

Aptima® CV/TV Assay

Para diagnósticos *in vitro*.
Rx apenas.

| | |
|---|-----------|
| Informações gerais | 2 |
| Utilização prevista | 2 |
| Resumo e explicação do teste | 2 |
| Princípios do procedimento | 3 |
| Advertências e precauções | 3 |
| Requisitos de conservação e manuseamento de reagentes | 6 |
| Recolha e conservação de espécimes | 7 |
| Panther System | 8 |
| Reagentes e materiais fornecidos | 8 |
| Materiais necessários, mas disponíveis separadamente | 9 |
| Procedimento de teste no Panther System | 10 |
| Notas sobre o procedimento | 13 |
| Controlo de qualidade | 13 |
| Calibração do ensaio | 14 |
| Controlos negativo e positivo | 14 |
| Controlo interno | 14 |
| Interpretação de testes | 15 |
| Limitações | 16 |
| Valores esperados do Panther System | 18 |
| Desempenho do ensaio no Panther System | 20 |
| Reprodutibilidade | 20 |
| Desempenho clínico do Panther System | 21 |
| Características de desempenho em pacientes sintomáticas | 21 |
| Características de desempenho do grupo de espécies de <i>Candida</i> .. | 22 |
| Características de desempenho de <i>Candida glabrata</i> | 27 |
| Características de desempenho de <i>Trichomonas vaginalis</i> | 31 |
| Taxas de positividade em mulheres assintomáticas | 35 |
| Taxas inválidas | 35 |
| Desempenho analítico do Panther System | 36 |
| Sensibilidade analítica | 36 |
| Inclusão analítica | 36 |
| Reatividade cruzada e interferência microbiana | 37 |
| Interferência | 38 |
| Dentro da precisão do laboratório | 39 |
| Co-infecção | 40 |
| Bibliografia | 41 |

Informações gerais

Utilização prevista

O Aptima® CV/TV assay (ensaio de CV/TV da Aptima) é um teste *in vitro* de amplificação do ácido nucleico, para a detecção do RNA de microrganismos associados a candidíase e tricomoníase vulvovaginal. O ensaio utiliza a amplificação mediada por transcrição (TMA) em tempo real para detectar e relatar qualitativamente os resultados para os seguintes organismos:

- Grupo de espécies de *Candida* (*C. albicans*, *C. tropicalis*, *C. parapsilosis*, *C. dubliniensis*)
- *Candida glabrata*
- *Trichomonas vaginalis*

O ensaio diferencia entre *Candida glabrata* e o grupo de espécies de *Candida* (*C* spp), tendo como alvo o componente RNA da ribonucleoproteína RNase P; o ensaio não diferencia entre *C* spp. Para a *Trichomonas vaginalis*, o ensaio tem como alvo o RNA ribossômico (rRNA) e diferencia o resultado dos resultados para a *Candida glabrata* e *C* spp. O ensaio destina-se a auxiliar no diagnóstico de candidíase e tricomoníase vulvovaginal no sistema automatizado Panther®, utilizando espécimes de esfregaços vaginais colhidas pelo médico e por pacientes do sexo feminino, com uma apresentação clínica consistente com vaginite ou vulvovaginite.

Resumo e explicação do teste

A síndrome da vaginite é caracterizada por um espectro de condições, nomeadamente: irritação vaginal e vulvar, odor, corrimento e prurido (1). As causas da vaginite incluem fatores mecânicos e químicos (produtos de higiene feminina, materiais contraceptivos, entre outros), assim como agentes infecciosos (1). Até 90% dos casos de vaginite infecciosa são causados por vaginose bacteriana (BV), candidíase vulvovaginal (vaginite cândida, CV) e tricomoníase (*Trichomonas vaginalis*, TV) (2). A BV foi diagnosticada em 22% a 50% das pacientes sintomáticas, a CV em 17% a 39% e a TV em 4% a 35% (1,2).

Normalmente conhecida como uma infecção genital, a CV é a segunda e mais frequente causa de vaginite. A CV é caracterizada por um crescimento excessivo de espécies de *Candida* no trato vaginal e está associada a sinais clínicos de inflamação (3). Até 89% dos casos de CV são causados por *C. albicans*, enquanto as espécies que não são de *albicans* podem ser responsáveis por 11% (3). Os sintomas característicos da CV incluem corrimento vaginal anormal, irritação vaginal, prurido, dispareunia e disúria externa (4). A *C. glabrata* — responsável pela maioria dos casos de CV (que não são de *albicans*) nos Estados Unidos — pode ter uma suscetibilidade reduzida à intervenção terapêutica antimicótica comum, em comparação com a *C. albicans* (4,5). Por conseguinte, as infecções por *C. glabrata* requerem uma atenção especial à gestão clínica.

A TV é a terceira causa mais comum de vaginite infecciosa (2). O agente causador — o parasita protozoário da TV — é transmitido pela atividade sexual peniano-vaginal desprotegida (4). As mulheres infetadas com a TV durante a gravidez correm um maior risco de ocorrência de resultados adversos, como a rutura prematura das membranas, o parto prematuro e o baixo peso ao nascer (4). A infecção pela TV está associada a um maior risco de contração e transmissão do HIV (6,7), assim como a infecção prolongada pelo HPV (11) e por infecções sexualmente transmissíveis concomitantes (clamídia, gonorreia e vírus do herpes simples dos tipos 1 e 2) (12).

A CV e a TV podem ser detetadas pela microscopia, pela cultura e pelo ácido nucleico, utilizando espécimes colhidos com esfregaços vaginais.

O Aptima CV/TV assay é um ensaio TMA em tempo real, desenvolvido para utilização no Panther system automatizado, que deteta e discrimina marcadores de RNA de *C. spp.*, *C. glabrata* e TV, em espécimes de esfregaços vaginais colhidos pelo médico e colhidos por pacientes sintomáticos do sexo feminino. O Aptima CV/TV assay inclui um controlo interno (IC).

Princípios do procedimento

O Aptima CV/TV assay envolve três passos principais, todos os quais ocorrem num único tubo no Panther system: captura do alvo, amplificação do alvo por TMA e deteção dos produtos da amplificação (amplicon) através de sondas com marcadores fluorescentes (torches). O ensaio incorpora um controlo interno em todos os testes para monitorizar a captura, amplificação e deteção do ácido nucleico.

Os espécimes são colhidos num tubo com um meio de transporte de espécimes (STM), que faz a lise dos organismos, liberta o RNA e protege-o contra a degradação durante o armazenamento. Quando o ensaio é realizado, os oligonucleotídeos de captura são hibridizados com regiões altamente conservadas do RNA do alvo, caso estejam presentes no espécime que está a ser testado. O alvo hibridizado é depois capturado por micropartículas magnéticas que são separadas do espécime num campo magnético. Os passos de lavagem retiram as impurezas do tubo de reação.

A amplificação do alvo ocorre por meio de TMA, que é um método de amplificação do ácido nucleico baseado na transcrição, que utiliza duas enzimas: a transcriptase inversa por MMLV (vírus da leucemia murina de Moloney) e a polimerase do RNA do T7. A transcriptase inversa é utilizada para gerar uma cópia de DNA da sequência do RNA do alvo, adicionando uma sequência de promoção da polimerase do RNA do T7. A T7 RNA polimerase produz várias cópias do RNA amplicon a partir do modelo da cópia do DNA.

A deteção é conseguida utilizando torches de ácidos nucleicos de cadeia simples, presentes durante a amplificação do alvo, e que se hibridizam especificamente com o amplicon em tempo real. Cada torch tem um fluoróforo e um agente de extinção. O agente de extinção suprime a fluorescência do fluoróforo quando a sonda não está hibridizada com o amplicon. Quando a sonda se liga ao produto da amplificação, o fluoróforo é separado do agente de extinção e emite um sinal a um determinado comprimento de onda quando é excitado por uma fonte de luz. O Panther system deteta e discrimina entre quatro sinais fluorescentes correspondentes ao *C. spp.*, *C. glabrata*, TV e aos produtos da amplificação do controlo interno. O software do Panther system utiliza um algoritmo específico do Aptima CV/TV assay, que interpreta os tempos de emergência do sinal de amplificação, para gerar um estado positivo ou negativo para cada organismo do alvo na amostra.

Advertências e precauções

- A. Para diagnósticos *in vitro*.
- B. Para reduzir o risco de resultados inválidos, leia atentamente todo o folheto informativo e o *Manual de Instruções do Panther System* antes de executar este ensaio.
- C. Este procedimento só deve ser executado por pessoal com a devida qualificação na utilização do Aptima CV/TV assay e no manuseamento de materiais infecciosos. Se ocorrer um derrame, desinfete imediatamente seguindo os procedimentos adequados do centro.

- D. Para obter advertências e precauções específicas adicionais, consulte o *Manual de Instruções do Panther System*.

Relacionado com o laboratório

- E. Use somente os artigos de laboratório descartáveis que sejam fornecidos ou especificados.
- F. Tome todas as precauções laboratoriais de rotina. Não pipete com a boca. Não coma, não beba, nem fume nas áreas de trabalho designadas. Use luvas sem pó descartáveis, proteção ocular e batas de laboratório quando manusear espécimes e reagentes de kits. Lave bem as mãos depois de manusear os espécimes e os reagentes do kit.
- G. As superfícies de trabalho, as pipetas e outro equipamento devem ser regularmente descontaminados com solução de hipoclorito de sódio de 2,5% a 3,5% (0,35 M a 0,5 M). Limpe e desinfete minuciosamente todas as superfícies de trabalho.
- H. Elimine todos os materiais que tenham estado em contacto com espécimes e reagentes de acordo com os regulamentos regionais, nacionais e internacionais aplicáveis (8, 9, 10). Limpe e desinfete minuciosamente todas as superfícies de trabalho.

Relacionado com espécimes

- I. Os prazos de validade dos kits de colheita são relativos à colheita de espécimes e não ao teste de espécimes. 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.
- J. Os espécimes podem ser infecciosos. Respeite as precauções universais quando realizar este ensaio (8, 9). Devem ser estabelecidos métodos de manuseamento e eliminação adequados de acordo com os regulamentos locais (10). Este procedimento só deve ser realizado por pessoal devidamente qualificado na utilização do Aptima CV/TV assay e com formação no manuseamento de materiais infecciosos.
- K. Mantenha as condições de conservação adequadas durante o transporte de espécimes, para garantir a integridade dos mesmos. Não foi avaliada a estabilidade do espécime em condições de transporte, para além das recomendadas.
- L. 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 não entram em contacto uns com os outros e deite fora os materiais usados sem passá-los por cima de recipientes abertos. Mude de luvas se estas entrarem em contacto com um espécime.
- M. Após a perfuração, e sob determinadas condições, o líquido pode verter das tampas dos tubos de transferência Aptima. Consulte o *Procedimento de teste do Panther System* para obter mais informações.
- N. Se o laboratório receber um tubo de transporte de kit de colheita de espécimes de esfregaços multiteme Aptima sem o esfregaço, com dois esfregaços, com um esfregaço de limpeza ou com um esfregaço não fornecido pela Hologic, o espécime deverá ser rejeitado.

Relacionado com o ensaio

- O. Não troque, misture ou combine reagentes de ensaio a partir de kits com números de lotes principais diferentes. Os controlos, o calibrador e os fluidos de ensaio podem ser trocados entre si.
- P. Feche e guarde os reagentes nas temperaturas especificadas. O desempenho do ensaio pode ser afetado pela utilização de reagentes conservados de forma incorreta. Consulte *Requisitos de Conservação e Manuseamento de Reagentes e Procedimento de Teste no Panther System* para obter mais informações.
- Q. Não combine quaisquer reagentes ou fluidos do ensaio sem instruções específicas para tal. Não adicione reagentes ou fluidos. O Panther System verifica os níveis dos reagentes.
- R. Evite a contaminação microbiana ou com nuclease dos reagentes.
- S. Não utilize os kits de reagentes, controlos ou calibradores depois do prazo de validade.
- T. Alguns dos reagentes utilizados com o Aptima CV/TV assay contêm símbolos de risco e segurança.

Nota: *As informações de comunicação de perigos na etiquetagem de produtos comercializados internacionalmente refletem as classificações das Fichas de Dados de Segurança (FDS) dos Estados Unidos e da União Europeia. Para obter informações de comunicação de perigos específicas da sua região, consulte a respetiva Ficha de Dados de Segurança na Biblioteca de Fichas de Dados de Segurança (BFDS) em: www.hologicds.com.*

| Informações de perigos para a União Europeia |
|--|
| <p>Target Capture Reagent (Reagente de captura do alvo) EDTA 1 - 5 % LITHIUM HYDROXIDE, MONOHYDRATE 1 - 5 % H412 - Nocivo para os organismos aquáticos com efeitos duradouros P273 - Evitar a libertação para o ambiente P280 - Usar protecção ocular/protecção facial</p> |
| <p>Promoter Reagent Magnesium Chloride 35 - 40% H412 - Nocivo para os organismos aquáticos com efeitos duradouros P273 - Evitar a libertação para o ambiente P280 - Usar protecção ocular/protecção facial</p> |


Requisitos de conservação e manuseamento de reagentes

- A. A seguinte tabela mostra as condições de armazenamento e a estabilidade dos reagentes, do calibrador e dos controlos.

| Reagente | Conservação fechada | Kit aberto (reconstituído) | |
|---|---------------------|----------------------------|----------------------|
| | | Conservação | Estabilidade |
| Reagente de amplificação | 2 °C a 8 °C | | |
| Solução de reconstituição da amplificação | 15 °C a 30 °C | 2 °C a 8 °C | 30 dias ¹ |
| Reagente enzimático | 2 °C a 8 °C | | |
| Solução de reconstituição enzimática | 15 °C a 30 °C | 2 °C a 8 °C | 30 dias ¹ |
| Reagente promotor | 2 °C a 8 °C | | |
| Solução de reconstituição do promotor | 15 °C a 30 °C | 2 °C a 8 °C | 30 dias ¹ |
| Reagente de captura do alvo | 15 °C a 30 °C | 15 °C a 30 °C ² | 30 dias ¹ |
| Calibrador positivo | 2 °C a 8 °C | | Frasco descartável |
| Controlo negativo | 2 °C a 8 °C | | Frasco descartável |
| Controlo positivo | 2 °C a 8 °C | | Frasco descartável |
| Controlo interno | 2 °C a 8 °C | | Frasco descartável |

¹ Sempre que os reagentes forem retirados do Panther system, deverão voltar imediatamente às respetivas temperaturas de conservação.

² Condições de conservação do reagente de captura do alvo de trabalho (reagente de captura de alvo com controlo interno adicionado).

- B. Elimine quaisquer reagentes reconstituídos, bem como o reagente de captura do alvo de trabalho (wTCR) não utilizados após 30 dias ou após a data de validade do lote principal, conforme o que ocorrer primeiro.
- C. Os reagentes conservados no Panther System têm 120 horas de estabilidade a bordo. Os reagentes podem ser carregados no Panther System até 8 vezes. O sistema regista sempre que os reagentes são carregados.
- D.  O reagente promotor e o reagente promotor reconstituído são fotossensíveis. Proteja estes reagentes da luz durante a sua conservação e a preparação para utilização.
- E. Evite a contaminação cruzada durante o manuseamento e conservação de reagentes. Volte a tapar todos os reagentes reconstituídos com novas tampas de reagente antes de os conservar.
- F. **Não congele os reagentes.**

Recolha 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.

Os espécimes de esfregaços vaginais podem ser testados com o Aptima CV/TV assay. O desempenho do ensaio não foi avaliado com outros espécimes além dos colhidos com o seguinte kit de colheita de espécimes:

- Kit de colheita de espécimes de esfregaço multiteme Aptima

A. Colheita de espécimes

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

B. Transporte e armazenamento de espécimes antes do teste:

1. Espécimes de esfregaços

- a. Depois da colheita, os espécimes de esfregaços em tubos de transporte podem ser armazenados a 2 °C a 30 °C, por um período máximo de 30 dias.
- b. Se for necessário um período de armazenamento mais prolongado, os espécimes de esfregaços em tubos de transporte poderão ser armazenados a uma temperatura de -20 °C ou -70 °C, por um período adicional de 60 dias.

C. Acondicionamento de espécimes após o teste:

1. Os espécimes testados devem ser acondicionados num suporte em posição vertical.
2. Os tubos de transporte de espécimes devem ser cobertos com uma película de plástico nova e limpa ou com folha de alumínio.
3. Se as amostras testadas tiverem de ser expedidas, retire a tampa perfurável e coloque novas tampas não perfuráveis nos tubos de transporte de espécimes. Se os espécimes tiverem de ser expedidos para teste em outro centro, mantenha as temperaturas recomendadas.
4. Antes de retirar as tampas, centrifugue os tubos de transporte de espécimes durante 5 minutos, a uma Força Centrífuga Relativa (RCF) de 420 ± 100 , para levar todo o líquido ao fundo do tubo. **Evite salpicos e a contaminação cruzada.**

Nota: Os espécimes devem ser transportados de acordo com os regulamentos de transporte locais, nacionais e internacionais em vigor.

Panther System

Os reagentes do Aptima CV/TV assay estão indicados a seguir para o Panther system. Os símbolos de identificação do reagente também estão indicados junto ao nome do reagente.

Reagentes e materiais fornecidos

Nota: para obter informações sobre quaisquer declarações de perigo e precaução que possam estar associadas a reagentes, consulte a Biblioteca de Fichas de Dados de Segurança em www.hologicsds.com.

Kit de Aptima CV/TV Assay

100 testes: 2 caixas de ensaio, 1 kit de calibrador e 1 kit de controlos (nº de referência PRD-05189)

Caixa refrigerada do Aptima CV/TV assay (consERVE a uma temperatura de 2 °C a 8 °C depois da receção)

| Símbolo | Componente | Quantidade |
|---------|---|------------|
| A | Reagente de amplificação <i>Ácidos nucleicos não infecciosos liofilizados em solução tamponada.</i> | 1 frasco |
| E | Reagente enzimático <i>Transcriptase inversa e polimerase de RNA liofilizadas em solução tamponada HEPES.</i> | 1 frasco |
| PRO | Reagente promotor <i>Ácidos nucleicos não infecciosos liofilizados em solução tamponada.</i> | 1 frasco |
| IC | Controlo interno <i>Ácidos nucleicos não infecciosos em solução tamponada.</i> | 1 x 0,3 ml |

Caixa de temperatura ambiente do Aptima CV/TV assay (consERVE a 15 °C a 30 °C depois da receção)

| Símbolo | Componente | Quantidade |
|---------|---|-------------|
| AR | Solução de reconstituição da amplificação <i>Solução aquosa contendo glicerol e conservantes.</i> | 1 x 7,2 ml |
| ER | Solução de reconstituição enzimática <i>Solução tamponada com HEPES com um agente tensoativo e glicerol.</i> | 1 x 5,8 ml |
| PROR | Solução de reconstituição do promotor <i>Solução aquosa contendo glicerol e conservantes.</i> | 1 x 4,5 ml |
| TCR | Reagente de captura do alvo <i>Solução salina tamponada com ácidos nucleicos não infecciosos e partículas magnéticas.</i> | 1 x 26,0 ml |
| | Aros de reconstituição | 3 |
| | Ficha de Códigos de Barras de Lote Principal | 1 folha |

Kit de Calibrador do Aptima CV/TV Assay (PRD-05191)
(consERVE a uma temperatura de 2 °C a 8 °C depois da receção)

| Símbolo | Componente | Quantidade |
|---------|--|------------|
| PCAL | Calibrador positivo <i>Ácidos nucleicos não infecciosos em solução tamponada.</i> | 5 x 2,8 ml |
| | Etiqueta de código de barras do calibrador | 1 folha |

Kit de Controlos do Aptima CV/TV Assay (PRD-05190)
(consERVE a uma temperatura de 2 °C a 8 °C depois da receção)

| Símbolo | Componente | Quantidade |
|-----------|--|------------|
| CONTROLO- | Controlo negativo <i>Solução tamponada.</i> | 5 x 2,7 ml |
| CONTROLO+ | Controlo positivo <i>Cultura de organismos não infetados de C. albicans, C. glabrata e T. vaginalis em solução tamponada.</i> | 5 x 1,7 ml |
| | Etiqueta de código de barras do controlo | 1 folha |

Material necessário, mas disponíveis separadamente

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

| Material | Cód. do produto |
|--|-------------------------|
| Panther System | - |
| Kit de execução Panther para ensaios em tempo real (apenas em tempo real) | PRD-03455 (5000 testes) |
| <i>Kit de fluidos do Aptima Assay (também conhecido como Kit de fluidos universais) Contém solução de lavagem Aptima, tampão para o fluido de desativação Aptima e reagente de óleo Aptima</i> | 303014 (1000 testes) |
| <i>Unidades Multitubulares (MTUs)</i> | 104772-02 |
| <i>Kit de Sacos de Resíduos Panther</i> | 902731 |
| <i>Tampa do Recipiente de Resíduos Panther</i> | 504405 |
| ou, Kit de execução do Panther System | 303096 (5000 testes) |
| <i>Ao realizar ensaios TMA em paralelo com ensaios TMA em tempo real contém MTUs, sacos de resíduos, tampas de recipientes de resíduos, auto detect e fluidos de ensaio</i> | |
| Kit de Fluidos de Ensaio Aptima <i>Contém solução de lavagem Aptima, tampão para o fluido de desativação Aptima e reagente de óleo Aptima</i> | 303014 (1000 testes) |
| Unidades Multitubulares (MTUs) | 104772-02 |
| Pontas, condutoras de 1000 µl, deteção de líquido | 10612513 (Tecan) |

| Material | Cód. do produto |
|--|---------------------|
| Kit de colheita de espécimes de esfregaço multitestado Aptima | PRD-03546 |
| Lixívia, solução de hipoclorito de sódio de 5,0% a 7,0% (0,7 M a 1,0 M) | -- |
| Luvas sem pó descartáveis | -- |
| Tampas perfuráveis Aptima | 105668 |
| Tampas não perfuráveis de substituição | 103036A |
| Tampas de substituição para reagentes | |
| <i>Soluções de reconstituição da solução de amplificação do reagente enzimático e do reagente promotor</i> | CL0041 (100 tampas) |
| <i>O frasco de TCR</i> | 501604 (100 tampas) |
| Coberturas de bancada laboratorial com forro de plástico | -- |
| Toalhetes sem pêlos | -- |
| Pipeta | -- |
| Pontas | -- |
| Agitador de tubos | -- |

Procedimento de teste no Panther System

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

A. Preparação da área de trabalho

1. Limpe as superfícies de trabalho onde serão preparados os reagentes. Limpe as superfícies de trabalho com uma solução de hipoclorito de sódio de 2,5–3,5% (0,35–0,5 M). Deixe a solução de hipoclorito de sódio entrar em contacto com as superfícies durante pelo menos 1 minuto e depois enxague com água desionizada (DI). Não deixe secar a solução de hipoclorito de sódio.
2. Limpe uma superfície de trabalho separada onde as amostras serão preparadas. Siga o procedimento supramencionado (passo A.1).
3. Cobra a superfície da bancada na qual vai preparar os reagentes e as amostras com uma proteção limpa e absorvente com forro de plástico.
4. Limpe as pipetas com 2,5% a 3,5% (0,35 M a 0,5 M) de solução de hipoclorito de sódio. Permita que a solução de hipoclorito de sódio entre em contacto com as superfícies durante pelo menos 1 minuto e depois enxague com água DI (desionizada). Não deixe secar a solução de hipoclorito de sódio.

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. Antes do teste, a amplificação, a enzima, e os reagentes promotores devem ser reconstituídos através da combinação dos conteúdos dos frascos de reagente liofilizado com a solução de reconstituição adequada.

- a. Permita que os reagentes liofilizados atinjam a temperatura ambiente (15 °C a 30 °C) antes da sua utilização.
- b. Emparelhe cada solução de reconstituição com o respetivo reagente liofilizado. Antes de fixar o aro de reconstituição, certifique-se de que a solução de reconstituição e o reagente possuem rótulos com símbolos correspondentes.
- c. Verifique os números do lote na Ficha de Códigos de Barras de Lote Principal para garantir que estão emparelhados os reagentes adequados.
- d. Abra o frasco do reagente liofilizado e insira firmemente a extremidade ranhurada do aro de reconstituição na abertura do frasco (Figura 1, Passo 1).
- e. Abra o frasco da solução de reconstituição correspondente e coloque a tampa numa superfície de trabalho limpa e coberta.
- f. Coloque o frasco da solução de reconstituição sobre a bancada e insira com firmeza a outra extremidade do aro de reconstituição na abertura do frasco (Figura 1, Passo 2).
- g. Inverta lentamente os frascos preparados. Deixe passar a solução do frasco de plástico para o frasco de vidro (Figura 1, Passo 3).
- h. Agite gentilmente a solução no frasco para misturar. Evite formar espuma ao agitar o frasco (Figura 1, Passo 4).
- i. Aguarde pelo menos 15 minutos até que o reagente liofilizado entre na solução e, em seguida, inverta novamente os frascos preparados, inclinando-os num ângulo de 45° para reduzir ao mínimo a formação de espuma (Figura 1, Passo 5). Deixe passar o líquido todo novamente para o frasco de plástico.
- j. Retire o aro de reconstituição e o frasco de vidro (Figura 1, Passo 6).
- k. Volte a colocar a tampa do frasco de plástico. Grave as iniciais do operador e a data de reconstituição no rótulo (Figura 1, Passo 7).
- l. Elimine o aro de reconstituição e o frasco de vidro (Figura 1, Passo 8).

Opção: É permitida a mistura adicional dos reagentes de amplificação, enzima e promotor com um agitador de tubos. Os reagentes podem ser misturados, colocando a garrafa de plástico tapada num agitador de tubos configurado para 20 RPM (ou equivalente) durante um mínimo de 5 minutos.

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

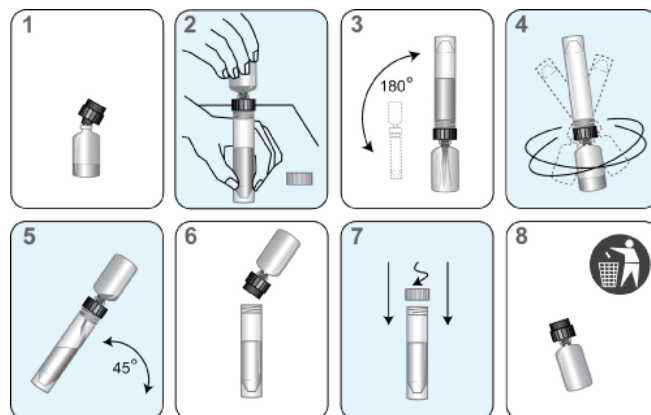


Figura 1. Processo de reconstituição de reagentes

2. Prepare o reagente de captura do alvo de trabalho (wTCR)
 - a. Emparelhe os frascos adequados de TCR e de CI.
 - b. Verifique os números de lote do reagente na Ficha de Códigos de Barras de Lote Principal 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 CI e deite o conteúdo completo no frasco de TCR. Uma pequena quantidade de líquido poderá permanecer no frasco de CI.
 - e. Feche o frasco 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. Deite fora o frasco de CI e a tampa.
- C. Preparação de reagentes para reagentes previamente reconstituídos
 1. Os reagentes de amplificação, enzimáticos e promotores previamente preparados devem atingir a temperatura ambiente (15 °C a 30 °C) antes do início do ensaio.

Opção: Os reagentes podem ser colocados à temperatura ambiente, colocando os reagentes reconstituídos de amplificação, enzimáticos e promotores num agitador de tubos configurado para 20 RPM (ou equivalente) durante um mínimo de 25 minutos.
 2. Se o wTCR contiver precipitado, aqueça o wTCR à temperatura de 42 °C a 60 °C durante um máximo de 90 minutos. Deixe o wTCR alcançar a temperatura ambiente antes de utilizá-lo. Não utilize se o precipitado persistir.
 3. Verifique se os reagentes não excederam os respetivos tempos de estabilidade durante a conservação, incluindo a estabilidade dentro do sistema.
 4. Misture bem cada reagente, invertendo-os suavemente antes de os colocar no sistema. Evite criar espuma quando inverter os reagentes.
 5. Não ateste frascos de reagente. O Panther system reconhece e rejeita os frascos que tenham sido atestados.
- D. Manuseamento de espécimes
 1. Deixe os controlos e os espécimes alcançarem a temperatura ambiente antes de os processar.
 2. **Não coloque os espécimes no vortex.**
 3. Confirme visualmente se cada tubo com espécime cumpre os seguintes critérios:
 - a. Presença de uma única zaragatoa de colheita Aptima cor-de-rosa num tubo de transporte de esfregaços.
 4. Inspeccione os tubos de espécimes antes de os colocar no suporte:
 - a. Se um tubo de espécime tiver bolhas no espaço entre o líquido e a tampa, centrifugue o tubo durante 5 minutos a uma RCF de 420 para eliminar as bolhas.
 - b. Se um tubo de espécime tiver um volume inferior ao normalmente observado quando se seguem as instruções de colheita, centrifugue o tubo durante 5 minutos a uma RCF de 420 para garantir que o líquido não está retido na tampa.

Nota: o não cumprimento dos passos 4a-4b, 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 de 4 alíquotas do tubo com espécime pode dar origem a erros de processamento.

E. Preparação do sistema

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

Notas sobre o procedimento

A. Calibrador e controlos

Deixe o calibrador e os controlos alcançarem a temperatura ambiente antes de os processar.

1. O calibrador positivo, o controlo positivo e os tubos de controlo negativo podem ser colocados no suporte em qualquer posição ou em qualquer corredor da zona de amostras do Panther system. A pipetagem de espécimes começa quando se verificar uma das 2 condições seguintes:
 - a. O calibrador e os controlos estão atualmente a serem processados pelo sistema.
 - b. Os resultados válidos para os controlos e calibrador são registados no sistema.
2. Assim que os tubos de calibrador e controlos tiverem sido pipetados e estiverem a ser processados para um kit de reagentes específico, os espécimes da paciente poderão ser testados com o kit associado até um período máximo de 24 horas, **a não ser que:**
 - a. os resultados do calibrador ou do controlo 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 calibrador ou tubo de controlo só pode ser utilizado uma única vez. As tentativas de utilizar o tubo mais de uma vez podem 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.

Controlo de qualidade

Um operador pode invalidar um espécime individual ou uma execução inteira se observar e documentar a ocorrência de um erro processual, técnico ou relacionado com o instrumento durante a realização do ensaio.

Calibração do ensaio

Para gerar resultados válidos, é necessário concluir uma calibração do ensaio. Um calibrador é processado em triplicado sempre que um kit de reagente é carregado no Panther system. Depois de estabelecida, a calibração é válida durante um máximo de 24 horas. O software do Panther system alerta o operador quando uma calibração for necessária. O operador faz a leitura dos coeficientes de calibração que se encontram na folha de códigos de barras de lotes principais, fornecida com cada kit de reagente.

Durante a execução, os critérios de aceitação do calibrador são automaticamente verificados pelo software do Panther system. Se menos de duas réplicas do calibrador forem válidas, o software invalidará automaticamente a execução. As amostras de uma execução invalidada devem ser novamente testadas com um calibrador e controlos recém-preparados.

Controlos negativo e positivo

Para gerar resultados válidos, é necessário analisar um conjunto de controlos de ensaio. Deve-se testar uma réplica do controlo negativo e uma réplica do controlo positivo sempre que um kit de reagente é carregado no Panther system. Depois de estabelecidos, os controlos são válidos durante um máximo de 24 horas. O software do Panther system alerta o operador quando os controlos são necessários.

Durante a execução, os critérios de aceitação dos controlos são automaticamente verificados pelo software do Panther system. Se algum dos controlos tiver um resultado inválido, o software invalidará automaticamente a execução. As amostras de uma execução invalidada devem ser novamente testadas com um calibrador e controlos recém-preparados.

Controlo interno

Cada amostra contém um controlo interno. Durante a execução, os critérios de aceitação do IC são automaticamente verificados pelo software do Panther system. Se um resultado de IC for inválido, o resultado da amostra é invalidado. É necessário repetir o teste de cada amostra com um resultado de IC inválido para obter um resultado válido.

O software do Panther system foi concebido para verificar processos com precisão quando os procedimentos são realizados de acordo com as instruções fornecidas neste folheto informativo e no *Manual de Instruções do Panther System*.

Interpretação de testes

Os resultados dos testes são determinados automaticamente pelo software de ensaio. Os resultados para a deteção do CV/TV são apresentados em separado. A seguinte tabela apresenta os possíveis resultados comunicados numa execução válida e as interpretações dos mesmos. As amostras com resultados de testes inválidos devem ser novamente testadas.

Tabela 1: Interpretação de resultados

| Resultado de C. spp | Resultado de C. glabrata | Resultado de TV | Resultado | Interpretação |
|---------------------|--------------------------|-----------------|-----------|--|
| Positivo | Negativo | Negativo | Válido | Foi detetado o RNA do grupo de espécies de <i>Candida</i> . |
| Positivo | Positivo | Negativo | Válido | Foi detetado o RNA do grupo de espécies de <i>Candida</i> e o RNA de <i>Candida glabrata</i> . |
| Positivo | Negativo | Positivo | Válido | Foi detetado o RNA do grupo de espécies de <i>Candida</i> e o RNA de <i>Trichomonas vaginalis</i> . |
| Positivo | Positivo | Positivo | Válido | Foi detetado o RNA do grupo de espécies de <i>Candida</i> e o RNA de <i>Candida glabrata</i> e de <i>Trichomonas vaginalis</i> . |
| Negativo | Positivo | Negativo | Válido | Foi detetado o RNA de <i>Candida glabrata</i> . |
| Negativo | Negativo | Positivo | Válido | Foi detetado o RNA de <i>Trichomonas vaginalis</i> . |
| Negativo | Positivo | Positivo | Válido | Foi detetado o RNA de <i>Candida glabrata</i> e de <i>Trichomonas vaginalis</i> . |
| Negativo | Negativo | Negativo | Válido | Negativo para o grupo de espécies de <i>Candida</i> e para <i>Candida glabrata</i> e <i>Trichomonas vaginalis</i> . |
| Inválido | Inválido | Inválido | Inválido | Inválido: ocorreu um erro na produção do resultado. O espécime deve ser novamente testado. |

Nota: RNA do grupo de espécies de *Candida* = *C. albicans*, *C. parapsilosis*, *C. dubliniensis* e/ou *C. tropicalis*

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, irrigação e das variáveis de colheita de espécimes não foram avaliados quanto ao seu impacto sobre o desempenho do ensaio.
- C. Não foi avaliado o desempenho com os tipos de espécimes diferentes dos espécimes de esfregaços vaginais.
- D. A fiabilidade dos resultados depende da colheita, transporte, conservação e execução adequadas dos espécimes. Como o sistema de transporte utilizado para este ensaio não permite a avaliação microscópica de adequação do espécime, é necessária formação adequada em técnicas de colheita de espécimes. Consulte *Colheita e Conservação de Espécimes* para obter instruções. Para obter informações detalhadas, consulte as instruções de utilização adequadas.
- E. O insucesso ou sucesso terapêutico não pode ser determinado com o Aptima CV/TV assay, visto que o ácido nucleico pode persistir depois de uma terapia antimicrobiana adequada.
- F. Os resultados do Aptima CV/TV assay devem ser interpretados em conjunto com outros dados clínicos que estejam disponíveis para o médico.
- G. Um resultado negativo não impede uma possível infeção porque os resultados dependem da colheita adequada de espécimes. Os resultados do teste podem ser afetados por uma colheita inadequada de espécimes, um erro técnico, uma mistura incorreta de espécimes ou por níveis do alvo inferiores ao limite de deteção (LoD) do ensaio.
- H. O Aptima CV/TV assay fornece resultados qualitativos. Por isso, não se pode fazer uma correlação entre a magnitude de um sinal positivo de ensaio e a quantidade de organismos num espécime.
- I. O desempenho do ensaio não foi avaliado em mulheres com idade inferior a 14 anos.
- J. Os clientes devem validar um processo de transferência LIS de forma independente.
- K. O Aptima CV/TV assay não foi avaliado para a utilização em espécimes colhidos por pacientes em casa.
- L. A colheita e o teste de espécimes de esfregaços vaginais colhidos pela paciente com o Aptima CV/TV assay não se destinam a substituir o exame clínico. As infeções vaginais podem resultar de outras causas ou podem ocorrer infeções concomitantes.
- M. Um resultado positivo para o grupo de espécies de *Candida* pode dever-se a uma ou várias espécies de *Candida*.
- N. A interferência com o Aptima CV/TV assay foi observada na presença das seguintes substâncias: Pomada de tioconazol a 6,5% (3% de P/V, todos os analitos), gel hidratante vaginal (1% de P/V, *C. spp*; 5% de P/V, *C. glabrata*; 3% de P/V, TV) e ácido acético glacial (5% de V/V, apenas *C. spp*).

- O. Observou-se que o organismo seguinte reagiu de forma cruzada acima das concentrações indicadas: *Candida famata* a concentrações superiores a 5×10^5 CFU/ml.
- P. A interferência competitiva foi observada em amostras co-infectadas pela combinação de baixas concentrações de *C. glabrata* (3X de LoD) e altas concentrações de *T. vaginalis* (1×10^5 ou 1×10^4 células/ml).
- Q. Um resultado de teste positivo não indica necessariamente a presença de organismos viáveis. Um resultado de teste positivo indica a presença do RNA do alvo.

Valores esperados do Panther System

A prevalência de *Candida* e *T. vaginalis* em populações de pacientes depende da idade, raça/etnia, fatores de risco, o tipo de clínica e a sensibilidade do teste utilizado para detectar infecções. Um resumo da detecção positiva do grupo de espécies de *Candida*, *C. glabrata* e *T. vaginalis* em pacientes sintomáticas — conforme determinado pelo Aptima CV/TV assay no Panther system — está apresentado na Tabela 2 para o estudo multicêntrico, por centro clínico e em geral.

Tabela 2: Positividade determinada pelo Aptima CV/TV assay em mulheres sintomáticas por tipo de espécime e centro clínico

| % de Positividade (# positivo / # testado com resultados válidos) | | | | | | |
|---|--|--------------------|---------------------|--|--------------------|---------------------|
| Centro | Esfregaços vaginais colhidos pelo médico | | | Esfregaços vaginais colhidos pela paciente | | |
| | Grupo de espécies de <i>Candida</i> ¹ | <i>C. glabrata</i> | <i>T. vaginalis</i> | Grupo de espécies de <i>Candida</i> ¹ | <i>C. glabrata</i> | <i>T. vaginalis</i> |
| 1 | 15,0 (3/20) | 5,0 (1/20) | 6,3 (1/16) | 20,0 (4/20) | 5,0 (1/20) | 6,3 (1/16) |
| 2 | 20,0 (1/5) | 0,0 (0/5) | 0,0 (0/1) | 0,0 (0/5) | 0,0 (0/5) | 0,0 (0/1) |
| 3 | 54,5 (12/22) | 0,0 (0/22) | 9,5 (2/21) | 54,5 (12/22) | 0,0 (0/22) | 9,5 (2/21) |
| 4 | 23,1 (50/216) | 5,1 (11/216) | 30,5 (65/213) | 28,2 (60/213) | 7,0 (15/213) | 18,0 (38/211) |
| 5 | 25,9 (38/147) | 4,8 (7/146) | 9,0 (13/145) | 28,5 (41/144) | 5,6 (8/144) | 7,7 (11/143) |
| 6 | 33,3 (24/72) | 4,2 (3/72) | 2,9 (2/68) | 33,3 (24/72) | 4,2 (3/72) | 1,5 (1/68) |
| 7 | 24,4 (48/197) | 7,6 (15/197) | 36,5 (72/197) | 27,9 (55/197) | 7,1 (14/197) | 28,9 (57/197) |
| 8 | 0,0 (0/1) | 0,0 (0/1) | 100,0 (1/1) | 0,0 (0/1) | 0,0 (0/1) | 100,0 (1/1) |
| 9 | 38,0 (41/108) | 1,9 (2/108) | 3,8 (4/105) | 46,3 (50/108) | 2,8 (3/108) | 3,8 (4/105) |
| 10 | 47,1 (8/17) | 5,9 (1/17) | 0,0 (0/17) | 52,9 (9/17) | 5,9 (1/17) | 0,0 (0/17) |
| 11 | 26,8 (19/71) | 5,6 (4/71) | 11,4 (8/70) | 27,8 (20/72) | 5,6 (4/72) | 5,6 (4/71) |
| 12 | 33,3 (46/138) | 2,9 (4/138) | 2,3 (3/130) | 34,1 (46/135) | 3,0 (4/135) | 2,3 (3/129) |
| 13 | 30,4 (21/69) | 1,4 (1/69) | 13,0 (9/69) | 31,9 (22/69) | 2,9 (2/68) | 11,6 (8/69) |
| 14 | 44,4 (4/9) | 0,0 (0/9) | 0,0 (0/8) | 44,4 (4/9) | 0,0 (0/9) | 0,0 (0/8) |
| 15 | 50,0 (2/4) | 0,0 (0/4) | 0,0 (0/4) | 50,0 (2/4) | 0,0 (0/4) | 0,0 (0/4) |
| 16 | 40,0 (12/30) | 3,3 (1/30) | 10,7 (3/28) | 46,7 (14/30) | 3,3 (1/30) | 10,7 (3/28) |
| 17 | 37,5 (30/80) | 2,5 (2/80) | 2,7 (2/74) | 40,0 (32/80) | 1,3 (1/80) | 4,1 (3/74) |
| 18 | 36,0 (31/86) | 1,2 (1/85) | 4,8 (4/83) | 37,2 (32/86) | 1,2 (1/85) | 4,8 (4/83) |

Tabela 2: Positividade determinada pelo Aptima CV/TV assay em mulheres sintomáticas por tipo de espécime e centro clínico

| % de Positividade (# positivo / # testado com resultados válidos) | | | | | | |
|---|--|------------------|--------------------|--|------------------|--------------------|
| | Esfregaços vaginais colhidos pelo médico | | | Esfregaços vaginais colhidos pela paciente | | |
| 19 | 44,0 (33/75) | 5,3 (4/75) | 2,8 (2/71) | 48,0 (36/75) | 5,3 (4/75) | 2,8 (2/71) |
| 20 | 10,3 (4/39) | 5,1 (2/39) | 0,0 (0/39) | 10,3 (4/39) | 5,1 (2/39) | 0,0 (0/39) |
| 21 | 20,3 (16/79) | 5,1 (4/79) | 11,5 (9/78) | 25,3 (20/79) | 5,1 (4/79) | 10,4 (8/77) |
| Todas | 29,8 (443/1485) | 4,2 (63/1483) | 13,9 (200/1438) | 33,0 (487/1477) | 4,6 (68/1475) | 10,5 (150/1433) |

¹ *Candida albicans*, *Candida tropicalis*, *Candida parapsilosis* e/ou *Candida dubliniensis*.

Desempenho do ensaio no Panther System

Reprodutibilidade

A reprodutibilidade do Aptima CV/TV assay foi avaliada no Panther system em três centros nos Estados Unidos, com um painel de sete membros. Dois operadores realizaram testes em cada centro. Cada operador realizou uma execução por dia durante seis dias, utilizando um lote de reagentes durante o teste. Cada execução teve três réplicas de cada membro do painel.

O painel de membros foi criado com uma matriz de esfregaço vaginal simulado ("SVSM", que contém um meio de transporte de espécimes (STM) enriquecido com fluido vaginal simulado) negativo para as espécies de *Candida* e *T. vaginalis*. Criou-se um painel de 6 membros positivos, adicionando a matriz SVSM a concentrações aproximadas de 2X C₉₅ ou LoD (positivo baixo) ou 3X C₉₅ ou LoD (positivo moderado) de lisados celulares inteiros positivos para *C. albicans*, *C. glabrata* ou *T. vaginalis*. O membro negativo do painel só continha a matriz sem analitos visados adicionados.

A concordância com os resultados esperados foi de 100% para todos os membros do painel.

A variabilidade do sinal do Aptima CV/TV assay foi calculada para cada analito visado nos membros positivos do painel. Só foram incluídas nas análises as amostras com resultados válidos. A variabilidade — calculada entre centros, entre operadores, entre dias, entre execuções, em execuções e em geral — está apresentada na Tabela 3.

Tabela 3: Variabilidade do sinal por membros de painel positivos

| Descrição do painel | N | TTime médio ¹ | Entre centros | | Entre operadores | | Entre dias | | Entre execuções | | Em execuções | | Total | |
|--|-----|--------------------------|---------------|--------|------------------|--------|------------|--------|-----------------|--------|--------------|--------|-------|--------|
| | | | DP | CV (%) | DP | CV (%) | DP | CV (%) | DP | CV (%) | DP | CV (%) | DP | CV (%) |
| <i>C. albicans</i> Pos baixo ¹ | 108 | 14,68 | 0,66 | 4,47 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,41 | 2,78 | 0,30 | 2,02 | 0,83 | 5,64 |
| <i>C. albicans</i> Pos moderado ¹ | 107 | 14,37 | 0,66 | 4,58 | 0,14 | 0,99 | 0,00 | 0,00 | 0,35 | 2,42 | 0,28 | 1,98 | 0,81 | 5,64 |
| <i>C. glabrata</i> Pos baixo | 106 | 21,36 | 0,84 | 3,94 | 0,18 | 0,84 | 0,00 | 0,00 | 0,68 | 3,17 | 0,62 | 2,89 | 1,26 | 5,88 |
| <i>C. glabrata</i> Pos moderado | 107 | 20,54 | 0,99 | 4,83 | 0,30 | 1,46 | 0,00 | 0,00 | 0,76 | 3,70 | 0,48 | 2,34 | 1,37 | 6,68 |
| <i>T. vaginalis</i> Pos baixo | 108 | 24,32 | 1,16 | 4,77 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,90 | 3,71 | 0,60 | 2,48 | 1,59 | 6,54 |
| <i>T. vaginalis</i> Pos moderado | 107 | 23,09 | 1,18 | 5,13 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,86 | 3,71 | 0,56 | 2,41 | 1,56 | 6,77 |

CV = coeficiente de variação, Mod = moderado, Pos = positivo, DP = desvio padrão

¹ C₉₅ (painéis de *C. albicans*) é definido em relação ao limite clínico.

Nota: Nos casos em que a variabilidade de alguns fatores é numericamente negativa, o DP e o CV são apresentados como 0,00.

Desempenho clínico do Panther System

Características de desempenho em pacientes sintomáticas

Foi realizado um estudo clínico multicêntrico e prospectivo para estabelecer as características de desempenho clínico do Aptima CV/TV assay no Panther system. Os pacientes femininos com sintomas de vaginite foram inscritos em 21 centros clínicos geográfica e etnicamente diversificados nos Estados Unidos, incluindo clínicas familiares privadas e acadêmicas, ginecologia obstétrica, planejamento familiar, saúde pública, infecções sexualmente transmissíveis (ISTs), clínicas de grupos médicos e centros de pesquisa clínica.

Foram colhidas 5 amostras de esfregaços vaginais de cada paciente: uma amostra de esfregaço colhida pelo médico e uma amostra de esfregaço colhida pela paciente foram obtidas com o kit de colheita de espécimes de esfregaços multiteste Aptima para o Aptima CV/TV assay, e 3 amostras de esfregaços vaginais adicionais foram colhidas para testes de referência. Os seguintes métodos de referência foram utilizados para todas as pacientes:

- Os estados de infecção pelo grupo de espécies de *Candida* (*C* spp) e por *C. glabrata* foram determinados em separado, utilizando dextrose Sabouraud e uma cultura cromogénica de uma amostra de esfregaço colhida pelo médico, seguida por uma PCR / sequenciamento bidirecional. Para as pacientes com resultados de cultura positivos (ou seja: o crescimento de qualquer *Candida* em qualquer placa de cultura), ambas as amostras de esfregaços Aptima restantes depois do teste com o Aptima CV/TV assay foram utilizadas para PCR / sequenciamento bidirecional para determinar se a *C. spp* ou *C. glabrata* estavam presentes. Um resultado de sequenciamento positivo para *C. spp* em qualquer tipo de amostra de esfregaço Aptima foi suficiente para estabelecer um resultado de referência positivo para *C. spp* em ambos os tipos de esfregaços Aptima, e um resultado de cultura negativo para *Candida* ou um resultado negativo de PCR / sequenciamento bidirecional para ambas as amostras de esfregaços Aptima foi suficiente para estabelecer um resultado de referência negativo para *C. spp* em ambos os tipos de esfregaços Aptima; seguiu-se um algoritmo semelhante para estabelecer os resultados de referência de *C. glabrata*.
- O estado de infecção da paciente por *T. vaginalis* foi determinado com um resultado composto por dois ensaios aprovados pela FDA para *T. vaginalis*, nomeadamente um ensaio molecular e um ensaio baseado em culturas. Um resultado positivo para pelo menos um ensaio foi suficiente para estabelecer um resultado de referência positivo para *T. vaginalis* para ambos os tipos de esfregaços Aptima, e um resultado negativo para ambos os ensaios foi suficiente para estabelecer um resultado de referência negativo para *T. vaginalis* para ambos os tipos de esfregaços Aptima.

As amostras Aptima foram testadas com o Aptima CV/TV assay no Panther system em três centros.

As características de desempenho para cada tipo de amostra colhida prospectivamente — com os correspondentes intervalos de confiança (IC) bilaterais de 95% de pontuação — foram estimadas em relação ao estado de infecção pelo grupo de espécies de *Candida* e por *C. glabrata*, e ao estado de infecção da paciente por *T. vaginalis*.

Das 1519 pacientes sintomáticas inscritas, 17 pacientes foram retiradas e 6 pacientes não foram avaliadas devido aos resultados finais do Aptima CV/TV assay (n = 1), à falta de esfregaços vaginais (n = 1), ao estado de infeção desconhecido por *Candida* ou ao estado de infeção da paciente por *T. vaginalis* (n = 4). As 1496 pacientes restantes foram avaliadas para pelo menos um analito em pelo menos um dos tipos de amostras. A Tabela 4 apresenta os dados demográficos das pacientes avaliadas.

Tabela 4: Dados demográficos das pacientes avaliadas

| Características | | Total |
|----------------------------|----------------------------------|--------------|
| Total, N | N | 1496 |
| Idade (anos) | Média ± DP | 35,3 ± 11,76 |
| | Mediana | 33,0 |
| | Intervalo | 14-79 |
| Faixa etária (anos), n (%) | 14-17 | 5 (0,3) |
| | 18-29 | 554 (37,0) |
| | 30-39 | 480 (32,1) |
| | 40-49 | 247 (16,5) |
| | > 50 | 210 (14,0) |
| Raça/etnia, n (%) | Asiático | 73 (4,9) |
| | Negro ou Afro-Americano | 752 (50,3) |
| | Branco (Hispanico ou Latino) | 268 (17,9) |
| | Branco (Não Hispanico ou Latino) | 339 (22,7) |
| | Outra ¹ | 64 (4,3) |

¹ Inclui outras raças mistas e desconhecidas comunicadas pelas pacientes.

Para as 1496 pacientes avaliadas, 1485 amostras de esfregaços vaginais colhidas pelo médico e 1477 amostras de esfregaços vaginais colhidas pela paciente foram incluídas nas análises do grupo de espécies de *Candida*, 1483 amostras de esfregaços vaginais colhidas pelo médico e 1475 amostras de esfregaços vaginais colhidas pela paciente foram incluídas nas análises de *C. glabrata*, e 1438 amostras de esfregaços vaginais colhidas pelo médico e 1433 amostras de esfregaços vaginais colhidas pela paciente foram incluídas nas análises de *T. vaginalis*.

Características de desempenho do grupo de espécies de *Candida*

A sensibilidade e especificidade do Aptima CV/TV assay para a deteção de *Candida* estão apresentadas para ambos os tipos de amostras em geral e por centro na Tabela 5. O desempenho do ensaio está apresentado de forma estratificada por raça/etnia na Tabela 6 e por condição clínica na Tabela 7.

Tabela 5: Características de desempenho do grupo de espécies de *Candida* por centro de colheita em mulheres sintomáticas

| Centro | Esfregaços vaginais colhidos pelo médico | | | | Esfregaços vaginais colhidos pela paciente | | | |
|--------------|--|-------------|---|---|--|-------------|---|--|
| | N | Prev (%) | Sensibilidade % (IC de 95%) ¹ | Especificidade % (IC de 95%) ¹ | N | Prev (%) | Sensibilidade % (IC de 95%) ¹ | Especificidade % (IC de 95%) ¹ |
| Todas | 1485 | 28,6 | 91,7 (88,7–94,0) 389/424 | 94,9 (93,4–96,1) 1007/1061 | 1477 | 28,6 | 92,9 (90,0–95,0) 392/422 | 91,0 (89,1–92,6) 960/1055 |
| 1 | 20 | 25,0 | 60,0 (23,1–88,2) 3/5 | 100 (79,6–100) 15/15 | 20 | 25,0 | 60,0 (23,1–88,2) 3/5 | 93,3 (70,2–98,8) 14/15 |
| 2 | 5 | 0,0 | NC | 80,0 (37,6–96,4) 4/5 | 5 | 0,0 | NC | 100 (56,6–100) 5/5 |
| 3 | 22 | 54,5 | 91,7 (64,6–98,5) 11/12 | 90,0 (59,6–98,2) 9/10 | 22 | 54,5 | 91,7 (64,6–98,5) 11/12 | 90,0 (59,6–98,2) 9/10 |
| 4 | 216 | 22,2 | 85,4 (72,8–92,8) 41/48 | 94,6 (90,1–97,2) 159/168 | 213 | 22,5 | 85,4 (72,8–92,8) 41/48 | 88,5 (82,7–92,5) 146/165 |
| 5 | 147 | 24,5 | 88,9 (74,7–95,6) 32/36 | 94,6 (88,7–97,5) 105/111 | 144 | 24,3 | 91,4 (77,6–97,0) 32/35 | 91,7 (85,0–95,6) 100/109 |
| 6 | 72 | 31,9 | 100 (85,7–100) 23/23 | 98,0 (89,3–99,6) 48/49 | 72 | 31,9 | 95,7 (79,0–99,2) 22/23 | 95,9 (86,3–98,9) 47/49 |
| 7 | 197 | 21,8 | 93,0 (81,4–97,6) 40/43 | 94,8 (90,1–97,3) 146/154 | 197 | 21,8 | 90,7 (78,4–96,3) 39/43 | 89,6 (83,8–93,5) 138/154 |
| 8 | 1 | 0,0 | NC | 100 (20,7–100) 1/1 | 1 | 0,0 | NC | 100 (20,7–100) 1/1 |
| 9 | 108 | 43,5 | 87,2 (74,8–94,0) 41/47 | 100 (94,1–100) 61/61 | 108 | 43,5 | 93,6 (82,8–97,8) 44/47 | 90,2 (80,2–95,4) 55/61 |
| 10 | 17 | 35,3 | 100 (61,0–100) 6/6 | 81,8 (52,3–94,9) 9/11 | 17 | 35,3 | 100 (61,0–100) 6/6 | 72,7 (43,4–90,3) 8/11 |
| 11 | 71 | 26,8 | 89,5 (68,6–97,1) 17/19 | 96,2 (87,0–98,9) 50/52 | 72 | 26,4 | 94,7 (75,4–99,1) 18/19 | 96,2 (87,2–99,0) 51/53 |
| 12 | 138 | 31,9 | 95,5 (84,9–98,7) 42/44 | 95,7 (89,6–98,3) 90/94 | 135 | 31,1 | 95,2 (84,2–98,7) 40/42 | 93,5 (86,6–97,0) 87/93 |
| 13 | 69 | 27,5 | 100 (83,2–100) 19/19 | 96,0 (86,5–98,9) 48/50 | 69 | 29,0 | 95,0 (76,4–99,1) 19/20 | 93,9 (83,5–97,9) 46/49 |
| 14 | 9 | 44,4 | 100 (51,0–100) 4/4 | 100 (56,6–100) 5/5 | 9 | 44,4 | 100 (51,0–100) 4/4 | 100 (56,6–100) 5/5 |
| 15 | 4 | 50,0 | 100 (34,2–100) 2/2 | 100 (34,2–100) 2/2 | 4 | 50,0 | 100 (34,2–100) 2/2 | 100 (34,2–100) 2/2 |
| 16 | 30 | 43,3 | 84,6 (57,8–95,7) 11/13 | 94,1 (73,0–99,0) 16/17 | 30 | 43,3 | 92,3 (66,7–98,6) 12/13 | 88,2 (65,7–96,7) 15/17 |

Tabela 5: Características de desempenho do grupo de espécies de *Candida* por centro de colheita em mulheres sintomáticas

| Centro | Esfregaços vaginais colhidos pelo médico | | | | Esfregaços vaginais colhidos pela paciente | | | |
|--------|--|----------|---|--|--|----------|---|--|
| | N | Prev (%) | Sensibilidade % (IC de 95%) ¹ | Especificidade % (IC de 95%) ¹ | N | Prev (%) | Sensibilidade % (IC de 95%) ¹ | Especificidade % (IC de 95%) ¹ |
| 17 | 80 | 35,0 | 92,9 (77,4–98,0) 26/28 | 92,3 (81,8–97,0) 48/52 | 80 | 35,0 | 96,4 (82,3–99,4) 27/28 | 90,4 (79,4–95,8) 47/52 |
| 18 | 86 | 30,2 | 92,3 (75,9–97,9) 24/26 | 88,3 (77,8–94,2) 53/60 | 86 | 30,2 | 96,2 (81,1–99,3) 25/26 | 88,3 (77,8–94,2) 53/60 |
| 19 | 75 | 41,3 | 100 (89,0–100) 31/31 | 95,5 (84,9–98,7) 42/44 | 75 | 41,3 | 100 (89,0–100) 31/31 | 88,6 (76,0–95,0) 39/44 |
| 20 | 39 | 7,7 | 100 (43,9–100) 3/3 | 97,2 (85,8–99,5) 35/36 | 39 | 7,7 | 100 (43,9–100) 3/3 | 97,2 (85,8–99,5) 35/36 |
| 21 | 79 | 19,0 | 86,7 (62,1–96,3) 13/15 | 95,3 (87,1–98,4) 61/64 | 79 | 19,0 | 86,7 (62,1–96,3) 13/15 | 89,1 (79,1–94,6) 57/64 |

IC = intervalo de confiança, NC = não calculável, Prev = prevalência

¹ Pontuação de IC.

Tabela 6: Características de desempenho do grupo de espécies de *Candida* por raça/etnia em mulheres sintomáticas

| Tipo de espécime | Raça/etnia | N | Prev (%) | Sensibilidade % (IC de 95%) ¹ | Especificidade % (IC de 95%) ¹ |
|--|-------------------------------|------|----------|---|--|
| Esfregaços vaginais colhidos pelo médico | Todas | 1485 | 28,6 | 91,7 (88,7–94,0) 389/424 | 94,9 (93,4–96,1) 1007/1061 |
| | Asiático | 73 | 26,0 | 100 (83,2–100) 19/19 | 94,4 (84,9–98,1) 51/54 |
| | Negro / Afro-Americano | 747 | 30,4 | 90,7 (86,3–93,9) 206/227 | 94,0 (91,7–95,8) 489/520 |
| | Branco (Hispanico/Latino) | 265 | 28,7 | 93,4 (85,5–97,2) 71/76 | 93,7 (89,2–96,3) 177/189 |
| | Branco (Não Hispanico/Latino) | 336 | 23,8 | 91,3 (83,0–95,7) 73/80 | 97,7 (95,0–98,9) 250/256 |
| | Outra ² | 64 | 34,4 | 90,9 (72,2–97,5) 20/22 | 95,2 (84,2–98,7) 40/42 |
| Esfregaços vaginais colhidos pela paciente | Todas | 1477 | 28,6 | 92,9 (90,0–95,0) 392/422 | 91,0 (89,1–92,6) 960/1055 |
| | Asiático | 71 | 25,4 | 100 (82,4–100) 18/18 | 90,6 (79,7–95,9) 48/53 |
| | Negro / Afro-Americano | 745 | 30,6 | 90,8 (86,3–93,9) 207/228 | 89,4 (86,4–91,7) 462/517 |
| | Branco (Hispanico/Latino) | 265 | 28,7 | 93,4 (85,5–97,2) 71/76 | 89,9 (84,8–93,5) 170/189 |
| | Branco (Não Hispanico/Latino) | 332 | 23,5 | 96,2 (89,3–98,7) 75/78 | 95,3 (91,9–97,3) 242/254 |
| | Outra ² | 64 | 34,4 | 95,5 (78,2–99,2) 21/22 | 90,5 (77,9–96,2) 38/42 |

IC = intervalo de confiança, Prev = prevalência

¹ Pontuação de IC.² Inclui outras raças mistas e desconhecidas comunicadas pelas pacientes.

Tabela 7: Características de desempenho do grupo de espécies de *Candida* por condição clínica em mulheres sintomáticas

| Tipo de colheita | Condição clínica | N ¹ | Prev (%) | Sensibilidade % (IC de 95%) ² | Especificidade % (IC de 95%) ² |
|--|--|----------------|----------|---|--|
| Esfregaços vaginais colhidos pelo médico | Todas | 1485 | 28,6 | 91,7 (88,7–94,0) 389/424 | 94,9 (93,4–96,1) 1007/1061 |
| | Utilização de antibióticos | 5 | 60,0 | 66,7 (20,8–93,9) 2/3 | 50,0 (9,5–90,5) 1/2 |
| | Utilização de antifúngicos | 8 | 37,5 | 100 (43,9–100) 3/3 | 100 (56,6–100) 5/5 |
| | Utilização de terapias com estrogénio | 2 | 0,0 | NC | 100 (34,2–100) 2/2 |
| | Sintomas recorrentes de vaginite nos últimos 12 meses | 863 | 28,6 | 89,9 (85,5–93,0) 222/247 | 95,0 (92,9–96,4) 585/616 |
| | Relações sexuais desprotegidas nas últimas 24 horas | 96 | 27,1 | 84,6 (66,5–93,8) 22/26 | 92,9 (84,3–96,9) 65/70 |
| | Grávida | 20 | 55,0 | 100 (74,1–100) 11/11 | 100 (70,1–100) 9/9 |
| | Com o período menstrual | 118 | 30,5 | 94,4 (81,9–98,5) 34/36 | 97,6 (91,5–99,3) 80/82 |
| | Sem o período menstrual | 1210 | 29,6 | 92,5 (89,2–94,8) 331/358 | 94,4 (92,6–95,7) 804/852 |
| | Pós-menopausa | 157 | 19,1 | 80,0 (62,7–90,5) 24/30 | 96,9 (92,2–98,8) 123/127 |
| Esfregaços vaginais colhidos pela paciente | Todas | 1477 | 28,6 | 92,9 (90,0–95,0) 392/422 | 91,0 (89,1–92,6) 960/1055 |
| | Utilização de antibióticos | 5 | 60,0 | 66,7 (20,8–93,9) 2/3 | 0,0 (0,0–65,8) 0/2 |
| | Utilização de antifúngicos | 8 | 37,5 | 100 (43,9–100) 3/3 | 100 (56,6–100) 5/5 |
| | Utilização de terapias com estrogénio | 2 | 0,0 | NC | 100 (34,2–100) 2/2 |
| | Sintomas recorrentes de vaginite nos últimos 12 meses | 859 | 28,6 | 90,7 (86,4–93,7) 223/246 | 91,2 (88,7–93,2) 559/613 |
| | Relações sexuais desprotegidas nas últimas 24 horas | 95 | 27,4 | 88,5 (71,0–96,0) 23/26 | 85,5 (75,3–91,9) 59/69 |
| | Grávida | 21 | 52,4 | 100 (74,1–100) 11/11 | 100 (72,2–100) 10/10 |
| | Com o período menstrual | 116 | 30,2 | 97,1 (85,5–99,5) 34/35 | 88,9 (80,2–94,0) 72/81 |
| | Sem o período menstrual | 1207 | 29,7 | 93,0 (89,9–95,2) 333/358 | 91,0 (88,9–92,8) 773/849 |
| | Pós-menopausa | 154 | 18,8 | 86,2 (69,4–94,5) 25/29 | 92,0 (85,9–95,6) 115/125 |

IC = intervalo de confiança, NC = não calculável, Prev = prevalência

¹ As pacientes podem comunicar múltiplas condições clínicas; a soma dos números de pacientes em todos os subgrupos não é igual ao número total de pacientes.

² Pontuação de IC.

Características de desempenho de *Candida glabrata*

A sensibilidade e especificidade do Aptima CV/TV assay para a detecção de *Candida glabrata* estão apresentadas para ambos os tipos de amostras em geral e por centro na Tabela 8. O desempenho do ensaio está apresentado de forma estratificada por raça/etnia na Tabela 9 e por condição clínica na Tabela 10.

Tabela 8: Características de desempenho de *Candida glabrata* por centro de colheita em mulheres sintomáticas

| Centro | Esfregaços vaginais colhidos pelo médico | | | | Esfregaços vaginais colhidos pela paciente | | | |
|--------------|--|------------|---|---|--|------------|---|---|
| | N | Prev (%) | Sensibilidade % (IC de 95%) ¹ | Especificidade % (IC de 95%) ¹ | N | Prev (%) | Sensibilidade % (IC de 95%) ¹ | Especificidade % (IC de 95%) ¹ |
| Todas | 1483 | 4,0 | 84,7 (73,5–91,8) 50/59² | 99,1 (98,4–99,5) 1411/1424³ | 1475 | 3,9 | 86,2 (75,1–92,8) 50/58⁴ | 98,7 (98,0–99,2) 1399/1417⁵ |
| 1 | 20 | 5,0 | 100 (20,7–100) 1/1 | 100 (83,2–100) 19/19 | 20 | 5,0 | 100 (20,7–100) 1/1 | 100 (83,2–100) 19/19 |
| 2 | 5 | 0,0 | NC | 100 (56,6–100) 5/5 | 5 | 0,0 | NC | 100 (56,6–100) 5/5 |
| 3 | 22 | 0,0 | NC | 100 (85,1–100) 22/22 | 22 | 0,0 | NC | 100 (85,1–100) 22/22 |
| 4 | 215 | 5,6 | 66,7 (39,1–86,2) 8/12 | 98,5 (95,8–99,5) 200/203 | 213 | 5,6 | 75,0 (46,8–91,1) 9/12 | 97,0 (93,6–98,6) 195/201 |
| 5 | 147 | 4,8 | 100 (64,6–100) 7/7 | 100 (97,3–100) 140/140 | 144 | 4,9 | 100 (64,6–100) 7/7 | 99,3 (96,0–99,9) 136/137 |
| 6 | 72 | 2,8 | 100 (34,2–100) 2/2 | 98,6 (92,3–99,7) 69/70 | 72 | 2,8 | 100 (34,2–100) 2/2 | 98,6 (92,3–99,7) 69/70 |
| 7 | 197 | 7,1 | 71,4 (45,4–88,3) 10/14 | 97,3 (93,8–98,8) 178/183 | 197 | 7,1 | 71,4 (45,4–88,3) 10/14 | 97,8 (94,5–99,1) 179/183 |
| 8 | 1 | 0,0 | NC | 100 (20,7–100) 1/1 | 1 | 0,0 | NC | 100 (20,7–100) 1/1 |
| 9 | 108 | 1,9 | 100 (34,2–100) 2/2 | 100 (96,5–100) 106/106 | 108 | 1,9 | 100 (34,2–100) 2/2 | 99,1 (94,8–99,8) 105/106 |
| 10 | 17 | 5,9 | 100 (20,7–100) 1/1 | 100 (80,6–100) 16/16 | 17 | 5,9 | 100 (20,7–100) 1/1 | 100 (80,6–100) 16/16 |
| 11 | 71 | 4,2 | 100 (43,9–100) 3/3 | 98,5 (92,1–99,7) 67/68 | 72 | 4,2 | 100 (43,9–100) 3/3 | 98,6 (92,2–99,7) 68/69 |
| 12 | 138 | 2,9 | 100 (51,0–100) 4/4 | 100 (97,2–100) 134/134 | 135 | 2,2 | 100 (43,9–100) 3/3 | 99,2 (95,8–99,9) 131/132 |
| 13 | 69 | 1,4 | 100 (20,7–100) 1/1 | 100 (94,7–100) 68/68 | 68 | 1,5 | 100 (20,7–100) 1/1 | 98,5 (92,0–99,7) 66/67 |

Tabela 8: Características de desempenho de *Candida glabrata* por centro de colheita em mulheres sintomáticas

| Centro | Esfregaços vaginais colhidos pelo médico | | | | Esfregaços vaginais colhidos pela paciente | | | |
|--------|--|----------|---|--|--|----------|---|--|
| | N | Prev (%) | Sensibilidade % (IC de 95%) ¹ | Especificidade % (IC de 95%) ¹ | N | Prev (%) | Sensibilidade % (IC de 95%) ¹ | Especificidade % (IC de 95%) ¹ |
| 14 | 9 | 0,0 | NC | 100 (70,1–100) 9/9 | 9 | 0,0 | NC | 100 (70,1–100) 9/9 |
| 15 | 4 | 0,0 | NC | 100 (51,0–100) 4/4 | 4 | 0,0 | NC | 100 (51,0–100) 4/4 |
| 16 | 30 | 0,0 | NC | 96,7 (83,3–99,4) 29/30 | 30 | 0,0 | NC | 96,7 (83,3–99,4) 29/30 |
| 17 | 80 | 2,5 | 50,0 (9,5–90,5) 1/2 | 98,7 (93,1–99,8) 77/78 | 80 | 2,5 | 50,0 (9,5–90,5) 1/2 | 100 (95,3–100) 78/78 |
| 18 | 85 | 1,2 | 100 (20,7–100) 1/1 | 100 (95,6–100) 84/84 | 85 | 1,2 | 100 (20,7–100) 1/1 | 100 (95,6–100) 84/84 |
| 19 | 75 | 5,3 | 100 (51,0–100) 4/4 | 100 (94,9–100) 71/71 | 75 | 5,3 | 100 (51,0–100) 4/4 | 100 (94,9–100) 71/71 |
| 20 | 39 | 5,1 | 100 (34,2–100) 2/2 | 100 (90,6–100) 37/37 | 39 | 5,1 | 100 (34,2–100) 2/2 | 100 (90,6–100) 37/37 |
| 21 | 79 | 3,8 | 100 (43,9–100) 3/3 | 98,7 (92,9–99,8) 75/76 | 79 | 3,8 | 100 (43,9–100) 3/3 | 98,7 (92,9–99,8) 75/76 |

IC = intervalo de confiança, NC = não calculável, Prev = prevalência

¹ Pontuação de IC.

² Todas as 9 amostras com resultados falsos negativos não apresentaram um crescimento de *C. glabrata* em ágar cromogénico.

³ Das 13 amostras com resultados falsos positivos, duas apresentaram um crescimento alto (+4), duas apresentaram um crescimento baixo ($\leq +2$) e 9 não apresentaram um crescimento de *C. glabrata* em ágar cromogénico.

⁴ Das 8 amostras com resultados falsos negativos, 7 não apresentaram crescimento e uma apresentou um crescimento alto (+4) de *C. glabrata* em ágar cromogénico.

⁵ Das 18 amostras com resultados falsos positivos, duas apresentaram um crescimento alto (+4), duas apresentaram um crescimento baixo ($\leq +2$) e 14 não apresentaram um crescimento de *C. glabrata* em ágar cromogénico.

Tabela 9: Características de desempenho de *Candida glabrata* por raça/etnia em mulheres sintomáticas

| Tipo de espécime | Raça/etnia | N | Prev (%) | Sensibilidade % (IC de 95%) ¹ | Especificidade % (IC de 95%) ¹ |
|--|----------------------------------|------|----------|---|--|
| Esfregaços vaginais colhidos pelo médico | Todas | 1483 | 4,0 | 84,7 (73,5–91,8) 50/59 | 99,1 (98,4–99,5) 1411/1424 |
| | Asiático | 72 | 4,2 | 100 (43,9–100) 3/3 | 100 (94,7–100) 69/69 |
| | Negro / Afro-Americano | 747 | 4,1 | 74,2 (56,8–86,3) 23/31 | 98,7 (97,6–99,3) 707/716 |
| | Branco (Hispanico/Latino) | 264 | 3,0 | 87,5 (52,9–97,8) 7/8 | 99,6 (97,8–99,9) 255/256 |
| | Branco (Não Hispanico/Latino) | 336 | 4,2 | 100 (78,5–100) 14/14 | 99,1 (97,3–99,7) 319/322 |
| | Outra ² | 64 | 4,7 | 100 (43,9–100) 3/3 | 100 (94,1–100) 61/61 |
| Esfregaços vaginais colhidos pela paciente | Todas | 1475 | 3,9 | 86,2 (75,1–92,8) 50/58 | 98,7 (98,0–99,2) 1399/1417 |
| | Asiático | 71 | 4,2 | 100 (43,9–100) 3/3 | 98,5 (92,1–99,7) 67/68 |
| | Negro / Afro-Americano | 744 | 4,2 | 77,4 (60,2–88,6) 24/31 | 98,7 (97,6–99,3) 704/713 |
| | Branco (Hispanico/Latino) | 264 | 3,0 | 87,5 (52,9–97,8) 7/8 | 99,2 (97,2–99,8) 254/256 |
| | Branco (Não Hispanico/Latino) | 332 | 3,9 | 100 (77,2–100) 13/13 | 98,4 (96,4–99,3) 314/319 |
| | Outra ² | 64 | 4,7 | 100 (43,9–100) 3/3 | 98,4 (91,3–99,7) 60/61 |

IC = intervalo de confiança, Prev = prevalência

¹ Pontuação de IC.

² Inclui outras raças mistas e desconhecidas comunicadas pelas pacientes.

Tabela 10: Características de desempenho de *Candida glabrata* por condição clínica em mulheres sintomáticas

| Tipo de colheita | Condição clínica | N ¹ | Prev (%) | Sensibilidade % (IC de 95%) ² | Especificidade % (IC de 95%) ² |
|---|---|----------------|------------|---|--|
| Esfregaços vaginais colhidos pelo médico | Todas | 1483 | 4,0 | 84,7 (73,5–91,8) 50/59 | 99,1 (98,4–99,5) 1411/1424 |
| | Utilização de antibióticos | 5 | 20,0 | 100 (20,7–100) 1/1 | 100 (51,0–100) 4/4 |
| | Utilização de antifúngicos | 8 | 12,5 | 100 (20,7–100) 1/1 | 100 (64,6–100) 7/7 |
| | Utilização de terapias com estrogénio | 2 | 0,0 | NC | 100 (34,2–100) 2/2 |
| | Sintomas recorrentes de vaginite nos últimos 12 meses | 861 | 3,9 | 88,2 (73,4–95,3) 30/34 | 99,0 (98,1–99,5) 819/827 |
| | Relações sexuais desprotegidas nas últimas 24 horas | 96 | 4,2 | 100 (51,0–100) 4/4 | 100 (96,0–100) 92/92 |
| | Grávida | 20 | 0,0 | NC | 95,0 (76,4–99,1) 19/20 |
| | Com o período menstrual | 117 | 2,6 | 100 (43,9–100) 3/3 | 100 (96,7–100) 114/114 |
| | Sem o período menstrual | 1209 | 3,8 | 80,4 (66,8–89,3) 37/46 | 99,1 (98,4–99,5) 1153/1163 |
| | Pós-menopausa | 157 | 6,4 | 100 (72,2–100) 10/10 | 98,0 (94,2–99,3) 144/147 |
| Esfregaços vaginais colhidos pela paciente | Todas | 1475 | 3,9 | 86,2 (75,1–92,8) 50/58 | 98,7 (98,0–99,2) 1399/1417 |
| | Utilização de antibióticos | 5 | 20,0 | 100 (20,7–100) 1/1 | 100 (51,0–100) 4/4 |
| | Utilização de antifúngicos | 8 | 12,5 | 100 (20,7–100) 1/1 | 100 (64,6–100) 7/7 |
| | Utilização de terapias com estrogénio | 2 | 0,0 | NC | 100 (34,2–100) 2/2 |
| | Sintomas recorrentes de vaginite nos últimos 12 meses | 858 | 4,0 | 91,2 (77,0–97,0) 31/34 | 99,2 (98,3–99,6) 817/824 |
| | Relações sexuais desprotegidas nas últimas 24 horas | 95 | 4,2 | 100 (51,0–100) 4/4 | 100 (95,9–100) 91/91 |
| | Grávida | 21 | 0,0 | NC | 90,5 (71,1–97,3) 19/21 |
| | Com o período menstrual | 116 | 2,6 | 100 (43,9–100) 3/3 | 100 (96,7–100) 113/113 |
| | Sem o período menstrual | 1205 | 3,8 | 84,8 (71,8–92,4) 39/46 | 99,0 (98,2–99,4) 1147/1159 |
| | Pós-menopausa | 154 | 5,8 | 88,9 (56,5–98,0) 8/9 | 95,9 (91,3–98,1) 139/145 |

IC = intervalo de confiança, NC = não calculável, Prev = prevalência

¹ As pacientes podem comunicar múltiplas condições clínicas; a soma dos números de pacientes em todos os subgrupos não é igual ao número total de pacientes.

² Pontuação de IC.

Devido à baixa prevalência antecipada de *Candida glabrata*, o desempenho do Aptima CV/TV assay também foi avaliado com espécimes artificiais para complementar os dados recolhidos no estudo clínico. Os espécimes artificiais foram preparados através da adição de cinco estirpes diferentes de *Candida glabrata* numa matriz de esfregaço vaginal simulado às concentrações de 3X, 10X e 20X de LoD do ensaio. Também foram testados os espécimes verdadeiros negativos que só continham a matriz. A concordância foi de 100% em todos os espécimes artificiais (consulte a Tabela 11).

Tabela 11: Concordância dos espécimes artificiais de *Candida glabrata*

| | N | Positivo para <i>C. glabrata</i> Aptima | Negativo para <i>C. glabrata</i> Aptima | PPA (%) (IC de 95%) ¹ | NPA (%) (IC de 95%) ¹ |
|--------------------------------|----|---|---|-------------------------------------|--|
| Verdadeiro negativo | 60 | 0 | 60 | NC | 100 (94,0–100) |
| Positivo baixo (3X LoD) | 30 | 30 | 0 | 100 (88,6–100) | NC |
| Positivo moderado (10X LoD) | 15 | 15 | 0 | 100 (79,6–100) | NC |
| Positivo alto (20X LoD) | 15 | 15 | 0 | 100 (79,6–100) | NC |

NC = não calculável, LoD = limite de deteção, NPA = concordância percentual negativa, PPA = concordância percentual positiva

¹ Pontuação de IC.

Características de desempenho de *Trichomonas vaginalis*

A sensibilidade e especificidade do Aptima CV/TV assay para a deteção de *Trichomonas vaginalis* estão apresentadas para ambos os tipos de amostras em geral e por centro na Tabela 12. O desempenho do ensaio está apresentado de forma estratificada por raça/etnia na Tabela 13 e por condição clínica na Tabela 14.

Tabela 12: Características de desempenho de *Trichomonas vaginalis* por centro de colheita em mulheres sintomáticas

| Centro | Esfregaços vaginais colhidos pelo médico | | | | Esfregaços vaginais colhidos pela paciente | | | |
|--------|--|----------|---|---|--|----------|---|---|
| | N | Prev (%) | Sensibilidade % (IC de 95%) ¹ | Especificidade % (IC de 95%) ¹ | N | Prev (%) | Sensibilidade % (IC de 95%) ¹ | Especificidade % (IC de 95%) ¹ |
| Todas | 1438 | 9,9 | 96,5 (92,0–98,5) 137/142 ² | 95,1 (93,8–96,2) 1233/1296 ³ | 1433 | 9,8 | 97,1 (92,9–98,9) 136/140 ⁴ | 98,9 (98,2–99,4) 1279/1293 ⁵ |
| 1 | 16 | 6,3 | 100 (20,7–100) 1/1 | 100 (79,6–100) 15/15 | 16 | 6,3 | 100 (20,7–100) 1/1 | 100 (79,6–100) 15/15 |
| 2 | 1 | 0,0 | NC | 100 (20,7–100) 1/1 | 1 | 0,0 | NC | 100 (20,7–100) 1/1 |
| 3 | 21 | 9,5 | 100 (34,2–100) 2/2 | 100 (83,2–100) 19/19 | 21 | 9,5 | 100 (34,2–100) 2/2 | 100 (83,2–100) 19/19 |
| 4 | 213 | 17,4 | 97,3 (86,2–99,5) 36/37 | 83,5 (77,3–88,3) 147/176 | 211 | 17,1 | 100 (90,4–100) 36/36 | 98,9 (95,9–99,7) 173/175 |

Tabela 12: Características de desempenho de *Trichomonas vaginalis* por centro de colheita em mulheres sintomáticas

| Centro | Esfregaços vaginais colhidos pelo médico | | | | Esfregaços vaginais colhidos pela paciente | | | |
|--------|--|----------|---|--|--|----------|---|--|
| | N | Prev (%) | Sensibilidade % (IC de 95%) ¹ | Especificidade % (IC de 95%) ¹ | N | Prev (%) | Sensibilidade % (IC de 95%) ¹ | Especificidade % (IC de 95%) ¹ |
| 5 | 145 | 7,6 | 100 (74,1–100) 11/11 | 98,5 (94,7–99,6) 132/134 | 143 | 7,7 | 100 (74,1–100) 11/11 | 100 (97,2–100) 132/132 |
| 6 | 68 | 1,5 | 100 (20,7–100) 1/1 | 98,5 (92,0–99,7) 66/67 | 68 | 1,5 | 100 (20,7–100) 1/1 | 100 (94,6–100) 67/67 |
| 7 | 197 | 23,9 | 100 (92,4–100) 47/47 | 83,3 (76,6–88,4) 125/150 | 197 | 23,9 | 100 (92,4–100) 47/47 | 93,3 (88,2–96,3) 140/150 |
| 8 | 1 | 100,0 | 100 (20,7–100) 1/1 | NC | 1 | 100,0 | 100 (20,7–100) 1/1 | NC |
| 9 | 105 | 3,8 | 100 (51,0–100) 4/4 | 100 (96,3–100) 101/101 | 105 | 3,8 | 100 (51,0–100) 4/4 | 100 (96,3–100) 101/101 |
| 10 | 17 | 0,0 | NC | 100 (81,6–100) 17/17 | 17 | 0,0 | NC | 100 (81,6–100) 17/17 |
| 11 | 70 | 7,1 | 80,0 (37,6–96,4) 4/5 | 93,8 (85,2–97,6) 61/65 | 71 | 7,0 | 80,0 (37,6–96,4) 4/5 | 100 (94,5–100) 66/66 |
| 12 | 130 | 3,1 | 75,0 (30,1–95,4) 3/4 | 100 (97,0–100) 126/126 | 129 | 3,1 | 75,0 (30,1–95,4) 3/4 | 100 (97,0–100) 125/125 |
| 13 | 69 | 10,1 | 100 (64,6–100) 7/7 | 96,8 (89,0–99,1) 60/62 | 69 | 10,1 | 100 (64,6–100) 7/7 | 98,4 (91,4–99,7) 61/62 |
| 14 | 8 | 0,0 | NC | 100 (67,6–100) 8/8 | 8 | 0,0 | NC | 100 (67,6–100) 8/8 |
| 15 | 4 | 25,0 | 0,0 (0,0–79,3) 0/1 | 100 (43,9–100) 3/3 | 4 | 25,0 | 0,0 (0,0–79,3) 0/1 | 100 (43,9–100) 3/3 |
| 16 | 28 | 10,7 | 100 (43,9–100) 3/3 | 100 (86,7–100) 25/25 | 28 | 10,7 | 100 (43,9–100) 3/3 | 100 (86,7–100) 25/25 |
| 17 | 74 | 2,7 | 100 (34,2–100) 2/2 | 100 (94,9–100) 72/72 | 74 | 2,7 | 100 (34,2–100) 2/2 | 98,6 (92,5–99,8) 71/72 |
| 18 | 83 | 4,8 | 100 (51,0–100) 4/4 | 100 (95,4–100) 79/79 | 83 | 4,8 | 100 (51,0–100) 4/4 | 100 (95,4–100) 79/79 |
| 19 | 71 | 4,2 | 66,7 (20,8–93,9) 2/3 | 100 (94,7–100) 68/68 | 71 | 4,2 | 66,7 (20,8–93,9) 2/3 | 100 (94,7–100) 68/68 |
| 20 | 39 | 0,0 | NC | 100 (91,0–100) 39/39 | 39 | 0,0 | NC | 100 (91,0–100) 39/39 |
| 21 | 78 | 11,5 | 100 (70,1–100) 9/9 | 100 (94,7–100) 69/69 | 77 | 10,4 | 100 (67,6–100) 8/8 | 100 (94,7–100) 69/69 |

IC = intervalo de confiança, NC = não calculável, Prev = prevalência

¹ Pontuação de IC.

² Das 5 amostras com resultados falsos negativos, 3 foram negativas com um segundo NAAT de TV aprovado pela FDA.

³ Das 63 amostras com resultados falsos positivos, 56 foram negativas com um segundo NAAT de TV aprovado pela FDA.

⁴ Das 4 amostras com resultados falsos negativos, 3 foram negativas com um segundo NAAT de TV aprovado pela FDA.

⁵ Das 14 amostras com resultados falsos positivos, 8 foram negativas com um segundo NAAT de TV aprovado pela FDA.

Tabela 13: Características de desempenho de *Trichomonas vaginalis* por raça/etnia em mulheres sintomáticas

| Tipo de espécime | Raça/etnia | N | Prev (%) | Sensibilidade % (IC de 95%) ¹ | Especificidade % (IC de 95%) ¹ |
|--|----------------------------------|-------------|------------|---|--|
| Esfregaços vaginais colhidos pelo médico | Todas | 1438 | 9,9 | 96,5 (92,0–98,5) 137/142 | 95,1 (93,8–96,2) 1233/1296 |
| | Asiático | 67 | 6,0 | 100 (51,0–100) 4/4 | 98,4 (91,5–99,7) 62/63 |
| | Negro / Afro-Americano | 727 | 14,2 | 98,1 (93,2–99,5) 101/103 | 93,3 (91,0–95,0) 582/624 |
| | Branco (Hispanico/Latino) | 257 | 6,6 | 94,1 (73,0–99,0) 16/17 | 95,0 (91,5–97,1) 228/240 |
| | Branco (Não Hispanico/Latino) | 326 | 4,0 | 84,6 (57,8–95,7) 11/13 | 97,4 (95,0–98,7) 305/313 |
| | Outra ² | 61 | 8,2 | 100 (56,6–100) 5/5 | 100 (93,6–100) 56/56 |
| Esfregaços vaginais colhidos pela paciente | Todas | 1433 | 9,8 | 97,1 (92,9–98,9) 136/140 | 98,9 (98,2–99,4) 1279/1293 |
| | Asiático | 66 | 6,1 | 100 (51,0–100) 4/4 | 100 (94,2–100) 62/62 |
| | Negro / Afro-Americano | 724 | 14,0 | 98,0 (93,1–99,5) 99/101 | 98,7 (97,5–99,3) 615/623 |
| | Branco (Hispanico/Latino) | 258 | 6,6 | 94,1 (73,0–99,0) 16/17 | 97,9 (95,2–99,1) 236/241 |
| | Branco (Não Hispanico/Latino) | 324 | 4,0 | 92,3 (66,7–98,6) 12/13 | 99,7 (98,2–99,9) 310/311 |
| | Outra ² | 61 | 8,2 | 100 (56,6–100) 5/5 | 100 (93,6–100) 56/56 |

IC = intervalo de confiança, Prev = prevalência

¹ Pontuação de IC.² Inclui outras raças mistas e desconhecidas comunicadas pelas pacientes.

Tabela 14: Características de desempenho de *Trichomonas vaginalis* por condição clínica em mulheres sintomáticas

| Tipo de colheita | Condição clínica | N ¹ | Prev (%) | Sensibilidade % (IC de 95%) ² | Especificidade % (IC de 95%) ² |
|---|---|----------------|------------|---|--|
| Esfregaços vaginais colhidos pelo médico | Todas | 1438 | 9,9 | 96,5 (92,0–98,5) 137/142 | 95,1 (93,8–96,2) 1233/1296 |
| | Utilização de antibióticos | 5 | 0,0 | NC | 100 (56,6–100) 5/5 |
| | Utilização de antifúngicos | 7 | 0,0 | NC | 100 (64,6–100) 7/7 |
| | Utilização de terapias com estrogénio | 2 | 0,0 | NC | 100 (34,2–100) 2/2 |
| | Sintomas recorrentes de vaginite nos últimos 12 meses | 841 | 8,1 | 95,6 (87,8–98,5) 65/68 | 94,7 (92,9–96,1) 732/773 |
| | Relações sexuais desprotegidas nas últimas 24 horas | 94 | 12,8 | 91,7 (64,6–98,5) 11/12 | 96,3 (89,8–98,7) 79/82 |
| | Grávida | 20 | 15,0 | 66,7 (20,8–93,9) 2/3 | 100 (81,6–100) 17/17 |
| | Com o período menstrual | 112 | 9,8 | 90,9 (62,3–98,4) 10/11 | 97,0 (91,6–99,0) 98/101 |
| | Sem o período menstrual | 1176 | 9,9 | 97,4 (92,7–99,1) 114/117 | 95,3 (93,8–96,4) 1009/1059 |
| | Pós-menopausa | 150 | 9,3 | 92,9 (68,5–98,7) 13/14 | 92,6 (87,0–96,0) 126/136 |
| Esfregaços vaginais colhidos pela paciente | Todas | 1433 | 9,8 | 97,1 (92,9–98,9) 136/140 | 98,9 (98,2–99,4) 1279/1293 |
| | Utilização de antibióticos | 5 | 0,0 | NC | 100 (56,6–100) 5/5 |
| | Utilização de antifúngicos | 7 | 0,0 | NC | 100 (64,6–100) 7/7 |
| | Utilização de terapias com estrogénio | 2 | 0,0 | NC | 100 (34,2–100) 2/2 |
| | Sintomas recorrentes de vaginite nos últimos 12 meses | 839 | 8,0 | 97,0 (89,8–99,2) 65/67 | 98,4 (97,3–99,1) 760/772 |
| | Relações sexuais desprotegidas nas últimas 24 horas | 93 | 12,9 | 100 (75,8–100) 12/12 | 100 (95,5–100) 81/81 |
| | Grávida | 21 | 14,3 | 66,7 (20,8–93,9) 2/3 | 100 (82,4–100) 18/18 |
| | Com o período menstrual | 112 | 9,8 | 90,9 (62,3–98,4) 10/11 | 99,0 (94,6–99,8) 100/101 |
| | Sem o período menstrual | 1173 | 9,8 | 97,4 (92,6–99,1) 112/115 | 98,9 (98,0–99,4) 1046/1058 |
| | Pós-menopausa | 148 | 9,5 | 100 (78,5–100) 14/14 | 99,3 (95,9–99,9) 133/134 |

IC = intervalo de confiança, NC = não calculável, Prev = prevalência

¹ As pacientes podem comunicar múltiplas condições clínicas; a soma dos números de pacientes em todos os subgrupos não é igual ao número total de pacientes.

² Pontuação de IC.

As taxas de co-deteção — calculadas para os espécimes com resultados válidos e conclusivos do Aptima CV/TV assay e de referência para todos os alvos — estão apresentadas na Tabela 15.

Tabela 15: Taxas de co-deteção de Aptima CV/TV em mulheres sintomáticas

| Analitos detetados | Esfregaços vaginais colhidos pelo médico | Esfregaços vaginais colhidos pela paciente |
|--|--|--|
| Grupo de espécies de <i>Candida</i> e <i>C. glabrata</i> | 1,4% (21/1487) | 1,6% (23/1478) |
| Grupo de espécies de <i>Candida</i> e <i>T. vaginalis</i> | 2,7% (40/1487) | 3,1% (46/1478) |
| Grupo de espécies de <i>Candida</i> , <i>C. glabrata</i> e <i>T. vaginalis</i> | 0,3% (4/1487) | 0,3 (5/1478) |
| <i>C. glabrata</i> e <i>T. vaginalis</i> | 0,2% (3/1487) | 0,1% (1/1478) |
| Total | 4,6% (68/1487) | 5,1% (75/1478) |

Taxas de positividade em mulheres assintomáticas

A deteção de um desequilíbrio no microbioma vaginal é relevante para as decisões de tratamento. Embora o Aptima CV/TV assay não se destine a ser utilizado em testes de amostras de mulheres assintomáticas, os organismos associados à candidíase vulvovaginal e detetados pelo Aptima CV/TV assay também podem estar presentes em mulheres assintomáticas. A presença dos alvos do Aptima CV/TV assay foi avaliada em amostras de esfregaços vaginais colhidos pelo médico de 171 mulheres assintomáticas. Um resumo das taxas de deteção do grupo de espécies de *Candida* e *Candida glabrata* — conforme determinado pelo Aptima CV/TV assay — está apresentado na Tabela 16 para o estudo multicêntrico global e por raça/etnia.

Tabela 16: Positividade determinada pelo Aptima CV/TV assay em mulheres assintomáticas

| | % de Positividade (# positivo / # testado com resultados válidos) | |
|--------------------------------------|---|-------------------------|
| | Grupo de espécies de <i>Candida</i> | <i>Candida glabrata</i> |
| Todas | 21,1% (36/171) | 8,8% (15/171) |
| Asiático | 0,0% (0/5) | 0,0% (0/5) |
| Negro / Afro-Americano | 28,0% (21/75) | 12,0% (9/75) |
| Branco (Hispânico/Latino) | 17,1% (7/41) | 4,9% (2/41) |
| Branco (Não Hispânico/Latino) | 11,6% (5/43) | 7,0% (3/43) |
| Outra¹ | 42,9% (3/7) | 14,3% (1/7) |

¹ Inclui outras raças mistas e desconhecidas comunicadas pelas pacientes.

Taxas inválidas

Um total de 3295 amostras colhidas por médicos e pacientes — provenientes de pacientes sintomáticas e assintomáticas — foi processado em ensaios Aptima CV/TV válidos para estabelecer o desempenho clínico. Destes, 1,7% tiveram resultados iniciais inválidos. No segundo teste, 0,5% permaneceram inválidos e foram excluídos de todas as análises.

Desempenho analítico do Panther System

Sensibilidade analítica

A sensibilidade analítica / LoD do Aptima CV/TV assay foi determinada através do teste de uma série de painéis constituídos por organismos do alvo, diluídos em espécimes clínicos negativos agregados ou numa matriz de esfregaço vaginal simulado (SVSM). Foi testado um mínimo de 20 réplicas de cada membro do painel com cada um dos dois lotes de reagentes, para um mínimo de 40 réplicas por membro do painel. Foi realizada a análise Probit para gerar o limite de deteção previsto de 95% para cada organismo. Os limites de deteção previstos estão apresentados na Tabela 17.

Tabela 17: Limite de deteção do Aptima CV/TV assay

| Organismo | Limite de deteção previsto | Concentração | Unidades |
|-------------------------------------|----------------------------|--------------|------------|
| <i>C. albicans</i> | 95% | 4439 | CFU/ml |
| <i>C. glabrata</i> | 95% | 41 | CFU/ml |
| <i>C. parapsilosis</i> ¹ | 95% | 9416 | CFU/ml |
| <i>C. tropicalis</i> ¹ | 95% | 811 | CFU/ml |
| <i>C. dubliniensis</i> ¹ | 95% | 1176 | CFU/ml |
| <i>T. vaginalis</i> | 95% | 0,0024 | Células/ml |

¹Testado numa matriz de esfregaço vaginal simulado

Inclusão analítica

Cinco estirpes de cada organismo do alvo de *Candida* foram testadas com um lisado visado a 3X LoD para *C. albicans*, *C. parapsilosis*, *C. tropicalis*, *C. dubliniensis* e *C. glabrata* em SVSM. Nove estirpes de *T. vaginalis* — incluindo uma estirpe resistente a metronidazol — foram testadas com um lisado celular visado a 3X LoD em SVSM. O Aptima CV/TV assay foi positivo para todas as estirpes de *Candida* testadas a 3X LoD. Oito das nove estirpes de *T. vaginalis* — incluindo a estirpe resistente a metronidazol — foram detetadas a 3X LoD. Uma estirpe de *T. vaginalis* foi detetada a 4X LoD.

Reatividade cruzada e interferência microbiana

A reatividade cruzada e a interferência microbiana com o Aptima CV/TV assay foram avaliadas na presença de organismos não visados. Um painel constituído por 64 organismos e linhas celulares humanas (Tabela 18) foi testado em SVSM na ausência ou presença de *C. albicans*, *C. glabrata* ou *T. vaginalis* a 3X LoD. Não foi observada qualquer reação cruzada ou interferência microbiana em nenhum dos 64 organismos testados no Aptima CV/TV assay às concentrações listadas na Tabela 18.

Tabela 18: Painel de reatividade cruzada e interferência microbiana

| Micro-organismo | Concentração | Micro-organismo | Concentração |
|-------------------------------------|------------------------------|--|------------------------------|
| <i>Acinetobacter lwoffii</i> | 1x10 ⁶ CFU/ml | Vírus do herpes simples I | 1x10 ⁴ TCID 50/ml |
| <i>Actinomyces israelii</i> | 1x10 ⁶ CFU/ml | Vírus do herpes simples II | 1x10 ⁴ TCID 50/ml |
| <i>Alcaligenes faecalis</i> | 1x10 ⁶ CFU/ml | <i>Klebsiella pneumoniae</i> | 1x10 ⁶ CFU/ml |
| <i>Atopobium vaginae</i> | 1x10 ⁶ CFU/ml | <i>Lactobacillus acidophilus</i> | 1x10 ⁶ CFU/ml |
| <i>Bacteroides fragilis</i> | 1x10 ⁶ CFU/ml | <i>Lactobacillus crispatus</i> | 1x10 ⁶ CFU/ml |
| <i>Bifidobacterium adolescentis</i> | 1x10 ⁶ CFU/ml | <i>Lactobacillus gasseri</i> | 1x10 ⁶ CFU/ml |
| BVAB-1 ¹ | 1x10 ⁶ cópias/ml | <i>Lactobacillus iners</i> | 1x10 ⁶ CFU/ml |
| BVAB-2 ¹ | 1x10 ⁶ cópias/ml | <i>Lactobacillus jensenii</i> | 1x10 ⁶ CFU/ml |
| <i>Campylobacter jejuni</i> | 1x10 ⁶ CFU/ml | <i>Lactobacillus mucosae</i> | 1x10 ⁶ CFU/ml |
| <i>Candida catenulata</i> | 1x10 ⁶ CFU/ml | <i>Leptotrichia buccalis</i> | 1x10 ⁶ CFU/ml |
| <i>Candida famata</i> ² | 5x10 ⁵ CFU/ml | <i>Listeria monocytogenes</i> | 1x10 ⁶ CFU/ml |
| <i>Candida guilliermondii</i> | 1x10 ⁶ CFU/ml | Tipo <i>Megasphaera</i> 1 ¹ | 1x10 ⁶ cópias/ml |
| <i>Candida haemulonii</i> | 1x10 ⁶ CFU/ml | <i>Mobiluncus curtisii</i> | 1x10 ⁶ CFU/ml |
| <i>Candida inconspicua</i> | 1x10 ⁶ CFU/ml | <i>Mycoplasma genitalium</i> | 1x10 ⁶ CFU/ml |
| <i>Candida kefyr</i> | 1x10 ⁶ CFU/ml | <i>Mycoplasma hominis</i> | 1x10 ⁶ CFU/ml |
| <i>Candida krusei</i> | 1x10 ⁶ CFU/ml | <i>Neisseria gonorrhoeae</i> | 1x10 ⁶ CFU/ml |
| <i>Candida lusitanae</i> | 1x10 ⁶ CFU/ml | <i>Peptostreptococcus magnus</i> | 1x10 ⁶ CFU/ml |
| <i>Candida norvegica</i> | 1x10 ⁶ CFU/ml | <i>Pentatrichomonas hominis</i> | 1x10 ⁵ células/ml |
| <i>Candida orthopsilosis</i> | 1x10 ⁶ CFU/ml | <i>Pichia fermentans</i> | 1x10 ⁶ CFU/ml |
| <i>Chlamydia trachomatis</i> | 1x10 ⁶ IFU/ml | <i>Prevotella bivia</i> | 1x10 ⁶ CFU/ml |
| <i>Clostridium difficile</i> | 1x10 ⁶ CFU/ml | <i>Propionibacterium acnes</i> | 1x10 ⁶ CFU/ml |
| <i>Corynebacterium genitalium</i> | 1x10 ⁶ CFU/ml | <i>Proteus vulgaris</i> | 1x10 ⁶ CFU/ml |
| <i>Cryptococcus neoformans</i> | 1x10 ⁶ CFU/ml | Células SiHa | 1x10 ⁴ células/ml |
| <i>Eggerthella lenta</i> | 1x10 ⁶ CFU/ml | <i>Sneathia amnii</i> | 1x10 ⁶ CFU/ml |
| <i>Enterobacter cloacae</i> | 1x10 ⁶ CFU/ml | <i>Staphylococcus aureus</i> | 1x10 ⁶ CFU/ml |
| <i>Enterococcus faecalis</i> | 1x10 ⁶ CFU/ml | <i>Staphylococcus epidermidis</i> | 1x10 ⁶ CFU/ml |
| <i>Escherichia coli</i> | 1x10 ⁶ CFU/ml | <i>Streptococcus agalactiae</i> | 1x10 ⁶ CFU/ml |
| <i>Fusobacterium nucleatum</i> | 1x10 ⁶ CFU/ml | <i>Streptococcus pyogenes</i> | 1x10 ⁶ CFU/ml |
| <i>Gardnerella vaginalis</i> | 1x10 ⁶ CFU/ml | <i>Treponema pallidum</i> ¹ | 1x10 ⁶ cópias/ml |
| <i>Haemophilus ducreyi</i> | 1x10 ⁶ CFU/ml | <i>Trichomonas tenax</i> | 1x10 ⁵ células/ml |
| Células HeLa | 1x10 ⁴ Células/ml | <i>Ureaplasma parvum</i> | 1x10 ⁶ CFU/ml |
| HIV | 1x10 ⁵ cópias/ml | <i>Ureaplasma urealyticum</i> | 1x10 ⁶ CFU/ml |

CFU = unidades de formação de colónias; IFU = unidades de formação de inclusão; TCID50 = dose infecciosa em cultura de tecidos medianos

¹ Testado por transcrição in vitro.

² A reatividade cruzada com *Candida famata* foi observada a concentrações superiores a 5x10⁵ CFU/ml.

Interferência

Substâncias potencialmente interferentes foram testadas no Aptima CV/TV assay. Foram elaborados painéis com SVSM e avaliados quanto aos potenciais efeitos sobre a sensibilidade e especificidade do ensaio. O desempenho da sensibilidade foi avaliado em separado para *C. albicans*, *C. glabrata* e *T. vaginalis*, adicionando o lisado a 3X LoD. Os painéis negativos com todas as substâncias também foram avaliados quanto à especificidade.

Não foi observada qualquer interferência na presença das seguintes substâncias exógenas e endógenas testadas às concentrações listadas na Tabela 19.

Tabela 19: Painel de substâncias Interferentes

| Substância | Concentração final ¹ |
|-------------------------------------|---------------------------------|
| Sangue total | 5% V/V |
| Leucócitos | 1x10 ⁶ células/ml |
| Muco | 5% V/V |
| Fluido seminal | 5% V/V |
| Espuma contraceptiva | 5% W/V |
| Película contraceptiva | 5% W/V |
| Tioconazol ² | 2% W/V |
| Douche | 5% W/V |
| Progesterona | 5% W/V |
| Estradiol | 5% W/V |
| Aciclovir | 5% W/V |
| Metronidazol | 5% W/V |
| Creme para hemorroidas | 5% W/V |
| Gel hidratante vaginal ³ | 0,5% W/V |
| Lubrificante | 5% V/V |
| Espemicida | 5% W/V |
| Antifúngico | 5% W/V |
| Desodorizante/Spray | 5% W/V |
| Ácido acético glacial ⁴ | 4% V/V |
| Creme Vagisil | 5% W/V |

W/V = peso por volume; V/V = volume por volume

¹ A concentração final representa a concentração final na amostra quando esta é testada no instrumento Panther.

² Pomada de tioconazol a 6,5%: A interferência foi observada a ≥3% P/V para todos os analitos. Não foi observada qualquer interferência a 2% P/V para todos os analitos.

³ Gel hidratante vaginal: Observou-se uma interferência a ≥1% P/V para *C. albicans*, 5% P/V para *C. glabrata*, e ≥3% P/V para *T. vaginalis*. Observou-se uma interferência a 0,5% P/V para *C. albicans*, 4% P/V para *C. glabrata*, e 2% P/V para *T. vaginalis*.

⁴ Ácido acético glacial: Não foi observada qualquer interferência a 5% P/V para *C. albicans*. Observou-se uma interferência a 4% V/V para *C. albicans*, 5% V/V para *C. glabrata*, e 5% V/V para *T. vaginalis*.

Dentro da precisão do laboratório

Avaliou-se dentro da precisão do laboratório em três sistemas Panther, num centro. Três operadores realizaram testes em 22 dias e com três lotes de reagentes. Cada operador realizou duas execuções por dia com um painel de sete membros. Cada execução consistiu em três réplicas de cada membro do painel.

Os membros do painel foram constituídos com *C. albicans*, *C. glabrata* ou *T. vaginalis* em SVSM. Os seis membros positivos do painel visaram o *C. albicans* a positivo baixo e moderado, *C. glabrata* a positivo baixo e moderado e *T. vaginalis* a positivo baixo e moderado. Um membro negativo do painel continha uma matriz sem analitos visados adicionados.

Os resultados positivos percentuais de CV/TV estão apresentados na Tabela 20. A variabilidade do sinal (TTime) do Aptima CV/TV assay também foi calculada para os membros do painel com analitos positivos. A variabilidade — calculada entre instrumentos, entre operadores, entre lotes, entre dias, entre execuções, em execuções e em geral — está apresentada na Tabela 21.

Tabela 20: Precisão — Concordância do Aptima CV/TV assay com resultados esperados

| Painel (composição do analito) | Positivo / N total | Positividade esperada | Positividade percentual (IC de 95%) |
|---|--------------------|-----------------------|-------------------------------------|
| Negativo (SVSM) | 0/162 | 0% | 0 (0,0–2,3) |
| Positivo baixo (<i>C. albicans</i>) | 162/162 | ≥ 95% | 100 (97,7–100,0) |
| Positivo baixo (<i>C. glabrata</i>) | 162/162 | ≥ 95% | 100 (97,7–100,0) |
| Positivo baixo (<i>T. vaginalis</i>) | 162/162 | ≥ 95% | 100 (97,7–100,0) |
| Positivo moderado (<i>C. albicans</i>) | 162/162 | ≥ 95% | 100 (97,7–100,0) |
| Positivo moderado (<i>C. glabrata</i>) | 162/162 | ≥ 95% | 100 (97,7–100,0) |
| Positivo moderado (<i>T. vaginalis</i>) | 162/162 | ≥ 95% | 100 (97,7–100,0) |

Tabela 21: Variabilidade do sinal do Aptima CV/TV assay por membro de painel

| Painel Descrição | N | Entre dias | | Entre instrumentos | | Entre operadores | | Entre lotes | | Entre execuções | | Em execuções | | Total | | |
|--|-----|----------------|------|--------------------|------|------------------|------|-------------|------|-----------------|------|--------------|------|--------|------|--------|
| | | TTime médio | DP | CV (%) | DP | CV (%) | DP | CV (%) | DP | CV (%) | DP | CV (%) | DP | CV (%) | DP | CV (%) |
| <i>C. albicans</i> Positivo baixo | 162 | 14,96 | 0,12 | 0,82 | 0,00 | 0,00 | 0,24 | 1,59 | 0,54 | 3,58 | 0,23 | 1,52 | 0,28 | 1,84 | 0,70 | 4,66 |
| <i>C. glabrata</i> Positivo baixo | 162 | 21,07 | 0,00 | 0,00 | 0,15 | 0,69 | 0,25 | 1,18 | 0,14 | 0,65 | 0,19 | 0,89 | 0,40 | 1,91 | 0,55 | 2,59 |
| <i>T. vaginalis</i> Positivo baixo | 162 | 24,09 | 0,00 | 0,00 | 0,33 | 1,38 | 0,22 | 0,93 | 0,01 | 0,05 | 0,21 | 0,87 | 0,59 | 2,46 | 0,75 | 3,09 |
| <i>C. albicans</i> Positivo moderado | 162 | 14,62 | 0,11 | 0,72 | 0,00 | 0,00 | 0,22 | 1,47 | 0,43 | 2,95 | 0,26 | 1,77 | 0,24 | 1,62 | 0,60 | 4,14 |
| <i>C. glabrata</i> Positivo moderado | 162 | 20,63 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,26 | 1,27 | 0,31 | 1,50 | 0,26 | 1,25 | 0,52 | 2,51 | 0,71 | 3,42 |
| <i>T. vaginalis</i> Positivo moderado | 162 | 22,73 | 0,00 | 0,00 | 0,12 | 0,54 | 0,24 | 1,08 | 0,18 | 0,80 | 0,28 | 1,23 | 0,41 | 1,79 | 0,59 | 2,61 |

CV = coeficiente de variação

Nota: a variabilidade derivada de alguns fatores pode ser numericamente negativa. Tal ocorreu quando a variabilidade devido a esses fatores foi muito pequena. Nesses casos, o DP e o CV são apresentados como 0,00.

Co-infecção

Um estudo de co-infecção avaliou a capacidade do Aptima CV/TV assay para detetar espécies de *Candida*, *C. glabrata* e *T. vaginalis* quando mais de um organismo está presente na mesma amostra. A baixa concentração de um lisado visado e a alta concentração de outro lisado visado em SVSM foram testadas em combinação. A composição do painel e as concentrações estão listadas na Tabela 22. Todos os testes resultaram em 100% de deteção para ambos os alvos presentes, exceto para a combinação de uma baixa concentração de *C. glabrata* (3X LoD) e uma alta concentração de *T. vaginalis* (1×10^4 células/ml ou 1×10^5 células/ml). Foram feitos testes adicionais e estes resultaram em 100% de deteção para a combinação de uma baixa concentração de *C. glabrata* (3X LoD) e uma alta concentração de *T. vaginalis* (1×10^3 células/ml).

Tabela 22: Painel de Co-infecção

| Membro do painel | Concentração de <i>C. albicans</i> | Concentração de <i>C. glabrata</i> | Concentração de <i>T. vaginalis</i> |
|--|------------------------------------|------------------------------------|-------------------------------------|
| Baixo para <i>C. albicans</i> ; alto para <i>C. glabrata</i> | 13317 CFU/ml ¹ | 1×10^6 CFU/ml | N/D |
| Baixo para <i>C. albicans</i> ; alto para <i>T. vaginalis</i> | 13317 CFU/ml ¹ | N/D | 1×10^5 células/ml |
| Baixo para <i>C. glabrata</i> ; alto para <i>T. vaginalis</i> | N/D | 123 CFU/ml ² | 1×10^3 células/ml |
| Alto para <i>C. albicans</i> ; baixo para <i>C. glabrata</i> | 1×10^6 CFU/ml | 123 CFU/ml ² | N/D |
| Alto para <i>C. albicans</i> ; baixo para <i>T. vaginalis</i> | 1×10^6 CFU/ml | N/D | 0,0072 Células/ml ³ |
| Alto para <i>C. glabrata</i> ; baixo para <i>T. vaginalis</i> | N/D | 1×10^6 CFU/ml | 0,0072 Células/ml ³ |

CFU = unidades de formação de colónias

¹ 3X LoD *C. albicans*.

² 3X LoD *C. glabrata*.

³ 3X LoD *T. vaginalis*.

Bibliografia

1. Hainer BL, Gibson MV. Vaginitis: Diagnosis and Treatment. Am Fam Physician. 2011 Apr 1;83(7):807-15.
2. Granato PA. Vaginitis: Clinical and Laboratory Aspects for Diagnosis. Clinical Microbiology Newsletter. Volume 32, Issue 15, 1 August 2010, Pages 111–116.
3. Achkar JM, Fries BC. Candida infections of the genitourinary tract. Clin Microbiol Rev. 2010 Apr;23(2):253-73.
4. MMWR, Vol. 64, Nr. 3. Sexually transmitted diseases treatment guidelines, June 5, 2015.
5. Fidel PL Jr, Vazquez JA, Sobel JD. Candida glabrata: review of epidemiology, pathogenesis, and clinical disease with comparison to C. albicans. Clin Microbiol Rev. 1999 Jan;12(1):80-96.
6. Mavedzenge SN, Pol BV, Cheng H, Montgomery ET, Blanchard K, de Bruyn G, Ramjee G, Straten Av. Epidemiological synergy of Trichomonas vaginalis and HIV in Zimbabwean and South African women. Sex Transm Dis. Jul de 2010;37(7):460-6.
7. Petrin D, Delgaty K, Bhatt R, Garber G. Clinical and Microbiological Aspects of Trichomonas vaginalis. Clin Microbiol Rev. 1998;11(2):300–317.
8. Clinical and Laboratory Standards Institute. Collection, Transport, Preparation, and Storage of Specimens for Molecular Methods; Approved Guideline. CLSI Document MM13. Wayne, PA; current version.
9. Centers for Disease Control and Prevention/National Institutes of Health. Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories (BMBL); current version.
10. Clinical and Laboratory Standards Institute. Clinical Laboratory Waste Management. CLSI Document GP5. Villanova, PA; current version.
11. Shew M, et al. Association of condom use, sexual behaviors and sexually transmitted infections with the duration of genital human papillomavirus infection among adolescent women. Arch Pediatr Adolesc Med.2006;160(2):151-156.
12. Allsworth J, et al. Trichomoniasis and other sexually transmitted infections: results from the 2001-2004 National Health and Nutrition Examination Surveys. Sex Transm Dis. 2009;36(12):738-744.



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



Hologic BV
Da Vincilaan 5
1930 Zaventem
Belgium

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

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

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

Hologic, Aptima, TMA, Panther e os logótipos associados são marcas comerciais ou marcas comerciais registadas da Hologic, Inc. e/ou das suas subsidiárias nos Estados Unidos e/ou em outros países.

As restantes marcas comerciais, marcas comerciais registadas e designações comerciais que podem aparecer neste folheto informativo pertencem aos respetivos proprietários.

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

© 2020 Hologic, Inc. Todos os direitos reservados.

AW-18812-601 Rev. 004
2020-09