

Aptima™ Trichomonas vaginalis Assay (Panther® System)

Instruções de utilização
Para diagnóstico *in vitro*
Exclusivamente para exportação dos EUA.

Informações gerais	2
Utilização prevista	2
Resumo e explicação do teste	2
Princípios do procedimento	3
Resumo de segurança e desempenho	3
Advertências e precauções	3
Requisitos de conservação e manuseamento de reagentes	7
Colheita e conservação de espécimes	8
Sistema Panther	10
Reagentes e materiais fornecidos	10
Materiais necessários, mas disponíveis separadamente	11
Materiais opcionais	12
Procedimento de teste no Panther System	13
Notas sobre o procedimento	16
Interpretação dos testes - CQ/Resultados do paciente	18
Limitações	19
Valores esperados	21
Valores preditivos positivos e negativos para taxas de prevalência hipotéticas	22
Desempenho clínico do Panther System	24
Estudo clínico	24
Distribuição da RLU dos controlos Aptima Trichomonas vaginalis	30
Desempenho analítico do Panther System	31
Sensibilidade analítica	31
Reatividade cruzada na presença de micro-organismos	31
Interferência	32
Estudo de reprodutibilidade	33
Contaminação por transferência	34
Estabilidade dos espécimes	34
Bibliography	35
Informações de contacto e histórico de revisões	36

Informações gerais

Utilização prevista

O Aptima™ *Trichomonas vaginalis* (TV) Assay é um teste qualitativo de amplificação de ácidos nucleicos (NAAT) *in vitro* para a detecção do ARN ribossômico (rRNA) de *Trichomonas vaginalis*, utilizado como auxiliar no diagnóstico de tricomoníase com o sistema Panther®.

O ensaio pode ser utilizado para testar os seguintes espécimes de indivíduos sintomáticos ou assintomáticos: esfregaços endocervicais colhidos pelo médico, esfregaços vaginais colhidos pelo médico e colhidos pela paciente, espécimes de urina de ambos os sexos, e espécimes colhidos em solução PreservCyt™.

Resumo e explicação do teste

T. vaginalis (TV) é o agente de doenças sexualmente transmissíveis (DST) curáveis mais comum nos Estados Unidos; calcula-se que todos os anos ocorrem cerca de 7,4 milhões de casos novos (1, 2).

Nas mulheres, as infecções provocam vaginite, uretrite e cervicite. Podem ocorrer corrimentos vaginais e pequenas lesões hemorrágicas no trato genit urinário. As complicações podem incluir partos prematuros, recém-nascidos com baixo peso, rutura prematura das membranas e infecção pós-aborto ou pós-histerectomia. Foi relatada uma associação com a doença inflamatória pélvica, infertilidade tubária e cancro cervical com episódios prévios de tricomoníase.

As mulheres sintomáticas com tricomoníase comunicam normalmente descargas vaginais, sensibilidade vulvovaginal e/ou irritação. A disúria é igualmente comum. No entanto, estima-se que entre 10 a 50% das infecções por *T. vaginalis* nas mulheres sejam assintomáticas e que nos homens a proporção possa ser ainda mais elevada (3, 4, 5).

Os sintomas comunicados da infecção do trato urogenital por trichomonas nos homens incluem corrimento peniano, dor durante a micção e a relação sexual, e dor na virilha e nos testículos (6). A prevalência da infecção por trichomonas nos homens varia entre 0,49% numa população assintomática de baixo risco (7) e 6% em populações com risco elevado de infecção (8, 9).

A detecção de *T. vaginalis* com os métodos de cultura tradicionais é tecnicamente difícil e pode demorar até 7 dias. A inoculação imediata no suporte é o método preferido e são necessárias condições adequadas de incubação bem como exames microscópicos frequentes do suporte para garantir uma cultura bem sucedida do protozoário. Estima-se que a sensibilidade da cultura varie entre os 38% e os 82% quando comparada com a dos métodos moleculares devido a problemas de visualização do reduzido número de organismos ou à mobilidade do protozoário (10, 11).

A detecção de *T. vaginalis* também pode efetuar-se com uma preparação “húmida”, misturando as secreções vaginais com soro fisiológico numa lâmina e examinando-a num microscópio. No entanto, a sensibilidade do método húmido situa-se apenas entre os 35% e os 80% quando comparada com a da cultura (11). A sensibilidade do método húmido depende em grande medida da experiência do microscopista bem como do tempo de transporte do espécime para o laboratório.

Princípios do procedimento

O Aptima TV Assay envolve as tecnologias de captura do alvo, de amplificação mediada por transcrição (TMA) e de ensaio de proteção da hibridação (HPA).

Os espécimes são colhidos e transferidos para os respectivos tubos de transporte de espécimes. A solução de transporte desses tubos liberta o rRNA alvo e impede a respetiva degradação durante o armazenamento. Quando o Aptima TV Assay se realiza no laboratório, o rRNA alvo é isolado dos espécimes utilizando-se um oligómero de captura específico e de micropartículas magnéticas num método designado por captura do alvo. O oligómero de captura contém uma sequência complementar a uma região específica da molécula alvo, bem como uma cadeia de resíduos de desoxiadenosina. Durante o passo de hibridação, a região específica da sequência do oligómero de captura liga-se a uma região específica da molécula alvo. O complexo oligómero de captura: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 oligómero de captura e as moléculas de polidesoxitimidina que estão ligadas de forma covalente às partículas magnéticas.

As micropartículas, incluindo a molécula alvo capturada ligada 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 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. A reação TMA Hologic amplifica uma região específica da pequena subunidade dos ribossomas da *T. vaginalis* através de intermediários de ADN e ARN e gera moléculas do produto da amplificação do ARN. A deteção das sequências do produto da amplificação do rRNA é alcançada com um ensaio de proteção da hibridação baseado em ácidos nucleicos (Hybridization Protection Assay, HPA). Uma sonda de ADN quimioluminescente de cadeia simples, complementar a uma região do produto da amplificação alvo, é marcada com uma molécula de éster de acridina. A sonda de ADN marcada combina com o produto da amplificação para formar híbridos de ARN:ADN 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 deteção, a luz emitida pelos híbridos de ARN:ADN marcados é medida como sinais de fótons num luminómetro e indicada em unidades de luz relativas (RLU).

Resumo de segurança e desempenho

O Resumo de segurança e desempenho (SSP, Summary of Safety and Performance) está disponível na base de dados europeia de dispositivos médicos (Eudamed), onde está associado aos identificadores do dispositivo (UDI-DI básico). Para localizar o SSP do Aptima TV Assay, consulte o identificador único do dispositivo básico (BUDI), que é:

54200455DIAGAPTRICHWY.

Advertências e precauções

- A. Para diagnóstico *in vitro*.
- B. Para uso profissional.

- C. Para reduzir o risco de resultados inválidos, leia atentamente todo o folheto informativo e o *Panther/Panther Fusion System Operator's Manual* (Manual de instruções do Panther/Panther Fusion System) antes de executar o ensaio.
- D. Este procedimento só deve ser executado por pessoal com a devida qualificação na utilização do Aptima TV Assay e no manuseamento de materiais potencialmente infecciosos. Se ocorrer um derrame, desinfete imediatamente seguindo os procedimentos adequados do local.
- E. Para mais advertências, precauções e procedimentos para controlo de contaminação para o sistema *Panther/Panther Fusion*®, consulte o *Panther/Panther Fusion System Operator's Manual* (Manual do operador do sistema Panther/Panther Fusion).

Relacionadas com o laboratório

- F. Use somente 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. **Advertência: Irritante e Corrosivo.** evite o contacto do Auto Detect 2 com a pele, os olhos e as membranas mucosas. Se este fluido entrar em contacto com a pele ou os olhos, lave com água. Se este fluido se derramar, dilua o derramamento 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).
- J. Elimine todos os materiais que tenham entrado em contacto com espécimes e reagentes, e faça-o e de acordo com os regulamentos locais, nacionais e internacionais aplicáveis.
- K. Utilize as boas práticas padrão para os laboratórios moleculares, incluindo a monitorização ambiental. Consulte *Notas sobre o procedimento* para saber qual é o Protocolo de monitorização da contaminação do laboratório sugerido para o Panther System.

Relacionadas com os espécimes



- L. As datas de validade listadas nos kits de colheita referem-se ao local de colheita, e não à instalação de testes. As amostras colhidas em qualquer momento antes da data de validade do kit de colheita e armazenadas de acordo com o folheto informativo são válidas para testes mesmo que a data de validade no tubo de colheita tenha passado.
- M. Os espécimes podem ser infecciosos. Respeite as precauções universais quando realizar este ensaio. A administração do laboratório deve estabelecer métodos adequados de manuseamento e eliminação. Apenas membros de equipa com a formação adequada no manuseamento de materiais infecciosos devem ter permissão para realizar este procedimento diagnóstico.

- N. Evite a contaminação cruzada durante os passos de manuseamento de espécimes. Os espécimes podem conter níveis de organismos extremamente elevados. Certifique-se de que os recipientes de espécimes de diferentes pacientes não entram em contacto uns com os outros durante o manuseamento dos espécimes no laboratório. Mude de luvas se estas entrarem em contacto com um espécime.
- O. Elimine os materiais usados sem passar por cima de qualquer outro recipiente.
- P. Após a perfuração, e sob determinadas condições, o líquido pode vazar das tampas dos tubos de transferência Aptima. Consulte a *Procedimento de teste no Panther System* para obter mais informações.
- Q. 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.
- R. Mantenha as condições de conservação adequadas durante o transporte de espécimes, para garantir a integridade do espécime. A estabilidade do espécime noutras condições de transporte que não as recomendadas não foi avaliada.
- S. 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.

Relacionadas com o ensaio

- T. Feche e guarde os reagentes nas temperaturas especificadas. O desempenho do ensaio pode ser afetado pela utilização de reagentes conservados de forma incorreta. Consulte as secções *Requisitos de conservação e manuseamento de reagentes* e *Procedimento de teste no Panther System* para obter mais informações.
- U. Utilize as precauções universais para manusear os controlos.
- V. Evite a contaminação microbiana e por ribonuclease dos reagentes.
- W. Não utilize um kit ou controlo após o fim do respetivo prazo de validade.
- X. Não troque, misture, nem combine reagentes do ensaio de kits com números de lote mestre diferentes. É possível trocar os controlos e os fluidos do ensaio.
- Y. Não combine quaisquer reagentes ou fluidos do ensaio sem instruções específicas para tal. Não adicione reagentes ou fluidos. O Panther System verifica os níveis dos reagentes.
- Z. Alguns reagentes deste kit possuem símbolos de risco e segurança nos rótulos.

Nota: A comunicação dos perigos reflete as classificações das Fichas de Dados de Segurança (Safety Data Sheets, FDS) da União Europeia (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.hologicds.com. Para obter mais informações sobre os símbolos, consulte a legenda dos símbolos em www.hologic.com/package-inserts.

Informações sobre riscos para a UE	
—	<p>Reagente de amplificação <i>HEPES 25–30%</i></p> <p>—</p> <p>H412 - Nocivo para os organismos aquáticos com efeitos duradouros P273 - Evitar a libertação para o ambiente P501 - Eliminar o conteúdo/recipiente num centro de eliminação de resíduos aprovado.</p>
—	<p>Reagente enzimático <i>TRITON X-100 0–5%</i></p> <p>—</p> <p>H402 - Nocivo para os organismos aquáticos. P273 - Evitar a libertação para o ambiente. P501 - Eliminar o conteúdo/recipiente num centro de eliminação de resíduos aprovado.</p>
—	<p>Reagente de sonda <i>LAURYL SULFATE LITHIUM SALT 35–40%</i> <i>SUCCINIC ACID 10–15%</i></p> <p>—</p> <p>H412 - Nocivo para os organismos aquáticos com efeitos duradouros. P273 - Evitar a libertação para o ambiente. P501 - Eliminar o conteúdo/recipiente num centro de eliminação de resíduos aprovado.</p>
—	<p>Solução de reconstituição enzimática <i>GLICERINA 20–25%</i> <i>TRITON X-100 5–10%</i></p> <p>—</p> <p>H402 - Nocivo para os organismos aquáticos. P273 - Evitar a libertação para o ambiente. P501 - Eliminar o conteúdo/recipiente num centro de eliminação de resíduos aprovado.</p>
 	<p>Reagente de seleção <i>ÁCIDO BÓRICO 0–10%</i> <i>TRITON X-100 0–10%</i> <i>HIDRÓXIDO DE SÓDIO 0–10%</i></p> <p>Perigo H315 - Provoca irritação cutânea. H360FD - Pode afetar a fertilidade. Pode afetar o nascituro. P264 - Lavar o rosto, as mãos e toda a pele exposta cuidadosamente após manuseamento. P280 - Usar luvas de proteção/vestuário de proteção/proteção ocular/proteção facial. P321 - Tratamento específico (ver instruções de primeiros socorros suplementares no presente rótulo). P201 - Pedir instruções específicas antes da utilização. P202 - Não manuseie o produto antes de ter lido e percebido todas as precauções de segurança. P405 - Armazenar em local fechado à chave. P501 - Eliminar o conteúdo/recipiente num centro de eliminação de resíduos aprovado.</p>

Reagente de captura do alvo**HEPES 5-10%****EDTA 1-5%****LITHIUM HYDROXIDE, MONOHYDRATE 1-5%**

H401 - Tóxico para os organismos aquáticos.

H412 - Nocivo para os organismos aquáticos com efeitos duradouros.

P273 - Evitar a libertação para o ambiente.

P501 - Eliminar o conteúdo/recipiente num centro de eliminação de resíduos aprovado.

Requisitos de conservação e manuseamento de reagentes

- A. A tabela seguinte apresenta as condições de conservação e de estabilidade dos reagentes e dos controlos:

Reagente	Conservação fechada	Kit aberto (reconstituído)	
		Conservação	Estabilidade
Reagente de amplificação	2 °C a 8 °C		
Reagente enzimático	2 °C a 8 °C		
Reagente de sonda	2 °C a 8 °C		
Reagente de captura do alvo B	2 °C a 8 °C		
Solução de reconstituição da amplificação	2 °C a 30 °C	2 °C a 8 °C	60 dias
Solução de reconstituição enzimática	2 °C a 30 °C	2 °C a 8 °C	60 dias
Solução de reconstituição de sonda	2 °C a 30 °C	2 °C a 8 °C	60 dias
Reagente de seleção	2 °C a 30 °C	2 °C a 30 °C	60 dias
Reagente de captura do alvo	15 °C a 30 °C	15 °C a 30 °C	60 dias
Controlo positivo	2 °C a 8 °C		Frasco de utilização única
Controlo negativo	2 °C a 8 °C		Frasco de utilização única

- B. Após a reconstituição, o reagente de amplificação, o reagente enzimático e o reagente de sonda permanecem estáveis durante 60 dias quando armazenados a uma temperatura entre 2 °C e 8 °C.
- C. O reagente de captura do alvo de trabalho (working Target Capture Reagent, wTCR) permanece estável durante 60 dias quando armazenado a uma temperatura entre 15 °C e 30 °C. Não refrigere.
- D. Se o reagente de seleção estiver armazenado num local refrigerado, deixe-o atingir a temperatura ambiente antes de o inserir no sistema Panther.
- E. Deite fora quaisquer reagentes reconstituídos e o wTCR não usados após 60 dias ou após o prazo de validade do lote mestre, conforme o que ocorrer primeiro.
- F. Os controlos permanecem estáveis até à data indicada nos frascos.
- G. Os reagentes conservados dentro do sistema Panther têm 72 horas de estabilidade.
- H. Evite a contaminação cruzada durante o manuseamento e conservação de reagentes. Tape todos os reagentes reconstituídos com novas tampas de reagente antes de os conservar.

- I. O reagente de sonda e o reagente de sonda reconstituído são fotossensíveis. Mantenha os reagentes protegidos da luz.
- J. Não congele os reagentes.

Colheita e conservação de espécimes

Nota: *Manuseie todos os espécimes como se contivessem agentes potencialmente infecciosos. Respeite as precauções universais.*

Nota: *Tenha cuidado para evitar a contaminação cruzada durante os passos de manuseamento das amostras. Por exemplo, elimine o material usado sem passar por cima de tubos abertos.*

O Aptima TV Assay foi concebido para detetar a presença de *T. vaginalis* em espécimes de esfregaços de origem endocervical colhidos pelo médico, de esfregaços vaginais colhidos pelo médico e colhidos pela paciente, espécimes de urina de ambos os sexos, e espécimes de citologia em solução PreservCyt. Não se avaliou o desempenho com outros espécimes além dos colhidos com os kits de colheita de espécimes seguintes:

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

A. Colheita de espécimes

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

B. Transporte e armazenamento de espécimes antes do teste

1. Espécimes de esfregaço urogenital
 - 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.
 - b. Teste os espécimes nos 60 dias seguintes à colheita. Se necessitar de um período de conservação mais prolongado, congele o tubo de transporte de espécimes a uma temperatura ≤ -20 °C durante um máximo de 24 meses.
2. Espécimes de urina
 - a. Os espécimes de urina que permaneçam no recipiente de colheita primário devem ser transportados para o laboratório a uma temperatura entre 2 °C e 30 °C. Transfira o espécime de urina para o tubo de transporte de espécimes de urina Aptima num período de 24 horas após a colheita.
 - b. Guarde os espécimes de urina processados a uma temperatura entre 2 °C e 30 °C e teste-os num período de 30 dias após a transferência. Se necessitar de um período de armazenamento mais prolongado, guarde o espécime de urina processado a uma temperatura ≤ -20 °C durante um máximo de 24 meses após a transferência.
3. Espécimes colhidos em solução PreservCyt
 - a. Transporte e armazene o espécime em solução PreservCyt a uma temperatura entre 2 °C e 30 °C durante um máximo de 30 dias.

- b. Os espécimes colhidos em solução PreservCyt devem ser transferidos para um tubo de transferência de espécimes Aptima™, de acordo com as instruções incluídas no folheto informativo do kit de transferência de espécimes Aptima e da solução de transferência Aptima.
- c. Após a transferência para um tubo de transferência de espécimes Aptima, os espécimes podem ser guardados durante mais 14 dias a uma temperatura entre 15 °C e 30 °C ou durante 30 dias a uma temperatura entre 2 °C e 8 °C.
- d. Se necessitar de um período de conservação mais prolongado, o espécime em solução PreservCyt ou o espécime de citologia em solução PreservCyt diluído no tubo de transferência de espécimes pode ser armazenado a uma temperatura ≤ -20 °C durante um máximo de 24 meses após a transferência.

C. Conservação de espécimes depois dos testes

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 noutra local, mantenha as temperaturas recomendadas. Antes de retirar as tampas, centrifugue os tubos de transporte de espécimes durante 5 minutos, a uma Força Centrífuga Relativa (RCF) de 420, para levar todo o líquido ao fundo do tubo. **Evite salpicos e contaminação cruzada.**

***Nota:** Os espécimes têm de ser transportados de acordo com os regulamentos de transporte nacionais e internacionais em vigor.*

Sistema Panther

Os reagentes do Aptima TV Assay para o sistema Panther são indicados abaixo. Os símbolos de identificação do reagente também estão indicados junto ao nome do reagente.

Reagentes e materiais fornecidos

Kit do Aptima Trichomonas vaginalis assay (Panther System)

250 testes (2 caixas e 1 kit de controlos) (Código de produto. 303163)

100 testes (2 caixas e 1 kit de controlos) (Código de produto. 303209)

Caixa refrigerada Aptima Trichomonas vaginalis Assay (Caixa 1 de 2) (conservar entre 2 °C e 8 °C após a receção)

Símbolo	Componente	Quantidade	
		Kit de 250 testes	Kit de 100 testes
A	Reagente de amplificação <i>"Primers" e nucleótidos liofilizados em solução tamponada com <5% de agente de volume.</i>	1 frasco	1 frasco
E	Reagente enzimático <i>Transcriptase reversa e ARN polimerase liofilizadas em solução tamponada com HEPES contendo <10% de reagente de volume.</i>	1 frasco	1 frasco
P	Reagente de sonda <i>Sondas de ADN quimioluminescentes liofilizadas em solução tamponada com succinato contendo <5% de detergente.</i>	1 frasco	1 frasco
TCR-B	Reagente de captura do alvo B <i>Solução tamponada com <5% de detergente.</i>	1 x 0,56 ml	1 x 0,30 ml

Caixa à temperatura ambiente Aptima Trichomonas vaginalis Assay (Caixa 2 de 2) (conservar entre 15 °C e 30 °C após a receção)

Símbolo	Componente	Quantidade	
		Kit de 250 testes	Kit de 100 testes
AR	Solução de reconstituição da amplificação <i>Solução aquosa com conservantes.</i>	1 x 27,7 ml	1 x 11,9 ml
ER	Solução de reconstituição enzimática <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 <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 Trichomonas vaginalis Assay (Caixa 2 de 2)
(conservar entre 15 °C e 30 °C após a receção) (continuação)

S	Reagente de seleção <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 <i>Solução tamponada com oligómeros de captura e partículas magnéticas.</i>	1 x 54,0 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 Trichomonas vaginalis
(conservar a uma temperatura entre 2 °C e 8 °C após a receção)

Símbolo	Componente	Quantidade
NC	Controlo negativo <i>Ácido nucleico sem alvo e não infeccioso em solução tamponada com <5% de detergente.</i>	5 x 1,7 ml
PC	Controlo positivo <i>Organismos Trichomonas vaginalis não infecciosos em solução tamponada com <5% de detergente.</i>	5 x 1,7 ml

Materiais necessários, mas disponíveis separadamente

Nota: Os materiais disponibilizados pela Hologic têm a indicação dos códigos de produto, a menos que o contrário seja especificado.

	Código de produto
Sistema Panther	303095
Sistema Panther Fusion	PRD-04172
Sistema Panther, Fluidos e resíduos contínuos (Panther Plus)	PRD-06067
Kit de fluidos Aptima Assay <i>(Solução de lavagem Aptima, tampão para o fluido de desativação Aptima e reagente de óleo Aptima)</i>	303014 (1000 testes)
Kit Aptima Auto Detect	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, 1000 µL, com filtro, condutoras, deteção de líquido e descartáveis.	901121 (10612513 Tecan) 903031 (10612513 Tecan)
<i>Nem todos os produtos estão disponíveis em todas as regiões. Contacte o seu representante para obter informações específicas da região.</i>	MME-04134 (30180117 Tecan) MME-04128
Kit de transferência de espécimes Aptima <i>para utilização com espécimes em solução PreservCyt</i>	301154C
Aptima Specimen Transfer Kit — imprimível <i>para utilização com espécimes em solução PreservCyt</i>	PRD-05110
Kit multiteste de colheita de espécimes de esfregaço Aptima	PRD-03546
Kit unissexo de colheita de espécimes de esfregaço Aptima para espécimes de esfregaço endocervical e da uretra masculina	301041
Kit de colheita de espécimes de urina Aptima para espécimes de urina masculinos e femininos	301040
Tubos de transporte Aptima para espécimes de urina para espécimes de urina masculinos e femininos	105575
Lixívia, solução de hipoclorito de sódio de 5% a 8,25% (0,7 M a 1,16 M)	—
Luvas descartáveis	—
Tampas perfuráveis Aptima	105668
Tampas não perfuráveis de substituição	103036A
Tampas de substituição para kits de 250 testes <i>Amplificação e de reconstituição do reagente de sonda soluções</i>	— CL0041 (100 tampas)
<i>Solução de reconstituição do reagente enzimático</i>	501616 (100 tampas)
<i>TCR e reagente de seleção</i>	CL0040 (100 tampas)
Tampas de substituição para kits de 100 testes <i>Soluções de amplificação, enzimática e de reconstituição do reagente de sonda</i>	— CL0041 (100 tampas)
<i>TCR e reagente de seleção</i>	501604 (100 tampas)

Materiais opcionais

	Código de produto
Kit de controlos do Aptima Trichomonas vaginalis	302807
Intensificador de lixívia Hologic para limpeza <i>para a limpeza de rotina de superfícies e equipamentos</i>	302101
Dispositivo de agitação de tubos por oscilação	—

Procedimento de teste no Panther System

Nota: Consulte o Manual de instruções do Panther/Panther Fusion 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. Limpe as superfícies de trabalho com uma 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 desionizada. 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 enzimático 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 de vidro do reagente liofilizado e insira firmemente a extremidade ranhurada do aro de reconstituição na abertura do frasco de vidro (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 de solução de reconstituição (Figura 1, Passo 2).
 - f. Inverta lentamente os frascos preparados. Deixe passar a solução do frasco de plástico de solução de reconstituição para o frasco de vidro (Figura 1, Passo 3).
 - g. Agite gentilmente a solução no frasco para 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 solução de reconstituição.
 - 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, enzimático e de sonda colocando os frascos de plástico tapados num agitador de tubos definido para uma velocidade moderada e inclinado durante um mínimo de 5 minutos. Certifique-se de que os reagentes são bem misturados.

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

Advertência: É necessário efetuar uma mistura adequada dos reagentes para obter os resultados esperados do ensaio.

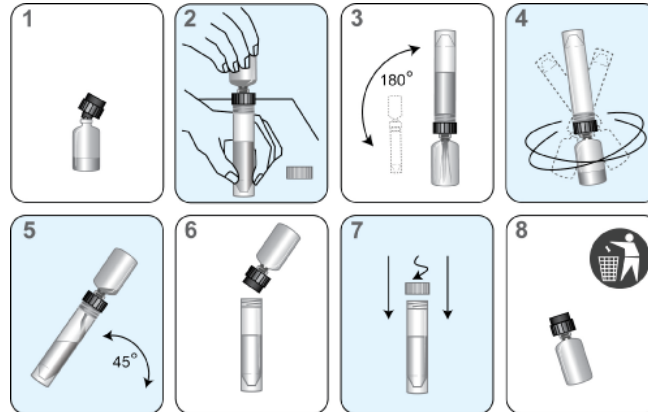


Figura 1. Processo de reconstituição de reagentes

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.

Opção: Os frascos de plástico tapados dos reagentes de amplificação, enzimático e de sonda reconstituídos podem ser colocados num agitador de tubos definido para uma velocidade moderada e inclinado até os reagentes alcançarem a temperatura ambiente e ficarem bem misturados.

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 sistema Panther 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 as amostras 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 Aptima cor-de-rosa num tubo de transporte de espécimes de esfregaço multiteste.
 - 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 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 até 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: se os Passos 4a-4c não forem cumpridos, poderá resultar numa descarga de líquido a partir 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/ Panther Fusion System* e das *Notas sobre o procedimento*.

Nota: *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 Aptima Assay para o Panther System, é necessário um par de controlos. O controlo positivo para *Trichomonas* e o controlo negativo para *Trichomonas* podem ser carregados em qualquer posição do suporte ou em qualquer corredor da zona de amostras do sistema Panther. 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 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 espécimes (STM) Aptima 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.
7. Amostras de teste com o Aptima TV Assay no sistema Panther.
8. Se alguma amostra originar um resultado positivo, devem ser realizada uma investigação adicional.

Se os resultados forem positivos, 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 do teste de ensaio são automaticamente interpretados pelo software Aptima TV Assay do sistema Panther. O resultado de um teste pode ser negativo, positivo ou inválido, conforme determinado pela RLU total no passo de deteção (ver abaixo). O resultado de um teste pode ser inválido devido a valores da RLU fora dos intervalos previstos normais. Os resultados de testes inválidos iniciais devem ser novamente testados. Indique o primeiro resultado válido.

Interpretação dos testes	RLU total (x1000)
Negativo	0* a <100
Positivo	100 a <2400
Inválido	0* ou ≥2400

*Se a RLU medida no sistema Panther se situar entre 0 e 999, é indicado um resultado de «0» na coluna «RLU total (000 s)» do relatório da execução. Os valores medidos da RLU inferiores a 690 são apresentados como inválidos. Os valores da RLU situados entre 690 e 999 são apresentados como válidos.

B. Resultados e aceitabilidade do controlo de qualidade

O controlo negativo para *Trichomonas*, rotulado com «NC CONTROL – TRICH», e o controlo positivo para *Trichomonas*, rotulado com «PC CONTROL + TRICH», atuam como controlos nos passos de captura do alvo, de amplificação e de deteção do ensaio. De acordo com as diretrizes ou os requisitos das regulamentações nacionais, regionais e/ou locais ou das organizações de acreditação, é possível incluir controlos adicionais para a lise da célula e a estabilização do ARN. O controlo positivo para *Trichomonas* rotulado com «PC CONTROL + TRICH» contém rRNA de *T. vaginalis* não infeccioso.

Os controlos devem produzir os seguintes resultados de teste:

Controlo	RLU total (x1000)	Resultado de <i>T. vaginalis</i>
NC Control – TRICH	0* e <20	Negativo
PC Control + TRICH	≥500 e <2400	Positivo

*Se a RLU medida no sistema Panther se situar entre 0 e 999, é indicado um resultado de «0» na coluna «RLU total (000 s)» do relatório da execução. Os valores medidos da RLU inferiores a 690 são apresentados como inválidos. Os valores da RLU situados entre 690 e 999 são apresentados como válidos.

Cada laboratório deve implementar procedimentos de controlo adequados para satisfazer os requisitos locais. para obter assistência relativa a controlos fora do intervalo, contacte o suporte técnico da Hologic.

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 pode levar a resultados erróneos.
- B. 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 *Trichomonas vaginalis*.
- C. As amostras mucoides positivas para TV podem apresentar valores mais baixos de RLU. Para garantir uma amostragem endocervical adequada, elimine o excesso de muco.
- D. A amostragem de espécimes de urina, esfregaços vaginais e espécimes de citologia 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.
- E. Este ensaio foi testado utilizando apenas os tipos de espécime indicados. O desempenho com outros tipos de espécime não foi avaliado.
- F. Resultados fiáveis dependem 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 a secção *Colheita e conservação de espécimes* para obter instruções. Para obter informações detalhadas, consulte as instruções de utilização adequadas.
- G. O insucesso ou sucesso terapêutico não pode ser determinado com o Aptima TV Assay, visto que o ácido nucleico pode persistir depois de uma terapia antimicrobiana adequada.
- H. Os resultados do Aptima TV Assay devem ser interpretados em conjunto com outros dados clínicos que estejam disponíveis para o médico.
- I. Um resultado negativo não impede a possível infeção porque os resultados dependem da colheita adequada de espécimes. Os resultados de teste podem ser afetados por colheita inadequada de espécimes, erro técnico, mistura de espécimes ou níveis do alvo abaixo do limite de deteção do ensaio.
- J. Um resultado negativo não impede uma possível infeção porque a presença de *Trichomonas tenax* ou *Pentatrichomonas hominis* num espécime pode afetar a capacidade de detetar o rRNA da *T. vaginalis*. Consulte a secção *Reatividade cruzada na presença de micro-organismos* para obter mais informações.
- K. O Aptima TV 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.
- L. O desempenho dos espécimes de urina, esfregaço vaginal e de citologia em solução PreservCyt não foi avaliado em adolescentes com idade inferior a 14 anos.

- M. O desempenho dos espécimes ginecológicos colhidos num frasco de solução PreservCyt e processados com os sistemas ThinPrep™ não foi avaliado para o Aptima TV Assay.
- N. O desempenho do Panther system não foi determinado em altitudes superiores a 2000 m (6561 pés).
- O. Se um espécime tiver uma pequena quantidade de organismos de *T. vaginalis*, pode ocorrer uma distribuição desigual dos mesmos, a qual pode afetar a capacidade de detecção do rRNA de *T. vaginalis* no material colhido. Se os resultados negativos obtidos com um espécime não corresponderem à impressão clínica, pode ser necessário utilizar um novo espécime.
- P. Os clientes devem validar um processo de transferência LIS de forma independente.

Valores esperados

As estimativas de positividade de *T. vaginalis* em diferentes populações dependem da sensibilidade do teste na deteção de infeção e nos fatores de risco da paciente, como a idade, o estilo de vida e a presença ou ausência de sintomas. As Tabela 1 e Tabela 2 apresentam um resumo da positividade de *T. vaginalis* conforme determinado pelo Aptima TV Assay no sistema Panther, provenientes de dois estudos clínicos multicêntricos; os dados são apresentados por centro clínico e no total.

Tabela 1: Positividade de *T. vaginalis* conforme determinado pelo Aptima Trichomonas vaginalis Assay por tipo de espécime e centro de colheita

Tipo de espécime	% (n.º positivos / n.º testados)									
	Todos os centros	Centro 1	Centro 2	Centro 3	Centro 4	Centro 5	Centro 6	Centro 7	Centro 8	Centro 9
UF	9,8 (64/650)	15,1 (8/53)	3,6 (2/55)	15,4 (2/13)	18,6 (8/43)	0,7 (1/136)	13,2 (10/76)	7,6 (11/144)	13,4 (11/82)	22,9 (11/48)
EVM	11,8 (80/678)	17,0 (9/53)	7,7 (4/52)	16,7 (2/12)	19,5 (8/41)	0,7 (1/145)	16,0 (12/75)	12,0 (21/175)	15,0 (12/80)	24,4 (11/45)
ES	11,2 (80/713)	20,4 (11/54)	8,9 (5/56)	12,5 (2/16)	17,1 (7/41)	0,6 (1/162)	20,2 (18/89)	9,1 (15/164)	13,3 (11/83)	20,8 (10/48)
PCyt	11,0 (81/739)	18,3 (11/60)	7,9 (5/63)	17,6 (3/17)	18,6 (8/43)	0,6 (1/167)	19,8 (17/86)	9,5 (16/169)	10,5 (9/86)	22,9 (11/48)

UF = urina feminina; EVM = esfregaço vaginal colhido pelo médico; ES = esfregaço endocervical; PCyt = citologia em solução PreservCyt.

Tabela 2: Positividade de *T. vaginalis* conforme determinado pelos resultados do Aptima Trichomonas vaginalis Assay em esfregaço vaginal colhido pela paciente, amostras de urina feminina e de urina masculina por centro clínico

Centro	% de positividade (n.º positivos/n.º testados com resultados válidos)		
	EVP	UF	UM
1	0 (0/16)	0 (0/16)	0 (0/180)
2	11,1 (36/325)	10,4 (38/364)	4,4 (16/364)
3	8,5 (6/71)	9,5 (7/74)	1,7 (1/60)
4	NC (0/0)	NC (0/0)	0 (0/13)
5	8,8 (15/170)	8,8 (15/171)	2,9 (12/407)
6	5,8 (24/416)	5,8 (24/413)	0,7 (2/304)
7	6,1 (11/179)	5,3 (10/187)	1,3 (3/225)
8	0 (0/38)	0 (0/39)	0 (0/32)
9	10,8 (32/297)	9,8 (25/255)	2,4 (5/210)
10	20,2 (37/183)	19,8 (36/182)	6,7 (6/89)
11	6,7 (6/90)	3,7 (3/81)	0 (0/51)
Todos	9,4 (167/1785)	8,9 (158/1782)	2,3 (45/1935)

UF = urina feminina; UM = urina masculina; NC = não calculável; EVP = esfregaço vaginal colhido pela paciente.

Valores preditivos positivos e negativos para taxas de prevalência hipotéticas

A Tabela 3 e a Tabela 4 mostram o valor preditivo positivo (VPP) e o valor preditivo negativo (VPN) calculados do Aptima TV Assay em diferentes taxas de prevalência hipotéticas para cada tipo de espécime, para dois estudos clínicos multicêntricos. Estes cálculos baseiam-se na sensibilidade e na especificidade gerais calculadas para cada tipo de espécime (consulte a Tabela 5 e a Tabela 6.).

Tabela 3: VPP e VPN hipotéticos do Aptima *Trichomonas vaginalis* Assay por tipo de espécime

Tipo de espécime	Prevalência (%)	VPP (%)	VPN (%)
UF	1	52,2	99,9
	2	68,8	99,9
	5	85,0	99,7
	10	92,3	99,3
	15	95,0	98,9
	20	96,4	98,4
	25	97,3	97,9
EVM	1	35,4	100
	2	52,6	100
	5	74,1	100
	10	85,8	100
	15	90,6	100
	20	93,1	100
	25	94,8	100
ES	1	34,8	100
	2	51,8	100
	5	73,5	100
	10	85,4	100
	15	90,3	100
	20	93,0	100
	25	94,6	100
PCyt	1	52,4	100
	2	69,0	100
	5	85,2	100
	10	92,4	100
	15	95,1	100
	20	96,5	100
	25	97,3	100

VPP = valor preditivo positivo; **VPN** = valor preditivo negativo; **UF** = urina feminina; **EVM** = esfregaço vaginal colhido pelo médico; **ES** = esfregaço endocervical; **PCyt** = citologia em solução PreservCyt. O VPP e o VPN são obtidos a partir de diferentes taxas de prevalência hipotéticas, utilizando os cálculos de sensibilidade e de especificidade do estudo de desempenho clínico.

Tabela 4: VPP e VPN hipotéticos do Aptima *Trichomonas vaginalis* Assay por tipo de espécime

Tipo de espécime	Prevalência (%)	VPP (%)	VPN (%)
EVP	1	64,3	100
	2	78,4	100
	5	90,4	99,9
	10	95,2	99,9
	15	96,9	99,8
	20	97,8	99,7
	25	98,3	99,6
UF	1	100	100
	2	100	100
	5	100	100
	10	100	100
	15	100	100
	20	100	100
	25	100	100
UM	1	86,4	100
	2	92,8	100
	5	97,1	100
	10	98,6	100
	15	99,1	100
	20	99,4	100
	25	99,5	100

VPP = valor preditivo positivo; **VPN** = valor preditivo negativo; **EVP** = esfregaço vaginal colhido pela paciente; **UF** = urina feminina; **UM** = urina masculina.

O VPP e o VPN são obtidos a partir de diferentes taxas de prevalência hipotéticas, utilizando os cálculos de sensibilidade e de especificidade do estudo de desempenho clínico.

Desempenho clínico do Panther System

Estudo clínico

Foram realizados dois estudos clínicos. O desempenho clínico do Aptima TV Assay foi calculado com esfregaços vaginais colhidos pelo médico, esfregaços endocervicais, urina feminina e espécimes de citologia em solução PreservCyt no Estudo clínico 1, e com esfregaços vaginais colhidos pela paciente e espécimes de urina de ambos os sexos no Estudo clínico 2.

Estudo clínico 1. Estudo clínico com esfregaço vaginal colhido pelo médico, esfregaço endocervical feminino e citologia em solução PreservCyt

O desempenho clínico do Aptima TV Assay no sistema Panther foi avaliado utilizando restos de espécimes colhidos de participantes que deram consentimento durante um estudo clínico anterior, prospectivo, multicêntrico do Aptima TV Assay no sistema Tigris™ DTS™. Foram incluídas mulheres sintomáticas e assintomáticas provenientes de 9 centros clínicos dos EUA, incluindo clínicas de obstetrícia e ginecologia, de planejamento familiar e de DST. Colheram-se espécimes da primeira urina da manhã, 3 esfregaços vaginais, 1 esfregaço endocervical e 1 espécime de citologia em solução PreservCyt de cada participante. Todos os espécimes foram colhidos por médicos à exceção dos espécimes de urina.

Os espécimes de citologia em solução PreservCyt foram colhidos com um dispositivo de colheita tipo vassoura ou com uma espátula e uma escova citológica. Dois dos espécimes de esfregaço vaginal foram testados com um sistema de cultura disponível comercialmente e com um exame microscópico de uma preparação húmida para determinar o estado da infecção. Os restantes espécimes foram preparados para os testes com o Aptima TV Assay, de acordo com as instruções do folheto informativo do kit de colheita de espécimes Aptima adequado.

Os testes com o Aptima TV Assay no sistema Panther foram realizados em 3 centros (2 laboratórios externos e na Hologic) de acordo com as instruções do folheto informativo.

As características de desempenho do Aptima TV Assay foram calculadas comparando os resultados com um algoritmo de estado de infecção da paciente. No algoritmo, a designação de um sujeito como infetado ou não infetado com *T. vaginalis* baseou-se nos resultados provenientes de espécimes de esfregaço vaginal testados com uma cultura e/ou com um exame microscópico de uma preparação húmida. Pelo menos um dos resultados do teste de referência tinha de ser positivo para estabelecer um estado de paciente infetada. Ambos os testes de referência tinham de ser negativos para estabelecer um estado de paciente não infetada.

Um total de 651 espécimes de urina, 689 espécimes de esfregaço vaginal, 737 espécimes de esfregaço endocervical e 740 espécimes de citologia em solução PreservCyt foi testado com o Aptima TV Assay no sistema Panther. Os espécimes com resultados iniciais inválidos foram sujeitos a novos testes. Um (1) espécime de urina, 11 espécimes de esfregaço vaginal, 24 esfregaços endocervicais e 1 espécime de citologia em solução PreservCyt apresentaram resultados finais inválidos devido a erros de hardware ou de software; esses espécimes foram excluídos das análises.

Foi demonstrado que a sensibilidade do Aptima TV Assay utilizando espécimes de urina no sistema Panther, e em comparação com um estado de infecção da paciente (PIS, patient-infected status) que foi determinado utilizando espécimes de esfregaço vaginal, era ligeiramente inferior à sensibilidade de outros tipos de amostra. Embora tal não seja inesperado, considerando que os esfregaços vaginais são o tipo de amostra preferencial para a detecção de trichomoniasis em mulheres (12), o desenho do estudo também tinha várias limitações. Conforme referido anteriormente, o desempenho clínico do Aptima TV Assay no sistema Panther foi avaliado utilizando restos de espécimes colhidos de participantes que deram consentimento durante um estudo clínico anterior, prospetivo, multicêntrico do Aptima TV Assay no sistema Tigris DTS, um sistema automatizado anterior ao sistema Panther. As amostras foram conservadas congeladas a longo prazo antes dos testes no Panther (até 18 meses a $-70\text{ }^{\circ}\text{C}$) e um grande número de amostras tiveram de ser excluídas da repetição dos testes, principalmente devido à ausência de consentimento das pacientes para a realização de testes adicionais após a conclusão do estudo inicial no sistema Tigris DTS.

Apenas 15 amostras de urina positivas de pacientes assintomáticas estavam disponíveis para a repetição dos testes durante o estudo no Panther. Assim, uma única amostra que tinha tido anteriormente um resultado positivo durante o estudo inicial no Tigris DTS, mas negativo após a conservação a longo prazo teve um impacto perceptível na sensibilidade relatada do ensaio para amostras de urina assintomáticas no estudo no Panther. A sensibilidade e a especificidade do Aptima TV Assay utilizando o sistema Tigris DTS conforme determinadas inicialmente durante o estudo clínico prospetivo, provavelmente, refletem melhor a verdadeira sensibilidade do ensaio utilizando espécimes de urina, dado o maior número de amostras de pacientes disponíveis para testes, a utilização de espécimes colhidos prospetivamente, em vez de conservados a longo prazo antes dos testes, e a equivalência determinada entre sistemas.

Um total de 738 espécimes de urina, 877 espécimes de esfregaço vaginal, 922 espécimes de esfregaço endocervical e 813 espécimes de citologia em solução PreservCyt foi testado com o Aptima TV Assay no sistema Tigris DTS. Tanto no estudo no Tigris DTS, como no estudo no Panther, a sensibilidade dos esfregaços vaginais, dos esfregaços endocervicais e das amostras colhidas em solução PreservCyt foi de 100% para pacientes assintomáticas e sintomáticas, mas o desempenho do ensaio utilizando espécimes de urina foi mais variável.

Um estudo de comparabilidade do ensaio no sistema Tigris DTS versus no sistema Panther demonstrou uma concordância elevada entre os dois sistemas para todos os tipos de amostras indicados para utilização (>95% de concordância positiva e negativa). A concordância geral para todos os tipos de espécimes foi de 99,2% (IC de 95% 98,7–99,5) para os 2056 espécimes testados e a concordância entre os 495 espécimes de urina testados foi de 99,6% (IC de 95% 98,5–99,9; a concordância positiva foi de 99,0% para todos os tipos de amostras e de 96,2% para a urina). Foi adicionado um reagente de captura do alvo adicional à formulação do ensaio antes da migração para o sistema Panther e um estudo de comparabilidade separado demonstrou que o reagente adicional não afetou o desempenho clínico utilizando o sistema Tigris DTS. Este estudo mostrou uma concordância geral de 99,5% (IC de 95% 98,7–99,8) para todas as 758 amostras testadas e uma concordância geral de 100% (IC de 95% 98,1–100) para os 160 espécimes de urina testados por ambas as versões do ensaio (a concordância positiva foi de 100% para todos os tipos de amostras, incluindo urina). Dada a elevada concordância entre as versões dos sistemas e dos ensaios, o desempenho clínico do ensaio utilizando espécimes de urina, conforme determinado pelos testes iniciais no sistema Tigris DTS e com um tamanho da amostra maior é, assim, mostrado na Tabela 5.

Além disso, dois estudos na literatura científica que compararam o Aptima TV Assay a dois testes de amplificação ácidos nucleicos aprovados pela FDA para espécimes de urina demonstraram um desempenho altamente comparável com o Aptima TV (13, 14). Um destes relatórios demonstrou 100% de concordância positiva e negativa do Aptima TV Assay e do teste comparador utilizando 412 espécimes de urina (13). O outro relatório descreve testes a 1793 espécimes de urina feminina durante um estudo clínico multicêntrico e mostrou uma concordância positiva de 99,4% (IC de 95% 96,9–100, n = 178/179) e uma concordância negativa de 99,6% (IC de 95% 99,1–99,8, n = 1607/1614) entre o Aptima TV Assay e o teste de ácidos nucleicos comparador (14). Um terceiro relatório da literatura comparou os testes no Aptima TV de espécimes de esfregaço endocervical e de urina emparelhados de 369 mulheres canadianas e verificou uma concordância de 99,2% entre os tipos de amostras (15). Assim, pode concluir-se que o Aptima TV Assay tem um desempenho tão bom como o de outros testes disponíveis comercialmente e semelhante com outros tipos de amostras na detecção de *T. vaginalis* em espécimes de urina, e a sensibilidade do ensaio relatada determinada utilizando espécimes de urina no sistema Panther está provavelmente subestimada devido a limitações do desenho do estudo.

Estudo clínico 2. Estudo clínico de esfregaço vaginal colhido pela paciente e de urina de ambos os sexos

O desempenho clínico do Aptima TV Assay no sistema Panther foi avaliado utilizando espécimes colhidos de participantes que deram consentimento durante um estudo clínico prospectivo e multicêntrico.

Foram registados mulheres e homens sintomáticos e assintomáticos em 11 centros clínicos dos EUA, geográfica e etnicamente diversos, incluindo clínicas de obstetrícia e ginecologia, de planeamento familiar e de IST. Os sujeitos foram classificados como sintomáticos se tiverem relatado a existência de sintomas. Os sujeitos foram classificados como assintomáticos caso não tenham relatado quaisquer sintomas.

Foram colhidos até 5 espécimes de cada participante do sexo feminino (4 esfregaços vaginais colhidos pela paciente, 1 da primeira urina da manhã) e 1 espécime da primeira urina da manhã de cada participante do sexo masculino. Todos os espécimes foram colhidos pelo participante nos centros clínicos.

Os espécimes foram testados com o Aptima TV Assay no sistema Panther. As amostras com resultados iniciais inválidos do Aptima TV Assay foram novamente testadas, caso o volume permitisse. Dos espécimes colhidos, 5922 foram processados em execuções do Aptima TV Assay válidas. Destes, 5833 (98,5%) apresentaram resultados finais válidos e 89 (1,5%) apresentaram resultados finais inválidos e foram excluídos das análises. As amostras de urina e esfregaços vaginais foram testados com até três NAAT aprovados para estabelecer a interpretação do algoritmo comparador composto (CCA) específico do espécime como se segue:

- O CCA da urina masculina foi derivado de espécimes de urina masculina.
- O CCA da urina feminina foi derivado de espécimes de urina feminina.
- O CCA de esfregaço vaginal foi derivado de espécimes de esfregaço vaginal recolhidos pelas pacientes.

Os espécimes eram categorizados como infetados se ocorresse um resultado positivo em, pelo menos, dois dos NAAT de referência e como não infetados se, pelo menos, 2 dos resultados de referência fossem negativos; a terceira referência (desempate) era necessária apenas se os primeiros 2 resultados de referência fossem discordantes. Os espécimes que não puderam ser categorizados como infetados ou não infetados foram excluídos das análises de desempenho. O desempenho do Aptima TV Assay foi estimado em relação à interpretação do CCA específico do espécime.

Um total de 5502 espécimes de 3820 participantes avaliáveis foram incluídos nas análises de comparação dos resultados do Aptima TV Assay com o CCA específico do espécime: 1785 esfregaços vaginais colhidos pela paciente, 1782 espécimes de urina feminina e 1935 espécimes de urina masculina.

Resultados de desempenho

As características de desempenho do Aptima TV Assay foram calculadas para cada tipo de espécime e são apresentados na Tabela 5, Tabela 6 e Tabela 7, incluindo dados dos dois estudos clínicos. O algoritmo do estado de infecção diferiu entre os dois estudos. A Tabela 5 mostra a sensibilidade, a especificidade, o VPP e o VPN do Aptima VT Assay no sistema Panther, bem como a prevalência de *T. vaginalis* (com base no estado de infecção), por estado sintomático e em geral, em espécimes de esfregaço vaginal colhidos pelo médico, esfregaço endocervical e citologia em solução PreservCyt colhidos pelo médico.

A Tabela 6 mostra a sensibilidade, a especificidade, o VPP e o VPN do Aptima TV Assay no sistema Panther, bem como a prevalência de *T. vaginalis* (com base no estado de infecção) em espécimes de citologia em solução PreservCyt por dispositivo de colheita cervical. Nos espécimes de citologia em solução PreservCyt, o desempenho foi semelhante em todos os dispositivos de colheita.

A Tabela 7 mostra a percentagem de concordância positiva (PCP) e negativa (PCN) do ensaio em esfregaços vaginais colhidos por pacientes do sexo feminino e em espécimes de urina de ambos os sexos. A prevalência foi superior em participantes sintomáticos.

Tabela 5: Características de desempenho do Aptima *Trichomonas vaginalis* Assay por estado sintomático

Tipo de espécime	Estado sintomático	n	PV	PF ¹	NV	NF ²	Prev %	Sensibilidade % (IC de 95%) ³	Especificidade % (IC de 95%) ³	VPP % (IC de 95%) ⁴	VPN % (IC de 95%) ⁴
EVM (Panther)	Assintomático	274	12	7 ^a	255	0	4,4	100 (75,8–100)	97,3 (94,6–98,7)	63,2 (45,8–80,9)	100 (98,8–100)
	Sintomático	393	57	4 ^b	332	0	14,5	100 (93,7–100)	98,8 (97,0–99,5)	93,4 (84,9–98,1)	100 (98,9–100)
	Todos	667	69	11 ^c	587	0	10,3	100 (94,7–100)	98,2 (96,7–99,0)	86,3 (77,9–92,6)	100 (99,4–100)
EE (Panther)	Assintomático	309	16	5 ^d	288	0	5,2	100 (80,6–100)	98,3 (96,1–99,3)	76,2 (58,1–90,8)	100 (98,9–100)
	Sintomático	391	51	7 ^e	333	0	13,0	100 (93,0–100)	97,9 (95,8–99,0)	87,9 (78,1–94,7)	100 (99,0–100)
	Todos	700	67	12 ^f	621	0	9,6	100 (94,6–100)	98,1 (96,7–98,9)	84,8 (76,3–91,5)	100 (99,4–100)

Tabela 5: Características de desempenho do Aptima Trichomonas vaginalis Assay por estado sintomático

PCyt (Panther)	Assintomático	324	18	1 ^a	305	0	5,6	100 (82,4–100)	99,7 (98,2–99,9)	94,7 (76,5–99,9)	100 (98,9–100)
	Sintomático	406	57	5 ^b	344	0	14,0	100 (93,7–100)	98,6 (96,7–99,4)	91,9 (83,1–97,2)	100 (99,0–100)
	Todos	730	75	6 ⁱ	649	0	10,3	100 (95,1–100)	99,1 (98,0–99,6)	92,6 (85,2–97,1)	100 (99,5–100)
Urina (Panther)	Assintomático	279	13	1 ^j	263	2 ^m	5,4	86,7 (62,1–96,3)	99,6 (97,9–99,9)	92,9 (71,6–99,8)	99,2 (97,8–99,9)
	Sintomático	361	46	4 ^k	309	2 ⁿ	13,3	95,8 (86,0–98,8)	98,7 (96,8–99,5)	92,0 (82,4–97,5)	99,4 (97,9–99,9)
	Todos	640	59	5 ^l	572	4 ^o	9,8	93,7 (84,8–97,5)	99,1 (98,0–99,6)	92,2 (84,0–97,1)	99,3 (98,3–99,8)
Urina (Tigris)	Assintomático	324	21	3	299	1	6,8	95,5 (78,2–99,2)	99,0 (97,1–99,7)	87,5 (71,4–96,9)	99,7 (98,4–100)
	Sintomático	411	59	4	345	3	15,1	95,2 (86,7–98,3)	98,9 (97,1–99,6)	93,7 (85,7–98,1)	99,1 (97,7–99,8)
	Todos	735	80	7	644	4	11,4	95,2 (88,4–98,1)	98,9 (97,8–99,5)	92,0 (85,1–96,4)	99,4 (98,5–99,8)

IC = intervalo de confiança; EVM = esfregaço vaginal colhido pelo médico; ES = esfregaço endocervical; NF = negativo falso; PF = positivo falso; PCyt = citologia em solução PreservCyt; Prev = prevalência; NV = negativo verdadeiro; PV = positivo verdadeiro; VPP = valor preditivo positivo; VPN = valor preditivo negativo.

¹Resultados do NAAT de *T. vaginalis* de um estudo anterior (n.º de resultados positivos/n.º de amostras testadas): ^a4/7; ^b3/4; ^c7/11; ^d1/5; ^e2/7; ^f3/12; ^g0/1; ^h3/5; ⁱ3/6; ^j1/1; ^k4/4; ^l5/5.

²Resultados do NAAT de *T. vaginalis* de um estudo anterior (n.º de resultados negativos/n.º de amostras testadas): ^m1/2; ⁿ2/2; e ^o3/4.

³Intervalo de confiança da pontuação.

⁴Intervalo de confiança de 95% do VPP calculado a partir do intervalo de confiança de 95% exato para a relação de probabilidade positiva, intervalo de confiança de 95% do VPN calculado a partir do intervalo de confiança de 95% exato da relação de probabilidade negativa.

Tabela 6: Características de desempenho do Aptima Trichomonas vaginalis Assay em espécimes de citologia em solução PreservCyt por tipo de dispositivo de colheita

Dispositivo de colheita ¹	n	PV	PF	NV	NF	Prev %	Sensibilidade (IC de 95%) ²	Especificidade (IC de 95%) ²	VPP % (IC de 95%) ³	VPN % (IC de 95%) ³
Dispositivo de colheita tipo vassoura	391	48	3	340	0	12,3	100 (92,6–100)	99,1 (97,5–99,7)	94,1 (84,7–98,7)	100 (99,0–100)
Espátula/Escova citológica	339	27	3	309	0	8,0	100 (87,5–100)	99,0 (97,2–99,7)	90,0 (75,7–97,8)	100 (98,9–100)

IC = intervalo de confiança; NF = negativo falso; PF = positivo falso; Prev = prevalência; NV = negativo verdadeiro; PV = positivo verdadeiro.

¹Todos os resultados são do Estudo clínico 1.

²Intervalo de confiança da pontuação.

³Intervalo de confiança de 95% do VPP calculado a partir do intervalo de confiança de 95% exato para a relação de probabilidade positiva, intervalo de confiança de 95% do VPN calculado a partir do intervalo de confiança de 95% exato da relação de probabilidade negativa.

Tabela 7: Características de desempenho do Aptima TV Assay em esfregaço vaginal colhido pela paciente, e espécimes de urina de ambos os sexos por estado sintomático

Tipo de espécime	Estado sintomático ¹	n	PV	PF ²	NV	NF ³	Prev %	PPA % (IC de 95%) ⁴	NPA % (IC de 95%) ⁴
EVP	Assintomático	932	59	3 ^a	868	2 ^a	6,5	96,7 (88,8–99,1)	99,7 (99,0–99,9)
	Sintomático	853	99	6 ^a	748	0	11,6	100 (96,3–100)	99,2 (98,3–99,6)
	Todos	1785	158	9	1616	2	9,0	98,8 (95,6–99,7)	99,4 (99,0–99,7)
UF	Assintomático	949	64	0	885	0	6,7	100 (94,3–100)	100 (99,6–100)
	Sintomático	833	94	0	739	0	11,3	100 (96,1–100)	100 (99,5–100)
	Todos	1782	158	0	1624	0	8,9	100 (97,6–100)	100 (99,8–100)
UM	Assintomático	1125	21	1 ^b	1103	0	1,9	100 (84,5–100)	99,9 (99,5–100)
	Sintomático	810	21	2 ^c	787	0	2,6	100 (84,5–100)	99,7 (99,1–99,9)
	Todos	1935	42	3	1890	0	2,2	100 (91,6–100)	99,8 (99,5–99,9)

IC = intervalo de confiança; NF = negativo falso; PF = positivo falso; UF = urina feminina; UM = urina masculina; PCN = percentagem de concordância negativa; PCP = percentagem de concordância positiva; Prev = prevalência; NV = negativo verdadeiro; PV = positivo verdadeiro.

¹Os resultados das amostras de esfregaço vaginal colhido pela paciente e das amostras de urina de ambos os sexos são do Estudo clínico 2.

²Se o volume o tiver permitido, as amostras do mesmo tipo, exceto outra indicação, também foram testadas por um ensaio NAAT *T. vaginalis* alternativo com os seguintes resultados (n.º de resultados positivos/n.º de amostras testadas); ^aNão estão disponíveis resultados de testes de resolução de discordâncias para amostras EVP; ^b0/1; ^c0/1 (não estão disponíveis resultados de testes de resolução de discordâncias para 1 amostra).

³Se o volume o tiver permitido, as amostras do mesmo tipo, exceto outra indicação, também foram testadas por um ensaio NAAT *T. vaginalis* alternativo com os seguintes resultados (n.º de resultados negativos/n.º de amostras testadas): ^aNão estão disponíveis resultados de testes de resolução de discordâncias para amostras EVP.

⁴IC da pontuação.

Distribuição da RLU dos controlos Aptima Trichomonas vaginalis

A distribuição dos valores da RLU para os controlos do Aptima TV Assay é apresentada na Tabela 8 para todas as execuções válidas do Aptima TV Assay efetuadas durante o Estudo clínico 1 e o E Estudo clínico 2.

Tabela 8: Distribuição da RLU dos controlos negativo e positivo do Aptima TV

Controlo	Estatística	RLU total (x1000)	
		Estudo clínico 1	Estudo clínico 2
Negativo	N	22	155
	S/CO	1,3	NC
	DP	0,99	NC
	Mediana	1,0	1,0
	Mínima	0	1
	Máxima	5	12
	CV %	75,5	91,60
Positivo	N	22	155
	S/CO	1262,3	NC
	DP	45,89	NC
	Mediana	1276,0	1400,0
	Mínima	1168	1157
	Máxima	1322	1612
	CV %	3,6	5,97

CV% = coeficiente de variação percentual; **NC** = não calculado; **RLU** = unidades de luz relativas.

Nota: esta análise baseou-se no valor da RLU indicado pelo software. O valor da RLU indicado é o valor total da RLU medida, dividido por 1000, com a supressão dos dígitos situados após o ponto decimal.

Desempenho analítico do Panther System

Sensibilidade analítica

Foram preparados painéis de sensibilidade com duas estirpes de *T. vaginalis* (uma estirpe suscetível a metronidazol e uma estirpe resistente a metronidazol). Os testes demonstraram uma positividade superior a 95% em ambas as estirpes de *T. vaginalis* nos painéis com 0,008 TV/ml em matriz de espécimes de citologia em solução PreservCyt, painéis com 0,003 TV/ml em urina e painéis com 0,001 TV/ml em matriz de espécimes de esfregaço.

Reatividade cruzada na presença de micro-organismos

Especificidade

A especificidade do Aptima TV Assay foi avaliada através da análise de diversos micro-organismos, incluindo a flora comum do trato genitourinário, organismos oportunistas e organismos estreitamente relacionados. Os testes foram realizados em STM, urina e solução PreservCyt em STM com 25 réplicas de cada isolado. A lista dos organismos e das concentrações testados é fornecida na Tabela 9. Não se observou reatividade cruzada nem efeitos significativos sobre a especificidade do Aptima TV Assay com qualquer um dos organismos testados.

Sensibilidade

A sensibilidade do Aptima TV Assay foi avaliada através da análise dos mesmos organismos (Tabela 9) em STM enriquecido com lisado de *T. vaginalis* até uma concentração final de 2,5 TV/ml (25 réplicas de cada isolado). O lisado de *T. vaginalis* também foi adicionado a STM, urina e solução PreservCyt em STM para uma concentração final de 0,01 TV/ml (25 réplicas para cada isolado). A sensibilidade do Aptima TV Assay não foi afetada de forma significativa pela presença dos micro-organismos testados, exceto na presença de *Trichomonas tenax* e de *Pentatrichomonas hominis* (onde se observou uma menor emissão de sinais). *T. tenax* é um comensal da cavidade oral e *Pentatrichomonas hominis* é um comensal do intestino grosso.

No limite de detecção do ensaio (0,01 TV/ml), foi observado um ligeiro efeito inibitório nos valores da RLU esperados por *Dientamoeba fragilis*, mas a sensibilidade do ensaio não foi afetada e detetou-se *D. fragilis* no trato gastrointestinal.

Tabela 9: Micro-organismos testados no Aptima *Trichomonas vaginalis* assay

Micro-organismo	Concentração	Micro-organismo	Concentração
<i>Acinetobacter lwoffii</i>	1x10 ⁶ CFU/ml	HPV 16	2,5x10 ⁶ cópias/ml
<i>Actinomyces israelii</i>	1x10 ⁶ CFU/ml	HPV 6	2,5x10 ⁶ cópias/ml
<i>Atopobium vaginae</i>	1x10 ⁶ CFU/ml	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	1x10 ⁶ CFU/ml
<i>Bacteroides fragilis</i>	1x10 ⁶ CFU/ml	<i>Lactobacillus acidophilus</i>	1x10 ⁶ CFU/ml
<i>Bifidobacterium adolescentis</i>	1x10 ⁶ CFU/ml	<i>Lactobacillus crispatus</i>	1x10 ⁶ CFU/ml
<i>Campylobacter jejuni</i>	1x10 ⁶ CFU/ml	<i>Listeria monocytogenes</i>	1x10 ⁶ CFU/ml
<i>Candida albicans</i>	1x10 ⁶ CFU/ml	<i>Mobiluncus curtisii</i>	1x10 ⁶ CFU/ml
<i>Chlamydia trachomatis</i>	1x10 ⁶ UI/mL	<i>Mycoplasma genitalium</i>	2,5 x10 ⁶ cópias/ml
<i>Clostridium difficile</i>	1x10 ⁶ CFU/ml	<i>Mycoplasma hominis</i>	1x10 ⁶ CFU/ml
<i>Corynebacterium genitalium</i>	1x10 ⁶ CFU/ml	<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	1x10 ⁶ CFU/ml
<i>Cryptococcus neoformans</i>	1x10 ⁶ CFU/ml	<i>Pentatrichomonas hominis</i>	1x10 ⁶ células/ml
Citomegalovírus	2x10 ⁵ TCID ₅₀ /ml	<i>Peptostreptococcus magnus</i>	1x10 ⁶ CFU/ml
<i>Dientamoeba fragilis</i>	1x10 ⁶ CFU/ml	<i>Prevotella bivia</i>	1x10 ⁶ CFU/ml
<i>Enterobacter cloacae</i>	1x10 ⁶ CFU/ml	<i>Propionibacterium acnes</i>	1x10 ⁶ CFU/ml
<i>Enterococcus faecalis</i>	1x10 ⁶ CFU/ml	<i>Proteus vulgaris</i>	1x10 ⁶ CFU/ml
<i>Escherichia coli</i>	1x10 ⁶ CFU/ml	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	1x10 ⁶ CFU/ml
<i>Gardnerella vaginalis</i>	1x10 ⁶ CFU/ml	<i>Staphylococcus aureus</i>	1x10 ⁶ CFU/ml
<i>Haemophilus ducreyi</i>	1x10 ⁶ CFU/ml	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	1x10 ⁶ CFU/ml
Vírus herpes simplex I	2x10 ⁵ TCID ₅₀ /ml	<i>Streptococcus agalactiae</i>	1x10 ⁶ CFU/ml
Vírus herpes simplex II	2x10 ⁵ TCID ₅₀ /ml	<i>Trichomonas tenax</i>	1x10 ⁶ células/ml
HIV-1	2,5x10 ⁶ cópias/ml	<i>Ureaplasma urealyticum</i>	1x10 ⁶ CFU/ml

Interferência

As substâncias seguintes foram adicionadas individualmente a STM e solução PreservCyt em STM para uma concentração final de 1% (v/v ou p/v): lubrificantes pessoais, desodorizantes pessoais, espermicidas, antifúngicos, hormonas intravaginais, muco gástrico porcino, líquido seminal de 25 dadores e sangue total (concentração final de 10%).

Os efeitos dos metabolitos da urina foram testados com a adição de Controlo anormalmente alto com análise urinária do urobilinogénio KOVA-Trol I diluído em Meio de Transporte de Urina (UTM) em vez de urina. Este material de controlo para análise urinária à base de urina humana contém substâncias potencialmente interferentes tais como proteínas (albumina), bilirrubina, glucose, cetonas, eritrócitos, nitritos, urobilinogénio e leucócitos. O ácido acético glacial foi testado adicionando-o a solução PreservCyt-STM (concentração final de 10%).

Não se observou qualquer interferência com nenhuma das substâncias testadas no Aptima TV Assay, à exceção do muco gástrico porcino que apresentou uma menor emissão de sinais quando presente numa concentração final de 1% (v/v ou p/v).

Estudo de reprodutibilidade

A reprodutibilidade do Aptima TV Assay foi avaliada no sistema Panther em dois laboratórios externos dos Estados Unidos e na Hologic. Fizeram-se testes com dois lotes de reagentes do ensaio e um total de seis operadores (dois em cada centro). Em cada centro, os testes foram realizados ao longo de, pelo menos, 6 dias.

Os membros do painel de reprodutibilidade foram criados utilizando espécimes de urina negativos em meio de transporte de urina ou espécimes de citologia em solução PreservCyt negativos com meio de transporte de espécimes. Os membros do painel positivo foram criados adicionando-se matriz de urina ou matriz de citologia em solução PreservCyt à quantidade adequada de lisado de *T. vaginalis*. As concentrações finais de *T. vaginalis* variaram entre 0,002 tricomonas/ml e 1 tricomonas/ml.

A Tabela 10 apresenta, para cada membro do painel, os dados da RLU em termos de média, desvio padrão (DP) e coeficiente de variação (CV) entre centros, entre operadores, entre lotes, entre execuções, dentro das execuções e no geral (totais). Indica-se igualmente a percentagem de concordância com os resultados esperados. As amostras com resultados válidos foram incluídas nas análises.

Tabela 10: Estudo de reprodutibilidade do Aptima *Trichomonas vaginalis* assay

Conc.	N	Concord. (%)	RLU Média	Entre centros		Entre operadores		Entre lotes		Entre execuções		Em execuções		Totais	
				DP	CV (%)	DP	CV (%)	DP	CV (%)	DP	CV (%)	DP	CV (%)	DP	CV (%)
Amostras de matriz de citologia em solução PreservCyt															
Neg	108	99,1	23,5	0,0	0,0	2,7	11,6	0,0	0,0	0,0	0,0	37,5	159,7	37,6	160,1
NegA	108	90,7	69,3	5,0	7,3	4,5	6,5	6,1	8,8	14,8	21,4	16,0	23,1	23,6	34,1
PosM	108	97,2	348,1	30,3	8,7	33,1	9,5	33,1	9,5	77,0	22,1	62,9	18,1	114,0	32,8
PosA	108	100	1185,5	0,0	0,0	17,0	1,4	0,0	0,0	28,0	2,4	34,2	2,9	47,4	4,0
Amostras de matriz de urina															
Neg	108	100	1,0	0,2	24,6	0,0	0,0	0,3	28,3	0,0	0,0	0,7	72,3	0,8	81,4
NegA	107	100	33,1	15,9	48,1	4,9	14,8	0,0	0,0	7,1	21,6	9,3	28,0	20,3	61,5
PosM	108	100	621,9	27,2	4,4	33,5	5,4	37,3	6,0	100,6	16,2	69,4	11,2	134,9	21,7
PosA	108	100	1208,3	28,8	2,4	0,0	0,0	0,0	0,0	140,4	11,6	41,5	3,4	149,2	12,3

Concord. = concordância; **Conc.** = concentração; **CV** = coeficiente de variação; **NegA** = negativo alto; **PosA** = positivo alto; **PosM** = positivo moderado; **Neg** = negativo; **RLU** = unidades de luz relativas; **DP** = desvio padrão.

Nota: o valor da RLU indicado pelo software é o valor total da RLU medida, dividido por 1000, com a supressão dos dígitos situados após o ponto decimal.

A variabilidade derivada de alguns fatores pode ter sido numericamente negativa. Tal ocorreu quando a variabilidade devida a esses fatores foi muito pequena. Nesses casos, o DP e o CV são mostrados como 0.

Contaminação por transferência

Para estabelecer que o sistema Panther minimiza o risco de resultados positivos falsos decorrentes de contaminação por transferência, realizou-se um estudo analítico de vários dias com painéis enriquecidos em três sistemas Panther com um lote de reagentes do Aptima TV Assay. O estudo utilizou >20% de amostras de *T. vaginalis* com uma concentração-alvo elevada de 10 000 TV/ml, as quais foram colocadas entre amostras negativas com STM. Ao longo do estudo, testaram-se 698 amostras com uma concentração-alvo elevada e 2266 amostras negativas em três Panther systems. Ocorreram 0 resultados positivos falsos para uma taxa de contaminação por transferência de 0%. Estes resultados demonstram que a contaminação por transferência é mínima no Panther system.

Estabilidade dos espécimes

Os dados utilizados para justificar as condições recomendadas de transporte e conservação dos espécimes de esfregaço vaginal, de urina e de citologia em solução PreservCyt foram gerados com espécimes clínicos negativos aos quais se adicionou *T. vaginalis* até uma concentração final de 250 TV/ml. Observou-se sempre uma positividade superior a 97% em todas as matrizes (esfregaço vaginal, urina e citologia em solução PreservCyt) e em todas as temperaturas testadas, o que confirma a validade das temperaturas e dos tempos de máximos de conservação descritos na secção *Colheita e conservação de espécimes*.

Bibliography

1. **Weinstock, H., S. Berman, and W. Cates Jr.** 2004. Sexually transmitted diseases among American youth: incidence and prevalence estimates, 2000. *Perspect. Sex. Reprod. Health* **36**(1):6-10.
2. **Soper, D.** 2004. Trichomoniasis: under control or undercontrolled? *Am. J. Obstet. Gynecol.* **190**(1):281-290.
3. **Cotch, M. F., J. G. Pastorek II, R. P. Nugent, S. L. Hillier, R. S. Gibbs, D. H. Martin, et al.** 1997. *Trichomonas vaginalis* associated with low birth weight and preterm delivery. The Vaginal Infections and Prematurity Study Group. *Sex. Transm. Dis.* **24**:353-360.
4. **Sorvillo, F. J., A. Kovacs, P. Kerndt, A. Stek, L. Muderspach, and L. Sanchez-Keeland.** 1998. Risk factors for trichomoniasis among women with HIV infection at a public clinic in Los Angeles County; Implications for HIV prevention. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* **58**:495-500.
5. **Niccolai, L. M., J. J. Kopicko, A. Kassie, H. Petros, R. A. Clark, and P. Kissinger.** 2000. Incidence and predictors of reinfection with *Trichomonas vaginalis* in HIV-infected women. *Sex. Transm. Dis.* **27**:284-288.
6. Gaydos C.A., M.R. Barnes, N. Quinn, M. Jett-Goheen Y.H. Hsieh. 2013. *Trichomonas vaginalis* infection in men who submit self- collected penile swabs after internet recruitment. *Sex. Transm. Infect.* **89**(6):504-8.
7. Daugherty M., K. Glynn, and T. Byler. 2019. Prevalence of *Trichomonas vaginalis* Infection Among US Males. *Clin. Infect. Dis.* **68**(3):460- 465.
8. Munson K.L., M. Napierala, E. Munson, R.F. Schell, T. Kramme, C. Miller, J.E. Hryciuk. 2013. Screening of male patients for *Trichomonas vaginalis* with transcription-mediated amplification in a community with a high prevalence of sexually transmitted infection. *J. Clin. Microbiol.* **51**(1):101-4.
9. Schwebke J., A. Merriweather, S. Massingale, M. Scisney, C. Hill, D. Getman. 2018. Screening for *Trichomonas vaginalis* in a Large High-Risk Population: Prevalence Among Men and Women Determined by Nucleic Acid Amplification Testing. *Sex. Transm. Dis.* **45**(5):e23-e24.
10. **Nye, M. B., J. R. Schwebke, and B. A. Body.** 2009. Comparison of Aptima *Trichomonas vaginalis* transcription-mediated amplification to wet mount microscopy, culture, and polymerase chain reaction for diagnosis of trichomoniasis in men and women. *Am. J. Obstet. Gynecol.* **200**:188.e1-188.e7.
11. **Wendel, K. A., E. J. Erbeding, C. A. Gaydos, and A. M. Rompalo.** 2002. *Trichomonas vaginalis* polymerase chain reaction compared with standard diagnostic and therapeutic protocols for detection and treatment of vaginal trichomoniasis. *Clin. Infect. Dis.* **35**(5):576-580
12. **Van Der Pol, B.** 2015. Clinical and Laboratory Testing for *Trichomonas vaginalis* Infection. *J of Clin Microbiol.* **54** (1) 7-12.
13. **Marlowe E. M., P. Gohl, M. Steidle, R. Arcenas, and C. Bier** 2019. *Trichomonas vaginalis* Detection in Female Specimens with cobas® TV/MG for use on the cobas® 6800/8800 Systems. *European J. of Microbiol. & Immunol.* **9**(2), 42–45.
14. **J. R. Schwebke, C. A. Gaydos, T. Davis, J. Marrasso, D. Furgerson, S. N. Taylor, B. Smith, L. H. Bachmann, R. Ackerman, T. Spurrell, D. Ferris, C. A. Burnham, H. Reno, J. Lebed, D. Eisenberg, P. Kerndt, S. Philip, J. Jordan, and N. Quigley** 2018. Clinical Evaluation of the Cepheid Xpert TV Assay for Detection of *Trichomonas vaginalis* with Prospectively Collected Specimens from Men and Women. *J of Clin Microbiol.* **56**(2), e01091-17.
15. **Gratrix J., S. Plitt, L. Turnbull, P. Smyczek, J. Brandley, R. Scarrott, P. Naidu, L. Bertholet, M. Chernesky, R. Read, & A. E. Singh** 2017. *Trichomonas vaginalis* Prevalence and Correlates in Women and Men Attending STI Clinics in Western Canada. Sexually transmitted diseases. **44**(10), 627–629.

Informações de contacto e histórico de revisões



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



Hologic BV
Da Vincilaan 5
1930 Zaventem
Belgium



Australian Sponsor
Hologic (Australia &
New Zealand) Pty Ltd.
Macquarie Park, NSW 2113

Para obter o endereço de e-mail e o número de telefone do suporte técnico e do apoio ao cliente nacionais específicos, visite www.hologic.com/support.

Os incidentes graves relacionados com o dispositivo na União Europeia devem ser comunicados ao fabricante e à autoridade competente do Estado-Membro em que o utilizador e/ou o paciente se encontram estabelecidos.

Hologic, Aptima, DTS, Panther, Panther Fusion, PreservCyt, ThinPrep, Tigris e os logótipos associados são marcas comerciais ou marcas comerciais registadas da Hologic, Inc. e/ou das respetivas subsidiárias nos Estados Unidos e/ou noutros países.

KOVA-Trol é uma marca comercial da Hycor Biomedical, Inc.

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

Este produto pode estar abrangido por uma ou várias patentes nos EUA, as quais podem ser consultadas em www.hologic.com/patents.

©2009–2024 Hologic, Inc. Todos os direitos reservados.

AW-31091-601 Rev. 002
06-2024

Histórico de Revisões	Data	Descrição
AW-31091 Rev. 001	Abril de 2024	<ul style="list-style-type: none"> Criação de uma versão comercial das Instruções de utilização do Aptima Trichomonas vaginalis Assay, AW-31091 Rev. 001, para conformidade com o IVDR (ExUS) com base numa versão de submissão regulamentar das Instruções de utilização do Aptima Trichomonas vaginalis Assay, AW-31091 Rev.002 (ExUS).
AW-31091 Rev. 002	Junho de 2024	<ul style="list-style-type: none"> Atualização da secção Ficha de dados de segurança com informações mais recentes. Implementação de atualizações administrativas em todo o documento.