

## Aptima® Neisseria gonorrhoeae Assay

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

<b>Informações gerais</b> .....	<b>2</b>
Utilização prevista .....	2
Resumo e explicação do teste .....	2
Princípios do procedimento .....	3
Resumo de segurança e desempenho .....	3
Advertências e precauções .....	4
Requisitos de conservação e manuseamento de reagentes .....	7
Colheita e conservação de espécimes .....	8
<b>Panther System</b> .....	<b>10</b>
Reagentes e materiais fornecidos .....	10
Materiais necessários, mas disponíveis separadamente .....	11
Materiais opcionais .....	12
Procedimento de teste no Panther System .....	12
Notas sobre o procedimento .....	15
<b>Interpretação dos testes - CQ/Resultados do paciente</b> .....	<b>17</b>
<b>Limitações</b> .....	<b>20</b>
<b>Resultados do estudo clínico</b> .....	<b>22</b>
<b>Valores esperados</b> .....	<b>23</b>
<b>Desempenho clínico do sistema DTS</b> .....	<b>27</b>
<b>Concordância dos espécimes clínicos</b> .....	<b>38</b>
<b>Concordância dos espécimes clínicos do Panther System</b> .....	<b>41</b>
<b>Desempenho clínico do Panther System</b> .....	<b>42</b>
<b>Desempenho analítico</b> .....	<b>47</b>
<b>Bibliografia</b> .....	<b>55</b>
<b>Informações de contacto e histórico de revisões</b> .....	<b>56</b>

## Informações gerais

### Utilização prevista

O Aptima™ *Neisseria gonorrhoeae* (GC) assay é um teste de sonda de ácidos nucleicos de amplificação do alvo que utiliza a captura do alvo e a tecnologia de amplificação mediada por transcrição (TMA™) para a detecção qualitativa *in vitro* de RNA ribossômico (rRNA) de *Neisseria gonorrhoeae* para ajudar a diagnosticar doenças urogenitais provocadas por gonococos utilizando o Panther® System. O ensaio pode ser utilizado para testar os seguintes espécimes de indivíduos sintomáticos: esfregaços colhidos pelo médico de origem endocervical vaginal e uretral masculina; esfregaços vaginais colhidos pela paciente<sup>1</sup> e espécimes de urina de ambos os sexos. O ensaio pode ser utilizado para testar os seguintes espécimes de indivíduos assintomáticos: esfregaços de origem endocervical e vaginal colhidos pelo médico, espécimes de esfregaços vaginais<sup>1</sup> colhidos pela paciente e espécimes de urina de ambos os sexos. Este ensaio destina-se também a ser utilizado na análise de espécimes ginecológicos de pacientes sintomáticas e assintomáticas colhidos na Solução PreservCyt®.

<sup>1</sup>Os espécimes de esfregaços vaginais colhidos pela paciente são uma opção para efetuar um rastreio às mulheres sempre que um exame pélvico não é indicado.

### Resumo e explicação do teste

As infeções por *Neisseria gonorrhoeae* são uma das infeções sexualmente transmissíveis mais comuns em todo o mundo. Nos Estados Unidos, estima-se que ocorram 1 568 000 novas infeções por *N. gonorrhoeae* por ano. (1).

*N. gonorrhoeae*, um diplococo gram-negativo imóvel, é o agente causador da gonorreia. A maior parte das infeções gonorreicas são infeções simples do trato genital inferior e podem ser assintomáticas. No entanto, se não forem tratadas nas mulheres, as infeções podem ascender e provocar doença inflamatória pélvica (DIP). A DIP pode manifestar-se sob a forma de endometrite, salpingite, peritonite pélvica e abscessos tubo-ováricos. Uma pequena percentagem de pessoas com infeções gonocócicas pode desenvolver infeção gonocócica disseminada (IGD) (2, 3).

O diagnóstico convencional das infeções por GC exige que o organismo seja isolado em meio seletivo ou a observação de diplococos em esfregaços com coloração de Gram (4). 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 (5, 6). Os métodos de não-cultura normalmente utilizados para a detecção de GC incluem testes de sonda de DNA diretos e testes de amplificação de ácidos nucleicos (NAAT).

A primeira geração de NAAT para 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 (7). O Aptima GC assay é um NAAT de segunda geração que utiliza tecnologias de captura do alvo, TMA e de ensaio de proteção da hibridação (HPA) 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 HPA (8, 9).

De acordo com o documento "Guidance for the detection of gonorrhoea in England" (Orientação para a detecção de gonorreia em Inglaterra), uma orientação de 2021 emitida pela Public Health England, um teste da gonorreia deve ter um valor preditivo positivo (VPP) mínimo de 90% no contexto local ou na população de pacientes (10). Se o VPP ficar abaixo deste limiar, deve ser utilizado um teste suplementar para confirmar os resultados de testes positivos para melhorar o VPP. Os testes suplementares são descritos como um segundo teste de amplificação de ácidos nucleicos (NAAT) realizado na mesma amostra, mas que deteta uma sequência alvo de ácido nucleico diferente. O Aptima GC assay e o Aptima Combo 2® Assay visam ambos a subunidade de rRNA 16S para captura e detecção. O oligómero de captura é o mesmo para ambos os ensaios, mas o Aptima GC assay reconhece uma região da subunidade de rRNA 16S diferente do Aptima Combo 2 assay e, assim, pode ser considerado um teste suplementar adequado para melhorar o VPP dos testes Aptima Combo 2 quando recomendado pelas orientações de saúde locais.

## Princípios do procedimento

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 GC assay é efetuado no laboratório, a molécula do rRNA alvo é isolada dos espécimes utilizando oligómeros de captura através de uma captura do alvo que utiliza micropartículas magnéticas. 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 ao reduzir 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 reação de 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 Hologic® TMA replica uma região específica do rRNA 16S do GC através de intermediários do DNA. É utilizado um conjunto exclusivo de "primers" para a molécula alvo. A detecção das sequências do produto da amplificação do rRNA é alcançada com a hibridação do ácido nucleico. Uma sonda de DNA 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 DNA marcada combina com o produto da amplificação para formar híbridos de RNA:DNA estáveis. O Selection Reagent faz a distinção entre a sonda hibridada e a sonda não hibridada, eliminando 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).

## 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 GC assay, consulte o Identificador único do dispositivo básico (BUDI):  
**54200455DIAGAPTGCQL.**

## Advertências e precauções

- A. Para efeitos de diagnóstico *in vitro*.
- B. Para utilização 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 ensaio Aptima GC 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 específicos para o controlo de contaminação para o sistema Panther/Panther Fusion, consulte o *Panther/Panther Fusion System Operator's Manual* (Manual de instruções do Panther/Panther Fusion System).

## Relacionadas com o laboratório

- F. Utilize apenas artigos de laboratório descartáveis fornecidos ou especificados.
- G. Adote precauções de laboratório de rotina. Não coma, beba ou fume em áreas de trabalho designadas. Use luvas sem pó descartáveis, óculos de proteção e batas de laboratório quando manusear espécimes e reagentes do kit. Lave bem as mãos após 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 o limpar e secar.
- I. As superfícies de trabalho, pipetas e outros equipamentos têm de 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, de acordo com os regulamentos nacionais, internacionais e regionais 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. Este ensaio foi testado utilizando apenas espécimes de esfregaços endocervicais e uretrais masculinos, espécimes citológicos em solução PreservCyt, espécimes de esfregaços vaginais e espécimes de urina de ambos os sexos. O desempenho com outros espécimes além dos especificados em *Colheita e conservação de espécimes* não foi avaliado.
- M. 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 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.
- N. A solução PreservCyt foi validada como meio alternativo de teste com o Aptima GC assay. Os espécimes de citologia em solução PreservCyt processados com outros instrumentos além do ThinPrep® Processor ou outros instrumentos não foram avaliados para testar a utilização no Aptima GC assay.

- O. Depois de adicionar urina ao tubo de transporte de urina, o nível do líquido tem de se situar entre as duas linhas pretas indicadoras no rótulo do tubo. Caso contrário, o espécime tem de ser rejeitado.
- P. 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.
- Q. 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.
- R. 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.
- S. Elimine os materiais usados sem passar por cima de qualquer outro recipiente.
- T. Se o laboratório receber um tubo de transporte de espécimes de esfregaço sem a zaragatoa, com duas zaragatoas, com uma zaragatoa de limpeza ou com uma zaragatoa não fornecida pela Hologic, o espécime tem de 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.
- U. Para espécimes citológicos em solução PreservCyt, faça a colheita de acordo com as instruções do fabricante. Alíquotas posteriormente removidas do frasco de PreservCyt para teste com o Aptima GC assay devem ser processadas apenas com o kit de transferência de espécimes Aptima®.
- V. Após a perfuração, o líquido pode vazar das tampas dos tubos de transporte de espécimes Aptima sob certas condições. Siga as instruções do *Procedimento de teste no Panther System* para evitar esta ocorrência.

### Relacionadas com o ensaio

- W. Não utilize este kit ou controlos após o fim do respetivo prazo de validade.
- X. Não troque, misture ou combine reagentes de ensaio provenientes de kits com números de lote diferentes. Os controlos e fluidos do ensaio Aptima podem pertencer a números de lote diferentes.
- Y. Evite a contaminação microbiana ou com nucleases dos reagentes.
- Z. 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.
- AA. Não combine quaisquer reagentes ou fluidos do ensaio sem instruções específicas para tal. Não adicione reagentes ou fluidos. O sistema Panther verifica os níveis dos reagentes.
- AB. Alguns reagentes deste kit estão marcados com símbolos de risco e segurança.

**Nota:** A informação sobre a comunicação de perigos reflete as classificações das Fichas de dados de segurança (SDS) da União Europeia. Para obter informações sobre as comunicações de perigo específicas da sua região, consulte a Biblioteca de fichas de dados de segurança, no endereço [www.hologicds.com](http://www.hologicds.com). Para obter mais informações sobre os símbolos, consulte a legenda dos símbolos em [www.hologic.com/package-inserts](http://www.hologic.com/package-inserts).

<b>Informações sobre riscos para a UE</b>	
—	<p><b>Amplification Reagent</b> HEPES 25 - 30%</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><b>Enzyme Reagent</b> TRITON X-100 1 - 5%</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><b>Probe Reagent</b> LAURYL SULFATE LITHIUM SALT 35 - 40% SUCCINIC ACID 10 - 15%</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><b>Enzyme Reconstitution Solution</b> GLICEROL 20 - 25% TRITON X-100 5 - 10%</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><b>Selection Reagent</b> ÁCIDO BÓRICO 0 - 10% TRITON X-100 0 - 10% HIDRÓXIDO DE SÓDIO 0 - 10%</p> <p><b>PERIGO</b></p> <p>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 na SDS). 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>
—	<p><b>Target Capture Reagent</b> HEPES 5 - 10% EDTA 1 - 5% LITHIUM HYDROXIDE, MONOHYDRATE 1 - 5%</p> <p>—</p> <p>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.</p>

**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. Se o Selection Reagent estiver armazenado num local refrigerado, deixe-o atingir a temperatura ambiente antes de o inserir no sistema Panther.
- C. Os reagentes seguintes permanecem estáveis se armazenados a uma temperatura entre 15 °C e 30 °C (temperatura ambiente):  
Target Capture Reagent.
- D. O reagente de captura do alvo de trabalho GC (wTCR) permanece estável durante 60 dias quando armazenado a uma temperatura entre 15 °C e 30 °C. Não refrigere.
- E. Após a reconstituição, o Enzyme Reagent, o Amplification Reagent e o Probe Reagent permanecem estáveis durante 60 dias quando armazenados a uma temperatura entre 2 °C e 8 °C.
- F. 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.
- G. 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.
- H. Os controlos permanecem estáveis até à data indicada nos frascos.
- I. Os reagentes conservados dentro do Panther System têm 72 horas de estabilidade no instrumento.
- J. O Probe Reagent e o Probe Reagent reconstituído são fotossensíveis. Mantenha os reagentes protegidos da luz.
- 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

**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 GC assay foi concebido para detetar a presença de GC em esfregaços de origem endocervical, vaginal e uretral masculina colhidos pelo médico; esfregaços vaginais colhidos pela paciente e 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

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 a uma temperatura entre 2 °C e 30 °C até ser testado. Os espécimes devem ser testados com o Aptima GC assay num período de 60 dias após a colheita. Se for necessário um período de armazenamento mais longo, congele os espécimes de origem urogenital no tubo de transporte de espécimes no máximo até 7 dias após a colheita entre -20 °C e -70 °C para permitir que sejam realizados testes até 12 meses após a colheita (consulte *Estudos de estabilidade dos espécimes*).

#### 2. Espécimes de urina

- a. Mantenha o espécime de urina a uma temperatura entre 2 °C e 30 °C após a colheita e transfira para o tubo de transporte de espécimes de urina no prazo de 24 horas após a colheita. Transporte para o laboratório no recipiente de colheita primário ou tubo de transporte a uma temperatura entre 2 °C e 30 °C. Conserve a uma temperatura entre 2 °C e 30 °C e teste os espécimes de urina processados com o Aptima GC assay no prazo de 30 após a colheita.
- b. Se for necessário um período de armazenamento mais longo, congele os espécimes de urina no tubo de transporte de espécimes de urina no prazo de 7 dias após a colheita a uma temperatura entre -20 °C e -70 °C para permitir que sejam realizados testes até 12 meses após a colheita (consulte *Estudos de estabilidade dos espécimes*).

#### 3. Espécimes citológicos em solução PreservCyt

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



- b. Se utilizar o procedimento de remoção de alíquotas ThinPrep, consulte as instruções fornecidas no *ThinPrep Systems Processor Operator's Manual* (Manual de instruções do ThinPrep Systems Processor) relativas à remoção de alíquotas. Transfira 1 ml da alíquota removida para um tubo de transferência de espécimes, de acordo com as instruções incluídas no folheto informativo do kit de transferência de espécimes Aptima e da solução de transferência Aptima.
- c. Se testar os espécimes depois de os processar com o ThinPrep systems Processor, processe o espécime de citologia em solução PreservCyt de acordo com o *Manual de instruções do ThinPrep Systems Processor* e o folheto informativo do kit de transferência de espécimes Aptima e da solução de transferência Aptima. Transfira 1 ml do fluido restante no frasco de solução PreservCyt para um tubo de transferência de espécimes, de acordo com as instruções incluídas no folheto informativo do kit de transferência de espécimes Aptima e da solução de transferência Aptima.
- d. Depois de transferir o espécime de citologia em solução PreservCyt para o tubo de transferência de espécimes Aptima, aquele deve ser testado com o ensaio Aptima GC 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 o espécime no prazo de 7 dias após a transferência para o tubo de transferência de espécimes Aptima a uma temperatura de -20 °C a -70 °C para permitir que sejam realizados testes até 12 meses após a transferência (consulte *Estudos de estabilidade dos espécimes*).

#### C. Conservação de espécimes depois dos testes

1. Os espécimes testados devem ser acondicionados num suporte em posição vertical.
2. Cubra os tubos de transporte de espécimes 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 as tampas perfuráveis 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 destapar amostras previamente testadas e tapadas de novo, centrifugue os tubos de transporte de espécimes durante 5 minutos a uma Força Centrifuga Relativa (RCF) de 420 para levar todo o líquido para o 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.

## Panther System

Os reagentes do Aptima GC assay para o Panther System são indicados abaixo. Os símbolos de identificação do reagente também estão indicados junto ao nome do reagente.

### Reagentes e materiais fornecidos

**Kit do Neisseria gonorrhoeae Assay**, 100 testes (2 caixas e 1 kit de controlos)  
(Cód. Ref. 302927)

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

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

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

Símbolo	Componente	Quantidade
<b>AR</b>	<b>Solução de reconstituição da amplificação</b> <i>Solução aquosa com conservantes.</i>	1 x 11,9 ml
<b>ER</b>	<b>Solução de reconstituição enzimática</b> <i>Solução tamponada com HEPES com um agente tensoativo e glicerol.</i>	1 x 6,3 ml
<b>PR</b>	<b>Solução de reconstituição de sonda</b> <i>Solução tamponada com succinato contendo &lt; 5% de detergente.</i>	1 x 15,2 ml
<b>S</b>	<b>Reagente de seleção</b> <i>Solução tamponada com borato a 600 mM e com surfactante.</i>	1 x 43,0 ml
<b>TCR</b>	<b>Reagente de captura do alvo</b> <i>Solução tamponada com fase sólida e oligómeros de captura.</i>	1 x 26,0 ml
	<b>Aros de reconstituição</b>	3
	<b>Ficha de Códigos de Barras do Lote Mestre</b>	1 folha

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

Símbolo	Componente	Quantidade
PGC/NCT	<b>Controlo positivo, GC/Controlo negativo, CT</b> <i>Ácidos nucleicos GC não infecciosos em solução tamponada com &lt; 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
PCT/NGC	<b>Controlo positivo, CT/Controlo negativo, GC</b> <i>Ácidos nucleicos CT não infecciosos em solução tamponada com &lt; 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

\*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 disponibilizados pela Hologic têm a indicação dos códigos de produto, a menos que o contrário seja especificado.

	<u>Código produto</u>
Panther System	303095
Sistema Panther Fusion	PRD-04172
Fluidos contínuos e resíduos Panther System (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 ou Kit de execução Panther	504405
	303096 (5000 testes)
	<i>contém MTUs, sacos de resíduos, tampas de recipientes de resíduos, fluidos de ensaio e reagentes Auto Detect</i>
Pontas, 1000 µl com filtro, condutoras, deteção de líquido e descartáveis	901121 (10612513 Tecan)
<i>Nem todos os produtos estão disponíveis em todas as regiões. Contacte o seu representante para obter informações específicas da região</i>	903031 (10612513 Tecan)
	MME-04134 (30180117 Tecan)
	MME-04128
Kit de transferência de espécimes Aptima <i>para utilização com espécimes em solução PreservCyt</i>	301154C
Kit de transferência de espécimes Aptima — imprimível para utilização com espécimes em solução PreservCyt	PRD-05110
Kit multitteste 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)	—
Luvras descartáveis	—
Tampas perfuráveis Aptima	105668
Tampas não perfuráveis de substituição	103036A
Tampas de substituição para kits de 100 testes	—
Amplification, Enzyme e Probe Reagent reconstitution solutions	CL0041 (100 tampas)
TCR e Selection Reagent	501604 (100 tampas)

## Materiais opcionais

	<u>Código produto</u>
Aptima Controls Kit	301110
Intensificador de lixívia Hologic para limpeza para a limpeza de rotina de superfícies e equipamentos	302101
Dispositivo de agitação de tubos por oscilação	—
Toalhetes que não libertem pelos	—
Coberturas de bancada com forro de plástico	—

## 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. 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.
2. Limpe uma superfície de trabalho separada onde as amostras serão preparadas. Siga o procedimento supramencionado (passo A.1).
3. Limpe os pipetadores. Siga o procedimento de limpeza supramencionado (passo A.1).

### 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.

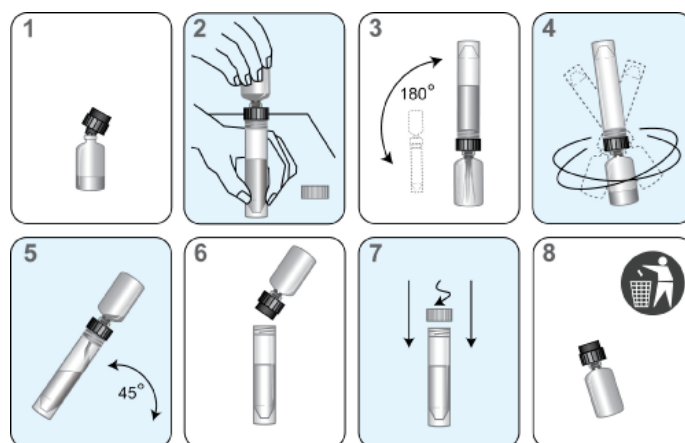
1. Para reconstituir o Amplification Reagent, o Enzyme Reagent e o Probe Reagent, combine os frascos de reagente liofilizado com a solução de reconstituição. Se estiverem refrigeradas, deixe as soluções de reconstituição atingirem a temperatura ambiente antes de utilizá-las.
  - a. Emparelhe cada solução 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 a 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 no 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 tapar o frasco da solução de reconstituição. Grave as iniciais do operador e a data de reconstituição na etiqueta (Figura 1, Passo 7).
- k. Deite fora o aro e o frasco (Figura 1, Passo 8).

**Opção:** É permitida a mistura adicional do Amplification Reagent, do Enzyme Reagent e do Probe Reagent 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 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 Selection Reagent
- 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 os Amplification, Enzyme, Probe e Selection Reagents invertendo suavemente antes de carregar no sistema. Evite formar espuma durante a inversão dos reagentes.*

C. Preparação de reagentes para reagentes previamente reconstituídos

1. O Amplification Reagent, o Enzyme Reagent e o Probe Reagent previamente reconstituídos devem atingir a temperatura ambiente (15 °C a 30 °C) antes do início do ensaio.

**Opção:** *Os frascos de plástico tapados do Amplification Reagent, do Enzyme Reagent e do Probe Reagent 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 Probe Reagent 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 Probe Reagent pode ser utilizado mesmo que contenha resíduos de precipitado. Misture o Probe Reagent 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.

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

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 de 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 citológicos em solução PreservCyt.
4. Inspeção dos tubos de espécimes antes de colocá-los 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:** 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 de 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*. 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. 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 de os 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 de reagente do ensaio 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 GC assay no sistema Panther.
8. Se alguma amostra originar um resultado positivo, devem ser realizada uma investigação adicional.

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



## Interpretação dos testes - CQ/Resultados do paciente

### A. Interpretação dos testes

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

Interpretação dos testes	RLU total (x1000)
Negativo	0* a < 50
Equívoco	50 a < 100
RLU baixo positivo <sup>1,2</sup>	100 a < 2 000
Positivo <sup>1</sup>	2000 a < 12 000
Inválido	0* ou > 12 000

\*Um resultado de zero (0 x 1000) para RLU no relatório do teste representa um valor entre zero e 999 RLU. Valores de RLU inferiores a 690 no sistema Panther constarão no relatório como inválidos.

<sup>1</sup>Consulte a Tabela 3 para obter uma distribuição dos resultados de RLU. A magnitude de RLU não indica o nível de organismos no espécime.

<sup>2</sup>No intervalo positivo baixo, os dados sugerem que os resultados positivos 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.

### B. Resultados e aceitabilidade do controlo de qualidade

O controlo negativo para GC, rotulado com “CONTROL + CT PCT / CONTROL – GC NGC” e o controlo positivo para GC, rotulado com “CONTROL + GC PGC / CONTROL – CT NCT” atuam como controlos nos passos de captura do alvo, de amplificação e de 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 para GC, rotulado com “CONTROL + GC PGC / CONTROL – CT NCT” contém rRNA de GC não infeccioso. Se desejar, podem ser encomendados controlos adicionais em kit. A preparação correta dos espécimes é confirmada visualmente pela presença de uma única zaragatoa de colheita Aptima num tubo de transporte de espécimes, 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.

Os controlos positivos devem produzir os seguintes resultados de teste:

Controlo	RLU total (x1000)	Resultado GC
Positive Control, CT / Negative Control, GC	0* e < 50	Negativo
Positive Control, GC / Negative Control, CT	≥ 100 e < 12.000	Positivo

\*Um resultado de zero (0 x 1000) para RLU no relatório do teste representa um valor entre zero e 999 RLU. Valores de RLU inferiores a 690 no sistema Panther constarão no relatório como inválidos.

1. O software Aptima Assay avalia automaticamente 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 locais.

**Nota:** Contacte o Suporte Técnico da Hologic para obter ajuda relativa a controlos fora do intervalo.

4. Os controlos negativos podem não ser eficazes na monitorização da contaminação por transferência aleatória. Consulte a secção *Estudos de contaminação por transferência para o 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 negativo para GC, rotulado com “CONTROL + CT PCT / CONTROL – GC NGC” e o controlo positivo para GC, rotulado com “CONTROL + GC PGC / CONTROL – CT NCT”, atuam como controlos nos passos de captura do alvo, de amplificação e de deteção do ensaio e têm de ser incluídos em cada execução do ensaio. Se desejar, os controlos para a lise celular e estabilização do RNA 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 *Interpretação dos testes - CQ/ Resultados do paciente* e/ou *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 dos espécimes de esfregaços, urina e espécime citológico em solução PreservCyt. Consulte a *Notas* abaixo.

##### a. Resultados iniciais

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

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.

\*Os resultados de espécimes RLU baixo positivo são incluídos nesta categoria. Consulte *Interpretação dos testes - CQ/Resultados do paciente* acima.

*Notas*

- O primeiro resultado válido não equívoco para cada analito é o resultado que deve ser relatado.
- Recomenda-se que os dados de desempenho sejam cuidadosamente ponderados durante a interpretação dos resultado do teste Aptima GC em indivíduos assintomáticos ou em quaisquer indivíduos de populações de prevalência baixa.
- Um resultado negativo não impede a presença de uma infecção por 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 por uma colheita inadequada de espécimes, armazenamento inadequado de espécimes, um erro técnico, uma mistura de espécimes ou por níveis alvo inferiores ao limite de deteção do ensaio.
- Recomenda-se a realização de testes a espécimes endocervicais de pacientes do sexo feminino sobre as quais haja suspeitas clínicas de padecerem de infeções clamidiais ou gonocócicas. Se forem colhidos esfregaços citológicos e endocervicais, o espécime citológico 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 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 GC.
- C. A presença de muco nos espécimes endocervicais não interfere na deteção de GC por parte do Aptima GC assay. No entanto, para garantir uma amostragem endocervical adequada, elimine o excesso de muco.
- D. A amostragem de espécimes de urina, esfregaços vaginais e espécimes citológicos 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. O Aptima GC assay não se destina a ser utilizado na avaliação de suspeitas de abuso sexual ou de outras indicações médico-legais.
- F. Resultados fiáveis dependem da colheita adequada de espécimes. Como o sistema de transporte utilizado para este ensaio não permite a avaliação microscópica da adequação do espécime, é necessária formação adequada em técnicas de colheita de espécimes. Consulte o folheto informativo do kit de colheita de espécimes Aptima adequado.
- G. O fracasso ou o sucesso terapêutico não podem ser determinados com o Aptima GC assay pois os ácidos nucleicos podem persistir após uma terapêutica antimicrobiana adequada.
- H. Os resultados do Aptima GC assay devem ser interpretados em conjunto com outros dados clínicos e laboratoriais de que o médico disponha.
- 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. O Aptima GC 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.
- K. No caso de estudos clínicos de espécimes de esfregaços vaginais, esfregaços endocervicais, esfregaços uretrais masculinos e espécimes de urina, o desempenho da deteção de GC deriva de populações de prevalência elevada. Os resultados positivos em populações de baixa prevalência devem ser interpretados com cautela, tendo a noção de que a probabilidade de o positivo ser falso pode ser mais elevada do que a de o positivo ser verdadeiro.
- L. Para os ensaios clínicos de espécimes de citologia em solução PreservCyt, o desempenho do Aptima GC assay na deteção de GC é obtido sobretudo em populações de baixa prevalência. Não obstante, resultados positivos em populações de baixa prevalência devem ser interpretados cuidadosamente, levando em consideração que a probabilidade de um falso positivo pode ser mais alta do que a de um positivo verdadeiro.

- M. O desempenho do kit de transferência de espécimes Aptima não foi avaliado quanto à análise do mesmo espécime citológico em solução PreservCyt antes e após o processamento citológico ThinPrep.
- N. Os espécimes de citologia em solução PreservCyt processados com outros instrumentos além do processador ThinPrep 2000 não foram avaliados quanto à utilização com ensaios Aptima.
- O. Os espécimes de esfregaços vaginais colhidos pelas pacientes constituem uma opção para o rastreio de mulheres quando não existem outras indicações para exame pélvico.
- P. A aplicação de espécimes de esfregaço vaginal colhidos pela paciente está limitada a unidades de cuidados de saúde nas quais esteja disponível apoio/aconselhamento para explicar os procedimentos e as precauções.
- Q. O Aptima GC assay não foi validado para ser utilizado com espécimes de esfregaço vaginal colhidos pelas pacientes no domicílio.
- R. O desempenho do Aptima GC assay não foi avaliado em adolescentes com idade inferior a 14 anos.
- S. Não se recomenda a realização de testes a espécimes de esfregaço uretral de homens assintomáticos devido ao baixo valor preditivo de um resultado positivo observado no estudo clínico.
- T. O desempenho do sistema Panther não foi avaliado em altitudes superiores a 2000 m (6561 pés).
- U. Não há evidências de degradação de ácidos nucleicos em solução PreservCyt. Se um espécime citológico em solução PreservCyt apresentar um número baixo de material celular de GC, pode ocorrer uma distribuição não homogênea deste material celular. Além disso, quando comparado com amostras diretas de STM, 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.
- V. Os clientes têm de validar um processo de transferência LIS de forma independente.

## Resultados do estudo clínico

As características de desempenho do Aptima GC assay foram estabelecidas em três investigações clínicas realizadas na América do Norte. A primeira investigação clínica estabeleceu a sensibilidade, a especificidade e os valores preditivos do Aptima GC assay utilizando esfregaços de origem endocervical, vaginal e uretral masculina colhidos pelo médico, esfregaços vaginais colhidos pela paciente e espécimes de urina de ambos os sexos. A segunda investigação clínica estabeleceu a sensibilidade, a especificidade e os valores preditivos do Aptima GC assay utilizando meio de transporte PreservCyt (componente do sistema ThinPrep 2000). Também foram avaliados espécimes de citologia em solução PreservCyt quanto a precisão intra-laboratório com o Aptima GC assay.

As investigações clínicas iniciais para estabelecer a sensibilidade, a especificidade e os valores preditivos do Aptima GC assay foram realizadas utilizando um sistema DTS® semiautomatizado. O ensaio foi então migrado para um sistema Tigris DTS® totalmente automatizado (sem quaisquer alterações na formulação do ensaio) utilizando estudos de comparabilidade clínica. Por último, foram utilizados estudos de comparabilidade clínica para migrar o Aptima GC assay do Tigris DTS para o respetivo sistema de utilização atual, o Panther system. Os dados dos estudos iniciais utilizando os sistemas DTS ou Tigris DTS podem ser mostrados no presente para apoiar o estabelecimento do desempenho do ensaio, embora a utilização atual destes sistemas já não seja suportada pelo fabricante.

Na terceira investigação clínica, o desempenho clínico do Aptima GC assay foi avaliado em participantes do sexo masculino e do sexo feminino sexualmente ativos com, pelo menos, 14 anos, com ou sem sintomas de IST. Este estudo avaliou espécimes de esfregaços vaginais colhidos pelas pacientes e espécimes de urina utilizando o sistema Panther.

## Valores esperados

A positividade de GC em populações de pacientes depende de fatores de risco tais como a idade, o estilo de vida, a presença ou ausência de sintomas e a sensibilidade do teste utilizado para detetar as infeções. Um resumo da positividade de GC na América do Norte, por tipo de espécime conforme determinado pelo Aptima GC assay utilizando o sistema DTS, é apresentado na Tabela 1a e na Tabela 1b para duas investigações clínicas. A Tabela 1c resume a positividade de *N. gonorrhoeae* para o Aptima GC assay no sistema Panther conforme determinado por uma investigação clínica adicional.

**Tabela 1a: Positividade de *N. gonorrhoeae* por centro clínico e total conforme determinado pelos resultados do Aptima GC Assay no sistema DTS.**

Centro	% (n.º positivos/n.º testados)											
	EM		UM		EF		UF		EVP		EVM	
1	21,4	(54/252)	21,4	(54/252)	6,1	(14/229)	5,7	(13/230)	6,4	(14/219)	6,1	(14/230)
2	26,5	(93/351)	20,1	(71/354)	16,1	(32/199)	15,0	(30/200)	16,2	(32/198)	16,6	(33/199)
3	0,0	(0/4)	0,0	(0/4)	4,4	(5/114)	3,5	(4/113)	3,6	(4/111)	3,5	(4/113)
4	N/D		N/D		2,3	(6/266)	1,9	(5/270)	2,2	(6/267)	3,0	(8/269)
5	5,5	(11/200)	5,5	(11/200)	1,5	(3/199)	1,0	(2/199)	1,0	(2/199)	1,0	(2/199)
6	14,5	(44/304)	13,4	(41/305)	8,2	(24/294)	5,7	(17/296)	8,3	(24/290)	7,5	(22/295)
7	5,8	(12/207)	5,8	(12/207)	0,0	(0/102)	0,0	(0/102)	0,0	(0/102)	0,0	(0/102)
8	N/D		N/D		2,0	(1/49)	2,0	(1/49)	2,1	(1/48)	2,0	(1/51)
<b>Todos</b>	<b>16,2</b>	<b>(214/1318)</b>	<b>14,3</b>	<b>(189/1322)</b>	<b>5,9</b>	<b>(85/1452)</b>	<b>4,9</b>	<b>(72/1459)</b>	<b>5,8</b>	<b>(83/1434)</b>	<b>5,8</b>	<b>(84/1458)</b>

**EM** = Esfregaço uretral masculino; **UM** = Urina masculina; **EF** = Esfregaço endocervical feminino; **UF** = Urina feminina; **EVP** = Esfregaço vaginal colhido pela paciente; **EVM** = Esfregaço vaginal colhido pelo médico.; **N/D** = não disponível.

**Tabela 1b: Positividade de *N. gonorrhoeae* por centro clínico e total conforme determinado pelos resultados do Aptima GC Assay no sistema DTS utilizando espécimes citológicos em solução PreservCyt**

Centro	% (n.º positivos/n.º testados)	
1	5,0	(5/100)
2	0,8	(1/124)
3	0,8	(4/475)
4	1,4	(4/287)
5	0,0	(0/297)
6	0,5	(2/364)
<b>Todos</b>	<b>1,0</b>	<b>(16/1647)</b>

Tabela 1c: Positividade de *N. gonorrhoeae* conforme determinado pelos resultados do ensaio Aptima GC no Panther System 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 e não equivocados)		
	EVP	UF	UM
1	14,3 (3/21)	13,6 (3/22)	21,7 (38/175)
2	1,3 (5/383)	1,3 (5/385)	0,8 (3/373)
3	0 (0/75)	0 (0/74)	0 (0/61)
4	0 (0/5)	0 (0/5)	0 (0/13)
5	2,0 (5/254)	2,0 (5/250)	8,3 (34/409)
6	2,0 (10/494)	2,1 (10/484)	9,4 (29/307)
7	2,0 (5/246)	1,6 (4/245)	5,3 (12/225)
8	0 (0/95)	0 (0/97)	0 (0/32)
9	0,3 (1/313)	0 (0/261)	0 (0/218)
10	4,3 (11/255)	4,0 (10/253)	11,0 (10/91)
11	0 (0/96)	0 (0/91)	0 (0/54)
<b>Todos</b>	<b>1,8 (40/2237)</b>	<b>1,7 (37/2167)</b>	<b>6,4 (126/1958)</b>

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

### 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 hipotéticas com a utilização do Aptima GC assay no sistema DTS são apresentados na Tabela 2a. Estes cálculos baseiam-se em taxas de prevalência hipotéticas e na sensibilidade e especificidade gerais estimadas a partir do estado de infeção do paciente. A sensibilidade e a especificidade globais para o Aptima GC assay no sistema DTS foram de 97,6% e 99,3%, respetivamente (Tabela 2a). O VPP e o VPN reais para esfregaços de origem endocervical, vaginal e uretral masculina colhidos pelo médico, esfregaços vaginais colhidos pela paciente e espécimes de urina de ambos os sexos são apresentados na Tabela 6a para cada centro clínico e no geral. O VPP e o VPN reais para os espécimes citológicos em solução PreservCyt utilizando o Aptima GC assay no sistema DTS são apresentados na Tabela 6b.

Tabela 2a: Valores preditivos positivos e negativos para taxas de prevalência hipotéticas na América do Norte no sistema DTS

Taxa de prevalência hipotética (%)	Sensibilidade (%)	Especificidade (%)	VPP (%)	VPN (%)
1	97,6	99,3	58,7	100,0
2	97,6	99,3	74,1	100,0
5	97,6	99,3	88,1	99,9
10	97,6	99,3	94,0	99,7
15	97,6	99,3	96,1	99,6
20	97,6	99,3	97,2	99,4
25	97,6	99,3	97,9	99,2
30	97,6	99,3	98,4	99,0

O VPP e o VPN estimados do Aptima GC assay no sistema Panther em diferentes taxas de prevalência hipotéticas para cada tipo de espécime são apresentados na Tabela 2b. Para cada tipo de espécime, o VPP e o VPN são derivados para diferentes taxas de prevalência



hipotéticas, utilizando os cálculos de sensibilidade e de especificidade globais do estudo clínico multicêntrico (consulte Tabela 11).

Tabela 2b: Valores preditivos positivos e negativos para taxas de prevalência hipotéticas na América do Norte no sistema Panther

Tipo de espécime		Prevalência hipotética						
		1%	2%	5%	10%	15%	20%	25%
EVP	VPP (%)	91,3	95,5	98,2	99,1	99,5	99,6	99,7
	VPN (%)	99,9	99,9	99,7	99,4	99,1	98,8	98,4
UF	VPP (%)	95,2	97,6	99,0	99,5	99,7	99,8	99,8
	VPN (%)	99,9	99,8	99,6	99,2	98,7	98,1	97,5
UM	VPP (%)	94,8	97,4	99,0	99,5	99,7	99,8	99,8
	VPN (%)	100	100	99,9	99,8	99,7	99,6	99,5

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

## Distribuição de RLU no Aptima GC assay no sistema DTS

A Figura 2 mostra a distribuição de RLU para o Aptima GC assay para os seguintes tipos de espécimes testados no estudo clínico: de pacientes sintomáticos, esfregaços de origem endocervical, vaginal e uretral masculina colhidos pelo médico e espécimes de urina de ambos os sexos colhida pelos pacientes; e de pacientes assintomáticos, esfregaços de origem endocervical e vaginal colhidos pelo médico e esfregaços vaginais colhidos pela paciente e espécimes de urina de ambos os sexos. A Tabela 3 resume a distribuição de RLU para os resultados positivos totais e negativos totais, bem como os resultados de positivos falsos e negativos falsos para estes tipos de espécimes em relação ao estado de infecção do paciente. Entre certos tipos de espécimes, verifica-se uma tendência para o aumento da proporção de positivos verdadeiros quando os valores de RLU aumentam.

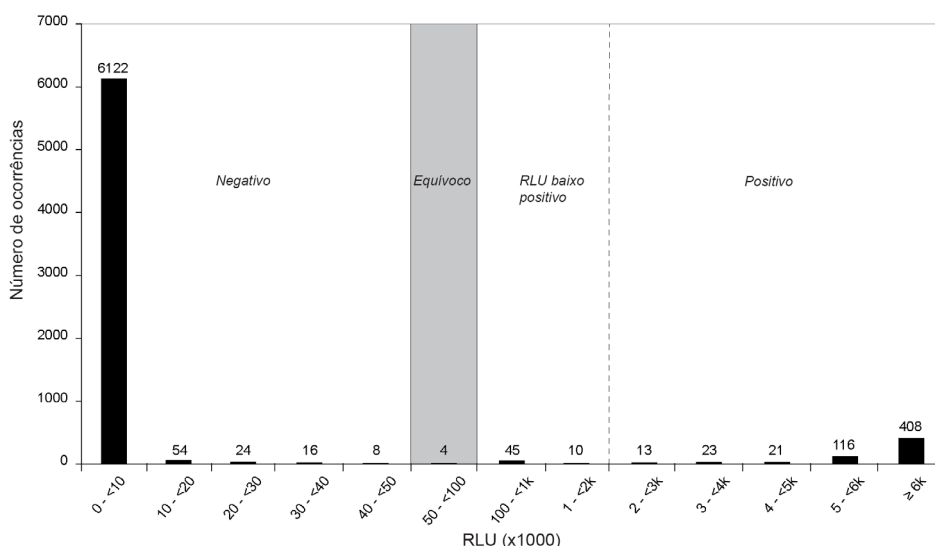


Figura 2. Frequência da distribuição de RLU para o Aptima GC assay no sistema DTS

Tabela 3: Distribuição de RLU no Aptima GC assay no sistema DTS

	RLU (x 1000)												
	0 – <10	10 – <20	20 – <30	30 – <40	40 – <50	50 – <100	100 – <1000	1000 – <2000	2000 – <3000	3000 – <4000	4000 – <5000	5000 – <6000	≥6000
<b>Total de positivos</b>	-	-	-	-	-	-	45	10	13	23	21	116	408
<b>Total de positivos falsos</b>	-	-	-	-	-	-	35	6	2	4	0	3	0
<b>EVM</b>	-	-	-	-	-	1	5	3	0	1	0	2	0
<b>EVP</b>	-	-	-	-	-	0	2	0	0	1	0	1	0
<b>EF</b>	-	-	-	-	-	2	12	1	0	0	0	0	0
<b>EM</b>	-	-	-	-	-	1	9	0	1	0	0	0	0
<b>UF</b>	-	-	-	-	-	0	2	0	0	1	0	0	0
<b>UM</b>	-	-	-	-	-	0	5	2	1	1	0	0	0
<b>Total de negativos</b>	6122	54	24	16	8	-	-	-	-	-	-	-	-
<b>Total de negativos falsos</b>	7	2	1	2	1	-	-	-	-	-	-	-	-
<b>EVM</b>	2	0	0	0	0	-	-	-	-	-	-	-	-
<b>EVP</b>	0	0	0	0	0	-	-	-	-	-	-	-	-
<b>EF</b>	0	0	0	1	1	-	-	-	-	-	-	-	-
<b>EM</b>	0	1	0	0	0	-	-	-	-	-	-	-	-
<b>UF</b>	3	1	1	1	0	-	-	-	-	-	-	-	-
<b>UM</b>	2	0	0	0	0	-	-	-	-	-	-	-	-

**EVM** = Esfregaço vaginal colhido pelo médico; **EVP** = Esfregaço vaginal colhido pela paciente apenas de pacientes assintomáticas; **EF** = Esfregaço endocervical feminino; **EM** = Esfregaço uretral masculino apenas de pacientes sintomáticos; **UF** = Urina feminina; **UM** = Urina masculina.

A coluna sombreada indica uma zona equívoca.

## Desempenho clínico do sistema DTS

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

Foram colhidos esfregaços endocervicais, esfregaços vaginais e esfregaços uretrais masculinos colhidos pelo médico, esfregaços vaginais colhidos pelas pacientes, assim como espécimes de urina de ambos os sexos de 2787 participantes sintomáticos e assintomáticos do sexo masculino e do sexo feminino, utentes de clínicas de obstetrícia/ginecologia, doenças sexualmente transmissíveis (DST), adolescentes e planeamento familiar em oito centros clínicos geograficamente distintos na América do Norte. Os participantes foram classificados como sintomáticos quando houve relato pelo participante de sintomas como corrimento, disúria e dor pélvica. Os participantes foram classificados como assintomáticos caso não tenham relatado quaisquer sintomas. Dos 1392 participantes assintomáticos incluídos no estudo, 2 tinham menos de 16 anos, 237 tinham idades entre 16 e 20, 423 tinham idades entre 21 e 25 e 730 tinham idade superior a 25 anos. Dos 1395 participantes sintomáticos incluídos no estudo, 211 tinham idades entre 16 e 20, 494 tinham idades entre 21 e 25 e 690 tinham idade superior a 25 anos.

Foram colhidos três espécimes de cada um dos 1322 participantes elegíveis do sexo masculino. Foram colhidos cinco espécimes de cada uma das 1465 participantes elegíveis do sexo feminino. No caso dos participantes masculinos, foram colhidos dois esfregaços uretrais aleatórios seguidos de um espécime de urina. No caso das participantes do sexo feminino, foi colhido um espécime de urina, seguido de um esfregaço vaginal colhido pela paciente, um esfregaço vaginal colhido pelo médico e dois esfregaços endocervicais aleatórios. Os resultados do Aptima GC assay e do Aptima Combo 2 assay GC foram gerados a partir dos dois esfregaços vaginais, de um esfregaço endocervical, de um esfregaço uretral masculino e de uma alíquota de urina de ambos os sexos. Os restantes esfregaços endocervicais, esfregaços uretrais masculinos e uma alíquota de urina masculina e feminina foram testados com outro NAAT disponível no mercado. Os espécimes de esfregaço endocervical, esfregaço uretral masculino e urina masculina e feminina testados com o ensaio Aptima Combo 2 e com o outro NAAT disponível no mercado foram utilizados como NAAT de referência para determinar o estado de infeção de cada participante. O teste de espécimes foi conduzido no local de inclusão do participante ou num local de teste externo.

Todos os cálculos de desempenho se basearam no número total de resultados do Aptima GC assay para espécimes de esfregaço endocervical, vaginal e de uretra masculina e espécimes de urina de ambos os sexos comparados com o algoritmo do estado de infeção do paciente para cada sexo. No algoritmo, a designação de um paciente como infetado ou não infetado ou com GC baseou-se em resultados de esfregaço e do espécime de urina do Aptima Combo 2 assay disponível comercialmente e de outro NAAT disponível comercialmente. Os pacientes foram considerados infetados com GC se dois dos quatro esfregaços 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 participantes foram considerados não infetados se menos de dois NAAT de referência tiveram resultado positivo. A cultura não foi utilizada como teste de referência.

Foi utilizado um total de 7653 resultados do Aptima GC assay (utilizando o sistema DTS) para calcular a sensibilidade e a especificidade. A sensibilidade e a especificidade para GC por sexo, tipo de espécime e estado sintomático, conforme adequado, são apresentadas na Tabela 4. A Tabela 6a mostra os valores da sensibilidade, da especificidade e preditivos do Aptima GC assay, em comparação com o estado de infeção do paciente para cada centro clínico e no geral. As Tabelas 7a-7e resumem o número de resultados de indivíduos sintomáticos e assintomáticos designados como infetados ou não infetados por GC de acordo com o algoritmo do estado de infeção do paciente.

Dos 2787 pacientes registados, havia 15 pacientes com estado de infeção do paciente por GC desconhecido. Os participantes foram designados com um estado de infeção do paciente desconhecido se houvesse uma falta de resultados que impedisse determinações conclusivas do estado de infeção. Os resultados destes participantes não foram incluídos em quaisquer cálculos do desempenho. Dos 7704 resultados do Aptima GC assay, houve 22 espécimes (0,29%) que produziram inicialmente resultados do ensaio inválidos ou equívocos. Após a repetição dos testes destes espécimes, 4 permaneceram equívocos e foram excluídos das análises. Os restantes 18 espécimes produziram resultados de teste válidos após a repetição dos testes e foram utilizados nos cálculos do desempenho clínico.

*Tabela 4: Sensibilidade e especificidade do Aptima GC Assay em relação ao estado de infeção do paciente por estado sintomático e no geral para esfregaço de uretra masculina, urina masculina, esfregaço endocervical feminino, urina feminina, esfregaço vaginal colhido por paciente assintomática e esfregaço vaginal colhido pelo médico*

Espécime		Estado sintomático	N	PV	PF	NV	NF	Sensibilidade (CI de 95%)		Especificidade (95% CI)	
Masculino	Zaragatoa	Sintomático	575	171	10 <sup>a</sup>	393	1	99,4	(96,8-100)	97,5	(95,5-98,8)
	Urina	Sintomático	576	171	4 <sup>b</sup>	400	1	99,4	(96,8-100)	99,0	(97,5-99,7)
		Assintomático	745	9	5 <sup>c</sup>	730	1	90,0	(55,5-99,7)	99,3	(98,4-99,8)
		Todos	1321	180	9 <sup>d</sup>	1130	2	98,9	(96,1-99,9)	99,2	(98,5-99,6)
Feminino	Zaragatoa	Sintomático	805	52	8 <sup>e</sup>	744	1	98,1	(89,9-100)	98,9	(97,9-99,5)
		Assintomático	635	20	5 <sup>f</sup>	609	1	95,2	(76,2-99,9)	99,2	(98,1-99,7)
		Todos	1440	72	13 <sup>g</sup>	1353	2	97,3	(90,6-99,7)	99,0	(98,4-99,5)
	Urina	Sintomático	810	48	2 <sup>h</sup>	755	5	90,6	(79,3-96,9)	99,7	(99,0-100)
		Assintomático	639	21	1 <sup>i</sup>	616	1	95,5	(77,2-99,9)	99,8	(99,1-100)
Todos	1449	69	3 <sup>j</sup>	1371	6	92,0	(83,4-97,0)	99,8	(99,4-100)		
Colhido pelo paciente	Esfregaço Zaragatoa	Assintomático	629	21	4 <sup>k</sup>	604	0	100	(83,9-100)	99,3	(98,3-99,8)
Colhido pelo médico	Esfregaço Zaragatoa	Sintomático	809	52	7 <sup>m</sup>	749	1	98,1	(89,9-100)	99,1	(98,1-99,6)
		Assintomático	637	21	4 <sup>n</sup>	611	1	95,5	(77,2-99,9)	99,3	(98,3-99,8)
		Todos	1446	73	11 <sup>o</sup>	1360	2	97,3	(90,7-99,7)	99,2	(98,6-99,6)

PV = positivo verdadeiro; PF = positivo falso; NV = negativo verdadeiro; NF = negativo falso; CI = intervalo de confiança.

Resultados de GC do Aptima Combo 2 Assay: N.º de resultados positivos / n.º de espécimes testados <sup>a</sup>2/10; <sup>b</sup>1/4; <sup>c</sup>1/5; <sup>d</sup>2/9; <sup>e</sup>5/8; <sup>f</sup>2/5; <sup>g</sup>7/13; <sup>h</sup>1/2; <sup>i</sup>1/1; <sup>j</sup>2/3; <sup>k</sup>3/4; <sup>l</sup>8/11; <sup>m</sup>6/7; <sup>n</sup>3/4; <sup>o</sup>9/11.

## Estudo clínico de espécimes de citologia em solução PreservCyt

Realizou-se um estudo clínico multicêntrico prospetivo para avaliar a utilização de meio de transporte PreservCyt como meio alternativo para espécimes ginecológicos para a deteção de *N. gonorrhoeae* pelo Aptima GC assay. No estudo clínico foram registadas e avaliadas mil seiscentas e quarenta e sete (1647) pacientes sintomáticas e assintomáticas que frequentam consultas de obstetrícia/ginecologia, planeamento familiar, saúde pública, da mulher e de DST. Destas pacientes, 1288 eram pacientes assintomáticas e 359 eram pacientes sintomáticas (Tabela 7e). As pacientes foram registadas em centros com uma prevalência de GC entre 0,0% e 5,0% (Tabela 6b).

Foram colhidos dois espécimes por cada participante elegível: um espécime citológico em solução PreservCyt e um espécime de esfregaço endocervical. Os espécimes citológicos em solução PreservCyt foram colhidos com a espátula/escova citológica ou com um dispositivo de amostragem cervical semelhante a uma escova. A distribuição dos dispositivos de amostragem cervical é resumida na Tabela 5a por local de colheita do espécime e a nível geral.

Os espécimes de citologia em solução PreservCyt foram processados de acordo com o Manual de instruções do ThinPrep 2000 Processor e com o folheto informativo do kit de transferência de espécimes Aptima e da solução de transferência Aptima. Depois de processar o espécime de citologia em solução PreservCyt com o processador ThinPrep 2000, o espécime foi transferido para o kit de transferência de espécimes Aptima para ser testado com o Aptima GC assay.

A sensibilidade e a especificidade do Aptima GC assay em espécimes de citologia em solução PreservCyt foram calculadas através da comparação dos resultados com o estado de infecção do paciente. O algoritmo incluí resultados do Aptima Combo 2 assay e do Aptima GC assay em espécimes de esfregaços endocervicais. Para estabelecer um estado de infecção do paciente positivo, exigia-se que ambos os NAAT de referência dessem resultados positivos. Pelo menos um NAAT de referência tinha de ser negativo para estabelecer um estado de paciente não infetada. O único resultado equívoco que foi obtido num NAAT de referência foi considerado como discordante do ensaio de investigação para efeitos do desempenho do cálculo e, assim, o estado de infecção da paciente foi categorizado como não infetada (n=1). A Tabela 7e resume a frequência dos resultados dos testes para os espécimes de esfregaços endocervicais testados com o Aptima Combo 2 assay e o Aptima GC assay.

A Tabela 5b mostra as sensibilidades e as especificidades do Aptima GC assay por estado sintomático e no geral. A sensibilidade global foi de 92,3% (12/13). Nas pacientes sintomáticas e assintomáticas, as sensibilidades foram de 100% (7/7) e 83,3% (5/6), respetivamente. A especificidade global foi de 99,8% (1630/1634). Nos participantes sintomáticos e assintomáticos, as especificidades foram de 99,4% (350/352) e 99,8% (1280/1282), respetivamente.

A Tabela 6b mostra as sensibilidades e as especificidades do Aptima GC assay por colheita de espécimes e no geral. As sensibilidades variaram entre 80,0% e 100%. As especificidades variaram entre 99,0% e 100%.

*Tabela 5a: Distribuição do dispositivo de obtenção de amostras cervicais utilizado para espécimes citológicos em solução PreservCyt*

Dispositivo de obtenção de amostras cervicais utilizado	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

Tabela 5b: Sensibilidade e especificidade do Aptima GC Assay em relação ao estado de infeção da paciente por estado sintomático e no geral para espécimes citológicos em solução PreservCyt

Sintoma	Resultados da solução PreservCyt no Aptima GC	+/+	+/-	-/+	-/-	Sensibilidade (%) (CI de 95%)	Especificidade (%) (CI de 95%)
Sintomático	Positivo	7	0	0	2	100 (7/7) (59,0-100)	99,4 (350/352) (98,0-99,9)
	Negativo	0	0	0	350		
	Total	7	0	0	352		
Assintomático	Positivo	5	0	1 <sup>1</sup>	1	83,3 (5/6) (35,9-99,6)	99,8 (1280/1282) (99,4-100)
	Negativo	1	0	5	1275		
	Total	6	0	6	1276		
Todos	Positivo	12	0	1	3	92,3 (12/13) (64,0-99,8)	99,8 (1630/1634) (99,4-99,9)
	Negativo	1	0	5	1625		
	Total	13	0	6	1628		

CI = Intervalo de Confiança.

+/+ = Resultado positivo 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 Aptima Combo 2 Assay/Resultado negativo do espécime de esfregaço endocervical no Aptima GC Assay.

-/+ = Resultado negativo do espécime de esfregaço endocervical no Aptima Combo 2 Assay/Resultado positivo do espécime de esfregaço endocervical no Aptima GC Assay.

-/- = Resultado negativo do espécime de esfregaço endocervical no Aptima Combo 2 Assay/Resultado negativo do espécime de esfregaço endocervical no Aptima GC Assay.

<sup>1</sup>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.

Tabela 6a: Sensibilidade, especificidade e valores preditivos do Aptima GC Assay em relação ao estado de infeção do paciente por centro clínico e no geral para esfregaço de uretra masculina, urina masculina, esfregaço endocervical feminino, urina feminina, esfregaço vaginal colhido por paciente assintomática e esfregaço vaginal colhido pelo médico

Espécime	Centro	N	PV	PF	NV	NF	Prev (%)	Sensibilidade (CI de 95%)	Especificidade (95% CI)	VPP (%)	VPN (%)
Zaragoza	1	145	49	0	96	0	33,8	100 (92,7-100)	100 (96,2-100)	100	100
	2	177	66	8	102	1	37,9	98,5 (92,0-100)	92,7 (86,2-96,8)	89,2	99,0
	3	N/D	N/D	N/D	N/D	N/D	N/D	N/D	N/D	N/D	N/D
	4	N/D	N/D	N/D	N/D	N/D	N/D	N/D	N/D	N/D	N/D
	5	49	7	1	41	0	14,3	100 (59,0-100)	97,6 (87,4-99,9)	87,5	100
	6	150	37	1	112	0	24,7	100 (90,5-100)	99,1 (95,2-100)	97,4	100
	7	54	12	0	42	0	22,2	100 (73,5-100)	100 (91,6-100)	100	100
	8	N/D	N/D	N/D	N/D	N/D	N/D	N/D	N/D	N/D	N/D
	<b>Todos</b>	<b>575</b>	<b>171</b>	<b>10</b>	<b>393</b>	<b>1</b>	<b>29,9</b>	<b>99,4 (96,8-100)</b>	<b>97,5 (95,5-98,8)</b>	<b>94,5</b>	<b>99,7</b>
<b>Masculino</b>											
Urina	1	252	53	1	198	0	21,0	100 (93,3-100)	99,5 (97,2-100)	98,1	100
	2	353	68	3	280	2	19,8	97,1 (90,1-99,7)	98,9 (96,9-99,8)	95,8	99,3
	3	4	0	0	4	0	0,0	N/D	100 (39,8-100)	N/D	100
	4	N/D	N/D	N/D	N/D	N/D	N/D	N/D	N/D	N/D	N/D
	5	200	8	3	189	0	4,0	100 (63,1-100)	98,4 (95,5-99,7)	72,7	100
	6	305	39	2	264	0	12,8	100 (91,0-100)	99,2 (97,3-99,9)	95,1	100
	7	207	12	0	195	0	5,8	100 (73,5-100)	100 (98,1-100)	100	100
	8	N/D	N/D	N/D	N/D	N/D	N/D	N/D	N/D	N/D	N/D
	<b>Todos</b>	<b>1321</b>	<b>180</b>	<b>9</b>	<b>1130</b>	<b>2</b>	<b>13,8</b>	<b>98,9 (96,1-99,9)</b>	<b>99,2 (98,5-99,6)</b>	<b>95,2</b>	<b>99,8</b>

Tabela 6a: Sensibilidade, especificidade e valores preditivos do Aptima GC Assay em relação ao estado de infecção do paciente por centro clínico e no geral para esfregaço de uretra masculina, urina masculina, esfregaço endocervical feminino, urina feminina, esfregaço vaginal colhido por paciente assintomática e esfregaço vaginal colhido pelo médico (continuação)

Espécime		Centro	N	PV	PF	NV	NF	Prev (%)	Sensibilidade (CI de 95%)	Especificidade (95% CI)	VPP (%)	VPN (%)		
Zaragatoa	1	226	12	2	212	0	5,3	100	(73,5-100)	99,1	(96,7-99,9)	85,7	100	
	2	197	29	3	164	1	15,2	96,7	(82,8-99,9)	98,2	(94,8-99,6)	90,6	99,4	
	3	114	4	1	109	0	3,5	100	(39,8-100)	99,1	(95,0-100)	80,0	100	
	4	260	5	1	254	0	1,9	100	(47,8-100)	99,6	(97,8-100)	83,3	100	
	5	199	2	1	196	0	1,0	100	(15,8-100)	99,5	(97,2-100)	66,7	100	
	6	294	19	5	269	1	6,8	95,0	(75,1-99,9)	98,2	(95,8-99,4)	79,2	99,6	
	7	102	0	0	102	0	0,0		N/D	100	(96,4-100)	N/D	100	
	8	48	1	0	47	0	2,1	100	(2,5-100)	100	(92,5-100)	100	100	
	Todos	1440	72	13	1353	2	5,1	97,3	(90,6-99,7)	99,0	(98,4-99,5)	84,7	99,9	
Feminino														
Urina	1	227	11	2	213	1	5,3	91,7	(61,5-99,8)	99,1	(96,7-99,9)	84,6	99,5	
	2	198	30	0	167	1	15,7	96,8	(83,3-99,9)	100	(97,8-100)	100	99,4	
	3	113	4	0	109	0	3,5	100	(39,8-100)	100	(96,7-100)	100	100	
	4	265	5	0	260	0	1,9	100	(47,8-100)	100	(98,6-100)	100	100	
	5	199	2	0	197	0	1,0	100	(15,8-100)	100	(98,1-100)	100	100	
	6	296	16	1	275	4	6,8	80,0	(56,3-94,3)	99,6	(98,0-100)	94,1	98,6	
	7	102	0	0	102	0	0,0		N/D	100	(96,4-100)	N/D	100	
	8	49	1	0	48	0	2,0	100	(2,5-100)	100	(92,6-100)	100	100	
	Todos	1449	69	3	1371	6	5,2	92,0	(83,4-97,0)	99,8	(99,4-100)	95,8	99,6	
Colhido pelo paciente	Esfregaço vaginal (assintomático)	1	70	5	1	64	0	7,1	100	(47,8-100)	98,5	(91,7-100)	83,3	100
		2	46	7	1	38	0	15,2	100	(59,0-100)	97,4	(86,5-99,9)	87,5	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	4	604	0	3,3	100	(83,9-100)	99,3	(98,3-99,8)	84,0	100
Colhido pelo médico	Esfregaço vaginal	1	227	12	2	213	0	5,3	100	(73,5-100)	99,1	(96,7-99,9)	85,7	100
		2	197	30	3	163	1	15,7	96,8	(83,3-99,9)	98,2	(94,8-99,6)	90,9	99,4
		3	113	4	0	109	0	3,5	100	(39,8-100)	100	(96,7-100)	100	100
		4	263	5	3	255	0	1,9	100	(47,8-100)	98,8	(96,6-99,8)	62,5	100
		5	199	2	0	197	0	1,0	100	(15,8-100)	100	(98,1-100)	100	100
		6	295	19	3	272	1	6,8	95,0	(75,1-99,9)	98,9	(96,8-99,8)	86,4	99,6
		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	1446	73	11	1360	2	5,2	97,3	(90,7-99,7)	99,2	(98,6-99,6)	86,9	99,9

PV = positivo verdadeiro; PF = positivo falso; NV = negativo verdadeiro; NF = negativo falso; Prev = prevalência; CI = intervalo de confiança; VPP = valor preditivo positivo; VPN = valor preditivo negativo; ND = não disponível.

Tabela 6b: Sensibilidade, especificidade e valores preditivos do Aptima GC Assay em relação ao estado de infeção do paciente por centro clínico e no geral para espécimes de citologia em solução PreservCyt

Centro	Resultados da solução PreservCyt no Aptima GC	+/+	+/-	-/+	-/-	Prev (%)	Sensibilidade (%) (CI de 95%)	Especificidade (%) (CI de 95%)	VPP(%)	VPN(%)
1	Positivo	5	0	0	0	5,0	100 (5/5) (47,8-100)	100 (95/95) (96,2-100)	100	100
	Negativo	0	0	0	95					
	Total	5	0	0	95					
2	Positivo	1	0	0	0	0,8	100 (1/1) (2,5-100)	100 (123/123) (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 (4/5) (28,4-99,5)	100 (470/470) (99,2-100)	100	99,8
	Negativo	1	0	0	470					
	Total	5	0	0	470					
4	Positivo	1	0	0	3	0,3	100 (1/1) (2,5-100)	99,0 (283/286) (97,0-99,8)	25,0	100
	Negativo	0	0	3	280					
	Total	1	0	3	283					
5	Positivo	0	0	0	0	0,0	N/D	100 (297/297) (98,8-100)	N/D	100
	Negativo	0	0	0	297					
	Total	0	0	0	297					
6	Positivo	1	0	1 <sup>1</sup>	0	0,3	100 (1/1) (2,5-100)	99,7 (362/363) (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 (12/13) (64,0-99,8)	99,8 (1630/1634) (99,4-99,9)	75,0	99,9
	Negativo	1	0	5	1625					
	Total	13	0	6	1628					

CI = intervalo de confiança; N/A = não aplicável; VPP = valor preditivo positivo; VPN = valor preditivo negativo.

+/+ = Resultado positivo 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 Aptima Combo 2 Assay/Resultado negativo do espécime de esfregaço endocervical no Aptima GC Assay.

-/+ = Resultado negativo do espécime de esfregaço endocervical no Aptima Combo 2 Assay/Resultado positivo do espécime de esfregaço endocervical no Aptima GC Assay.

-/- = Resultado negativo do espécime de esfregaço endocervical no Aptima Combo 2 Assay/Resultado negativo do espécime de esfregaço endocervical no Aptima GC Assay.

<sup>1</sup>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.



Tabela 7a: Resultados de esfregaço da uretral masculino sintomático de pacientes infetados ou não infetados por *N. gonorrhoeae* de acordo com o estado de infecção do paciente

Estado de infecção do paciente	NAAT 1 (Aptima Combo 2 Assay)		NAAT 2		Aptima GC Assay	Total
	EM	UM	EM	UM	EM	
Infetado	+	+	+	+	+	164
Infetado	+	+	+	+	-	1
Infetado	+	+	+	-	+	3
Infetado	+	+	=	+	+	1
Infetado	+	-	+	+	+	2
Infetado	+	-	+	-	+	1
Não infetado	+	-	-	-	+	2
Não infetado	+	-	-	-	-	1
Não infetado	-	+	-	-	+	1
Não infetado	-	-	+	-	-	1
Não infetado	-	-	-	+	-	2
Não infetado	-	-	-	-	+	3
Não infetado	-	-	-	-	+	2
Não infetado	-	-	-	-	-	386
Não infetado	-	-	-	-	=	1
Não infetado	-	-	-	N/D	-	1
Não infetado	-	-	-	=	-	1
Não infetado	-	-	=	-	-	1
Não infetado	=	-	-	-	+	2
<b>Total</b>						<b>576</b>

**N/A** = espécime não obtido ou não disponível para teste; **EM** = esfregaço uretral masculino sintomático; **UM** = urina masculina.

O sinal de igual (=) representa um resultado equívoco ou indeterminado na repetição do teste.

Tabela 7b: Resultados da urina masculina de pacientes infetados ou não infetados por *N. gonorrhoeae* de acordo com o estado de infeção do paciente

Estado de infeção do paciente	NAAT 1 (Aptima Combo 2 Assay)		NAAT 2		Aptima GC Assay	Estado sintomático		Total
	EM	UM	EM	UM	UM	Sint	Assint	
Infetado	+	+	+	+	+	164	8	172
Infetado	+	+	+	+	+	1	0	1
Infetado	+	+	+	-	+	3	1	4
Infetado	+	+	=	+	+	1	0	1
Infetado	+	-	+	+	+	2	0	2
Infetado	+	-	+	-	-	1	1	2
Não infetado	+	+	-	-	+	0	1	1
Não infetado	+	-	-	-	-	2	13	15
Não infetado	+	-	-	-	-	1	0	1
Não infetado	-	+	-	-	+	1	0	1
Não infetado	-	+	-	-	-	0	1	1
Não infetado	-	-	+	-	-	1	1	2
Não infetado	-	-	-	+	-	2	2	4
Não infetado	-	-	-	-	+	3	1	4
Não infetado	-	-	-	-	-	2	1	3
Não infetado	-	-	-	-	+	0	3	3
Não infetado	-	-	-	-	-	386	691	1077
Não infetado	-	-	-	-	-	1	2	3
Não infetado	-	-	-	N/D	-	1	4	5
Não infetado	-	-	-	=	-	1	4	5
Não infetado	-	-	=	-	-	1	1	2
Não infetado	-	=	-	-	-	0	1	1
Não infetado	N/D	-	-	-	-	0	1	1
Não infetado	=	-	-	-	-	2	6	8
Não infetado	=	-	-	-	-	0	2	2
<b>Total</b>						<b>576</b>	<b>745</b>	<b>1321</b>

**Sint** = sintomático; **Assint** = assintomático; **EM** = esfregaço uretral masculino; **UM** = urina masculina; **N/A** = espécime não obtido ou não disponível para teste.

O sinal de igual (=) representa um resultado equívoco ou indeterminado na repetição do teste.

Tabela 7c: Resultados de esfregaço endocervical e urina femininos de pacientes infetadas ou não infetadas por *N. gonorrhoeae* de acordo com o estado de infecção do paciente

Estado de infecção do paciente	NAAT 1 (Aptima Combo 2 Assay)		NAAT 2		Aptima GC Assay		Estado sintomático		Total
	EF	UF	EF	UF	EF	UF	Sint	Assint	
Infetado	+	+	+	+	+	+	43	16	59
Infetado	+	+	+	+	+	-	2	0	2
Infetado	+	+	+	-	+	+	2	1	3
Infetado	+	+	+	-	+	-	0	1	1
Infetado	+	+	+	N/D	+	+	1	0	1
Infetado	+	+	-	+	+	+	1	1	2
Infetado	+	+	-	-	+	+	1	1	2
Infetado	+	-	+	+	+	-	1	0	1
Infetado	+	-	+	-	+	+	0	1	1
Infetado	+	-	+	-	+	-	2	0	2
Infetado	-	+	+	+	-	+	1	0	1
Infetado	-	+	-	+	-	+	0	1	1
Infetado	-	+	-	+	=	+	0	1	1
Infetado	-	-	+	+	-	-	1	0	1
Não infetado	+	-	-	-	+	-	4	1	5
Não infetado	+	-	-	-	-	-	1	0	1
Não infetado	-	+	-	-	-	-	1	0	1
Não infetado	-	-	+	-	+	-	1	0	1
Não infetado	-	-	+	-	-	-	5	2	7
Não infetado	-	-	-	+	-	-	2	2	4
Não infetado	-	-	-	-	+	-	1	2	3
Não infetado	-	-	-	-	-	+	1	0	1
Não infetado	-	-	-	-	-	-	718	589	1307
Não infetado	-	-	-	-	=	-	1	0	1
Não infetado	-	-	-	N/D	-	-	2	3	5
Não infetado	-	-	-	=	-	-	11	11	22
Não infetado	-	-	=	-	-	-	1	1	2
Não infetado	-	N/D	-	-	-	N/D	1	1	2
Não infetado	N/D	-	-	-	N/D	-	5	4	9
Não infetado	=	-	-	-	+	-	1	1	2
<b>Total</b>							<b>811</b>	<b>640</b>	<b>1451</b>

**Sint** = sintomático; **Assint** = assintomático; **EF** = esfregaço endocervical feminino; **UF** = Urina feminina; **N/A** = espécime não obtido ou não disponível para teste.

O sinal de igual (=) representa um resultado equívoco ou indeterminado na repetição do teste.

Tabela 7d: Resultados de esfregaço vaginal de pacientes infetadas ou não infetadas por *N. gonorrhoeae* de acordo com o estado de infecção do paciente

Estado de infecção do paciente	NAAT 1 (Aptima Combo 2 Assay)		NAAT 2		Aptima GC Assay		Estado sintomático		Total
	EF	UF	EF	UF	EVP	EVM	Sint	Assint	
Infetado	+	+	+	+	+	+	43	15	58
Infetado	+	+	+	+	-	+	1	0	1
Infetado	+	+	+	+	-	-	1	0	1
Infetado	+	+	+	+	N/D	+	0	1	1
Infetado	+	+	+	-	+	+	2	2	4
Infetado	+	+	+	N/D	+	+	1	0	1
Infetado	+	+	-	+	+	+	1	1	2
Infetado	+	+	-	-	+	+	1	1	2
Infetado	+	-	+	+	+	+	1	0	1
Infetado	+	-	+	-	+	+	2	1	3
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	1	3
Não infetado	-	-	-	-	+	-	3	1	4
Não infetado	-	-	-	-	-	+	3	1	4
Não infetado	-	-	-	-	-	-	696	577	1273
Não infetado	-	-	-	-	-	N/D	0	1	1
Não infetado	-	-	-	-	-	=	0	1	1
Não infetado	-	-	-	-	N/D	-	16	9	25
Não infetado	-	-	-	-	N/D	N/D	1	0	1
Não infetado	-	-	-	N/D	-	-	2	2	4
Não infetado	-	-	-	N/D	N/D	-	0	1	1
Não infetado	-	-	-	=	-	-	11	10	21
Não infetado	-	-	-	=	-	N/D	0	1	1
Não infetado	-	-	=	-	-	-	1	1	2
Não infetado	-	N/D	-	-	-	-	0	1	1
Não infetado	-	N/D	-	-	N/D	N/D	1	0	1
Não infetado	N/D	-	-	-	-	-	5	4	9
Não infetado	=	-	-	-	-	-	1	1	2
<b>Total</b>							<b>811</b>	<b>640</b>	<b>1451</b>

**Sint** = sintomático; **Assint** = assintomático; **EF** = esfregaço endocervical feminino; **UF** = urina feminina; **EVP** = esfregaço vaginal colhido pela paciente; **EVM** = esfregaço vaginal colhido pelo médico; **N/A** = espécime não obtido ou não disponível para teste. O sinal de igual (=) representa um resultado equívoco ou indeterminado na repetição do teste.

Tabela 7e: Estudo Clínico da Solução PreservCyt (Resultados do estado de infeção do paciente a partir de espécimes de esfregaço endocervical)

Estado de infeção do paciente	Esfregaço endocervical		Estado sintomático	
	Aptima Combo 2 Assay	Aptima GC Assay	Sintomático	Assintomático
Infetado	Positivo	Positivo	7	6
Não infetado	Negativo	Negativo	352	1276
Não infetado	Negativo	Positivo	0	5
Não infetado	Equívoco	Positivo	0	1
<b>Total</b>			<b>359</b>	<b>1288</b>

### Distribuição de RLU dos controlos Aptima

A Tabela 8 mostra a distribuição dos valores de RLU para o controlo positivo, GC / controlo negativo, CT e para o controlo positivo, CT / controlo negativo, GC de todas as execuções do Aptima GC assay realizadas durante o estudo dos espécimes clínicos.

Tabela 8: Distribuição de RLU dos controlos Aptima durante os estudos de espécimes clínicos que incluíram esfregaços endocervicais, vaginais e uretrais masculinos, espécimes de urina masculina e feminina e espécimes citológicos em solução PreservCyt

Controlo	Estatísticas	RLU (x1000)	
		Estudo clínico de esfregaço e espécimes de urina	Estudo clínico de espécimes citológicos em solução PreservCyt
Positive Control, GC / Negative Control, CT	N	193	218
	Média	5048	4561
	DP	1071	1295
	Máximo	6765	6791
	Percentil 75	5763	5450
	Mediana	5175	4859
	Percentil 25	4645	3804
	Mínimo	229	158
Controlo positivo, CT/controlo negativo, GC	N	193	218
	Média	2,15	2,60
	DP	2,20	2,80
	Máximo	20	29
	Percentil 75	2	3
	Mediana	2	2
	Percentil 25	1	2
	Mínimo	0	1

RLU = unidades de luz relativa; DP = desvio padrão.

Nota: a 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.

## Concordância dos espécimes clínicos

O Aptima GC Assay foi lançado pela primeira vez nos sistemas DTS semiautomatizados e no sistema Tigris DTS. Em 2010, as indicações alargaram-se à utilização do Aptima GC assay no sistema Panther. O sistema Panther é uma plataforma de instrumentos mais pequena, que é uma alternativa ao sistema Tigris DTS. Os sistemas destinam-se ambos a automatizar totalmente os testes de ácidos nucleicos amplificados de ensaios de diagnóstico. Determinados testes de desempenho do ensaio concluídos nos sistemas DTS semiautomatizados e no sistema Tigris DTS foram aproveitados para apoiar o desempenho do ensaio no sistema Panther.

A sensibilidade, a especificidade e os valores preditivos do Aptima GC assay foram estabelecidos utilizando o sistema DTS. A concordância entre os resultados do Aptima GC assay gerados no sistema Tigris DTS totalmente automatizado e nos sistemas DTS semiautomatizados foi avaliada testando espécimes de esfregaço endocervical, esfregaço da uretra masculina, urina feminina e masculina, esfregaço vaginal e espécimes citológicos em solução PreservCyt. Cada um dos espécimes clínicos foi testado individualmente com o Aptima GC assay no Tigris DTS System e nos DTS Systems, na Hologic. A ordem dos testes não foi aleatória. Os espécimes identificados para inclusão foram testados no sistema Tigris DTS e, depois, nos sistemas DTS.

### **Estudo de concordância de espécimes clínicos — Espécimes de esfregaços endocervicais, esfregaços uretrais masculinos, urina feminina e masculina, esfregaços vaginais e espécimes citológicos em solução PreservCyt**

Pacientes do sexo feminino e do sexo masculino que frequentam consultas de DST, planeamento familiar e obstetrícia/ginecologia de oito centros diversos geograficamente com prevalência baixa a alta de GC contribuíram com espécimes de esfregaço endocervicais, esfregaço da uretra masculina, urina de ambos os sexos, esfregaços vaginais e espécimes citológicos em solução PreservCyt. Os espécimes foram transferidos diretamente para a Hologic para serem testados. Na Hologic, os espécimes de esfregaço endocervicais, esfregaço da uretra masculina, espécimes de urina de ambos os sexos foram testados primeiro com o Aptima Combo 2 assay no Tigris DTS system. O esfregaço vaginal e os espécimes de citologia em solução PreservCyt foram testados com o Aptima Combo 2 assay nos sistemas DTS. Os espécimes com resultados finais inválidos ou equívocos não foram selecionados no Estudo de concordância de espécimes clínicos do Aptima GC.

Cento e vinte e nove esfregaços femininos (70 endocervicais e 59 vaginais), 133 esfregaços uretrais masculinos, 72 de urina feminina, 130 de urina masculina e 51 espécimes de citologia em solução PreservCyt com resultados positivos e negativos para GC no Aptima Combo 2 assay foram selecionados para testes de comparação entre o Tigris DTS system e os DTS systems para o Aptima GC assay. A maioria dos espécimes (88 esfregaços femininos, 93 esfregaços masculinos, 47 de urina feminina, 70 de urina masculina e 34 espécimes de citologia em solução PreservCyt) incluídos para testes de comparação eram de participantes sintomáticos. Os espécimes com resultados iniciais inválidos ou equívocos foram novamente testados com o mesmo sistema que tinha gerado o resultado. Três espécimes de urina feminina, 1 de esfregaço vaginal e 1 uretral masculino tiveram resultados iniciais equívocos nos DTS systems; após a repetição dos testes, todos tiveram resultados válidos. Um espécime de urina masculina e 1 de urina feminina tiveram resultados iniciais inválidos no Tigris DTS system; após a repetição do teste, ambos os resultados foram válidos.

A Tabela 9 mostra as concordâncias positivas, negativas e globais para todos os resultados emparelhados para cada tipo de espécime por estado sintomático. Os espécimes de esfregaço femininos (esfregaços endocervicais e vaginais combinados) estão desequilibrados em relação às amostras positivas e negativas de pacientes sintomáticos, mas a concordância geral dos pacientes sintomáticos foi de 100%, para os pacientes assintomáticos foi de 97,6% (40/41) e para 'todos' (sintomáticos e assintomáticos combinados) a concordância geral foi de 99,2% (128/129). Para espécimes de esfregaço de uretra masculina, a concordância geral para pacientes sintomáticos, assintomáticos e 'todos' foi de 100%. Para espécimes de urina feminina, a concordância geral para pacientes sintomáticas foi de 100%, para pacientes assintomáticas foi de 96,0% (24/25) e 'todos' foi de 98,6% (71/72).

Para espécimes de urina masculina, a concordância geral para pacientes sintomáticos foi de 98,6% (69/70), para pacientes assintomáticos foi de 100% e 'todos' foi de 99,2% (129/130). Para espécimes de citologia em solução PreservCyt, a concordância geral para pacientes sintomáticos, assintomáticos e 'todos' foi de 100%. Devido ao número relativamente menor de espécimes de pacientes assintomáticos, estas conclusões não podem ser generalizadas para os testes Tigris DTS system no Aptima GC com espécimes de pacientes assintomáticos.

Consulte a Tabela 4 para obter as estimativas de desempenho do Aptima GC assay para espécimes de esfregaço endocervical, esfregaço vaginal, esfregaço uretral masculino e de urina de ambos os sexos e a Tabela 5b para os espécimes de citologia em solução PreservCyt testados nos sistemas DTS. Tendo em consideração os resultados obtidos na concordância, as estimativas de desempenho clínico no Tigris DTS system com espécimes de esfregaço endocervical, esfregaço vaginal, esfregaço da uretra masculina, urina de ambos os sexos e citologia em solução PreservCyt deverão ser similares.

Tabela 9: Estudo de concordância de espécimes clínicos: Concordância positiva, negativa e geral por estado sintomático

Sintoma	Espécime	Sexo	n	DTS+ Tigris+	DTS+ Tigris-	DTS- Tigris+	DTS- Tigris-	% de concordância positiva (IC de 95%)	% de concordância negativa (IC de 95%)	% de concordância geral (IC de 95%)
Sint	Zaragatoa	Feminino <sup>1</sup>	88	55	0	0	33	100 (93,5-100)	100 (89,4-100)	100 (95,9-100)
		Masculino	93	66	0	0	27	100 (94,6-100)	100 (87,2-100)	100 (96,1-100)
	Urina	Feminino	47	24	0	0	23	100 (85,8-100)	100 (85,2-100)	100 (92,5-100)
		Masculino	70	60	1	0	9	98,4 (91,2-100)	100 (66,4-100)	98,6 (92,3-100)
	PreservCyt Solução	Feminino	34	28	0	0	6	100 (87,7-100)	100 (54,1-100)	100 (89,7-100)
	Assint	Zaragatoa	Feminino <sup>1</sup>	41	23	0	1 <sup>2</sup>	17	100 (85,2-100)	94,4 (72,7-99,9)
Masculino			40	7	0	0	33	100 (59,0-100)	100 (89,4-100)	100 (91,2-100)
Urina		Feminino	25	9	0	1	15	100 (66,4-100)	93,8 (69,8-99,8)	96,0 (79,6-99,9)
		Masculino	60	5	0	0	55	100 (47,8-100)	100 (93,5-100)	100 (94,0-100)
PreservCyt Solução		Feminino	17	12	0	0	5	100 (73,5-100)	100 (47,8-100)	100 (80,5-100)
Todos		Zaragatoa	Feminino <sup>1</sup>	129	78	0	1 <sup>2</sup>	50	100 (95,4-100)	98,0 (89,6-100)
	Masculino		133	73	0	0	60	100 (95,1-100)	100 (94,0-100)	100 (97,3-100)
	Urina	Feminino	72	33	0	1	38	100 (89,4-100)	97,4 (86,5-99,9)	98,6 (92,5-100)
		Masculino	130	65	1	0	64	98,5 (91,8-100)	100 (94,4-100)	99,2 (95,8-100)
	PreservCyt Solução	Feminino	51	40	0	0	11	100 (91,2-100)	100 (71,5-100)	100 (93,0-100)

Sint = sintomático; Assint = assintomático; CI = intervalo de confiança.

“+” indica um resultado positivo, “-” um resultado negativo.

<sup>1</sup>Amostras de esfregaço endocervical e vaginal combinadas.

<sup>2</sup>Uma discordância no esfregaço vaginal.



## Concordância dos espécimes clínicos do Panther System

A urina foi selecionada como um tipo de amostra representativa para determinar a equivalência entre o Aptima GC assay nos sistemas Tigris DTS e Panther systems, dado que a urina produz os resultados mais variáveis de todos os tipos de espécimes destinados a serem utilizados com o Aptima GC assay. Desta forma, uma concordância elevada entre os espécimes de urina indicaria que seria expectável uma concordância elevada para todos os outros tipos de espécimes.

Os painéis foram gerados utilizando espécimes clínicos de urina: os membros do painel negativo foram criados utilizando espécimes de urina individuais negativos para GC e os membros do painel positivo foram criados utilizando espécimes de urina individuais positivos e naturalmente infetados com GC que foram diluídos com espécimes de urina individuais com correspondência de sexo para cumprir os intervalos de RLU alvo. Os painéis foram executados em três centros de testes (dois externos e internamente).

Tabela 10: Concordância entre os sistemas Tigris DTS e Panther Systems utilizando painéis de urina

Panther System	Tigris System			
	Negativo	Equívoco	Positivo baixo	Positivo
Negativo	360	0	0	0
Equívoco	0	0	0	0
Positivo baixo	0	0	120	9
Positivo	0	0	18	198
Total	360	0	138	207
Concordância (%)	100 (360/360)	0 (0/0)	92,2 (318/345)	
CI de 95% <sup>1</sup>	(96,9-100)	—	(85,8-95,8)	

<sup>1</sup>Calculado utilizando o método Score com base no número de amostras únicas testadas.

A concordância negativa entre os sistemas Tigris DTS e Panther systems foi de 100% para todas as amostras negativas para GC. Quando categorizada por intervalo de RLU, a concordância positiva foi de 92,2%, no entanto, o Aptima GC assay identificou corretamente todos os membros do painel positivos a GC como positivos, tanto nos sistemas Tigris DTS, como nos Panther systems. Desta forma, a concordância entre os sistemas Tigris DTS e Panther systems para a deteção qualitativa de GC em espécimes de urina foi de 100%. Dado que a utilização prevista do Aptima GC assay é a deteção qualitativa de GC em espécimes clínicos, pode concluir-se que o desempenho do ensaio nos dois sistemas é semelhante.

Consulte a Tabela 4 para obter as estimativas de desempenho do Aptima GC assay em esfregaços, endocervicais vaginais e esfregaços uretrais masculinos colhidos pelo médico e a Tabela 5b para os espécimes de citologia em solução PreservCyt testados nos sistemas DTS. Seria de esperar que as estimativas de desempenho clínico do sistema Panther com todos os tipos de amostras fossem similares dados os resultados de concordância do Tigris DTS e do estudo de concordância do sistema Panther.

## Desempenho clínico do Panther System

### Estudo clínico

Foi realizado um estudo clínico multicêntrico e prospectivo para estabelecer as características de desempenho clínico do Aptima GC assay no sistema Panther. Foram colhidos espécimes de 4413 mulheres e homens sintomáticos e assintomáticos incluídos em 11 centros clínicos dos EUA, geográfica e etnicamente diversos, incluindo clínicas de obstetrícia e ginecologia, de planejamento familiar e de IST. Os participantes foram classificados como sintomáticos se tiverem relatado a existência de sintomas. Os participantes foram classificados como assintomáticos caso não tenham relatado quaisquer sintomas. Cento e noventa (190) participantes incluídos não foram avaliáveis (28 foram retirados e 162 não tinham, pelo menos, um espécime com um resultado válido não excluído do ensaio Aptima e um estado de infecção conclusivo). Dos 4223 participantes avaliáveis, 2264 eram mulheres e 1959 eram homens. A idade média dos participantes do estudo avaliáveis foi de 34,5 anos (intervalo = 14 a 84 anos). Foram relatados sintomas em 45,6% (1927/4223) dos participantes avaliáveis.

Foram colhidos até 5 espécimes de cada participante do sexo feminino (1 primeira urina da manhã, 4 esfregaços vaginais colhidos pela paciente, por esta ordem) 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 GC assay no sistema Panther. Os espécimes com resultados iniciais equívoco ou inválidos no Aptima GC assay ou que apresentaram erros de processamento no instrumento foram testados novamente, caso o volume permitisse; os resultados de repetição do teste válidos foram incluídos nas análises de desempenho. Os esfregaços vaginais colhidos pelas pacientes e os espécimes de urina de ambos os sexos foram testados com até 3 NAAT aprovados pela FDA para estabelecer o estado de infecção do paciente específico do espécime como se segue:

- O estado de infecção do paciente da urina masculina foi derivado de espécimes de urina masculina
- O estado de infecção do paciente da urina feminina foi derivado de espécimes de urina feminina
- O estado de infecção do paciente dos esfregaços vaginais foi derivado de espécimes de esfregaço vaginal e de urina feminina

O desempenho do Aptima GC assay foi estimado em relação ao estado de infecção do paciente específico do espécime para cada um dos tipos de espécimes.

Dos espécimes colhidos, 6556 foram processados em execuções válidas do Aptima GC assay, incluindo 218 (3,3%) que tiveram de ser repetidas devido a resultados iniciais inválidos. Globalmente, 6513 (99,3%) apresentaram resultados finais válidos e 43 (0,7%) apresentaram resultados finais inválidos e foram excluídos das análises. Um total de 6362 espécimes de 4222 participantes avaliáveis foram incluídos nas análises de comparação dos resultados do Aptima GC assay com o estado de infecção do paciente: 2237 esfregaços vaginais colhidos pelas pacientes, 2167 espécimes de urina feminina e 1958 espécimes de urina masculina. Quatro espécimes com resultados finais de GC equívocos foram excluídos das análises de desempenho.

## Resultados de desempenho

As características de desempenho do Aptima GC assay foram estimadas para cada tipo de espécime. A Tabela 11 mostra a sensibilidade, a especificidade, o VPP e o VPN do Aptima GC assay no sistema Panther, bem como a prevalência de *N. gonorrhoeae* (com base no estado de infecção do paciente específico do espécime) em cada tipo de espécime por estado dos sintomas e no geral.

Tabela 11: Características de desempenho do Aptima GC Assay nos esfregaços vaginais colhidos pela paciente e espécimes de urina de ambos os sexos por estado de sintomas

Tipo de espécime	Estado sintomático	n	PV	FP <sup>1</sup>	NV	NF <sup>2</sup>	Prev %	Sensibilidade % (CI de 95%) <sup>3</sup>	Especificidade % (CI de 95%) <sup>3</sup>	VPP % (CI de 95%) <sup>4</sup>	VPN % (CI de 95%) <sup>4</sup>
EVP	Sint	1086	24	1 <sup>a</sup>	1060	1 <sup>a</sup>	2,3	96,0 (80,5, 99,3)	99,9 (99,5, 100)	96,0 (81,7, 99,9)	99,9 (99,5, 100)
	Assint	1151	14	1 <sup>b</sup>	1135	1 <sup>b</sup>	1,3	93,3 (70,2, 98,8)	99,9 (99,5, 100)	93,3 (72,6, 99,8)	99,9 (99,6, 100)
	Todos	2237	38	2	2195	2	1,8	95,0 (83,5, 98,6)	99,9 (99,7, 100)	95,0 (84,5, 99,6)	99,9 (99,7, 100)
UF	Sint	1043	25	0	1018	0	2,4	100 (86,7, 100)	100 (99,6, 100)	100 (87,2, 100)	100 (99,7, 100)
	Assint	1124	11	1 <sup>c</sup>	1109	3 <sup>c</sup>	1,2	78,6 (52,4, 92,4)	99,9 (99,5, 100)	91,7 (66,0, 99,7)	99,7 (99,4, 100)
	Todos	2167	36	1	2127	3	1,8	92,3 (79,7, 97,3)	100 (99,7, 100)	97,3 (87,2, 99,9)	99,9 (99,6, 100)
UM	Sint	825	105	1 <sup>d</sup>	717	2 <sup>d</sup>	13,0	98,1 (93,4, 99,5)	99,9 (99,2, 100)	99,1 (95,1, 100)	99,7 (99,0, 100)
	Assint	1133	20	0	1113	0	1,8	100 (83,9, 100)	100 (99,7, 100)	100 (84,4, 100)	100 (99,7, 100)
	Todos	1958	125	1	1830	2	6,5	98,4 (94,4, 99,6)	99,9 (99,7, 100)	99,2 (95,8, 100)	99,9 (99,6, 100)

Sint = sintomático; Assint = assintomático; PV = positivo verdadeiro; FP = positivo falso; NV = negativo verdadeiro; NF = negativo falso; Prev = prevalência; CI = intervalo de confiança; EVP = esfregaços vaginais colhidos pela paciente; UF = urina feminina; UM = urina masculina; VPP = valor preditivo positivo; VPN = valor preditivo negativo.

<sup>1</sup>Espécimes do mesmo tipo também foram testados com um ensaio alternativo de NAAT para *N. Gonorrhoeae* com os seguintes resultados (N.º de resultados positivos / n.º de amostras testadas): <sup>a</sup>0/1; <sup>b</sup>0/1; <sup>c</sup>0/1; <sup>d</sup>1/1.

<sup>2</sup>Espécimes do mesmo tipo também foram testados com um ensaio alternativo de NAAT para *N. Gonorrhoeae* com os seguintes resultados (N.º de resultados negativos / n.º de amostras testadas): <sup>a</sup>0/1; <sup>b</sup>0/1; <sup>c</sup>1/3; <sup>d</sup>1/2.

<sup>3</sup>Pontuação IC.

<sup>4</sup>CI de 95% do VPP calculado a partir do CI de 95% exato para a relação de probabilidade positiva, CI de 95% do VPN calculado a partir do CI de 95% exato da relação de probabilidade negativa.

A Tabela 12 mostra a sensibilidade, a especificidade, o VPP e o VPN do Aptima GC assay no sistema Panther, bem como a prevalência de *N. gonorrhoeae* (com base no estado de infecção do paciente específico do espécime) em cada tipo de espécime por centro de colheita. Tal como previsto, a prevalência variou entres os centros de colheita.

Tabela 12: Características de desempenho do Aptima Neisseria gonorrhoeae Assay por centro de colheita

Espécime espécime	Centro	N	PV	PF	NV	NF	Prev %	Sensibilidade % (CI de 95%) <sup>1</sup>	Especificidade % (CI de 95%) <sup>1</sup>	VPP % (CI de 95%) <sup>2</sup>	VPN % (CI de 95%) <sup>2</sup>
EVP	1	21	3	0	18	0	14,3	100 (43,9, 100)	100 (82,4, 100)	100 (46,2, 100)	100 (89,5, 100)
	2	383	5	0	378	0	1,3	100 (56,6, 100)	100 (99,0, 100)	100 (57,7, 100)	100 (99,3, 100)
	3	75	0	0	75	0	0,0	NC	100 (95,1, 100)	NC	100 (NC)
	4	5	0	0	5	0	0,0	NC	100 (56,6, 100)	NC	100 (NC)
	5	254	5	0	249	0	2,0	100 (56,6, 100)	100 (98,5, 100)	100 (57,7, 100)	100 (99,0, 100)
	6	494	9	1	483	1	2,0	90,0 (59,6, 98,2)	99,8 (98,8, 100)	90,0 (63,1, 99,6)	99,8 (99,1, 100)
	7	246	4	1	241	0	1,6	100 (51,0, 100)	99,6 (97,7, 99,9)	80,0 (39,9, 99,4)	100 (99,0, 100)
	8	95	0	0	95	0	0,0	NC	100 (96,1, 100)	NC	100 (NC)
	9	313	1	0	312	0	0,3	100 (20,7, 100)	100 (98,8, 100)	100 (6,4, 100)	100 (99,7, 100)
	10	255	11	0	243	1	4,7	91,7 (64,6, 98,5)	100 (98,4, 100)	100 (76,3, 100)	99,6 (98,1, 100)
	11	96	0	0	96	0	0,0	NC	100 (96,2, 100)	NC	100 (NC)

Tabela 12: Características de desempenho do Aptima Neisseria gonorrhoeae Assay por centro de colheita

Espécime espécime	Centro	N	PV	PF	NV	NF	Prev %	Sensibilidade % (CI de 95%) <sup>1</sup>	Especificidade % (CI de 95%) <sup>1</sup>	VPP % (CI de 95%) <sup>2</sup>	VPN % (CI de 95%) <sup>2</sup>
UF	1	22	3	0	19	0	13,6	100 (43,9, 100)	100 (83,2, 100)	100 (46,1, 100)	100 (90,0, 100)
	2	385	5	0	379	1	1,6	83,3 (43,6, 97,0)	100 (99,0, 100)	100 (59,6, 100)	99,7 (99,0, 100)
	3	74	0	0	74	0	0,0	NC	100 (95,1, 100)	NC	100 (NC)
	4	5	0	0	5	0	0,0	NC	100 (56,6, 100)	NC	100 (NC)
	5	250	5	0	245	0	2,0	100 (56,6, 100)	100 (98,5, 100)	100 (57,7, 100)	100 (98,9, 100)
	6	484	9	1	473	1	2,1	90,0 (59,6, 98,2)	99,8 (98,8, 100)	90,0 (63,1, 99,6)	99,8 (99,1, 100)
	7	245	4	0	241	0	1,6	100 (51,0, 100)	100 (98,4, 100)	100 (52,2, 100)	100 (99,0, 100)
	8	97	0	0	97	0	0,0	NC	100 (96,2, 100)	NC	100 (NC)
	9	261	0	0	261	0	0,0	NC	100 (98,5, 100)	NC	100 (NC)
	10	253	10	0	242	1	4,3	90,9 (62,3, 98,4)	100 (98,4, 100)	100 (74,6, 100)	99,6 (98,2, 100)
	11	91	0	0	91	0	0,0	NC	100 (95,9, 100)	NC	100 (NC)
UM	1	175	38	0	137	0	21,7	100 (90,8, 100)	100 (97,3, 100)	100 (91,3, 100)	100 (97,5, 100)
	2	373	3	0	370	0	0,8	100 (43,9, 100)	100 (99,0, 100)	100 (44,4, 100)	100 (99,4, 100)
	3	61	0	0	61	0	0,0	NC	100 (94,1, 100)	NC	100 (NC)
	4	13	0	0	13	0	0,0	NC	100 (77,2, 100)	NC	100 (NC)
	5	409	34	0	374	1	8,6	97,1 (85,5, 99,5)	100 (99,0, 100)	100 (90,5, 100)	99,7 (98,6, 100)
	6	307	28	1	278	0	9,1	100 (87,9, 100)	99,6 (98,0, 99,9)	96,6 (83,5, 99,9)	100 (98,8, 100)
	7	225	12	0	213	0	5,3	100 (75,8, 100)	100 (98,2, 100)	100 (76,6, 100)	100 (98,6, 100)
	8	32	0	0	32	0	0,0	NC	100 (89,3, 100)	NC	100 (NC)
	9	218	0	0	218	0	0,0	NC	100 (98,3, 100)	NC	100 (NC)
	10	91	10	0	80	1	12,1	90,9 (62,3, 98,4)	100 (95,4, 100)	100 (74,9, 100)	98,8 (94,6, 100)
	11	54	0	0	54	0	0,0	NC	100 (93,4, 100)	NC	100 (NC)

PV = positivo verdadeiro; PF = positivo falso; NV = negativo verdadeiro; NF = negativo falso; CI = intervalo de confiança; VPP = valor preditivo positivo; VPN = valor preditivo negativo; EVP = esfregaço vaginal colhido pela paciente; UF = urina feminina; UM = urina masculina; NC = não calculável.

<sup>1</sup> CI da pontuação.

<sup>2</sup> CI de 95% do VPP calculado a partir do CI de 95% exato para a relação de probabilidade positiva, CI de 95% do VPN calculado a partir do CI de 95% exato da relação de probabilidade negativa.

### Tabelas do estado de infecção por *Neisseria gonorrhoeae*

A frequência dos resultados de testes de NAAT de referência e de testes experimentais no sistema Panther é resumida na Tabela 13a e na Tabela 13b.

Tabela 13a: Estado de infecção por *N. gonorrhoeae* para espécimes de urina feminina e masculina

Espécime espécime	Estado de infecção do paciente	NAAT 1	NAAT 2	NAAT 3	AGC Assay	Estado sintomático	
						Sint	Assint
UF	Infetado	+	+	N/D	+	21	10
	Infetado	+	+	N/D	-	0	2
	Infetado	+	SR	+	+	1	0
	Infetado	-	+	+	+	2	0
	Infetado	-	+	+	-	0	1
	Infetado	SR	+	+	+	1	1
	Não infetado	-	+	-	-	0	2
	Não infetado	-	-	N/D	+	0	1
	Não infetado	-	-	N/D	-	981	1077
	Não infetado	-	SR	-	-	1	1
UM	Não infetado	SR	-	-	-	36	29
	Infetado	+	+	N/D	+	97	19
	Infetado	+	+	N/D	-	2	0
	Infetado	+	SR	+	+	1	0
	Infetado	-	+	+	+	2	1
	Infetado	SR	+	+	+	5	0
	Não infetado	+	-	-	+	1	0
	Não infetado	-	+	-	-	1	2
	Não infetado	-	-	N/D	-	689	1079
	Não infetado	-	-	N/D	=	0	1
Não infetado	-	SR	-	-	1	0	
Não infetado	SR	-	-	-	26	32	

**Sint** = sintomático; **Assint** = assintomático; **AGC Assay** = Aptima *Neisseria gonorrhoeae* Assay; **UF** = urina feminina; **UM** = urina masculina; **N/A** = não aplicável; **SR** = sem resultado.

Nota: O sinal de igualdade (=) representa um resultado final equívoco.

Tabela 13b: Estado de infecção por *N. gonorrhoeae* para espécimes de esfregaços vaginais colhidos pela paciente

Estado de infecção do paciente	NAAT 1		NAAT 2		AGC Assay	Estado sintomático	
	EVP	UF	EVP	UF		Sint	Assint
Infetado	+	+	+	+	+	20	12
Infetado	+	+	+	+	-	0	1
Infetado	+	+	+	SR	+	1	0
Infetado	+	-	+	+	+	1	0
Infetado	+	-	+	+	=	0	1
Infetado	+	-	+	-	+	1	1
Infetado	+	-	+	-	-	1	0

Tabela 13b: Estado de infeção por *N. gonorrhoeae* para espécimes de esfregaços vaginais colhidos pela paciente

Estado de infeção do paciente	NAAT 1		NAAT 2		AGC Assay	Estado sintomático	
	EVP	UF	EVP	UF		Sint	Assint
Infetado	+	SR	+	+	+	0	1
Infetado	-	+	+	+	+	1	0
Não infetado	+	-	-	-	-	2	0
Não infetado	-	-	+	+	+	1	0
Não infetado	-	-	+	-	-	2	2
Não infetado	-	-	-	+	-	0	2
Não infetado	-	-	-	-	+	0	1
Não infetado	-	-	-	-	-	961	1064
Não infetado	-	-	-	-	=	1	1
Não infetado	-	-	-	SR	-	1	0
Não infetado	-	-	SR	-	-	12	10
Não infetado	-	-	SR	SR	-	0	1
Não infetado	-	SR	-	-	-	37	25
Não infetado	SR	-	-	-	-	3	6
Não infetado	SR	SR	-	-	-	42	25

**Sint** = sintomático; **Assint** = assintomático; **AGC Assay** = Aptima Neisseria gonorrhoeae Assay; **EVP** = esfregaços vaginais colhidos pela paciente; **UF** = urina feminina; **SR** = sem resultado.

Nota: O sinal de igualdade (=) representa um resultado final equívoco.

## Distribuição da RLU dos controlos Aptima GC Assay

A distribuição dos valores da RLU para os controlos do Aptima GC assay é apresentada na Tabela 14 de todas as execuções válidas no sistema Panther efetuadas durante o estudo clínico que incluem esfregaços vaginais colhidos pela paciente e espécimes de urina de ambos os sexos.

Tabela 14: Distribuição de RLU dos controlos negativo e positivo do Aptima GC Assay

Controlo	Estatística	RLU total (x1000)
Positive Control, GC / Negative Control, CT	N	161
	Mínimo	2416
	Mediana	5543,0
	Máximo	6477
	CV%	14,62
Controlo positivo, CT/controlo negativo, GC	N	161
	Mínimo	2
	Mediana	4,0
	Máximo	40
	CV%	93,85

**CV%** = coeficiente de variação percentual; **RLU** = unidade de luz relativa.

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

### Sensibilidade analítica (DTS)

A sensibilidade analítica (limite de detecção) da *N. gonorrhoeae* foi determinada através da comparação direta de diluições de 51 isolados clínicos diferentes em culturas e no Aptima GC assay. A sensibilidade analítica declarada para o ensaio é de 50 CFU/ensaio (362 CFU/esfregaço, 250 CFU/ml urina e 487,5 CFU/ml citologia em solução PreservCyt).

### Estudo de equivalência da sensibilidade analítica (Tigris)

Prepararam-se painéis de sensibilidade em grupos de esfregaços endocervicais, grupos de espécimes vaginais, grupos de espécimes de urina e grupos de espécimes de citologia em solução PreservCyt a GC 250 fg/ensaio rRNA de GC e testaram-se 60 réplicas no Tigris DTS system. A percentagem de positividade (CI de 95%) no Tigris DTS system para espécimes de esfregaço endocervical foi de 100% (95,1–100), para espécimes de esfregaço vaginal foi de 100% (95,1–100), para espécimes de urina foi de 100% (95,1–100) para espécimes de citologia em solução PreservCyt foi de 100% (95,1–100).

### Estudo do painel clínico enriquecido com rRNA de GC (DTS e Tigris)

O estudo do painel clínico enriquecido com rRNA de GC avaliou a concordância entre os dois sistemas com recurso a seis painéis clínicos de GC preparados pela Hologic e enriquecidos com 0 a 250 000 fg rRNA/ensaio de GC. Os painéis clínicos de GC foram criados a partir de esfregaço endocervical, esfregaço vaginal, esfregaço da uretra, espécimes de urina masculina, urina feminina e citologia em solução PreservCyt que apresentaram resultados do Aptima GC negativos nos DTS systems quando testados na Hologic. Os espécimes negativos foram agrupados por tipo de espécime enriquecidos ou não com rRNA de GC e foram divididos em alíquotas como réplicas de cada membro do painel. As réplicas de cada um dos 6 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.

Os dados iniciais de urina masculina e feminina mostram que alguns membros do painel que continham rRNA a um nível inferior à sensibilidade analítica declarada produziram resultados negativos inesperados no Tigris DTS system. Foram realizados dois estudos de seguimento para demonstrar e confirmar a concordância com os resultados esperados em painéis de urina masculina ou feminina enriquecidos. O desenho do estudo original combinava amostras negativas num único grupo principal. O desenho do estudo de seguimento de espécimes de urina masculina e feminina foi emendado. Os espécimes foram divididos em alíquotas em mini-grupos negativos confirmados para criar os painéis positivo e negativo. Foram criadas cento e trinta e oito réplicas para cada painel.

A Tabela 15 mostra as percentagens de concordância de cada nível de rRNA nos painéis de esfregaço endocervical, esfregaço vaginal, esfregaço uretral, urina masculina, urina feminina e citologia em solução PreservCyt, respetivamente, com os resultados esperados de GC para o Tigris DTS system e os DTS systems. As concentrações variaram entre 1 logaritmo abaixo e 3 logaritmos acima de 250 fg rRNA/ensaio para GC. A Tabela 15 mostra também as percentagens de concordância geral do estudo do painel clínico entre o Tigris DTS system e os DTS systems.

Tabela 15: Estudo de concordância do painel clínico enriquecido com rRNA de GC

Espécime	Membro do painel	Concentração (fg rRNA/ensaio)	Réplicas	% de concordância Tigris	% de concordância DTS	% de concordância geral entre o Tigris e o DTS (IC de 95%)
Endocervical	Sem alvo	0	12	100	100	100 (97,2-100)
	Muito baixo	25	30	100	100	
	Baixa	250	30	100	100	
	Média	2.500	30	100	100	
	Alta	250 000	30	100	100	
Zaragatoa	Sem alvo	0	12	100	100	100 (97,2-100)
	Muito baixo	25	29*	100	100	
	Baixa	250	30	100	100	
	Média	2.500	30	100	100	
	Alta	250 000	30	100	100	
Uretral	Sem alvo	0	12	100	100	100 (97,2-100)
	Muito baixo	25	30	100	100	
	Baixa	250	30	100	100	
	Média	2.500	30	100	100	
	Alta	250 000	30	100	100	
Estudo inicial	Sem alvo	0	12	100	100	91,7 (85,6-95,8)
	Muito baixo	25	30	63,3 (19/30)	100	
	Baixa	250	30	100	100	
	Média	2.500	30	100	100	
	Alta	250 000	30	100	100	
Urina masculina	Sem alvo	0	18	100	100	100 (97,4-100)
	Muito baixo	25	30	100	100	
	Baixa	250	30	100	100	
	Média	2.500	30	100	100	
	Alta	250 000	30	100	100	
Seguimento 1	Sem alvo	0	18	100	100	100 (97,4-100)
	Muito baixo	25	30	100	100	
	Baixa	250	30	100	100	
	Média	2.500	30	100	100	
	Alta	250 000	30	100	100	
Seguimento 2	Sem alvo	0	18	100	100	100 (97,4-100)
	Muito baixo	25	30	100	100	
	Baixa	250	30	100	100	
	Média	2.500	30	100	100	
	Alta	250 000	30	100	100	

\*Não testado em ambos os sistemas devido a volume de amostra insuficiente



Tabela 15: Estudo de concordância do painel clínico enriquecido com rRNA de GC (continuação)

Espécime	Membro do painel	Concentração (fg rRNA/ensaio)	Réplicas	% de concordância Tigris	% de concordância DTS	% de concordância geral entre o Tigris e o DTS (IC de 95%)
Estudo inicial	Sem alvo	0	12	100	100	75,8 (67,5-82,8)
	Muito baixo	25	30	13,3 (4/30)	100	
	Baixa	250	30	80 (24/30)	100	
	Média	2.500	30	100	100	
	Alta	250 000	30	100	100	
Urina feminina	Sem alvo	0	18	100	100	99,3 (96,0–100)
	Muito baixo	25	30	96,7 (29/30)	100	
	Baixa	250	30	100	100	
	Média	2.500	30	100	100	
	Alta	250 000	30	100	100	
Seguimento 2	Sem alvo	0	18	100	100	97,8 (93,8-99,5)
	Muito baixo	25	30	90 (27/30)	100	
	Baixa	250	30	100	100	
	Média	2.500	30	100	100	
	Alta	250 000	30	100	100	
Citologia em solução PreservCyt	Sem alvo	0	12	100	100	100 (97, -100)
	Muito baixo	25	30	100	100	
	Baixa	250	30	100	100	
	Média	2.500	30	100	100	
	Alta	250 000	30	100	100	

\*Não testado em ambos os sistemas devido a volume de amostra insuficiente

### Estudo de concordância do painel clínico enriquecido (Tigris e Panther)

Amostras de urina negativas individuais foram enriquecidas com GC para criar um painel de 120 positivos para GC. 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). Além disso, foram colhidos 120 espécimes de urina negativos para GC. Os painéis positivo e negativo foram testados em três sistemas Panther e em três sistemas Tigris DTS. A percentagem de concordância positiva entre o Panther system e o Tigris DTS system foi de 100% com um intervalo de confiança de 95% inferior de 98,9. A percentagem de concordância negativa entre o Panther system e o Tigris DTS system foi de 100% com um intervalo de confiança de 95% inferior de 98,9. Os resultados do estudo são apresentados na Tabela 16.

Tabela 16: Estudo de concordância do painel clínico enriquecido: Concordância com os resultados de GC esperados

Membro do painel	Concentração		Réplicas	Tigris	Panther
	CFU/ml	fg/ensaio		% concordância	% concordância
Positivo muito baixo	12,5	25	117	100	100
Positivo baixo	125	250	120	100	100
Positivo médio	1.250	2500	120	100	100
Negativo	0	0	360	100	100

Percentagem de concordância geral positiva entre o Tigris DTS e o Panther (CI de 95%): 100% (98,9–100).

Percentagem de concordância geral negativa entre o Tigris DTS e o Panther (IC de 95%): 100% (98,9–100).

### Estudo de sensibilidade analítica (Panther)

A sensibilidade analítica do Aptima GC assay foi testada com três tipos de espécimes representativos. Estes eram espécimes de urina, de citologia em solução PreservCyt, esfregaços vaginais e STM (como controlo). O rRNA de GC foi enriquecido em grupos destas três matrizes de espécimes nas seguintes concentrações: 25 fg/ensaio e 250 fg/ensaio (equivalentes de rRNA de 12,5 CFU/ml e 125 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 instrumentos Panther utilizando três lotes de reagentes em réplicas de 60. Foi calculada a concordância positiva com o resultado esperado. A concordância com os resultados esperados foi de 100% (CI de 95% entre 95,7–100%) em todos os painéis de urina, de 100% (CI de 95% entre 95,7–100%) em todos os painéis de espécimes de citologia em solução PreservCyt, de 100% (CI de 95% entre 95,7-100%) em todos os painéis de esfregaço vaginal e de 100% (CI de 95% entre 96,1–100%) para todos os painéis de STM. A sensibilidade analítica para o ensaio é de 125 CFU/ml.

### Especificidade analítica

Avaliou-se um total de 154 isolados de cultura utilizando o Aptima GC assay. Estes isolados incluíram 86 organismos que podem ser isolados do trato urogenital e 68 organismos adicionais que representam uma secção transversal filogenética de organismos. Os organismos testados incluíram bactérias, fungos, leveduras, parasitas e vírus. Todos os organismos, exceto *C. psittaci*, *C. pneumoniae*, *U. urealyticum* e os vírus, foram testados a  $1,0 \times 10^6$  células/ensaio em meio de transporte de urina (MTU) KOVA-Trol e 60 organismos foram testados em STM. Os organismos Chlamydia e Neisseria foram testados em meios de solução PreservCyt. Testou-se *C. psittaci* (VR601) a  $8,0 \times 10^4$  células/ensaio e *C. psittaci* VR125 a  $1,0 \times 10^5$  células/ensaio. Testou-se *C. pneumoniae* a  $4,0 \times 10^3$  células/ensaio e *U. urealyticum* a  $6,7 \times 10^6$  células/ensaio. Os vírus foram testados da seguinte forma: (a) vírus herpes simplex I:  $2,5 \times 10^4$  TCID<sub>50</sub>/ensaio, (b) vírus herpes simplex II:  $6,0 \times 10^4$  TCID<sub>50</sub>/ensaio, (c) vírus do papiloma humano 16:  $2,9 \times 10^6$  cópias de DNA/ensaio e (d) citomegalovírus:  $4,8 \times 10^5$  células/ensaio. A lista dos organismos testados é indicada na Tabela 17.

Tabela 17: 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 denitrificans</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 jensonii</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 paramensenteroides</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 denitrificans</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) = o número de estirpes testadas.

Todos os organismos testados produziram um resultado negativo no Aptima GC assay.

## Estudo de equivalência de especificidade analítica

Para um ensaio de amplificação de ácidos nucleicos, a especificidade analítica relativamente a organismos individuais é grandemente determinada mais pela química do ensaio (p. ex., sequências de oligonucleótidos) do que pela plataforma. Como os reagentes do Aptima GC assay são idênticos entre o Panther System, o Tigris DTS System e os sistemas DTS, as experiências de especificidade analítica no Panther system foram concebidas para se focarem nos isolados de cultura mais complicados. Estes organismos incluíram aqueles conhecidos por efetuarem reação cruzada noutros ensaios de amplificação. Selecionaram-se vinte e cinco (25) isolados de cultura no painel de organismos da Tabela 17, incluindo 17 organismos que estão intimamente relacionados com GC. Todos os organismos testados produziram resultados negativos.

## Substâncias interferentes

As seguintes substâncias interferentes foram adicionadas individualmente a espécimes de esfregaços, espécimes citológicos em solução PreservCyt, e/ou espécimes de urina: 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). Foram introduzidas em espécimes de urina as seguintes substâncias interferentes: 30% de sangue, analitos de urina, proteínas, glucose, cetonas, bilirrubina, nitrato, urobilinogénio, pH 4 (acídico), pH 9 (alcalino), leucócitos ( $1,0 \times 10^6$  células/ml), resíduos celulares, vitaminas, minerais, acetaminopeno, aspirina e ibuprofeno. Todos foram analisados para determinar a possível interferência do ensaio na ausência e presença de GC no rRNA estimado equivalente 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.

Nenhuma interferência foi observada com nenhuma das substâncias testadas. Não se observaram inibidores da amplificação no Aptima GC assay.

## Estudo de equivalência de substâncias interferentes

Sangue comumente encontrado em espécimes urogenitais pode interferir em alguns ensaios de amplificação. Foi utilizando sangue total para estabelecer o grau de interferência do sangue no sistema Panther relativamente a este potencial interferente. Adicionou-se sangue fresco a grupos clínicos de esfregaços vaginais, espécimes citológicos em solução PreservCyt pós-processados ou espécimes de urina, que depois foram testados para detectar uma potencial interferência com o ensaio na presença e na ausência de alvo de GC. Utilizou-se o equivalente de rRNA estimado de 125 CFU GC/ml (250 fg/ensaio) como concentração-alvo, pois este representa a sensibilidade analítica do ensaio. Os espécimes foram testados no sistema Panther. Todas as amostras com ácido nucleico alvo foram positivas quando testadas a uma concentração de sangue de 10% (v/v) em espécimes de esfregaços ou em espécimes citológicos em solução PreservCyt, ou de 30% (v/v) em espécimes de urina. Todas as amostras que não continham alvo foram corretamente identificadas como negativas. O sangue adicionado aos espécimes de esfregaço, em solução PreservCyt e de urina a concentrações muito superiores às que serão de esperar numa colheita normal de espécimes não interferiu com os resultados no sistema Panther.

## Recuperação

*Escherichia coli*, *Gardnerella vaginalis*, *Lactobacillus acidophilus*, *Bacteroides fragilis* e *Staphylococcus epidermidis* ( $1,0 \times 10^6$  células/ensaio) foram adicionadas a amostras contendo o equivalente de rRNA de aproximadamente 50 células de GC (250 fg). Estas adições não interferiram com a amplificação e detecção de rRNA de CG no Aptima GC assay.

## Estudos de estabilidade dos espécimes

### A. Espécimes de esfregaço

Os dados que sustentam as condições recomendadas de envio e armazenamento de esfregaços endocervicais, ureterais e vaginais foram gerados a partir de amostras de esfregaços negativos agrupados. As amostras agrupadas foram enriquecidas com GC numa concentração final de aproximadamente 50 CFU por reação. As amostras enriquecidas foram mantidas a temperaturas de 4° C e 30° C. As amostras foram testadas em duplicado nos dias 0, 20, 77 e 117. Todas as condições de teste foram positivas para GC em todas as ocasiões e temperaturas.

### B. Espécimes de urina

Os dados que suportam as condições recomendadas de transporte e armazenamento das amostras de urina foram gerados a partir de amostras negativas de urina feminina e masculina. As amostras de urina foram enriquecidas com GC numa concentração final de 100 CFU por reação. As amostras foram mantidas a 30° C durante 24 horas antes de serem adicionadas ao UTM. As amostras em UTM foram depois mantidas a 4° C e a 30° C e testadas em triplicado nos dias 1, 14, 32 e 35. Todas as réplicas foram positivas para GC com as amostras em UTM mantidas a 4° C e a 30° C.

### C. Espécimes citológicos em solução PreservCyt

Os dados que sustentam as condições recomendadas de envio e armazenamento de espécimes citológicos em solução PreservCyt foram gerados a partir de amostras negativas processadas e não processadas de citologia líquida. Quanto às amostras não processadas, foram testados quatro grupos de amostras em solução PreservCyt após serem armazenados no frasco de solução PreservCyt. Cada grupo de espécimes foi enriquecido com 50-100 CFU GC/ensaio, mantido a 2° C, 10° C, e 30° C e depois testado na linha de base e nos dias 5, 7, 8, 14, 18, 21, 25 e 36. Todas as amostras enriquecidas foram positivas para GC em todas as ocasiões e temperaturas.

Para as amostras processadas, foram utilizados quatro grupos de amostras de solução PreservCyt para determinar a estabilidade dos espécimes processados entre 2° C e 30° C. Cada grupo de amostras negativo foi enriquecido com 50–100 CFU GC/ensaio e depois testado na linha de base. Antes do processamento, as amostras de solução PreservCyt foram armazenadas a 30° C durante sete (7) dias para simular o tempo decorrido entre a colheita das amostras, o processamento da citologia e o envio para um laboratório de testes de microbiologia. Após sete dias a 30° C, foram transferidas alíquotas de 1 ml de cada conjunto para um tubo de transferência de espécimes Aptima que foram testadas no momento basal antes de serem colocadas a 2° C, 10° C e 30° C. As amostras processadas foram então testadas durante 17 dias armazenadas a 30° C e 36 dias armazenadas entre 2° C e 10° C. Todas as amostras enriquecidas foram positivas para GC em todas as ocasiões e temperaturas.

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

As condições recomendadas de armazenamento no estado congelado de espécimes de esfregaço endocervical, esfregaço uretral, esfregaço vaginal, urina feminina, urina masculina e citologia em solução PreservCyt em meio de transporte são entre -20° C e -70° C para permitir que sejam realizados testes até 12 meses após a colheita. Os dados que suportam cada tipo de espécime foram gerados utilizando 90 espécimes negativos. Destes, 30 espécimes foram enriquecidos com GC a 50 CFU por reação; 30 espécimes foram enriquecidos a 5 CFU por reação; e 30 espécimes não foram enriquecidos. Os espécimes em meio de transporte foram armazenados congelados no prazo de 7 dias após a colheita e testados nos dias 200 e 400. Os espécimes cumpriram os critérios de aceitação de 95% de concordância com os resultados esperados.

## Precisão/Estudo de reprodutibilidade

A precisão do Aptima GC assay foi avaliada com três Panther systems, dois lotes de kits Aptima GC assay, ao longo de um período de 24 dias. Criaram-se painéis, enriquecendo STM com rRNA de GC nas concentrações indicadas na Tabela 18. Os operadores realizaram duas execuções por dia, analisando cada membro do painel em réplicas de dois por execução. A concordância com o resultado esperado foi calculada e a precisão foi estimada de acordo com as diretrizes EP5-A2 da NCCLS (11). O número total de réplicas de cada painel foi de 96. A Tabela 18 apresenta os dados de 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.

Tabela 18: Precisão do Panther para o Aptima GC Assay

Matriz	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	96	3	100	0	0	0	0	0	0	2,01	72,8	2	72,5
	12,5	96	3951	100	215,14	5,4	0	0	0	0	568,24	14,4	607,6	15,4
	125	95 <sup>1</sup>	5839	100	370,17	6,3	0	0	0	0	772,58	13,2	856,7	14,7
	1250	96	6207	100	338,25	5,4	0	0	0	0	787,64	12,7	857,2	13,8
Urina	0	95 <sup>1</sup>	3	100	0,69	21,6	0,81	25,5	0,77	24,2	2,43	76,3	2,8	87,8
	12,5	96	3460	100	0	0	195,84	5,7	113,27	3,3	207,53	6	307	8,9
	125	96	6047	100	158,67	2,6	170,32	2,8	0	0	206,24	3,4	311	5,1
	1250	96	6737	100	218,35	3,2	238,49	3,5	66,22	1	176,72	2,6	374,4	5,6
PreservCyt Solução	0	95 <sup>1</sup>	6	100	1,9	33,6	0	0	0,54	9,5	5,96	105,2	6,3	111,2
	12,5	96	3358	100	257,9	7,7	0	0	0	0	485,45	14,5	549,7	16,4
	125	96	5272	100	243,09	4,6	201,89	3,8	0	0	751,72	14,3	815,4	15,5
	1250	96	5945	100	355,95	6	51,06	0,9	0	0	759,35	12,8	840,2	14,1

DP = desvio padrão; CV = coeficiente de variação; RLU = unidade de luz relativa.

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

<sup>1</sup> O n de 95 indica 1 réplica inválida em 96 que não foi repetida.


## Estudos de contaminação por transferência para o Panther System

Para estabelecer que o sistema Panther minimiza o risco de resultados positivos falsos causados por contaminação por transferência, foi realizado um estudo analítico de múltiplas execuções utilizando painéis misturados em três sistemas Panther. 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 dentro da execução. As amostras de título elevado foram preparadas utilizando STM enriquecido com rRNA de GC de forma a obter uma concentração final de  $5 \times 10^5$  fg rRNA/reação (equivalente a um rRNA de  $2,5 \times 10^5$  CFU/ml). Os testes efetuaram-se utilizando 5 execuções em três sistemas Panther, num total de 2923 amostras negativas. A taxa de contaminação por transferência global foi de 0%, com um intervalo de confiança de 95% de 0–0,1%. Um total de 17 amostras negativas das execuções com título elevado foram consideradas inválidas e, por isso, excluídas do cálculo.

## Bibliografia

1. **Centers for Disease Control and Prevention.** *Morbidity and Mortality Weekly Report*, 2021. Sexually Transmitted Infections Treatment Guidelines. 70(4), 23 de julho de 2021.
2. **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.
3. **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.
4. **Hook III, E. W. 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, N.Y.
5. **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.
6. **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.
7. **Farrel, D. J.** 1999. Evaluation of AMPLICOR *Neisseria gonorrhoeae* PCR using cppB nested PCR and 16S rRNA PCR. *J. Clin. Microbiol.* **37**:386-390.
8. **Chong, S., D. Jang, X. Song, J. Mahony, A. Petrick, 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 Combo2 Assay When Testing for Inhibitors. *J. Clin. Microbiol.* 41:778-782.
9. **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.
10. **Public Health England.** 2021. Guidance for the detection of gonorrhoea in England.
11. 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).

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 da assistência técnica e do apoio ao cliente específicos de cada país, visite [www.hologic.com/support](http://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, Aptima Combo 2, DTS, Panther, Panther Fusion, PreservCyt, ThinPrep, Tigris e TMA são marcas comerciais e/ou marcas comerciais registadas da Hologic, Inc. e/ou das respetivas subsidiárias nos Estados Unidos e/ou noutros países.

TECAN é uma marca comercial 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 patentes nos Estados Unidos, as quais estão identificadas em: [www.hologic.com/patents](http://www.hologic.com/patents).

© 2003-2024 Hologic, Inc. Todos os direitos reservados.

AW-31111-601\_001 Rev. 001

2024-07

Histórico de Revisões	Data	Descrição
AW-31111 Rev. 001	Julho de 2024	<ul style="list-style-type: none"> <li>Criação de IFU (Instruções de Utilização) para o ensaio APTIMA GC conformidade com o IVDR AW-31111 Rev. 001 para comercialização (ExUS), utilizando as IFU do APTIMA GC em conformidade com o IVDR AW-31111 Rev. 001, Submissão regulamentar (ExUS) como modelo</li> <li>Atualizada a secção de FDS de acordo com as últimas revisões de FDS</li> <li>Realizadas edições e atualizações administrativas ao longo do documento</li> </ul>