 ml	500 µl
Spesimen STM, 1 ml	500 µl

3. Campurkan tabung yang menggunakan baik metode MST Vortexer 2 atau manual, metode melakukan vorteks tabung individu.

Metode MST Vortexer 2

- Tutupi tabung dengan DuraSeal tube sealer film dengan menarik film di atas tabung pada rak spesimen.
- Tempatkan tutup rak di atas tabung yang ditutup dengan film dan kunci di tempatnya dengan 2 klip samping. Potong film dengan alat pemotong.
- Pindahkan tuas bergagang merah ke posisi UP (NAIK) sehingga menjadi horizontal.
- Tempatkan rak spesimen dengan aman di dalam panduan pada MST Vortexer 2 dan dengan sudut berlekuk terbesar pada rak yang terletak di sudut kanan-depan. Amankan rak spesimen dengan menggerakkan tuas bergagang merah ke posisi "down" (turun) sehingga menjadi vertikal.
- Pastikan bahwa pengaturan kecepatan ada pada 100 (kecepatan maksimum), dan nyalakan MST Vortexer 2.

- f. Lakukan vorteks tabung selama 10 detik.
- g. Matikan MST Vortexer 2.
- h. Lepaskan rak spesimen dari MST Vortexer 2 dengan menggerakkan tuas bergagang merah ke posisi "up" (naik).

Metode melakukan vorteks tabung individu secara manual

- a. Sumbat ulang tabung dengan sumbat berulir tabung pengumpul spesimen yang baru.
- b. Campurkan setiap tabung secara menyeluruh dengan melakukan vorteks satu per satu, dengan kecepatan tinggi, selama 5 detik.

**Penting:** Selama pencampuran, vorteks cairan yang terlihat harus diamati yang mencuci seluruh permukaan bagian dalam tabung.

- c. Balikkan setiap tabung satu kali untuk mencuci bagian dalam tabung, sumbat dan pelek.
- d. Kembalikan tabung ke rak.

Cairan di dalam tabung akan berubah menjadi ungu.

4. Inkubasi tabung di dalam rak dalam penangas air  $65 \pm 2^{\circ}\text{C}$  selama  $45 \pm 5$  menit.

Untuk pengujian manual, siapkan Campuran Kuar selama inkubasi ini (lihat "Campuran Kuar," halaman 33).

5. Lepaskan tabung dari penangas air setelah inkubasi.

Jika menggunakan rak spesimen, jangan biarkan dingin sebelum melepas tutup rak. Segera lanjutkan dengan pengujian atau lepaskan tutup rak dan DuraSeal tube sealer film.

**Catatan:** Jika rak spesimen mendingin, tabung dapat menempel pada tutup rak dan selanjutnya tumpah.

Kalibrator yang didenaturasi, kendali mutu, dan spesimen DNA dapat berupa:

- Disimpan (lihat "Titik henti opsional dari sampel STM yang disiapkan dan sampel pelet sel pasca-gradien PreservCyt dan SurePath yang disiapkan secara manual," halaman 45)
- Segera diuji (dilanjutkan ke "Hibridisasi sampel STM yang disiapkan dan sampel pelet sel pasca-gradien PreservCyt dan SurePath yang disiapkan secara manual," halaman 46)

Titik henti opsional dari sampel STM yang disiapkan dan sampel pelet sel pasca-gradien PreservCyt dan SurePath yang disiapkan secara manual

**Penting:** Jangan menyimpan atau mengirimkan spesimen yang didenaturasi pada es kering.

Semua sampel yang disiapkan, termasuk kalibrator dan kendali mutu, dapat disimpan pada  $2-8^{\circ}\text{C}$  semalaman atau pada suhu  $-20^{\circ}\text{C}$  hingga 3 bulan. Maksimum 3 siklus pembekuan/pencairan dapat dilakukan dengan maksimum 2 jam pada suhu kamar selama setiap siklus pencairan.

Untuk penyimpanan semalaman pada suhu 2–8°C pada rak spesimen, tutupi sampel dengan DuraSeal tube sealer film dan ganti tutup rak.

Untuk penyimpanan pada suhu –20°C pada rak spesimen, lepaskan tutup rak dan DuraSeal tube sealer film dan pasang sumbat yang sesuai pada tabung.

Hibridisasi sampel STM yang disiapkan dan sampel pelet sel pasca-gradien PreservCyt dan SurePath yang disiapkan secara manual

 Saat melakukan pengujian RCS otomatis dari sampel STM atau sampel pelet sel pasca-gradien PreservCyt dan SurePath yang disiapkan secara manual, rujuk ke *Panduan Pengguna Rapid Capture System* untuk petunjuk menyelesaikan pengujian.

Jika kalibrator yang didenaturasi, kendali mutu, atau spesimen telah disimpan, biarkan seimbang hingga 20–25°C dan, jika disimpan di dalam rak spesimen, lepaskan dan buang sumbat dari tabung.

- Dua metode hibridisasi tersedia untuk sampel STM dan sampel pelet sel pasca-gradien PreservCyt dan SurePath yang disiapkan secara manual: “Hibridisasi yang menggunakan pelat mikro dan Microplate Heater I” dan “Hibridisasi yang menggunakan tabung mikro dan penangas air.”
- Spesimen STM yang didenaturasi menggunakan metode MST Vortexer 2 harus menggunakan “Hibridisasi menggunakan pelat mikro dan Microplate Heater I” pada halaman 46. “Hibridisasi menggunakan tabung mikro dan penangas air” (halaman 48) belum divalidasi dengan spesimen STM yang didenaturasi menggunakan MST Vortexer 2.
- Campuran Kuar bersifat kental. Pastikan bahwa Campuran Kuar tercampur rata dan bahwa jumlah yang diperlukan benar-benar dilepaskan ke dalam setiap sumuran pelat mikro hibridisasi atau tabung mikro hibridisasi.
- Saat mentransfer sampel ke pelat mikro hibridisasi atau tabung mikro hibridisasi, hindari menyentuh sisi sumuran pelat mikro hibridisasi atau tabung mikro hibridisasi karena hasil positif palsu dapat terjadi jika sampel tidak ditransfer dengan hati-hati. Batasi pembentukan gelembung udara. Gunakan ujung pipet yang bersih dan ekstra panjang untuk setiap transfer untuk menghindari kontaminasi silang.

Hibridisasi menggunakan pelat mikro dan Microplate Heater I

1. Dapatkan dan beri label pelat mikro hibridisasi.
2. Lakukan vorteks menggunakan salah satu dari metode berikut:

Kalibrator, kendali mutu, atau sampel STM dengan MST Vortexer 2

- a. Apabila bisa diterapkan, tutupi tabung dengan DuraSeal tube sealer film dan amankan tutup rak pada rak spesimen.
- b. Lakukan vorteks rak spesimen selama minimum 5 detik pada pengaturan kecepatan maksimum.
- c. Segera tempatkan rak spesimen di atas bangku dan lepaskan kaitnya. Angkat tutup rak sekitar 1 cm, dan gerakkan secara perlahan ke kiri dan kanan untuk melepaskan berbagai tabung yang dapat menempel pada DuraSeal tube sealer film. Lepaskan tutup rak dengan mengangkatnya tegak lurus ke atas sampai bersih dari rak spesimen.
- d. Secara hati-hati kupas DuraSeal tube sealer film dari tutup rak dan buang.

Sampel pelet sel pasca-gradien PreservCyt atau SurePath dengan MST Vortexer 2

- a. Apabila bisa diterapkan, tutupi tabung dengan DuraSeal tube sealer film dan amankan tutup rak pada rak spesimen.
- b. Lakukan vorteks Conversion Rack selama minimum 10 detik pada pengaturan kecepatan maksimum.
- c. Segera tempatkan rak spesimen di atas bangku dan lepaskan kaitnya. Angkat tutup rak sekitar 1 cm dan gerakkan secara perlahan ke kiri dan kanan untuk melepaskan berbagai tabung yang dapat menempel pada DuraSeal tube sealer film. Lepaskan tutup rak dengan mengangkatnya tegak lurus ke atas sampai bersih dari rak spesimen.
- d. Secara hati-hati kupas DuraSeal tube sealer film dari tutup rak dan buang.

Semua jenis sampel dengan vortekser

- a. Lakukan vorteks setiap tabung satu per satu setidaknya selama 5 detik.
3. Dengan menggunakan pipet EXPAND-4 atau pipet saluran tunggal dengan ujung pipet ekstra panjang, pindahkan 75 µl dari setiap kalibrator, kendali mutu, atau sampel ke bagian bawah sumuran pelat mikro hibridisasi kosong sesuai dengan tata letak pelat yang dibuat.

Jika sampel akan disimpan, sumbat kalibrator yang didenaturasi, kendali mutu, dan sampel STM dengan sumbat berulir tabung pengumpul spesimen yang baru, dan tempatkan sumbat asli untuk setiap sampel pada Sampel pelet sel pasca-gradien PreservCyt dan SurePath.

**Catatan:** Simpan sampel sesuai dengan batas yang dirinci dalam “Titik henti opsional dari sampel STM yang disiapkan dan sampel pelet sel pasca-gradien PreservCyt dan SurePath yang disiapkan secara manual”, halaman 45.

4. Setelah mentransfer sampel terakhir, tutupi pelat mikro hibridisasi dengan penutup pelat mikro dan inkubasi selama 10 menit pada suhu 20–25°C.
5. Lakukan vorteks secara menyeluruh Campuran Kuar dan alikuot ke dalam reservoir reagen sekali pakai.

6. Secara hati-hati pipet 25 µl Campuran Kuar ke dalam setiap hibridisasi sumuran pelat mikro menggunakan pipet 8-saluran dan ujung baru untuk setiap penambahan Campuran Kuar. Hindari percikan ke belakang dan sentuh sisi hibridisasi sumuran pelat mikro.
7. Tutupi pelat mikro hibridisasi dengan penutup pelat mikro dan kocok selama  $3 \pm 2$  menit pada Rotary Shaker I yang diatur pada  $1100 \pm 100$  rpm.  
Setelah pengocokan, kalibrator, kendali mutu, sampel STM, dan sampel pelet sel pasca-gradien SurePath harus menguning dan sampel PreservCyt menjadi merah muda.  
Sampel yang tetap ungu mungkin tidak menerima jumlah Campuran Kuar yang tepat. Tambahkan 25 µl Campuran Kuar tambahan ke sampel yang tetap ungu dan kocok lagi. Jika sampel tetap ungu setelah mengikuti prosedur ini, uji ulang spesimen.
8. Tempatkan pelat mikro di Microplate Heater I yang disetarakan dengan  $65 \pm 2^\circ\text{C}$ , pastikan tidak menyebabkan percikan. Inkubasi pelat mikro hibridisasi selama  $60 \pm 5$  menit.
9. Lanjutkan ke "Tangkapan hibrida," halaman 49, untuk melanjutkan pengujian.

#### Hibridisasi menggunakan tabung mikro dan penangas air

1. Beri label dan tempatkan jumlah tabung mikro hibridisasi bersih yang diperlukan hibridisasi ke dalam rak tabung mikro.
2. Vorteks setiap kalibrator, kendali mutu, dan tabung sampel satu per satu setidaknya selama 5 detik sebelum melepaskan sampel.
3. Dengan menggunakan pipet saluran tunggal dengan ujung pipet ekstra panjang, transfer 75 µl dari setiap kalibrator, kendali mutu, atau sampel ke bagian bawah tabung mikro hibridisasi yang berlaku sesuai dengan tata letak pelat yang dibuat.  
Jika sampel akan disimpan, sumbat kalibrator yang didenaturasi, kendali mutu, dan sampel STM dengan sumbat berulir tabung pengumpul spesimen yang baru, dan tempatkan sumbat asli untuk setiap sampel pada Sampel pelet sel pasca-gradien PreservCyt dan SurePath.  
**Catatan:** Simpan sampel sesuai dengan batas yang dirinci dalam "Titik henti opsional dari sampel STM yang disiapkan dan sampel pelet sel pasca-gradien PreservCyt dan SurePath yang disiapkan secara manual," halaman 45.
4. Setelah mentransfer sampel terakhir, inkubasi tabung mikro hibridisasi selama 10 menit pada suhu  $20\text{--}25^\circ\text{C}$ .
5. Lakukan vorteks secara menyeluruh Campuran Kuar dan alikuot ke dalam reservoir reagen sekali pakai.
6. Secara hati-hati pipet 25 µl Campuran Kuar ke dalam setiap tabung mikro hibridisasi menggunakan pipet 8-saluran dan ujung baru untuk setiap baris.

Hindari percikan ke belakang dan sentuh sisi tabung mikro hibridisasi.

Periksa rak dari bawah untuk memastikan bahwa semua tabung mikro hibridisasi telah menerima jumlah Campuran Kuar yang benar.

7. Tutupi tabung mikro hibridisasi dengan penyegel pelat. Tempatkan penutup rak di atas rak. Kocok rak tabung mikro selama  $3 \pm 2$  menit pada Rotary Shaker I yang diatur pada  $1100 \pm 100$  rpm.

Setelah pengocokan, kalibrator, kendali mutu, sampel STM, dan sampel pelet sel pasca-gradien SurePath harus menguning dan sampel PreservCyt menjadi merah muda.

Sampel yang tetap ungu mungkin tidak menerima jumlah Campuran Kuar yang tepat.

Tambahkan 25  $\mu$ l Campuran Kuar tambahan ke sampel yang tetap ungu dan kocok lagi. Jika sampel tetap ungu setelah mengikuti prosedur ini, uji ulang spesimen.

8. Inkubasi rak tabung mikro selama  $60 \pm 5$  menit dalam penangas air  $65 \pm 2^{\circ}\text{C}$ .

Pastikan bahwa ketinggian air di dalam penangas air cukup untuk menutupi seluruh volume tabung mikro hibridisasi.

**Catatan:** Rak tabung mikro akan mengapung di penangas air.

9. Lanjutkan ke "Tangkapan hibrida" untuk melanjutkan pengujian.

## Tangkapan hibrida

1. Lepaskan semua kecuali jumlah sumuran pelat mikro tangkapan yang diperlukan dari rangka pelat.
2. Kembalikan sumuran pelat mikro tangkapan yang tidak digunakan ke kantong aslinya dan tutup kembali.
3. Dengan spidol, secara berurutan beri nomor setiap kolom dan beri label pelat mikro tangkapan dengan pengenal yang berlaku.  
Sampel akan ditambahkan ke sumuran pelat mikro tangkapan sesuai dengan tata letak pelat yang dibuat.
4. Apabila bisa diterapkan, dengan cermat lepaskan pelat mikro hibridisasi dari Microplate Heater I atau rak tabung mikro dari penangas air.  
Segera lepaskan penutup pelat mikro dan tempatkan pada permukaan yang bersih atau lepaskan tutup rak dan secara perlahan tarik penyegel pelat ke atas dan lintasi rak tabung mikro.
5. Dengan menggunakan pipet 8-saluran, transfer seluruh isi (sekitar 100  $\mu$ l) dari sumuran pelat mikro hibridisasi atau tabung mikro hibridisasi ke bagian bawah dari sumuran pelat mikro tangkapan yang sesuai.

Gunakan ujung pipet yang baru untuk setiap transfer dan biarkan setiap ujung pipet untuk mengeringkan untuk memastikan transfer sampel selesai. Jika diinginkan, pipet dapat diratakan dengan meletakkan bagian tengah dari ujung pipet di tepi atas dari sumuran pelat mikro tangkapan (lihat Gambar 2, di bawah).



**Gambar 2. Pemipetan yang benar.**

6. Tutupi pelat mikro tangkapan dengan penutup pelat mikro atau penyegel pelat yang baru dan kocok selama  $60 \pm 5$  menit pada Rotary Shaker I pada  $1100 \pm 100$  rpm pada  $20-25^{\circ}\text{C}$ .  
Siapkan Dapar Pencucian selama inkubasi ini (lihat “Dapar Pencucian,” halaman 35).
7. Setelah inkubasi selesai, lepaskan pelat mikro tangkapan dari Rotary Shaker I dan secara hati-hati lepaskan penutup pelat mikro atau penyegel pelat.
8. Lepaskan cairan dari sumuran pelat mikro tangkapan dengan membuangnya ke bak cuci; balikkan sepenuhnya pelat mikro tangkapan di atas bak cuci dan kocok dengan kuat dengan gerakan ke bawah.

**Penting:** Jangan mengembalikan pelat mikro.

Pastikan untuk tidak menyebabkan percikan ke belakang dengan mendekasikan juga secara cermat ke bagian bawah dari bak cuci.

9. Bersihkan dengan mengetuk secara kuat 2–3 kali pada penyeka Kimtowels yang bersih atau kertas tisu berserat rendah yang setara.

Pastikan bahwa semua cairan dilepas dari sumuran pelat mikro tangkapan dan bagian atas dari pelat mikro tangkapan adalah kering.

10. Lanjutkan ke “Deteksi hibrida” untuk melanjutkan pengujian.

## Deteksi hibrida

- Lakukan penambahan reagen di seluruh pelat mikro tangkapan dengan arah kiri-kekanan yang menggunakan pipet 8-saluran. Seka ujung pada reservoir reagen sekali pakai untuk melepaskan reagen berlebih sebelum dikirim ke pelat mikro.
  - Jika pipet 8-saluran tidak digunakan, pipet berulang dapat diganti. Alikuot DR1 ke dalam tabung polipropilena dengan ukuran yang cukup untuk menampung volume yang diperlukan.
  - Disarankan bahwa teknik pemipetan terbalik digunakan untuk meningkatkan konsistensi pengiriman reagen. Prosedurnya dijelaskan di bawah ini.
  - Jika diinginkan, pipet dapat diratakan dengan meletakkan bagian tengah dari ujung pipet di tepi atas dari sumuran pelat mikro tangkapan. Pastikan untuk tidak menyentuh sisi sumuran pelat mikro tangkapan karena kontaminasi silang dari sampel dapat terjadi (lihat Gambar 2, halaman 50).
1. Campurkan DR1 secara menyeluruh, dan secara hati-hati mentransfer volume yang berlaku (sebagaimana dapat diterapkan, lihat Tabel 1, halaman 30, atau Tabel 4, halaman 31) ke dalam reservoir reagen sekali pakai yang bersih.
  2. Secara hati-hati pipet 75 µl DR1 ke dalam setiap sumuran pelat mikro tangkapan menggunakan teknik pemipetan terbalik, sebagai berikut:
    - a. Lampirkan ujung ke pipet 8-saluran; pastikan semua ujung terpasang dengan benar.
    - b. Dorong pengisap tekan dari pipet melewati pemberhentian pertama ke pemberhentian kedua.
    - c. Celupkan ujung ke dalam reagen.
    - d. Lepaskan pengisap tekan secara perlahan dan biarkan reagen untuk mengisi ujungnya.
    - e. Keluarkan reagen ke dalam sumuran pelat mikro dengan menekan pengisap tekan ke pemberhentian pertama. Jangan lepaskan pengisap tekan sampai ujung pipet telah terbenam ke dalam reagen.
    - f. Isi ulang ujung dan ulangi sampai semua sumuran pelat mikro terisi.Pastikan bahwa semua sumuran pelat mikro tangkapan telah diisi dengan mengamati intensitas warna merah muda. Semua sumuran pelat mikro tangkapan harus memiliki intensitas merah muda yang serupa.
  3. Tutupi pelat mikro tangkapan dengan penutup pelat mikro, bersihkan Parafilm atau yang setara dan inkubasi selama 30–45 menit pada suhu 20–25°C.
  4. Lanjutkan ke “Pencucian” untuk melanjutkan pengujian.

## Pencucian

Cuci pelat mikro tangkapan menggunakan salah satu dari metode di bawah.

### Metode Pencuci Pelat Otomatis

Selalu nyalakan Pencuci Pelat Otomatis. Pastikan bahwa reservoir bilasan terisi dan reservoir limbah kosong. Pencuci Pelat Otomatis akan secara rutin membilas sistem untuk pembilasan. Rujuk ke *Panduan Pengguna Pencuci Pelat Otomatis* untuk petunjuk tambahan.

- Pastikan bahwa reservoir pencucian terisi setidaknya sampai tanda 1 liter dengan Dapar Pencucian. Jika tidak, siapkan Dapar Pencucian (lihat “Dapar Pencucian,” halaman 35).
  - Pastikan bahwa reservoir bilasan terisi dengan air terdeionisasi atau suling.
  - Pastikan bahwa reservoir limbah kosong dan sumbatnya terpasang erat.
  - Pencuci Pelat Otomatis secara otomatis akan melakukan sebelum setiap pencucian dan bilas setelah setiap pencucian.
  - Jika hanya sebagian keping dari sumuran pelat mikro tangkapan yang digunakan, tempatkan sumuran pelat mikro kosong di pelat mikro tangkapan untuk melengkapi kolom sebelum pencucian.
1. Lepaskan penutup pelat mikro dan tempatkan pelat mikro tangkapan pada platform Pencuci Pelat Otomatis.
  2. Pastikan bahwa Pencuci Pelat Otomatis dinyalakan dan bahwa layar membaca **Digene Wash Ready** (Digene Wash Siap) atau **P1**.
  3. Pilih jumlah keping yang akan dicuci dengan menekan tombol **Rows** (Baris) dan kemudian **+** atau **-** untuk menyesuaikan.
  4. Tekan tombol **Rows** (Baris) agar kembali ke **Digene Wash Ready** (Digene Wash Siap) atau **P1**.
  5. Tekan tombol **Start/Stop** (Mulai/Setop) untuk memulai.  
Pencuci Pelat Otomatis akan melakukan 6 siklus pengisian-dan-pengembusan yang membutuhkan waktu sekitar 10 menit. Akan ada jeda singkat selama program; jangan lepaskan pelat mikro sebelum waktunya.  
Saat Pencuci Pelat Otomatis selesai dicuci, akan terbaca **Digene Wash Ready** (Pencucian Digene Siap) atau **P1**.
  6. Lepaskan pelat mikro tangkapan dari platform Pencuci Pelat Otomatis saat program selesai.  
Pelat mikro tangkapan akan tampak putih, dan tidak ada cairan merah muda sisa yang tersisa di sumuran pelat mikro tangkapan.
  7. Lanjutkan ke “Amplifikasi sinyal,” halaman 54, untuk melanjutkan pengujian.

## Metode pencucian manual

1. Lepaskan DR1 dari sumuran pelat mikro tangkapan dengan menempatkan penyeka Kimtowels yang bersih atau kertas tisu berserat rendah yang setara di atas pelat mikro tangkapan.
2. Pastikan bahwa kertas tisu bersentuhan dengan seluruh area permukaan pelat mikro tangkapan dan balikkan secara hati-hati.
3. Biarkan pelat mikro tangkapan mengering selama 1–2 menit.
4. Warnai penyeka Kimtowels yang bersih atau kertas tisu berserat rendah yang setara. Secara hati-hati buang kertas tisu yang digunakan untuk menghindari kontaminasi fosfatase alkali.
5. Dengan menggunakan alat pencucian, secara manual cuci pelat mikro tangkapan 6 kali. Untuk mencuci dengan benar, siram setiap sumuran pelat mikro tangkapan dengan Dapar Pencucian. Tindakan ini akan melepaskan DR1 dari bagian atas sumuran pelat mikro tangkapan. Pencucian dimulai pada sumuran pelat mikro tangkapan A1 dan berlanjut dengan cara berkelok-kelok ke kanan dan ke bawah. Setelah semua sumuran pelat mikro tangkapan diisi, dekantasi cairan ke dalam bak cuci dengan gerakan ke bawah yang kuat. Cucian kedua dimulai pada sumuran pelat mikro tangkapan H12 yang bergerak dengan gerakan berkelok-kelok ke kiri dan ke atas. Rangkaian 2 pencucian ini diulangi 2 kali lebih banyak untuk total 6 pencucian per sumuran pelat mikro tangkapan.
6. Setelah pencucian, serap pelat mikro tangkapan dengan membalikannya di atas penyeka Kimtowels yang bersih atau kertas tisu berserat rendah yang setara dan mengetuknya dengan kuat 3–4 kali. Ganti kertas tisu dan serap lagi.
7. Biarkan pelat mikro tangkapan dibalik dan biarkan mengering selama 5 menit. Serap pelat mikro tangkapan sekali lagi. Pelat mikro tangkapan akan tampak putih, dan tidak ada cairan sisa merah muda yang tersisa di sumuran pelat mikro tangkapan.
8. Lanjutkan ke “Amplifikasi sinyal,” halaman 54, untuk melanjutkan pengujian.

## Amplifikasi sinyal

- Gunakan sarung tangan baru untuk menangani DR2.
  - Lakukan penambahan reagen di seluruh pelat mikro tangkapan dengan arah kiri-ke-kanan yang menggunakan pipet 8-saluran.
  - Jika pipet 8-saluran tidak digunakan, pipet berulang dapat diganti. Alikuot DR2 ke dalam tabung polipropilena dengan ukuran yang cukup untuk menampung volume yang diperlukan.
  - Tambahkan DR2 tanpa gangguan. Waktu inkubasi dari semua sumuran pelat mikro tangkapan harus sedekat mungkin.
  - Pastikan untuk tidak menyentuh sisi sumuran pelat mikro tangkapan atau reagen percikan pada ujungnya karena kontaminasi silang dari spesimen dapat terjadi (lihat Gambar 2, halaman 50).
1. Campurkan DR2 secara menyeluruh, dan transfer volume yang berlaku (sebagaimana dapat diterapkan, lihat Tabel 1, halaman 30, atau Tabel 4, halaman 31) ke dalam reservoir reagen sekali pakai yang bersih.
  2. Secara hati-hati pipet 75 µl DR2 ke dalam setiap sumuran pelat mikro tangkapan menggunakan teknik pemipetan terbalik yang dijelaskan sebelumnya (lihat “Deteksi hibrida,” halaman 51).  
Pastikan bahwa semua sumuran pelat mikro tangkapan telah diisi secara akurat dengan mengamati intensitas warna kuning; semua sumuran pelat mikro tangkapan harus memiliki intensitas kuning serupa.
  3. Tutupi pelat mikro tangkapan dengan penutup pelat mikro dan inkubasi pada suhu 20–25°C selama 15 menit (dan tidak lebih dari 30 menit inkubasi).  
**Penting:** Hindari sinar matahari langsung.
  4. Lanjutkan ke “Ukur pelat mikro tangkapan dan menghasilkan hasil” untuk melanjutkan pengujian.

## Ukur pelat mikro tangkapan dan menghasilkan hasil

1. Ukur pelat mikro tangkapan menggunakan instrumen DML.  
Rujuk ke panduan pengguna perangkat lunak masing-masing untuk detail tentang mengukur pelat mikro tangkapan dan menghasilkan laporan hasil pengujian. Perangkat lunak analisis uji kadar *digene* akan memungkinkan entriinformasi pengujian yang bersangkutan.
2. Jika pelat mikro tangkapan penuh tidak digunakan, lepaskan sumuran pelat mikro tangkapan yang digunakan dari rangka pelat mikro, bilas rangka pelat mikro secara menyeluruh dengan air suling atau terdeionisasi, keringkan dan simpan untuk pengujian berikutnya.
3. Buang semua alikuot reagen dan reagen yang dibuat, kecuali ditentukan lain.  
Encerkan DNR yang tersisa di dalam botol sebelum dibuang sesuai dengan prosedur laboratorium nasional dan daerah.

## Interpretasi Hasil

Uji kadar *digene* HC2 High-Risk HPV DNA Test CO 1pg/ml setara dengan 100.000 HPV tiruan/ml atau 5.000 HPV tiruan per uji kadar.

### Hasil pengujian spesimen STM

Spesimen STM dengan nilai RLU/CO  $\geq 1,0$  dianggap "positive" (positif) untuk 1 atau lebih jenis HPV 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59 dan 68.

Spesimen STM dengan nilai RLU/CO  $< 1,0$  dianggap "negative" (negatif) atau ("no HPV DNA detected") (tidak ada DNA HPV yang terdeteksi) untuk 13 jenis HPV yang diuji. Sekuens HPV berisiko tinggi DNA baik tidak ada atau level DNA HPV ada di bawah batas deteksi uji.

### Hasil pengujian spesimen SurePath

Spesimen SurePath dengan nilai RLU/CO  $\geq 1,0$  dianggap "positive" (positif) untuk 1 atau lebih jenis HPV 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59 dan 68.

Spesimen SurePath dengan nilai RLU/CO  $< 1,0$  dianggap "negative" (negatif) atau "no HPV DNA detected" (tidak ada DNA HPV yang terdeteksi) untuk 13 jenis HPV yang diuji. Sekuens DNA HPV baik tidak ada atau level DNA HPV ada di bawah batas deteksi uji.

### Hasil pengujian spesimen PreservCyt

Spesimen PreservCyt dengan nilai RLU/CO  $\geq 1,0$  dianggap "positive" (positif) untuk 1 atau lebih jenis HPV 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, dan 68.

Spesimen PreservCyt nilai RLU/CO  $< 1,0$  dianggap "negative" (negatif) atau "no HPV DNA detected" (tidak ada DNA HPV yang terdeteksi) untuk 13 jenis HPV yang diuji. Sekuens DNA HPV baik tidak ada atau level DNA HPV ada di bawah batas deteksi uji.

Untuk spesimen PreservCyt dengan nilai RLU/CO  $\geq 1,0$  dan  $< 2,5$ , QIAGEN menyarankan pengujian ulang spesimen, sebagai berikut:

- Jika uji ulang pertama RLU/CO adalah  $\geq 1,0$ , laporkan spesimen sebagai "positive" (positif). Tidak diperlukan pengujian lebih lanjut.
- Jika uji ulang pertama RLU/CO adalah  $< 1,0$ , uji ulang kedua (hasil ketiga) diperlukan. Hasil kedua adalah hasil akhir ( $< 1,0$  negatif,  $\geq 1,0$  positif) dan dilaporkan.

## Nilai RLU/CO mendekati 1,0

Jika RLU/CO dari spesimen mendekati, tetapi lebih sedikit daripada, 1,0 dan dicurigai adanya infeksi HPV berisiko tinggi, pertimbangkan metode pengujian alternatif dan/atau spesimen pengulangan.

## Jenis HPV lain

Dikarenakan uji kadar ini hanya mendeteksi HPV berisiko tinggi jenis 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, dan 68, harap diketahui bahwa jenis HPV berisiko rendah lain dapat ditemukan di dalam spesimen. Jika pengujian secara spesifik untuk adanya HPV berisiko rendah yang ditularkan secara seksual, gunakan *digene* HC2 HPV DNA Test, yang mendeteksi jenis DNA HPV berisiko rendah dan berisiko tinggi.

## Verifikasi Kalibrasi Uji Kadar

Verifikasi kalibrasi uji kadar dilakukan untuk memastikan bahwa reagen, kalibrator, dan kendali mutu berfungsi secara baik, sehingga memungkinkan uji kadar CO yang akurat. *digene* HC2 High-Risk HPV DNA Test memerlukan kalibrasi uji kadar dengan setiap pengujian; oleh karena itu setiap uji kadar perlu diverifikasi. Prosedur verifikasi ini tidak dimaksudkan sebagai pengganti untuk pengujian kendali mutu internal. Kisaran yang dapat diterima untuk kalibrasi uji kadar dan kendali mutu telah ditetapkan hanya untuk instrumen DML yang disetujui oleh QIAGEN.

Kalibrasi uji kadar secara otomatis dilakukan dengan perangkat lunak analisis *digene* dan dicetak pada laporan analisis data. Namun, pengguna dengan *digene* Qualitative Software versi 1.03 atau sebelumnya harus secara manual melakukan verifikasi kalibrasi uji kadar sebelum hasil pasien dapat dilaporkan. Hubungi Layanan Teknis QIAGEN untuk informasi lebih lanjut.

Pengujian harus memenuhi kriteria kalibrasi uji kadar yang ditentukan. Jika salah satu kriteria berikut tidak valid, perangkat lunak tersebut tidak akan menginterpretasikan hasil spesimen.

### Kalibrator negatif

NC harus diuji dalam rangkap tiga dengan setiap pengujian. Rata-rata NC harus berupa  $\geq 10$  dan  $\leq 250$  RLU dan koefisien variasi (CV) harus berupa  $\leq 25\%$ . Jika CV adalah  $> 25\%$ , perangkat lunak menghilangkan nilai RLU terjauh dari rata-rata sebagai bagian luar dan menghitung ulang rata-rata dan CV yang menggunakan nilai yang tersisa.

Jika CV tetap  $> 25\%$ , kalibrasi uji kadar tidak valid dan pengujian harus diulang untuk semua spesimen pasien. Oleh karena itu, jangan laporkan hasil spesimen pasien.

## Kalibrator positif

HRC harus diuji rangkap tiga dengan setiap pengujian. CV dari HRC harus berupa  $\leq 15\%$ . Jika CV adalah  $>15\%$ , perangkat lunak menghilangkan nilai RLU terjauh dari rata-rata sebagai bagian luar dan menghitung ulang rata-rata dan CV yang menggunakan nilai yang tersisa.

Jika CV tetap  $>15\%$ , kalibrasi uji kadar tidak valid dan pengujian harus diulang untuk semua spesimen pasien. Oleh karena itu, jangan laporkan hasil spesimen pasien.

## Rata-rata kalibrator positif/rata-rata kalibrator negatif

Perangkat lunak menggunakan  $HRC\bar{x}$  dan  $NC\bar{x}$  untuk menghitung  $HRC\bar{x}/NC\bar{x}$ .  $HRC\bar{x}/NC\bar{x}$  yang valid didefinisikan sebagai  $2,0 \leq HRC\bar{x}/NC\bar{x} \leq 15$ . Jika  $HRC\bar{x}/NC\bar{x}$  adalah  $<2,0$  atau  $>15$ , kalibrasi uji kadar tidak valid dan pengujian harus diulang untuk semua spesimen pasien. Oleh karena itu, jangan laporkan hasil spesimen pasien.

## Perhitungan batas

Perangkat lunak analisis uji kadar *digene* menghitung dan melaporkan RLU/CO dan hasil positif/negatif untuk semua spesimen. CO untuk menentukan spesimen positif adalah  $HRC\bar{x}$ . Perangkat lunak analisis uji kadar *digene* menggunakan nilai RLU spesimen untuk mengekspresikan hasil sebagai RLU/CO spesimen .

Untuk pengujian RCS otomatis, protokol uji kadar HPV RCS menerapkan faktor penyesuaian kalibrasi (Calibration Adjustment Factor, CAF) 0,8 pada HRC yang valid $\bar{x}$ . CAF diperlukan sehingga karakteristik kinerja dari pengujian RCS otomatis tetap sama dengan pengujian manual. CAF hanya diterapkan pada hasil uji RCS-otomatis; oleh karena itu, penting untuk memilih protokol uji kadar yang benar untuk menghasilkan hasil pengujian yang akurat.

## Kendali mutu

Sampel kendali mutu disertakan dengan *digene* HC2 High-Risk HPV DNA Test dan harus digunakan untuk kendali mutu internal. Kendali mutu yang disediakan adalah target DNA HPV yang dikloning dan tidak berasal dari HPV tipe liar. Ini adalah jenis bahan yang sama yang digunakan untuk kalibrator yang disediakan. Kendali mutu tambahan dapat diuji menurut pedoman atau persyaratan peraturan nasional atau daerah atau organisasi yang diakreditasi. Kendali mutu yang disediakan tidak akan berfungsi sebagai kendali mutu yang sesuai untuk pemrosesan PreservCyt Solution atau SurePath Preservative Fluid.

Baca panduan pengguna perangkat lunak analisis uji kadar *digene* yang dapat berlaku untuk petunjuk tentang memasukkan nomor lot dan tanggal kedaluwarsa kendali mutu. Agar uji kadar menjadi valid, RLU/CO dari setiap kendali mutu harus ada dalam kriteria yang didefinisikan seperti yang ditentukan dalam Tabel 10, di bawah. Jika kendali mutu ada dalam rentang ini, uji kadar tersebut tidak valid dan pengujian harus diulangi. Oleh karena itu, jangan laporkan hasil pasien.

**Tabel 10. Kriteria validitas uji kadar kendali mutu**

Kendali mutu	RLU/CO minimum	RLU/CO maksimum	CV (%)
QC1-LR	0,001	0,999	≤25
QC2-HR	2	8	≤25

## Batasan

- *digene* HC2 High-Risk HPV DNA Test untuk jenis HPV 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, dan 68 tidak disarankan untuk evaluasi dugaan pelecehan seksual.
- Prevalensi infeksi HPV dalam populasi dapat memengaruhi kinerja. Nilai prediksi positif menurun saat menguji populasi dengan prevalensi rendah atau individu tanpa risiko infeksi.
- Hasil uji negatif tidak mengecualikan kemungkinan infeksi HPV karena tingkat infeksi yang sangat rendah atau kesalahan pengumpulan spesimen dapat menyebabkan hasil uji negatif palsu. Juga, uji ini tidak mendeteksi DNA dari jenis HPV berisiko tinggi (6, 11, 42, 43 dan 44).
- Infeksi dengan HPV bukan merupakan indikator definitif dari adanya penyakit serviks stadium lanjut, atau tidak menyiratkan dalam semua kasus bahwa penyakit serviks atau kanker stadium lanjut akan berkembang.
- Sejumlah kecil hibridisasi silang terjadi antara Kuar HPV Berisiko Tinggi dan jenis HPV 6, 11, 40, 42, 53, 54, 55, 66, MM4, MM7, MM8 dan MM9. Pasien yang memiliki spesimen yang mengandung jenis HPV tingkat tinggi ini dapat salah dirujuk ke kolposkopi (15, 35).
- *digene* HC2 High-Risk HPV DNA Test dirancang untuk mendeteksi jenis HPV berisiko tinggi, termasuk 39, 58, 59, dan 68. Studi analitik yang dilakukan oleh QIAGEN, menggunakan DNA plasmid HPV yang dikloning, menunjukkan bahwa pengujian mendeteksi jenis ini pada konsentrasi yang berkisar dari 0,62 pg/ml hingga 1,39 pg/ml. Hal ini setara dengan karakteristik deteksi dari jenis HPV lain yang ditargetkan dengan *digene* HC2 High-Risk HPV DNA Test. QIAGEN mampu memvalidasi deteksi jenis HPV ini hanya pada sejumlah spesimen klinis yang terbatas. Karena prevalensi yang rendah dari jenis ini dalam populasi umum (28), karakteristik kinerja dari *digene* HC2 High-Risk HPV DNA Test untuk deteksi HPV jenis 39, 58, 59 dan 68 belum dikonfirmasi secara statistik.
- Jika ada krim anti-jamur, jeli kontraseptif atau obat semprot dengan konsentrasi tinggi ada pada saat spesimen STM dikumpulkan untuk pengujian, ada kemungkinan untuk memperoleh hasil negatif-palsu jika spesimen ini mengandung level DNA HPV yang menghasilkan nilai RLU/CO dekat CO uji kadar.
- Jika ada krim anti-jamur, jeli pelincir vagina atau darah pada konsentrasi tinggi pada saat spesimen serviks PreservCyt dikumpulkan untuk penyiapan sampel dengan QIASymphony DSP HPV Media Kit, ada kemungkinan untuk didapat hasil negatif palsu jika spesimen ini mengandung level DNA HPV yang menghasilkan nilai RLU/CO mendekati CO uji kadar.
- Jika ada jeli kontraseptif pada saat spesimen serviks PreservCyt dikumpulkan untuk penyiapan sampel dengan QIASymphony DSP AXpH DNA Kit, hasil uji negatif palsu dapat terjadi.
- Jika jeli kontraseptif, krim anti-jamur atau krim anti-peradangan ada pada saat spesimen serviks SurePath dikumpulkan untuk penyiapan sampel dengan QIASymphony DSP HPV Media Kit, hasil uji negatif palsu dapat terjadi.

- 
- Reaktivitas silang antara Kuar HPV Berisiko Tinggi dan plasmid pBR322 memungkinkan. Adanya sekuens homogen pBR322 telah dilaporkan pada spesimen genital manusia dan hasil positif palsu dapat terjadi dengan adanya plasmid bakteri tingkat tinggi.
  - Saat melakukan pengujian RCS otomatis, kegagalan untuk secara visual mengamati pelat hibridisasi untuk memastikan transfer spesimen yang tepat dan kegagalan untuk mengoreksi berbagai transfer spesimen yang tidak memadai dapat menghasilkan hasil negatif palsu.

---

## Karakteristik Kinerja

Kinerja klinis saat melakukan skrining pasien dengan hasil Pap smear normal sebagai bantuan dalam penilaian risiko untuk manajemen pasien

Hasil dari 8 studi klinis independen yang dilakukan oleh institusi medis, akademis, dan pemerintah terkemuka di pusat di Amerika Serikat dan di luar negeri dijelaskan di bawah. Studi ini menggunakan metode Pap yang sudah mapan dalam penggunaan di negara-negara tempat studi dilakukan. Di semua kasus, kecuali 2, Sistem Penilaian Bethesda digunakan untuk menginterpretasikan hasil Pap. Untuk terminologi ekuivalen skrining kanker serviks di Masyarakat Eropa, rujuk ke European Guidelines for Quality Assurance in Cervical Cancer Screening (36). Selain itu, penyakit serviks stadium lanjut didiagnosis melalui penggunaan biopsi yang diarahkan dengan kolposkopi untuk setiap studi. Studi ini menilai kegunaan klinis dari *digene* HC2 High-Risk HPV DNA Test dalam perbandingan dengan Pap smear untuk wanita yang lebih tua (umumnya berusia di atas 30 tahun). Semua kecuali satu studi juga melakukan pengujian HPV prospektif yang menggunakan *digene* HC2 High-Risk HPV DNA Test.

Studi ini adalah studi skrining populasi umum penampang silang yang menggunakan *digene* HC2 High-Risk HPV DNA Test, kecuali jika disebutkan lain di bawah. Dua studi dilakukan di Amerika Serikat, 2 di Eropa, 2 di Amerika Latin, satu di Afrika dan satu di Asia.

Kinerja *digene* HC2 High-Risk HPV DNA Test yang diamati dari 6 studi penampang silang dirangkum (lihat Tabel 11 dan 12, di bawah) untuk wanita berusia 30 tahun ke atas dan didiagnosis dengan neoplasia serviks stadium lanjut yang dikonfirmasi secara histologi, yang didefinisikan sebagai neoplasia intraepitel serviks (Cervical Intraepithelial Neoplasia, CIN) 3 atau lebih parah.

**Tabel 11. Perkiraan kinerja — sensitivitas dan spesifisitas**

Populasi	n	Sensitivitas (%)			Spesifisitas (%)		
		(n/N)			(n/N)		
		95% Interval Kepercayaan (CI)			95% CI		
	Pap saja	HPV saja	HPV + Pap	Pap saja	HPV saja	HPV + Pap	
Eropa Barat 1	7592	51,6 (14/27) 32,0–71,3	96,3 (26/27) 81,0–99,9	100,0 (27/27) 87,2–100,0	98,5 (7453/7565) 98,2–98,8	96,2 (7275/7565) 95,7–96,6	95,1 (7193/7565) 94,6–95,6
Amerika Latin 1	6115	58,4 (45/77) 46,68–69,6	94,8 (73/77) 87,2–98,6	97,4 (75/77) 90,9–99,7	98,7 (5962/6038) 98,4–99,0	93,9 (5669/6038) 93,3–94,5	93,4 (5637/6038) 92,7–94,0
Amerika Latin 2*	6176	77,9 (53/68) 66,2–87,1	89,7 (61/68) 79,9–95,8	94,1 (64/68) 85,6–98,4	94,1 (5745/6108) 93,4–94,6	94,0 (5742/6108) 93,4–94,6	89,9 (5490/6108) 89,1–90,6
Afrika	2925	84,1 (90/107) 75,8–90,5	89,7 (96/107) 82,4–94,8	92,5 (99/107) 85,8–96,7	86,4 (2436/2818) 85,1–87,7	80,0 (2253/2818) 78,4–81,4	76,4 (2152/2818) 74,8–77,9
Asia	1936	97,6 (41/42) 87,4–99,9	100,0 (42/42) 91,6–100,0	100,0 (42/42) 91,6–100,0	76,3 (1445/1894) 74,3–78,2	83,0 (1572/1894) 81,2–85,0	68,0 (1287/1894) 65,8–70,1
AS 1	1040	50,0 (1/2) 1,26–98,7	100,0 (2/2) 15,8–100,0	100,0 (2/2) 15,8–100,0	97,6 (1013/1038) 96,5–98,4	96,2 (999/1038) 94,9–97,3	95,5 (991/1038) 94,0–96,7

\* data *digene* HC2 High-Risk HPV DNA Test jika tersedia, data HCS digunakan sebaliknya; data digabungkan.

**Tabel 12. Perkiraan kinerja — nilai prediksi positif dan negatif**

Populasi	n	Prevalensi	Nilai prediksi positif (%)			Nilai prediksi negatif (%)		
		CIN 3 (%) (n/N) 95% CI	Pap saja	HPV saja	HPV + Pap	Pap saja	HPV saja	HPV + Pap
Eropa Barat 1	7592	0,36 (27/7592) 0,23–0,52	11,1 (14/126) 6,2–17,9	8,23 (26/316) 5,5–11,8	6,77 (27/399) 4,5–9,7	99,83 (7453/7466) 99,7–99,9	99,99 (7275/7276) 99,9–100,0	100,0 (7193/7193) 99,9–100,0
Amerika Latin 1	6115	1,26 (77/6115) 0,99–1,57	37,2 (45/121) 28,6–46,4	16,5 (73/442) 13,2–20,3	15,8 (75/476) 12,6–19,4	99,47 (5962/5994) 99,3–99,6	99,93 (5669/5673) 99,8–100,0	99,96 (5637/5639) 99,9–100,0
Amerika Latin 2*	6176	1,10 (68/6176) 0,86–1,39	12,7 (53/416) 9,7–16,3	14,3 (61/427) 11,1–18,0	9,4 (64/682) 7,3–11,8	99,74 (5745/5760) 99,6–99,9	99,88 (5742/5749) 99,8–100,0	99,93 (5490/5494) 99,8–100,0
Afrika	2925	3,66 (107/2925) 3,01–4,40	19,1 (90/472) 15,6–22,9	14,5 (96/661) 11,9–17,4	12,9 (99/765) 10,6–15,5	99,31 (2436/2453) 98,9–99,6	99,51 (2253/2264) 99,1–99,8	99,63 (2152/2160) 99,3–99,8
Asia	1936	2,17 (42/1936) 1,57–2,92	8,37 (41/490) 6,1–11,2	11,5 (42/364) 8,4–15,3	6,47 (42/649) 4,7–8,7	99,93 (1445/1446) 99,6–100,0	100,0 (1572/1572) 99,8–100,0	100,0 (1287/1287) 99,7–100,0
AS 1	1040	0,19 (2/1040) 0,02–0,69	3,85 (1/26) 0,1–19,6	4,88 (2/41) 0,6–16,5	4,08 (2/49) 0,5–14,0	99,90 (1013/1014) 99,5–100,0	100,0 (999/999) 99,6–100,0	100,0 (991/991) 99,6–100,0

\* data *digene* HC2 High-Risk HPV DNA Test jika tersedia, data HCS digunakan sebaliknya; data digabungkan.

Di semua studi, ada peningkatan yang seragam, dan seringkali sangat signifikan dalam sensitivitas *digene* HC2 High-Risk HPV DNA Test dibandingkan Pap saja. Mengenai sensitivitas, nilai prediksi negatif dari HPV melebihi Pap saja di semua kasus, mendekati 100%. Nilai prediksi negatif ini menunjukkan kemungkinan tinggi dari tidak adanya penyakit serviks atau kanker stadium lanjut pada wanita dengan sitologi normal yang bebas dari infeksi HPV.

Meskipun spesifisitas *digene* HC2 High-Risk HPV DNA Test lebih rendah daripada untuk Pap saja, analisis rasio kemungkinan telah menunjukkan bahwa penurunan spesifisitas yang diamati tidak cukup signifikan untuk memengaruhi kegunaan klinis dari penggunaan uji untuk mengidentifikasi wanita yang sedikit berisiko atau tidak berisiko memiliki atau mengembangkan penyakit serviks. Meskipun demikian, penting bahwa keputusan untuk merujuk pasien ke kolposkopi berdasarkan pada semua informasi klinis dan risiko dan riwayat pasien yang tersedia bagi dokter. Variabel penting termasuk Riwayat infeksi HPV dan/atau Pap smear yang tidak normal, usia saat pertama kali berhubungan seksual, jumlah pasangan seksual dan penyakit yang ditularkan secara seksual bersamaan (37, 38).

Meskipun prevalensi penyakit stadium lanjut tidak bervariasi secara signifikan di antara studi yang kinerjanya ditentukan, prevalensi infeksi HPV dalam suatu populasi dapat memengaruhi kinerja dan biasanya bervariasi dengan populasi pasien. Selain itu, prevalensi infeksi HPV telah terbukti menurun secara dramatis seiring bertambahnya usia (17, 24–29, 38–40). Nilai prediksi positif menurun saat menguji populasi dengan prevalensi rendah atau individu dengan sedikit risiko infeksi.

Analisis longitudinal dilakukan menggunakan hasil dari 2 studi; satu yang dilakukan di Amerika Serikat oleh Institut Kanker Nasional (NCI) di Portland, Oregon, dan lainnya yang dilakukan di Prancis di Laboratoire Pol Bouin C.H.U. de Reims. Analisis longitudinal ini dilakukan untuk menunjukkan bahwa pasien Pap-negatif/HPV-negatif berada pada risiko yang lebih rendah untuk memiliki penyakit serviks dibandingkan dengan wanita berisiko rendah yang didefinisikan secara tradisional yang status HPVnya tidak diketahui dan dibandingkan dengan pasien Pap-negatif/HPV-positif (lihat Tabel 13 dan 14, di bawah).

**Tabel 13. Analisis longitudinal — risiko relatif dari penyakit stadium lanjut**

Kelompok studi	Usia	Klasifikasi risiko rendah	n	Kasus CIN 3	Laju (per 100 tahun pasien)	Risiko relatif (95% CI)
NCI	30 tahun ke atas	Pap normal, HPV negatif	12.054	28	0,043	0,897 (0,596–1,348)
		Pap normal berurutan*	9429	19	0,048	1,000
	Semua	Pap normal, HPV negatif	17.594	48	0,056	0,678 (0,514–0,894)
		Pap normal berurutan*	13.392	44	0,082	1,000
Prancis	30 tahun ke atas	Pap normal, HPV negatif	1690	3	0,084	0,849 (0,307–2,35)
		Pap normal berurutan†	2026	4	0,099	1,000
	Semua	Pap normal, HPV negatif	2180	3	0,066	0,491 (0,221–1,09)
		Pap normal berurutan†	2650	7	0,136	1,000

\* Tiga Pap normal selama kurang lebih 2 tahun.

† Dua Pap normal selama kurang lebih 2 tahun.

**Tabel 14. Analisis longitudinal — tingkat penyakit yang dikelompokkan berdasarkan status HPV di awal**

Kelompok studi	Usia	Status awal	n	Kasus CIN 3	Laju (per 100 tahun pasien)	Risiko relatif (95% CI)
NCI	30 tahun ke atas	Pap normal, HPV positif	1078	24	0,451	10,50 (6,13–18,0)
		Pap normal, HPV negatif	12.054	28	0,043	1,00
	Semua	Pap normal, HPV positif	2561	63	0,096	10,64 (7,33–15,5)
		Pap normal, HPV negatif	17.594	48	0,056	1,00
Prancis	30 tahun ke atas	Pap normal, HPV positif	419	14	2,346	27,3 (8,41–88,3)
		Pap normal, HPV negatif	1696	3	0,084	1,00
	Semua	Pap normal, HPV positif	619	22	2,520	37,0 (11,8–116)
		Pap normal, HPV negatif	2180	3	0,066	1,00

Kegunaan klinis dari hasil uji HPV lebih lanjut didemonstrasikan oleh peningkatan risiko penyakit serviks pada wanita HPV-positif dibandingkan dengan wanita HPV-negatif.

### Kinerja klinis saat melakukan skrining pasien dengan hasil Pap smear ASC-US untuk menentukan perlunya rujukan ke kolposkopi

Sebuah studi berjudul “Utility of HPV DNA Testing for Triage of Women with Borderline Pap Smears” dilakukan di AS pada tahun 1996 dengan arahan dari Kaiser Foundation Research Institute dan Kaiser Permanente Medical Group. Spesimen serviks untuk Pap smear rutin dan untuk *digene* HC2 High-Risk HPV DNA Test diperoleh dari wanita yang mendatangi beberapa fasilitas klinik Kaiser. Pap smears awal dievaluasi sesuai dengan Klasifikasi Bethesda. Untuk terminologi ekuivalen skrining kanker serviks di Masyarakat Eropa, rujuk ke European Guidelines for Quality Assurance in Cervical Cancer Screening (36). Wanita (15 tahun atau lebih) dengan hasil Pap smear dari sel atipikal yang tidak dapat ditentukan signifikansinya (ASC-US) kembali untuk kolposkopi dan biopsi. Spesimen histologis yang diarahkan dengan kolposkopi diperiksa oleh ahli patologi, dan diagnosis awal dibuat. Setiap spesimen histologi juga ditinjau oleh ahli patologi independen, dan perbedaan antara tinjauan awal dan tinjauan independen diputuskan oleh ahli patologi ketiga.

Spesimen awal diuji dengan prototipe dari *digene* HC2 High-Risk HPV DNA Test yang berisi kuar hingga 11 dari 13 jenis HPV (kecuali HPV jenis 59 dan 68). Perbedaan ini tidak akan diharapkan untuk menghasilkan profil kinerja yang bekerja secara signifikan untuk pengujian.

Hasil pengujian DNA HPV berisiko tinggi dan diagnosis histologi tersedia dari 885 wanita dengan Pap smear ASC-US. Pengujian pada sebagian besar pasien dilakukan dengan spesimen yang dikumpulkan di STM dan PreservCyt Solution. Karena kesamaan antara karakteristik kinerja dari *digene* HC2 High-Risk HPV DNA Test untuk Larutan STM dan PreservCyt, kinerja uji kadar hanya disajikan untuk PreservCyt Solution.

Di antaranya mewakili dengan Pap smear rujukan ASC-US , nilai prediksi negatif dari *digene* HC2 High-Risk HPV DNA Test untuk memiliki HSIL atau penyakit yang lebih besar pada kolposkopi adalah 99% (lihat Tabel 15, di bawah).

**Tabel 15. Perbandingan dari *digene* HC2 High-Risk HPV DNA Test versus histologi konsensus ; populasi Pap rujukan ASC-US; studi Kaiser, spesimen PreservCyt**

		HSIL atau lebih tinggi pada saat kolposkopi		Total
		+	-	
Hasil <i>digene</i> HC2 High-Risk HPV DNA Test	+	66	317	383
	-	5	497	502
Total		71	814	885

Sensitivitas  $[TP/(TP+FN)] = 93,0\%$  (66/71)  
 95% CI = 84,3–97,7  
 Spesifisitas  $[TN/(TN+FP)] = 61,1\%$  (497/814)  
 95% CI = 57,7–64,4  
 Prevalensi penyakit = 8,0% (71/885)  
 Nilai prediksi positif uji kadar = 17,2% (66/383)  
 Nilai prediksi negatif uji kadar = 99,0% (497/502)

Nilai prediksi positif dan negatif teoretis berdasarkan pada berbagai prevalensi untuk ASC-US awal yang ditemukan menjadi HSIL atau lebih tinggi berdasarkan pada hasil pengujian HPV berisiko tinggi ditentukan (lihat Tabel 16, di bawah).

**Tabel 16. Nilai prediksi positif dan negatif teoretis dari pengujian HPV berisiko tinggi dari hasil Pap smear ASC-US**

Prevalensi teoretis untuk HSIL	Hasil Pap smear ASC-US awal	
	Nilai prediksi positif uji kadar	Nilai prediksi negatif uji kadar
5	11,2	99,4
10	21,0	98,7
15	29,7	98,0
20	37,4	97,2
25	44,3	96,3
30	50,6	95,3

Variasi antara berbagai kelompok usia yang ada dalam studi ini ditentukan (lihat Tabel 17, di bawah).

**Tabel 17. Data studi Kaiser: Kinerja *digene* HC2 High-Risk HPV DNA Test versus hasil histologi konsensus (HSIL) — karakteristik spesifik usia**

	Usia <30	Usia 30–39	Usia >39
<b>n</b>	287	233	365
<b>Prevalensi penyakit (%)</b>	12,2	11,2	2,7
<b>Sensitivitas (%)</b>	100	88,46	80,0
<b>(n/N)</b>	(35/35)	(23/26)	(8/10)
<b>95% CI</b>	90,0–100,0	69,9–97,6	44,4–97,5
<b>Spesifisitas (%)</b>	31,4	66,2	79,15
<b>(n/N)</b>	(79/252)	(132/207)	(281/355)
<b>95 % CI</b>	25,7–37,5	59,3–72,6	74,6–83,3
<b>Nilai prediksi negatif (%)</b>	100,0	97,86	99,29
<b>(n/N)</b>	(79/79)	(137/140)	(281/283)
<b>Nilai prediksi positif (%)</b>	16,83	24,73	9,76
<b>(n/N)</b>	(35/208)	(23/93)	(8/82)

## Sensitivitas dan spesifisitas klinis untuk penentuan risiko penyakit stadium-lanjut pada wanita dengan Pap smear LSIL atau HSIL

Sebuah studi klinis multipusat yang menggunakan *digene* HC2 High-Risk HPV DNA Test dilakukan menggunakan spesimen yang dikumpulkan dari beberapa penyakit serviks besar, tinggi dan rumah sakit prevalen HPV dan klinik kolposkopi pusat medis (3 lokasi) di Amerika Serikat bagian barat dan selatan. Pengujian HPV dilakukan pada 3 lokasi investigasi yang tidak berafiliasi dengan klinik kolposkopi tempat spesimen dikumpulkan. Populasi untuk studi klinis ini terdiri dari wanita yang didiagnosis sebagai baik LSIL atau HSIL berdasarkan pada Pap smear terbaru dan dirujuk untuk kolposkopi lanjutan. Dari 702 pasien yang terdaftar, 327 memiliki hasil Pap smear lebih besar daripada ASC-US dan memiliki informasi yang tersedia yang memadai; 96 di antaranya memiliki status penyakit terakhir dari HSIL atau lebih.

Spesimen sel serviks yang dieksfoliasi diperoleh dengan baik *digene* HC2 DNA Collection Device dan kemudian ditempatkan ke dalam STM, atau dengan alat sapu yang kemudian dibilas dalam PreservCyt Solution. Spesimen dikumpulkan pada saat kolposkopi. Spesimen diuji dengan *digene* HC2 High-Risk HPV DNA Test, dan hasilnya dibandingkan dengan status penyakit yang ditentukan untuk setiap pasien. Status penyakit berdasarkan pada hasil evaluasi histologis. Namun, saat histologi negatif atau tidak ada hasil histologi, status penyakit ditentukan dengan sitologi pada saat pemeriksaan kolposkopi (lihat Tabel 18, di bawah).

*digene* HC2 High-Risk HPV DNA Test dilakukan pada 3 pusat medis metropolitan besar yang tidak berafiliasi dengan lokasi pengambilan spesimen pada kolposkopi. Sitologi dilakukan pada laboratorium patologi referensi, dan histologi dilakukan di institusi yang melakukan kolposkopi. Hasil uji dibandingkan dengan status penyakit untuk menilai sensitivitas, spesifisitas, dan nilai prediksi negatif dan positif uji untuk mendeteksi neoplasia serviks stadium lanjut. Karena kesamaan antara karakteristik kinerja *digene* HC2 High-Risk HPV DNA Test untuk STM dan PreservCyt Solution, kinerja uji kadar hanya disajikan untuk PreservCyt Solution. Tidak ada perbedaan diamati dalam hasil pengujian HPV berisiko tinggi dari spesimen STM dan spesimen PreservCyt.

**Tabel 18. Algoritma status penyakit pasien**

Hasil sitologi	Hasil histologi	Status penyakit
Negatif	Negatif atau tidak dilakukan*	Negatif
LSIL	Negatif	LSIL
HSIL	Negatif	HSIL
Kanker	Negatif	HSIL+
Negatif	LSIL	LSIL
LSIL	Tidak dilakukan*	LSIL
LSIL	LSIL	LSIL
HSIL	LSIL	LSIL
Kanker	LSIL	LSIL
Negatif	HSIL	HSIL
LSIL	HSIL	HSIL
HSIL	HSIL	HSIL
HSIL	Tidak dilakukan*	HSIL
Kanker	HSIL	HSIL
Negatif	Kanker	HSIL+
LSIL	Kanker	HSIL+
HSIL	Kanker	HSIL+
Kanker	Tidak dilakukan*	HSIL+
Kanker	Kanker	HSIL+

\* Biopsi dan/atau Kuretase Endoserviks (Endocervical Curettage, ECC) tidak dilakukan karena tidak ada kelainan yang diamati pada kolposkopi atau hasil histologi tidak tersedia.

Kinerja *digene* HC2 High-Risk HPV DNA Test ditentukan menggunakan 327 spesimen PreservCyt, 96 di antaranya dikumpulkan dari wanita yang didiagnosis dengan penyakit serviks stadium lanjut (lihat Tabel 19 dan 20, di bawah). Perbandingan dilakukan menggunakan semua pasien studi dengan hasil Pap smear rujukan abnormal.

**Tabel 19. Hasil pengujian HPV berisiko tinggi**

		Status penyakit akhir HSIL		Status penyakit akhir LSIL		Status penyakit akhir negatif		Total
		+	-	+	-	+	-	
Hasil Pap smear rujukan	LSIL	44	4	78	33	28	37	224
	HSIL	45	3	29	14	5	7	103
	Total	89	7	107	47	33	44	327
	Total	96		154		77		327

*digene* HC2 High-Risk HPV DNA Test menunjukkan sekitar 93% sensitivitas keseluruhan untuk mengidentifikasi wanita dengan neoplasia stadium lanjut dalam populasi yang dirujuk untuk kolposkopi berdasarkan diagnosis Pap smear dari LSIL, HSIL atau yang setara (lihat Tabel 20, di bawah). Pengujian juga menunjukkan nilai prediksi negatif hampir 95% dalam populasi ini.

**Tabel 20. Karakteristik kinerja dari pengujian DNA HPV berisiko tinggi di antara pasien yang memiliki Pap smear rujukan dari LSIL atau lebih tinggi dan status penyakit akhir dari HSIL**

		Status penyakit akhir		Total
		HSIL	LSIL atau negatif	
Hasil <i>digene</i> HC2 High-Risk HPV DNA Test	+	89	140	229
	-	7	91	98
	Total	96	231	327

Sensitivitas [TP/(TP+FN)] = 92,7% (89/96)  
 95% CI = 85,6–97,0  
 Spesifisitas [TN/(TN+FP)] = 39,4% (91/231)  
 95% CI = 33,1–46,0  
 Prevalensi penyakit untuk LSIL rujukan terhadap HSIL akhir = 21,4%  
 Prevalensi penyakit untuk HSIL rujukan terhadap HSIL akhir = 46,6%  
 Nilai prediksi positif keseluruhan = 38,9% (89/229)  
 Nilai prediksi negatif keseluruhan = 92,8% (91/98)

Sementara spesifisitas dari *digene* HC2 High-Risk HPV DNA Test tampaknya menjadi agak rendah, korelasi yang ketat antara tidak adanya neoplasia dan hasil HPV negatif tidak diharapkan. DNA HPV dapat ada pada wanita yang tidak berkembang menjadi penyakit stadium yang lebih tinggi. Faktanya, ketika pengujian Reaksi Rantai Polimerase (Polymerase Chain Reaction, PCR) HPV (penelitian hanya menggunakan uji kadar) dilakukan pada spesimen dengan hasil *digene* HC2 High-Risk HPV DNA Test positif dan yang status penyakitnya kurang dari neoplasia stadium rendah, hampir 75% positif.

Nilai prediksi positif dan negatif teoretis dari *digene* HC2 High-Risk HPV DNA Test untuk hasil Pap smear LSIL atau HSIL awal yang ditemukan menjadi HSIL atau penyakit yang lebih parah pada kolposkopi ditentukan (lihat Tabel 21, di bawah).

**Tabel 21. Nilai prediksi positif dan negatif teoretis dari *digene* HC2 High-Risk HPV DNA Test dari hasil Pap smear LSIL atau HSIL awal**

Prevalensi teoretis untuk HSIL	Hasil Pap smear LSIL atau HSIL awal	
	Nilai prediksi positif uji kadar	Nilai prediksi negatif uji kadar
5	7,4	99,0
10	14,5	97,9
15	21,2	96,8
20	27,6	95,5
25	33,7	94,1
30	39,6	92,6
35	45,1	90,9
40	50,4	89,0
45	55,5	86,8
50	60,4	84,3

## Kinerja vagina atau pengambilan sendiri

Dalam literatur yang dikutip untuk kinerja *digene* HC2 High-Risk HPV DNA Test dari spesimen vagina yang dikumpulkan sendiri, lebih dari 141.000 wanita terdaftar antara usia 16–54 tahun. Kelompok studi termasuk wanita dari Tiongkok (41, 42), Meksiko (43, 44) dan Britania Raya (45). Desain studi sedikit bervariasi, tetapi pada umumnya wanita dengan hasil uji positif ditawarkan pemeriksaan lebih lanjut dengan kolposkopi, dan hasilnya dilaporkan dalam hal sensitivitas dan spesifisitas versus metode perbandingan.

Dalam dua studi yang datanya tersedia untuk membandingkan spesimen yang diambil sendiri versus diambil oleh dokter, hasilnya mengindikasikan sensitivitas yang tinggi untuk CIN2+ untuk kedua metode (42, 45), 81–85% untuk spesimen yang diambil sendiri vs. 96–100% untuk spesimen diambil oleh dokter. Hasil spesifisitas serupa untuk CIN2+ untuk kedua metode (42, 45), 81–82% untuk spesimen yang diambil sendiri vs. 83–85% untuk spesimen diambil oleh dokter. Dalam studi lain hanya dengan data kinerja yang dikumpulkan sendiri tersedia, kinerja dari sensitivitas *digene* HC2 High-Risk HPV DNA Test untuk CIN2+ adalah 3,4 kali lebih besar daripada sitologi (43) dan 98% sensitivitas sebelum penyesuaian bias verifikasi (44).

## Sensitivitas analisis

Panel non-klinis dari DNA plasmid HPV yang dikloning diuji untuk menentukan apakah masing-masing dari 13 jenis HPV dapat dideteksi dengan *digene* HC2 High-Risk HPV DNA Test dan untuk menentukan sensitivitas analisis uji kadar untuk setiap jenis HPV. Setiap konsentrasi target HPV (100 pg/ml, 10 pg/ml, 2,5 pg/ml, 1,0 pg/ml, 0,5 pg/ml dan 0,2 pg/ml) dari masing-masing 13 jenis DNA HPV (16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, dan 68) dijalankan rangkap tiga. RLU rata-rata untuk setiap konsentrasi dari setiap jenis HPV dihitung dan dibandingkan dengan Kalibrator Positif.

Batas yang dapat dideteksi dari setiap jenis HPV dalam STM ditentukan (lihat Tabel 22, di bawah). Batas yang dapat dideteksi bervariasi dari 0,62 pg/ml hingga 1,39 pg/ml, tergantung pada jenis HPV yang diuji. Batas rata-rata yang dapat dideteksi dari semua 13 jenis DNA HPV adalah 1,08 pg/ml dengan simpangan baku 0,05 pg/ml.

**Tabel 22. Ringkasan batas sensitivitas yang dapat dideteksi untuk setiap jenis DNA HPV dalam STM**

Jenis DNA HPV	Konsentrasi DNA HPV yang dapat dideteksi (pg/ml)	Simpangan baku	95% CI
16	1,09	0,06	0,94–1,29
18	1,05	0,05	0,88–1,29
31	1,01	0,05	0,91–1,15
33	1,35	0,02	1,26–1,45
35	1,11	0,05	0,95–1,31
39	1,39	0,09	1,16–1,71
45	1,14	0,04	0,99–1,35
51	0,78	0,10	0,70–0,88
52	1,37	0,06	1,21–1,58
56	0,62	0,04	0,58–0,67
58	0,82	0,04	0,73–0,94
59	1,10	0,06	1,00–1,21
68	1,19	0,04	1,03–1,39
<b>Rata-rata (semua jenis)</b>	<b>1,08</b>	<b>0,05</b>	<b>0,95–1,25</b>

## Kesetaraan antara jenis spesimen

### Kesetaraan antara spesimen STM dan PreservCyt

Kesetaraan antara spesimen STM dan PreservCyt diperiksa untuk pemulihan yang sama dari DNA HPV 18. Sekitar 106 sel HeLa positif yang mengandung genom HPV 18 terintegrasi dimasukkan ke dalam STM dan ke dalam kolom sel negatif PreservCyt. Setiap jenis spesimen diproses sesuai dengan prosedur penyiapan sampel dan denaturasinya masing-masing seperti yang dijelaskan dalam petunjuk penggunaan yang berlaku dan diuji dengan *digene* HC2 High-Risk HPV DNA Test. Hasil menunjukkan bahwa pemulihan dari DNA HPV 18 dari sel karsinoma manusia setara untuk dua media dan bahwa penyiapan sampel PreservCyt Solution tidak memengaruhi sensitivitas analisis dari *digene* HC2 High-Risk HPV DNA Test.

### Kesetaraan antara penyiapan sampel manual dari spesimen PreservCyt dan penyiapan sampel dari spesimen PreservCyt menggunakan QIAAsymphony DSP HPV Media Kit

Studi dilakukan menggunakan spesimen PreservCyt yang dikumpulkan dari subpopulasi wanita dengan sitologi normal (n=1276) dan subpopulasi wanita dengan sitologi ASC-US atau lebih besar daripada ASC-US (n=402). Penyiapan sampel manual dan penyiapan sampel menggunakan QIAAsymphony DSP HPV Media Kit dilakukan untuk setiap spesimen yang diikuti dengan pengujian RCS-otomatis dengan *digene* HC2 High-Risk HPV DNA Test (lihat Tabel 23, di bawah).

**Tabel 23. Kesesuaian hasil spesimen PreservCyt antara penyiapan sampel manual dan penyiapan sampel menggunakan QIAAsymphony DSP HPV Media Kit (n=1678)**

Kesesuaian positif (%) (n/N) 95% CI		Kesesuaian negatif (%) (n/N) 95% CI	
Semua positif	Wilayah positif yang kuat RLU/CO $\geq$ 2,5	Semua negatif	Wilayah negatif yang kuat RLU/CO $<$ 0,8
96,0 (409/426) 93,7–97,5	97,6 (372/381) 95,6–98,8	96,2 (1204/1252) 95,0–97,1	99,1 (1173/1184) 98,3–99,5

Sensitivitas dan spesifisitas uji kadar relatif dari spesimen PreservCyt yang disiapkan menggunakan QIAAsymphony DSP HPV Media Kit berkorelasi tinggi dengan hasil yang diperoleh menggunakan metode penyiapan sampel manual seperti yang dibuktikan dengan batas bawah 95% CI baik untuk kesesuaian positif dan negatif.

Kesetaraan antara penyiapan sampel manual dari spesimen PreservCyt dan penyiapan sampel dari spesimen PreservCyt menggunakan QIAAsymphony DSP AXpH DNA Kit

Studi dilakukan menggunakan spesimen PreservCyt yang dikumpulkan dari subpopulasi wanita berusia 30 tahun ke atas dengan sitologi normal (n=1901) dan subpopulasi wanita dengan sitologi ASC-US (n=398). Penyiapan sampel manual dan penyiapan sampel yang menggunakan QIAAsymphony DSP AXpH DNA Kit dilakukan untuk setiap spesimen yang diikuti dengan pengujian dengan *digene* HC2 High-Risk HPV DNA Test (lihat Tabel 24, di bawah).

**Tabel 24. Kesesuaian hasil spesimen PreservCyt antara penyiapan sampel manual dan penyiapan sampel yang menggunakan QIAAsymphony DSP AXpH DNA Kit (n=2299)**

Kesesuaian positif (%) (n/N) 95% CI		Kesesuaian negatif (%) (n/N) 95% CI	
Semua positif	Wilayah positif yang kuat RLU/CO $\geq$ 2,5	Semua negatif	Wilayah negatif yang kuat RLU/CO $<$ 0,8
92,7 (281/303)	96,5 (245/254)	99,1 (1978/1996)	99,9 (1967/1969)
89,3-95,2	93,4-98,1	98,6-99,4	99,6-100,0

Sensitivitas dan spesifisitas uji kadar relatif dari spesimen PreservCyt yang dibuat menggunakan QIAAsymphony DSP AXpH DNA Kit berkorelasi tinggi dengan hasil yang diperoleh menggunakan metode penyiapan sampel manual seperti yang dibuktikan dengan batas bawah 95% CI baik untuk kesesuaian positif dan negatif.

Kesetaraan antara penyiapan sampel STM dan manual dari sampel pelet sel pasca-gradien SurePath.

Evaluasi klinis dua-fase dilakukan menggunakan 6 pusat pengumpulan dan 3 lokasi pengujian di Amerika Serikat. Pasien yang mendatangi klinik STD, klinik kebidanan/ginekologi, klinik kolposkopi, rumah sakit atau pusat keluarga berencana memenuhi syarat untuk pendaftaran sesuai dengan kriteria inklusi dan eksklusi yang telah ditentukan. Fase kelayakan, yang dimaksudkan untuk menentukan nilai *digene* HC2 High-Risk HPV DNA Test CO yang berlaku untuk digunakan dengan sampel pelet sel pasca-gradien SurePath, mendaftarkan sekitar 400 pasien. Fase validasi klinis, mendaftarkan sekitar 1500 pasien untuk memvalidasi nilai CO yang dipilih, dimulai setelah analisis sementara dari fase kelayakan yang menunjukkan bahwa CO dari 1,0 RLU/CO yang menggunakan sampel pelet sel pasca-gradien SurePath menghasilkan kesesuaian yang dapat diterima dengan hasil spesimen STM.

Dalam kedua fase evaluasi, spesimen serviks SurePath dan STM yang dipasangkan dikumpulkan dari setiap peserta perempuan yang menyetujui. Spesimen SurePath kemudian dikirim ke lab sitologi untuk penyiapan kaca mikroskop. Setelah penyiapan sitologi, sampel pelet sel pasca-gradien SurePath yang tersisa dan spesimen STM yang sesuai diuji dengan *digene* HC2 High-Risk HPV DNA Test menggunakan CO 1,0 RLU/CO (lihat Tabel 25, di bawah).

**Tabel 25. Kesesuaian hasil sampel pelet sel pasca-gradien SurePath dengan hasil spesimen STM (semua usia dan klasifikasi sitologi) (n=1490)**

Kesesuaian positif (%) (n/N) 95% CI		Kesesuaian negatif (%) (n/N) 95% CI	
Semua positif	Wilayah positif yang kuat RLU/CO $\geq$ 2,5	Semua negatif	Wilayah negatif yang kuat RLU/CO < 0,8
93,5	96,4	95,3	96,0
(401/429)	(378/392)	(1011/1061)	(1002/1044)
90,7–95,6	94,1–98,0	93,8–96,5	94,6–97,1

Sensitivitas dan spesifisitas uji kadar relatif dari sampel pelet sel pasca-gradien SurePath pengujian berkorelasi tinggi dengan hasil yang diperoleh spesimen STM pengujian seperti yang dibuktikan dengan batas bawah 95% CI untuk kesesuaian positif dan negatif.

Kesetaraan antara penyiapan sampel manual dari sampel pelet sel pasca-gradien SurePath dan penyiapan sampel dari spesimen SurePath menggunakan QIASymphony DSP HPV Media Kit

Studi dilakukan menggunakan spesimen SurePath yang dikumpulkan dari subpopulasi berikut:

- Wanita dengan sitologi normal (n=1189)
- Wanita dengan sitologi ASC-US atau lebih besar dari ASC-US (n=199)

Untuk setiap spesimen SurePath, penyiapan sampel dari spesimen SurePath menggunakan QIASymphony DSP HPV Media Kit dan penyiapan sampel manual dari sampel pelet sel pasca-gradien dilakukan. Pengujian RCS otomatis dengan *digene* HC2 High-Risk HPV DNA Test (lihat Tabel 26, di bawah) dilakukan untuk setiap sampel yang disiapkan.

**Tabel 26. Kesesuaian hasil antara penyiapan sampel manual dari spesimen SurePath dan penyiapan sampel dari spesimen SurePath menggunakan QIASymphony DSP HPV Media Kit (n=1388)**

Kesesuaian positif (%) (n/N) 95% CI		Kesesuaian negatif (%) (n/N) 95% CI	
Semua positif	Wilayah positif yang kuat RLU/CO $\geq$ 2,5	Semua negatif	Wilayah negatif yang kuat RLU/CO < 0,8
91,7 (222/242) 87,6–94,6	97,5 (192/197) 94,2–98,9	99,0 (1134/1146) 98,2–99,4	99,7 (1124/1127) 99,2–99,9

Sensitivitas dan spesifisitas uji kadar relatif dari spesimen SurePath dibuat menggunakan QIASymphony DSP HPV Media Kit berkorelasi tinggi dengan hasil yang diperoleh menggunakan metode penyiapan sampel manual seperti yang dibuktikan dengan batas bawah 95% CI baik untuk kesesuaian positif dan negatif.

Kesetaraan antara penyiapan sampel manual dari sampel pelet sel pasca-gradien SurePath dan penyiapan sampel dari sampel pelet sel pasca-gradien SurePath menggunakan QIASymphony DSP HPV Media Kit

Studi dilakukan menggunakan spesimen SurePath yang dikumpulkan dari subpopulasi berikut:

- Wanita dengan sitologi normal (n=1200)
- Wanita dengan sitologi ASC-US atau lebih besar dari ASC-US (n=183)

Penyiapan sampel manual dan penyiapan sampel yang menggunakan QIASymphony DSP HPV Media Kit dilakukan untuk setiap sampel pelet sel pasca-gradien SurePath yang diikuti dengan pengujian RCS otomatis dengan *digene* HC2 High-Risk HPV DNA Test (lihat Tabel 27, di bawah).

**Tabel 27. Kesesuaian hasil sampel sel pasca-gradien SurePath antara penyiapan sampel manual dan penyiapan sampel yang menggunakan QIASymphony DSP HPV Media Kit (n=1383)**

Kesesuaian positif (%) (n/N) 95% CI		Kesesuaian negatif (%) (n/N) 95% CI	
Semua positif	Wilayah positif yang kuat RLU/CO $\geq$ 2,5	Semua negatif	Wilayah negatif yang kuat RLU/CO < 0,8
92,6 (188/203) 88,2–95,5	97,4 (147/151) 93,4–99,0	94,4 (1114/1180) 92,9–95,6	99,3 (1078/1086) 98,6–99,6

Sensitivitas dan spesifisitas uji kadar relatif dari sampel pelet sel pasca-gradien SurePath dibuat menggunakan QIASymphony DSP HPV Media Kit berkorelasi tinggi dengan hasil yang diperoleh menggunakan metode penyiapan sampel manual seperti yang dibuktikan dengan batas bawah 95% CI untuk kesesuaian positif dan negatif.

## Kesesuaian antara metode pengujian

Studi multipusat (n=2270) dilakukan untuk mengevaluasi hasil uji klinis dengan RCS dibandingkan dengan hasil uji menggunakan metode manual. Pengujian dilakukan di 3 lokasi, di luar QIAGEN, dengan spesimen pasien yang dikumpulkan dari 5 lokasi pengambilan. Set data terdiri dari 1.269 spesimen serviks yang dikumpulkan di PreservCyt Solution dan 1.001 spesimen yang dikumpulkan di STM.

Kesesuaian statistik, antara spesimen yang cocok yang diuji dengan RCS dan dengan pengujian manual, dihitung untuk populasi pasien ini (lihat Tabel 28 dan 29, di bawah).

**Tabel 28. Ringkasan kesesuaian antara pengujian RCS otomatis dan manual – spesimen STM (n=1001)**

Klasifikasi sitologi	Prevalensi HPV (%)	Kesesuaian positif (%) (n/N) 95% CI		Kesesuaian negatif (%) (n/N) 95% CI	
		Semua positif	Wilayah positif yang kuat (RLU/CO ≥ 2,5)	Semua negatif	Wilayah negatif yang kuat (RLU/CO < 0,8)
WNL* <30 tahun	21	99,3 (139/140) 96,1–100,0	99,1 (112/113) 95,2–100,0	99,3 (538/542) 98,1–99,8	100,0 (531/531) 99,3–100,0
WNL ≥30 tahun	15	92,0 (23/25) 74,0–99,0	93,8 (15/16) 69,8–99,8	100,0 (143/143) 97,5–100,0	100,0 (142/142) 97,4–100,0
ASC-US	65	98,1 (51/52) 89,7–100,0	100,0 (47/47) 92,4–100,0	96,4 (27/28) 81,7–99,9	100,0 (26/26) 86,8–100,0
LSIL+	96	100,0 (65/65) 94,5–100,0	100,0 (62/62) 94,2–100,0	66,7 (2/3) 9,4–99,2	66,7 (2/3) 9,4–99,2
Lainnya	33	100,0 (1/1) 2,5–100,0	100,0 (1/1) 2,5–100,0	100,0 (2/2) 15,8–100,0	100,0 (2/2) 15,8–100,0
Semua spesimen STM	28	98,6 (279/283) 96,4–99,6	99,2 (237/239) 97,0–99,9	99,2 (712/718) 98,2–99,7	99,9 (703/704) 99,2–100,0

\* WNL = dalam batas normal.

**Tabel 29. Ringkasan kesesuaian antara pengujian RCS otomatis dan manual – spesimen PreservCyt (n=1269)**

Klasifikasi sitologi	Prevalensi HPV (%)	Kesesuaian positif (%) (n/N) 95% CI		Kesesuaian negatif (%) (n/N) 95% CI	
		Semua positif	Wilayah positif yang kuat (RLU/CO ≥ 2,5)	Semua negatif	Wilayah negatif yang kuat (RLU/CO < 0,8)
WNL* <30 tahun	20	96,2 (75/78) 89,2–99,2	100,0 (64/64) 94,4–100,0	98,4 (301/306) 96,2–99,5	99,0 (293/296) 97,1–99,8
WNL ≥30 tahun	8	88,7 (47/53) 77,0–95,7	92,1 (35/38) 78,6–98,3	99,1 (578/583) 98,0–99,7	99,5 (571/574) 98,5–99,9
ASC-US	36	100,0 (48/48) 92,6–100,0	100,0 (46/46) 92,3–100,0	96,6 (84/87) 90,3–99,3	96,5 (83/86) 90,1–99,3
LSIL+	77	100,0 (64/64) 94,4–100,0	100,0 (62/62) 94,2–100,0	89,5 (17/19) 66,9–98,7	88,9 (16/18) 65,3–98,6
Lainnya	11	100,0 (3/3) 29,2–100,0	100,0 (3/3) 29,2–100,0	100,0 (24/24) 85,6–100,0	100,0 (24/24) 85,8–100,0
Semua spesimen PreservCyt†	20	96,4 (238/247) 93,2–98,3	98,6 (211/214) 96,0–99,7	98,5 (1007/1022) 97,6–99,2	98,9 (990/1001) 98,0–99,4

\* WNL = dalam batas normal.

† Data sitologi tidak tersedia dari 4 pasien.

Studi klinis tambahan dilakukan menggunakan spesimen PreservCyt sisa yang diarsipkan yang dikumpulkan dari subpopulasi wanita berusia 30 tahun ke atas dengan sitologi normal (lihat Tabel 30, di bawah) dengan prevalensi HPV 4,8%.

**Tabel 30. Ringkasan kesesuaian antara pengujian RCS otomatis dan manual – WNL wanita berusia 30 tahun ke atas (n=2077)**

Kesesuaian positif (%) (n/N) 95% CI		Kesesuaian negatif (%) (n/N) 95% CI	
Semua positif	Wilayah positif yang kuat (RLU/CO ≥ 2,5)	Semua negatif	Wilayah negatif yang kuat (RLU/CO < 0,8)
92,0 (92/100)	91,8 (78/85)	99,3 (1964/1977)	99,7 (1944/1949)
84,84–96,48	83,77–96,62	98,88–99,65	99,40–99,92

Ada 7 hasil yang tidak selaras antara hasil pengujian manual dan RCS otomatis di wilayah positif kuat. Hasil pengujian manual awal untuk 7 spesimen ini berada di luar algoritma uji ulang spesimen PreservCyt yang disarankan; namun, karena desain studi memerlukan pengujian semua spesimen dalam rangkap tiga, hasil pengulangan tersedia untuk resolusi yang tidak sesuai.

Data pengujian berulang untuk masing-masing dari 7 spesimen yang tidak selaras menyarankan bahwa semua spesimen yang tidak sesuai bersifat negatif untuk DNA HPV (lihat Tabel 31, di bawah). Berdasarkan hasil negatif berulang yang diperoleh untuk kedua replikasi, masing-masing dari hasil pengujian manual yang awalnya positif kemungkinan besar positif-palsu.

**Tabel 31. Spesimen PreservCyt yang tidak selaras untuk WNL wanita berusia 30 tahun ke atas (n=7)**

Sampel	Lokasi	Pengujian manual (RLU/CO)			Pengujian RCS otomatis (RLU/CO)		
		Awal	Pengulangan 1	Pengulangan 2	Awal	Pengulangan 1	Pengulangan 2
1	A	2,51	0,08	0,08	0,12	0,17	0,14
2	A	20,18	0,08	0,09	0,19	0,24	0,20
3	A	3,88	0,12	0,11	0,17	0,22	0,22
4	A	9,37	0,09	0,09	0,15	0,21	0,20
5	A	6,01	0,17	0,13	0,25	0,30	0,30
6	B	2,97	0,71	0,99	1,59	0,89	0,90
7	C	11,01	0,16	0,14	0,19	0,15	0,21

Hasil dari studi klinis ini mengindikasikan keseluruhan kesesuaian antara pengujian RCS otomatis dan manual yang menggunakan baik spesimen STM atau PreservCyt.

## Reproduksibilitas

### Keseluruhan reproduksibilitas dari pengujian manual

Studi reproduksibilitas multipusat dilakukan untuk menentukan antar hari, antar lokasi, dan keseluruhan reproduksibilitas dari *digene* HC2 High-Risk HPV DNA Test menggunakan panel dari target DNA HPV dan spesimen STM klinis HPV positif dan HPV negatif.

Tiga laboratorium eksternal melakukan pengujian dengan jumlah kit *digene* HC2 High-Risk HPV DNA Test yang sama pada 3 hari berbeda dengan panel reproduksibilitas yang identik. Panel reproduksibilitas termasuk spesimen berikut:

- 12 kumpulan spesimen STM klinis yang didenaturasi
- 3 kumpulan spesimen PreservCyt klinis yang tidak didenaturasi
- Kalibrator Negatif
- Kalibrator HPV Berisiko Tinggi Positif pada konsentrasi 0,5, 1, 2,5, 5, dan 10 pg/l.

Semua bagian panel diuji setiap hari dan rangkap tiga menggunakan *digene* HC2 High-Risk HPV DNA Test. Hasilnya mengindikasikan bahwa reproduksibilitas dari *digene* HC2 High-Risk HPV DNA Test dengan spesimen klinis sangat baik (lihat Tabel 32, di bawah).

**Tabel 32. Reproduksibilitas keseluruhan – reproduksibilitas multipusat (semua pengoperasian di semua lokasi)**

Pengukuran statistik	Hasil
Positif yang diharapkan dengan hasil positif yang diamati (95% CI)	100,0% (99,0–100,0)
Positif yang diharapkan dengan hasil negatif yang diamati (95% CI)	99,0% (97,49–99,73)
Kesesuaian (95% CI)	99,5% (98,70–99,86)
Kapa	0,990

Reproduksibilitas dengan spesimen STM klinis

#### Pengujian manual

Studi dilakukan untuk mengakses reproduksibilitas pengujian manual dari spesimen STM klinis dengan *digene* HC2 High-Risk HPV DNA Test. Panel dengan 20 bagian terdiri dari kumpulan klinis (10 positif dan 10 negatif) dibuat dengan mengombinasikan spesimen STM yang telah diuji sebelumnya. Spesimen diuji dalam 4 replikasi pada setiap 5 hari selama total 20 replikat per spesimen. Pengujian dilakukan menggunakan Campuran Kuar kombinasi yang terdiri dari Kuar HPV Berisiko Tinggi dan Kuar HPV berisiko rendah. Reproduksibilitas pengujian tidak akan diharapkan berbeda jika menggunakan hanya Campuran Kuar dalam *digene* HC2 High-Risk HPV DNA Test. RLU/CO rata-rata dan 95% CI tentang rata-rata dihitung (lihat Tabel 33, di bawah).

**Tabel 33. Reprodusibilitas spesimen STM — pengujian manual (urutan menurun menurut RLU/CO rata-rata)**

ID spesimen	RLU/CO rata-rata	95% CI	Hasil uji positif (%) (n/N)
10	3,18	3,02–3,35	100 (20/20)
20	1,43	1,36–1,50	100 (20/20)
11	1,25	1,20–1,28	100 (20/20)
12	1,21	1,15–1,27	100 (20/20)
15	1,20	1,14–1,25	100 (20/20)
13	1,07	1,01–1,11	80 (16/20)
16	1,06	1,01–1,09	75 (15/20)
17	1,04	1,00–1,06	80 (16/20)
14	0,98	0,92–1,02	45 (9/20)
18	0,92	0,87–0,96	20 (4/20)
19	0,72	0,68–0,75	0 (0/20)
7	0,40	0,33–0,46	0 (0/20)
4	0,38	0,35–0,39	0 (0/20)
9	0,37	0,32–0,41	0 (0/20)
1	0,35	0,32–0,36	0 (0/20)
2	0,35	0,31–0,37	0 (0/20)
8	0,32	0,29–0,34	0 (0/20)
3	0,30	0,27–0,31	0 (0/20)
6	0,27	0,24–0,30	0 (0/20)
5	0,26	0,23–0,28	0 (0/20)

Untuk 5 spesimen dengan RLU/CO rata-rata pada 20% atau lebih di atas CO, 100 dari 100 replikat (100,0%) adalah positif. Untuk 5 spesimen dengan RLU/CO rata-rata dalam 20% di atas atau di bawah CO, 60 dari 100 (60%; 95% CI = 49,7–69,6) replikasi adalah positif dan 40 dari 100 (40%) adalah negatif. Untuk 10 spesimen dengan RLU/CO rata-rata pada 20% atau lebih di bawah CO, 200 dari 200 replikat (100%) adalah negatif.

Hasilnya mengindikasikan bahwa spesimen pada 20% atau lebih dari CO diharapkan dapat memberikan hasil yang konsisten. Spesimen yang mendekati CO menghasilkan jumlah hasil positif dan negatif yang kira-kira sama. Data ini menunjukkan bahwa pengujian manual spesimen STM dengan *digene* HC2 High-Risk HPV DNA Test menghasilkan hasil yang dapat direproduksi.

## Pengujian RCS otomatis

Sebuah studi dilakukan untuk menilai reproduksibilitas pengujian RCS otomatis dari spesimen STM yang sedang dijalankan, sehari-hari dan antar-laboratorium dengan *digene* HC2 High-Risk HPV DNA Test. Sebuah panel 16-bagian dari kumpulan spesimen klinis (lihat Tabel 34, di bawah) diuji menggunakan satu lot reagen, dua kali sehari pada 3 hari berbeda. Setiap bagian panel diuji rangkap empat.

**Tabel 34. Reproduksiabilitas spesimen STM – komposisi panel pengujian RCS otomatis**

Bagian panel	RLU/CO perkiraan	Hasil uji yang diperkirakan
1N	<0,4	Negatif
2N	0,4–0,8	Negatif
3P	0,8–1,2	Negatif tinggi/positif rendah
4P	0,8–1,2	Negatif tinggi/positif rendah
5P	0,8–1,2	Negatif tinggi/positif rendah
6P	1,2–2,0	Positif rendah
7P	1,2–2,0	Positif rendah
8P	1,2–2,0	Positif rendah
9P	2,0–5,0	Positif rendah
10P	5,0–10,0	Positif sedang
11N	<0,4	Negatif
12N	<0,4	Negatif
13N	<0,4	Negatif
14XR	Materi klinis positif DNA HPV berisiko rendah dalam kumpulan negatif klinis STM	Negatif tinggi/positif rendah
15XR	Plasmid DNA HPV berisiko rendah dalam kumpulan negatif klinis STM	Negatif tinggi/positif rendah
16XR	Kontrol DNA vektor plasmid dalam kumpulan negatif klinis STM	Negatif tinggi/positif rendah

Dua bagian panel (14XR dan 15XR) dimasukkan untuk mengevaluasi potensi untuk hibridisasi-silang dari *digene* HC2 High-Risk HPV DNA Test's Probe Mix dengan spesimen yang hanya mengandung DNA HPV berisiko rendah jenis 6, 11, 42, 43, dan 44. Bagian panel 16XR terdiri dari pGEM® DNA pada konsentrasi 1,49 ng/ml dan berfungsi sebagai kontrol vektor untuk bagian panel 15XR. Hasil pengujian ini mengindikasikan tidak ada hasil uji positif palsu karena adanya jenis DNA HPV berisiko rendah dalam spesimen klinis. Hasil ini konsisten dengan pengujian manual.

Reproduksibilitas ini dihitung sesuai dengan metode yang dijelaskan oleh NCCLS E5-A (46) (lihat Tabel 35, di bawah). Metode ini memerlukan komputasi dari komponen beragam untuk setiap sumber variabilitas: laboratorium, hari, pengoperasian, dan kesalahan (didefinisikan sebagai variasi intrauji kadar dan antaruji kadar).

**Tabel 35. Reproduksibilitas spesimen STM – pengujian RCS otomatis, reproduksibilitas kuantitatif**

Bagian panel	n	RLU/CO rata-rata	Simpangan baku					Total CV (%)
			Dalam pengoperasian	Antarpengoperasian	Antarhari	Antarlab	Total	
1N	72	0,13	0,02	0,01	0,01	0,01	0,02	15,10
2N	72	0,36	0,03	0,01	0,03	0*	0,04	11,69
3P	72	0,96	0,06	0,06	0,04	0*	0,09	9,55
4P	72	1,03	0,06	0,18	0,06	0*	0,19	18,81
5P	72	1,41	0,11	0,14	0,15	0,06	0,24	17,00
6P	72	1,73	0,10	0,27	0*	0,11	0,31	18,10
7P	72	1,74	0,12	0,21	0*	0*	0,24	13,78
8P†	70	1,95	T/B‡	T/B‡	T/B‡	T/B‡	0,47	23,80
9P	72	5,21	0,34	0,44	0,21	0*	0,59	11,36
10P	72	7,67	0,46	0,63	0,71	0*	1,05	13,70
11N	72	0,13	0,01	0,01	0,01	0*	0,02	16,89
12N	72	0,17	0,03	0,06	0,03	0*	0,07	39,14
13N	72	0,15	0,02	0,02	0*	0,01	0,03	17,01

\* Komponen ragam negatif ditetapkan sama dengan nol.

† Dua replikat yang tidak valid untuk bagian panel 8P tidak dimasukkan dalam analisis komponen beragam karena kelompok ukuran yang tidak sama saat dibandingkan.

‡ T/B: analisis beragam tidak memungkinkan karena replikasi yang lebih sedikit dari bagian panel lain.

## Reproduksibilitas spesimen PreservCyt klinis

### Pengujian manual

Reproduksibilitas pengujian manual dari spesimen PreservCyt dengan *digene* HC2 High-Risk HPV DNA Test ditentukan dalam studi menggunakan 24 spesimen tiruan pada berbagai konsentrasi DNA HPV. Spesimen terdiri dari PreservCyt Solution dan sel darah putih, dengan dan tanpa bakteri yang mengandung plasmid HPV 16.

Spesimen diuji dalam 4 replikasi setiap 5 hari, dengan total 20 replikasi per spesimen. Pada setiap 5 hari studi, 8 ml sampel dari setiap spesimen dibuat sesuai dengan petunjuk penggunaan *digene* HC2 Sample Conversion Kit dan diuji. Rata-rata dan 95% CI dihitung (lihat Tabel 36, di bawah).

**Tabel 36. Reproduksi spesimen PreservCyt — pengujian manual dengan penyiapan sampel manual; reproduksibilitas kualitatif (urutan menurun dengan RLU/CO rata-rata)**

ID spesimen	RLU/CO rata-rata	95% CI	Hasil uji positif (%) (n/N)
21	3,51	3,19–3,83	100 (20/20)
12	1,58	1,48–1,69	100 (20/20)
13	1,42	1,32–1,52	100 (20/20)
17	1,38	1,23–1,53	90 (18/20)
18	1,36	1,23–1,48	95 (19/20)
15	1,32	1,16–1,49	85 (17/20)
23	1,17	1,06–1,27	75 (15/20)
16	1,14	1,07–1,20	75 (15/20)
20	1,10	0,96–1,21	85 (17/20)
19	1,06	0,95–1,17	45 (9/19)
22	1,05	0,99–1,10	70 (14/20)
11	1,04	0,96–1,11	65 (13/20)
14	0,94	0,86–1,01	25 (5/20)
24	0,77	0,73–0,81	0 (0/20)
3	0,28	0,25–0,30	0 (0/20)
1	0,27	0,24–0,30	0 (0/20)
7	0,27	0,25–0,30	0 (0/20)
2	0,27	0,25–0,28	0 (0/20)
5	0,26	0,24–0,28	0 (0/20)
4	0,24	0,22–0,25	0 (0/20)
9	0,23	0,21–0,25	0 (0/20)
8	0,22	0,18–0,27	0 (0/20)
10	0,22	0,20–0,25	0 (0/20)
6	0,19	0,17–0,21	0 (0/20)

Untuk 6 spesimen dengan RLU/CO rata-rata pada 20% atau lebih di atas CO, 114 dari 120 replikasi (95,0%) adalah positif. Untuk 7 spesimen dengan RLU/CO rata-rata dalam 20% di atas atau di bawah CO, 88 dari 139 (63,3%; 95% CI = 54,3-70,9) replikasi adalah positif dan 51 dari 139 (36,7%) adalah negatif. Untuk 4 spesimen dalam 10% di atas atau di bawah CO 41 dari 79 (51,9%) replikasi adalah positif dan 38 dari 79 (48,1%) adalah negatif. Untuk 11 spesimen dengan RLU/CO rata-rata pada 20% atau lebih di bawah CO, 220 dari 220 replikasi (100%) adalah negatif.

Hasilnya mengindikasikan bahwa spesimen pada 20% atau lebih dari CO diharapkan dapat memberikan hasil yang konsisten. Spesimen yang mendekati CO menghasilkan jumlah hasil positif dan negatif yang kira-kira sama. Data ini menunjukkan bahwa pengujian manual spesimen PreservCyt dengan *digene* HC2 High-Risk HPV DNA Test menghasilkan hasil yang dapat direproduksi.

### Pengujian RCS otomatis dengan penyiapan sampel manual

Sebuah studi internal dari pengujian RCS otomatis dilakukan menggunakan spesimen PreservCyt klinis yang diperoleh terutama dari wanita dengan hasil sitologi ASC-US atau lebih besar daripada ASC-US (prevalensi HPV 57%). Spesimen dibagi menjadi 2 alikuot; setiap alikuot kemudian satu per satu diproses menggunakan *digene* HC2 Sample Conversion Kit dan diuji dalam rangkap dua dengan *digene* HC2 High-Risk HPV DNA Test.

Seperti dengan uji IVD kualitatif lain, variabilitas dalam hasil *digene* HC2 High-Risk HPV DNA Test yang diperoleh dari spesimen klinis dikaitkan terutama dengan satu atau kombinasi berikut ini: pengumpulan spesimen, penyiapan sampel, dan prosedur pengujian. Karena hasil uji yang dibandingkan diperoleh dari spesimen klinis yang sama, desain eksperimental mengontrol variabilitas karena pengumpulan spesimen. Pengulangan hasil yang diperoleh dari 2 alikuot sampel yang dibuat satu per satu dari spesimen klinis yang sama (disebut di bawah sebagai “antara alikuot yang disiapkan”) mencerminkan variasi karena kombinasi dari penyiapan sampel dan prosedur pengujian. Pengulangan hasil yang diperoleh dari alikuot sampel yang sama (disebut di bawah sebagai “dalam alikuot yang disiapkan”) mencerminkan variasi dari prosedur pengujian saja (lihat Tabel 37, di bawah).

**Tabel 37. Reproduksi spesimen PreservCyt — pengujian RCS otomatis dengan penyiapan sampel manual; reproduksibilitas kualitatif**

Analisis	Kesesuaian positif (%)	Kesesuaian negatif (%)	Kesesuaian keseluruhan (%)	
	(n/N) 95% CI	(n/N) 95% CI	(n/N) 95% CI	
Dalam alikuot yang disiapkan	Semua data	99,62 (261/262)	94,7 (160/169)	97,7 (421/431)
		97,9–100,0	90,1–97,5	95,8–98,9
	Wilayah positif kuat dan negatif kuat	100,0 (249/249)	98,2 (160/163)	99,3 (409/412)
	98,5–100,0	94,7–99,6	97,9–99,9	
Antara alikuot yang disiapkan	Semua data	99,6 (264/265)	98,2 (163/166)	99,1 (427/431)
		97,9–100,0	94,8–99,6	97,6–99,8
	Wilayah positif kuat dan negatif kuat	100,0 (249/249)	99,4 (161/162)	99,8 (410/411)
	98,5–100,0	96,6–100,0	98,7–100,0	

Studi tambahan dilakukan untuk mengevaluasi reproduksibilitas kuantitatif dari hasil yang diperoleh dengan pengujian RCS otomatis dari spesimen PreservCyt yang disimulasikan. Tiga lokasi pengujian, termasuk QIAGEN, berpartisipasi dalam studi ini.

Setiap laboratorium pengujian melakukan kedua pengujian RCS otomatis dan manual dari *digene* HC2 High-Risk HPV DNA Test dua kali per hari pada 5 hari yang berbeda dengan panel reproduksibilitas 6 bagian yang disediakan. Setiap bagian panel terdiri dari sel kultur yang dimasukkan ke dalam PreservCyt Solution yang dimaksudkan untuk menghasilkan perkiraan nilai RLU/CO (lihat Tabel 38, di bawah).

Bagian panel DNA HPV-positif disiapkan dengan menambahkan berbagai jumlah DNA HPV-positif sel SiHa (dari lini sel laboratorium) Bagian panel negatif terdiri dari sel Jurkat HPV-negatif (dari lini sel laboratorium berbeda). Konsentrasi sel akhir dari semua 6 bagian panel kira-kira  $5 \times 10^4$  sel/ml.

**Tabel 38. Reproduksi spesimen PreservCyt – pengujian RCS otomatis dengan penyiapan sampel manual; bagian panel reproduksibilitas kuantitatif**

Bagian panel	Jenis sel	RLU/CO perkiraan	Hasil uji yang diperkirakan
1N	Jurkat	<1,0	Negatif
2N	Jurkat	<1,0	Negatif
3P	SiHa dan Jurkat	5,0–8,0	Positif rendah
4P	SiHa dan Jurkat	5,0–8,0	Positif rendah
5P	SiHa	30,0–50,0	Positif sedang
6P	SiHa	200,0	Positif tinggi

Reproduksibilitas ini dihitung sesuai dengan metode yang dijelaskan oleh NCCLS E5-A (46) (lihat Tabel 39, di bawah). Metode ini memerlukan komputasi dari komponen beragam untuk setiap sumber variabilitas: laboratorium, hari, pengoperasian, dan kesalahan (didefinisikan sebagai variasi intrauji kadar dan antar-uji kadar). Setiap 6 bagian panel diuji rangkap empat pada setiap 10 pengoperasian (2 pengoperasian per hari selama 5 hari pengujian) pada setiap 3 laboratorium pengujian.

**Tabel 39. Reproduksi spesimen PreservCyt – pengujian RCS otomatis dengan penyiapan sampel manual; reproduksibilitas kuantitatif**

Bagian panel	n	RLU/CO rata-rata	Simpangan baku				Total	Total CV (%)
			Dalam pengoperasian	Antarpengoperasian	Antarhari	Antarlab		
1N	120	0,20	0,04	0,01	0,01	0,08	0,089	44,4
2N	120	0,20	0,06	0,01	0*	0,08	0,10	52,2
3P	120	4,05	0,76	1,17	0*	0,26	1,42	35,1
4P	120	4,23	0,74	0,86	0*	0,31	1,18	27,8
5P	120	28,6	5,00	5,61	4,41	0*	8,71	30,5
6P	120	214,6	33,95	27,25	18,09	25,53	53,61	25,0

\* Komponen ragam negatif ditetapkan sama dengan nol.

Untuk melengkapi studi reproduksibilitas awal ini dengan data dari spesimen yang sangat mendekati batas uji kadar, studi presisi tambahan dilakukan di lokasi di luar QIAGEN yang menggunakan RCS.

Panel tersebut terdiri dari 1 bagian negatif, 2 negatif atau positif rendah dan 2 positif rendah. Setiap bagian panel dibuat dengan menghentikan sel Jurkat dan SiHa terkultur ke dalam PreservCyt Solution untuk menghasilkan nilai RLU/CO target (lihat Tabel 40, di bawah).

Lokasi eksternal ini menyelesaikan pengujian RCS otomatis menggunakan satu lot reagen *digene* HC2 High-Risk HPV DNA Test untuk setiap pengoperasian uji, melakukan pengujian 2 kali per hari pada 3 hari berbeda dengan panel 5-bagian yang disediakan dari spesimen PreservCyt yang disimulasikan. Setiap bagian panel dibagi menjadi 4 sampel dan ke-4 sampel diuji pada pelat mikro yang sama (lihat Tabel 41, di bawah).

**Tabel 40. Reproduksi spesimen PreservCyt – pengujian RCS otomatis dengan penyiapan sampel manual; reproduksibilitas kuantitatif di dekat bagian panel CO uji kadar**

Bagian panel	RLU/CO perkiraan	Hasil uji yang diperkirakan
1N	0,2	Negatif
2N	0,8–1,2	Negatif tinggi/positif rendah
3P	0,8–1,2	Negatif tinggi/positif rendah
4P	1,2–2,0	Positif rendah
5P	1,2–2,0	Positif rendah

**Tabel 41. Reproduksiabilitas spesimen PreservCyt — pengujian RCS otomatis dengan penyiapan sampel manual; reproduksiabilitas kuantitatif mendekati CO uji kadar**

Bagian panel	n	RLU/CO rata-rata	Simpangan baku				Total	Total CV (%)
			Dalam pengoperasian	Antarpengoperasian	Antarhari	Total		
1N	24	0,14	0,01	0*	0,02	0,02	15,12	
2N	24	1,39	0,14	0,15	0*	0,21	14,84	
3P	24	1,31	0,16	0*	0,11	0,19	14,70	
4P	24	1,74	0,13	0,21	0,18	0,31	17,73	
5P	24	1,63	0,24	0,20	0,26	0,40	24,63	

\* Komponen ragam negatif ditetapkan sama dengan nol.

### Penyiapan sampel menggunakan QIASymphony DSP HPV Media Kit

Studi internal penyiapan sampel menggunakan QIASymphony DSP HPV Media Kit dilakukan menggunakan spesimen PreservCyt klinis yang diperoleh dari wanita dengan salah satu dari dua hasil sitologi berikut:

- ASC-US atau lebih besar dari ASC-US
- Negatif untuk lesi intraepitelium atau keganasan (NILM)

Dua sampel dihilangkan dari setiap spesimen. Setiap sampel disiapkan secara individu menggunakan QIASymphony DSP HPV Media Kit dan hasil yang ditentukan oleh pengujian RCS otomatis dengan *digene* HC2 High-Risk HPV DNA Test.

Seperti dengan uji IVD kualitatif lain, variabilitas dalam hasil *digene* HC2 High-Risk HPV DNA Test yang diperoleh dari spesimen klinis dikaitkan terutama dengan satu atau kombinasi berikut ini: pengumpulan spesimen, penyiapan sampel, dan prosedur pengujian. Karena hasil uji yang dibandingkan diperoleh dari spesimen klinis yang sama (disebut sebagai “antarsampel”), desain eksperimental mengontrol variabilitas karena pengumpulan spesimen. Reproduksiabilitas hasil (lihat Tabel 42, di bawah) yang diperoleh dari 2 sampel yang disiapkan secara individual dari spesimen klinis yang sama merefleksikan variasi karena penyiapan sampel dan prosedur pengujian.

**Tabel 42. Reproduksiabilitas spesimen PreservCyt — penyiapan sampel menggunakan QIASymphony DSP HPV Media Kit; reproduksiabilitas kualitatif antarsampel**

Kesesuaian positif (%)	Kesesuaian negatif (%)	Kesesuaian keseluruhan (%)
(n/N)	(n/N)	(n/N)
95% CI	95% CI	95% CI
99,0	96,4	97,3
(95/96)	(161/167)	(256/263)
94,3–99,8	92,4–98,3	94,6–98,7

Studi tambahan dilakukan untuk mengevaluasi reproduksibilitas hasil menggunakan spesimen PreservCyt yang disimulasikan. Penyiapan sampel yang menggunakan QIAAsymphony DSP HPV Media Kit diikuti dengan pengujian RCS otomatis dengan *digene* HC2 High-Risk HPV DNA Test. 8 bagian panel positif disiapkan dengan menambahkan baik DNA HPV positif sel SiHa atau HeLa ke DNA HPV negatif sel C-33 A dalam PreservCyt Solution, sedangkan 2 bagian panel DNA HPV negatif mengandung hanya DNA HPV negatif sel C-33 A.

Tiga operator berbeda melakukan pengujian dalam satu hari menggunakan 3 instrumen QIAAsymphony SP berbeda dan 3 lot QIAAsymphony DSP HPV Media Kit berbeda dengan bagian panel 2N, 3E, 5P, 7P dan 9P. Bagian panel 2N, 3E, 5P, dan 7P diuji dengan 18 replikasi pada 3 pengoperasian berbeda, menghasilkan 54 titik data untuk setiap bagian panel. Bagian panel 9P diuji dengan 16 replikasi pada 3 pengoperasian berbeda, menghasilkan 48 titik data.

Satu operator melakukan *digene* HC2 High-Risk HPV DNA Test dalam 3 hari berbeda menggunakan 3 instrumen QIAAsymphony SP berbeda dan satu lot QIAAsymphony DSP HPV Media Kit dengan bagian panel 1N, 4E, 6P, 8P dan 10P. Bagian panel 1N, 4E, 6P, dan 8P diuji dengan 18 replikasi pada 8 pengoperasian berbeda, menghasilkan 144 titik data untuk setiap bagian panel. Bagian panel 10P diuji dengan 16 replikasi pada 8 pengoperasian berbeda, menghasilkan 128 titik data.

Untuk bagian panel dengan RLU/CO rata-rata pada 20% atau lebih di atas CO, 572 dari 572 (100,0%) adalah positif. Untuk bagian panel dengan RLU/CO rata-rata dalam 20% di atas atau di bawah CO, 98 dari 198 (49,5%) adalah positif dan 100 dari 198 (50,5%) adalah negatif. Untuk bagian panel dengan RLU/CO rata-rata pada 20% atau lebih di bawah CO, 198 dari 198 (100,0%) adalah negatif (lihat Tabel 43, di bawah).

**Tabel 43. Reproduksiabilitas spesimen PreservCyt — penyiapan sampel menggunakan QIAAsymphony DSP HPV Media Kit; reproduksiabilitas kualitatif**

Bagian panel	Jenis sel	RLU/CO rata-rata	Simpangan baku	Hasil uji positif (%) (n/N)
1N	C-33 A	0,37	0,05	0 (0/144)
2N	C-33 A	0,41	0,06	0 (0/54)
3E	HeLa dan C-33 A	0,81	0,11	6 (3/54)
4E	SiHa dan C-33 A	1,09	0,18	66 (95/144)
5P	HeLa dan C-33 A	3,17	0,46	100 (54/54)
6P	SiHa dan C-33 A	4,81	0,74	100 (144/144)
7P	HeLa dan C-33 A	6,77	0,97	100 (54/54)
8P	SiHa dan C-33 A	9,41	1,39	100 (144/144)
9P	HeLa dan C-33 A	13,72	2,81	100 (48/48)
10P	SiHa dan C-33 A	28,13	5,08	100 (128/128)

Hasilnya mengindikasikan bahwa spesimen pada 20% atau lebih dari CO diharapkan dapat memberikan hasil yang konsisten. Spesimen di dekat CO menghasilkan jumlah hasil positif dan negatif yang kira-kira sama. Data ini menunjukkan bahwa penyiapan sampel dari spesimen PreservCyt menggunakan QIASymphony DSP HPV Media Kit diikuti dengan pengujian dengan *digene* HC2 High-Risk HPV DNA Test yang menghasilkan hasil yang dapat direproduksi.

Hasil studi internal ini juga digunakan untuk mengevaluasi reproduksibilitas kuantitatif dari hasil yang diperoleh dengan penyiapan sampel dari spesimen PreservCyt menggunakan QIASymphony DSP HPV Media Kit (lihat Tabel 44 dan Tabel 45, di bawah).

**Tabel 44. Reproduksibilitas spesimen PreservCyt — penyiapan sampel menggunakan QIASymphony DSP HPV Media Kit; reproduksibilitas dengan operator yang sama**

Bagian panel	n	RLU/CO rata-rata	Simpangan baku			Simpangan baku total yang diperkirakan	Total CV yang diperkirakan (%)
			Dalam pengoperasian	Antarpengoperasian	Antarkombinasi*		
1N	144	0,37	0,04	0,03	0,03	0,06	14,92
4E	144	1,09	0,12	0,11	0,09	0,19	17,24
6P	144	4,81	0,49	0,40	0,42	0,77	15,92
8P	144	9,41	0,96	0,97	0,46	1,44	15,32
10P	128	28,13	4,00	2,04	2,54	5,16	18,35

\* Antara kombinasi dari instrumen QIASymphony SP dan hari berbeda.

**Tabel 45. Reproduksibilitas spesimen PreservCyt — penyiapan sampel menggunakan QIASymphony DSP HPV Media Kit; reproduksibilitas kuantitatif pada hari yang sama**

Bagian panel	n	RLU/CO rata-rata	Simpangan baku			Simpangan baku total yang diperkirakan	Total CV yang diperkirakan (%)
			Dalam pengoperasian	Antarpengoperasian <sup>†</sup>			
2N	54	0,41	0,04	0,05	0,06	15,86	
3E	54	0,81	0,08	0,08	0,12	14,48	
5P	54	3,17	0,38	0,33	0,50	15,72	
7P	54	6,77	0,92	0,38	1,00	14,73	
9P	48	13,72	2,64	1,15	2,88	21,01	

<sup>†</sup> Suatu pengoperasian terdiri dari kombinasi dari QIASymphony DSP HPV Media Kit, instrumen QIASymphony SP dan operator.

Reproduksibilitas kuantitatif sangat tinggi seperti yang diindikasikan oleh semua nilai CV yang tersisa di bawah 25%. Simpangan baku antarpengoperasian sebanding dengan nilai yang sesuai dalam pengoperasian, yang mengindikasikan hasil yang konsisten terlepas dari instrumen atau kit lot yang digunakan.

### Penyiapan sampel menggunakan QIAasymphony DSP AXpH DNA Kit

Studi internal penyiapan sampel menggunakan QIAasymphony DSP AXpH DNA Kit dilakukan menggunakan spesimen PreservCyt klinis yang diperoleh baik dari wanita dengan sitologi ASC-US atau NILM. Dua sampel dihilangkan dari setiap spesimen. Setiap sampel disiapkan secara individu menggunakan QIAasymphony DSP AXpH DNA Kit dan hasil yang ditentukan oleh pengujian RCS-otomatis dengan *digene* HC2 High-Risk HPV DNA Test.

Seperti dengan uji IVD kualitatif lain, variabilitas dalam hasil *digene* HC2 High-Risk HPV DNA Test yang diperoleh dari spesimen klinis dikaitkan terutama dengan satu atau kombinasi berikut ini: pengumpulan spesimen, penyiapan sampel, dan prosedur pengujian. Karena hasil uji yang dibandingkan diperoleh dari spesimen klinis yang sama (disebut sebagai "antarsampel"), desain eksperimental mengontrol variabilitas karena pengumpulan spesimen. Reproduksiabilitas hasil (lihat Tabel 46, di bawah) yang diperoleh dari 2 sampel yang disiapkan secara individual dari spesimen klinis yang sama merefleksikan variasi karena penyiapan sampel dan prosedur pengujian.

**Tabel 46. Reproduksiabilitas spesimen PreservCyt – penyiapan sampel menggunakan QIAasymphony DSP AXpH DNA Kit; reproduksiabilitas kualitatif antarsampel**

Kesesuaian positif (%)	Kesesuaian negatif (%)	Kesesuaian keseluruhan (%)
(n/N)	(n/N)	(n/N)
95% CI	95% CI	95% CI
95,3	96,7	96,2
(101/106)	(176/182)	(277/288)
89,4–98,0	92,3–98,5	93,3-97,9

Studi tambahan dilakukan untuk mengevaluasi reproduksiabilitas hasil menggunakan spesimen PreservCyt yang disimulasikan. Penyiapan sampel yang menggunakan QIAasymphony DSP AXpH DNA Kit diikuti dengan pengujian RCS otomatis dengan *digene* HC2 High-Risk HPV DNA Test.

Tiga operator berbeda melakukan *digene* HC2 High-Risk HPV DNA Test pada hari yang berbeda menggunakan instrumen yang berbeda dan reagen lot yang berbeda dengan panel 9-bagian. Setiap bagian panel diuji dalam duplikat selama 24 pengoperasian yang berbeda, menghasilkan 48 titik data untuk setiap bagian panel. 8 bagian panel positif disiapkan dengan menambahkan baik DNA HPV sel SiHa atau HeLa ke DNA HPV negatif sel H9 dalam PreservCyt Solution, sedangkan bagian panel DNA HPV negatif hanya mengandung DNA HPV negatif sel H9.

Untuk bagian panel dengan RLU/CO rata-rata pada 20% atau lebih di atas CO, 237 atau 240 (98,8%) adalah positif. Untuk bagian panel dengan RLU/CO rata-rata dalam 20% di atas atau di bawah CO, 95 dari 144 (66,0%) adalah positif dan 49 dari 144 (34,0%) adalah negatif. Untuk bagian panel dengan RLU/CO rata-rata pada 20% atau lebih di bawah CO, 48 dari 48 (100,0%) adalah negatif (lihat Tabel 47, di bawah).

**Tabel 47. Reproduksiabilitas spesimen PreservCyt — penyiapan sampel menggunakan QIASymphony DSP AXpH DNA Kit; reproduksiabilitas kualitatif**

Bagian panel	Jenis sel	RLU/CO rata-rata	Simpangan baku	Hasil uji positif (%) (n/N)
1N	H9	0,17	0,03	0 (0/48)
2E	H9 dan HeLa	1,00	0,16	56 (27/48)
3E	H9 dan HeLa	1,16	0,57	54 (26/48)
4E	H9 dan SiHa	1,18	0,23	88 (42/48)
5P	H9 dan SiHa	1,89	0,20	100 (48/48)
6P	H9 dan HeLa	2,05	0,43	96 (46/48)
7P	H9 dan SiHa	2,97	0,45	100 (48/48)
8P	H9 dan HeLa	5,67	0,61	100 (48/48)
9P	H9 dan SiHa	9,91	1,63	98 (47/48)

Hasilnya mengindikasikan bahwa spesimen pada 20% atau lebih dari CO diharapkan dapat memberikan hasil yang konsisten. Spesimen di dekat CO menghasilkan jumlah hasil positif dan negatif yang kira-kira sama. Data ini menunjukkan bahwa penyiapan sampel dari spesimen PreservCyt menggunakan QIASymphony DSP AXpH DNA Kit diikuti dengan pengujian dengan *digene* HC2 High-Risk HPV DNA Test yang menghasilkan hasil yang dapat direproduksi.

Hasil studi internal ini juga digunakan untuk mengevaluasi reproduksiabilitas kuantitatif dari hasil yang diperoleh dengan penyiapan sampel dari spesimen PreservCyt menggunakan QIASymphony DSP AXpH DNA Kit (lihat Tabel 48, di bawah).

**Tabel 48. Reproduksiabilitas spesimen PreservCyt — penyiapan sampel menggunakan QIASymphony DSP AXpH DNA Kit; reproduksiabilitas kuantitatif**

Bagian panel	n	RLU/CO rata-rata	Simpangan baku			Simpangan baku total yang diperkirakan	Total CV yang diperkirakan (%)
			Dalam pengoperasian	Antarpengoperasian	Antarkombinasi*		
1N	48	0,17	0,02	0,02	0,01	0,03	18,13
2E	48	1,00	0,14	0,05	0,06	0,16	16,20
3E	48	1,16	0,48	0,22	0,23	0,57	49,27
4E	48	1,18	0,16	0,14	0,10	0,23	19,63
5P	48	1,89	0,09	0,09	0,16	0,20	10,63
6P	48	2,05	0,18	0,34	0,19	0,43	20,83
7P	48	2,97	0,27	0,23	0,28	0,45	15,14
8P	48	5,67	0,35	0,44	0,24	0,61	10,85
9P	48	9,91	1,36	0,55	0,71	1,63	16,42

\* Antara kombinasi dari *digene* HC2 High-Risk HPV DNA Test kits, QIASymphony DSP AXpH DNA Kits, RCS yang digunakan, QIASymphony SP yang digunakan dan operator.

## Reproduksiabilitas spesimen SurePath klinis

### Pengujian manual

Reproduksiabilitas pengujian manual dari sampel pelet sel pasca-gradien SurePath dengan *digene* HC2 High-Risk HPV DNA Test ditentukan dalam studi yang menggunakan 3 laboratorium berbeda. Bagian panel diuji menggunakan CO dari 1,0 RLU/CO pada hari berbeda dan dengan pengoperasian berbeda yang menggunakan set bagian panel yang identik dengan status HPV positif atau negatif yang diketahui. Panel tersebut terdiri dari 5 bagian positif, 2 negatif tinggi/positif rendah dan 5 negatif.

Setiap bagian panel disiapkan dengan mengombinasikan spesimen klinis unik yang dikumpulkan dalam SurePath Preservative Fluid dengan status HPV negatif dan positif yang diketahui untuk memperoleh nilai RLU/CO target yang diinginkan. Setiap bagian panel diuji dalam duplikasi, dua kali per hari, selama periode 5 hari pada setiap 3 laboratorium yang berpartisipasi (lihat Tabel 49, di bawah).

**Tabel 49. Reproduksiabilitas sampel pelet sel pasca-gradien SurePath — pengujian manual; reproduksiabilitas kualitatif**

Bagian panel	RLU/CO rata-rata	Hasil uji positif (%) (n/N)
1	0,20	0,0 (0/60)
2	0,21	0,0 (0/60)
3	0,22	0,0 (0/60)
4	0,28	3,3 (2/60)
5	0,36	3,3 (2/60)
6	0,83	21,7 (13/60)
7	1,17	43,3 (26/60)
8	19,47	100,0 (60/60)
9	25,65	100,0 (60/60)
10	81,52	100,0 (60/60)
11	154,18	100,0 (60/60)
12	765,29	100,0 (60/60)

#### Pengujian RCS otomatis

Reproduksiabilitas sampel pelet sel pasca-gradien SurePath yang dihasilkan dengan pengujian RCS otomatis dibandingkan dengan hasil yang diperoleh dengan pengujian manual. Dua alikuot terpisah dari sampel pelet sel pasca-gradien SurePath yang diproses dengan cara yang sama (dari spesimen yang sama) diuji (lihat Tabel 50, di bawah).

**Tabel 50. Reproduksiabilitas sampel pelet sel pasca-gradien SurePath — pengujian RCS otomatis; menghasilkan kesesuaian antara pengujian RCS otomatis dan manual**

Kesesuaian positif (%) (n/N) 95% CI		Kesesuaian negatif (%) (n/N) 95% CI	
Semua positif	Wilayah positif yang kuat (RLU/CO $\geq 2,5$ )	Semua negatif	Wilayah negatif yang kuat (RLU/CO $< 0,80$ )
99,0 (417/421)	100,0 (375/375)	97,7 (1057/1079)	98,7 (1050/1064)
97,6–99,7	99,0–100,0	96,9–98,75	97,8–99,28

### Penyiapan sampel dari spesimen SurePath menggunakan QIASymphony DSP HPV Media Kit

Sebuah studi dilakukan untuk mengevaluasi reproduksibilitas hasil menggunakan spesimen SurePath yang disimulasikan. Penyiapan sampel yang menggunakan QIASymphony DSP HPV Media Kit diikuti dengan pengujian RCS otomatis dengan *digene* HC2 High-Risk HPV DNA Test. 4 bagian panel positif disiapkan dengan menambahkan DNA HPV positif sel SiHa ke DNA HPV negatif sel H-9 dalam SurePath Preservative Fluid, sedangkan bagian panel DNA HPV negatif hanya mengandung DNA HPV negatif sel H-9 dalam SurePath Preservative Fluid.

Tiga operator berbeda melakukan pengujian pada 6 hari yang berbeda menggunakan 3 instrumen QIASymphony SP berbeda dan 3 lot QIASymphony DSP HPV Media Kit berbeda dengan bagian panel 1N, 2E, 3P, 4P dan 5P. Bagian panel 1N, 2E, 3P dan 4P diuji dengan 18 replikasi pada 37 pengoperasian berbeda, menghasilkan 666 titik data untuk bagian panel 2E dan 3P dan 665 titik data untuk bagian panel 1N dan 4P. Bagian panel 5P diuji dengan 16 replikasi pada 37 pengoperasian berbeda, menghasilkan 590 titik data. Empat titik data dikecualikan karena volume yang tidak mencukupi seperti yang ditandai oleh QIASymphony SP selama penyiapan sampel.

Untuk bagian panel dengan RLU/CO rata-rata pada 20% atau lebih di atas CO, 1921 atau 1921 (100,0%) adalah positif. Untuk bagian panel dengan RLU/CO rata-rata dalam 20% di atas atau di bawah CO, 410 dari 666 (61,6%) adalah positif dan 256 dari 666 (38,4%) adalah negatif. Untuk bagian panel dengan RLU/CO rata-rata pada 20% atau lebih di bawah CO, 664 dari 665 (99,8%) adalah negatif (lihat Tabel 51, di bawah).

**Tabel 51. Reproduksi spesimen SurePath — penyiapan sampel menggunakan QIASymphony DSP HPV Media Kit; reproduksibilitas kualitatif**

Bagian panel	Jenis sel	RLU/CO rata-rata	Simpangan baku	Hasil uji positif (%) (n/N)
1N	H-9	0,38	0,06	0,2 (1/665)
2E	SiHa dan H-9	1,06	0,17	61,6 (410/666)
3P	SiHa dan H-9	4,51	0,78	100,0 (666/666)
4P	SiHa dan H-9	8,34	1,57	100,0 (665/665)
5P	SiHa dan H-9	24,69	5,12	100,0 (590/590)

Hasilnya mengindikasikan bahwa spesimen SurePath pada 20% atau lebih dari CO diharapkan dapat memberikan hasil yang konsisten. Spesimen SurePath di dekat CO menghasilkan jumlah hasil positif dan negatif yang kira-kira sama. Data ini menunjukkan bahwa penyiapan sampel dari spesimen SurePath menggunakan QIASymphony DSP HPV Media Kit diikuti dengan pengujian dengan *digene* HC2 High-Risk HPV DNA Test yang menghasilkan hasil yang dapat direproduksi.

Hasil studi internal ini juga digunakan untuk mengevaluasi reproduksibilitas kuantitatif dari hasil yang diperoleh dengan penyiapan sampel dari spesimen SurePath menggunakan QIASymphony DSP HPV Media Kit.

Tiga operator berbeda melakukan pengujian pada 6 hari yang berbeda menggunakan 3 instrumen QIASymphony SP berbeda dan 3 lot QIASymphony DSP HPV Media Kit berbeda dengan bagian panel 1N, 2E, 3P, 4P dan 5P. Bagian panel 1N, 2E, 3P, dan 4P diuji dengan 18 replikasi, menghasilkan 162 titik data untuk setiap bagian panel. Bagian panel 5P diuji dengan 16 replikasi, menghasilkan 144 titik data (lihat Tabel 52, di bawah).

**Tabel 52. Reproduksiabilitas spesimen SurePath —penyiapan sampel menggunakan QIASymphony DSP HPV Media Kit; reproduksiabilitas kuantitatif**

Bagian panel	n	RLU/CO rata-rata	Simpangan baku			Simpangan baku total yang diperkirakan	Total CV yang diperkirakan (%)
			Dalam pengoperasian	Antarhari	Antarkombinasi*		
1N	162	0,37	0,06	0,02	0,03	0,07	19,18
2E	162	1,05	0,14	0,07	0,10	0,18	17,41
3P	162	4,40	0,62	0,00	0,43	0,75	17,09
4P	162	8,24	1,15	1,01	1,34	1,77	21,42
5P	144	23,89	3,95	4,10	4,67	6,11	25,59

\* Suatu pengoperasian terdiri dari kombinasi QIASymphony DSP HPV Media Kit, instrumen QIASymphony SP dan operator pada hari tertentu.

Reproduksiabilitas kuantitatif sangat tinggi seperti yang diindikasikan oleh semua nilai CV yang tersisa di bawah 26%. Simpangan baku antarpengoperasian sebanding dengan nilai yang sesuai dalam pengoperasian, yang mengindikasikan hasil yang konsisten terlepas dari instrumen atau kit lot yang digunakan.

### **Penyiapan sampel dari sampel sel pasca-gradien SurePath menggunakan QIASymphony DSP HPV Media Kit**

Sebuah studi dilakukan untuk mengevaluasi reproduksiabilitas hasil menggunakan sampel pelet sel pasca-gradien SurePath yang disimulasikan. Penyiapan sampel yang menggunakan QIASymphony DSP HPV Media Kit diikuti dengan pengujian RCS otomatis dengan *digene* HC2 High-Risk HPV DNA Test. Bahan kultur sel dalam 70% SurePath Preservative Fluid digunakan untuk meniru sampel pelet sel pasca-gradien SurePath. 4 bagian panel positif disiapkan dengan menambahkan DNA HPV positif sel SiHa ke DNA HPV-negatif sel H-9 dalam SurePath Preservative Fluid, sedangkan bagian panel DNA HPV negatif hanya mengandung DNA HPV negatif sel H-9 dalam SurePath Preservative Fluid.

Empat operator berbeda melakukan pengujian pada 6 hari yang berbeda menggunakan 3 instrumen QIASymphony SP berbeda dan 3 lot QIASymphony DSP HPV Media Kit berbeda dengan bagian panel 1, 2, 3, 4 dan 5. Bagian panel 1, 2, 3 dan 4 diuji dengan 18 replikasi pada 37 pengoperasian berbeda, menghasilkan 666 titik data untuk bagian panel 1 dan 3 dan 665 titik data untuk bagian panel 2 dan 4. Dua titik data dikecualikan karena volume yang tidak mencukupi seperti yang ditandai oleh QIASymphony SP selama penyiapan sampel. Bagian panel 5 diuji dengan 16 replikasi pada 37 pengoperasian berbeda, menghasilkan 592 titik data.

Untuk bagian panel dengan RLU/CO rata-rata pada 20% atau lebih di atas CO, 1923 atau 1923 (100,0%) adalah positif. Untuk bagian panel dengan RLU/CO rata-rata dalam 20% di atas atau di bawah CO, 416 dari 665 (62,6%) adalah positif dan 249 dari 665 (37,4%) adalah negatif. Untuk bagian panel dengan RLU/CO rata-rata pada 20% atau lebih di bawah CO, 666 dari 666 (100%) adalah negatif (lihat Tabel 53, di bawah).

**Tabel 53. Reproduksiabilitas sampel pelet sel pasca-gradien SurePath – penyiapan sampel menggunakan QIASymphony DSP HPV Media Kit; reproduksiabilitas kualitatif**

Bagian panel	Jenis sel	RLU/CO rata-rata	Simpangan baku	CV (%)	Hasil uji positif (%) (n/N)
1	H-9	0,12	0,02	18,77	0,0 (0/666)
2	SiHa dan H-9	0,96	0,11	11,15	62,6 (416/665)
3	SiHa dan H-9	4,72	0,56	11,89	100,0 (666/666)
4	SiHa dan H-9	9,34	0,98	10,46	100,0 (665/665)
5	SiHa dan H-9	24,9	3,37	13,55	100,0 (592/592)

Hasilnya mengindikasikan bahwa sampel pelet sel pasca-gradien SurePath pada 20% atau lebih dari CO diharapkan dapat memberikan hasil yang konsisten. Sampel pelet sel pasca-gradien SurePath di dekat CO menghasilkan jumlah hasil positif dan negatif yang kira-kira sama. Data ini menunjukkan bahwa penyiapan sampel dari sampel pelet sel pasca-gradien SurePath menggunakan QIASymphony DSP HPV Media Kit diikuti dengan pengujian dengan *digene* HC2 High-Risk HPV DNA Test yang menghasilkan hasil yang dapat direproduksi.

Hasil studi internal ini juga digunakan untuk mengevaluasi reproduksiabilitas kuantitatif dari hasil yang diperoleh dengan penyiapan sampel dari sampel pelet sel pasca-gradien SurePath menggunakan QIASymphony DSP HPV Media Kit.

Empat operator berbeda melakukan pengujian pada 6 hari yang berbeda menggunakan 3 instrumen QIASymphony SP berbeda dan 3 lot QIASymphony DSP HPV Media Kit berbeda dengan bagian panel 1, 2, 3, 4 dan 5. Bagian panel 1, 2, 3, dan 4 diuji dengan 18 replikasi, menghasilkan 162 titik data untuk setiap bagian panel. Bagian panel 5 diuji dengan 16 replikasi, menghasilkan 144 titik data (lihat Tabel 54, di bawah).

**Tabel 54. Reproduksi sampel pelet sel pasca-gradien SurePath — penyiapan sampel menggunakan QIASymphony DSP HPV Media Kit; reproduktibilitas kuantitatif**

Bagian panel	n	RLU/CO rata-rata	Simpangan baku			Simpangan baku total yang diperkirakan	Total CV yang diperkirakan (%)
			Dalam pengoperasian	Antarhari	Antarkombinasi*		
1	162	0,12	0,02	0,00	0,01	0,02	19,80
2	162	1,00	0,08	0,02	0,06	0,10	10,27
3	162	4,99	0,37	0,13	0,38	0,55	11,00
4	162	9,78	0,61	0,23	0,54	0,85	8,72
5	144	26,40	2,19	0,70	1,51	2,75	10,41

\* Antara kombinasi hari yang berbeda, operator, lot QIASymphony DSP HPV Media Kit dan instrumen QIASymphony SP.

Reproduktibilitas kuantitatif sangat tinggi seperti yang diindikasikan oleh semua nilai CV yang tersisa di bawah 20%. Simpangan baku antarpengoperasian sebanding dengan nilai yang sesuai dalam pengoperasian, yang mengindikasikan hasil yang konsisten terlepas dari instrumen atau kit lot yang digunakan.

## Reaktivitas silang

Sekumpulan bakteri, virus dan plasmid biasanya ditemukan di saluran anogenital wanita, serta sekumpulan jenis HPV kutaneotropik yang klonnya tersedia, diuji untuk menentukan apakah reaktivitas silang akan terjadi dengan *digene* HC2 High-Risk HPV DNA Test. Semua mikroorganisme diuji pada konsentrasi organisme  $1 \times 10^5$  dan  $1 \times 10^7$  per ml. DNA virus dan plasmid yang telah dimurnikan diuji pada konsentrasi 4 ng/ml.

Bakteri berikut diuji dan semuanya diuji negatif dalam *digene* HC2 High-Risk HPV DNA Test:

- *Acinetobacter anitratus*
- *Acinetobacter lwoffii* (ATCC® 17908)
- *Bacteroides fragilis* (ATCC 25285)
- *Bacteroides melaninogenicus*
- *Candida albicans* (ATCC 14053 or 10231)
- *Chlamydia trachomatis*
- *Enterobacter cloacae*
- *Escherichia coli* (HB101) \*
- *Escherichia coli* \*
- *Fusobacterium nucleatum*

\* Baik galur *E. coli* yang digunakan untuk menumbuhkan plasmid (HB101) dan maupun isolat klinis *E. coli* telah diuji.

- *Gardnerella vaginalis*
- *Haemophilus ducreyi*
- *Klebsiella pneumoniae*
- *Lactobacillus acidophilus*
- *Mobiluncus curtisii*
- *Mobiluncus mulieris*
- *Mycoplasma hominis*
- *Mycoplasma hyorhinis*
- *Neisseria gonorrhoeae* (ATCC 19424)
- *Neisseria lactamica* (NRL 2118)
- *Neisseria meningitidis* (ATCC 13077)
- *Neisseria sicca* (ATCC 29256)
- *Peptostreptococcus anaerobius*
- *Proteus vulgaris* (ATCC 21117, 8427, 33420)
- *Serratia marcescens*
- *Staphylococcus aureus* (galur Cowan)
- *Staphylococcus epidermidis*
- *Streptococcus faecalis* (ATCC 14508)
- *Streptococcus pyogenes* (ATCC27762)
- *Treponema pallidum*
- *Trichomonas vaginalis*
- *Ureaplasma urealyticum*

DNA virus plasmid atau serum manusia berikut diuji dan semuanya diuji negatif dalam *digene* HC2 High-Risk HPV DNA Test:

- Adenovirus 2
- Sitomegalovirus
- Virus Epstein-Barr
- Serum antigen-positif permukaan Hepatitis B
- Herpes simpleks I
- Herpes simpleks II
- Virus imunodefisiensi manusia (HIV, RT DNA)
- HPV jenis 1, 2, 3, 4, 5, 8, 13 dan 30
- Virus simian jenis 40 (SV40)

Satu-satunya plasmid yang menunjukkan reaktivitas silang dalam *digene* HC2 High-Risk HPV DNA Test adalah pBR322. Reaktivitas silang antara pBR322 dan Campuran Kuar tidak terduga karena sulit untuk menghilangkan semua vektor DNA pBR322 saat mengisolasi sisipan HPV. Adanya sekuens homolog pBR322 telah dilaporkan pada spesimen genital manusia dan hasil positif palsu dapat terjadi dengan adanya plasmid bakteri tingkat tinggi.

Namun, 298 spesimen klinis yang diuji positif dengan *digene* HC2 High-Risk HPV DNA Test tidak memiliki hasil positif karena pBR322 ketika diuji dengan kuar pBR322. Dengan demikian, kemungkinan hasil positif palsu *digene* HC2 High-Risk HPV DNA Test karena sekuens pBR322 homolog dalam spesimen klinis tampaknya rendah.

## Hibridisasi silang

Delapan belas jenis HPV yang berbeda (risiko tinggi dan risiko rendah) diuji dengan *digene* HC2 High-Risk HPV DNA Test pada konsentrasi 4 ng/ml DNA HPV. Semua target HPV berisiko tinggi adalah positif. Studi ini juga menunjukkan bahwa ada sejumlah kecil hibridisasi silang antara HPV jenis 6 dan 42 dan *digene* HC2 High-Risk HPV DNA Test. Spesimen pasien dengan level tinggi (4 ng/ml atau lebih tinggi) dari HPV jenis 6 atau 42 dapat memiliki hasil *digene* HC2 High-Risk HPV DNA Test positif salah. Signifikansi klinis dari hal ini adalah bahwa pasien dengan 4 ng/ml atau lebih tinggi dari HPV jenis 6 atau 42 mungkin tidak perlu dirujuk untuk kolposkopi.

*digene* HC2 High-Risk HPV DNA Test juga telah terbukti bereaksi silang dengan HPV jenis 40, 53, dan 66. Jenis ini jarang, dan tidak ada cukup bukti untuk menetapkan korelasi yang tepat antara infeksi dengan jenis ini dan perkembangan penyakit stadium lanjut (15). Juga telah dilaporkan dalam literatur bahwa kuar kompleks serupa digunakan dalam uji ini dapat menyebabkan hasil positif palsu karena hibridisasi silang dengan HPV jenis 11, 53, 54, 55, 66, MM4, MM7, MM8 atau MM9 (35). Meskipun beberapa jenis HPV ini jarang atau jenis baru yang tidak sering dijumpai dengan penyakit stadium lanjut, pasien yang spesimennya mengandung jenis DNA HPV tingkat tinggi ini dapat salah dirujuk untuk kolposkopi.

## Efek darah dan zat lain pada spesimen STM

Efek darah dan zat lain yang didefinisikan atau tidak didefinisikan yang berpotensi mengganggu dievaluasi dalam *digene* HC2 High-Risk HPV DNA Test. Darah utuh, obat semprot, krim anti-jamur dan jeli kontraseptif (zat yang biasanya dapat ditemukan dalam spesimen serviks) ditambahkan ke spesimen STM-negatif dan STM-positif (kumpulan spesimen klinis dan spesimen non-klinis) pada konsentrasi yang dapat ditemukan dalam spesimen serviks.

Tidak ada hasil positif palsu diamati dengan salah satu dari empat zat pada konsentrasi apa pun. Namun, hasil negatif palsu dapat dilaporkan dalam spesimen klinis dengan level DNA HPV mendekati CO untuk pengujian (1 pg/ml) jika krim anti-jamur atau jeli kontraseptif ada dalam konsentrasi tinggi. Namun, sangat tidak mungkin bahwa spesimen klinis hampir seluruhnya akan terdiri dari salah satu dari zat ini karena serviks secara rutin dibersihkan sebelum memperoleh spesimen untuk Pap smear dan untuk pengujian HPV.

---

## Efek darah dan zat lain pada spesimen PreservCyt

### Penyiapan sampel manual

Efek darah dan zat lain yang didefinisikan atau tidak didefinisikan yang berpotensi mengganggu dalam spesimen PreservCyt dievaluasi dalam *digene* HC2 High-Risk HPV DNA Test. Darah utuh, obat semprot, krim anti-jamur dan jeli kontraseptif (zat yang biasanya dapat ditemukan dalam spesimen serviks) ditambahkan ke kumpulan spesimen klinis PreservCyt negatif dan positif pada konsentrasi yang dapat ditemukan dalam spesimen serviks. Tidak ada hasil positif-palsu atau negatif-palsu diamati dengan salah satu dari 4 zat pada konsentrasi apa pun. Selanjutnya, zat yang melekat pada beberapa spesimen klinis tidak menghambat deteksi DNA HPV dengan *digene* HC2 High-Risk HPV DNA Test.

### Penyiapan sampel menggunakan QIASymphony DSP HPV Media Kit

Efek darah dan zat lain yang berpotensi mengganggu dalam spesimen PreservCyt dievaluasi menggunakan QIASymphony DSP HPV Media Kit untuk penyiapan sampel dan pengujian RCS-otomatis menggunakan *digene* HC2 High-Risk HPV DNA Test. Efek dari zat yang berpotensi mengganggu berikut ini diuji:

- Krim anti-jamur
- Krim anti-peradangan
- Darah
- Jeli kontraseptif
- Obat semprot
- Supositoria penghilang bau feminin
- Jeli pelumas
- Spermisida

Setiap zat ditambahkan ke kumpulan klinis negatif dan positif. Tidak ada hasil positif-palsu atau negatif-palsu diamati dengan zat apa pun pada konsentrasi yang dapat ditemukan dalam spesimen serviks. Namun, hasil negatif-palsu dapat dilaporkan dalam spesimen klinis dengan level DNA HPV mendekati CO untuk pengujian jika krim anti-jamur, jeli pelumas vagina atau darah ada dalam konsentrasi tinggi. Namun, sangat tidak mungkin bahwa specimen klinis hampir seluruhnya akan terdiri dari salah satu dari zat ini karena serviks secara rutin dibersihkan sebelum memperoleh spesimen untuk Pap smear dan untuk pengujian HPV.

## Penyiapan sampel menggunakan QIASymphony DSP AXpH DNA Kit

Efek dari darah utuh dalam spesimen PreservCyt dievaluasi menggunakan QIASymphony DSP AXpH DNA Kit untuk penyiapan sampel dan *digene* HC2 High-Risk HPV DNA Test untuk pengujian. Spesimen klinis yang tampak berdarah dipilih dan diuji menggunakan baik metode penyiapan sampel manual dan metode penyiapan sampel otomatis yang menggunakan QIASymphony DSP AXpH DNA Kit. Hasilnya dibandingkan untuk 238 spesimen dan menghasilkan kesesuaian total 94,12% dan nilai p McNemar 0,2850, yang mengindikasikan tidak ada perbedaan yang signifikan secara statistik dalam kinerja klinis antara metode penyiapan sampel manual dan metode penyiapan sampel otomatis yang menggunakan QIASymphony DSP AXpH DNA Kit.

Efek dari zat yang berpotensi mengganggu berikut ini diuji:

- Obat semprot
- Krim anti-jamur
- Jeli kontraseptif
- Sel inti tunggal darah tepi (Peripheral Blood Mononuclear Cells, PBMC)
- Jeli pelumas
- Semprotan feminin
- Spermisida
- Partikel magnetik
- Cairan TopElute

Setiap zat ditambahkan ke kumpulan seluler negatif dan positif pada konsentrasi yang dapat ditemukan dalam spesimen serviks atau dapat ditambahkan selama penyiapan sampel. Tidak ada hasil positif-palsu diamati dengan zat apa pun pada konsentrasi berapa pun. Tidak ada hasil negatif-palsu diamati dengan pengecualian jeli kontraseptif.

Jangan mengambil spesimen serviks PreservCyt untuk penyiapan sampel otomatis menggunakan QIASymphony DSP AXpH DNA Kit jika ada jeli kontraseptif.

## Efek darah dan zat lain pada spesimen SurePath

Penyiapan sampel dari sampel SurePath menggunakan QIASymphony DSP HPV Media Kit

Efek darah dan zat lain yang berpotensi mengganggu dalam sampel SurePath dievaluasi menggunakan QIASymphony DSP HPV Media Kit untuk penyiapan sampel dan pengujian RCS-otomatis menggunakan *digene* HC2 High-Risk HPV DNA Test.

Efek dari zat yang berpotensi mengganggu berikut ini diuji:

- Krim anti-jamur
- Krim anti-peradangan
- Darah
- Jeli kontraseptif
- Obat semprot
- Supositoria penghilang bau feminin
- Jeli pelumas
- Spermisida

Setiap zat ditambahkan ke kumpulan klinis negatif dan positif. Tidak ada hasil positif-palsu diamati dengan zat apa pun pada konsentrasi yang dapat ditemukan dalam spesimen serviks.

Tidak ada hasil negatif-palsu diamati dengan pengecualian zat berikut:

- Jeli kontraseptif menyebabkan hasil negatif-palsu pada konsentrasi yang sangat rendah.
- Jika ada krim anti-jamur dengan konsentrasi tinggi pada spesimen, hasil negatif-palsu dapat dilaporkan dalam spesimen klinis dengan level DNA HPV mendekati CO untuk pengujian. Namun, sangat tidak mungkin bahwa spesimen klinis hampir seluruhnya akan terdiri dari krim anti-jamur karena serviks secara rutin dibersihkan sebelum memperoleh spesimen untuk Pap smear dan untuk pengujian HPV.

Jangan mengambil spesimen serviks SurePath untuk penyiapan sampel otomatis menggunakan QIASymphony DSP HPV Media Kit jika ada krim anti-jamur atau jeli kontraseptif.

Penyiapan sampel dari sampel pelet sel pasca-gradien SurePath menggunakan QIASymphony DSP HPV Media Kit

Efek darah dan zat lain yang berpotensi mengganggu dalam sampel pelet sel pasca-gradien SurePath dievaluasi menggunakan QIASymphony DSP HPV Media Kit untuk penyiapan sampel dan pengujian RCS otomatis menggunakan *digene* HC2 High-Risk HPV DNA Test.

Efek dari zat yang berpotensi mengganggu berikut ini diuji:

- Krim anti-jamur
- Krim anti-peradangan
- Darah
- Jeli kontraseptif
- Obat semprot
- Supositoria penghilang bau feminin
- Jeli pelumas
- Spermisida

Setiap zat ditambahkan ke kumpulan klinis negatif dan positif yang kemudian diproses melalui BD PrepMate System untuk meniru sampel pelet sel pasca-gradien SurePath. Suatu hasil positif-palsu tunggal diamati baik untuk darah dan krim anti-jamur; namun analisis statistik menunjukkan tidak ada gangguan yang signifikan. Tidak ada hasil positif-palsu diamati dengan zat lain yang mana pun pada konsentrasi yang dapat ditemukan dalam spesimen serviks.

Hasil negatif-palsu diamati untuk krim anti-jamur, krim anti-peradangan dan jeli kontraseptif. Jangan mengambil spesimen serviks SurePath untuk penyiapan sampel otomatis menggunakan QIAAsymphony DSP HPV Media Kit jika ada krim anti-jamur, krim anti-peradangan atau jeli kontraseptif.

## Limpahan

RCS dirancang untuk meminimalkan kontaminasi spesimen atau limbah fosfatase alkali sisa melalui penggunaan ujung pipet sekali pakai untuk reagen dan embusan spesimen. Untuk memastikan karakteristik desain ini, QIAGEN melakukan beberapa studi untuk mengevaluasi jika penggunaan RCS meningkatkan potensi limbah atau kontaminasi silang pada spesimen dibandingkan dengan metode manual. Berbagai instrumen RCS digunakan untuk menilai potensi limbah dari sistem-ke-sistem.

Dalam satu studi, 2 ng dan 20 ng plasmid DNA HPV ditambahkan ke bahan Kontrol Negatif untuk menyiapkan spesimen STM dengan positif tinggi. Konsentrasi 20 ng/ml menghasilkan nilai RLU sekitar 3–5 kali lebih tinggi dibandingkan dengan spesimen klinis dengan positif tertinggi yang diharapkan untuk diamati selama pengujian klinis yang rutin. Spesimen dengan positif tinggi yang disimulasikan ini ditempatkan di seluruh pelat mikro dalam pola kota-kotak bergantian dengan sumuran yang hanya mengandung Kontrol Negatif (sumuran uji). Desain ini mempertimbangkan potensi efek tambahan dari spesimen dengan positif tinggi berurutan. Pelat mikro kemudian diuji menggunakan baik metode pengujian RCS manual dan otomatis. Setelah diproses, jumlah sumuran uji positif palsu dibandingkan. Pengujian RCS-otomatis tidak menghasilkan lebih banyak sumuran uji positif-palsu daripada pengujian manual dengan spesimen STM yang disimulasikan ini, bahkan ketika sekuens spesimen positif yang sangat tinggi terdapat pada pelat mikro.

Dalam evaluasi limbah kedua, spesimen PreservCyt pasien dengan HPV-positif dikombinasikan untuk membuat panel spesimen dengan level pendaran kimia berbeda untuk menghasilkan nilai RLU/CO yang mewakili kisaran yang diharapkan selama pengujian klinis RCS otomatis yang rutin. Spesimen positif berkisar dari sekitar 200–1800 RLU/CO. Untuk menilai potensi limbah, termasuk potensi efek tambahan dari positif tinggi berurutan, bagian panel positif ini ditempatkan pada pelat mikro dalam pola kota-kotak di sebelah sumuran kontrol negatif. Pelat ini kemudian diuji menggunakan metode pengujian RCS otomatis.

---

Hasil evaluasi limpahan ini, menggunakan spesimen pasien yang dikumpulkan, menunjukkan potensi laju positif-palsu 0,3% karena efek limpahan saat melakukan pengujian RCS otomatis dengan *digene* HC2 High-Risk HPV DNA Test.

Pengalaman QIAGEN yang melakukan pengujian dengan spesimen PreservCyt yang dikumpulkan menunjukkan bahwa pengumpulan spesimen PreservCyt pasien menghasilkan spesimen yang tidak menunjukkan karakteristik yang mirip dengan spesimen pasien tunggal. Meskipun efek dari penggabungan ini pada potensi limpahan pengujian RCS-otomatis tidak diketahui, pengujian pra-klinis tambahan dari pengujian RCS otomatis menunjukkan tidak ada peningkatan potensi untuk hasil positif palsu karena limpahan. Evaluasi ini dilakukan menggunakan spesimen plasmid buatan dengan konsentrasi DNA hampir 5 kali lebih tinggi daripada yang diamati dalam pengaturan klinis.

Suatu evaluasi limpahan ketiga membuat spesimen uji dengan menambahkan pewarna fluoresens dalam konsentrasi yang mewakili rentang RLU dinamis dari uji kadar terhadap matriks latar belakang yang memperkirakan viskositas spesimen klinis dan reagen *digene* HC2 High-Risk HPV DNA Test. Spesimen uji ini kemudian diproses menggunakan 3 instrumen RCS terpisah, dan potensi limpahan dari setiap langkah prosedural penting RCS berikut dievaluasi:

- Transfer spesimen
- Transfer pelat-ke-pelat
- Tambahan kuar
- Pengocokan pelat mikro
- Pencucian pelat mikro

Fluoresens yang dihasilkan diukur pada panjang gelombang eksitasi 485 nm dan panjang gelombang emisi 535 nm dan cukup sensitif untuk mendeteksi peristiwa limpahan pada urutan 1:20.000, yang akan sesuai dengan hasil positif palsu dengan *digene* HC2 High-Risk HPV DNA Test (yaitu, 1 pg dalam 20 ng). Hasil evaluasi ini menunjukkan tidak ada peristiwa limpahan selama salah satu dari langkah prosedural kunci RCS yang akan mengarah pada hasil *digene* HC2 High-Risk HPV DNA Test positif palsu.

## Stabilitas reagen terpasang

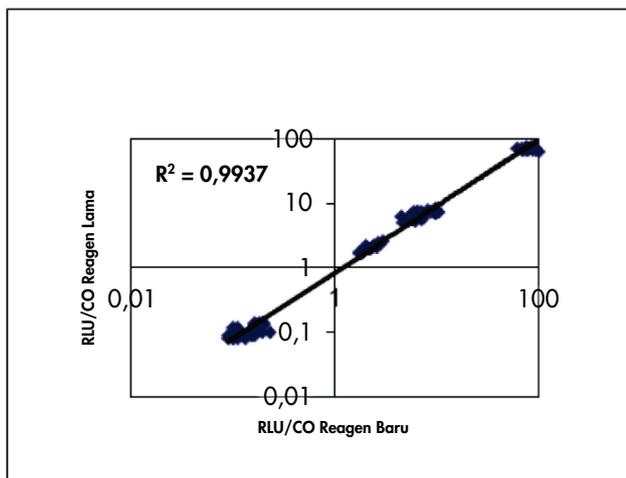
QIAGEN menilai karakteristik kinerja dari pengujian RCS otomatis ketika menggunakan reagen yang tetap terpasang pada platform sistem selama periode yang lama. Reagen yang kemungkinan besar akan dikenakan penempatan terpasang yang diperpanjang termasuk Campuran Kuar, DR1, DR2 dan Pelat Mikro Tangkapan.

Kinerja uji dievaluasi menggunakan baik reagen yang baru disiapkan dan reagen yang dibiarkan menua terpasang pada instrumen RCS pada suhu kamar selama periode 16 jam (untuk mensimulasikan 2 pergeseran waktu kerja dalam pengaturan laboratorium) Pengujian spesimen klinis yang disimulasikan dilakukan menggunakan 2 instrumen RCS masing-masing pada 2 hari pengujian dengan matriks reagen yang didefinisikan (lihat Tabel 55, di bawah).

**Tabel 55. Desain studi untuk stabilitas reagen terpasang**

Instrumen RCS	Hari 1	Hari 2
1	Reagen lama	Reagen baru
2	Reagen baru	Reagen lama

Plot dari semua titik data RLU/CO ditunjukkan dalam Gambar 3, di bawah. Plot dan analisis regresi untuk reagen lama versus baru mengindikasikan kesesuaian antara reagen lama dan baru.



**Gambar 3. Plot berpenjar yang membandingkan nilai kalibrator uji kadar dan kontrol menggunakan reagen lama dan baru.**

Pemeriksaan lebih lanjut dari hasil kesesuaian menunjukkan bahwa tidak ada hasil kualitatif yang berubah saat menggunakan reagen lama (lihat Tabel 56, di bawah).

**Tabel 56. Kesesuaian reagen baru terhadap yang lama**

Pengukuran statistik	Hasil
Kesesuaian keseluruhan (%)	100,0%
(n/N)	(96/96)
95% CI	97,97–100,0
Kesesuaian positif (%)	100,0%
(n/N)	(64/64)
95% CI	97,97–100,0
Kesesuaian negatif (%)	100,0%
(n/N)	(32/32)
95% CI	97,97–100,0
R <sup>2</sup>	0,9937
Kemiringan	0,97
Perpotongan	0,47
Kapa	1,0

Analisis data menunjukkan hasil yang secara statistic identik untuk reagen baru dan lama, yang mengindikasikan bahwa reagen tersebut cukup stabil saat diletakkan di atas instrumen selama periode hingga 16 jam.

## Referensi

1. Broker, T. R. and Botchan, M. (1986) Papillomaviruses: retrospectives and prospectives. In: Botchan, M., Grodzicker, T., and Sharp, P., eds. *DNA Tumor Viruses: Control of Gene Expression and Replication*. Cold Spring Harbor, NY: Cold Spring Harbor Laboratory Press, p. 17-36. From the 1985 Cancer Cells Conference at Cold Spring Harbor.
2. Lorincz, A.T. and Reid, R. (1989) Association of human papillomavirus with gynecologic cancer. *Curr. Opin. Oncol.* **1**, 123.
3. Jenson, A.B., Kurman, R.J., and Lancaster, W.D. (1984) Human papillomaviruses. In: Belshe, R.B. *Textbook of Human Virology*. Littleton, MA: PSG Wright, p 951.
4. Becker, T.M., Stone, K.M., and Alexander, E.R. (1987) Genital human papillomavirus infection: a growing concern. *Obstet. Gynecol. Clin. North Am.* **14**, 389.
5. McCance, D.J., Walker, P.G., Dyson, J.L., Coleman, D.V., and Singer, A. (1983) Presence of human papillomavirus DNA sequences in cervical intraepithelial neoplasia. *Br. Med. J.* **287**, 784.
6. Naghashfar, Z. et al. (1985) Identification of genital tract papillomaviruses HPV 6 and HPV 16 in warts of the oral cavity. *J. Med. Virol.* **17**, 313.
7. Gissmann, L., Wolnik, L., Ikenberg, H., Koldovsky, U., Schnurch, H.G., and zur Hausen, H. (1983) Human papillomavirus types 6 and 11 DNA sequences in genital and laryngeal papillomas and in some cervical cancers. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* **80**, 560.
8. Munoz, N., Bosch, F.X., Shah, K.V., and Meheus, A., eds. (1992) *IARC Scientific Publications no. 119: The Epidemiology of Cervical Cancer and Human Papillomavirus*. Lyon, France: International Agency for Research on Cancer.
9. Reid, R. et al. (1987) Sexually transmitted papillomaviral infections. I. The anatomic distribution and pathologic grade of neoplastic lesions associated with different viral types. *Am. J. Obstet. Gynecol.* **156**, 212.
10. Fuchs, P.G., Girardi, F., and Pfister, H. (1988) Human papillomavirus DNA in normal, metaplastic, preneoplastic and neoplastic epithelia of the cervix uteri. *Int. J. Cancer* **41**, 41.

11. Lorincz, A.T., Temple, G.F., Kurman, R.J., Jenson, A.B., and Lancaster, W.D. (1987) Oncogenic association of specific human papillomavirus types with cervical neoplasia. *J. Natl. Cancer Inst.* **79**, 671.
12. Lorincz, A.T., Lancaster, W.D., and Temple, G.F. (1986) Cloning and characterization of the DNA of a new human papillomavirus from a woman with dysplasia of the uterine cervix. *J. Virol.* **58**, 225.
13. Beaudenon, S., Kremsdorf, D., Croissant, O., Jablonska, S., Wain Hobson, S., and Orth, G. (1986) A novel type of human papillomavirus associated with genital neoplasias. *Nature* **321**, 246.
14. Lorincz, A.T., Quinn, A.P., Lancaster, W.D., and Temple, G.F. (1987) A new type of papillomavirus associated with cancer of the uterine cervix. *Virology* **159**, 187.
15. Meyer, T. et al., (1998) Association of rare human papillomavirus types with genital premalignant and malignant lesions. *J. Infect. Dis.* **178**, 252.
16. Lorincz, A.T., Reid, R., Jenson, A.B., Greenberg, M.D., Lancaster, W., and Kurman, R.J. (1992) Human papillomavirus infection of the cervix: relative risk associations of 15 common anogenital types. *Obstet Gynecol* **79**, 328.
17. Longuet, M., Beaudenon, S., and Orth, G. (1996) Two novel genital human papillomavirus (HPV) types, HPV68 and HPV70, related to the potentially oncogenic HPV39. *J. Clin. Microbiol.* **34**, 738.
18. Naghashfar, Z.S., Rosenshein, N.B., Lorincz, A.T., Buscema, J., and Shah, K.V. (1987) Characterization of human papillomavirus type 45, a new type 18 related virus of the genital tract. *J. Gen. Virol.* **68**, 3073.
19. Nuovo, G.J., Crum, C.P., de Villiers, E.M., Levine, R.U., and Silverstein, S.J. (1988) Isolation of a novel human papillomavirus (type 51) from a cervical condyloma. *J. Virol.* **62**, 1452.
20. Shimoda, K., Lorincz, A.T., Temple, G.F., and Lancaster, W.D. (1988) Human papillomavirus type 52: a new virus associated with cervical neoplasia. *J. Gen. Virol.* **69**, 2925.

21. Lorincz, A.T., Quinn, A.P., Goldsborough, M.D., McAllister, P., and Temple, G.F. (1989) Human papillomavirus type 56: a new virus detected in cervical cancers. *J. Gen. Virol.* **70**, 3099.
22. Lorincz, A.T., Quinn, A.P., Goldsborough, M.D., Schmidt, B.J., and Temple, G.F. (1989) Cloning and partial DNA sequencing of two new human papillomavirus types associated with condylomas and low grade cervical neoplasia. *J. Virol.* **63**, 2829.
23. Beaudenon, S. et al. (1987) Plurality of genital human papillomaviruses: characterization of two new types with distinct biological properties. *Virology* **161**, 374.
24. Schiffman, M. (1993) Latest HPV findings: some clinical implications. *Contemp. Ob. Gyn.* **38**, 27.
25. Volpers, C.; and Streeck, R.E. (1991) Genome organization and nucleotide sequence of human papillomavirus type 39. *Virology* **181**, 419.
26. Matsukura, T., and Sugase, M. (1990) Molecular cloning of a novel human papillomavirus (type 58) from an invasive cervical carcinoma. *Virology* **177**, 833.
27. Rho, J., Roy-Burman, A., Kim, H., de Villiers, E.M., Matsukura, T., and Choe, J. (1994) Nucleotide sequence and phylogenetic classification of human papillomavirus type 59. *Virology* **203**, 158.
28. Bosch, F.X. et al. (1995) International Biological Study on Cervical Cancer (IBSCC) Study Group. Prevalence of human papillomavirus in cervical cancer: a worldwide perspective. *J. Natl. Cancer Inst.* **87**, 796.
29. Kahn, T., Schwarz, E., and zur Hausen, H. (1986) Molecular cloning and characterization of the DNA of a new human papillomavirus (HPV 30) from a laryngeal carcinoma. *Int. J. Cancer* **51**, 61.
30. Koutsky, L.A. et al. (1992) A cohort study of the risk of cervical intraepithelial neoplasia grade 2 or 3 in relation to papillomavirus infection. *N. Engl. J. Med.* **327**, 1272.
31. Nieminen, P., Aho, M., Vesterinen, E., Stellato, G., Vaheeri, A., Soares, V.R.X., Paavonen, J. (1991) Natural history of HPV infection: preliminary results of a cohort study [abstract]. In: 1991 Papillomavirus Workshop. Seattle, WA p 77.

32. Centers for Disease Control (1987) Recommendations for prevention of HIV transmission in health-care settings. *MMWR Morb. Mortal. Wkly. Rep.* 36(Suppl 2), 3S.
33. Sehulster, L.M., Hollinger, F.B., Dreesman, G.R., and Melnick, J.L. (1981) Immunological and biophysical alteration of hepatitis B virus antigens by sodium hypochlorite disinfection. *Appl. Environ. Microbiol.* **42**, 762.
34. Martin, L.S., McDougal, J.S., and Loskoski, S.L. (1985) Disinfection and inactivation of the human T lymphotropic virus type III/lymphadenopathy associated virus. *J. Infect. Dis.* **152**, 400.
35. Vernon, S.D., Unger, E.R., and Williams, D. (2000) Comparison of human papillomavirus detection and typing by cycle sequencing, line blotting, and hybrid capture. *J. Clin. Microbiol.* **38**, 651.
36. Coleman, D. et al. (1993) European guidelines for quality assurance in cervical cancer screening. Europe against cancer programme. *Eur. J. Cancer* 29A(Suppl. 4), S1.
37. Lorincz, A.T., Schiffman, M.H., Jaffurs, W.J., Marlow, J., Quinn, A.P., and Temple, G.F. (1990) Temporal associations of human papillomavirus infection with cervical cytologic abnormalities. *Am. J. Obstet. Gynecol.* **162**, 645.
38. Morrison, E.A.B. et al. (1991) Human papillomavirus infection and other risk factors for cervical neoplasia: a case control study. *Int. J. Cancer* **49**, 6.
39. Wheeler, C.M., Stewart, A.M., Gravitt, P.E., and Cheng, S. (1995) Generation of entire human papillomavirus genomes by long PCR: frequency of errors produced during amplification. *Genome Res.* **5**, 79.
40. Burk R.D. et al. (1996) Declining prevalence of cervicovaginal human papillomavirus infection with age is independent of other risk factors. *Sex. Transm. Dis.* **23**, 333.
41. Belinson, J. et al. (2009) Prevalence of type-specific human papillomavirus in endocervical, upper and lower vaginal, perineal and vaginal self-collected specimens: implications for vaginal self-collection. *Int. J. of Cancer* **127**, 1151.
42. Zhao, F. et al. (2012) Pooled analysis of a self-sampling HPV DNA Test as a cervical cancer primary screening method. *J. Natl Cancer Inst.* **104**, 178.

- 
43. Lazcano-Ponce, E. et al. (2011) Self-collection of vaginal specimens for human papillomavirus testing in cervical cancer prevention (MARCH): a community-based randomized controlled trial. *Lancet* **378**, 1868.
  44. Lazcano-Ponce, E. et al. (2014) Specimen self-collection and HPV DNA screening in a pilot study of 100,242 women. *Int. J. Cancer* **135**, 109.
  45. Szarewski, A. et al. (2007) Human papillomavirus testing by self-sampling: assessment of accuracy in an unsupervised clinical setting. *J. Med Screen* **14**, 34.
  46. NCCLS (1999) *Evaluation of Precision Performance of Clinical Chemistry Devices: Approved Guideline*. NCCLS document E5-A.

# Simbol

Simbol dalam tabel berikut digunakan dalam pelabelan produk terkait.

Simbol	Definisi simbol
	Mengandung cukup untuk pengujian 96/384
	Kode batch
	Perangkat medis diagnostik in vitro
	Simbol yang ditandai CE-IVD
	Nomor katalog
	Produsen
	Perwakilan resmi di Masyarakat Eropa
	Gunakan sebelum
	Batas suhu
	Baca petunjuk penggunaan
	Nomor Item Perdagangan Global

# Panduan Pemecahan Masalah

## Komentar dan saran

---

### Perubahan warna yang salah atau tidak ada perubahan yang diamati selama denaturasi

- |  |  |
|--|--|
| a) DNR tidak disiapkan secara benar  | Pastikan bahwa DNR mengandung Pewarna Indikator dan berwarna ungu tua.   |
| b) DNR tidak ditambahkan   | Pastikan bahwa DNR ditambahkan ke spesimen dengan mengukur volume spesimen (diharapkan 1,5 ml). Jika volume mengindikasikan bahwa DNR tidak ditambahkan, lakukan penambahan yang benar, campur dan lanjutkan dengan pengujian jika perubahan warna yang sesuai kemudian diamati.           |
| c) Spesimen mengandung darah atau bahan lain yang menutupi perubahan warna | Perubahan warna persis yang dijelaskan tidak diharapkan pada jenis spesimen ini; hasil uji seharusnya tidak terpengaruh.   |
| d) pH spesimen mungkin sangat asam   | Jika tidak ada penyebab lain yang berlaku, spesimen mungkin sangat asam, dan perubahan warna yang diharapkan tidak akan terjadi. Kumpulkan spesimen yang baru sebelum penerapan asam asetat pada serviks karena pH spesimen yang tidak tepat akan mempengaruhi hasil uji secara merugikan. |

### Kendali mutu memberikan hasil yang salah

- |  |   |
|--|---|
| a) Protokol uji kadar yang salah dipilih untuk pengujian | Jika protokol uji kadar salah untuk pengujian yang sedang dilakukan, baca lagi pelat mikro dalam waktu 30 menit setelah penambahan DR2 menggunakan protokol uji kadar yang benar. |
| b) Penempatan terbalik dari QC1-LR dan QC2-HR            | Spesimen pengujian ulang.   |

### Komentar dan saran

- |  |                           |
|--|---------------------------|
| c) Penempatan terbalik dari HRC dan QC2-HR | Spesimen pengujian ulang. |
|--|---------------------------|

### Perubahan warna yang salah yang diamati selama hibridisasi

- |   |  |
|---|--|
| a) Pencampuran yang tidak memadai dari Campuran Kuar dengan kalibrator terdenaturasi, kontrol kualitas dan/atau spesimen; atau Campuran Kuar tidak ditambahkan; atau volume reagen yang ditambahkan salah | Kocok pelat mikro hibridisasi atau rak tabung mikro yang mengandung tabung mikro selama 2 menit lagi. Jika ada sumuran tabung mikro atau pelat mikro yang masih tetapan, tambahkan lagi 25 µl Campuran Kuar yang benar dan aduk rata. Jika setelah penambahan Campuran Kuar dan pencampuran ulang, perubahan warna yang tepat tidak terjadi dan spesimen tidak mengandung darah atau bahan lain, uji ulang spesimen. |
| b) Spesimen mengandung darah atau bahan lain yang menutupi perubahan warna  | Perubahan warna persis yang dijelaskan tidak diharapkan pada jenis spesimen ini; hasil uji seharusnya tidak terpengaruh.   |
| c) Spesimen memiliki <1000 µl STM   | Periksa volume spesimen asli. Volume harus berupa 1425 µl ± 20 µl (setelah menghilangkan 75 µl alikot untuk pengujian). Jika volumenya <1425 µl, spesimen asli mengandung <1000 µl STM. Dapatkan spesimen baru.  |

### Validasi uji kadar kegagalan uji; tidak ada sinyal yang diamati pada kalibrator positif, kendali mutu atau dalam spesimen

- |  |  |
|--|--|
| a) Tidak ada kuar yang ditambahkan ke Pengencer Kuar | Siapkan Campuran Kuar seperti yang dijelaskan dalam petunjuk penggunaan ini. Beri label tabung secara hati-hati.   |
| b) Kuar terkontaminasi dengan RNase selama penyiapan | Gunakan ujung pipet pelindung aerosol saat memipet kuar dan gunakan sarung tangan. Siapkan Campuran Kuar dalam wadah steril. Hanya gunakan reservoir reagen sekali pakai yang bersih dan baru. |
| c) Pencampuran Campuran Kuar yang tidak memadai      | Setelah menambahkan kuar ke Pengencer Kuar, aduk hingga merata dengan melakukan vorteks dengan kecepatan tinggi setidaknya selama 5 detik. Vorteks yang terlihat harus diproduksi.             |

### Komentar dan saran

- |   |   |
|---|---|
| d) Pencampuran Campuran Kuar dan spesimen terdenaturasi yang tidak memadai                | Setelah menambahkan Campuran Kuar dan spesimen ke setiap sumuran pelat mikro hibridisasi atau tabung mikro hibridisasi, kocok pada Rotary Shaker I yang diatur pada $1100 \pm 100$ rpm selama $3 \pm 2$ menit. Periksa perubahan warna dari ungu menjadi kuning di setiap sumuran pelat mikro atau tabung mikro.  |
| e) Waktu atau suhu yang salah selama langkah hibridisasi                                  | Hibridisasi selama $60 \pm 5$ menit pada $65 \pm 2^\circ\text{C}$ . Periksa suhu Microplate Heater I atau penangas air. Pastikan Microplate Heater I atau penangas air diatur untuk memanaskan spesimen hingga suhu yang benar dan dipanaskan terlebih dahulu selama 60 menit sebelum digunakan. Pastikan bahwa ketinggian air cukup untuk memanaskan spesimen hingga suhu yang benar. Penangas air harus dikalibrasi secara berkala. |
| f) Pencampuran yang tidak memadai selama langkah penangkapan                              | Kocok pada Rotary Shaker I selama $60 \pm 5$ menit pada suhu $20\text{--}25^\circ\text{C}$ seperti yang dijelaskan dalam petunjuk penggunaan ini. Verifikasi kecepatan Rotary Shaker I dengan kalibrasi. (Rujuk ke <i>Panduan Pengguna Rotary Shaker I</i> ).   |
| g) Gagal menambahkan jumlah DR1 yang benar atau menginkubasi selama waktu yang ditentukan | Pipet $75 \mu\text{l}$ DR1 ke dalam setiap sumuran pelat mikro menggunakan pipet 8-saluran. Inkubasi pada suhu $20\text{--}25^\circ\text{C}$ selama 30–45 menit.  |
| h) Gagal menambahkan jumlah DR2 yang benar atau menginkubasi selama waktu yang ditentukan | Pipet $75 \mu\text{l}$ DR2 ke dalam setiap sumuran pelat mikro menggunakan pipet 8-saluran. Inkubasi pada suhu $20\text{--}25^\circ\text{C}$ selama 15–30 menit.  |
| i) Kerusakan instrumen DML atau pemrograman yang salah                                    | Rujuk ke panduan pengguna DML yang berlaku dan panduan pengguna perangkat lunak untuk petunjuk lebih lanjut atau hubungi Layanan Teknis QIAGEN.   |

## Komentar dan saran

### Nilai RLU yang ditinggikan di kalibrator, kontrol kualitas dan/atau spesimen ( $\geq 200$ RLU pada banyak atau semua sumuran pelat mikro); pengujian dapat menggagalkan validasi uji kadar

- |  |   |
|--|---|
| a) DNR tidak ditambahkan; volume yang salah dari reagen yang ditambahkan; pencampuran DNR yang tidak memadai dengan spesimen, kalibrator atau kontrol kualitas | Pastikan bahwa pipet berulang menghantarkan secara akurat sebelum menambahkan DNR. Pipet yang dikalibrasi sangat penting. Tambahkan setengah volume DNR ke setiap tabung dan aduk rata. Untuk menghindari hasil positif palsu, pastikan cairan mencuci seluruh permukaan dalam tabung. Kalibrator, kontrol kualitas dan spesimen harus berubah menjadi ungu setelah penambahan DNR. |
| b) Kebocoran ringan pada instrumen DML; pintu tidak tertutup; segel di sekitar pintu yang rusak  | Periksa pembacaan latar belakang (pengukuran data mentah) dari instrumen DML dengan membaca pelat mikro yang kosong. Pembacaan lebih besar dari 50 RLU mengindikasikan bahwa ada kebocoran ringan. Rujuk ke panduan pengguna instrumen DML yang berlaku sebagai petunjuk atau hubungi Layanan Teknis QIAGEN.  |
| c) Kontaminasi DR2 atau sumuran pelat mikro tangkapan oleh DR1 atau fosfatase alkali eksogen   | Lihat "Pemeriksaan kontaminasi DR2", halaman 123.   |
| d) Dapar Pencucian yang Terkontaminasi   | Lihat "Pemeriksaan kontaminasi dari Alat Pencucian dan/atau sumber air", halaman 123.   |
| e) Pencuci Pelat Otomatis yang Terkontaminasi  | Lihat "Pemeriksaan kontaminasi dari Alat Pencucian dan/atau sumber air", halaman 123.   |
| f) Pencucian sumuran pelat mikro tangkapan yang tidak memadai setelah inkubasi DR1   | Cuci sumuran pelat mikro tangkapan secara menyeluruh dengan Dapar Pencucian 6 kali, baik dengan meluapkan sumuran atau menggunakan Pencuci Pelat Otomatis. Tidak ada sisa cairan merah muda yang terlihat di sumuran pelat mikro setelah pencucian. Rujuk ke <i>Panduan Pengguna Pencuci Pelat Otomatis</i> sebagai petunjuk pengujian untuk kontaminasi atau malfungsi.            |

### Komentar dan saran

- |  |   |
|--|---|
| g) Kontaminasi DR1 pada sumuran pelat mikro  | Pastikan semua permukaan kerja bersih dan kering. Berhati-hatilah saat menggunakan DR1. Hindari aerosol.            |
| h) Serap larutan hibridisasi di area yang sama dengan penyeka Kimtowels atau kertas tisu berserat rendah yang setara | Jangan serap ulang dengan penyeka Kimtowels yang digunakan sebelumnya atau kertas tisu berserat rendah yang setara. |
| i) Digunakan kertas serap yang salah   | Gunakan penyeka Kimtowels atau kertas tisu berserat rendah yang setara untuk menyerap.                              |

### Rasio PC/NC yang rendah atau jumlah spesimen positif rendah yang tinggi dengan rasio <2,0 (>20%); pengujian dapat menggagalkan validasi uji kadar

- |   |   |
|---|---|
| a) Penyiapan spesimen yang tidak memadai  | <p>Tambahkan volume DNR yang benar dan aduk rata dengan melakukan vorteks. Untuk menghindari hasil positif palsu, pastikan cairan mencuci seluruh permukaan dalam tabung.</p> <p>Untuk spesimen PreservCyt, pastikan bahwa pencampuran dan suspensi ulang pelet sel yang tepat selesai sebelum inkubasi denaturasi.</p> <p>Perubahan warna yang berbeda dari bening menjadi ungu tua harus terlihat. Inkubasi selama <math>45 \pm 5</math> menit pada suhu <math>65 \pm 2^{\circ}\text{C}</math>.</p> |
| b) Campuran Kuar tidak cukup dicampur atau Campuran Kuar yang tidak cukup ditambahkan | Siapkan Campuran Kuar seperti yang dijelaskan. Aduk rata dengan melakukan vorteks, pastikan bahwa vorteks yang terlihat diproduksi. Campuran Kuar harus ditambahkan ke tabung dengan pipet perpindahan positif atau pipet multisaluran untuk memastikan penghantaran yang akurat.   |

### Komentar dan saran

- |   |   |
|---|---|
| c) Volume Campuran Kuar yang tidak memadai yang ditambahkan ke setiap sumuran tabung mikro atau pelat mikro hibridisasi | Pastikan bahwa pipet 8-saluran dihantarkan secara akurat sebelum menambahkan Campuran Kuar. Tambahkan 25 µl Campuran Kuar ke setiap sumuran tabung mikro atau pelat mikro yang mengandung kalibrator, kontrol kualitas, dan spesimen yang didenaturasi. Perubahan warna harus dari ungu tua menjadi kuning setelah penambahan dan pencampuran secara menyeluruh. Spesimen PreservCyt harus menjadi merah muda bukan kuning. |
| d) Hilangnya aktivitas DR1  | Simpan DR1 pada suhu 2–8°C. Gunakan sebelum tanggal kedaluwarsa.  |
| e) Tangkapan yang tidak memadai   | Langkah tangkapan harus dilakukan menggunakan Rotary Shaker I yang diatur pada 1100 ±100 rpm. Validasi kecepatan pengocok dengan kalibrasi.   |
| f) Pencucian yang tidak memadai   | Cuci sumuran pelat mikro secara menyeluruh dengan Dapar Pencucian 6 kali, baik dengan meluapkan sumuran atau menggunakan (Pencuci Pelat Otomatis.   |
| g) Dapar Pencucian yang Terkontaminasi  | Lihat "Pemeriksaan kontaminasi dari Alat Pencucian dan/atau sumber air", halaman 123.   |

### Rangkaian spesimen positif dengan nilai RLU kurang lebih sama

- |   |  |
|---|--|
| a) Kontaminasi sumuran pelat mikro tangkapan selama pengujian | Tutupi pelat mikro tangkapan selama semua inkubasi. Hindari memaparkan tabung ke kontaminasi aerosol saat melakukan uji kadar. Kenakan sarung tangan bebas serbuk selama penanganan. |
| b) Kontaminasi DR2  | Pastikan untuk tidak mengontaminasi stok saat memipet DR2 ke dalam sumuran pelat mikro tangkapan. Hindari kontaminasi DR2 dengan aerosol dari DR1 atau dari debu laboratorium, dll.  |

### Komentar dan saran

- |                                     |   |
|-------------------------------------|---|
| c) Malfungsi Pencuci Pelat Otomatis | Lihat "Pemeriksaan kontaminasi dari Alat Pencucian dan/atau sumber air", halaman 123, atau rujuk ke <i>Panduan Pengguna Pencuci Pelat Otomatis</i> sebagai petunjuk tentang pengujian untuk kontaminasi atau malfungsi. |
|-------------------------------------|---|

### CV lebar antarreplikasi

- |   |   |
|---|---|
| a) Pemipetan yang tidak akurat  | Periksa pipet untuk memastikan bahwa volume yang dapat direproduksi sedang dihantarkan. Kalibrasi pipet secara rutin.   |
| b) Pencampuran yang tidak memadai   | Aduk rata di semua langkah. Lakukan vorteks sebelum dan setelah inkubasi denaturasi dan setelah menambahkan Campuran Kuar. Pastikan bahwa vorteks yang terlihat diproduksi.   |
| c) Transfer cairan yang tidak lengkap dari sumuran tabung mikro hibridisasi atau pelat mikro hibridisasi ke sumuran pelat mikro tangkapan | Pastikan selama langkah transfer dari pelat mikro hibridisasi atau tabung mikro hibridisasi ke sumuran pelat mikro tangkapan bahwa volume yang dapat direproduksi ditransfer. |
| d) Kondisi pencucian yang tidak tepat   | Cuci sumuran pelat mikro secara menyeluruh dengan Dapar Pencucian 6 kali, baik dengan meluapkan sumuran atau menggunakan Pencuci Pelat Otomatis.                              |
| e) Kontaminasi DR1 pada sumuran pelat mikro   | Pastikan semua permukaan kerja bersih dan kering. Berhati-hatilah saat menggunakan DR1. Hindari aerosol.  |

### Hasil positif palsu diperoleh dari spesimen negatif yang diketahui

- |                            |  |
|----------------------------|--|
| a) DR2 yang terkontaminasi | Pastikan untuk tidak mengontaminasi silang spesimen saat Anda mengalikotkan DR2 antarspesimen. Jika hanya menggunakan sebagian kit, alikotkan volume yang dibutuhkan untuk pengujian ke dalam reservoir reagen sekali pakai yang bersih sebelum mengisi pipet. |
|----------------------------|--|

### Komentar dan saran

- |   |   |
|---|---|
| b) Kontaminasi DR1 pada sumuran pelat mikro   | Cuci sumuran pelat mikro secara menyeluruh dengan Dapar Pencucian 6 kali, baik dengan meluapkan sumuran atau menggunakan Pencuci Pelat Otomatis. Tidak ada sisa cairan merah muda yang terlihat di sumuran pelat mikro setelah pencucian.   |
| c) Serap di area yang sama penyeka Kimtowels atau kertas tisu berserat rendah yang setara pada beberapa baris | Jangan serap di area yang telah digunakan sebelumnya.   |
| d) Penyiapan spesimen yang tidak memadai  | <p>Tambahkan volume DNR yang benar dan aduk rata dengan melakukan vorteks. Untuk menghindari hasil positif palsu, pastikan cairan mencuci seluruh permukaan dalam tabung.</p> <p>Untuk penyiapan manual dari spesimen PreservCyt, pastikan bahwa pencampuran dan suspensi ulang pelet sel yang tepat selesai sebelum inkubasi denaturasi. Rujuk ke petunjuk penggunaan <i>digene</i> HC2 Sample Conversion Kit.</p> <p>Perubahan warna yang berbeda dari bening menjadi ungu tua harus terlihat. Inkubasi selama <math>45 \pm 5</math> menit pada suhu <math>65 \pm 2^\circ\text{C}</math>. Untuk penyiapan manual dari spesimen SurePath, pastikan spesimen diinkubasi selama <math>90 \pm 5</math> menit pada suhu <math>65 \pm 2^\circ\text{C}</math>.</p> |
| e) Kondisi pencucian yang tidak tepat   | Cuci sumuran pelat mikro secara menyeluruh dengan Dapar Pencucian 6 kali, baik dengan meluapkan sumuran atau menggunakan Pencuci Pelat Otomatis.  |

### Komentar dan saran

- |  |   |
|--|---|
| f) Kontaminasi ujung pipet dengan bahan yang tidak terdenaturasi selama transfer spesimen terdenaturasi ke sumuran tabung mikro hibridisasi atau pelat mikro hibridisasi | Tahap denaturasi dari prosedur pemrosesan spesimen harus dilakukan seperti yang diarahkan dalam petunjuk penggunaan ini. Pemrosesan vorteks spesimen yang tidak tepat, inversi tabung dan agitasi dapat menghasilkan denaturasi yang tidak lengkap dari hibrida RNA–DNA yang tidak spesifik yang endogen ke spesimen serviks. Untuk spesimen PreservCyt atau SurePath secara khusus, hibrida ini kemungkinan besar ada di dinding bagian dalam tabung denaturasi spesimen. Untuk mencegah limpahan bahan seluler yang tidak terdenaturasi ini, ujung pipet tidak boleh menyentuh sisi tabung denaturasi spesimen selama transfer spesimen terdenaturasi ke sumuran tabung mikro hibridisasi atau pelat mikro hibridisasi. |
|--|---|

### Nilai NC RLU yang ditinggikan (>200 RLU); sisa pengujian dilakukan seperti yang diharapkan

- |   |  |
|---|--|
| a) DR2 diinkubasi pada suhu lebih besar daripada 20–25°C                    | Jalankan Kembali pengujian dan pastikan bahwa tahap tangkapan dan deteksi diinkubasi pada suhu 20–25°C.                                |
| b) DR2 diinkubasi lebih lama dari 30 menit                                  | Baca pelat mikro setelah 15 menit inkubasi (dan tidak lebih dari 30 menit inkubasi) pada suhu 20–25°C.                                 |
| c) DR2 atau Dapar Pencucian terkontaminasi dengan fosfatase alkali atau DR1 | Lihat “Pemeriksaan kontaminasi DR2,” halaman 123, atau “Pemeriksaan kontaminasi dari Alat Pencucian dan/atau sumber air”, halaman 123. |

### Validasi uji kadar kegagalan uji; $PC\bar{X}/NC\bar{X}$ yang ditingkatkan

- |   |   |
|---|---|
| Penempatan terbalik dari HRC dan QC2 HR | Spesimen pengujian ulang. Bacalah label di kalibrator dan vial kendali mutu dengan cermat untuk mencegah agar penempatan reagen ini tidak terbalik. |
|---|---|

## Pemeriksaan kontaminasi DR2

1. Pipet 75 µl vial DR2 yang dialiokot, sisa atau asli ke dalam sumuran pelat mikro tangkapan yang kosong.

**Catatan:** Pengujian DR2 dalam replikasi 3 memberikan penilaian kinerja yang optimal.

2. Inkubasi 20–25°C selama 15 menit. Hindari sinar matahari langsung.
3. Ukur pelat mikro menggunakan instrumen DML.

Kontrol DR2 harus berupa <50 RLU.

Jika nilai DR2 adalah <50 RLU, DR2 dapat digunakan untuk mengulang pengujian.

Jika terkontaminasi (>50 RLU), memperoleh kit yang baru dan ulangi pengujian.

## Pemeriksaan kontaminasi dari Alat Pencucian dan/atau sumber air

1. Beri label sumuran 1–4. Pipet 75 µl DR2 ke dalam 4 sumuran pelat mikro tangkapan terpisah. Sumur 1 berfungsi sebagai kontrol DR2.
2. Pipet 10 µl Dapar Pencucian dari Botol Cuci ke dalam sumuran pelat mikro 2.
3. Biarkan Dapar Pencucian mengalir melalui tabung pencuci. Pipet 10 µl Dapar Pencucian dari tabung ke dalam sumuran pelat mikro 3.
4. Dapatkan alikuot water yang digunakan untuk menyiapkan Dapar Pencucian. Pipet 10 µl air ke dalam sumuran pelat mikro 4.
5. Inkubasi 20–25°C selama 15 menit. Hindari sinar matahari langsung.
6. Ukur pelat mikro menggunakan instrumen DML.

Kontrol DR2 (sumuran 1) harus berupa <50 RLU.

Bandingkan RLU dari sumuran 2, 3, dan 4 dengan kontrol DR2 RLU. RLU individu untuk sumuran 2, 3, dan 4 tidak boleh melebihi 50 RLU dari kontrol DR2 RLU.

Nilai yang melebihi 50 RLU dari kontrol DR2 mengindikasikan kontaminasi. Lihat “Metode pencucian manual”, halaman 53, untuk petunjuk pembersihan dan pemeliharaan Peralatan Cuci.

## Pemeriksaan kontaminasi dari Pencuci Pelat Otomatis

1. Beri label sumuran 1–5. Pipet 75 µl DR2 ke dalam 5 sumuran pelat mikro tangkapan terpisah. Sumur 1 berfungsi sebagai kontrol DR2.
2. Pipet 10 µl Dapar Pencucian dari Botol Cuci Pencuci Pelat ke dalam sumuran pelat mikro 2.
3. Pipet 10 µl cairan pembilas dari Botol Pembilas Pencuci Pelat ke dalam sumuran pelat mikro 3.
4. Tekan tombol **Prime** (Siapkan) pada keypad Pencuci Pelat, memungkinkan Dapar Pencucian agar mengalir melalui saluran. Pipet 10 µl Dapar Pencucian dari bak ke dalam sumuran pelat mikro 4.
5. Tekan tombol **Rinse** (Bilas) pada keypad Pencuci Pelat, memungkinkan cairan pembilas agar mengalir melalui saluran. Pipet 10 µl Dapar Pencucian dari bak ke dalam sumuran pelat mikro 5.
6. Tutup dan inkubasi 15 menit pada suhu 20–25°C. Hindari sinar matahari langsung.
7. Ukur pelat mikro menggunakan instrumen DML.

Kontrol DR2 (sumuran 1) harus berupa <50 RLU.

Bandingkan RLU dari sumuran 2, 3, 4, dan 5 dengan kontrol DR2 RLU. RLU individu untuk sumuran 2, 3, 4, dan 5 tidak boleh melebihi 50 RLU dari kontrol DR2 RLU.

Nilai yang melebihi 50 RLU dari kontrol DR2 mengindikasikan kontaminasi Pencuci Pelat.

Rujuk ke *Panduan Pengguna Pencuci Pelat Otomatis* untuk prosedur dekontaminasi.

---

## Informasi Kontak

Gunakan lembar informasi kontak QIAGEN yang disediakan dalam kit uji untuk menghubungi representative QIAGEN daerah Anda.

---

## Perubahan Signifikan

Perubahan signifikan dalam revisi ini dari petunjuk penggunaan *digene* HC2 High-Risk HPV DNA Test ini dirangkum dalam tabel di bawah:

<b>Bab</b>	<b>Halaman</b>	<b>Perubahan</b>
Peringatan dan Pencegahan	20	Informasi GHS baru
Biopsi Serviks	26	Biopsi hingga 5 mm
Merek dagang	128	Paten yang Dihapus

---

Halaman ini sengaja dikosongkan

Merek dagang: QIAGEN<sup>®</sup>, Sample to Insight<sup>®</sup>, *digene*<sup>®</sup>, Hybrid Capture<sup>®</sup>, QAsymphony<sup>®</sup>, Rapid Capture<sup>®</sup> (QIAGEN Group); ATCC<sup>®</sup> (American Type Culture Collection); CDP-Star<sup>®</sup> (Life Technologies Corporation); Corning<sup>®</sup> (Corning Incorporated); DuraSeal<sup>™</sup> (Diversified Biotech); Eppendorf<sup>®</sup>, Repeater<sup>®</sup> (Eppendorf AG); Kimtowels<sup>®</sup> (Kimberly-Clark Corporation); Parafilm<sup>®</sup> (BEMIS Company, Inc.); pGEM<sup>®</sup> (Promega Corp); PrepMate<sup>®</sup>, PrepStain<sup>®</sup>, SurePath<sup>®</sup> (Becton, Dickinson and Company); PreservCyt<sup>®</sup>, ThinPrep<sup>®</sup> (Hologic, Inc.); VWR<sup>®</sup> (VWR International, Inc.).

Nama, merek dagang terdaftar, dll. yang digunakan di dalam dokumen ini, meskipun apabila tidak secara khusus ditandai sebagaimana demikian, tidak dianggap sebagai tanpa perlindungan undang-undang.

#### **Perjanjian Lisensi Terbatas untuk *digene* HC2 High-Risk HPV DNA Test**

Penggunaan produk ini menyatakan perjanjian pembeli atau pengguna produk dengan ketentuan berikut:

1. Produk hanya boleh digunakan sesuai dengan protokol yang disediakan bersama produk dan brosur kemasan ini dan hanya digunakan dengan komponen yang terdapat di dalam kit saja. QIAGEN tidak memberikan lisensi apa pun berdasarkan kekayaan intelektualnya untuk menggunakan atau menggabungkan komponen yang tersedia dengan kit ini dengan komponen apa pun yang tidak termasuk dalam kit ini kecuali sebagaimana dijelaskan dalam protokol yang disediakan dengan produk dan brosur kemasan ini.
2. Selain lisensi yang dinyatakan secara tegas, QIAGEN tidak membuat jaminan bahwa kit ini dan/atau penggunaannya tidak melanggar hak-hak pihak ketiga.
3. Kit ini serta komponennya dilisensikan untuk penggunaan satu kali dan tidak boleh digunakan kembali, diperbarui, atau dijual kembali, kecuali ditentukan lain oleh QIAGEN.
4. QIAGEN secara khusus menyangkal segala lisensi lain, yang dinyatakan secara tegas maupun tersirat selain yang dinyatakan secara tegas di atas.
5. Pembeli dan pengguna kit setuju untuk tidak mengambil atau mengizinkan orang lain mengambil langkah apa pun yang dapat menyebabkan atau mendukung fakta apa pun yang dilarang di atas. QIAGEN dapat memberlakukan larangan Perjanjian Lisensi Terbatas ini di Pengadilan mana pun, dan akan memulihkan semua biaya investigasi dan Pengadilannya, termasuk biaya pengacara, dalam tindakan apa pun untuk menegakkan Perjanjian Lisensi Terbatas ini atau hak kekayaan intelektualnya yang terkait dengan kit dan/atau komponennya.

Untuk ketentuan lisensi yang diperbarui, lihat [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com).

© 2012-2018 QIAGEN, hak cipta dilindungi undang-undang.

