

Aptima Combo 2™ Assay

Para fins de diagnóstico *in vitro*.

Exclusivamente para exportação dos EUA.

Informações gerais	2
Utilização prevista	2
Resumo e explicação do teste	2
Princípios do procedimento	3
Advertências e precauções	4
Requisitos de conservação e manuseamento dos reagentes	6
Colheita e conservação de espécimes	8
Interpretação dos testes - CQ/Resultados do paciente	24
Limitações	27
Valores esperados no Aptima Combo 2	30
Desempenho clínico do Aptima Combo 2	32
Desempenho analítico do Aptima Combo 2	55
Concordância dos espécimes clínicos no Tigris DTS System	59
Desempenho analítico do Tigris DTS System	66
Desempenho analítico do Panther System	70
Bibliografia	77

Tigris™ DTS™

Tigris DTS System	10
Reagentes e materiais fornecidos	10
Materiais necessários mas disponíveis separadamente	11
Materiais opcionais	12
Procedimento de teste no Tigris DTS System	12
Notas sobre o procedimento	15

Panther™

Panther System	17
Reagentes e materiais fornecidos	17
Materiais necessários, mas disponíveis separadamente	18
Materiais opcionais	19
Procedimento de teste no Panther System	20
Notas sobre o procedimento	22

Informações gerais

Utilização prevista

O Aptima Combo 2™ assay (Ensaio Aptima Combo 2) é um teste de sonda de ácidos nucleicos de amplificação do alvo que utiliza a captura do alvo para a detecção qualitativa *in vitro* e a diferenciação de RNA ribossômico (rRNA) de *Chlamydia trachomatis* (CT) e/ou *Neisseria gonorrhoeae* (GC) para ajudar a diagnosticar doenças provocadas por clamídias e/ou gonococos utilizando o Tigris™ DTS™ system ou o Panther™ system, conforme especificado. O ensaio pode ser utilizado para testar os seguintes espécimes de indivíduos sintomáticos e assintomáticos: esfregaços de origem endocervical, vaginal e uretral masculina, assim como esfregaços faríngeos e retais de ambos os sexos colhidos pelo médico; esfregaços vaginais, esfregaços faríngeos e retais de ambos os sexos¹ e espécimes de urina de ambos os sexos colhidos pelo paciente. Este ensaio destina-se também a ser utilizado na análise de espécimes ginecológicos de pacientes sintomáticas e assintomáticas. Estes espécimes cervicais colhidos em frascos de solução PreservCyt™ podem ser testados antes ou depois do processamento do Pap líquido. O teste de espécimes já submetidos ao processamento do Pap líquido está limitado a espécimes processados apenas com o ThinPrep™ 2000 System e o ThinPrep™ 5000 System.

¹ Os espécimes de esfregaço vaginal colhidos pelas pacientes são uma opção para efetuar um rastreio às mulheres sempre que um exame pélvico não seja indicado. O Aptima Multitest Swab Specimen Collection Kit não se destina a uma utilização doméstica.

Resumo e explicação do teste

As infecções por *Chlamydia trachomatis* (CT) e *Neisseria gonorrhoeae* (GC) são duas das infecções sexualmente transmissíveis mais comuns em todo o mundo. Apenas nos Estados Unidos da América, foi relatado um total de 1.758.668 casos de infecções por CT (539,9 por população de 100.000) e 583.405 casos de infecções por GC (179,1 por população de 100.000) aos Centers for Disease Control, em 2018 (9).

As clamídias são bactérias intracelulares imóveis, gram-negativas e estritas. As espécies CT são constituídas por quinze serotipos (A, B, Ba, C, D, E, F, G, H, I, J, K, L1, L2 e L3) que podem provocar doenças nos seres humanos (59). Os serotipos D a K são a principal causa de infecções genitais por clamídia em homens e mulheres (44). A *C. trachomatis* pode causar uretrite não-gonocócica, epididimite, proctite, cervicite, salpingite aguda e doença inflamatória pélvica (DIP) (7, 24, 46, 47). As infecções por *C. trachomatis* são frequentemente assintomáticas tanto em homens como em mulheres. As crianças que nascem de mães infetadas correm um risco significativamente superior de sofrer de conjuntivite de inclusão e de pneumonia associada a clamídia (1, 17, 45).

Historicamente, utilizaram-se vários métodos de detecção de CT em laboratórios clínicos, incluindo a cultura de células, o teste fluorescente direto de anticorpos e o imunoensaio enzimático. Metodologias mais recentes de detecção de CT incluem ensaios de sonda de DNA diretos e ensaios de sonda de DNA por teste de amplificação do ácido nucleico (NAAT). A cultura de células já foi considerado o “padrão de referência” para detecção de CT. A cultura é bastante específica, mas publicações científicas demonstraram que as tecnologias de sonda de DNA de NAAT têm uma sensibilidade clínica superior à das culturas (6, 14, 26, 50). Devido à sua menor sensibilidade clínica e ao desempenho variável entre laboratórios, muitos laboratórios substituíram a cultura pelo teste de sonda de DNA direto e NAATs.

A *N. gonorrhoeae* é o agente causador da gonorreia. As *N. gonorrhoeae* são diplococos imóveis e gram-negativos. A maior parte das infecções gonorreicas são infecções simples do trato genital inferior e podem ser assintomáticas. No entanto, se não forem tratadas nas mulheres, as infecções podem ascender e provocar DIP. A DIP pode manifestar-se sob a forma de endometrite, salpingite, peritonite pélvica e abscessos tubo-ováricos. Nos homens, a gonorreia pode evoluir para epididimite. Em casos raros, esta pode dar origem a infertilidade (5). Uma pequena percentagem de pessoas com infecções gonocócicas pode desenvolver infecção gonocócica disseminada (IGD) (23, 32).

O diagnóstico convencional das infecções por GC exige que o organismo seja isolado em meio seletivo ou a observação de diplococos em esfregaços com coloração de Gram (25). Os métodos de cultura podem ter uma boa sensibilidade clínica, mas são altamente dependentes do manuseamento adequado dos espécimes. O armazenamento e o transporte impróprios de espécimes podem resultar na perda de viabilidade do organismo e gerar resultados falsos negativos. Além disso, o uso de más técnicas de amostragem, materiais de amostragem tóxicos e a inibição do crescimento por componentes das secreções corporais podem também dar origem a resultados falsos negativos (11, 28). Os métodos de não-cultura mais utilizados para a detecção de GC incluem testes de sonda de DNA diretos e NAATs.

A primeira geração de NAATs para CT e GC tem problemas tecnológicos que limitaram o seu desempenho. Esses problemas incluem um processamento de espécimes moroso e a inibição de espécimes, que podem dar origem a resultados falsos negativos (10, 15, 20, 30, 41, 51, 57, 58). O Aptima Combo 2 assay é um NAAT de segunda geração que utiliza tecnologias de captura do alvo, de amplificação mediada por transcrição (TMA) e de ensaio cinético Dual (DKA) para simplificar o processamento dos espécimes, amplificar o rRNA alvo e detetar o produto da amplificação, respetivamente. Estudos que compararam o desempenho e a inibição de espécimes de vários sistemas de amplificação demonstraram os benefícios das tecnologias de captura do alvo, TMA e DKA (12, 18). O Aptima Combo 2 assay deteta qualitativamente rRNA de CT e/ou GC em espécimes de origem endocervical de citologia líquida em solução PreservCyt colhidos pelo médico, esfregaços de origem vaginal e uretral masculina, assim como esfregaços faríngeos e retais de ambos os sexos; esfregaços vaginais, esfregaços faríngeos e retais de ambos os sexos e espécimes de urina de ambos os sexos colhidos pelo paciente de indivíduos sintomáticos e assintomáticos.

Em 2019, foram descobertas novas variantes de *C. trachomatis* que contêm mutações pontuais que afetam a detecção pela versão original do Aptima Combo 2 assay (22, 27, 42, 43, 55, 56). Foram relatadas anteriormente (54) estirpes variantes de chlamydia com mutações que afetam o desempenho dos testes de diagnóstico, sendo um produto natural da evolução microbiana. A versão atualizada do Aptima Combo 2 assay fornece cobertura de detecção para as estirpes variantes de *C. trachomatis* que surgiram em 2019.

Princípios do procedimento

O Aptima Combo 2 assay combina as tecnologias de captura do alvo, TMA e DKA. Os espécimes são colhidos e transferidos para os respetivos tubos de transporte de espécimes. As soluções de transporte desses tubos libertam os rRNA alvo e impedem a respetiva degradação durante o armazenamento. Quando o Aptima Combo 2 assay é efetuado no laboratório, as moléculas do rRNA alvo são isoladas dos espécimes utilizando oligómeros de captura através de uma captura do alvo que utiliza micropartículas magnéticas. Os oligómeros de captura contêm sequências complementares a regiões específicas das moléculas alvo, bem como uma cadeia de resíduos de desoxiadenosina. Utiliza-se um oligómero de captura individual para cada alvo. Durante o passo de hibridação, as regiões específicas da sequência dos oligómeros de captura ligam-se a regiões específicas das moléculas alvo. O oligómero de captura: o complexo alvo é então capturado e retirado da

solução reduzindo a temperatura da reação para a temperatura ambiente. Esta redução da temperatura permite que a hibridação ocorra entre a região da desoxiadenosina no oligômero de captura e as moléculas de polidesoxitimidina que estão ligadas de forma covalente às partículas magnéticas. As micropartículas, incluindo as moléculas alvo capturadas ligadas às mesmas, são arrastadas para a secção lateral do tubo de reação por ímanes e o sobrenadante é aspirado. As partículas são lavadas para remover a matriz de espécime residual que possa conter inibidores da reação da amplificação. Concluídos os passos de captura do alvo, os espécimes estão prontos para a amplificação.

Os ensaios de amplificação do alvo baseiam-se na capacidade que os “primers” oligonucleótidos complementares têm de se hibridar especificamente e de permitir a amplificação enzimática das cadeias do ácido nucleico alvo. O Aptima Combo 2 assay replica uma região específica do rRNA 23S da CT e uma região específica do rRNA 16S da GC através de intermediários de DNA. Um conjunto exclusivo de “primers” é usado para cada molécula alvo. A detecção das sequências do produto da amplificação do rRNA é alcançada com a hibridação do ácido nucleico. Sondas de DNA quimioluminescentes de cadeia simples, complementares a uma região de cada produto da amplificação alvo, são marcadas com diferentes moléculas de éster de acridina. As sondas de DNA marcadas combinam com o produto da amplificação para formar híbridos de RNA:DNA estáveis. O reagente de seleção faz a distinção entre a sonda hibridada e a sonda não hibridada, e elimina a geração do sinal da sonda não hibridada. Durante o passo de detecção, a luz emitida pelos híbridos de RNA:DNA marcados é medida como sinais de fótons num luminómetro e indicada em unidades de luz relativas (RLU). Na DKA, diferenças nos perfis cinéticos das sondas marcadas com CT e GC permitem efetuar a distinção dos sinais; os perfis cinéticos são obtidos a partir das medições do débito de fótons durante o tempo de leitura de detecção. A reação de detecção quimioluminescente para o sinal CT apresenta uma cinética muito rápida e tem um tipo cinético de “sinal intermitente”. A reação de detecção quimioluminescente para o sinal GC é relativamente mais lenta e tem um tipo cinético de “sinal contínuo”. Os resultados do ensaio são determinados por um “cut-off” baseado na RLU total e no tipo de curva cinética.

Advertências e precauções

- A. Para fins de diagnóstico *in vitro*.
- B. Para uso profissional.
- C. Para advertências, precauções e procedimentos adicionais específicos para controlo de contaminação para o Tigris DTS system, consulte o *Tigris DTS System Operator's Manual* (Manual de instruções do Tigris DTS System).
- D. Para advertências, precauções e procedimentos adicionais específicos para controlo de contaminação para o Panther system, consulte o *Panther System Operator's Manual* (Manual de instruções do Panther System).

Relacionadas com o laboratório

- E. O ensaio não foi avaliado em populações de pacientes com baixa prevalência de doença provocada por CT; por conseguinte, o desempenho em situações de baixa prevalência não foi determinado.
- F. Utilize apenas os artigos de laboratório descartáveis que sejam fornecidos ou especificados.

- G. Tome todas as precauções laboratoriais de rotina. Não coma, não beba, nem fume nas áreas de trabalho designadas. Use luvas sem pó descartáveis, proteção ocular e batas de laboratório quando manusear espécimes e reagentes de um kit. Lave bem as mãos depois de manusear os espécimes e os reagentes do kit.
- H. **Atenção: Irritantes e Corrosivos:** evite o contacto do Auto Detect 1 e do Auto Detect 2 com a pele, olhos e membranas mucosas. Se estes fluidos entrarem em contacto com a pele ou os olhos, lave com água. Se estes fluidos se derramarem, dilua com água antes de secar com um pano.
- I. As superfícies de trabalho, as pipetas e outro equipamento devem ser regularmente descontaminados com solução de hipoclorito de sódio de 2,5% a 3,5% (0,35 M a 0,5 M).

Relacionadas com os espécimes

- J. O ensaio foi testado utilizando espécimes de origem endocervical de citologia líquida em solução PreservCyt colhidos pelo médico, esfregaços de origem vaginal e uretral masculina, assim como esfregaços faríngeos e retais de ambos os sexos; esfregaços vaginais, esfregaços faríngeos e retais de ambos os sexos e espécimes de urina de ambos os sexos colhidos pelo paciente. O desempenho com outros espécimes além dos especificados em *Colheita e conservação de espécimes* não foi avaliado.

Os laboratórios podem validar outros dispositivos de colheita (33, 36).

As amostras ginecológicas colhidas para processamento com o ThinPrep 2000 System ou o ThinPrep 5000 System devem ser colhidas usando dispositivos de colheita tipo escova ou espátulas endocervicais de combinação escova/plástico.

- K. Os prazos de validade indicados nos kits de colheita referem-se à data de colheita, e não à realização de testes. As amostras colhidas em qualquer altura antes do prazo de validade do kit de colheita e transportadas e armazenadas de acordo com o folheto informativo são válidas para testes mesmo que o prazo de validade indicado no tubo de colheita tenha passado.
- L. A solução PreservCyt foi validada como meio alternativo de teste com o Aptima Combo 2 assay. Os espécimes de citologia líquida em solução PreservCyt processados com o ThinPrep 3000 Processor ou com outros instrumentos não foram avaliados relativamente ao teste de *Chlamydia trachomatis* e *Neisseria gonorrhoeae* com o Aptima Combo 2 assay.
- M. Depois de adicionar urina ao tubo de transporte de urina, o nível do líquido deve situar-se entre as duas linhas pretas indicadoras no rótulo do tubo. Se tal não suceder, rejeite o espécime.
- N. Mantenha condições de conservação adequadas durante o transporte de espécimes para garantir a integridade do espécime. A estabilidade do espécime em condições de transporte além das recomendadas não foi avaliada.
- O. Os espécimes podem ser infecciosos. Utilize as Precauções universais quando executar este ensaio. O diretor do laboratório deve estabelecer métodos adequados de manuseamento e de eliminação. Este procedimento de diagnóstico só deve ser realizado por pessoal com a formação adequada no manuseamento de materiais infecciosos.
- P. Evite a contaminação cruzada durante os passos de manuseamento dos espécimes. Os espécimes podem conter níveis de organismos extremamente elevados. Certifique-se de que os recipientes de espécimes não entram em contacto uns com os outros e deite fora os materiais usados sem passá-los por cima de recipientes abertos. Mude de luvas se estas entrarem em contacto com o espécime.

- Q. Se o laboratório receber um tubo de transporte de espécimes de esfregaço sem o esfregaço, com dois esfregaços, com um esfregaço de limpeza ou com um esfregaço não fornecido pela Hologic, o espécime deve ser rejeitado. Antes de rejeitar um tubo de transporte de zaragatoas sem uma zaragatoa, verifique se não é um tubo de transferência de espécimes Aptima™, já que estes tubos não contêm qualquer zaragatoa.
- R. No caso de espécimes de citologia líquida em solução PreservCyt, proceda à respetiva colheita de acordo com as instruções do fabricante. Alíquotas posteriormente removidas do frasco de PreservCyt para teste com o Aptima Combo 2 assay devem ser processadas apenas com o kit de transferência de espécimes Aptima.
- S. Após a perfuração, e sob determinadas condições, o líquido pode vazar das tampas dos tubos de transporte Aptima. Siga as instruções do *Procedimento de teste* para evitar esta ocorrência.

Relacionadas com o ensaio

- T. O desempenho do ensaio Aptima Combo 2 não foi avaliado em adolescentes com idade inferior a 14 anos.
- U. Não utilize este kit após o respetivo prazo de validade.
- V. **Não troque, misture, nem combine reagentes do ensaio** de kits com números de lote diferentes. Os controlos e fluidos do ensaio Aptima podem pertencer a números de lote diferentes.

	Aptima Oil Reagent <i>Polydimethylsiloxane 100%</i> Atenção H315 - Provoca irritação cutânea H319 - Provoca irritação ocular grave
	Selection Reagent Boric Acid 1-5% Sodium Hydroxide <1% Atenção H315 - Provoca irritação cutânea H319 - Provoca irritação ocular grave
	Target Capture Reagent EDTA 1-5% H411 - Tóxico para os organismos aquáticos com efeitos duradouros P273 - Evitar a libertação para o ambiente P280 - Usar proteção ocular/proteção facial

Nota: a comunicação de perigo reflete as classificações das Fichas de dados de segurança (SDS) da UE. Para obter informações sobre as comunicações de perigo específicas da sua região, consulte as SDS específicas da região na Biblioteca de fichas de dados de segurança, no endereço www.hologicsds.com.

Requisitos de conservação e manuseamento dos reagentes

- A. Os reagentes seguintes permanecem estáveis se armazenados a uma temperatura entre 2 °C e 8 °C (refrigerados):
- Reagente de amplificação Aptima Combo 2
- Reagente enzimático Aptima Combo 2

- Reagente de sonda Aptima Combo 2
- Reagente B de captura do alvo Aptima Combo 2
- Controlo positivo, CT / Controlo negativo, GC APTIMA
- Controlo positivo, GC / Controlo negativo, CT APTIMA
- B. Os reagentes seguintes permanecem estáveis se armazenados a uma temperatura entre 2 °C e 30 °C:
 - Solução de reconstituição da amplificação Aptima Combo 2
 - Solução de reconstituição enzimática Aptima Combo 2
 - Solução de reconstituição de sonda Aptima Combo 2
 - Reagente de seleção Aptima Combo 2
- C. Os reagentes seguintes permanecem estáveis se armazenados a uma temperatura entre 15 °C e 30 °C (temperatura ambiente):
 - Reagente de captura do alvo
 - Solução de lavagem Aptima
 - Tampão para o fluido de desativação Aptima
 - Reagente de óleo Aptima
- D. O reagente de captura do alvo de trabalho (working Target Capture Reagent, wTCR) permanece estável durante 30 dias quando armazenado a uma temperatura entre 15 °C e 30 °C. Não refrigere.
- E. Após a reconstituição, o reagente enzimático, o reagente de amplificação e o reagente de sonda permanecem estáveis durante 30 dias quando armazenados a uma temperatura entre 2 °C e 8 °C.
- F. Elimine quaisquer reagentes reconstituídos e o wTCR não utilizados após 30 dias ou após o prazo de validade do lote mestre, conforme o que ocorrer primeiro.
- G. Os controlos permanecem estáveis até à data indicada nos frascos.
- H. Os reagentes conservados dentro do Tigris DTS system permanecem estáveis durante 48 horas.
- I. Os reagentes conservados dentro do Panther system permanecem estáveis durante 72 horas.
- J. O reagente de sonda e o reagente de sonda reconstituído são fotossensíveis. Mantenha os reagentes protegidos da luz. A estabilidade reconstituída especificada baseia-se numa exposição de 12 horas do Reagente de Sonda Reconstituído a duas lâmpadas fluorescentes de 60 W, a uma distância de 43 cm, e a uma temperatura inferior a 30 °C. A exposição à luz do Reagente de Sonda Reconstituído deve ser limitada em conformidade.
- K. Com o aquecimento à temperatura ambiente, alguns tubos de controlo podem parecer turvos ou apresentar precipitados. A turvação ou precipitação associada aos controlos não afeta o desempenho dos mesmos. Os controlos podem ser usados quer estejam limpos ou turvos/precipitados. Se quiser utilizar controlos limpos, a solubilização pode ser agilizada incubando-os no limite superior do intervalo de temperatura ambiente (15 °C a 30 °C).
- L. Não congele os reagentes.**

Colheita e conservação de espécimes

O Aptima Combo 2 assay foi concebido para detetar a presença de CT e GC nos seguintes espécimes: espécimes de origem endocervical de citologia líquida em solução PreservCyt colhidos pelo médico, esfregaços de origem vaginal e uretral masculina, assim como esfregaços faríngeos e retais de ambos os sexos; esfregaços vaginais, esfregaços faríngeos e retais de ambos os sexos e espécimes de urina de ambos os sexos colhidos pelo paciente. Não se avaliou o desempenho com outros espécimes além dos colhidos com os kits de colheita de espécimes seguintes:

- Kit unissexo Aptima de colheita de espécimes de esfregaço endocervical e da uretra masculina
- Kit de colheita de urina Aptima para espécimes de urina masculina e feminina
- Kit de colheita de espécimes de esfregaço Aptima Multitest
- Kit de transferência de espécimes Aptima (para utilização com amostras ginecológicas colhidas em solução PreservCyt)

A. Instruções de colheita:

Consulte o folheto informativo do kit de colheita de espécimes adequado para obter instruções de colheita.

B. Transporte e armazenamento de espécimes antes do teste:

1. Espécimes de esfregaço:

- a. Após a colheita, transporte e armazene o esfregaço no tubo de transporte de espécimes de esfregaço a uma temperatura entre 2 °C e 30 °C até ser testado. Os espécimes devem ser testados com o Aptima Combo 2 assay num período de 60 dias após a colheita. Se necessitar de um período de armazenamento mais longo, congele a uma temperatura entre -20 °C e -70 °C durante um máximo de 12 meses após a colheita (consulte a secção *Estudos de estabilidade dos espécimes*).

2. Espécimes de urina:

- a. Os espécimes de urina que permaneçam no recipiente de colheita principal devem ser transportados para o laboratório a uma temperatura entre 2 °C e 30 °C. Transfira a amostra de urina para o tubo de transporte de espécimes de urina Aptima num período de 24 horas após a colheita. Armazene a uma temperatura entre 2 °C e 30 °C e teste num período de 30 dias após a colheita.
- b. Após a colheita, transporte os espécimes de urina processada no tubo de transporte de espécimes de urina Aptima a uma temperatura entre 2 °C e 30 °C e armazene a uma temperatura entre 2 °C e 30 °C até serem testados. Os espécimes de urina processada devem ser testados com o Aptima Combo 2 assay num período de 30 dias após a colheita. Se necessitar de um período de armazenamento mais longo, congele a uma temperatura entre -20 °C e -70 °C durante um máximo de 12 meses após a colheita (consulte a secção *Estudos de estabilidade dos espécimes*).

3. Espécimes de citologia líquida em solução PreservCyt:

- a. Os espécimes de citologia líquida em solução PreservCyt destinados a serem utilizados em testes de CT e/ou GC devem ser processados para citologia e/ou transferidos para um tubo de transferência de espécimes Aptima num período de 30 dias após a colheita, quando armazenados a uma temperatura situada entre 2 °C e 30 °C (consulte a secção *Estudos de estabilidade dos espécimes*).

- b. Se utilizar o procedimento de remoção de alíquotas ThinPrep, consulte as instruções fornecidas no *ThinPrep 2000*, *ThinPrep 3000* ou *ThinPrep 5000 Processor Operator's Manual—Addendum* (Manual de instruções do ThinPrep 2000, ThinPrep 3000 ou ThinPrep 5000 Processor - Adenda) relativas à remoção de alíquotas. Transfira 1 ml da alíquota removida para um tubo de transferência de espécimes Aptima, de acordo com as instruções incluídas no folheto informativo do kit de transferência de espécimes Aptima.
 - c. Se testar os espécimes depois de os processar com o processador ThinPrep 2000, processe o espécime de citologia líquida em solução PreservCyt de acordo com o *ThinPrep 2000 Processor Operator's Manual* (Manual de instruções do ThinPrep 2000 Processor) e o folheto informativo do Aptima Specimen Transfer Kit. Se testar os espécimes depois de utilizar o processador ThinPrep 5000, processe o espécime de citologia líquida em solução PreservCyt de acordo com o *ThinPrep 5000 Processor Operator's Manual* (Manual de instruções do ThinPrep 5000 Processor) e o folheto informativo do Aptima Specimen Transfer Kit. Transfira 1 ml do fluido restante no frasco de solução PreservCyt para um tubo de transferência de espécimes Aptima, de acordo com as instruções incluídas no folheto informativo do kit de transferência de espécimes Aptima.
 - d. Depois de transferir o espécime de citologia líquida em solução PreservCyt para o tubo de transferência de espécimes Aptima, aquele deve ser testado com o Aptima Combo 2 assay num período de 30 dias, quando armazenado a uma temperatura de 2 °C a 8 °C ou num período de 14 dias, quando armazenado a uma temperatura de 15 °C a 30 °C. Se necessitar de um período de armazenamento mais longo, congele a uma temperatura de -20 °C a -70 °C durante um máximo de 12 meses após a transferência (consulte a secção *Estudos de estabilidade dos espécimes*).
- C. Acondicionamento de espécimes após o teste:
- 1. Os espécimes testados devem ser acondicionados num suporte em posição vertical.
 - 2. Os tubos de transporte de espécimes devem ser cobertos com uma película de plástico nova e limpa ou com folha de alumínio.
 - 3. Se as amostras testadas tiverem de ser congeladas ou expedidas, retire a tampa perfurável e coloque novas tampas não perfuráveis nos tubos de transporte de espécimes. Se os espécimes tiverem de ser expedidos para serem testados noutro local, mantenha as temperaturas recomendadas. Antes de destapar e voltar a tapar os espécimes previamente testados, centrifugue os tubos de transporte de espécimes durante 5 minutos a uma Força Centrífuga Relativa (RCF) de 420 para levar todo o líquido para o fundo do tubo. **Evite salpicos e contaminação cruzada.**

Nota: os espécimes devem ser transportados de acordo com os regulamentos de transporte nacionais e internacionais aplicáveis.

Tigris DTS System

Os reagentes do Aptima Combo 2 assay para CT e GC são indicados abaixo para o Tigris DTS system. Os símbolos de identificação do reagente também estão indicados junto ao nome do reagente.

Reagentes e materiais fornecidos

Kit do Aptima Combo 2 Assay, 250 testes (2 caixas e 1 kit de controlos) (Cód. produto PRD-05572 e PRD-05572B)

Caixa refrigerada Aptima Combo 2 (Caixa 1 de 2)
(conservar a uma temperatura entre 2 °C e 8 °C após a receção)

Símbolo	Componente	Quantidade
A	Reagente de amplificação Aptima Combo 2 <i>Ácidos nucleicos não infecciosos liofilizados em solução tamponada com < 5% de agente de volume.</i>	1 frasco
E	Reagente de enzima Aptima Combo 2 <i>Transcriptase reversa e RNA polimerase liofilizadas em solução tamponada com HEPES contendo < 10% de reagente de volume.</i>	1 frasco
P	Reagente de sonda Aptima Combo 2 <i>Sondas de DNA quimioluminescentes não infecciosas liofilizadas em solução tamponada com succinato contendo < 5% de detergente.</i>	1 frasco
TCR-B	Reagente B de captura do alvo Aptima Combo 2 <i>Ácidos nucleicos não infecciosos em solução tamponada com < 5% de detergente.</i>	1 x 0,61 ml

Caixa à temperatura ambiente Aptima Combo 2 (Caixa 2 de 2)
(conservar a uma temperatura entre 15 °C e 30 °C após a receção)

Símbolo	Componente	Quantidade
AR	Solução de reconstituição da amplificação Aptima Combo 2 <i>Solução aquosa com conservantes.</i>	1 x 27,7 ml
ER	Solução de reconstituição de enzima Aptima Combo 2 <i>Solução tamponada com HEPES com um agente tensioativo e glicerol.</i>	1 x 11,1 ml
PR	Solução de reconstituição de sonda Aptima Combo 2 <i>Solução tamponada com succinato contendo < 5% de detergente.</i>	1 x 35,4 ml
S	Reagente de seleção Aptima Combo 2 <i>Solução tamponada com borato a 600 mM e com surfactante.</i>	1 x 108 ml
TCR	Reagente de captura do alvo Aptima Combo 2 <i>Solução salina tamponada com fase sólida e oligómeros de captura.</i>	1 x 54 ml
	Aros de reconstituição	3
	Ficha de Códigos de Barras do Lote Mestre	1 folha

Kit de controlos Aptima
(conservar a uma temperatura entre 2 °C e 8 °C após a receção)

Símbolo	Componente	Quantidade
PCT/NGC	Controlo positivo, CT / Controlo negativo, GC Aptima <i>Ácidos nucleicos CT não infecciosos em solução tamponada com < 5% de detergente. Cada amostra de 400 µl contém o rRNA estimado equivalente a 1 unidade formadora de inclusão (IFU) de CT (5 fg/ensaio*).</i>	5 x 1,7 ml
PGC/NCT	Controlo positivo, GC / Controlo negativo, CT Aptima <i>Ácidos nucleicos GC não infecciosos em solução tamponada com < 5% de detergente. Cada amostra de 400 µl contém o rRNA estimado equivalente a 50 células de GC (250 fg/ensaio*).</i>	5 x 1,7 ml

* Os equivalentes de rRNA foram calculados com base no tamanho do genoma e na relação DNA:RNA por célula estimada de cada organismo.

Materiais necessários mas disponíveis separadamente

Nota: os materiais disponíveis na Hologic têm a indicação dos códigos de produto, a menos que o contrário seja especificado.

	<u>Código de produto</u>
Tigris DTS System	105118
Kit de fluidos do ensaio Aptima <i>(Solução de lavagem Aptima, Tampão para o fluido de desativação Aptima e Reagente de óleo Aptima)</i>	302382
Kit Auto Detect Aptima	301048
Kit de conservante do líquido do sistema Aptima	302380
Pontas, condutoras de 1000 µl, deteção de líquido	10612513 (Tecan)
Kit de execução do Tigris DTS System com	301191
Unidades multitubos (MTU)	104772-02
Kit de sacos de resíduos para pontas de MTU	900907
Defletores de resíduos para MTUs	900931
Tampas de resíduos para MTUs	105523
Kit de transferência de espécimes Aptima <i>para utilização com espécimes em solução PreservCyt</i>	301154C
Kit de transferência de espécimes Aptima — imprimível <i>para utilização com espécimes em solução PreservCyt</i>	PRD-05110
Kit de colheita de espécimes de esfregaço Aptima Multitest	PRD-03546
Kit unissexo Aptima de colheita de espécimes de esfregaço endocervical e da uretra masculina	301041
Kit de colheita de espécimes de urina Aptima para espécimes de urina masculina e feminina	301040
Tubos de transporte de espécimes de urina Aptima para espécimes de urina masculina e feminina	105575
Lixívia, solução de hipoclorito de sódio de 5% a 7% (0,7 M a 1,0 M) —	

	<u>Código de produto</u>
Água para o Tigris DTS System	—
<i>consulte as especificações no Manual de instruções do Tigris DTS System</i>	
Luvas descartáveis	—
Padrão de calibração SysCheck	301078
Tampas perfuráveis Aptima	105668
Tampas não perfuráveis de substituição	103036A
Tampas de substituição para kits de 250 testes	—
<i>Soluções de amplificação e de reconstituição do reagente de sonda</i>	<i>CL0041 (100 tampas)</i>
<i>Solução de reconstituição do reagente de enzima</i>	<i>501616 (100 tampas)</i>
<i>TCR e reagente de seleção</i>	<i>CL0040 (100 tampas)</i>

Materiais opcionais

	<u>Código de produto</u>
Kit de controlos Aptima	301110
Intensificador de lixívia Hologic para limpeza	302101
<i>para a limpeza de rotina de superfícies e equipamentos</i>	

Procedimento de teste no Tigris DTS System

Nota: consulte o Manual de instruções do Tigris DTS System para obter mais informações sobre os procedimentos do Tigris DTS system.

A. Preparação da área de trabalho

1. Limpe as superfícies de trabalho onde serão preparados os reagentes e as amostras. Para este efeito utilize solução de hipoclorito de sódio de 2,5% a 3,5% (0,35 M a 0,5 M). Deixe a solução de hipoclorito de sódio entrar em contacto com as superfícies durante pelo menos 1 minuto e depois enxague com água. Não deixe secar a solução de hipoclorito de sódio. Cubra a superfície da bancada na qual vai preparar os reagentes e as amostras com uma proteção limpa e absorvente com forro de plástico.

B. Reconstituição/preparação dos reagentes de um novo kit

Nota: a reconstituição dos reagentes deve ser realizada antes de iniciar qualquer trabalho no Tigris DTS system.

1. Para reconstituir o reagente de amplificação, o reagente de enzima e o reagente de sonda, combine os frascos de reagente liofilizado com a solução de reconstituição. Se estiverem refrigeradas, deixe as soluções de reconstituição atingirem a temperatura ambiente antes de utilizá-las.
 - a. Emparelhe cada solução de reconstituição com o respetivo reagente liofilizado. Certifique-se de que a solução de reconstituição e o reagente liofilizado têm cores de rótulo correspondentes antes de inserir o aro de reconstituição.
 - b. Verifique os números do lote na Ficha de Códigos de Barras do Lote Mestre para garantir que estão emparelhados os reagentes adequados.
 - c. Abra o frasco do reagente liofilizado e insira firmemente a extremidade ranhurada do aro de reconstituição na abertura do frasco (Figura 1, Passo 1).

- d. Abra o frasco da solução de reconstituição correspondente e coloque a tampa numa superfície de trabalho limpa e coberta.
- e. Coloque o frasco da solução de reconstituição sobre a bancada e insira com firmeza a outra extremidade do aro de reconstituição na abertura do frasco (Figura 1, Passo 2).
- f. Inverta lentamente os frascos preparados. Deixe passar a solução do frasco de plástico para o frasco de vidro (Figura 1, Passo 3).
- g. Agite suavemente a solução no frasco para a misturar. Evite formar espuma ao agitar o frasco (Figura 1, Passo 4).
- h. Aguarde até que o reagente liofilizado entre na solução e, em seguida, inverta novamente os frascos preparados, inclinando-os num ângulo de 45° para reduzir ao mínimo a formação de espuma (Figura 1, Passo 5). Deixe passar o líquido todo novamente para o frasco de plástico.
- i. Retire o aro de reconstituição e o frasco de vidro (Figura 1, Passo 6).
- j. Volte a colocar a tampa do frasco de plástico. Grave as iniciais do operador e a data de reconstituição na etiqueta (Figura 1, Passo 7).
- k. Descarte o aro de reconstituição e o frasco de vidro (Figura 1, Passo 8).

Opção: É permitida a mistura adicional dos reagentes de amplificação, de enzima e de sonda utilizando um agitador de tubos. Os reagentes podem ser misturados colocando o frasco de plástico tapado num agitador de tubos definido para 20 RPM (ou equivalente) durante um mínimo de 5 minutos.

Atenção: evite formar espuma ao reconstituir os reagentes. A espuma compromete o sensor de nível do Tigris DTS system.

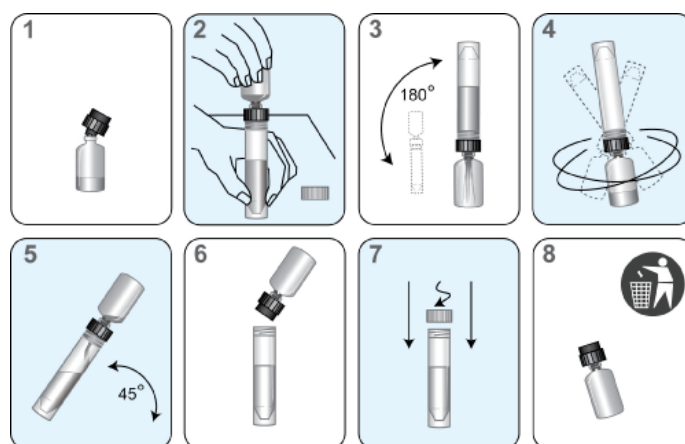


Figura 1. Processo de reconstituição no Tigris DTS System ou no Panther System

2. Prepare o reagente de captura do alvo de trabalho (wTCR)
 - a. Emparelhe os frascos adequados de TCR e TCR-B.
 - b. Verifique os números de lote do reagente na Ficha de Códigos de Barras do Lote Mestre para garantir que emparelhou os reagentes adequados do kit.
 - c. Abra o frasco de TCR e coloque a tampa numa superfície de trabalho limpa e coberta.
 - d. Abra o frasco de TCR-B e deite o conteúdo completo no frasco de TCR. Uma pequena quantidade de líquido poderá permanecer no frasco de TCR-B.

- e. Feche o frasco de TCR e agite suavemente a solução para misturar o conteúdo. Evite formar espuma durante este passo.
 - f. Registe as iniciais do operador e a data atual na etiqueta.
 - g. Elimine o frasco e a tampa de TCR-B.
3. Prepare o reagente de seleção
- a. Verifique o número de lote no frasco de reagente para se certificar de que corresponde ao número de lote da Ficha de Códigos de Barras do Lote Mestre.
 - b. Registe as iniciais do operador e a data atual na etiqueta.

Nota: *misture bem todos os reagentes, invertendo-os suavemente antes de os colocar no sistema. Evite formar espuma durante a inversão dos reagentes.*

C. Preparação de reagentes para reagentes previamente reconstituídos

- 1. Os reagentes de amplificação, enzimático e de sonda previamente reconstituídos devem atingir a temperatura ambiente (15 °C a 30 °C) antes do início do ensaio.
- 2. Se o reagente de sonda reconstituído contiver um precipitado que não regresse à solução à temperatura ambiente, aqueça o frasco tapado a uma temperatura não superior a 62 °C durante 1 a 2 minutos. Após este passo de aquecimento, o reagente de sonda pode ser utilizado mesmo que contenha resíduos de precipitado. Misture o reagente de sonda por inversão, tendo o cuidado de não induzir a formação de espuma, antes de o carregar para o sistema.
- 3. Misture bem cada reagente, invertendo-os suavemente antes de os colocar no sistema. Evite formar espuma durante a inversão dos reagentes.
- 4. Não ateste frascos de reagente. O Tigris DTS system reconhece e rejeita os frascos que tenham sido atestados.

D. Manuseamento de espécimes

- 1. Deixe os controlos e os espécimes alcançarem a temperatura ambiente antes de os processar.
- 2. **Não coloque os espécimes no vórtex.**
- 3. Confirme visualmente se cada tubo com espécime cumpre um dos seguintes critérios:
 - a. Presença de uma única zaragatoa de colheita azul Aptima num tubo de transporte de espécimes de esfregaço unissexo.
 - b. Presença de uma única zaragatoa de colheita cor de rosa Aptima num tubo de transporte de espécimes de esfregaço multitestado ou vaginal.
 - c. Um volume final de urina entre as linhas de enchimento pretas dos tubos de transporte de espécimes de urina.
 - d. Ausência de uma zaragatoa no tubo de transporte de espécimes Aptima para espécimes de citologia líquida em solução PreservCyt.
- 4. Inspeção dos tubos de espécimes antes de os colocar no suporte:
 - a. Se um tubo de espécime tiver bolhas no espaço entre o líquido e a tampa, centrifugue o tubo durante 5 minutos a uma RCF de 420 para eliminar as bolhas.
 - b. Se um tubo de espécime tiver um volume inferior ao normalmente observado quando se seguem as instruções de colheita, centrifugue o tubo durante 5 minutos a uma RCF de 420 para garantir que o líquido não está retido na tampa.
 - c. Se o nível do líquido num tubo de espécime de urina não se situar entre as duas linhas pretas indicadoras no rótulo, o espécime deve ser rejeitado. Não perfure um tubo demasiado cheio.

- d. Se um tubo de espécime de urina contiver um precipitado, aqueça o espécime a 37 °C durante 5 minutos. Se o precipitado não regressar à solução, certifique-se visualmente de que o precipitado não está a impedir a transferência do espécime.

Nota: o não cumprimento dos passos 4a-c, poderá resultar numa descarga de líquido proveniente da tampa do tubo de espécime.

Nota: é possível testar um máximo de 3 alíquotas distintas de cada tubo de espécime. A tentativa de pipetar mais do que 3 alíquotas do tubo de espécime pode dar origem a erros de volume insuficiente.

E. Preparação do sistema

Configure o sistema e a lista de trabalho de acordo com as instruções do *Tigris DTS System Operator's Manual* (Manual de instruções do Tigris DTS System) e das *Notas sobre o procedimento*.

Notas sobre o procedimento

A. Controlos

1. Para trabalhar corretamente com o software Tigris Aptima assay são necessários controlos dianteiros e finais. O controlo positivo, CT / controlo negativo, GC deve ocupar a primeira posição e a penúltima posição de uma lista de trabalho. Esta etiqueta de controlo é cor de rosa. O texto da etiqueta é "CONTROL + CT PCT / CONTROL – GC NGC". O controlo positivo, GC / controlo negativo, CT deve ocupar a segunda posição e a última posição de uma lista de trabalho. Esta etiqueta de controlo é azul esverdeada. O texto da etiqueta é "CONTROL + GC PGC / CONTROL – CT NCT".
2. Cada tubo de controlo Aptima só pode ser testado uma única vez. A tentativa de pipetar mais do que uma vez pode dar origem a erros de volume insuficiente.

B. Temperatura

A temperatura ambiente definida situa-se entre 15 °C e 30 °C.

C. Pó das luvas

Como em qualquer sistema de reagentes, o excesso de pó em algumas luvas pode causar a contaminação de tubos abertos. Recomenda-se a utilização de luvas sem pó.

D. Protocolo de monitorização da contaminação do laboratório para o Tigris DTS System

Existem vários fatores específicos de cada laboratório que podem contribuir para a contaminação, incluindo o volume de testes, o fluxo de trabalho, a prevalência das doenças e diversas outras atividades laboratoriais. Estes fatores devem ser tidos em conta ao estabelecer a frequência de monitorização da contaminação. Devem estabelecer-se intervalos de monitorização da contaminação com base nas práticas e procedimentos de cada laboratório.

Para monitorizar a contaminação do laboratório, pode realizar-se o procedimento seguinte com o kit unissexo Aptima de colheita de espécimes de esfregaço para espécimes de esfregaço endocervical e da uretra masculina:

1. Rotule os tubos de transporte de zaragatoas com os números correspondentes às áreas a testar.
2. Retire a zaragatoa de colheita do espécime (zaragatoa de haste azul com impressão verde) da embalagem, humedeça-a no meio de transporte de zaragatoas e recolha a amostra na área designada com um movimento circular.

3. Insira imediatamente a zaragatoa no tubo de transporte.
4. De forma cuidadosa, quebre a haste da zaragatoa na linha marcada; seja cuidadoso para evitar salpicar o conteúdo.
5. Coloque a tampa do tubo de transporte de zaragatoas e aperte bem.
6. Repita os passos 2 a 5 nas áreas nas quais deseje recolher amostras.

Se os resultados forem positivos ou equívocos para CT ou GC, consulte a secção *Interpretação dos testes - CQ/Resultados do paciente*. Para informações adicionais sobre monitorização da contaminação específicas do Tigris DTS System, consulte o *Tigris DTS system Operator's Manual* (Manual de instruções do Tigris DTS System).

Panther System

Os reagentes do Aptima Combo 2 assay para CT e GC são indicados abaixo para o Panther system. Os símbolos de identificação do reagente também estão indicados junto ao nome do reagente.

Reagentes e materiais fornecidos**Kit do Aptima Combo 2 Assay**

100 testes (2 caixas e 1 kit de controlos) (Cód. produto PRD-05576)

250 testes (2 caixas e 1 kit de controlos) (Cód. produto PRD-05571)

Caixa refrigerada Aptima Combo 2 (Caixa 1 de 2)

(conservar a uma temperatura entre 2 °C e 8 °C após a receção)

Símbolo	Componente	Quantidade Kit de 250 testes	Quantidade Kit de 100 testes
A	Reagente de amplificação Aptima Combo 2 <i>Ácidos nucleicos não infecciosos liofilizados em solução tamponada com < 5% de agente de volume.</i>	1 frasco	1 frasco
E	Reagente de enzima Aptima Combo 2 <i>Transcriptase reversa e RNA polimerase liofilizadas em solução tamponada com HEPES contendo < 10% de reagente de volume.</i>	1 frasco	1 frasco
P	Reagente de sonda Aptima Combo 2 <i>Sondas de DNA quimioluminescentes não infecciosas liofilizadas em solução tamponada com succinato contendo < 5% de detergente.</i>	1 frasco	1 frasco
TCR-B	Reagente B de captura do alvo Aptima Combo <i>Ácidos nucleicos não infecciosos em solução tamponada com < 5% de detergente.</i>	1 x 0,61 ml	1 x 0,30 ml

Caixa à temperatura ambiente Aptima Combo 2 (Caixa 2 de 2)

(conservar a uma temperatura entre 15 °C e 30 °C após a receção)

Símbolo	Componente	Quantidade Kit de 250 testes	Quantidade Kit de 100 testes
AR	Solução de reconstituição da amplificação Aptima Combo 2 <i>Solução aquosa com conservantes.</i>	1 x 27,7 ml	1 x 11,9 ml
ER	Solução de reconstituição de enzima Aptima Combo 2 <i>Solução tamponada com HEPES com um agente tensioativo e glicerol.</i>	1 x 11,1 ml	1 x 6,3 ml
PR	Solução de reconstituição de sonda Aptima Combo 2 <i>Solução tamponada com succinato contendo < 5% de detergente.</i>	1 x 35,4 ml	1 x 15,2 ml

Caixa à temperatura ambiente Aptima Combo 2 (Caixa 2 de 2)
(conservar a uma temperatura entre 15 °C e 30 °C após a receção)

Símbolo	Componente	Quantidade Kit de 250 testes	Quantidade Kit de 100 testes
S	Reagente de seleção Aptima Combo 2 <i>Solução tamponada com borato a 600 mM e com surfactante.</i>	1 x 108 ml	1 x 43,0 ml
TCR	Reagente de captura do alvo Aptima Combo 2 <i>Solução salina tamponada com fase sólida e oligómeros de captura.</i>	1 x 54 ml	1 x 26,0 ml
	Aros de reconstituição	3	3
	Ficha de Códigos de Barras do Lote Mestre	1 folha	1 folha

Kit de controlos Aptima
(conservar a uma temperatura entre 2 °C e 8 °C após a receção)

Símbolo	Componente	Quantidade
PCT/NGC	Controlo positivo, CT / Controlo negativo, GC Aptima <i>Ácidos nucleicos CT não infecciosos em solução tamponada com < 5% de detergente. Cada amostra de 400 µl contém o rRNA estimado equivalente a 1 unidade formadora de inclusão (IFU) de CT (5 fg/ensaio*).</i>	5 x 1,7 ml
PGC/NCT	Controlo positivo, GC / Controlo negativo, CT Aptima <i>Ácidos nucleicos GC não infecciosos em solução tamponada com < 5% de detergente. Cada amostra de 400 µl contém o rRNA estimado equivalente a 50 células de GC (250 fg/ensaio*).</i>	5 x 1,7 ml

* Os equivalentes de rRNA foram calculados com base no tamanho do genoma e na relação DNA:RNA por célula estimada de cada organismo.

Materiais necessários, mas disponíveis separadamente

Nota: os materiais disponíveis na Hologic têm a indicação dos códigos de produto, a menos que o contrário seja especificado.

	<u>Código de produto</u>
Panther System	303095
Kit de fluidos do ensaio Aptima <i>(Solução de lavagem Aptima, Tampão para o fluido de desativação Aptima e Reagente de óleo Aptima)</i>	303014 (1000 testes)
Kit Auto Detect Aptima	303013 (1000 testes)
Unidades Multitubos (MTUs)	104772-02
Kit de sacos de resíduos Panther	902731
Tampa do recipiente de resíduos Panther	504405
ou Kit de execução Panther <i>contém MTUs, sacos de resíduos, tampas de recipientes de resíduos, fluidos de ensaio e reagentes Auto Detect</i>	303096 (5000 testes)

Pontas, condutoras de 1000 µl, detecção de líquido	10612513 (Tecan)
Kit de transferência de espécimes Aptima <i>para utilização com espécimes em solução PreservCyt</i>	301154C
Kit de transferência de espécimes Aptima — imprimível <i>para utilização com espécimes em solução PreservCyt</i>	PRD-05110
Kit de colheita de espécimes de esfregaço Aptima Multitest	PRD-03546
Kit unissexo Aptima de colheita de espécimes de esfregaço endocervical e da uretra masculina	301041
Kit de colheita de espécimes de urina Aptima para espécimes de urina masculina e feminina	301040
Tubos de transporte de espécimes de urina Aptima para espécimes de urina masculina e feminina	105575
Lixívia, solução de hipoclorito de sódio de 5% a 7% (0,7 M a 1,0 M) —	—
Luvras descartáveis	—
Padrão de calibração SysCheck	301078
Tampas perfuráveis Aptima	105668
Tampas não perfuráveis de substituição	103036A
Tampas de substituição para kits de 250 testes	—
<i>Soluções de amplificação e de reconstituição do reagente de sonda</i>	<i>CL0041 (100 tampas)</i>
<i>Solução de reconstituição do reagente enzimático</i>	<i>501616 (100 tampas)</i>
<i>TCR e reagente de seleção</i>	<i>CL0040 (100 tampas)</i>
Tampas de substituição para kits de 100 testes	—
<i>Soluções de amplificação, enzimática e de reconstituição do reagente de sonda</i>	<i>CL0041 (100 tampas)</i>
<i>TCR e reagente de seleção</i>	<i>501604 (100 tampas)</i>

Materiais opcionais

	<u>Código de produto</u>
Kit de controlos Aptima	301110
Intensificador de lixívia Hologic para limpeza <i>para a limpeza de rotina de superfícies e equipamentos</i>	302101

Procedimento de teste no Panther System

Nota: consulte o Manual de instruções do Panther System para obter mais informações sobre os procedimentos do Panther system.

A. Preparação da área de trabalho

1. Limpe as superfícies de trabalho onde serão preparados os reagentes e as amostras. Para este efeito utilize solução de hipoclorito de sódio de 2,5% a 3,5% (0,35 M a 0,5 M). Deixe a solução de hipoclorito de sódio entrar em contacto com as superfícies durante pelo menos 1 minuto e depois enxague com água. Não deixe secar a solução de hipoclorito de sódio. Cubra a superfície da bancada na qual vai preparar os reagentes e as amostras com uma proteção limpa e absorvente com forro de plástico.

B. Reconstituição/preparação dos reagentes de um novo kit

Nota: a reconstituição dos reagentes deve ser realizada antes de iniciar qualquer trabalho no Panther system.

1. Para reconstituir o reagente de amplificação, o reagente de enzima e o reagente de sonda, combine os frascos de reagente liofilizado com a solução de reconstituição. Se estiverem refrigeradas, deixe as soluções de reconstituição atingirem a temperatura ambiente antes de utilizá-las.
 - a. Emparelhe cada solução de reconstituição com o respetivo reagente liofilizado. Certifique-se de que a solução de reconstituição e o reagente têm cores de rótulo correspondentes antes de inserir o aro de reconstituição.
 - b. Verifique os números do lote na Ficha de Códigos de Barras do Lote Mestre para garantir que estão emparelhados os reagentes adequados.
 - c. Abra o frasco do reagente liofilizado e insira firmemente a extremidade ranhurada do aro de reconstituição na abertura do frasco (Figura 2, Passo 1).
 - d. Abra o frasco da solução de reconstituição correspondente e coloque a tampa numa superfície de trabalho limpa e coberta.
 - e. Coloque o frasco da solução de reconstituição sobre a bancada e insira com firmeza a outra extremidade do aro de reconstituição na abertura do frasco (Figura 2, Passo 2).
 - f. Inverta lentamente os frascos preparados. Deixe passar a solução do frasco de plástico para o frasco de vidro (Figura 2, Passo 3).
 - g. Agite gentilmente a solução no frasco para misturar. Evite formar espuma ao agitar o frasco (Figura 2, Passo 4).
 - h. Aguarde até que o reagente liofilizado entre na solução e, em seguida, inverta novamente os frascos preparados, inclinando-os num ângulo de 45° para reduzir ao mínimo a formação de espuma (Figura 2, Passo 5). Deixe passar o líquido todo novamente para o frasco de plástico.
 - i. Retire o aro de reconstituição e o frasco de vidro (Figura 2, Passo 6).
 - j. Volte a colocar a tampa do frasco de plástico. Grave as iniciais do operador e a data de reconstituição na etiqueta (Figura 2, Passo 7).
 - k. Descarte o aro de reconstituição e o frasco de vidro (Figura 2, Passo 8).

Opção: É permitida a mistura adicional dos reagentes de amplificação, de enzima e de sonda utilizando um agitador de tubos. Os reagentes podem ser misturados colocando o frasco de plástico tapado num agitador de tubos definido para 20 RPM (ou equivalente) durante um mínimo de 5 minutos.

Atenção: evite formar espuma ao reconstituir os reagentes. A espuma compromete o sensor de nível do Panther system.

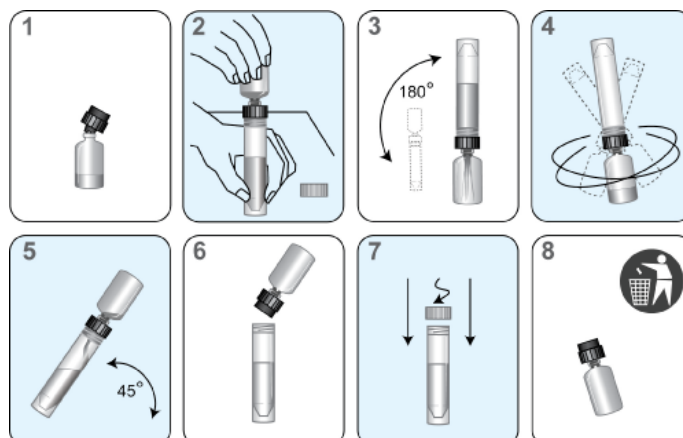


Figura 2. Processo de reconstituição no Tigris DTS System ou no Panther System

2. Prepare o reagente de captura do alvo de trabalho (wTCR)
 - a. Emparelhe os frascos adequados de TCR e TCR-B.
 - b. Verifique os números de lote do reagente na Ficha de Códigos de Barras do Lote Mestre para garantir que emparelhou os reagentes adequados do kit.
 - c. Abra o frasco de TCR e coloque a tampa numa superfície de trabalho limpa e coberta.
 - d. Abra o frasco de TCR-B e deite o conteúdo completo no frasco de TCR. Uma pequena quantidade de líquido poderá permanecer no frasco de TCR-B.
 - e. Feche o frasco de TCR e agite suavemente a solução para misturar o conteúdo. Evite formar espuma durante este passo.
 - f. Registe as iniciais do operador e a data atual na etiqueta.
 - g. Elimine o frasco e a tampa de TCR-B.
3. Prepare o reagente de seleção
 - a. Verifique o número de lote no frasco de reagente para se certificar de que corresponde ao número de lote da Ficha de Códigos de Barras do Lote Mestre.
 - b. Registe as iniciais do operador e a data atual na etiqueta.

Nota: misture bem todos os reagentes, invertendo-os suavemente antes de os colocar no sistema. Evite formar espuma durante a inversão dos reagentes.

- C. Preparação de reagentes para reagentes previamente reconstituídos
 1. Os reagentes de amplificação, de enzima e de sonda previamente reconstituídos devem atingir a temperatura ambiente (15 °C a 30 °C) antes do início do ensaio.
 2. Se o reagente de sonda reconstituído contiver um precipitado que não regresse à solução à temperatura ambiente, aqueça o frasco tapado a uma temperatura não superior a 62 °C durante 1 a 2 minutos. Após este passo de aquecimento, o reagente de sonda pode ser utilizado mesmo que contenha resíduos de precipitado. Misture o reagente de sonda por inversão, tendo o cuidado de não induzir a formação de espuma, antes de o carregar para o sistema.
 3. Misture bem cada reagente, invertendo-os suavemente antes de os colocar no sistema. Evite formar espuma durante a inversão dos reagentes.
 4. Não ateste frascos de reagente. O Panther system reconhece e rejeita os frascos que tenham sido atestados.

D. Manuseamento de espécimes

1. Deixe os controlos e os espécimes alcançarem a temperatura ambiente antes de os processar.
2. **Não coloque os espécimes no vórtex.**
3. Confirme visualmente se cada tubo com espécime cumpre um dos seguintes critérios:
 - a. Presença de uma única zaragatoa de colheita azul Aptima num tubo de transporte de espécimes de esfregaço unissexo.
 - b. Presença de uma única zaragatoa de colheita cor de rosa Aptima num tubo de transporte de espécimes de esfregaço multiteste ou vaginal.
 - c. Um volume final de urina entre as linhas de enchimento pretas dos tubos de transporte de espécimes de urina.
 - d. Ausência de uma zaragatoa no tubo de transporte de espécimes Aptima para espécimes de citologia líquida em solução PreservCyt.
4. Inspeccione os tubos de espécimes antes de os colocar no suporte:
 - a. Se um tubo de espécime tiver bolhas no espaço entre o líquido e a tampa, centrifugue o tubo durante 5 minutos a uma RCF de 420 para eliminar as bolhas.
 - b. Se um tubo de espécime tiver um volume inferior ao normalmente observado quando se seguem as instruções de colheita, centrifugue o tubo durante 5 minutos a uma RCF de 420 para garantir que o líquido não está retido na tampa.
 - c. Se o nível do líquido num tubo de espécime de urina não se situar entre as duas linhas pretas indicadoras no rótulo, o espécime deve ser rejeitado. Não perfure um tubo demasiado cheio.
 - d. Se um tubo de espécime de urina contiver um precipitado, aqueça o espécime a 37 °C durante 5 minutos. Se o precipitado não regressar à solução, certifique-se visualmente de que o precipitado não está a impedir a transferência do espécime.

Nota: o não cumprimento dos passos 4a-c, poderá resultar numa descarga de líquido proveniente da tampa do tubo de espécime.

Nota: é possível testar um máximo de 4 alíquotas distintas de cada tubo de espécime. A tentativa de pipetar mais do que 4 alíquotas do tubo com espécime pode dar origem a erros de processamento.

E. Preparação do sistema

1. Configure o sistema de acordo com as instruções do *Manual de instruções do Panther System* e das *Notas sobre o procedimento*. Certifique-se de que são utilizados suportes de reagente e adaptadores de TCR de dimensão adequada.
2. Carregue as amostras.

Notas sobre o procedimento

A. Controlos

1. Para trabalhar corretamente com o software Panther Aptima assay, é necessário um par de controlos. Os tubos de controlo positivo, CT / controlo negativo, GC e de controlo positivo, GC / controlo negativo, CT podem ser carregados em qualquer posição do suporte ou em qualquer corredor da zona de amostras do Panther system. A pipetagem de espécimes do paciente começa quando se verificar uma das duas condições seguintes:
 - a. Um par de controlos está a ser processado pelo sistema.
 - b. São registados resultados válidos para os controlos no sistema.

2. Depois dos tubos dos controlos serem pipetados e estarem a ser processados para um kit de reagentes específico, os espécimes do paciente podem ser testados com o kit associado até um período máximo de 24 horas **a menos que:**
 - a. Os resultados dos controlos sejam inválidos.
 - b. O respetivo kit de reagente de ensaio seja retirado do sistema.
 - c. O respetivo kit de reagente de ensaio tenha ultrapassado os limites de estabilidade.
3. Cada tubo de controlo Aptima só pode ser testado uma única vez. A tentativa de pipetar mais do que uma vez pode dar origem a erros de processamento.

B. Temperatura

A temperatura ambiente definida situa-se entre 15 °C e 30 °C.

C. Pó das luvas

Como em qualquer sistema de reagentes, o excesso de pó em algumas luvas pode causar a contaminação de tubos abertos. Recomenda-se a utilização de luvas sem pó.

D. Protocolo de monitorização da contaminação do laboratório para o Panther system

Existem vários fatores específicos de cada laboratório que podem contribuir para a contaminação, incluindo o volume de testes, o fluxo de trabalho, a prevalência das doenças e diversas outras atividades laboratoriais. Estes fatores devem ser tidos em conta ao estabelecer a frequência de monitorização da contaminação. Devem estabelecer-se intervalos de monitorização da contaminação com base nas práticas e procedimentos de cada laboratório.

Para monitorizar a contaminação do laboratório, pode realizar-se o procedimento seguinte com o kit unissexo Aptima de colheita de espécimes de esfregaço para espécimes de esfregaço endocervical e da uretra masculina:

1. Rotule os tubos de transporte de zaragatoas com os números correspondentes às áreas a testar.
2. Retire a zaragatoa de colheita do espécime (zaragatoa de haste azul com impressão verde) da embalagem, humedeça-a no meio de transporte de zaragatoas e recolha a amostra na área designada com um movimento circular.
3. Insira imediatamente a zaragatoa no tubo de transporte.
4. De forma cuidadosa, quebre a haste da zaragatoa na linha marcada; seja cuidadoso para evitar salpicar o conteúdo.
5. Coloque a tampa do tubo de transporte de zaragatoas e aperte bem.
6. Repita os passos 2 a 5 nas áreas nas quais deseje recolher amostras.

Se os resultados forem positivos ou equívocos para CT ou GC, consulte a secção *Interpretação dos testes - CQ/Resultados do paciente*. Para obter mais informações de monitorização da contaminação específicas para o Panther system, contacte o suporte técnico da Hologic.

Interpretação dos testes - CQ/Resultados do paciente**A. Interpretação dos testes**

Os resultados de teste do ensaio são interpretados automaticamente pelo software Aptima assay, utilizando o protocolo Aptima Combo 2, e apresentados como resultados de testes individuais para CT e GC. O resultado de um teste pode ser negativo, equívoco, positivo ou inválido, conforme determinado pelo tipo cinético e pela RLU total no passo de detecção (ver abaixo). O resultado de um teste pode ser inválido devido a um parâmetro fora dos intervalos previstos normais. Os resultados de testes equívocos e inválidos iniciais devem ser novamente testados.

Tipo cinético	RLU total (x1000) para obter o resultado de CT		
	Negativo	Equívoco	Positivo
Apenas CT	1 a < 25	25 a < 100	100 a < 4500
CT e GC	1 a < 85	85 a < 250	250 a < 4500
CT indeterminado	1 a < 85	85 a < 4500	N/D

Tipo cinético	RLU total (x1000) para obter o resultado de GC		
	Negativo	Equívoco	Positivo
Apenas GC	1 a < 60	60 a < 150	150 a < 4500
GC e CT	1 a < 85	85 a < 250	250 a < 4500
GC indeterminado	1 a < 85	85 a < 4500	N/D

B. Resultados e aceitabilidade do controlo de qualidade

O controlo positivo, CT / controlo negativo, GC e o controlo positivo, GC / controlo negativo, CT agem como controlos para os passos de captura do alvo, amplificação, e detecção do ensaio. De acordo com as diretrizes ou os requisitos das regulamentações locais, regionais e/ou nacionais ou das organizações de acreditação, é possível incluir controlos adicionais para a lise da célula e a estabilização do RNA. O controlo positivo, CT / controlo negativo, GC serve como controlo negativo para os resultados de teste GC. O controlo positivo, GC / controlo negativo, CT serve como controlo negativo para os resultados de teste CT. Se desejar, poderá adicionar um controlo negativo duplo fornecido pelo utilizador para monitorizar o sinal de fundo do ensaio. A preparação correta dos espécimes é confirmada visualmente pela presença de uma única zaragatoa de colheita Aptima num tubo de transporte de espécimes de esfregaço, por um volume final de urina entre as linhas pretas de enchimento de um tubo de transporte de espécimes de urina ou pela ausência de uma zaragatoa num tubo de transferência de espécimes Aptima, no caso de espécimes de citologia líquida em solução PreservCyt.

Os controlos positivos devem produzir os seguintes resultados de teste:

Controlo	RLU total (x1000)	Resultado de CT	Resultado de GC
Controlo positivo, CT/ Controlo negativo, GC	≥ 100 e < 3000	Positivo	Negativo
Controlo positivo, GC/ Controlo negativo, CT	≥ 150 e < 3000	Negativo	Positivo

1. O software Aptima assay avalia os controlos de acordo com os critérios anteriores e apresenta o estado da execução como PASS (Aprovado) se os critérios do controlo da execução forem cumpridos, e FAIL (Reprovado) se os critérios do controlo da execução não forem cumpridos.
2. Se o estado da execução for FAIL (Reprovado), todos os resultados de testes da mesma execução são inválidos e não devem ser relatados.
3. Cada laboratório deve implementar procedimentos de controlo adequados para satisfazer os requisitos dos regulamentos CLIA (secção 493.1256).
4. Um parâmetro do Tigris DTS system permite que cada local especifique uma frequência de “estabelecimento de conjuntos de controlos”, através da qual é possível colocar conjuntos adicionais de controlos em intervalos definidos dentro da lista de trabalho. Se este parâmetro for especificado, o Tigris DTS system irá solicitar a colocação de um conjunto de controlos após o número definido de espécimes no conjunto de controlo. O Tigris DTS system avalia automaticamente cada controlo na lista de trabalho de acordo com os critérios anteriores e invalida todos os espécimes no(s) conjunto(s) de controlo(s) afetados, caso os critérios dos controlos não sejam cumpridos. Consulte o *Tigris DTS System Operator's Manual* (Manual de instruções do Tigris DTS System) para obter detalhes adicionais.
5. Os controlos negativos podem não ser eficazes na monitorização da contaminação por transferência aleatória. Consulte a secção *Desempenho analítico do Tigris DTS System* para obter os resultados de um estudo analítico de contaminação por transferência de concentração-alvo elevada que se realizou para demonstrar o controlo da contaminação por transferência no Tigris DTS system. Consulte a secção *Desempenho analítico do Panther System* para obter os resultados de um estudo analítico de contaminação por transferência de concentração-alvo elevada que se realizou para demonstrar o controlo da contaminação por transferência no Panther system.

C. Controlo de preparação de espécimes (opcional)

O controlo positivo, CT / controlo negativo, GC e o controlo positivo, GC / controlo negativo, CT incluídos no kit agem como controlos para os passos de captura do alvo, amplificação e deteção do ensaio e devem ser incluídos em cada execução do ensaio. Se desejar, os controlos para a lise celular e a estabilização de RNA em meios de transporte apropriados (Solução PreservCyt, STM) podem ser testados de acordo com os requisitos das organizações de acreditação adequadas ou com os procedimentos de laboratórios individuais. Os espécimes positivos conhecidos podem ser utilizados como controlos, se forem preparados e testados em conjunto com espécimes desconhecidos. Os espécimes usados como controlos de preparação devem ser armazenados, manuseados e testados de acordo com o folheto informativo. Os controlos de preparação de espécimes devem ser interpretados da mesma forma descrita para os espécimes de testes de pacientes. Consulte as secções *Interpretação dos testes - CQ/ Resultados do paciente* e *Resultados de teste do paciente*.

D. Resultados de teste do paciente

1. Se os controlos de uma execução não gerarem os resultados esperados, os resultados de testes a espécimes de pacientes na mesma execução não devem ser reportados.
2. Resultados de espécimes de esfregaço, de citologia líquida em solução PreservCyt e de urina. (Ver as notas abaixo.)

a. Resultados iniciais

CT Pos	Positivo para rRNA de CT.
CT Neg	Presumidamente negativo para rRNA de CT.
CT Equiv	A amostra deve ser novamente testada.
GC Pos	Positivo para rRNA de GC.
GC Neg	Presumidamente negativo para rRNA de GC.
GC Equiv	A amostra deve ser novamente testada.
Inválido	A amostra deve ser novamente testada.

b. Resultados do novo teste

CT Pos	Positivo para rRNA de CT.
CT Neg	Presumidamente negativo para rRNA de CT.
CT Equiv	Indeterminado, é necessário colher um novo espécime.
GC Pos	Positivo para rRNA de GC.
GC Neg	Presumidamente negativo para rRNA de GC.
GC Equiv	Indeterminado, é necessário colher um novo espécime.
Inválido	Indeterminado, é necessário colher um novo espécime.

Notas:

- Recomenda-se que os dados de desempenho sejam cuidadosamente ponderados durante a interpretação dos resultados do Aptima Combo 2 assay em indivíduos assintomáticos ou em quaisquer indivíduos de populações de prevalência baixa.
- O primeiro resultado válido para cada analito é o resultado que deve ser relatado.
- Um resultado negativo não impede a presença de uma infecção por CT ou GC, visto que os resultados dependem da colheita adequada de espécimes, da ausência de inibidores e de rRNA suficiente a detetar. Os resultados do teste podem ser afetados pela colheita inadequada de espécimes, o armazenamento inadequado de espécimes, um erro técnico ou pela mistura de espécimes.
- Tal como sucede com todos os métodos de não cultura, um espécime positivo obtido a partir de um paciente após tratamento terapêutico não pode ser interpretado como indicador da presença de CT ou GC viável.
- Tal como sucede com todos os métodos de teste de urina, um resultado negativo de urina para uma paciente feminina sobre a qual haja suspeitas clínicas de padecer de uma infecção clamidial ou gonocócica, não descarta a presença de CT ou GC no trato urogenital.
- Recomenda-se a colheita de espécimes vaginais de pacientes do sexo feminino sobre as quais haja suspeitas clínicas de padecerem de infecções clamidiais ou gonocócicas (29, 40).
- Se forem colhidos esfregaços citológicos e endocervicais, o espécime de citologia líquida em solução PreservCyt deve ser colhido antes do espécime do esfregaço endocervical.

Limitações

- A. A utilização deste ensaio está limitada a pessoal que tenha recebido formação relativa ao procedimento. O não cumprimento das instruções fornecidas neste folheto informativo pode levar a resultados erróneos.
- B. Os esfregaços foram avaliados com o Aptima Combo 2 assay no DTS system para verificar a eventual interferência de sangue, lubrificantes ginecológicos e espermicidas. Os espécimes de urina foram avaliados para verificar a interferência de sangue, vitaminas consumidas habitualmente, minerais e analgésicos vendidos sem receita médica. A interferência do sangue foi igualmente avaliada no Tigris DTS system e no Panther system. Os esfregaços foram igualmente avaliados no Panther system para verificar a interferência da medicação para aftas, protetores labiais, supressores da tosse, pasta dentífrica, elixires orais, pomadas hemorroidais, laxantes, medicamentos antidiarreicos, antiácidos e fezes. Os dados não indicaram qualquer interferência no ensaio por parte destas substâncias.
- C. Os efeitos da utilização de um tampão, dos banhos de chuveiro e das variáveis de colheita de espécimes não foram avaliados quanto ao seu impacto na deteção de CT ou GC.
- D. A presença de muco nos espécimes endocervicais não interfere na deteção de CT ou de GC por parte do Aptima Combo 2 assay. No entanto, para garantir a colheita de células infetadas com CT, devem obter-se amostras das células epiteliais que revestem o endocérnix. Se o muco excessivo não for removido, a obtenção de amostras destas células não está garantida.

- E. Este ensaio foi testado utilizando apenas os seguintes espécimes:

- Espécimes de esfregaço endocervicais, vaginais, da uretra masculina, faríngeos e retais colhidos pelo médico
- Espécimes de citologia líquida em solução PreservCyt colhidos pelo médico
- Espécimes de esfregaço vaginal, faríngeo e retal colhidos pelo paciente
- Espécimes de urina masculina e feminina colhidos pelo paciente

Não se avaliou o desempenho com outros espécimes além dos colhidos com os kits de colheita de espécimes seguintes:

- Kit unissexo Aptima de colheita de espécimes de esfregaço endocervical e da uretra masculina
- Kit de colheita de urina Aptima para espécimes de urina masculina e feminina
- Kit de colheita de espécimes de esfregaço Aptima Multitest
- Kit de transferência de espécimes Aptima (para utilização com amostras ginecológicas colhidas em solução PreservCyt)

- F. A amostragem de espécimes de urina, esfregaços vaginais e espécimes de citologia líquida em solução PreservCyt não foi concebida para substituir os exames ao colo do útero e a colheita de espécimes endocervicais para o diagnóstico de infeções urogenitais femininas. As pacientes podem ter cervicite, uretrite, infeções do trato urinário ou infeções vaginais devido a outras causas ou a infeções simultâneas com outros agentes.
- G. O Aptima Combo 2 assay não se destina a ser utilizado na avaliação de suspeitas de abuso sexual ou de outras indicações médico-legais. Para os pacientes que possam vir a sofrer um impacto psicossocial adverso por causa de um resultado falso positivo, os CDC recomendam a realização de novos testes (8).

- H. A fiabilidade dos resultados depende da colheita adequada de espécimes. Como o sistema de transporte utilizado para este ensaio não permite a avaliação microscópica de adequação do espécime, a formação dos médicos em técnicas adequadas de colheita de espécimes é necessária. Consulte o folheto informativo do kit de colheita de espécimes Hologic adequado.
- I. O fracasso ou o sucesso terapêutico não podem ser determinados com o Aptima Combo 2 assay pois os ácidos nucleicos podem persistir após uma terapêutica antimicrobiana adequada.
- J. Os resultados do Aptima Combo 2 assay devem ser interpretados em conjunto com outros dados clínicos e laboratoriais de que o médico disponha.
- K. Um resultado negativo não impede uma possível infeção porque os resultados dependem da colheita adequada de espécimes. Os resultados do teste podem ser afetados por uma colheita inadequada de espécimes, um erro técnico, uma mistura de espécimes ou por níveis alvo inferiores ao limite de deteção do ensaio.
- L. O Aptima Combo 2 assay fornece resultados qualitativos. Por isso, não se pode fazer uma correlação entre a magnitude de um sinal positivo de ensaio e a quantidade de organismos num espécime.
- M. No caso de estudos clínicos de espécimes de esfregaços vaginais, esfregaços endocervicais, esfregaços uretrais masculinos e espécimes de urina, o desempenho da deteção de CT e GC deriva de populações de prevalência elevada. Os resultados positivos em populações de baixa prevalência devem ser interpretados com cautela, tendo em consideração que a probabilidade de o positivo ser falso pode ser mais elevada do que a de o positivo ser verdadeiro.
- N. Para os ensaios clínicos de espécimes de citologia líquida em solução PreservCyt, o desempenho do Aptima Combo 2 assay na deteção de CT e GC é obtido sobretudo em populações de baixa prevalência. Não obstante, os resultados positivos em populações de baixa prevalência devem ser interpretados com cautela, tendo em consideração que a probabilidade de o positivo ser falso pode ser mais elevada do que a de o positivo ser verdadeiro.
- O. O desempenho do kit de transferência de espécimes Aptima não foi avaliado quanto à análise do mesmo espécime de citologia líquida em solução PreservCyt antes e após o processamento do Thinprep Pap Test.
- P. Os espécimes de citologia líquida em solução PreservCyt processados com outros instrumentos além dos processadores ThinPrep 2000 ou ThinPrep 5000 não foram avaliados quanto à utilização com ensaios Aptima.
- Q. Os espécimes de esfregaço vaginal colhidos pelas pacientes são uma opção para efetuar um rastreio às mulheres sempre que um exame pélvico não seja indicado.
- R. A aplicação de espécimes de esfregaços vaginais, faríngeos e retais colhidos pelo paciente está limitada a unidades de cuidados de saúde nas quais esteja disponível suporte/aconselhamento para explicar os procedimentos e precauções.
- S. O Aptima Combo 2 assay não foi validado para utilização em esfregaços vaginais colhidos em casa pelas pacientes.

- T. O desempenho do ensaio Aptima Combo 2 não foi avaliado em adolescentes com idade inferior a 14 anos.
- U. O desempenho do Tigris DTS system não foi determinado em altitudes superiores a 2240 m (7355 pés). Em laboratórios situados a mais de 2240 m (7355 pés) de altitude, devem realizar-se verificações volumétricas adicionais e estudos específicos do ensaio antes ou durante o processo de instalação e de aceitação.
- V. O desempenho do Panther system não foi avaliado em altitudes superiores a 2000 m (6561 pés).
- W. Não há evidências de degradação dos ácidos nucleicos na solução PreservCyt. Se um espécime de citologia líquida em solução PreservCyt tiver uma pequena quantidade de material celular de CT e GC, poderá ocorrer uma distribuição desigual deste material celular. Além disso, quando comparado com amostras diretas de Meio de Transporte de Zaragatoas Aptima, o volume adicional de solução PreservCyt resulta numa maior diluição do material da amostra. Estes fatores podem afetar a capacidade de detetar pequenas quantidades de organismos no material colhido. Se os resultados negativos obtidos com um espécime não corresponderem à impressão clínica, pode ser necessário utilizar um novo espécime.
- X. Os clientes devem validar um processo de transferência LIS de forma independente.

Valores esperados no Aptima Combo 2

Nota: Os resultados seguintes foram gerados com a versão original do Aptima Combo 2 Assay utilizando DTS Systems™.

Prevalência

A prevalência das doenças provocadas por CT e/ou GC em populações de pacientes dependem de fatores de risco tais como a idade, o sexo, a presença de sintomas, o tipo de clínica e o método de teste. As Tabelas 1a, 1b e 1c apresentam um resumo da prevalência de três resultados de doenças provocadas por CT e GC, determinada pelo Aptima Combo 2 assay provenientes de três estudos clínicos multicêntricos; os dados são apresentados por centro clínico e no geral.

Prevalência da doença de *C. trachomatis* e/ou *N. gonorrhoeae* de acordo com os resultados do Aptima Combo 2 Assay por centro clínico

Tabela 1a: Espécimes de esfregaços endocervicais, da uretra masculina e de urina

Centro	Esfregaço endocervical e da uretra masculina % Prevalência (n.º positivos/n.º testados)						Urina % Prevalência (n.º positivos/n.º testados)					
	CT+/GC+		CT+/GC-		CT-/GC+		CT+/GC+		CT+/GC-		CT-/GC+	
1	10,0	(39/392)	12,8	(50/392)	14,5	(57/392)	8,4	(33/395)	12,9	(51/395)	13,9	(55/395)
2	7,0	(13/186)	12,9	(24/186)	6,5	(12/186)	5,3	(13/245)	13,9	(34/245)	8,6	(21/245)
3	10,4	(48/462)	22,9	(106/462)	14,3	(66/462)	10,3	(48/465)	20,9	(97/465)	12,7	(59/465)
4	3,3	(9/270)	12,2	(33/270)	7,0	(19/270)	3,3	(9/270)	11,5	(31/270)	6,7	(18/270)
5	1,9	(10/533)	8,4	(45/533)	2,3	(12/533)	2,1	(12/567)	9,4	(53/567)	1,8	(10/567)
6	6,3	(43/678)	12,8	(87/678)	16,2	(110/678)	5,9	(40/681)	10,9	(74/681)	13,5	(92/681)
7	4,4	(11/252)	8,7	(22/252)	21,8	(55/252)	4,1	(12/295)	9,2	(27/295)	18,0	(53/295)
Todos	6,2	(173/2773)	13,2	(367/2773)	11,9	(331/2773)	5,7	(167/2918)	12,6	(367/2918)	10,6	(308/2918)

Tabela 1b: Espécimes de esfregaço vaginal colhidos pelo paciente e de esfregaço vaginal colhidos pelo médico

Centro	Esfregaço vaginal colhido pelo paciente % Prevalência (n.º positivos/n.º testados)						Esfregaço vaginal colhido pelo médico % Prevalência (n.º positivos/n.º testados)					
	CT+/GC+		CT+/GC-		CT-/GC+		CT+/GC+		CT+/GC-		CT-/GC+	
1	1,8	(4/220)	16,4	(36/220)	4,1	(9/220)	3	(7/230)	15,7	(36/230)	3,5	(8/230)
2	9,6	(19/198)	18,7	(37/198)	6,6	(13/198)	9,5	(19/199)	18,1	(36/199)	7	(14/199)
3	0,9	(1/111)	9	(10/111)	2,7	(3/111)	0,9	(1/113)	9,7	(11/113)	1,8	(2/113)
4	0,4	(1/266)	9	(24/266)	1,9	(5/266)	0,4	(1/267)	11,2	(30/267)	2,2	(6/267)
5	0,5	(1/199)	7,5	(15/199)	0,5	(1/199)	0,5	(1/199)	7	(14/199)	0,5	(1/199)
6	2,8	(8/290)	10	(29/290)	5,5	(16/290)	2	(6/296)	12,2	(36/296)	5,4	(16/296)
7	0	(0/102)	11,8	(12/102)	0	(0/102)	0	(0/102)	9,8	(10/102)	0	(0/102)
8	0	(0/48)	8,3	(4/48)	2,1	(1/48)	0	(0/51)	7,8	(4/51)	2	(1/51)
Todos	2,4	(34/1434)	11,6	(167/1434)	3,3	(48/1434)	2,4	(35/1457)	12,1	(177/1457)	3,3	(48/1457)

Tabela 1c: Espécimes de citologia líquida em solução PreservCyt

Centro	Citologia líquida em solução PreservCyt % Prevalência (n.º positivos/n.º testados)		
	CT+/GC+	CT+/GC-	CT-/GC+
1	3,0 (3/100)	13,0 (13/100)	2,0 (2/100)
2	0 (0/124)	3,2 (4/124)	0,8 (1/124)
3	0,4 (2/475)	6,1 (29/475)	0,4 (2/475)
4	0,4 (1/287)	4,2 (12/287)	0 (0/287)
5	0 (0/297)	5,1 (15/297)	1,0 (3/297)
6	0 (0/364)	5,5 (20/364)	0,6 (2/364)
TODOS	0,4 (6/1647)	5,6 (93/1647)	0,6 (10/1647)

A prevalência de CT e de GC foi calculada com os resultados do Aptima Combo 2 assay de espécimes de citologia líquida em solução PreservCyt.

Valores preditivos positivos e negativos para taxas de prevalência hipotéticas na América do Norte

Os valores preditivos positivos e negativos estimados (VPP e VPN) para diferentes taxas de prevalência com a utilização do Aptima Combo 2 assay são mostrados nas Tabelas 2 e 3 para CT e GC, respetivamente. Estes cálculos baseiam-se numa prevalência hipotética e na sensibilidade e especificidade gerais calculadas a partir do estado de infeção do paciente em dois estudos clínicos multicêntricos. A sensibilidade e a especificidade globais para CT foram de 96,1% e 98,0%, respetivamente (Tabela 2). A sensibilidade e a especificidade globais para GC foram de 97,8% e 99,2%, respetivamente (Tabela 3). Os valores reais de VPP e VPN, calculados com os dados dos ensaios clínicos, são apresentados nas Tabelas 6a e 10a (esfregaços e espécimes de urina), nas Tabelas 6b e 10b (espécimes de esfregaço vaginal) e nas Tabelas 6c e 10c (espécimes de citologia líquida em solução PreservCyt).

Tabela 2: VPP e VPN hipotéticos para CT

Taxa de prevalência (%)	Sensibilidade (%)	Especificidade (%)	Valor preditivo positivo (%)	Valor preditivo negativo (%)
1	96,1	98,0	33,1	100,0
2	96,1	98,0	50,0	99,9
5	96,1	98,0	72,0	99,8
10	96,1	98,0	84,5	99,6
15	96,1	98,0	89,6	99,3
20	96,1	98,0	92,4	99,0
25	96,1	98,0	94,2	98,7
30	96,1	98,0	95,4	98,3

Tabela 3: VPP e VPN hipotéticos para GC

Taxa de prevalência (%)	Sensibilidade (%)	Especificidade (%)	Valor preditivo positivo (%)	Valor preditivo negativo (%)
1	97,8	99,2	55,3	100,0
2	97,8	99,2	71,4	100,0
5	97,8	99,2	86,6	99,9
10	97,8	99,2	93,2	99,7
15	97,8	99,2	95,6	99,6
20	97,8	99,2	96,8	99,4
25	97,8	99,2	97,6	99,2
30	97,8	99,2	98,1	99,0

Desempenho clínico do Aptima Combo 2

Nota: Os resultados seguintes foram gerados com a versão original do Aptima Combo 2 Assay utilizando DTS Systems™.

Consulte a *Concordância dos espécimes clínicos no Tigris DTS System* após a secção *Desempenho analítico do Aptima Combo 2* para obter o desempenho clínico específico do Tigris DTS System.

Resultados do estudo clínico

O desempenho do Aptima Combo 2 assay nos DTS systems foi estabelecido em três estudos clínicos multicêntricos realizados na América do Norte. O primeiro estudo clínico multicêntrico avaliou esfregaços endocervicais e da uretra masculina colhidos pelo médico e espécimes de urina masculina e feminina de 1363 pacientes masculinos e 1569 pacientes femininos registados em sete centros clínicos geograficamente diversos. O segundo estudo clínico multicêntrico avaliou espécimes de esfregaço vaginal colhidos pelo médico e colhidos pelo paciente em 1464 pacientes femininas registadas em oito centros clínicos geograficamente diversos. O terceiro estudo clínico multicêntrico avaliou espécimes de citologia líquida em solução PreservCyt de 1647 indivíduos registados em seis centros clínicos. Nos cálculos de desempenho baseados no estado dos sintomas, os pacientes foram classificados como sintomáticos caso tenham relatado a presença de sintomas tais como secreções, disúria e dor pélvica. Os sujeitos foram classificados como assintomáticos caso não tenham relatado quaisquer sintomas.

Estudo clínico de espécimes de esfregaço endocervical, esfregaço da uretra masculina e espécimes de urina

Nos estudos clínicos multicêntricos de esfregaço endocervical, esfregaço da uretra e de espécimes de urina, registaram-se no estudo 2932 pacientes masculinos e femininos sintomáticos e assintomáticos que frequentavam consultas de DST, obstetrícia/ginecologia e de planeamento familiar. Colheram-se um máximo de três esfregaços da uretra e um espécime de urina de pacientes do sexo masculino e quatro esfregaços endocervicais e um espécime de urina de pacientes do sexo feminino. No caso dos pacientes do sexo masculino que forneceram um esfregaço da uretra, o teste incluiu apenas a cultura de GC. No caso dos pacientes do sexo masculino que forneceram três esfregaços, o teste incluiu a cultura de GC, o Aptima Combo 2 assay e um NAAT disponível comercialmente para CT e GC. Os testes aos esfregaços endocervicais incluíram o Aptima Combo 2 assay, dois NAATs disponíveis comercialmente para CT, um NAAT disponível comercialmente para GC e uma cultura de GC. O esfregaço da cultura de GC foi colhido primeiro e a ordem de colheita dos esfregaços restantes foi alternada de modo a minimizar a influência da colheita. A urina foi testada com o Aptima Combo 2 assay, dois NAATs disponíveis comercialmente para CT e um ensaio amplificado disponível comercialmente para GC. Utilizaram-se ensaios de amplificação disponíveis comercialmente como ensaios de referência neste estudo clínico do Aptima Combo 2 assay.

Todos os cálculos de desempenho se basearam no número total de espécimes de esfregaço endocervical e de uretra masculina e espécimes de urina masculina e feminina do Aptima Combo 2 assay comparados com o algoritmo do estado de infeção do paciente para cada sexo. No algoritmo específico de cada sexo, a designação de um paciente como tendo sido infetado, não infetado ou inconclusivo baseou-se nos resultados combinados da NAAT de referência e dos testes endocervicais, da uretra masculina e de urina. No estado de infeção por CT, quaisquer dois resultados positivos no NAAT de referência com qualquer

combinação de esfregaço e urina designaram o paciente como infetado. Se os resultados de todos os ensaios de referência foram negativos, o paciente foi designado como não infetado. Caso tenha ocorrido apenas um resultado positivo, o paciente foi designado como inconclusivo. No estado de infecção por GC, uma cultura positiva ou resultados positivos de esfregaço e de urina pelo ensaio amplificado de referência, designaram o paciente como infetado. Uma cultura negativa e um único resultado positivo pelo ensaio amplificado de referência resultaram num estado inconclusivo. Se os resultados de todos os ensaios de referência foram negativos, o paciente foi designado como não infetado. As Tabelas 7a, 7b, 7c, 8, 11a, 11b, 11c, e 12 resumem a frequência de resultados dos testes para dois NAAT de referência e para o Aptima Combo 2 assay em participantes nos estudos clínicos.

Os resultados do Aptima Combo 2 assay, provenientes dos esfregaços endocervicais e da uretra masculina colhidos pelo médico e dos espécimes de urina masculina e feminina, foram comparados com o algoritmo do estado de infecção do paciente para determinar a sensibilidade, a especificidade e os valores preditivos. Para analisar os dados, utilizou-se um total de 15.661 resultados de testes de CT e 14.144 resultados de testes de GC.

A Tabela 5a apresenta a sensibilidade e a especificidade para CT por sexo, tipo de espécime e estado sintomático. A Tabela 6a mostra os valores da sensibilidade, da especificidade e preditivos do Aptima Combo 2 assay para CT, em comparação com o estado de infecção do paciente para cada centro clínico e no geral. A Tabela 9a apresenta a sensibilidade e a especificidade para a detecção de GC por sexo, tipo de espécime e estado sintomático. A Tabela 10a mostra os valores da sensibilidade, da especificidade e preditivos do Aptima Combo 2 assay para GC, em comparação com o estado de infecção do paciente para cada centro clínico e no geral. As amostras positivas para o Aptima Combo 2 assay e que apresentaram um estado de paciente infetado negativo (ou seja, aparentes falsos positivos) foram testadas em ensaios de amplificação alternativos da Hologic para CT e GC. Esses ensaios amplificam as sequências CT e GC diferentes das amplificadas pelo Aptima Combo 2 assay. Os testes foram realizados espécime a espécime (ou seja, não necessariamente em pares de esfregaços e espécimes de urina) e os resultados dos ensaios de amplificação alternativos não foram utilizados para alterar as categorizações originais do paciente (Tabelas 5a e 9a).

Os espécimes de esfregaço endocervical foram avaliados relativamente ao impacto do sangue no desempenho do ensaio CT e GC. Dos 2454 espécimes avaliados relativamente ao desempenho de CT, 234 (9,5%) apresentavam sangue. Dos 2829 espécimes avaliados relativamente ao desempenho de GC, 247 (8,7%) apresentavam sangue. Os desempenhos do ensaio de CT e GC não foram estatisticamente diferentes para os espécimes com sangue por comparação com os espécimes sem sangue. Poderá encontrar dados adicionais sobre os testes com sangue na secção *Substâncias Interferentes*.

No estudo clínico avaliou-se o desempenho do ensaio com espécimes de esfregaço endocervical e espécimes de urina de mulheres grávidas. Para CT, a sensibilidade no esfregaço endocervical e nos espécimes de urina foi de 100% (8/8) e 100% (8/8) respetivamente. A especificidade no esfregaço endocervical e nos espécimes de urina foi de 95,8% (23/24) e 100% (24/24) respetivamente. Para GC, a sensibilidade no esfregaço endocervical e nos espécimes de urina foi de 100% (8/8) e 100% (8/8) respetivamente. A especificidade no esfregaço endocervical e nos espécimes de urina foi de 100% (26/26) e 100% (26/26) respetivamente.

Dos 11.406 resultados do teste efetuado com o Aptima Combo 2 assay neste estudo clínico multicêntrico, três resultados de CT e nove resultados de GC foram equívocos nos testes de repetição e foram excluídos da análise. Um espécime foi inválido tanto nos resultados de CT como de GC e foi excluído do estudo.

Estudo clínico de espécimes de esfregaço vaginal

No estudo clínico multicêntrico do esfregaço vaginal, registaram-se 1464 pacientes do sexo feminino sintomáticos e assintomáticos que frequentavam consultas de DST, obstetrícia/ginecologia, de adolescentes e de planejamento familiar. Das 646 pacientes assintomáticas registradas no estudo, duas tinham menos de 16 anos de idade, 158 tinham entre 16 e 20 anos, 231 tinham entre 21 e 25 anos, e 255 tinham mais de 25 anos de idade. Das 818 pacientes sintomáticas registradas no estudo, 160 tinham entre 16 e 20 anos, 324 tinham entre 21 e 25 anos, e 334 tinham mais de 25 anos de idade. Foram colhidos cinco espécimes de cada indivíduo elegível; um espécime de urina, um esfregaço vaginal colhido pelo paciente, um esfregaço vaginal colhido pelo médico e dois esfregaços endocervicais aleatórios. Os resultados do Aptima Combo 2 assay foram gerados a partir de dois esfregaços vaginais, um dos esfregaços endocervicais e uma alíquota do espécime de urina. O segundo esfregaço endocervical e uma segunda alíquota do espécime de urina foram testados com outro NAAT disponível comercialmente para CT e outro NAAT disponível comercialmente para GC. Utilizaram-se um esfregaço endocervical e espécimes de urina testados no Aptima Combo 2 assay e com outros NAATs disponíveis comercialmente como NAATs de referência para determinar o estado de infecção de cada sujeito participante no estudo clínico do espécime de esfregaço vaginal. Os testes aos espécimes foram realizados no local de registo dos participantes ou num centro de testes externo.

Todos os cálculos de desempenho se basearam no número total de resultados de espécimes de esfregaço vaginal colhidos pelo paciente e colhidos pelo médico do Aptima Combo 2 assay comparados com um algoritmo de estado de infecção da paciente. Para analisar os dados, utilizou-se um total de 2073 resultados do teste de esfregaço vaginal de CT e 2073 resultados do teste de esfregaço vaginal de GC. No algoritmo, a designação de um paciente como infetado ou não infetado com CT ou GC baseou-se em resultados de esfregaço endocervical e do espécime de urina do Aptima Combo 2 assay disponível comercialmente e de outro NAAT disponível comercialmente. Os pacientes foram considerados infetados com CT ou GC se dois dos quatro esfregaços endocervicais e espécimes de urina apresentaram resultado positivo no Aptima Combo 2 assay e no outro NAAT de referência (um espécime positivo em cada NAAT). Os pacientes foram considerados não infetados se menos de dois resultados do NAAT de referência foram positivos. As Tabelas 7b e 11b resumem o número de resultados de indivíduos sintomáticos e assintomáticos designados como infetados ou não infetados por CT ou GC, respetivamente, de acordo com o algoritmo do estado de infecção do paciente. Para este estudo clínico, utilizaram-se dois NAATs disponíveis no mercado para determinar o estado de infecção por GC. A cultura não foi utilizada como teste de referência, pois o Aptima Combo 2 assay já tinha sido avaliado em relação a culturas de outros tipos de espécimes (consulte a secção *Estudo clínico de espécimes de esfregaço endocervical, esfregaço da uretra masculina e espécimes de urina* para obter mais detalhes).

A Tabela 5b apresenta a sensibilidade e a especificidade para CT por sexo, tipo de espécime e estado sintomático. A Tabela 6b mostra os valores da sensibilidade, da especificidade e preditivos do Aptima Combo 2 assay para CT, em comparação com o estado de infecção do paciente para cada centro clínico e no geral. A Tabela 9b apresenta a sensibilidade e a especificidade para a deteção de GC por sexo, tipo de espécime e estado sintomático. A Tabela 9b mostra os valores da sensibilidade, da especificidade e preditivos do Aptima Combo 2 assay para GC, em comparação com o estado de infecção do paciente para cada centro clínico e no geral. As amostras positivas para o Aptima Combo 2 assay e que apresentaram um estado de paciente infetado negativo (ou seja, aparentes falsos positivos) foram testadas em ensaios TMA alternativos para CT e GC; estes ensaios TMA alternativos têm como alvo sequências diferentes das visadas pelo Aptima Combo 2 assay.

Os resultados dos ensaios TMA alternativos não foram utilizados para alterar as categorizações originais dos pacientes (Tabelas 5b e 9b).

Dos 1464 pacientes registados, havia 13 com estado de infecção do paciente por CT desconhecido e 14 pacientes com estado de infecção do paciente por GC desconhecido. Os pacientes foram designados com um estado de infecção do paciente desconhecido por haver falta de resultados que permitissem determinar o estado da infecção de forma conclusiva. Os resultados desses pacientes não foram incluídos em qualquer cálculo de desempenho. Dos 5782 resultados de esfregaço vaginal do Aptima Combo 2 assay do estudo clínico multicêntrico, uma pequena percentagem (28, 0,5%) de espécimes de esfregaço vaginal começou por apresentar um resultado inválido ou equívoco para CT ou GC. Após a repetição do teste, apenas três resultados de CT e dois resultados de GC foram equívocos e, por isso, excluídos da análise. Nenhum espécime apresentou um resultado inválido após a repetição do teste.

Estudo clínico de espécimes de Citologia líquida em solução PreservCyt

Realizou-se um estudo clínico multicêntrico prospetivo para avaliar a utilização da solução PreservCyt (um componente do ThinPrep 2000 System) como meio alternativo para a deteção de CT e GC em espécimes ginecológicos. No estudo clínico foram avaliadas mil seiscentos e quarenta e sete (1647) pacientes sintomáticas e assintomáticas do sexo feminino que frequentam consultas de obstetria/ginecologia, planeamento familiar, saúde pública, da mulher e de DST. Das 1647 pacientes disponíveis, 1288 eram pacientes assintomáticas e 359 eram pacientes sintomáticas. As pacientes foram registadas através de centros com prevalência de CT num intervalo de 3,2% a 14,0% e prevalência de GC num intervalo de 0% a 5,0%. Foram colhidos dois espécimes por cada indivíduo elegível: um espécime de citologia líquida em solução PreservCyt e um esfregaço endocervical. Os espécimes de citologia líquida em solução PreservCyt foram processados de acordo com o ThinPrep 2000 Processor Operator's Manual (Manual de instruções do ThinPrep 2000 Processor) e com o folheto informativo do kit de transferência de espécimes Aptima. Depois de processar o espécime de citologia líquida em solução PreservCyt com o processador ThinPrep 2000, o espécime foi transferido para o kit Aptima de transferência de espécimes para ser testado com o Aptima Combo 2 assay. O espécime de citologia líquida em solução PreservCyt e o esfregaço endocervical foram testados com o Aptima Combo 2 assay.

A sensibilidade e a especificidade dos espécimes de citologia líquida em solução PreservCyt foram calculadas através da comparação dos resultados com um algoritmo do estado de infecção do paciente. No algoritmo, a designação de um paciente como infetado ou não infetado com CT ou GC baseou-se em resultados de espécimes de esfregaço endocervical de dois NAATs disponíveis comercialmente (Tabelas 7c e 11c). Para CT, os NAATs de referência incluíram o Aptima Combo 2 assay e o Aptima CT assay. Para GC, os NAATs de referência incluíram o Aptima Combo 2 assay e o Aptima GC assay. Eram necessários resultados positivos dos dois NAATs de referência para determinar um paciente como *infetado*. Um paciente era determinado como *não infetado* se os resultados dos dois NAAT de referência divergissem ou fossem negativos.

A Tabela 5c apresenta a sensibilidade e a especificidade relativas a CT em espécimes de citologia líquida em solução PreservCyt testados com o Aptima Combo 2 assay, por estado sintomático e a nível geral. Para CT, a sensibilidade geral foi de 96,7% (87/90). Nos pacientes sintomáticos e assintomáticos, a sensibilidade foi de 96,7% (29/30) e 96,7% (58/60), respetivamente. A especificidade geral dos espécimes de Pap líquido em solução PreservCyt para CT foi de 99,2% (1545/1557). Nos pacientes sintomáticos e assintomáticos, a especificidade foi de 98,5% (324/329) e 99,4% (1221/1228), respetivamente. A Tabela 6c mostra os valores da sensibilidade e da especificidade do Aptima Combo 2 assay para CT

em espécimes de citologia líquida em solução PreservCyt por centro clínico e no geral. Para CT, a sensibilidade variou entre 92,9% e 100%. A especificidade variou entre 97,7% e 100%.

A Tabela 9c apresenta a sensibilidade e a especificidade relativas a GC em espécimes de citologia líquida em solução PreservCyt testados com o Aptima Combo 2 assay, por estado sintomático e a nível geral. Para GC, a sensibilidade geral foi de 92,3% (12/13). Nos pacientes sintomáticos e assintomáticos, a sensibilidade foi de 100% (7/7) e 83,3% (5/6), respetivamente. A especificidade geral dos espécimes de citologia líquida em solução PreservCyt para GC foi de 99,8% (1630/1634). Nos pacientes sintomáticos e assintomáticos, a especificidade foi de 100% (352/352) e 99,7% (1278/1282), respetivamente. A Tabela 10c mostra os valores da sensibilidade e da especificidade do Aptima Combo 2 assay para GC em espécimes de citologia líquida em solução PreservCyt por centro clínico e no geral. Para GC, a sensibilidade variou entre 80,0% e 100%. A especificidade variou entre 99,0% e 100%.

A Tabela 4 resume a distribuição dos dispositivos de obtenção de amostras cervicais utilizados neste estudo clínico, de acordo com o centro clínico.

Tabela 4: Resumo dos dispositivos de obtenção de amostras cervicais utilizados no estudo de espécimes de citologia líquida em solução PreservCyt

Dispositivo de obtenção de amostras cervicais	Local da colheita clínica						Total
	1	2	3	4	5	6	
Espátula/Escova citológica	0	124	475	287	57	364	1307
Dispositivo de colheita tipo vassoura	100	0	0	0	240	0	340

Tabelas de desempenho de *Chlamydia trachomatis*Sensibilidade e especificidade de *C. trachomatis*

Tabela 5a: Espécimes do Aptima Combo 2 Assay vs. Estado de infecção do paciente

Espécime	Estado dos sintomas	N	TP	FP ^a	TN	FN	Sensibilidade (IC de 95%)	Especificidade (IC de 95%)	
Masculino	Zaragatoa	Sint.	676	190	15 ^a	464	7	96,4% (92,8-98,6)	96,9% (94,9-98,2)
		Assint.	388	70	5 ^b	309	4	94,6% (86,7-98,5)	98,4% (96,3-99,5)
		Todos ¹	1065	260	20 ^c	774	11	95,9% (92,9-98,0)	97,5% (96,1-98,5)
	Urina	Sint.	694	199	8 ^d	484	3	98,5% (95,7-99,7)	98,4% (96,8-99,3)
		Assint.	400	77	4 ^e	316	3	96,3% (89,4-99,2)	98,8% (96,8-99,7)
		Todos ¹	1095	276	12 ^f	801	6	97,9% (95,4-99,2)	98,5% (97,4-99,2)
Feminino	Zaragatoa	Sint.	819	133	22 ^g	653	11	92,4% (86,7-96,1)	96,7% (95,1-97,9)
		Assint.	569	61	6 ^h	501	1	98,4% (91,3-100)	98,8% (97,4-99,6)
		Todos ²	1389	195	28 ⁱ	1154	12	94,2% (90,1-97,0)	97,6% (96,6-98,4)
	Urina	Sint.	821	136	8 ^j	668	9	93,8% (88,5-97,1)	98,8% (97,7-99,5)
		Assint.	569	60	5 ^k	502	2	96,8% (88,8-99,6)	99,0% (97,7-99,7)
		Todos ²	1391	197	13 ^l	1170	11	94,7% (90,7-97,3)	98,9% (98,1-99,4)
Total	Zaragatoa	Sint.	1495	323	37 ^m	1117	18	94,7% (91,8-96,8)	96,8% (95,6-97,7)
		Assint.	957	131	11 ⁿ	810	5	96,3% (91,6-98,8)	98,7% (97,6-99,3)
		Todos ³	2454	455	48 ^o	1928	23	95,2% (92,9-96,9)	97,6% (96,8-98,2)
	Urina	Sint.	1515	335	16 ^p	1152	12	96,5% (94,0-98,2)	98,6% (97,8-99,2)
		Assint.	969	137	9 ^q	818	5	96,5% (92,0-98,8)	98,9% (97,9-99,5)
		Todos ³	2486	473	25 ^r	1971	17	96,5% (94,5-98,0)	98,7% (98,2-99,2)

TP = Verdadeiro positivo; FP = Falso positivo; TN = Verdadeiro negativo; FN = Falso negativo.

¹ Inclui 1 indivíduo do sexo masculino cujos sintomas não foram relatados.

² Inclui 1 indivíduo do sexo feminino cujos sintomas não foram relatados.

³ Inclui 1 indivíduo do sexo masculino e 1 do sexo feminino cujos sintomas não foram relatados.

⁴ Os resultados da TMA alternativa para CT representam o n.º de resultados positivos/n.º de espécimes testados:

a: 11/14; b: 3/5; c: 14/19; d: 4/8; e: 0/4; f: 4/12; g: 18/22; h: 4/6; i: 22/28; j: 2/8; k: 1/5; l: 3/13; m: 29/36; n: 7/11, o: 36/47, p: 6/16, q: 1/9 e r: 7/25.

Tabela 5b: Espécimes de esfregaço vaginal do Aptima Combo 2 Assay vs. Estado de infecção do paciente

Espécime		Estado sintomático	N	TP	FP ¹	TN	FN	Sensibilidade (IC de 95%)	Especificidade (IC de 95%)
Colhido pelo paciente	Esfregaço vaginal	Assint.	628	60	18 ^a	549	1	98,4% (91,2-100)	96,8% (95,0-98,1)
Colhido pelo médico	Esfregaço vaginal	Sint.	809	111	25 ^b	669	4	96,5% (91,3-99,0)	96,4% (94,7-97,7)
		Assint.	636	59	16 ^c	559	2	96,7% (88,7-99,6)	97,2% (95,5-98,4)
		Todos	1445	170	41 ^d	1228	6	96,6% (92,7-98,7)	96,8% (95,6-97,7)

TP = Verdadeiro positivo; FP = Falso positivo; TN = Verdadeiro negativo; FN = Falso negativo.

¹ Os resultados da amplificação TMA alternativa para CT representam o n.º de resultados positivos/n.º de espécimes testados: a: 15/18, b: 17/25, c: 15/16 e d: 32/41.

Tabela 5c: Espécimes PreservCyt do Aptima Combo 2 Assay vs. Estado de infecção do paciente

Estado sintomático	Resultado AC2/CT PreservCyt	+/+	+/-	-/+	-/-	Sensibilidade (IC de 95%)	Especificidade (IC de 95%)
Assint.	Positivo	58	1	0	6	96,7% (88,5 - 99,6)	99,4% (98,8 - 99,8)
	Negativo	2	1	12	1208		
	Total	60	2	12	1214		
Sint.	Positivo	29	0	0	5	96,7% (82,8 - 99,9)	98,5% (96,5 - 99,5)
	Negativo	1	3	4	317		
	Total	30	3	4	322		
Todos	Positivo	87	1	0	11	96,7% (90,6 - 99,3)	99,2% (98,7 - 99,6)
	Negativo	3	4	16	1525		
	Total	90	5	16	1536		

+/+ = Resultado positivo do espécime de esfregaço endocervical no AC2 assay / Resultado positivo do espécime de esfregaço endocervical no ACT assay.

+/- = Resultado positivo do espécime de esfregaço endocervical no AC2 assay / Resultado negativo do espécime de esfregaço endocervical no ACT assay.

-/+ = Resultado negativo do espécime de esfregaço endocervical no AC2 assay / Resultado positivo do espécime de esfregaço endocervical no ACT assay.

-/- = Resultado negativo do espécime de esfregaço endocervical no AC2 assay / Resultado negativo do espécime de esfregaço endocervical no ACT assay.

Desempenho de *C. trachomatis* por centro clínico

Tabela 6a: Espécime do Aptima Combo 2 Assay vs. Estado de infecção do paciente

Espécime	Centro	N	TP	FP	TN	FN	Prev (%)	Sensibilidade (IC de 95%)	Especificidade (IC de 95%)	VPP (%)	VPN (%)	
Masculino	Zaragatoa	1	157	35	6	115	1	22,9	97,2% (85,5-99,9)	95,0% (89,5-98,2)	85,4	99,1
		2	93	19	2	72	0	20,4	100% (82,4-100)	97,3% (90,6-99,7)	90,5	100
		3	248	76	5	165	2	31,5	97,4% (91,0-99,7)	97,1% (93,3-99,0)	93,8	98,8
		4	51	12	1	38	0	23,5	100% (73,5-100)	97,4% (86,5-99,9)	92,3	100
		5	138	24	0	113	1	18,1	96,0% (79,6-99,9)	100% (96,8-100)	100	99,1
		6	353	74	6	268	5	22,4	93,7% (85,8-97,9)	97,8% (95,3-99,2)	92,5	98,2
		7	25	20	0	3	2	88,0*	90,9% (70,8-98,9)	100% (29,2-100)	100	60,0
		TODOS	1065	260	20	774	11	25,4	95,9% (92,9-98,0)	97,5% (96,1-98,5)	92,9	98,6
	Urina	1	157	35	6	115	1	22,9	97,2% (85,5-99,9)	95,0% (89,5-98,2)	85,4	99,1
		2	96	22	1	73	0	22,9	100% (84,6-100)	98,6% (92,7-100)	95,7	100
		3	249	78	2	169	0	31,3	100% (95,4-100)	100% (95,8-99,9)	97,5	100
		4	51	12	0	39	0	23,5	100% (73,5-100)	98,8% (91,0-100)	100	100
		5	162	31	2	129	0	19,1	100% (88,8-100)	98,5% (94,6-99,8)	93,9	100
		6	353	74	1	273	5	22,4	93,7% (85,8-97,9)	99,6% (98,0-100)	98,7	98,2
		7	27	24	0	3	0	88,9*	100% (85,8-100)	100% (29,2-100)	100	100
		TODOS	1095	276	12	801	6	25,8	97,9% (95,4-99,2)	98,5% (97,4-99,2)	95,8	99,3
Feminino	Zaragatoa	1	150	34	4	110	2	24,0	94,4% (81,3-99,3)	96,5% (91,3-99,0)	89,5	98,2
		2	81	11	1	68	1	14,8	91,7% (61,5-99,8)	98,6% (92,2-100)	91,7	98,6
		3	184	51	13	114	6	31,0	89,5% (78,5-96,0)	89,8% (83,1-94,4)	79,7	95,0
		4	196	27	2	167	0	13,8	100% (87,2-100)	98,8% (95,8-99,9)	93,1	100
		5	370	27	1	341	1	7,6	96,4% (81,7-99,9)	99,7% (98,4-100)	96,4	99,7
		6	274	35	7	230	2	13,5	94,6% (81,8-99,3)	97,0% (94,0-98,8)	83,3	99,1
		7	134	10	0	124	0	7,5	100% (69,2-100)	100% (97,1-100)	100	100
		TODOS	1389	195	28	1154	12	14,9	94,2% (90,1-97,0)	97,6% (96,6-98,4)	87,4	99,0
	Urina	1	150	34	4	110	2	24,0	94,4% (81,3-99,3)	96,5% (91,3-99,0)	89,5	98,2
		2	81	12	1	68	0	14,8	100% (73,5-100)	98,6% (92,2-100)	92,3	100
		3	185	54	3	125	3	30,8	94,7% (85,4-98,9)	97,7% (93,3-99,5)	94,7	97,7
		4	196	24	2	167	3	13,8	88,9% (70,8-97,6)	98,8% (95,8-99,9)	92,3	98,2
		5	369	28	2	338	1	7,9	96,6% (82,2-99,9)	99,4% (97,9-99,9)	93,3	99,7
		6	276	35	1	238	2	13,4	94,6% (81,8-99,3)	99,6% (97,7-100)	97,2	99,2
		7	134	10	0	124	0	7,5	100% (69,2-100)	100% (97,1-100)	100	100
		TODOS	1391	197	13	1170	11	15,0	94,7% (90,7-97,3)	98,9% (98,1-99,4)	93,8	99,1

TP = Verdadeiro positivo; FP = Falso positivo; TN = Verdadeiro negativo; FN = Falso negativo.

* Prevalência sobrestimada devido a uma colheita inicial limitada ao rastreio de pacientes sintomáticos.

Tabela 6b: Espécimes de esfregaço vaginal do Aptima Combo 2 Assay vs. Estado de infecção do paciente

Espécime		Centro	N	TP	FP	TN	FN	Prev (%)	Sensibilidade (IC de 95%)	Especificidade (IC de 95%)	VPP (%)	VPN (%)
Colhido pelo paciente	Esfregaço vaginal	1	70	14	3	53	0	20,0	100% (76,8-100)	94,6% (85,1-98,9)	82,4	100
		2	45	13	3	29	0	28,9	100% (75,3-100)	90,6% (75,0-98,0)	81,3	100
		3	45	4	2	39	0	8,9	100% (39,8-100)	95,1% (83,5-99,4)	66,7	100
		4	152	6	3	142	1	4,6	85,7% (42,1-99,6)	99,7% (94,1-99,6)	66,7	99,3
		5	130	7	3	120	0	5,4	100% (59,0-100)	97,6% (93,0-99,5)	70,0	100
		6	75	8	2	65	0	10,7	100% (63,1-100)	97,0% (89,6-99,6)	80,0	100
		7	68	5	1	62	0	7,4	100% (47,8-100)	98,4% (91,5-100)	83,3	100
		8	43	3	1	39	0	7,0	100% (29,2-100)	97,5% (86,8-99,9)	75,0	100
		TODOS	628	60	18	549	1	9,7	98,4% (91,2-100)	96,8% (95,0-98,1)	76,9	99,8
Colhido pelo médico	Esfregaço vaginal	1	227	34	9	182	2	15,9	94,4% (81,3-99,3)	95,3% (91,2-97,8)	79,1	98,9
		2	196	50	5	139	2	26,5	96,2% (86,8-99,5)	96,5% (92,1-98,9)	90,9	98,6
		3	113	9	3	101	0	8,0	100% (66,4-100)	97,1% (91,8-99,4)	75,0	100
		4	262	19	11	231	1	7,6	95,0% (75,1-99,9)	95,5% (92,0-97,7)	63,3	99,6
		5	199	13	2	184	0	6,5	100% (75,3-100)	98,9% (96,2-99,9)	86,7	100
		6	296	33	9	254	0	11,1	100% (89,4-100)	96,6% (93,6-98,4)	78,6	100
		7	102	9	1	91	1	9,8	90,0% (55,5-99,7)	98,9% (94,1-100)	90,0	98,9
		8	50	3	1	46	0	6,0	100% (29,2-100)	97,9% (88,7-99,9)	75,0	100
		TODOS	1445	170	41	1228	6	12,2	96,6% (92,7-98,7)	96,8% (95,6-97,7)	80,6	99,5

TP = Verdadeiro positivo; FP = Falso positivo; TN = Verdadeiro negativo; FN = Falso negativo.

Tabela 6c: Espécimes PreservCyt do Aptima Combo 2 Assay vs. Estado de infecção do paciente

Centro	Resultado AC2/CT PreservCyt	+/+	+/-	-/+	-/-	Prev (%)	Sensibilidade (IC de 95%)	Especificidade (IC de 95%)	VPP (%)	VPN (%)
1	Positivo	14	0	0	2	14,0	100% (76,8 - 100)	97,7% (91,9 - 99,7)	87,5	100
	Negativo	0	0	1	83					
	Total	14	0	1	85					
2	Positivo	4	0	0	0	3,2	100% (39,8 - 100)	100% (97,0 - 100)	100	100
	Negativo	0	0	2	118					
	Total	4	0	2	118					
3	Positivo	29	0	0	2	6,5	93,5% (78,6 - 99,2)	99,5% (98,4 - 99,9)	93,5	99,5
	Negativo	2	0	2	440					
	Total	31	0	2	442					
4	Positivo	8	1	0	4	2,8	100% (63,1 - 100)	98,2% (95,9 - 99,4)	61,5	100
	Negativo	0	2	1	271					
	Total	8	3	1	275					
5	Positivo	13	0	0	2	4,7	92,9% (66,1 - 99,8)	99,3% (97,5 - 99,9)	86,7	99,6
	Negativo	1	1	4	276					
	Total	14	1	4	278					
6	Positivo	19	0	0	1	5,2	100% (82,4 - 100)	99,7% (98,4 - 100)	95,0	100
	Negativo	0	1	6	337					
	Total	19	1	6	338					
Todos	Positivo	87	1	0	11	5,5	96,7% (90,6 - 99,3)	99,2% (98,7 - 99,6)	87,9	99,8
	Negativo	3	4	16	1525					
	Total	90	5	16	1536					

+/+ = Resultado positivo do espécime de esfregaço endocervical no AC2 assay / Resultado positivo do espécime de esfregaço endocervical no ACT assay.

+/- = Resultado positivo do espécime de esfregaço endocervical no AC2 assay / Resultado negativo do espécime de esfregaço endocervical no ACT assay.

-/+ = Resultado negativo do espécime de esfregaço endocervical no AC2 assay / Resultado positivo do espécime de esfregaço endocervical no ACT assay.

-/- = Resultado negativo do espécime de esfregaço endocervical no AC2 assay / Resultado negativo do espécime de esfregaço endocervical no ACT assay.

Análise de *Chlamydia trachomatis* por estado de infecção em pacientes do sexo feminino

Tabela 7a: Espécime de esfregaço endocervical e de urina

Estado de infecção do paciente	NAAT 1		NAAT 2		Aptima Combo 2 Assay		Estado sintomático	
	UF	EF	UF	EF	UF	EF	Sint.	Assint.
Infetado	ND	ND	+	+	+	+	1	0
Infetado	ND	+	ND	+	+	+	1	0
Infetado	ND	+	+	+	-	+	0	1
Infetado	-	+	ND	+	-	+	1	0
Infetado	-	+	-	+	-	+	4	0
Infetado	-	+	-	+	+	+	6	1
Infetado	-	+	+	+	-	+	1	0
Infetado	-	+	+	+	+	+	7	3
Infetado	+	ND	+	+	+	+	1	0
Infetado	+	-	ND	+	+	-	1	0
Infetado	+	-	+	-	-	-	1	0
Infetado	+	-	+	-	+	-	7	1
Infetado	+	-	+	-	+	+	2	1
Infetado	+	-	+	+	+	-	1	0
Infetado	+	-	+	+	+	+	3	3
Infetado	+	+	ND	+	+	+	6	2
Infetado	+	+	-	ND	+	+	1	0
Infetado	+	+	-	+	+	+	7	3
Infetado	+	+	+	ND	+	+	1	0
Infetado	+	+	+	-	+	+	2	2
Infetado	+	+	+	+	-	-	1	0
Infetado	+	+	+	+	-	+	1	1
Infetado	+	+	+	+	+	ND	1	0
Infetado	+	+	+	+	+	+	88	44
Não infetado	-	-	-	-	ND	-	1	1
Não infetado	-	-	-	-	-	ND	2	1
Não infetado	-	-	-	-	-	-	648	497
Não infetado	-	-	-	-	-	+	18	4
Não infetado	-	-	-	-	+	-	4	3
Não infetado	-	-	-	-	+	+	4	2
Total							822	570

UF = Urina feminina; EF = Esfregaço endocervical feminino.

"ND" representa os espécimes que não foram obtidos ou que não estavam disponíveis para teste.

Tabela 7b: Espécimes de esfregaço vaginal colhidos pelo paciente e colhidos pelo médico

Estado de infecção do paciente	NAAT 1		NAAT 2 (Aptima Combo 2)		Aptima Combo 2 Assay		Estado sintomático		Total
	EF	UF	EF	UF	EVP	EVM	Sint.	Assint.	
Infetado	+	+	+	+	+	+	79	43	122
Infetado	+	+	+	+	+	-	0	1	1
Infetado	+	+	+	+	-	+	1	0	1
Infetado	+	+	+	+	ND	-	1	0	1
Infetado	+	-	+	+	+	+	8	5	13
Infetado	+	-	+	+	-	-	1	0	1
Infetado	+	-	+	+	ND	+	1	0	1
Infetado	+	=	+	+	+	+	1	0	1
Infetado	-	+	+	+	+	+	8	3	11
Infetado	-	+	+	+	-	-	1	0	1
Infetado	-	-	+	+	+	+	1	2	3
Infetado	-	ND	+	+	+	+	1	0	1
Infetado	+	+	+	-	+	+	5	3	8
Infetado	+	-	+	-	+	+	5	0	5
Infetado	+	-	+	-	-	+	2	0	2
Infetado	+	+	-	+	+	+	0	1	1
Infetado	-	+	-	+	+	+	1	4	5
Infetado	-	+	-	+	+	-	1	0	1
Infetado	-	+	-	+	-	-	0	1	1
Não infetado	-	-	+	-	+	+	0	4	4
Não infetado	-	-	+	-	+	-	2	1	3
Não infetado	-	-	+	-	-	+	2	1	3
Não infetado	-	-	+	-	-	-	6	4	10
Não infetado	-	-	+	-	ND	+	1	0	1
Não infetado	-	-	+	-	ND	-	1	0	1
Não infetado	-	-	-	+	+	+	4	2	6
Não infetado	-	-	-	+	+	-	1	0	1
Não infetado	-	-	-	+	-	-	0	2	2
Não infetado	+	-	-	-	-	-	1	1	2
Não infetado	-	+	-	-	-	-	1	2	3
Não infetado	-	-	-	-	+	+	3	2	5
Não infetado	-	-	-	-	+	-	2	7	9
Não infetado	-	-	-	-	-	+	12	3	15
Não infetado	-	-	-	-	-	-	623	516	1139
Não infetado	-	-	-	-	-	ND	0	2	2
Não infetado	-	-	-	-	-	=	1	0	1
Não infetado	-	-	-	-	ND	+	0	1	1
Não infetado	-	-	-	-	ND	-	11	8	19
Não infetado	-	-	-	-	ND	ND	1	0	1
Não infetado	-	-	-	-	ND	=	0	1	1
Não infetado	-	-	-	-	=	+	0	1	1
Não infetado	-	ND	-	-	-	-	2	2	4
Não infetado	-	ND	-	-	ND	-	0	1	1
Não infetado	-	=	-	-	-	-	12	9	21
Não infetado	-	=	-	-	-	ND	0	1	1
Não infetado	=	-	-	-	-	-	1	1	2
Não infetado	-	-	-	ND	-	-	0	1	1
Não infetado	-	-	ND	-	-	-	5	4	9

Tabela 7b: Espécimes de esfregaço vaginal colhidos pelo paciente e colhidos pelo médico (continuação)

Estado de infecção do paciente	NAAT 1		NAAT 2 (Aptima Combo 2)		Aptima Combo 2 Assay		Estado sintomático		Total
	EF	UF	EF	UF	EVP	EVM	Sint.	Assint.	
Não infectado	-	-	=	-	-	+	1	0	1
Não infectado	-	-	=	-	-	-	1	0	1
Total							811	640	1451

EF = Esfregaço endocervical feminino; **UF** = Urina feminina; **EVP** = Esfregaço vaginal colhido por paciente assintomática; **EVM** = Esfregaço vaginal colhido pelo médico. "ND" representa os espécimes que não foram obtidos ou que não estavam disponíveis para teste. O sinal de igualdade (=) representa um resultado equivocado na repetição do teste.

Tabela 7c: Resultados do estado de infecção do paciente após estudo clínico de espécimes de citologia líquida em solução PreservCyt para *C. trachomatis*

Estado de infecção do paciente	Resultado do esfregaço endocervical		Estado sintomático	
	AC2	ACT	Sint.	Assint.
Infectado	+	+	30	60
Não infectado	-	+	4	12
Não infectado	+	-	3	2
Não infectado	-	-	322	1214
Total			359	1288

Análise de *C. trachomatis* por estado de infecção em pacientes do sexo masculino**Tabela 8: Análise de *C. trachomatis* em esfregaços uretrais e espécimes de urina por estado de infecção em pacientes do sexo masculino**

Estado de infecção do paciente	NAAT 1		NAAT 2	Aptima Combo 2 Assay		Estado sintomático	
	UM	EM	UM	UM	EM	Sint.	Assint.
Infectado	ND	+	+	+	+	2	0
Infectado	-	+	+	+	+	10	4
Infectado	+	ND	+	+	ND	4	6
Infectado	+	ND	+	+	-	2	0
Infectado	+	ND	+	+	+	21	1
Infectado	+	-	+	+	-	3	3
Infectado	+	-	+	+	+	4	3
Infectado	+	+	ND	-	+	1	0
Infectado	+	+	ND	+	+	8	2
Infectado	+	+	-	+	+	12	4
Infectado	+	+	+	-	-	1	0
Infectado	+	+	+	-	+	1	3
Infectado	+	+	+	+	ND	1	0
Infectado	+	+	+	+	-	1	1
Infectado	+	+	+	+	+	131	53
Não infectado	-	-	-	ND	-	0	2
Não infectado	-	-	-	-	ND	13	8
Não infectado	-	-	-	-	-	461	303
Não infectado	-	-	-	-	+	10	5
Não infectado	-	-	-	+	-	3	4
Não infectado	-	-	-	+	+	5	0
Total						694	402

UM = Urina masculina; **EM** = Esfregaço uretral masculino.

"ND" representa os espécimes que não foram obtidos ou que não estavam disponíveis para teste.

Tabelas de desempenho de *Neisseria gonorrhoeae*Sensibilidade e especificidade de *N. gonorrhoeae*

Tabela 9a: Espécimes do Aptima Combo 2 Assay vs. Estado de infecção do paciente

Espécime		Sintomas	N	TP	FP ^a	TN	FN	Sensibilidade (IC de 95%)	Especificidade (IC de 95%)
Masculino	Zaragatoa	Sint.	724	304	5 ^a	412	3	99,0% (97,2–99,8)	98,8% (97,2–99,6)
		Assint.	378	15	12 ^b	351	0	100% (78,2–100)	96,7% (94,3–98,3)
		Todos ¹	1103	319	17 ^c	764	3	99,1% (97,3–99,8)	97,8% (96,5–98,7)
	Urina	Sint.	750	311	1 ^d	433	5	98,4% (96,3–99,5)	99,8% (98,7–100)
		Assint.	383	13	2 ^e	368	0	100% (75,3–100)	99,5% (98,1–99,9)
		Todos ¹	1134	324	3 ^f	802	5	98,5% (96,5–99,5)	99,6% (98,9–99,9)
Feminino	Zaragatoa	Sint.	881	94	15 ^g	772	0	100% (96,2–100)	98,1% (96,9–98,9)
		Assint.	596	31	2 ^h	562	1	96,9% (83,8–99,9)	99,6% (98,7–100)
		Todos ²	1479	126	17 ⁱ	1335	1	99,2% (95,7–100)	98,7% (98,0–99,3)
	Urina	Sint.	883	87	7 ^j	782	7	92,6% (85,3–97,0)	99,1% (98,2–99,6)
		Assint.	599	28	3 ^k	564	4	87,5% (71,0–96,5)	99,5% (98,5–99,9)
		Todos ²	1484	116	10 ^l	1347	11	91,3% (85,0–95,6)	99,3% (98,6–99,6)
Total	Zaragatoa	Sint.	1605	398	20 ^m	1184	3	99,3% (97,8–99,8)	98,3% (97,4–99,0)
		Assint.	974	46	14 ⁿ	913	1	97,9% (88,7–99,9)	98,5% (97,5–99,2)
		Todos ³	2582	445	34 ^o	2099	4	99,1% (97,7–99,8)	98,4% (97,8–98,9)
	Urina	Sint.	1633	398	8 ^p	1215	12	97,1% (94,9–98,5)	99,3% (98,7–99,7)
		Assint.	982	41	5 ^q	932	4	91,1% (78,8–97,5)	99,5% (98,8–99,8)
		Todos ³	2618	440	13 ^r	2149	16	96,5% (94,4–98,0)	99,4% (99,0–99,7)

TP = Verdadeiro positivo; FP = Falso positivo; TN = Verdadeiro negativo; FN = Falso negativo.

¹ Inclui 1 indivíduo do sexo masculino cujos sintomas não foram relatados.² Inclui 1 indivíduo do sexo feminino cujos sintomas não foram relatados.³ Inclui 1 indivíduo do sexo masculino e 1 do sexo feminino cujos sintomas não foram relatados.⁴ Os resultados da TMA alternativa para GC representam o n.º de resultados positivos/n.º de espécimes testados:

a: 5/5, b: 12/12, c: 17/17, d: 0/1, e: 2/2, f: 2/3, g: 13/15, h: 2/2, i: 15/17, j: 4/7, k: 0/2, l: 4/9, m: 18/20, n: 14/14, o: 32/34, p: 4/8, q: 2/4 e r: 6/12.

Tabela 9b: Espécimes de esfregaço vaginal do Aptima Combo 2 Assay vs. Estado de infecção do paciente

Espécime		Estado sintomático	N	TP	FP ¹	TN	FN	Sensibilidade (IC de 95%)	Especificidade (IC de 95%)
Colhido pelo paciente	Esfregaço vaginal	Assint.	629	21	3 ^a	605	0	100% (83,9–100)	99,5% (98,6–99,9)
		Sint.	807	51	7 ^b	747	2	96,2% (87,0–99,5)	99,1% (98,1–99,6)
Colhido pelo médico	Esfregaço vaginal	Assint.	637	21	4 ^c	611	1	95,5% (77,2–99,9)	99,3% (98,3–99,8)
		Todos	1444	72	11 ^d	1358	3	96,0% (88,8–99,2)	99,2% (98,6–99,6)

TP = Verdadeiro positivo; FP = Falso positivo; TN = Verdadeiro negativo; FN = Falso negativo.

¹ Os resultados da amplificação TMA alternativa para GC representam o n.º de resultados positivos/n.º de espécimes testados: a: 3/3, b: 6/7, c: 3/4 e d: 9/11.

Tabela 9c: Espécimes PreservCyt do Aptima Combo 2 Assay vs. Estado de infecção do paciente

Estado sintomático	Resultado AC2/GC PreservCyt	+/+	+/-	-/+	-/-	Sensibilidade (IC de 95%)	Especificidade (IC de 95%)
Assint.	Positivo	5	0	1 ¹	3	83,3% (35,9 - 99,6)	99,7% (99,2 - 99,9)
	Negativo	1	0	5	1273		
	Total	6	0	6	1276		
Sint.	Positivo	7	0	0	0	100% (59,0 - 100)	100% (99,0 - 100)
	Negativo	0	0	0	352		
	Total	7	0	0	352		
Todos	Positivo	12	0	1	3	92,3% (64,0 - 99,8)	99,8% (99,4 - 99,9)
	Negativo	1	0	5	1625		
	Total	13	0	6	1628		

¹ Um espécime apresentou um resultado discordante: resultado equívoco do espécime de esfregaço endocervical no Aptima Combo 2 assay/Resultado positivo do espécime de esfregaço endocervical no APTIMA GC assay.

+/+ = Resultado positivo do espécime de esfregaço endocervical no AC2 assay / Resultado positivo do espécime de esfregaço endocervical no AGC assay.

+/- = Resultado positivo do espécime de esfregaço endocervical no AC2 assay / Resultado negativo do espécime de esfregaço endocervical no AGC assay.

-/+ = Resultado negativo do espécime de esfregaço endocervical no AC2 assay / Resultado positivo do espécime de esfregaço endocervical no AGC assay.

-/- = Resultado negativo do espécime de esfregaço endocervical no AC2 assay / Resultado negativo do espécime de esfregaço endocervical no AGC assay.

Desempenho de *Neisseria gonorrhoeae* por centro clínico

Tabela 10a: Espécimes do Aptima Combo 2 Assay vs. Estado de infecção do paciente

Espécime	Centro	N	TP	FP	TN	FN	Prev (%)	Sensibilidade (IC de 95%)	Especificidade (IC de 95%)	VPP (%)	VPN (%)	
Masculino	Zaragatoa	1	159	56	1	101	1	35,8	98,2% (90,6–100)	99,0% (94,7–100)	98,2	99,0
		2	97	13	0	84	0	13,4	100% (75,3–100)	100% (95,7–100)	100	100
		3	264	71	6	187	0	26,9	100% (94,9–100)	96,9% (93,4–98,9)	92,2	100
		4	53	20	0	33	0	37,7	100% (83,2–100)	100% (89,4–100)	100	100
		5	139	12	0	127	0	8,6	100% (73,5–100)	100% (97,1–100)	100	100
		6	336	94	10	231	1	28,3	98,9% (94,3–100)	95,9% (92,5–98,0)	90,4	99,6
		7	55	53	0	1	1	98,2*	98,1% (90,1–100)	100% (2,5–100)	100	50,0
		TODOS	1103	319	17	764	3	29,2	99,1% (97,3–99,8)	97,8% (96,5–98,7)	94,9	99,6
	Urina	1	161	57	0	103	1	36,0	98,3% (90,8–100)	100% (96,5–100)	100	99,0
		2	104	19	0	85	0	18,3	100% (82,4–100)	100% (95,8–100)	100	100
		3	265	71	2	192	0	26,8	100% (94,9–100)	99,0% (96,3–99,9)	97,3	100
		4	53	20	0	33	0	37,7	100% (83,2–100)	100% (89,4–100)	100	100
		5	160	14	0	146	0	8,8	100% (76,8–100)	100% (97,5–100)	100	100
		6	335	89	1	241	4	27,8	95,7% (89,4–98,8)	99,6% (97,7–100)	98,9	98,4
		7	56	54	0	2	0	96,4*	100% (93,4–100)	100% (15,8–100)	100	100
TODOS		1134	324	3	802	5	29,0	98,5% (96,5–99,5)	99,6% (98,9–99,9)	99,1	99,4	
Feminino	Zaragatoa	1	196	30	2	164	0	15,3	100% (88,4–100)	98,8% (95,7–99,9)	93,8	100
		2	83	9	1	72	1	12,0	90,0% (55,5–99,7)	98,6% (92,6–100)	90,0	98,6
		3	191	31	2	158	0	16,2	100% (88,8–100)	98,8% (95,6–99,8)	93,9	100
		4	215	7	0	208	0	3,3	100% (59,0–100)	100% (98,2–100)	100	100
		5	382	8	1	373	0	2,1	100% (63,1–100)	99,7% (98,5–100)	88,9	100
		6	278	36	8	234	0	12,9	100% (90,3–100)	96,7% (93,6–98,6)	81,8	100
		7	134	5	3	126	0	3,7	100% (47,8–100)	97,7% (93,4–99,5)	62,5	100
		TODOS	1479	126	17	1335	1	8,6	99,2% (95,7–100)	98,7% (98,0–99,3)	88,1	99,9
	Urina	1	196	24	2	164	6	15,3	80,0% (61,4–92,3)	98,8% (95,7–99,9)	92,3	96,5
		2	83	9	1	72	1	12,0	90,0% (55,5–99,7)	98,6% (92,6–100)	90,0	98,6
		3	191	30	2	158	1	16,2	96,8% (83,3–99,9)	98,8% (95,6–99,8)	93,8	99,4
		4	215	5	2	206	2	3,3	71,4% (29,0–96,3)	99,0% (96,6–99,9)	71,4	99,0
		5	383	8	0	375	0	2,1	100% (63,1–100)	100% (99,0–100)	100	100
		6	282	35	2	244	1	12,8	97,2% (85,5–99,9)	99,2% (97,1–99,9)	94,6	99,6
		7	134	5	1	128	0	3,7	100% (47,8–100)	99,2% (95,8–100)	83,3	100
TODOS		1484	116	10	1347	11	8,6	91,3% (85,0–95,6)	99,3% (98,6–99,6)	92,1	99,2	

TP = Verdadeiro positivo; FP = Falso positivo; TN = Verdadeiro negativo; FN = Falso negativo.

* Prevalência sobrestimada devido a uma colheita inicial limitada ao rastreio de pacientes sintomáticos.

Tabela 10b: Espécimes de esfregaço vaginal do Aptima Combo 2 Assay vs. Estado de infecção do paciente

Espécime	Centro	N	TP	FP	TN	FN	Prev (%)	Sensibilidade (IC de 95%)	Especificidade (IC de 95%)	VPP (%)	VPN (%)	
Colhido pelo paciente	Esfregaço vaginal	1	70	5	1	65	0	7,1	100% (47,8 - 100)	98,5% (91,7 - 100)	83,3	100
		2	46	7	0	39	0	15,2	100% (59,0 - 100)	100% (91,0 - 100)	100	100
		3	45	2	0	43	0	4,4	100% (15,8 - 100)	100% (91,8 - 100)	100	100
		4	152	1	0	151	0	0,7	100% (2,5 - 100)	100% (97,6 - 100)	100	100
		5	130	1	0	129	0	0,8	100% (2,5 - 100)	100% (97,2 - 100)	100	100
		6	75	5	2	68	0	6,7	100% (47,8 - 100)	97,1% (90,1 - 99,7)	71,4	100
		7	68	0	0	68	0	0,0	N/D	100% (94,7 - 100)	N/D	100
		8	43	0	0	43	0	0,0	N/D	100% (91,8 - 100)	N/D	100
		TODOS	629	21	3	605	0	3,3	100% (83,9 - 100)	99,5% (98,6 - 99,9)	87,5	100
Colhido pelo médico	Esfregaço vaginal	1	227	12	3	212	0	5,3	100% (73,5 - 100)	98,6% (96,0 - 99,7)	80,0	100
		2	196	31	2	163	0	15,8	100% (88,8 - 100)	98,8% (95,7 - 99,9)	93,9	100
		3	113	3	0	109	1	3,5	75,0% (19,4 - 99,4)	100% (96,7 - 100)	100	99,1
		4	262	5	2	255	0	1,9	100% (47,8 - 100)	99,2% (97,2 - 99,9)	71,4	100
		5	198	2	0	196	0	1,0	100% (15,8 - 100)	100% (98,1 - 100)	100	100
		6	296	18	4	272	2	6,8	90,0% (68,3 - 98,8)	98,6% (96,3 - 99,6)	81,8	99,3
		7	102	0	0	102	0	0,0	N/D	100% (96,4 - 100)	N/D	100
		8	50	1	0	49	0	2,0	100% (2,5 - 100)	100% (92,7 - 100)	100	100
		TODOS	1444	72	11	1358	3	5,2	96,0% (88,8 - 99,2)	99,2% (98,6 - 99,6)	86,7	99,8

TP = Verdadeiro positivo; FP = Falso positivo; TN = Verdadeiro negativo; FN = Falso negativo.

Tabela 10c: Espécimes PreservCyt do Aptima Combo 2 Assay vs. Estado de infecção do paciente

Centro	Resultado AC2/ GC PreservCyt	+/+	+/-	-/+	-/-	Prev (%)	Sensibilidade (IC de 95%)	Especificidade (IC de 95%)	VPP (%)	VPN (%)
1	Positivo	5	0	0	0	5,0	100% (47,8 - 100)	100% (96,2 - 100)	100	100
	Negativo	0	0	0	95					
	Total	5	0	0	95					
2	Positivo	1	0	0	0	0,8	100% (2,5 - 100)	100% (97,0 - 100)	100	100
	Negativo	0	0	0	123					
	Total	1	0	0	123					
3	Positivo	4	0	0	0	1,1	80,0% (28,4 - 99,5)	100% (99,2 - 100)	100	99,8
	Negativo	1	0	0	470					
	Total	5	0	0	470					
4	Positivo	1	0	0	0	0,3	100% (2,5 - 100)	100% (98,7 - 100)	100	100
	Negativo	0	0	3	283					
	Total	1	0	3	283					
5	Positivo	0	0	0	3	0,0	N/D	99,0% (97,1 - 99,8)	0,0	100
	Negativo	0	0	0	294					
	Total	0	0	0	297					
6	Positivo	1	0	1 ¹	0	0,3	100% (2,5 - 100)	99,7% (98,5 - 100)	50,0	100
	Negativo	0	0	2	360					
	Total	1	0	3	360					
Todos	Positivo	12	0	1	3	0,8	92,3% (64,0 - 99,8)	99,8% (99,4 - 99,9)	75,0	99,9
	Negativo	1	0	5	1625					
	Total	13	0	6	1628					

¹ Um espécime apresentou um resultado discordante: resultado equívoco do espécime de esfregaço endocervical no Aptima Combo 2 assay/Resultado positivo do espécime de esfregaço endocervical no APTIMA GC assay.

+/+ = Resultado positivo do espécime de esfregaço endocervical no AC2 assay / Resultado positivo do espécime de esfregaço endocervical no AGC assay.

+/- = Resultado positivo do espécime de esfregaço endocervical no AC2 assay / Resultado negativo do espécime de esfregaço endocervical no AGC assay.

-/+ = Resultado negativo do espécime de esfregaço endocervical no AC2 assay / Resultado positivo do espécime de esfregaço endocervical no AGC assay.

-/- = Resultado negativo do espécime de esfregaço endocervical no AC2 assay / Resultado negativo do espécime de esfregaço endocervical no AGC assay.

Análise de *Neisseria gonorrhoeae* por estado de infecção em pacientes do sexo feminino**Tabela 11a: Espécime de esfregaço endocervical e de urina**

Estado de infecção do paciente	NAAT		Cultura	Aptima Combo 2 Assay		Estado sintomático	
	UF	EF	EF	UF	EF	Sint.	Assint.
Infetado	ND	+	+	+	+	1	1
Infetado	-	-	+	-	-	0	1
Infetado	-	+	+	-	+	5	2
Infetado	-	+	+	+	+	9	2
Infetado	+	ND	+	+	+	1	0
Infetado	+	-	+	+	+	3	1
Infetado	+	+	ND	+	+	0	1
Infetado	+	+	-	+	+	11	2
Infetado	+	+	+	-	+	2	1
Infetado	+	+	+	+	+	62	21
Não infetado	-	-	-	-	ND	2	3
Não infetado	-	-	-	-	-	768	559
Não infetado	-	-	-	-	+	12	2
Não infetado	-	-	-	+	-	4	3
Não infetado	-	-	-	+	+	3	0
Total						883	599

UF = Urina feminina; **EF** = Esfregaço endocervical feminino.

“ND” representa os espécimes que não foram obtidos ou que não estavam disponíveis para teste.

Tabela 11b: Análise de espécimes de esfregaço vaginal colhidos pelo paciente e colhidos pelo médico

Estado de infecção do paciente	NAAT 1		NAAT 2		Aptima Combo 2 Assay		Estado sintomático		Total
	EF	UF	EF	UF	EVP	EVM	Sint.	Assint.	
Infetado	+	+	+	+	+	+	44	15	59
Infetado	+	+	+	+	+	-	1	0	1
Infetado	+	+	+	+	ND	+	0	1	1
Infetado	+	-	+	+	+	+	2	2	4
Infetado	+	ND	+	+	+	+	1	0	1
Infetado	-	+	+	+	+	+	1	1	2
Infetado	-	-	+	+	+	+	1	1	2
Infetado	+	+	+	-	+	+	1	0	1
Infetado	+	-	+	-	+	+	1	1	2
Infetado	+	-	+	-	+	-	1	0	1
Infetado	+	+	-	+	+	+	1	0	1
Infetado	-	+	-	+	+	+	0	1	1
Infetado	-	+	-	+	+	-	0	1	1
Infetado	+	+	-	-	-	+	1	0	1
Não infetado	-	-	+	-	-	-	5	1	6
Não infetado	-	-	-	+	-	-	1	0	1
Não infetado	+	-	-	-	+	+	1	0	1
Não infetado	+	-	-	-	-	-	5	2	7
Não infetado	-	+	-	-	+	+	0	1	1
Não infetado	-	+	-	-	-	-	2	1	3
Não infetado	-	-	-	-	+	+	2	0	2
Não infetado	-	-	-	-	+	-	1	1	2
Não infetado	-	-	-	-	-	+	2	2	4
Não infetado	-	-	-	-	-	-	698	577	1275
Não infetado	-	-	-	-	-	ND	0	2	2
Não infetado	-	-	-	-	-	=	2	0	2
Não infetado	-	-	-	-	ND	-	15	9	24
Não infetado	-	-	-	-	ND	ND	1	0	1
Não infetado	-	ND	-	-	-	-	2	2	4
Não infetado	-	ND	-	-	ND	-	0	1	1
Não infetado	-	=	-	-	-	-	11	10	21
Não infetado	-	=	-	-	-	ND	0	1	1
Não infetado	=	-	-	-	-	-	1	1	2
Não infetado	-	-	-	ND	-	-	0	1	1
Não infetado	-	-	ND	-	-	-	5	4	9
Não infetado	-	-	=	-	-	-	1	1	2
Total							810	640	1450

EF = Esfregaço endocervical feminino; **UF** = Urina feminina; **EVP** = Esfregaço vaginal colhido por paciente assintomática; **EVM** = Esfregaço vaginal colhido pelo médico; "ND" representa os espécimes que não foram obtidos ou que não estavam disponíveis para teste. O sinal de igualdade (=) representa um resultado equívoco na repetição do teste.

Análise de *N. gonorrhoeae* por estado de infecção em pacientes do sexo feminino**Tabela 11c: Resultados do estado de infecção do paciente após estudo clínico de espécimes de citologia líquida em solução PreservCyt para *N. gonorrhoeae***

Estado de infecção do paciente	Resultado do esfregaço endocervical		Estado sintomático	
	AC2	AGC	Sint.	Assint.
Infetado	+	+	7	6
Não infetado	=	+	0	1
Não infetado	-	+	0	5
Não infetado	-	-	352	1276
Total			359	1288

Análise de *N. gonorrhoeae* por estado de infecção em pacientes do sexo masculino**Tabela 12: Espécime de esfregaço uretral e de urina**

Estado de infecção do paciente	NAAT 1		Cultura	Aptima Combo 2 Assay		Estado sintomático	
	UM	EM		UM	EM	Sint.	Assint.
Infetado	ND	+	+	+	+	1	0
Infetado	-	ND	+	ND	+	0	1
Infetado	-	ND	+	+	+	1	0
Infetado	-	-	+	-	-	1	0
Infetado	-	+	+	+	+	4	1
Infetado	+	ND	+	ND	+	0	1
Infetado	+	ND	+	+	ND	8	0
Infetado	+	ND	+	+	-	1	0
Infetado	+	ND	+	+	+	50	1
Infetado	+	-	+	+	+	4	1
Infetado	+	+	ND	+	+	1	0
Infetado	+	+	-	+	+	11	1
Infetado	+	+	+	-	-	1	0
Infetado	+	+	+	-	+	3	0
Infetado	+	+	+	+	ND	1	0
Infetado	+	+	+	+	+	229	9
Não infetado	-	-	-	ND	-	0	1
Não infetado	-	-	-	ND	+	0	1
Não infetado	-	-	-	-	ND	17	9
Não infetado	-	-	-	-	-	411	349
Não infetado	-	-	-	-	+	5	10
Não infetado	-	-	-	+	-	1	1
Não infetado	-	-	-	+	+	0	1
Total						750	387

UM = Urina masculina; **EM** = Esfregaço uretral masculino; ND = Espécime não obtido ou não disponível para teste.

Distribuição da RLU dos controles Aptima

A Tabela 13 mostra a distribuição dos valores da RLU para o controle positivo, GC / controle negativo, CT Aptima e para o controle positivo, CT / controle negativo, GC Aptima de todas as execuções do Aptima Combo 2 assay realizadas durante os estudos dos espécimes clínicos.

Tabela 13: Distribuição da RLU total dos controles do Aptima Combo 2 Assay

Controlo	Estatísticas	RLU total (x 1000)		
		Estudo clínico de espécimes de esfregaço endocervical, esfregaço da uretra masculina e espécimes de urina	Estudo clínico de espécimes de esfregaço vaginal	Estudo clínico de espécimes de citologia líquida em solução PreservCyt
Controlo positivo, CT/ Controlo negativo, GC	Máxima	1572	1996	1747
	Percentil 75	1160	1279	1264
	Mediana	1063	1135	1165
	Percentil 25	996	933	1024
	Mínima	274	174	494
Controlo positivo, GC/ Controlo negativo, CT	Máxima	1359	1420	1438
	Percentil 75	1202	1255	1288
	Mediana	1093	1169	1201
	Percentil 25	989	1084	1099
	Mínima	167	249	166

Estudo de precisão

Realizaram-se testes de precisão em três centros para obter medidas de repetibilidade e de reprodutibilidade. Realizaram-se estudos de precisão como parte do estudo clínico de espécimes de esfregaço endocervical, esfregaços da uretra masculina e espécimes de urina e do estudo clínico de espécimes de citologia líquida em solução PreservCyt. No primeiro estudo, cada centro recebeu três painéis idênticos de 13 amostras com 0 a 500 fg de rRNA de CT e 0 a 25.000 fg rRNA de GC, ou combinações de rRNA de CT e GC. Os testes realizaram-se ao longo de três dias, utilizando um lote de kit de ensaio diferente em cada um dos dias. A Tabela 14a resume as estatísticas descritivas gerais da RLU, intraexecuções, entre execuções e entre centros.

No estudo de precisão posterior, a reprodutibilidade foi estabelecida com um painel de 12 amostras geradas com o enriquecimento da solução PreservCyt com 0 a 2000 fg/ensaio de rRNA de CT e 0 a 5000 fg/ensaio de rRNA de GC e com a adição de uma alíquota de 1,0 ml ao tubo de colheita do kit de transferência de espécimes Aptima. Dois (2) operadores em cada um dos três centros realizaram uma execução por dia durante os três dias, totalizando três execuções válidas por operador. Os testes realizaram-se com um lote de kit de ensaio. Os resultados deste estudo de precisão são resumidos na Tabela 14b.

Em ambos os estudos, a reprodutibilidade foi estabelecida enriquecendo o meio de transporte adequado (STM, solução PreservCyt) com rRNA. Não se determinou a reprodutibilidade durante a análise dos espécimes clínicos de esfregaço, urina ou de citologia líquida em solução PreservCyt que continham o organismo selecionado.

Tabela 14a: Meio de transporte de zaragatoas

Membro do painel		N	RLU Média (x1000)	Intraexecução		Entre execuções		Entre centros	
				DP (RLU)	CV (%)	DP (RLU)	CV (%)	DP (RLU)	CV (%)
Alta	Esfregaço CT	54	1055	76.588	7,3	83.711	7,9	150.332	14,2
	Esfregaço duplo*	54	2338	93.449	4,0	90.317	3,9	142.898	6,1
	Urina dupla*	54	2281	91.487	4,0	106.715	4,7	152.747	6,7
	Esfregaço GC	54	1265	30.561	2,4	55.642	4,4	34.413	2,7
Intermédia	Esfregaço CT	54	1001	69.831	7,0	77.701	7,8	159.774	16,0
	Esfregaço duplo*	54	2241	152.377	6,8	58.353	2,6	139.983	6,2
	Esfregaço GC	54	1249	35.142	2,8	60.638	4,9	46.364	3,7
Baixa	Esfregaço CT	54	1013	61.795	6,1	90.906	9,0	131.207	13,0
	Esfregaço duplo*	54	2085	286.034	13,7	161.764	7,8	58.837	2,8
	Urina dupla*	54	2201	95.705	4,3	118.760	5,4	106.802	4,9
	Esfregaço GC	54	1177	42.478	3,6	69.821	5,9	29.836	2,5
Negativa	Zaragatoa	54	7	1301	18,3	2311	32,5	1901	26,8
	Urina	54	7	861	12,0	2299	32,1	1994	27,9

* Os membros do painel positivo duplo incluíam rRNA de CT e GC.

Tabela 14b: Solução PreservCyt

Concentração (fg/ensaio)		N	Concordância	RLU Média (x1000)	Intraexecução		Entre execuções		Entre centros		Entre operadores	
CT	GC				DP (x1000)	CV (%)	DP (x1000)	CV (%)	DP (x1000)	CV (%)	DP (x1000)	CV (%)
0	0	162	97,5%	9,7	31,6	N/D	3,4	N/D	6,4	N/D	4,7	N/D
0	5000	54	96,3%	1296	146	11,3	54,8	4,2	0,0	0,0	0,0	0,0
2000	0	54	100%	1140	54,1	4,7	79,8	7,0	101	8,9	2,4	0,2
2000	5000	54	100%	2345	79,6	3,4	78,0	3,3	94,7	4,0	37,9	1,6
0	250	54	100%	953	114	12,0	0,0	0,0	161	16,9	90,7	9,5
5	0	54	100%	971	58,3	6,0	71,7	7,4	22,8	2,4	85,0	8,8
1000	2500	54	100%	2294	114	5,0	88,9	3,9	153	6,7	0,0	0,0
100	250	54	98,1%	1911	139	7,3	130	6,8	348	18,2	39,7	2,1
5	5000	54	100%	2136	113	5,3	130	6,1	98,8	4,6	166	7,8
2000	250	54	96,3%	2044	138	6,7	169	8,3	360	17,6	26,9	1,3

RLU = Unidades de luz relativa; DP = Desvio padrão; CV = Coeficiente de variação; N/D representa os espécimes não aplicáveis aos membros do painel negativo.

As amostras com resultados discordantes ou equívocos foram incluídas na análise da variabilidade do sinal.

No caso de valores de CV e DP iguais a 0,0, a variabilidade devida a esta fonte é muito pequena em relação a outras fontes de variação.

Desempenho analítico do Aptima Combo 2

Nota: Os resultados seguintes foram gerados com a versão original do Aptima Combo 2 Assay utilizando DTS Systems™.

Consulte a secção *Desempenho analítico do Tigris DTS System* após a secção *Concordância dos espécimes clínicos do Tigris DTS System* para obter o desempenho analítico específico do Tigris DTS system.

Consulte a secção *Desempenho analítico do Panther System* para obter o desempenho analítico específico do Panther system.

Sensibilidade analítica

A sensibilidade analítica da *Chlamydia trachomatis* (limites de detecção) foi determinada através da comparação direta de diluições de organismos de CT em culturas celulares e no ensaio. A sensibilidade analítica declarada para o ensaio é de uma unidade formadora de inclusão (Inclusion-Forming Unit, IFU) por ensaio (7,25 IFU/esfregaço, 5,0 IFU/ml de urina, 9,75 IFU/ml de Pap líquido em solução PreservCyt) para os 15 serotipos de CT (A, B, Ba, C, D, E, F, G, H, I, J, K, L1, L2 e L3). No entanto, as diluições inferiores a 1,0 IFU/ensaio de todos os serotipos obtiveram um resultado positivo no Aptima Combo 2 assay.

A sensibilidade analítica da *Neisseria gonorrhoeae* foi determinada através da comparação direta das diluições de 57 isolados clínicos diferentes em cultura e no Aptima Combo 2 assay com espécimes de esfregaço e de urina e 20 isolados clínicos com espécimes de citologia líquida em solução PreservCyt. A sensibilidade analítica declarada para o ensaio é de 50 células/ensaio (362 células/esfregaço, 250 células/ml de urina, 488 células/ml de citologia líquida em solução PreservCyt). No entanto, todas as estirpes testadas obtiveram resultados positivos com menos de 50 células/ensaio.

Especificidade analítica

Em dois estudos, avaliou-se um total de 198 organismos com o Aptima Combo 2 assay. Um estudo inicial incluiu 154 isolados de cultura, os quais incluíam 86 organismos que podem ser isolados do trato urogenital e 68 organismos adicionais que representam uma secção transversal filogenética de organismos. Um estudo adicional de amostras extragenitais, incluiu 44 micróbios que podem ser encontrados nos esfregaços extragenitais. Os organismos testados incluíram bactérias, fungos, leveduras, parasitas e vírus.

No estudo inicial, todos os organismos testados, exceto *C. psittaci*, *C. pneumoniae* e os vírus foram analisados a $1,0 \times 10^6$ células/ensaio em meios de transporte de esfregaço e de urina. Os organismos *Chlamydia* e *Neisseria* foram testados em meio de solução PreservCyt. *C. psittaci* e *C. pneumoniae* foram testados a $1,0 \times 10^5$ IFU/ensaio. Os vírus foram testados da seguinte forma: (a) vírus do herpes simplex I e II: $2,5 \times 10^4$ TCID₅₀/ensaio, (b) vírus do papiloma humano 16: $2,9 \times 10^6$ cópias de DNA/ensaio e (c) citomegalovírus: $4,8 \times 10^5$ células de cultura de células infetadas/ensaio.

No segundo estudo, todos os organismos foram testados em STM. Todos os isolados não virais foram testados a $1,0 \times 10^6$ CFU/ml exceto *Bacteriodes oralis*, *Fusobacterium necrophorum* e *Peptostreptococcus micros*, os quais foram testados a $1,0 \times 10^6$ cópias de RNA/ml. Os vírus foram testados a $1,0 \times 10^5$ TCID₅₀/ml exceto o Norovírus grupo II: $1,0 \times 10^6$ TCID₅₀/ml, Enterovírus Tipo 68: $1,0 \times 10^4$ TCID₅₀/ml e os vírus Influenza, os quais foram testados a $2,0 \times 10^3$ TCID₅₀/ml. Apenas as amostras de CT e GC produziram resultados positivos no Aptima Combo 2 assay. A lista de organismos testados no primeiro estudo é mostrada na Tabela 15 e os organismos testados no segundo estudo são mostrados na Tabela 16.

Tabela 15: Especificidade analítica

Organismo	Organismo	Organismo
<i>Achromobacter xerosis</i>	<i>Escherichia coli</i>	<i>Neisseria mucosa</i> (3)
<i>Acinetobacter calcoaceticus</i>	<i>Flavobacterium meningosepticum</i>	<i>Neisseria sicca</i> (3)
<i>Acinetobacter Iwoffii</i>	<i>Fusobacterium nucleatum</i>	<i>Neisseria subflava</i> (14)
<i>Actinomyces israelii</i>	<i>Gardnerella vaginalis</i>	<i>Neisseria perflava</i>
<i>Actinomyces pyogenes</i>	<i>Gemella haemolysans</i>	<i>Neisseria polysaccharea</i>
<i>Aerococcus viridans</i>	<i>Haemophilus ducreyi</i>	<i>Paracoccus denitrificans</i>
<i>Aeromonas hydrophila</i>	<i>Haemophilus influenzae</i>	<i>Peptostreptococcus anaerobius</i>
<i>Agrobacterium radiobacter</i>	Vírus herpes simplex I	<i>Peptostreptococcus productus</i>
<i>Alcaligenes faecalis</i>	Vírus herpes simplex II	<i>Plesiomonas shigelloides</i>
<i>Bacillus subtilis</i>	Vírus do papiloma humano 16	<i>Propionibacterium acnes</i>
<i>Bacteriodes fragilis</i>	<i>Kingella dentrificans</i>	<i>Proteus mirabilis</i>
<i>Bacteriodes ureolyticus</i>	<i>Kingella kingae</i>	<i>Proteus vulgaris</i>
<i>Bifidobacterium adolescentis</i>	<i>Klebsiella oxytoca</i>	<i>Providencia stuartii</i>
<i>Bifidobacterium brevis</i>	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
<i>Branhamella catarrhalis</i>	<i>Lactobacillus acidophilus</i>	<i>Pseudomonas fluorescens</i>
<i>Brevibacterium linens</i>	<i>Lactobacillus brevis</i>	<i>Pseudomonas putida</i>
<i>Campylobacter jejuni</i>	<i>Lactobacillus jensenii</i>	<i>Rahnella aquatilis</i>
<i>Candida albicans</i>	<i>Lactobacillus lactis</i>	<i>Rhodospirillum rubrum</i>
<i>Candida glabrata</i>	<i>Legionella pneumophila</i> (2)	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>
<i>Candida parapsilosis</i>	<i>Leuconostoc paramensisenteroides</i>	<i>Salmonella minnesota</i>
<i>Candida tropicalis</i>	<i>Listeria monocytogenes</i>	<i>Salmonella typhimurium</i>
<i>Chlamydia pneumoniae</i>	<i>Micrococcus luteus</i>	<i>Serratia marcescens</i>
<i>Chlamydia psittaci</i> (2)	<i>Moraxella lacunata</i>	<i>Staphylococcus saprophyticus</i>
<i>Chromobacterium violaceum</i>	<i>Moraxella osloensis</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>
<i>Citrobacter freundii</i>	<i>Morganella morganii</i>	<i>Staphylococcus epidermidis</i>
<i>Clostridium perfringens</i>	<i>Mycobacterium smegmatis</i>	<i>Streptococcus agalactiae</i>
<i>Corynebacterium genitalium</i>	<i>Mycoplasma genitalium</i>	<i>Streptococcus bovis</i>
<i>Corynebacterium xerosis</i>	<i>Mycoplasma hominis</i>	<i>Streptococcus mitis</i>
<i>Cryptococcus neoformans</i>	<i>N. meningitidis</i> Serogrupo A	<i>Streptococcus mutans</i>
Citomegalovírus	<i>N. meningitidis</i> Serogrupo B	<i>Streptococcus pneumoniae</i>
<i>Deinococcus radiodurans</i>	<i>N. meningitidis</i> Serogrupo C (4)	<i>Streptococcus pyogenes</i>
<i>Derxia gummosa</i>	<i>N. meningitidis</i> Serogrupo D	<i>Streptococcus salivarius</i>
<i>Eikenella corrodens</i>	<i>N. meningitidis</i> Serogrupo Y	<i>Streptococcus sanguis</i>
<i>Enterobacter aerogenes</i>	<i>N. meningitidis</i> Serogrupo W135	<i>Streptomyces griseinus</i>
<i>Enterobacter cloacae</i>	<i>Neisseria cinerea</i> (4)	<i>Trichomonas vaginalis</i>
<i>Enterococcus avium</i>	<i>Neisseria dentrificans</i>	<i>Ureaplasma urealyticum</i>
<i>Enterococcus faecalis</i>	<i>Neisseria elongata</i> (3)	<i>Vibrio parahaemolyticus</i>
<i>Enterococcus faecium</i>	<i>Neisseria flava</i>	<i>Yersinia enterocolitica</i>
<i>Erwinia herbicola</i>	<i>Neisseria flavescens</i> (2)	
<i>Erysipelothrix rhusiopathiae</i>	<i>Neisseria lactamica</i> (9)	

“(n)” representa o número de estirpes testadas.

Todos os organismos testados obtiveram um resultado negativo no Aptima Combo 2 assay com base no tipo de perfil cinético e na RLU.

Tabela 16: Micro-organismos de reatividade cruzada para espécimes faríngeos e retais

Organismo	Organismo	Organismo
Adenovírus	<i>Eggerthella lenta</i>	Metapneumo vírus
<i>Anaerococcus</i> spp.	<i>Entamoeba histolytica</i>	<i>Moraxella catarrhalis</i>
<i>Arcanobacterium haemolyticum</i>	Enterovírus	<i>Mycoplasma pneumoniae</i>
<i>Bacteroides oralis</i>	Vírus Epstein-Barr	Norovírus
<i>Bordetella parapertussis</i>	<i>Fusobacterium necrophorum</i>	<i>Peptostreptococcus micros</i>
<i>Bordetella pertussis</i>	<i>Giardia lamblia</i>	<i>Prevotella</i> spp.
<i>Burkholderia cepacia</i>	<i>Haemophilus parahaemolyticus</i>	Vírus sincial respiratório
<i>Campylobacter rectus</i>	<i>Haemophilus parainfluenzae</i>	Rinovírus
<i>Citrobacter koseri</i>	<i>Helicobacter pylori</i>	<i>Shigella dysenteriae</i>
<i>Clostridium difficile</i>	Vírus da hepatite B	<i>Shigella flexneri</i>
Coronavírus	Vírus da hepatite C	<i>Shigella sonnei</i>
<i>Corynebacterium diphtheriae</i>	Vírus da gripe humana A	<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>
<i>Corynebacterium pseudodiphtheriticum</i>	Vírus da gripe humana B	<i>Streptococcus anginosus</i> group
Vírus Coxsackie	<i>Legionella jordanis</i>	<i>Veillonella parvula</i>
Ecovírus	<i>Legionella micdadei</i>	

Substâncias Interferentes

As seguintes substâncias interferentes foram adicionadas individualmente a espécimes de esfregaço e a espécimes de citologia líquida em solução PreservCyt: 10% de sangue, gel contraceptivo, espermicida, hidratante, anestésico hemorroidal, óleo corporal, pó, creme antifúngico, lubrificantes vaginais, spray feminino e leucócitos ($1,0 \times 10^6$ células/ml). As seguintes substâncias interferentes foram adicionadas individualmente a espécimes de urina: 30% de sangue, analitos de urina, proteínas, glucose, cetonas, bilirrubina, nitrato, urobilinogênio, pH 4 (ácido), pH 9 (alcalino), leucócitos ($1,0 \times 10^6$ células/ml), resíduos celulares, vitaminas, minerais, acetaminofeno, aspirina e ibuprofeno. Todos foram analisados para determinar a possível interferência do ensaio na ausência e na presença de CT e GC no rRNA estimado, equivalente a 1,0 CT IFU/ensaio (5 fg/ensaio) e a 50 células GC/ensaio (250 fg/ensaio). Os equivalentes de rRNA foram calculados com base no tamanho do genoma e na relação DNA:RNA por célula estimada de cada organismo.

Não se observou qualquer interferência com qualquer uma das substâncias testadas. Não se observaram inibidores da amplificação no Aptima Combo 2 assay.

Recuperação

Adicionou-se *Escherichia coli* e *Gardnerella vaginalis* ($2,4 \times 10^5$ células/ensaio) e *Lactobacillus acidophilus*, *Gardnerella vaginalis*, *Bacteroides ureolyticus* e *Staphylococcus epidermis* ($1,0 \times 10^8$ células/ensaio) a amostras com rRNA equivalente de aproximadamente 1,0 CT IFU (5 fg) e 50 células GC (250 fg). Estas adições não interferiram com a amplificação e a detecção de rRNA de CT e de GC no Aptima Combo 2 assay.

Estudos de estabilidade dos espécimes

A. Espécimes de esfregaço endocervical

Os dados que suportam as condições recomendadas de transporte e armazenamento das amostras de esfregaço endocervical foram gerados a partir de um grupo de amostras negativas de esfregaços. Enriqueceram-se cinco amostras agrupadas com CT e GC em concentrações finais de 10 IFU e de 100 CFU por reação, respectivamente. As amostras enriquecidas foram mantidas a temperaturas de -70 °C, -20 °C, 4 °C e 30 °C. As amostras foram testadas em duplicado nos dias 0, 20, 35, 60 e 90. Todas as condições de teste foram positivas para CT e GC, em todas as ocasiões e temperaturas.

B. Espécimes de citologia líquida em solução PreservCyt

Os dados que suportam as condições recomendadas de transporte e armazenamento das amostras de citologia líquida em solução PreservCyt foram gerados a partir de um grupo de amostras negativas de citologia líquida em solução PreservCyt. Enriqueceram-se quatro amostras agrupadas com CT e GC em concentrações finais de 10 IFU e de 100 CFU por reação, respectivamente. As amostras de citologia líquida em solução PreservCyt foram armazenadas a 30 °C durante 7 dias, após os quais se adicionou 1,0 ml da amostra a um tubo de transferência Aptima. As amostras enriquecidas foram mantidas a temperaturas de 4 °C, 10 °C e 30 °C. As amostras armazenadas a 4 °C e 10 °C foram testadas em duplicado nos dias 0, 6, 13, 26, 30 e 36. As amostras armazenadas a 30 °C foram testadas em duplicado nos dias 0, 5, 8, 14 e 17. Adicionaram-se quatro grupos de amostras de citologia líquida em solução PreservCyt enriquecidos aos tubos de transferência Aptima, os quais permaneceram a 30 °C durante 14 dias antes de serem armazenados a temperaturas de -20 °C ou -70 °C. As amostras armazenadas a -20 °C e a -70 °C foram testadas em duplicado após 0, 30, 60, 90 e 106 dias de armazenamento. Todas as condições de teste foram positivas para CT e GC, em todas as ocasiões e temperaturas.

C. Espécimes de esfregaço vaginal

Os dados que suportam as condições recomendadas de transporte e armazenamento das amostras de esfregaço vaginal foram gerados a partir de um grupo de amostras negativas de esfregaços. Enriqueceram-se quinze amostras agrupadas de esfregaço vaginal com CT e GC em concentrações finais de 1,0 IFU e de 50 CFU por reação, respectivamente. As amostras enriquecidas foram mantidas a temperaturas de -70 °C, -20 °C, 4 °C e 30 °C. As amostras foram testadas com uma alíquota nos dias 0, 20, 36, 73 e 114. Todas as condições de teste foram positivas para CT e GC, em todas as ocasiões e temperaturas.

D. Espécimes de urina

Os dados que suportam as condições recomendadas de transporte e armazenamento das amostras de urina foram gerados a partir de dez amostras negativas de urina feminina e dez amostras de urina masculina. As amostras de urina foram enriquecidas com CT e GC em concentrações finais de 10 IFU e de 100 CFU por reação, respectivamente. Dois conjuntos de urina enriquecida foram mantidos a 4 °C e a 30 °C durante 24 horas antes de serem adicionados ao meio de transporte de urina (UTM). Os dois conjuntos de amostras em UTM foram depois mantidos a 4 °C e a 30 °C e testados em triplicado nos dias 0, 1, 5, 20 e 35. Todas as amostras de urina mantidas a 4 °C antes de serem adicionadas ao UTM foram positivas para CT e GC. Nas amostras mantidas a 30 °C antes da adição ao UTM, todas foram positivas para CT e 95% das amostras foram positivas para GC no dia 35. Estas mesmas amostras foram testadas após 116 dias de armazenamento a -20 °C e -70 °C. Todas as amostras foram positivas para CT e GC em ambas as condições de armazenamento.

E. Estudo adicional de estabilidade de espécimes congelados (a -20 °C)

Os dados que suportam as condições recomendadas de transporte e armazenamento a -20 °C para esfregaços endocervicais, esfregaços uretrais, esfregaços vaginais, urina feminina, urinamasculina e espécimes de citologia líquida em solução PreservCyt foram gerados utilizando 90 espécimes de cada tipo com resultados negativos, dos quais 30 espécimes foram enriquecidos com CT e GC a 1,0 IFU e 50 CFU por reação, respectivamente; 30 espécimes foram enriquecidos com CT e GC a 0,1 IFU e 5 CFU por reação, respectivamente; e 30 espécimes não foram enriquecidos. Os espécimes foram armazenados a -20 °C e testados nos dias 0, 200 e 400. Todos os espécimes enriquecidos alcançaram o critério de aceitação de 95% de concordância com os resultados esperados.

Concordância dos espécimes clínicos no Tigris DTS System

Concordância no Tigris DTS System

A concordância entre os resultados do Aptima Combo 2 assay gerados no Tigris DTS system totalmente automático e nos DTS systems semiautomáticos foi avaliada testando espécimes de esfregaço endocervicais, esfregaço da uretra masculina, urina feminina e masculina, esfregaços vaginais e espécimes de citologia líquida em solução PreservCyt. Cada um dos espécimes clínicos foi testado individualmente com o Aptima Combo 2 assay no Tigris DTS system e nos DTS systems, na Hologic.

Estudo de concordância de espécimes clínicos — Esfregaço endocervical, esfregaço da uretra masculina e espécimes de urina feminina e masculina

Pacientes do sexo masculino e feminino frequentadores de consultas de DST, serviços de urgência, unidades de saúde pública e planejamento familiar foram registrados em sete centros clínicos geograficamente diversos com prevalência baixa a alta de CT e GC. O estudo de concordância de espécimes clínicos avaliou a concordância entre os dois sistemas usando espécimes de esfregaço e de urina de 485 pacientes do sexo masculino e 576 de pacientes do sexo feminino. Dos 1991 espécimes testados, uma pequena percentagem apresentou inicialmente resultados inválidos ou equívocos para CT ou GC no Tigris DTS system (20, 1,0%) e nos DTS systems (14, 0,7%). Após a repetição dos testes, dois (2) espécimes clínicos apresentaram resultados equívocos para GC no Tigris DTS system, os quais não foram incluídos nos cálculos de equivalência. Calculou-se a percentagem de concordância geral e as percentagens de concordâncias positivas e negativas. Os espécimes com resultados discordantes entre os DTS systems e o Tigris DTS system foram testados em ensaios alternativos de amplificação TMA para CT e GC, os quais são testes de amplificação de ácidos nucleicos (NAAT) que têm como alvo sequências de rRNA de CT ou GC diferentes das analisadas no Aptima Combo 2 assay. Realizou-se igualmente uma repetição dos testes do Aptima Combo 2 assay nos DTS systems para os espécimes com resultados discordantes no Tigris DTS system e nos DTS systems.

As Tabelas 17 e 18 mostram as percentagens de concordância geral para todos os resultados de testes emparelhados, obtidos no Tigris DTS system e nos DTS systems para os espécimes de esfregaço e de urina, respectivamente. As concordâncias gerais foram de 98,3% nos espécimes de esfregaço e de 99,2% nos espécimes de urina. Consulte as Tabelas 5a e 9a para obter as estimativas de desempenho do Aptima Combo 2 relativas a esfregaços endocervicais, esfregaços uretrais masculinos e espécimes de urina de ambos os sexos testados nos DTS systems. Tendo em consideração os resultados obtidos na concordância, as estimativas de desempenho clínico no Tigris DTS system com espécimes de esfregaço endocervical, esfregaço da uretra masculina e de urina feminina e masculina deverão ser similares.

Estudo de concordância de espécimes clínicos — Esfregaço vaginal e espécimes de citologia líquida em solução PreservCyt

Pacientes do sexo feminino frequentadoras de consultas de DST, unidades de saúde pública e consultas de obstetrícia/ginecologia contribuíram com esfregaços vaginais e espécimes de citologia líquida em solução PreservCyt. Os espécimes de esfregaço vaginal foram transferidos diretamente para a Hologic para serem submetidos a testes enquanto os espécimes de citologia líquida em solução PreservCyt foram processados em 2 laboratórios de citopatologia antes de serem transferidos. Na Hologic, os esfregaços vaginais e os espécimes de citologia líquida em solução PreservCyt começaram por ser rastreados com o

Aptima Combo 2 assay nos DTS systems. Os espécimes com resultado final inválido ou equivocado nos DTS systems não foram selecionados para a realização de mais testes no Tigris DTS system. Os espécimes positivos do Aptima Combo 2 assay e um subconjunto de espécimes negativos do Aptima Combo 2 assay foram selecionados para um teste de comparação no Tigris DTS system. Testaram-se, em ambos os sistemas, cento e setenta (170) esfregaços vaginais e 170 espécimes de citologia líquida em solução PreservCyt provenientes de 181 pacientes femininos. A maioria dos espécimes (110 esfregaços vaginais e 107 espécimes de Pap líquido em solução PreservCyt) selecionados para comparação eram provenientes de mulheres sintomáticas. Foram iniciadas dezassete (17) listas de trabalho: 13 (76,5%) foram válidas e 4 (23,5%) foram invalidadas devido à detecção, por parte do instrumento, de sinais de fundo elevados no luminômetro. O instrumento possuía acessórios Detect 1 e 2 soltos que podem ter permitido a entrada do ar nas linhas ou a injeção de quantidades incorretas de reagentes de detecção. Estas listas de trabalho foram validadas após a repetição dos testes. Dos 340 espécimes testados, nenhum apresentou resultados iniciais do teste inválidos ou equivocados no Tigris DTS system.

As Tabelas 19 e 20 mostram as percentagens de concordância geral da detecção de CT e GC de todos os resultados de teste emparelhados, obtidos no Tigris DTS e nos DTS systems para os esfregaços vaginais e para os espécimes de citologia líquida em solução PreservCyt, respetivamente. As concordâncias gerais foram de 98,2% nos espécimes de esfregaço vaginal e de 98,2% nos espécimes de citologia líquida em solução PreservCyt. Consulte as Tabelas 5b, 5c, 9b, e 9c para obter as estimativas de desempenho do Aptima Combo 2 assay para os esfregaços vaginais e para os espécimes de citologia líquida em solução PreservCyt testados nos DTS systems. Tendo em consideração os resultados da concordância, as estimativas de desempenho clínico no Tigris DTS system com os esfregaços vaginais e os espécimes de citologia líquida em solução PreservCyt deverão ser similares.

Estudo de concordância do painel clínico de CT/GC — Esfregaço endocervical, esfregaço da uretra masculina e espécimes de urina feminina e masculina

O estudo de concordância do painel clínico de CT/GC avaliou a equivalência entre os dois sistemas com a utilização de 13 painéis clínicos de CT/GC preparados pela Hologic e contendo entre 0 a 2500 unidades formadoras de inclusão (IFU)/ml de CT e/ou entre 0 a 125.000 unidades formadoras de colónias (CFU)/ml de GC. Os painéis clínicos de CT/GC foram criados a partir de espécimes de esfregaço e de urina colhidos em 222 indivíduos do sexo masculino e 117 indivíduos do sexo feminino, considerados como não estando infetados em função dos resultados negativos obtidos pelos espécimes com o Aptima Combo 2 assay quando testados nos DTS systems. Cada um dos 13 painéis de CT/GC consistiu em 5 réplicas de cada tipo de espécime (esfregaço endocervical, esfregado da uretra masculina, urina feminina, urina masculina), num total de 20 réplicas por painel.

A Tabela 21 mostra as percentagens de concordância com os resultados de CT e de GC esperados no Tigris DTS system e no DTS systems para cada um dos 13 painéis de CT/GC. As concentrações variaram entre 10 vezes abaixo e 1000 vezes acima dos limites analíticos indicados para o Aptima Combo 2 assay que são de 1 IFU/ensaio para CT e de 50 CFU/ensaio para GC. A Tabela 21 indica igualmente a percentagem de concordância geral (99,3%) entre os resultados do painel de CT/GC do Tigris DTS system e dos DTS systems. As concordâncias positiva e negativa são apresentadas nas Tabelas 22 e 23 para os painéis de CT e de GC, respetivamente. Nos painéis dos esfregaços e da urina, as concordâncias positivas foram de 100% e de 96,2% respetivamente para CT e ambas de 100% para GC. As concordâncias negativas dos esfregaços e da urina foram de 100% e de 98,0% respetivamente para CT e ambas de 100% para GC. Três das 5 réplicas do painel feminino

de urina, que estavam um logaritmo abaixo da sensibilidade analítica indicada para o Aptima Combo 2 assay de 1 IFU/ensaio para CT, foram CT- no Tigris system. Uma das 5 réplicas do painel feminino de urina proveniente de um painel diferente foi CT- nos DTS systems.

Tabela 17: Estudo de concordância de espécimes clínicos: resultados dos espécimes de esfregaços endocervicais e da uretra masculina¹

Tigris DTS System	DTS systems				Total
	CT+/GC+	CT+/GC-	CT-/GC+	CT-/GC-	
CT+/GC+	30	0	0	0	30
CT+/GC-	0	108	0	2 ⁵	110
CT-/GC+	1 ²	0	67	0	68
CT-/GC-	0	12 ³	2 ⁴	796	810
Total	31	120	69	798	1018
Percentagem de concordância (IC de 95%)	96,8% (83,3-99,9)	90,0% (83,2-94,7)	97,1% (89,9-99,6)	99,7% (99,1-100)	n/d
Percentagem de concordância geral (IC de 95%): 98,3% (97,3-99,0)					

+ indica Positivo, - indica Negativo, n/d = Não aplicável.

¹ Dados não apresentados: dois espécimes obtiveram resultados equivocados para CT-/GC tanto no Tigris como nos DTS systems. Um espécime obteve um resultado CT-/GC- no Tigris DTS system, mas um resultado equivocado para CT-/GC nos DTS systems. Após repetição do teste com o Aptima Combo 2 assay no DTS systems, este espécime obteve um resultado CT-/GC-. Os espécimes obtiveram igualmente um resultado GC- no ensaio alternativo de amplificação TMA.

² 1/1 foi CT+/GC+ quando submetido a novo teste nos DTS systems e foi CT+ no ensaio alternativo de amplificação TMA.

³ 11/12 foram testados novamente. 11/11 foram CT-/GC- quando submetidos a novo teste com o Aptima Combo 2 assay nos DTS systems. 9/11 foram CT- quando submetidos a novo teste no ensaio alternativo de amplificação TMA e 2/11 foram CT+.

⁴ 2/2 foram CT-/GC- quando submetidos a novo teste com o Aptima Combo 2 assay nos DTS systems e foram GC- no ensaio alternativo de amplificação TMA.

⁵ 2/2 foram CT-/GC- quando submetidos a novo teste com o Aptima Combo 2 assay nos DTS systems e foram CT- no ensaio alternativo de amplificação TMA.

Tabela 18: Estudo de concordância de espécimes clínicos: resultados dos espécimes de urina feminina e masculina

Tigris DTS System	DTS systems				Total
	CT+/GC+	CT+/GC-	CT-/GC+	CT-/GC-	
CT+/GC+	32	0	0	0	32
CT+/GC-	0	100	0	1 ³	101
CT-/GC+	0	0	52	0	52
CT-/GC-	0	8 ¹	1 ²	776	785
Total	32	108	53	777	970
Percentagem de concordância (IC de 95%)	100% (89,1-100)	92,6% (85,9-96,7)	98,1% (89,9-100)	99,9% (99,3-100)	n/d
Percentagem de concordância geral (IC de 95%): 99,2% (98,1-99,5)					

+ indica Positivo, - indica Negativo, n/d = Não aplicável.

¹ 7/8 foram CT-/GC- quando submetidos a novo teste com o Aptima Combo 2 assay nos DTS systems e foram CT- no ensaio alternativo de amplificação TMA.

1/8 foi CT+/GC- quando submetido a novo teste com o Aptima Combo 2 assay nos DTS systems e foi CT+ no ensaio alternativo de amplificação TMA.

² 1/1 foi CT-/GC- quando submetido a novo teste com o Aptima Combo 2 assay nos DTS systems e foi GC- no ensaio alternativo de amplificação TMA.

³ 1/1 foi CT-/GC- quando submetido a novo teste com o Aptima Combo 2 assay nos DTS systems e foi CT+ no ensaio alternativo de amplificação TMA.

Tabela 19: Estudo de concordância de espécimes clínicos: resultados dos espécimes de esfregaço vaginal

Tigris DTS System	DTS Systems				Total
	CT+/GC+	CT+/GC-	CT-/GC+	CT-/GC-	
CT+/GC+	26	0	0	0	26
CT+/GC-	0	44	0	2	46
CT-/GC+	0	0	24	0	24
CT-/GC-	0	0	1	73	74
Total	26	44	25	75	170
Percentagem de concordância (IC de 95%)	100% (86,8-100)	100% (92,0-100)	96,0% (79,6-99,9)	97,3% (90,7-99,7)	n/d
Percentagem de concordância geral (IC de 95%): 98,2% (94,9-99,6)					

+ indica Positivo, - indica Negativo, n/d = Não aplicável.

Tabela 20: Estudo de concordância de espécimes clínicos: resultados dos espécimes de citologia líquida em solução PreservCyt

Tigris DTS System	DTS Systems				Total
	CT+/GC+	CT+/GC-	CT-/GC+	CT-/GC-	
CT+/GC+	26	0	0	0	26
CT+/GC-	0	44	0	1	45
CT-/GC+	0	0	24	0	24
CT-/GC-	0	1	1	73	75
Total	26	45	25	74	170
Percentagem de concordância (IC de 95%)	100% (86,8-100)	97,8% (88,2-99,9)	96,0% (79,6-99,9)	98,6% (92,7-100)	n/d
Percentagem de concordância geral (IC de 95%): 98,2% (94,9-99,6)					

+ indica Positivo, - indica Negativo, n/d = Não aplicável.

Tabela 21: Estudo de concordância do painel clínico de CT/GC: concordância com os resultados de CT e GC esperados para os painéis de esfregaço endocervical, esfregaço da uretra masculina e urina feminina e masculina

Membro do painel CT/GC	Concentração do membro do painel ¹		Réplicas	CT		GC	
	CT IFU/ml	GC CFU/ml		Tigris %Conc	DTS %Conc	Tigris %Conc	DTS %Conc
Baixa/Baixa	2,5	125	20	100	100	100	100
Baixa/Alta	2,5	125.000	20	100	95 ³	100	100
Alta/Baixa	2500	125	20	100	100	100	100
Alta/Alta	2500	125.000	20	100	100	100	100
Muito baixa/Neg	0,25 ²	0	20	85 ⁴	100	100	100
Baixa/Neg	2,5	0	20	100	100	100	100
Média/Neg	25	0	20	100	100	100	100
Alta/Neg	2500	0	20	100	100	100	100
Neg/Muito baixa	0	12,5	20	100	100	100	100
Neg/Baixa	0	125	20	100	100	100	100
Neg/Média	0	1250	19	100	100	100	100
Neg/Alta	0	125.000	20	100	100	100	100
Neg/Neg	0	0	20	100	100	100	100
Percentagem de concordância geral entre o Tigris e o DTS (IC de 95%): 99,3% (98,3-99,8)							

IFU = Unidades formadoras de inclusão, CFU = Unidades formadoras de colônias, Tigris %Conc = Concordância do Tigris com os resultados esperados, DTS %Conc = Concordância do DTS com os resultados esperados.

¹ Um tubo de colheita contém aproximadamente 2,9 ml de meio de transporte para esfregaços e 4,0 ml de meio de transporte/mistura de urina para espécimes de urina.

² A concentração de CT neste membro do painel clínico de CT/GC está um logaritmo abaixo da sensibilidade analítica indicada para o Aptima Combo 2 assay de 1 IFU/ensaio (7,25 IFU/esfregaço, 5 IFU/ml de urina).

³ Uma de 5 réplicas do painel feminino de urina foi CT- nos DTS systems.

⁴ Três de 5 réplicas do painel feminino de urina foram CT- no Tigris system.

Tabela 22: Estudo de concordância do painel clínico de CT/GC: resultados de CT para os painéis de esfregaço endocervical, da uretra masculina e de urina feminina e masculina

Espécime	N	DTS+ Tigris+ n	DTS+ Tigris- n	DTS- Tigris+ n	DTS- Tigris- n	Concordância positiva (IC de 95%)	Concordância negativa (IC de 95%)
Zaragatoa	129	80	0	0	49	100 (95,5-100)	100 (92,7-100)
Urina	130	76	3 ¹	1 ²	50	96,2 (89,3-99,2)	98,0 (89,6-100)

+ indica Positivo, - indica Negativo, IC = Intervalo de confiança.

¹ Três das 5 réplicas do painel feminino de urina, que estavam um logaritmo abaixo da sensibilidade analítica indicada para o Aptima Combo 2 assay de 1 IFU/ensaio para CT, foram CT- no Tigris system.

² Uma de 5 réplicas do painel feminino de urina foi CT- nos DTS systems.

Tabela 23: Estudo de concordância do painel clínico de CT/GC: resultados de GC para os painéis de esfregaço endocervical, da uretra masculina e de urina feminina e masculina

Espécime	N	DTS+ Tigris+ n	DTS+ Tigris- n	DTS- Tigris+ n	DTS- Tigris- n	Concordância positiva (IC de 95%)	Concordância negativa (IC de 95%)
Zaragatoa	129	79	0	0	50	100 (95,4-100)	100 (92,9-100)
Urina	130	80	0	0	50	100 (95,5-100)	100 (92,9-100)

+ indica Positivo, - indica Negativo, IC = Intervalo de confiança, Tigris = Tigris DTS.

Estudo de precisão

A precisão do Tigris DTS System (ou seja, a reprodutibilidade) foi avaliada num centro clínico externo e na Hologic. A precisão do Aptima Combo 2 Assay foi avaliada com três Tigris DTS Systems, dois centros de estudo, dois lotes de kits do Aptima Combo 2 Assay e quatro operadores. A Tabela 24 apresenta os dados RLU da precisão em termos de Média, Desvio padrão, Coeficiente de variação (CV) e percentagem de concordância com os resultados esperados para cálculos de variabilidade entre centros, entre operadores, entre lotes, entre execuções e intraexecuções.

No centro externo, dois operadores realizaram três listas de trabalho (ou seja, execuções) por lote de kit do Aptima Combo 2 assay num Tigris DTS system, completando um total de 6 listas de trabalho cada. Na Hologic, dois operadores realizaram três listas de trabalho por lote de kit do Aptima Combo 2 assay em dois Tigris DTS system, completando um total de 12 listas de trabalho cada. Assim, no total, completaram-se 36 listas de trabalho. Cada lista de trabalho foi composta por seis painéis de precisão idênticos de 12 membros com 0 a 2000 fg/ensaio de rRNA de CT e/ou 0 a 2433 fg/ensaio de rRNA de GC. Cada lista de trabalho foi composta por seis painéis de precisão idênticos de 12 membros com 0 a 2000 fg/ensaio de rRNA de CT e/ou 0 a 5000 fg/ensaio de rRNA de GC. Os membros do painel com CT e GC foram distribuídos por categorias de concentração de CT baixa (5 ou 100 fg/ensaio), intermédia (1000 fg/ensaio), ou alta (≥ 2000 fg/ensaio) e por categorias de concentração de GC baixa (≤ 250 fg/ensaio), intermédia (aprox. 2400 fg/ensaio) ou alta (5000 fg/ensaio). Estabeleceu-se a reprodutibilidade enriquecendo o meio de transporte de zaragatoas com rRNA. Não se determinou a reprodutibilidade durante a análise de espécimes de esfregaço e de urina com o organismo alvo. A precisão foi estimada de acordo com as diretrizes EP5-A da NCCLS (35).

Tabela 24: Dados de precisão do Tigris DTS System

Conc.														
CT	GC	N	Média RLU (x1000)	% Conc	Intraexecução		Entre centros		Entre lotes		Entre operadores		Entre execuções	
					DP (RLU x1000)	CV (%)	DP (RLU x1000)	CV (%)	DP (RLU x1000)	CV (%)	DP (RLU x1000)	CV (%)		
Neg	Neg	647	4	100	1,25	26,2	0,66	13,9	0,05	1,0	0,08	1,7	0,30	6,4
Neg	Alta	215	1216	100	28,5	2,3	61,2	5,0	10,0	0,8	0	0	17,1	1,4
Alta	Neg	216	1266	100	38,8	3,0	0	0	93,1	7,3	40,8	3,2	40,4	3,1
Alta	Alta	210	2445	100	54,2	2,2	40,0	1,6	110,3	4,5	28,4	1,1	52,3	2,1
Neg	Baixa¹	217	1132	100	30,3	2,6	61,0	5,3	0	0,0	20,7	1,8	18,5	1,6
Baixa¹	Neg	214	1053	100	72,8	6,9	1,5	0,1	73,8	7,0	28,5	2,7	26,9	2,5
Intermédia	Intermédia	214	2429	100	48,8	2,0	40,0	1,6	101,1	4,1	0	0	52,9	2,1
Baixa¹	Baixa¹	216	2112	99,5	112,3	5,3	84,1	3,9	33,2	1,5	34,2	1,6	52,9	2,5
Baixa¹	Alta	216	2282	100	77,3	3,3	97,8	4,2	59,3	2,6	0	0	41,7	1,8
Alta	Baixa¹	215	2318	100	61,1	2,6	50,7	2,1	86,2	3,7	4,6	0,2	42,4	1,8

DP = Desvio padrão, %CV = Percentagem do coeficiente de variação, % Conc. = Percentagem de concordância, Conc. = Concentração.

Nota: a variabilidade de alguns fatores pode ser numericamente negativa, o que pode ocorrer se a variabilidade devido a esses fatores for muito pequena. Quando tal acontece, a variabilidade é medida com o desvio padrão e a %CV é definida para 0. Consulte as Diretrizes EP5-A aprovadas pela NCCLS (35).

¹ Os membros do painel de concentração baixa foram enriquecidos até alcançarem as sensibilidades analíticas indicadas para o ensaio (5 fg rRNA CT/ensaio, 250 fg rRNA GC/ensaio, ou ambas para o membro do painel duplamente positivo). No caso de CT, o nível do alvo analisado é o equivalente a cerca de 36 fg/esfregaço e 25 fg/ml de urina. No caso de GC, o nível do alvo analisado é o equivalente a cerca de 1800 fg/esfregaço e 1250 fg/ml de urina. Com base no tamanho do genoma e na relação DNA:RNA por célula estimada de cada organismo, 5 fg equivale a 1 IFU CT e 250 fg equivale a 50 células GC.

Desempenho analítico do Tigris DTS System

Consulte a secção *Desempenho analítico do Panther System* para obter o desempenho analítico específico do Panther system.

Estudo de equivalência da sensibilidade analítica

Testaram-se diluições de três serotipos de CT (E, F, G) associados a doenças urogenitais, em três instrumentos Tigris DTS system e de forma paralela nos DTS systems. Os serotipos de CT foram diluídos em meio de transporte de zaragatoas e num grupo de espécimes de urina processados. As concentrações variaram entre 3 unidades formadoras de inclusão (IFU) por ensaio e 0,1 IFU por ensaio, um logaritmo abaixo da sensibilidade analítica indicada de uma IFU por ensaio (7,25 IFU/esfregaço, 5 IFU/ml de urina). A percentagem de positividade entre o Tigris DTS e os DTS systems foi equivalente a uma confiança de 95% nos três serotipos até ao nível analítico indicado. As diluições abaixo do nível obtiveram igualmente resultados positivos em ambas as plataformas. No geral, ficou demonstrada uma sensibilidade comparável no nível de deteção de um IFU por ensaio entre o Tigris DTS e os DTS systems.

Preparou-se um painel de sensibilidade num grupo de espécimes vaginais e um painel de sensibilidade num grupo de espécimes de citologia líquida em solução PreservCyt pós-processada em 5 fg rRNA de CT e testaram-se 60 réplicas no Tigris DTS system. A percentagem de positividade (IC de 95%) no Tigris DTS system para os espécimes de esfregaço vaginal foi de 100% (95,1–100) e para os espécimes de citologia líquida em solução PreservCyt pós-processados foi de 100% (95,1–100).

A sensibilidade analítica da variante finlandesa de *Chlamydia trachomatis* (FI-nvCT) foi determinada testando diluições de transcrição *in vitro* em espécimes de urina negativos, espécimes de ThinPrep negativos e espécimes de matriz de esfregaços simulados. Foram testadas trinta réplicas de cada diluição no Tigris DTS System com cada um dos três lotes de reagentes da versão atualizada do Aptima Combo 2 Assay, num total de 90 réplicas por tipo de espécime. A sensibilidade analítica foi determinada como sendo inferior a uma IFU por ensaio em espécimes de urina, ThinPrep e matriz de esfregaços simulados. As capacidades de deteção da versão atualizada do Aptima Combo 2 Assay foram confirmadas em várias variantes de CT.

Testaram-se diluições de três isolados clínicos de GC em três instrumentos Tigris DTS system e de forma paralela nos DTS systems. Os isolados de GC foram diluídos em meio de transporte de zaragatoas e num grupo de espécimes de urina processados. As concentrações variaram entre 150 células por ensaio e 5 células por ensaio, um logaritmo abaixo da sensibilidade analítica indicada de 50 células/ensaio (362 células/esfregaço, 250 células/ml de urina). A percentagem de positividade entre o Tigris DTS e os DTS systems foi equivalente a uma confiança de 95% nos três isolados até ao nível analítico indicado. As diluições abaixo do nível obtiveram igualmente resultados positivos em ambas as plataformas. No geral, ficou demonstrada uma sensibilidade comparável no nível de deteção de 50 células por ensaio entre o Tigris DTS e os DTS systems.

Preparou-se um painel de sensibilidade num grupo de espécimes vaginais e um painel de sensibilidade num grupo de espécimes de Pap líquido em solução PreservCyt pós-processada em 250 fg rRNA de GC e testaram-se 60 réplicas no Tigris DTS system. A percentagem de positividade (IC de 95%) no Tigris DTS system para os espécimes de esfregaço vaginal foi de 100% (95,1–100) e para os espécimes de citologia líquida em solução PreservCyt pós-processados foi de 100% (95,1–100).

Estudo de painel clínico enriquecido com rRNA de CT/GC — Esfregaço vaginal e espécimes de citologia líquida em solução PreservCyt

O estudo do painel clínico enriquecido com rRNA de CT/GC avaliou a concordância entre os dois sistemas com recurso a dois painéis clínicos de CT/GC preparados pela Hologic e enriquecidos com 0 a 5000 fg rRNA/ensaio de CT e/ou 0 a 250.000 fg rRNA/ensaio de GC. Os painéis clínicos de CT/GC foram criados a partir de espécimes de esfregaços vaginais e de citologia líquida em solução PreservCyt, colhidos em 309 pacientes do sexo feminino cujos espécimes obtiveram resultados negativos com o Aptima Combo 2 assay nos DTS systems quando testados na Hologic. Os espécimes negativos foram agrupados por tipo de espécime, enriquecidos ou não com rRNA de CT e/ou de GC e foram divididos em alíquotas como réplicas de cada membro do painel. As réplicas de cada um dos 13 membros do painel enriquecidas com diferentes níveis de rRNA foram combinadas para criar um painel clínico para cada tipo de espécime. Cada painel incluiu um total de 132 réplicas.

Uma réplica de esfregaço vaginal do membro do painel de concentração de CT muito baixa (0,05 fg rRNA/ensaio) obteve um resultado de CT equívoco nos DTS systems.

A Tabela 25 mostra as percentagens de concordância de cada nível de rRNA nos painéis de esfregaço vaginal e de citologia líquida em solução PreservCyt, respetivamente, com os resultados esperados de CT e de GC para o Tigris DTS system e os DTS systems. As concentrações variaram entre 1 logaritmo abaixo e 3 logaritmos acima de 5 fg rRNA/ensaio para CT e 250 fg rRNA/ensaio para GC. A Tabela 25 apresenta igualmente as percentagens de concordância geral (99,2% para o painel de esfregaço vaginal e 100% para o painel de Pap líquido em solução PreservCyt).

Tabela 25: Estudo de concordância do painel clínico enriquecido com rRNA de CT/GC: concordância com os resultados esperados de CT e de GC para o painel de esfregaço vaginal e o painel de citologia líquida em solução PreservCyt

Membro do painel CT/GC	Concentração (fg rRNA/ ensaio)		Réplicas	Painel de esfregaço vaginal				Painel de citologia líquida em solução PreservCyt			
				CT		GC		CT		GC	
	CT	GC		Tigris %Conc	DTS %Conc	Tigris %Conc	DTS %Conc	Tigris %Conc	DTS %Conc	Tigris %Conc	DTS %Conc
Baixa/Baixa	5	250	10	100	100	100	100	100	100	100	100
Baixa/Alta	5	250.000	10	100	100	100	100	100	100	100	100
Alta/Baixa	5000	250	10	100	100	100	100	100	100	100	100
Alta/Alta	5000	250.000	10	100	100	100	100	100	100	100	100
Muito baixa/Neg	0,5	0	10	100	88,9 ¹	100	100	100	100	100	100
Baixa/Neg	5	0	10	100	100	100	100	100	100	100	100
Média/Neg	50	0	10	100	100	100	100	100	100	100	100
Alta/Neg	5000	0	10	100	100	100	100	100	100	100	100
Neg/Muito baixa	0	25	10	100	100	100	100	100	100	100	100
Neg/Baixa	0	250	10	100	100	100	100	100	100	100	100
Neg/Média	0	2500	10	100	100	100	100	100	100	100	100
Neg/Alta	0	250.000	10	100	100	100	100	100	100	100	100
Neg/Neg	0	0	12	100	100	100	100	100	100	100	100
Percentagem de concordância geral entre o Tigris e o DTS (IC de 95%): 99,2% (95,8-100)								Percentagem de concordância geral entre o Tigris e o DTS (IC de 95%): 100% (97,2-100)			

DTS % Conc = Concordância entre o DTS e os resultados esperados, Tigris % Conc = Concordância entre o Tigris DTS e os resultados esperados.

¹ 1/10 réplicas apresentou resultados de CT equívocos nos DTS systems e foi excluída desta análise. 8/9 concordaram com os resultados esperados. 1/9 obteve um resultado CT- no DTS systems. A concentração de CT deste membro do painel é de 1 logaritmo abaixo de 5 fg rRNA/ensaio.

Estudo de equivalência da especificidade analítica

Num ensaio de amplificação de ácidos nucleicos, a especificidade analítica relativa a organismos individuais é, em grande medida, determinada pela química do ensaio (por exemplo, as sequências oligonucleótidas) mais do que pela plataforma. Como os reagentes do Aptima Combo 2 assay são idênticos entre o Tigris DTS system e os DTS systems, as experiências de especificidade analítica no Tigris DTS system foram concebidas para se focarem nos isolados de cultura mais complicados. Estes organismos incluíam aqueles conhecidos por fazerem reação cruzada em outros ensaios de amplificação. Selecionaram-se vinte e quatro (24) isolados de cultura no painel de organismos da Tabela 15, incluindo 3 organismos que estão intimamente relacionados com CT e 17 organismos que estão intimamente relacionados com GC. Todos os organismos analisados obtiveram resultados negativos no Tigris DTS system.

Estudo de equivalência de substâncias interferentes

O sangue habitualmente encontrado em espécimes urogenitais pode interferir em alguns ensaios de amplificação. Utilizou-se sangue total para estabelecer o grau de interferência do sangue no Tigris DTS system e a equivalência entre o Tigris DTS system e os DTS systems em relação a este possível interferente. Adicionou-se sangue fresco a grupos de espécimes de esfregaço clínico, esfregaço vaginal, citologia líquida em solução PreservCyt pós-processados e de urina e estes foram testados para determinar uma possível interferência com o ensaio na ausência e na presença do CT e GC alvo. Utilizou-se o equivalente de rRNA estimado de um CT IFU/ensaio (5 fg/ensaio) e de 50 GC células/ensaio (250 fg/ensaio), pois estes representam a sensibilidade analítica do ensaio. Os equivalentes de rRNA foram calculados com base no tamanho do genoma e na relação DNA:RNA por célula estimada de cada organismo. Os espécimes foram testados em dois Tigris DTS systems. Todas as amostras com ácido nucleico alvo resultaram positivas quando testadas a uma concentração de 10% (vol/vol) de sangue em espécimes de esfregaço, espécimes de esfregaço vaginal, espécimes de citologia líquida em solução PreservCyt pós-processados e de 30% (vol/vol) de sangue em espécimes de urina. Todas as amostras que não continham o alvo foram corretamente identificadas como negativas tanto para CT como para GC. Estes resultados foram idênticos aos demonstrados nos DTS systems quando enriquecidos com as mesmas quantidades de sangue.

O sangue adicionado aos espécimes de esfregaço, de esfregaço vaginal, de citologia líquida em solução PreservCyt pós-processados e aos espécimes de urina, em concentrações muito mais altas do que o previsto com uma colheita normal de espécimes, não interferiu com os resultados no Tigris DTS system.

Estudos da contaminação por transferência no Tigris DTS System

Para estabelecer se o Tigris DTS system minimiza o risco de resultados falsos positivos decorrentes de contaminação por transferência, realizou-se um estudo analítico de vários dias com painéis enriquecidos em três Tigris DTS systems. O estudo utilizou 20% de amostras de GC de concentração-alvo elevada com $1,0 \times 10^9$ células/reação, as quais foram dispostas de forma aleatória entre 80% de amostras negativas com meio de transporte de zaragatoas. Ao longo do estudo, testaram-se 1372 amostras de concentração-alvo elevada e 5516 amostras negativas em três Tigris DTS systems. A média global de contaminação por transferência, incluindo os resultados falsos positivos e equívocos, foi de 0,3% (18/5491). Um total de 25 amostras negativas foram consideradas inválidas e, por isso, excluídas do cálculo. Realizou-se uma análise independente de um subconjunto da população do estudo constituído pelas amostras negativas que se seguiram de imediato a um resultado positivo da concentração-alvo elevada. A proporção de contaminação por transferência para este

subconjunto da população, incluindo os resultados falsos positivos e equívocos, foi de 1,1% (12/1097). Nos resultados falsos positivos deste subconjunto, a proporção de contaminação por transferência variou entre 0% e 1,1% nos três Tigris DTS systems. Nos resultados equívocos deste subconjunto, a proporção de contaminação por transferência variou entre 0% e 0,9% nos três Tigris DTS systems. Estes resultados demonstram que a contaminação por transferência é mínima no Tigris DTS system.

Desempenho analítico do Panther System

Estudo de concordância do painel clínico enriquecido

Espécimes de urina negativos individuais foram enriquecidos com serotipo G de CT, GC ou uma combinação de CT e GC para criar um painel de 120 membros positivos para CT, 120 membros positivos para GC e 120 membros duplos positivos. Os membros do painel positivo para CT foram enriquecidos com organismos a 0,25 IFU/ml, 2,5 IFU/ml ou 25 IFU/ml (0,5 fg/ensaio, 5 fg/ensaio ou 50 fg/ensaio). Os membros do painel positivo para GC foram enriquecidos com organismos a 12,5 CFU/ml, 125 CFU/ml ou 1250 CFU/ml (25 fg/ensaio, 250 fg/ensaio ou 2500 fg/ensaio). Os membros duplos positivos foram enriquecidos com organismos de CT a 2,5 IFU/ml (5 fg/ensaio) e organismos de GC a 2.500,000 CFU/ml (5.000,000 fg/ensaio) ou de CT a 25 IFU/ml (50 fg/ensaio) e de GC a 1250 CFU/ml (2500 fg/ensaio) ou de CT a 25.000 IFU/ml (50.000 fg/ensaio) e de GC a 125 CFU/ml (250 fg/ensaio) ou de CT a 2,5 IFU/ml (5 fg/ensaio) e de GC a 125 CFU/ml (250 fg/ensaio). Além disso, foram colhidos 120 espécimes de urina negativos para CT e GC. Os painéis positivo e negativo foram testados em três Panther systems e três Tigris DTS systems. A percentagem de concordância positiva entre os Panther systems e os Tigris DTS systems foi de 100% com um limite inferior de 99,5 para CT e GC no intervalo de confiança de 95%. A percentagem de concordância negativa entre os Panther systems e os Tigris DTS systems foi de 99,9% com um limite inferior de 99,5 no intervalo de confiança de 95%. Os resultados do estudo são apresentados na Tabela 26.

Tabela 26: Estudo de concordância do painel clínico enriquecido: concordância com os resultados esperados para CT e GC

Membro do painel	Concentração (IFU ou CFU/ml)		Concentração (fg/ensaio)		Réplicas	CT		GC	
	CT	GC	CT	GC		Tigris %Conc	Panther %Conc	Tigris %Conc	Panther %Conc
Painéis de CT/GC ^{1,2}									
Baixa/Baixa	2,5	125	5	250	90	100	100	100	100
Média/Média	25	1250	50	2500	90	100	100	100	100
Baixa/Alta	2,5	2.500,000	5	5.000,000	90	100	100	100	100
Alta/Baixa	25.000	125	50.000	250	90	100	100	100	100
Painéis de GC ^{2,3}									
Neg/Muito baixa	0	12,5	0	25	117*	100	100	100	100
Neg/Baixa	0	125	0	250	120	100	100	100	100
Neg/Média	0	1250	0	2500	120	100	99,2	100	100
Painéis de CT ^{1,3}									
Muito baixa/Neg	0,25	0	0,5	0	120	100	100	100	100
Baixa/Neg	2,5	0	5	0	120	100	100	100	100
Média/Neg	25	0	50	0	120	100	100	100	100
Painéis negativos ³									
Neg/Neg	0	0	0	0	360	100	100	99,7	99,7

* Um membro do painel foi fabricado incorretamente e foi excluído da análise.

¹ Percentagem de concordância geral positiva para CT entre o Tigris e o Panther (IC de 95%): 100% (99,5–100).

² Percentagem de concordância geral positiva para GC entre o Tigris e o Panther (IC de 95%): 100% (99,5–100).

³ Percentagem de concordância geral negativa entre o Tigris e o Panther (IC de 95%): 99,9% (99,5–100).

O estudo de concordância do painel clínico avaliou a equivalência entre as versões original e atualizada do Aptima Combo 2 assay utilizando 20 painéis clínicos preparados de CT/GC com 0 a 2500 IFU/ml de CT de tipo selvagem, 0 a 500 IFU/ml de FI-nvCT e 0 a 125.000 CFU/ml de GC em espécimes de urina. Cada um dos 20 painéis foi testado em triplicado em duas execuções por dia, em três Panther systems, por dois operadores, utilizando três lotes de reagentes, ao longo de seis dias. A Tabela 27 mostra a percentagem de concordância com os resultados de CT e GC esperados para as duas versões do Aptima Combo 2 assay.

Tabela 27: Estudo de concordância do painel clínico de CT/GC nas versões original e atualizada do Aptima Combo 2 Assay

Concentração do membro do painel			CT				GC			
CT IFU/ml	FI-nvCT IFU/ml*	GC CFU/ml	AC2 original Resultado esperado	AC2 original % concordância	AC2 atualizado Resultado esperado	AC2 atualizado % concordância	AC2 original Resultado esperado	AC2 original % concordância	AC2 atualizado Resultado esperado	AC2 atualizado % concordância
0	0	0	Neg	100%	Neg	100%	Neg	100%	Neg	100%
0	0	12,5	Neg	100%	Neg	100%	Pos	100%	Pos	100%
0	0	125	Neg	100%	Neg	100%	Pos	100%	Pos	100%
0	0	1.250	Neg	100%	Neg	100%	Pos	100%	Pos	100%
0	0	125.000	Neg	100%	Neg	100%	Pos	100%	Pos	100%
0,25	0	0	Pos	100%	Pos	100%	Neg	100%	Neg	100%
2,5	0	0	Pos	100%	Pos	100%	Neg	100%	Neg	100%
25	0	0	Pos	100%	Pos	100%	Neg	100%	Neg	100%
2.500	0	0	Pos	100%	Pos	100%	Neg	100%	Neg	100%
0	0,02	0	Neg	100%	Pos	100%	Neg	100%	Neg	100%
0	0,05	0	Neg	100%	Pos	100%	Neg	100%	Neg	100%
0	0,2	0	Neg	98,2%	Pos	100%	Neg	99,1%	Neg	100%
0	500	0	Neg	100%	Pos	100%	Neg	100%	Neg	100%
2,5	0	125	Pos	100%	Pos	100%	Pos	100%	Pos	100%
25	0	1.250	Pos	100%	Pos	100%	Pos	100%	Pos	100%
2.500	0	125	Pos	100%	Pos	100%	Pos	100%	Pos	100%
2,5	0	125.000	Pos	100%	Pos	100%	Pos	100%	Pos	100%
0	500	125	Neg	100%	Pos	100%	Pos	100%	Pos	100%
0	0,05	125.000	Neg	100%	Pos	100%	Pos	100%	Pos	100%
2.500	500	125	Pos	100%	Pos	100%	Pos	100%	Pos	100%

*Os equivalentes de IFU foram calculados com base no tamanho do genoma e na relação DNA:RNA por célula estimada de cada organismo.

Estudo de sensibilidade analítica

A sensibilidade analítica do Aptima Combo 2 assay foi testada com três matrizes de amostras representativas. Estas amostras de urina foram processadas com meio de transporte de urina (UTM), citologia líquida em solução PreservCyt diluída em meio de transporte de zaragatoas (STM) e STM. Grupos destas três matrizes foram enriquecidos com rRNA de CT e de GC nas seguintes concentrações, a concentrações equivalentes de RNA de 0,5 fg/ensaio, 5 fg/ensaio e 50 fg/ensaio (equivalentes de rRNA de 0,25 IFU/ml, 2,5 IFU/ml ou 25 IFU/ml) para CT ou 25 fg/ensaio, 250 fg/ensaio ou 2500 fg/ensaio para GC (equivalentes de rRNA de 12,5 CFU/ml, 125 CFU/ml ou 1250 CFU/ml). Os equivalentes de rRNA foram calculados com base no tamanho do genoma e na relação DNA:RNA por célula estimada de cada organismo. Estes painéis foram testados em três Panther systems com três lotes de reagentes em réplicas de 96. Calculou-se a concordância com o resultado esperado. A concordância com os resultados esperados foi de 100% (IC de 95% entre 96,1–100%) em todos os painéis de urina, de 100% (IC de 95% entre 96,0–100%) em todos os painéis de citologia líquida em solução PreservCyt e de 100% (IC de 95% entre 96,1–100%) em todos os painéis de STM. A sensibilidade analítica do ensaio foi de 2,5 IFU/ml para CT e de 125 CFU/ml para GC.

A sensibilidade analítica de FI-nvCT foi determinada testando diluições de transcrição *in vitro* em espécimes de urina negativos, espécimes de ThinPrep negativos e espécimes de matriz de esfregaços simulados. Foram testadas trinta réplicas de cada diluição no Panther System com cada um dos três lotes de reagentes da versão atualizada do Aptima Combo 2 Assay, num total de 90 réplicas por tipo de espécime. A sensibilidade analítica foi determinada como sendo inferior a uma IFU por ensaio em espécimes de urina, ThinPrep e matriz de esfregaços simulados. As capacidades de detecção da versão atualizada do Aptima Combo 2 Assay foram confirmadas em várias variantes de CT.

Estudo de reprodutibilidade

A precisão do Aptima Combo 2 assay foi avaliada com três Panther systems e três lotes de kits Aptima Combo 2 assay ao longo de um período de 24 dias. Criaram-se painéis, enriquecendo STM com rRNA de CT e/ou de GC nas concentrações indicadas na Tabela 28. Os operadores efetuaram duas execuções diárias, analisando cada membro do painel em duas réplicas por execução. A concordância com o resultado esperado foi calculada e a precisão foi estimada de acordo com as diretrizes EP5-A2 da NCCLS (37). O número total de réplicas de cada painel foi de 96. A Tabela 28 apresenta os dados RLU da precisão em termos de Média, Desvio padrão, Coeficiente de variação (CV), percentagem de concordância com os resultados esperados e cálculos de variabilidade entre instrumentos, entre lotes, entre execuções e intraexecuções bem como a variabilidade total.

Tabela 28: Precisão do Panther para o Aptima Combo 2 Assay

Matriz	CT (IFU/ml)	GC (CFU/ml)	N*	RLU média (x1000)	% Conc	Entre instrumentos		Entre lotes		Entre execuções		Intraexecução		Total	
						DP (x1000)	CV (%)	DP (x1000)	CV (%)	DP (x1000)	CV (%)	DP (x1000)	CV (%)	DP (x1000)	CV (%)
STM	0	0	96	6	100	0,06	1	0,88	13,5	0	0	1,02	15,7	1,3	20,1
	0,25	0	95	1226	100	70,03	5,7	20,03	1,6	8,43	0,7	47,05	3,8	87,1	7,1
	2,5	0	96	1249	100	77,97	6,2	6,11	0,5	0	0	32,87	2,6	84,8	6,8
	25	0	95	1268	100	72,85	5,7	15,3	1,2	0	0	39,58	3,1	84,3	6,6
	0	12,5	96	1081	100	18,44	1,7	28,59	2,6	0	0	26,68	2,5	43,2	4
	0	125	96	1266	100	29,81	2,4	0	0	8,86	0,7	27,58	2,2	41,6	3,3
	0	1250	96	1309	100	29,41	2,2	0	0	9,83	0,8	31,83	2,4	44,4	3,4
	2,5	125	96	2456	100	86,58	3,5	0	0	0	0	52,99	2,2	101,5	4,1
	2,5	2500	96	2509	100	73,13	2,9	0	0	19,8	0,8	46,77	1,9	89	3,5
	1000	2500	96	2496	100	31,72	1,3	6,14	0,2	0	0	193,66	7,8	196,3	7,9
	1000	125	96	2471	100	83,63	3,4	9,36	0,4	0	0	52,35	2,1	99,1	4
Urina	0	0	94	6	100	0,2	3,2	0,66	10,8	0,36	5,9	1	16,3	1,3	21,2
	0,25	0	95	863	100	70,73	8,2	165,65	19,2	47,97	5,6	132,27	15,3	228,6	26,5
	2,5	0	95	1129	100	56,02	5	89,56	7,9	8,56	0,8	74,19	6,6	129,4	11,5
	25	0	96	1246	100	60,45	4,9	13,97	1,1	13,36	1,1	43,03	3,5	76,7	6,2
	0	12,5	96	1016	100	18,83	1,9	31,81	3,1	7,88	0,8	49,53	4,9	62,3	6,1
	0	125	96	1209	100	49,32	4,1	23,5	1,9	1,68	0,1	40,28	3,3	67,9	5,6
	0	1250	96	1252	100	53,01	4,2	40,34	3,2	7,72	0,6	40,23	3,2	78,2	6,2
	2,5	125	95	2290	100	73,92	3,2	40,88	1,8	10,43	0,5	56,12	2,5	101,9	4,4
PreservCyt	0	0	96	7	100	0	0	0,8	11,7	0	0	1,54	22,4	1,7	24,7
	0,25	0	96	1113	100	92,29	8,3	30,08	2,7	0	0	63,57	5,7	116	10,4
	2,5	0	96	1194	100	62,54	5,2	24,83	2,1	0	0	47,01	3,9	82,1	6,9
	25	0	95	1222	100	65,14	5,3	26,36	2,2	14,67	1,2	34,97	2,9	79,8	6,5
	0	12,5	93	994	100	33,28	3,3	36,92	3,7	15,97	1,6	26,15	2,6	58,4	5,9
	0	125	95	1189	100	40,1	3,4	4,45	0,4	10,87	0,9	21,44	1,8	47	4
	0	1250	95	1239	100	37,69	3	7,47	0,6	13,61	1,1	18,04	1,5	44,6	3,6
	2,5	125	95	2333	100	99,68	4,3	35,27	1,5	12,61	0,5	48,86	2,1	117,2	5

Nota: a variabilidade de alguns fatores pode ser numericamente negativa, o que pode ocorrer se a variabilidade devido a esses fatores for muito pequena. Quando tal ocorre, DP=0 e CV=0%.

*Número total de réplicas de cada painel = 96. Em execuções selecionadas, não se voltou a testar as réplicas individuais inválidas.

Estudo da especificidade analítica

A especificidade analítica da versão atualizada do Aptima Combo 2 assay foi avaliada utilizando um subconjunto de micro-organismos indicados na Tabela 15 e na Tabela 16. Os 86 micro-organismos testados consistiram principalmente em estirpes de vírus, bactérias e leveduras. Concluiu-se que nenhum dos micro-organismos testados exercem impacto sobre o desempenho ou a especificidade analítica da versão atualizada do Aptima Combo 2 assay.

Estudo de equivalência de substâncias interferentes

O sangue habitualmente encontrado em espécimes urogenitais pode interferir em alguns ensaios de amplificação. Utilizou-se sangue total para estabelecer o grau de interferência do sangue no Panther system em relação a este possível interferente. Adicionou-se sangue fresco a grupos clínicos de espécimes de esfregaço vaginal, espécimes de Pap líquido em solução PreservCyt pós-processados ou espécimes de urina e estes foram testados para determinar uma possível interferência com o ensaio na presença e na ausência do CT e GC alvo. Utilizaram-se os equivalentes de rRNA estimado de um CT IFU/ensaio (5 fg/ensaio) e de 50 GC células/ensaio (250 fg/ensaio) como concentrações-alvo, pois estes representam a sensibilidade analítica do ensaio. Os espécimes foram testados no Panther system. Todas as amostras com ácido nucleico alvo resultaram positivas quando testadas a uma concentração de 10% (vol/vol) de sangue em esfregaço ou em espécimes de Pap líquido em solução PreservCyt e de 30% (vol/vol) de sangue em espécimes de urina. Todas as amostras que não continham o alvo foram corretamente identificadas como negativas tanto para CT como para GC. Estes resultados foram idênticos aos demonstrados no Tigris DTS system quando enriquecidos com as mesmas quantidades de sangue. O sangue adicionado aos espécimes de esfregaço, PreservCyt e de urina, em concentrações muito mais altas do que o previsto com uma colheita normal de espécimes, não interferiu com os resultados no Panther system.

Estudos de contaminação por transferência para o Panther System

Para estabelecer se o Panther system minimiza o risco de resultados falsos positivos decorrentes de contaminação por transferência, realizou-se um estudo analítico de múltiplas execuções com painéis enriquecidos em três Panther systems. A contaminação por transferência foi avaliada utilizando cerca de 20% de amostras de GC de título elevado dispersas entre amostras negativas. As execuções incluíram agregados de amostras fortemente positivas com agregados de amostras negativas, assim como positivos fortes únicos dispersos segundo um padrão específico pela execução. As amostras de título elevado foram preparadas utilizando STM enriquecido com rRNA de GC de forma a obter uma concentração final de 5×10^5 fg rRNA/reação (equivalente a um rRNA de $2,5 \times 10^5$ CFU/ml). Os testes efetuaram-se utilizando 5 execuções em cada um dos três Panther systems, num total de 2936 amostras negativas. A taxa de contaminação por transferência global foi de 0%, com um intervalo de confiança de 95% situado entre 0–0,1%. Quatro amostras negativas foram declaradas inválidas e excluídas dos cálculos.

Estudo de concordância de espécimes clínicos

A concordância de espécimes clínicos entre a versão original e a versão atualizada do Aptima Combo 2 assay foi avaliada utilizando resíduos de espécimes de esfregaços colhidos em doentes submetidos a rastreios de *Chlamydia trachomatis* (CT) e/ou *Neisseria gonorrhoeae* (GC). Foi testada uma única réplica de cada espécime com a versão original e a versão atualizada do Aptima Combo 2 assay no Panther system. A Tabela 29 e a Tabela 30 mostram a percentagem de concordância geral, de positivos e de negativos de CT e GC nos 325 espécimes avaliados.

Tabela 29: Estudo de concordância de espécimes clínicos de *Chlamydia trachomatis*

		Versão original do AC2 Assay	
		CT Positivo	CT Negativo
Versão atualizada do AC2 Assay	CT Positivo	49	3
	CT Negativo	0	273
Percentagem de concordância de positivos (IC de 95%): 100% (92,7% - 100%)			
Percentagem de concordância de negativos (IC de 95%): 98,9% (96,9% - 99,6%)			
Percentagem de concordância geral (IC de 95%): 99,1% (97,3% - 99,7%)			

Tabela 30: Estudo de concordância de espécimes clínicos de *Neisseria gonorrhoeae*

		Versão original do AC2 Assay	
		GC Positivo	GC Negativo
Versão atualizada do AC2 Assay	GC Positivo	47	1
	GC Negativo	0	275
Percentagem de concordância de positivos (IC de 95%): 100% (92,4% - 100%)			
Percentagem de concordância de negativos (IC de 95%): 99,6% (98,0% - 99,9%)			
Percentagem de concordância geral (IC de 95%): 99,7% (98,3% - 99,9%)			

Foram excluídas desta análise duas amostras com resultados equívocos para GC.

Tipos de espécime extragenital (espécimes de esfregaço faríngeo e retal)

Resumo

Coletivamente, os dados analíticos e clínicos fornecidos abaixo suportam o uso do Aptima Combo 2 Assay para testar espécimes de esfregaço faríngeo e retal para a detecção qualitativa e a diferenciação de RNA ribossômico (rRNA) de *Chlamydia trachomatis* (CT) e/ou *Neisseria gonorrhoeae* (GC) para ajudar a diagnosticar doenças provocadas por clamídias e/ou gonococos.

Estudo de sensibilidade analítica

No caso de esfregaços faríngeos e retais, determinou-se um limite de detecção de 95% para os esfregaços extragenitais com o Aptima Combo 2 Assay. Dois serotipos de CT (E e G) e dois isolados clínicos de GC foram adicionados a grupos destes esfregaços. Os painéis foram testados em dois Panther systems, utilizando um lote de reagente num mínimo de 20 réplicas ao longo de oito dias.

O limite de detecção de 95% para os esfregaços faríngeos foi de 0,005 IFU/ml (IC de 95% entre 0,003-0,020) para CT e de 0,10 CFU/ml (IC entre 95% de 0,09-0,13) para GC. O limite de detecção de 95% para os esfregaços retais foi de 0,007 IFU/ml (IC de 95% entre 0,005-0,023) para CT e de 0,10 CFU/ml (IC entre 95% de 0,09-0,12) para GC.

Dados do desempenho clínico

Os dados do desempenho clínico foram avaliados a partir de 15 artigos de literatura científica (1, 2, 3, 13, 16, 19, 21, 31, 34, 38, 39, 48, 49, 52, 53), relativos ao uso do Aptima Combo 2 Assay no teste de espécimes extragenitais.

Nos espécimes de esfregaço faríngeo de CT, os estudos indicaram estimativas percentuais de 100% para a sensibilidade e de 100% para a especificidade (38). Nos espécimes de esfregaço retal de CT, os estudos indicaram estimativas percentuais da sensibilidade entre 71% e 100% e estimativas percentuais da especificidade entre 95,6% e 100% (1, 2, 3, 13, 34, 38).

Nos espécimes de esfregaço faríngeo de GC, os estudos indicaram estimativas percentuais da sensibilidade entre 88,2% e 100% e estimativas percentuais da especificidade entre 87,8% e 100% (2, 38). Nos espécimes de esfregaço retal de GC, os estudos indicaram estimativas percentuais da sensibilidade entre 75% e 100% e estimativas percentuais da especificidade entre 87,9% e 100% (3, 13, 21, 34, 38, 48).

Reatividade cruzada dos micro-organismos

Para ver uma lista dos micro-organismos testados relativamente à reatividade cruzada em esfregaços faríngeos e retais, consulte a Tabela 16.

Substâncias potencialmente interferentes

As seguintes substâncias interferentes, as quais podem ser encontradas em esfregaços extragenitais, foram individualmente adicionadas a STM: medicação para aftas, protetor labial, pomadas hemorroidais, fezes humanas, supressores da tosse, pasta de dentes, elixir oral, supositórios laxantes, medicamentos antidiarreicos e antiácidos. Todas foram testadas em relação a possíveis interferências com o ensaio na ausência e na presença de CT e de GC a 3X o limite de detecção de 95% do tipo de amostra. As amostras enriquecidas com CT e GC demonstraram uma positividade mínima de 95% na presença das substâncias. As substâncias não enriquecidas com CT ou GC não obtiveram um resultado positivo relativamente a CT ou GC.

Manuseamento e estabilidade das amostras

Os dados que suportam as condições recomendadas de armazenamento das amostras de esfregaço extragenital foram gerados a partir de um grupo de amostras negativas de esfregaços. Os grupos de amostras faríngeas e retais foram enriquecidos com CT e GC a concentrações de 2X o limite de detecção de 95% por cada tipo de amostra de esfregaço. As amostras enriquecidas foram mantidas a temperaturas de -70 °C, -20 °C, 4 °C e 30 °C. As amostras foram testadas nos dias 0, 8, 15, 23, 36 e 60. Todas as condições de teste foram, pelo menos, 95% positivas para CT e GC, em todas as ocasiões e temperaturas.

Bibliografia

1. **Alexander S et al.** 2007. *Confirming the Chlamydia trachomatis status of referred rectal specimens.* Sex Transm Infect. Jul 83(4):327-9. Epub 2007 May 2.
2. **Alexander S et al.** 2008. Self-taken pharyngeal and rectal swabs are appropriate for the detection of *Chlamydia trachomatis* and *Neisseria gonorrhoeae* in asymptomatic men who have sex with men. Sex Transm Infect. Nov 84(6):488-92.
3. **Bachmann LH et al.** 2010. Nucleic Acid Amplification Tests for Diagnosis of *Neisseria gonorrhoeae* and *Chlamydia trachomatis* Rectal Infections. J. Clin. Microbiol. 48(5):1827.
4. **Beem, M. O., and E. M. Saxon.** 1977. Respiratory tract colonization and a distinctive pneumonia syndrome in infants infected with *Chlamydia trachomatis*. NEJM 296:306-310.
5. **Berger R, Alexander E, Harnisch J et al.** 1979. Etiology, manifestations and therapy of acute epididymitis: prospective study of 50 cases. J Urol, 121(6), 750-754.
6. **Buimer, M., G. J. J. Van Doornum, S. Ching, P. G. H. Peerbooms, P. K. Plier, D. Ram, and H. H. Lee.** 1996. Detection of *Chlamydia trachomatis* and *Neisseria gonorrhoeae* by Ligase chain reaction-based assays with clinical specimens from various sites: implications for diagnostic testing and screening. J. Clin. Microbiol. 34:2395-2400.
7. **Cates, Jr., W., and J. N. Wasserheit.** 1991. Genital chlamydia infections: epidemiology and reproductive sequelae. Am. J. Obstet. Gynecol. 164:1771-1781.
8. **Centers for Disease Control and Prevention.** 2002. Screening Tests to Detect *Chlamydia trachomatis* and *Neisseria gonorrhoeae* infections. United States Morbid. and Mortal. Weekly Rep. 51 (RR-15).
9. **Centers for Disease Control and Prevention.** *Sexually Transmitted Disease Surveillance 2018.* Atlanta: U.S. Department of Health and Human Services; 2019. DOI: 10.15620/cdc.79370.
10. **Chernesky, M. A., D. Jang, J. Sellors, K. Luinstra, S. Chong, S. Castriciano, and J. B. Mahony.** 1996. Urinary inhibitors of polymerase chain reaction and Ligase chain reaction and testing of multiple specimens may contribute to lower assay sensitivities for diagnosing *Chlamydia trachomatis* infected women. Mol. Cell. Probes. 11:243-249.
11. **Ching, S., H. Lee, E. W. Hook, III, M. R. Jacobs, and J. Zenilman.** 1995. Ligase chain reaction for detection of *Neisseria gonorrhoeae* in urogenital swabs. J. Clin. Microbiol. 33:3111-3114.
12. **Chong, S., D. Jang, X. Song, J. Mahony, A. Petrich, P. Barriga, and M. Chernesky.** 2003. Specimen processing and concentration of *Chlamydia trachomatis* added can influence false-negative rates in the LCx assay but not in the Aptima Combo 2 Assay when testing for inhibitors. J. Clin. Microbiol. 41:778-782.
13. **Cosentino LA et al.** 2012. Use of nucleic acid amplification testing for diagnosis of anorectal sexually transmitted infections. J Clin Microbiol. Jun 50(6): 2005-2008.
14. **Crotchfelt, K. A., B. Pare, C. Gaydos, and T. C. Quinn.** 1998. Detection of *Chlamydia trachomatis* by the Hologic AMPLIFIED Chlamydia Trachomatis assay (AMP CT) in urine specimens from men and women and endocervical specimens from women. J. Clin. Microbiol. 36:391-394.
15. **Farrel, D. J.** 1999. Evaluation of AMPLICOR *Neisseria gonorrhoeae* PCR using cppB nested PCR and 16S rRNA PCR. J. Clin. Microbiol. 37:386-390.
16. **Freeman AH et al.** 2011. Evaluation of self-collected versus clinician-collected swabs for the detection of *Chlamydia trachomatis* and *Neisseria gonorrhoeae* pharyngeal infection among men who have sex with men. Sex Transm Dis. Nov 38(11):1036-1039.
17. **Frommell, G. T., R. Rothenberg, S. Wang, and K. McIntosh.** 1979. Chlamydial infection of mothers and their infants. Journal of Pediatrics 95:28-32.
18. **Gaydos, C. A., T.C. Quinn, D. Willis, A. Weissfeld, E. W. Hook, D. H. Martin, D. V. Ferraro, and J. Schachter.** 2003. Performance of the Aptima Combo 2 Assay for detection of *Chlamydia trachomatis* and *Neisseria gonorrhoeae* in female urine and endocervical swab specimens. J. Clin. Microbiol. 41:304-309.
19. **Geiger R et al.** 2016. Investigation of the GeneXpertCT/NG assay for use with male pharyngeal and rectal swabs. Int J STD AIDS. August.
20. **Goessens, W. H. F., J. W. Mouton, W. I. Van Der Meijden, S. Deelen, T. H. Van Rijsoort-Vos, N. L. Toom, H. Verbrugh, and R. P. Verkooyen.** 1997. Comparison of three commercially available amplification assays, AMP CT, LCx, and COBAS AMPLICOR, for detection of *Chlamydia trachomatis* in first-void urine. J. Clin. Microbiol. 35:2628-2633.
21. **Harryman L et al.** 2012. Comparative performance of culture using swabs transported in Amies medium and the Aptima Combo 2 nucleic acid amplification test in detection of *Neisseria gonorrhoeae* from genital and extragenital sites: a retrospective study. Sex Transm Infect. Feb 88(1):27-31.
22. **Hokynar K, et al.** The Finnish New Variant of Chlamydia trachomatis with a Single Nucleotide Polymorphism in the 23S rRNA Target Escapes Detection by the Aptima Combo 2 Test. Microorganisms 2019, 7(8), 227. <https://www.mdpi.com/2076-2607/7/8/227/htm>.
23. **Holmes, K. K., G. W. Counts, and H. N. Beatz.** 1971. Disseminated Gonococcal infection. Ann. of Intern. Med. 74:979-993.
24. **Holmes, K. K., H. H. Handsfield, S. P. Wang, B. B. Wentworth, M. Turck, J. B. Anderson, and E. R. Alexander.** 1975. Etiology of nongonococcal urethritis. NEJM 292:1199-1205.
25. **Hook, E. W., III, and H. H. Handsfield.** 1999. Gonococcal infections in the adult. p. 458. In K. Holmes et al. (eds.) Sexually Transmitted Diseases. McGraw Hill, New York, NY.
26. **Jaschek, G., C. A. Gaydos, L. E. Welsh, and T. C. Quinn.** 1993. Direct detection of *Chlamydia trachomatis* in urine specimens from symptomatic and asymptomatic men by using a rapid polymerase chain reaction assay. J. Clin. Microbiol. 31:1209-1212.

27. **Johansen TB, et al.** The 'Finnish new variant of *Chlamydia trachomatis*' escaping detection in the Aptima Combo 2 Assay is widespread across Norway, June to August 2019. *Euro Surveill.* 2019;24(42):pii=1900592. <https://www.eurosurveillance.org/content/10.2807/1560-7917.ES.2019.24.42.1900592>.
28. **Krauss, S. J., R. C. Geller, G. H. Perkins, and D. L. Rhoden.** 1976. Interference of *Neisseria gonorrhoeae* growth by other bacterial species. *J. Clin. Microbiol.* 4:288-295.
29. **Lanjouw E, et al.** Int J STD AIDS. 2015. 2015 European guideline on the management of *Chlamydia trachomatis* infections. <https://www.iusti.org/regions/Europe/pdf/2015/Chlamydia2015.pdf>.
30. **Mahony, J., S. Chong, D. Jang, K. Luinstra, M. Faught, D. Dalby, J. Sellors, and M. Chernesky.** 1998. Urine specimens from pregnant and nonpregnant women inhibitory to amplification of *Chlamydia trachomatis* nucleic acid by PCR, Ligase chain reaction, and transcription-mediated amplification: identification of urinary substances associated with inhibition and removal of inhibitory activity. *J. Clin. Microbiol.* 36:3122-3126.
31. **Mahto M., Mallinson H.** 2012. Response to 'Comparative performance of culture using swabs transported in Amies medium and the Aptima Combo 2 nucleic acid amplification test in detection of *Neisseria gonorrhoeae* from genital and extragenital sites: a retrospective study. *Sex Transm Infect.* Apr; 88(3):211.
32. **Masi, A. T., and B. I. Eisenstein.** 1981. Disseminated Gonococcal Infections (DGI) and Gonococcal Arthritis (GCA): II Clinical Manifestations, Diagnosis, Complications, Treatment and Prevention. *Semin. Arthritis Rheum.* 10:173.
33. **McCurdy, Brenda W.** 1997. Cumitech Guide on Verification and Validation of Procedures in the Microbiology Laboratory. February, 1997, American Society for Microbiology. ASM Press.
34. **Moncada J et al.** 2009. Evaluation of self-collected glans and rectal swabs from men who have sex with men for detection of *Chlamydia trachomatis* and *Neisseria gonorrhoeae* by use of nucleic acid amplification tests. *J Clin Microbiol.* Jun 47(6): 1657-62.
35. **National Committee for Clinical Laboratory Standards.** 1999. NCCLS EP5-A: Evaluation of Precision Performance of Clinical Chemistry Devices; Approved Guideline (Vol. 19, No. 2).
36. **National Committee for Clinical Laboratory Standards.** 2002. User Protocol for Evaluation of Qualitative Test Performance: Approved Guideline for additional Guidance on Appropriate Internal Quality Control Testing Practices.
37. **National Committee for Clinical Laboratory Standards.** 2004. NCCLS EP5-A2: Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods: Approved Guideline (2nd edition, Vol. 24, No. 25).
38. **Ota KV et al.** 2009. Detection of *Neisseria gonorrhoeae* and *Chlamydia trachomatis* in pharyngeal and rectal specimens using the BD Probetec ET system, the Hologic Aptima Combo 2 Assay and culture. *Sex Transm Infect.* Jun 85(3):182-6.
39. **Papp JR et al.** 2007. The use and performance of oral-throat rinses to detect pharyngeal *Neisseria gonorrhoeae* and *Chlamydia trachomatis* infections. *Diagn Microbiol Infect Dis.* Nov 59(3):259-264. Epub 2007 Jul 26.
40. **Papp JR, Schachter J, Gaydos CA, et al.** Recommendations for the laboratory-based detection of *Chlamydia trachomatis* and *Neisseria gonorrhoeae*-2014. *MMWR Recomm Rep.* 2014;63:1-19. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4047970>.
41. **Peterson E. M., V. Darrow, J. Blanding, S. Aarnaes, and L. M. de La Maza.** 1997. Reproducibility problems with the AMPLICOR PCR *Chlamydia trachomatis* test, *J. Clin. Microbiol.* 35:957-959.
42. **Rantakokko-Jalava et al.** *Chlamydia trachomatis* samples testing falsely negative in the Aptima Combo 2 test in Finland, 2019. *Euro Surveill.* 2019;24(22):pii=1900298. <https://www.eurosurveillance.org/content/10.2807/1560-7917.ES.2019.24.22.1900298>.
43. **Roberts DJ, et al.** Prevalence of new variants of *Chlamydia trachomatis* escaping detection by the Aptima Combo 2 Assay, England, June to August 2019. *Euro Surveill.* 2019;24(38):pii=1900557. <https://www.eurosurveillance.org/content/10.2807/1560-7917.ES.2019.24.38.1900557>.
44. **Schachter, J.** 1985. *Chlamydiae* (Psittacosis-Lymphogranuloma Venereum-Trachoma group), p. 856-862. In E. H. Lennette, et al. (ed.), *Manual of Clinical Microbiology*, 4th ed. American Society for Microbiology, Washington, D.C.
45. **Schachter, J., and M. Grossman.** 1981. chlamydial infections. *Ann. Rev. Med.* 32:45-61.
46. **Schachter, J.** 1978. Medical progress: chlamydial infections (third of three parts). *NEJM* 298:540-549.
47. **Schachter, J., E. C. Hill, E. B. King, V. R. Coleman, P. Jones, and K. F. Meyer.** 1975. Chlamydial infection in women with cervical dysplasia. *Am. J. Obstet. Gynecol.* 123:753-757.
48. **Schachter J et al.** 2008. Nucleic acid amplification tests in the diagnosis of chlamydial and gonococcal infections of the oropharynx and rectum in men who have sex with men. *Sex Transm Dis.* Jul 35(7):637-642.
49. **Sexton ME et al.** 2013. How reliable is self-testing for gonorrhea and chlamydia among men who have sex with men? *J Fam Pract.* Feb 62(2):70-78.
50. **Stary, A., E. Schuh, M. Kerschbaumer, B. Gotz, and H. Lee.** 1998. Performance of transcription-mediated amplification and Ligase chain reaction assays for detection of chlamydial infection in urogenital samples obtained by invasive and noninvasive methods. *J. Clin. Microbiol.* 36:2666-2670.
51. **Toye, B., W. Woods, M. Bobrowska, and K. Ramotar.** 1998. Inhibition of PCR in genital and urine specimens submitted for *Chlamydia trachomatis* testing. *J. Clin. Microbiol.* 36:2356-2358.
52. **Turner AN et al.** HIV, rectal chlamydia, and rectal gonorrhoeae in men who have sex with men attending a sexually transmitted disease clinic in a Midwestern US city. *Sex Transm Dis.* Jun 40(6):433-438.
53. **Turra M et al.** 2015. Detection and Confirmation of *Neisseria gonorrhoeae* Infections in Genital and Extragenital Samples using Aptima Assays on the Panther™ Instrument. *Microbiol Pathol.* 1(2): 018.
54. **Unemo and Clarke.** The Swedish new variant of *Chlamydia trachomatis*. *Curr Opin Infect Dis.* 2011 Feb;24(1):62-9. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21157332>.

55. **Unemo M, et al.** Letter to the editor: Chlamydia trachomatis samples testing falsely negative in the Aptima Combo 2 test in Finland, 2019. *Euro Surveill.* 2019;24(24):pii=1900354. <https://www.eurosurveillance.org/content/10.2807/1560-7917.ES.2019.24.24.1900354>.
56. **Unemo M, et al.** Finnish new variant of Chlamydia trachomatis escaping detection in the Aptima Combo 2 Assay also present in Örebro County, Sweden, May 2019. *Euro Surveill.* 2019;24(26):pii=1900370. <https://www.eurosurveillance.org/content/10.2807/1560-7917.ES.2019.24.26.1900370>.
57. **Verkooyen, R. P., A. Luijendijk, W. M. Huisman, W. H. F. Goessens, J. A. J. W. Kluytmans, J. H. Rijsoort-Vos, and H. A. Verbrugh.** 1996. Detection of PCR inhibitors in cervical specimens by using the AMPLICOR *Chlamydia trachomatis* assay. *J. Clin. Microbiol.* **34**:3072-3074.
58. **Vincelette, J., J. Schirm, M. Bogard, A. Bourgault, D. Luijt, A. Bianchi, P. C. Van Voorst Vader, A. Butcher, and M. Rosenstraus.** 1999. Multicenter evaluation of the fully automated COBAS AMPLICOR PCR test for detection of *Chlamydia trachomatis* in urogenital specimens. *J. Clin. Microbiol.* **3**:74-80.
59. **Yuan, Y., Y-X. Zhang, N. G. Watkins, and H. D. Caldwell.** 1989. Nucleotide and deduced amino acid sequences for the four variable domains of the major outer membrane proteins of the 15 *Chlamydia trachomatis* serovars. *Infect. Immun.* **57**:1040-1049.



Hologic, Inc.
10210 Genetic Center Drive
San Diego, CA 92121 EUA



Hologic BVBA
Da Vincilaan 5
1930 Zaventem
Belgium

Apoio ao cliente: +1 800 442 9892
customersupport@hologic.com

Suporte técnico: +1 888 484 4747
molecularsupport@hologic.com

Para mais informações de contacto, visite www.hologic.com.

Hologic, Aptima, Aptima Combo 2, DTS, Leader, Panther, PreservCyt, ThinPrep e Tigris são marcas comerciais da Hologic, Inc. e/ou das respetivas subsidiárias nos Estados Unidos e/ou em outros países.

eppendorf (estilizado) e REPEATER são marcas comerciais da Eppendorf AG.
TECAN e FREEDOM EVO são marcas comerciais da Tecan Group AG.

Quaisquer outras marcas comerciais que possam aparecer neste folheto informativo pertencem aos respetivos proprietários.

Este produto pode estar abrangido por uma ou mais das patentes dos EUA identificadas em www.hologic.com/patents.

© 2001–2020 Hologic, Inc. Todos os direitos reservados.

AW-19693-601 Rev. 001
2020-04