

# Aptima™ HPV 16 18/45 Genotype Assay (Panther™ System)

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

<b>Informações gerais</b> .....	<b>2</b>
Utilização prevista .....	2
Resumo e explicação do teste .....	2
Princípios do procedimento .....	3
Resumo de segurança e desempenho .....	3
Advertências e precauções .....	4
Requisitos de conservação e manuseamento de reagentes .....	6
Colheita e conservação de espécimes .....	7
<b>Panther System</b> .....	<b>9</b>
Reagentes e materiais fornecidos .....	9
Materiais necessários, mas disponíveis separadamente .....	11
Procedimento de teste do Panther System .....	12
Notas sobre o procedimento .....	14
<b>Procedimentos de controlo de qualidade</b> .....	<b>15</b>
<b>Interpretação dos testes</b> .....	<b>17</b>
<b>Limitações</b> .....	<b>18</b>
<b>Resultados esperados do Panther System: prevalência de mRNA do HPV de alto risco</b> ..	<b>19</b>
<b>Desempenho do ensaio no Panther System</b> .....	<b>20</b>
<b>Bibliografia</b> .....	<b>50</b>
<b>Informações de contacto e histórico de revisões</b> .....	<b>51</b>

## Informações gerais

### Utilização prevista

O Aptima™ HPV 16 18/45 Genotype Assay é um teste de amplificação de ácido nucleico *in vitro* para a detecção qualitativa do RNA mensageiro (mRNA) viral E6/E7 de papilomavírus humano (HPV) 16, 18 e 45 em espécimes cervicais provenientes de mulheres com resultados do Aptima HPV Assay positivos. O Aptima HPV 16 18/45 genotype assay consegue distinguir HPV 16 de HPV 18 e/ou HPV 45, mas não faz a distinção entre HPV 18 e HPV 45.

O Aptima HPV 16 18/45 genotype assay pode ser utilizado para testar os seguintes tipos de espécimes no Panther System: espécimes cervicais colhidos em frascos ThinPrep™ Pap Test com solução PreservCyt™ antes ou depois do processamento da citologia, espécimes cervicais colhidos com o Aptima Cervical Specimen Collection and Transport Kit ou espécimes cervicais colhidos em Fluido Conservante SurePath.

O Aptima HPV 16 18/45 genotype assay é indicado para utilização no rastreio de rotina do cancro do colo do útero. As mulheres com resultados positivos ou negativos nos tipos de HPV 16, 18 ou 45 devem ser triadas/seguidas de acordo com as diretrizes médicas profissionais, a avaliação do rastreio pelo profissional de saúde e outros fatores de risco para avaliar o risco de displasia cervical e cancro.

### Resumo e explicação do teste

O cancro do colo do útero é um dos tipos de cancro feminino mais comuns em todo o mundo. O HPV é o agente etiológico responsável por mais de 99% de todos os cancros do colo do útero.<sup>1,2,3</sup> O HPV é um vírus de DNA comum transmitido por via sexual constituído por mais de 100 genótipos.<sup>1</sup>

O genoma viral do HPV é um DNA circular de cadeia dupla com um comprimento aproximado de 7900 pares de bases. O genoma tem oito grelhas de leitura aberta sobrepostas. Há seis genes precoces (early, E), dois genes tardios (late, L) e uma região de controlo longa não traduzida. Os genes L1 e L2 codificam as proteínas das cápsides major e minor. Os genes precoces regulam a replicação viral do HPV. Os genes E6 e E7 dos genótipos de HPV de alto risco são conhecidos como oncogenes. As proteínas expressas a partir do mRNA policistrónico E6/E7 alteram as funções das proteínas celulares p53 e retinoblastoma, dando origem à falha dos pontos de verificação do ciclo celular e à instabilidade do genoma da célula.<sup>1,4</sup>

Catorze genótipos de HPV são considerados patogénicos ou de alto risco para a progressão de doença do colo do útero.<sup>5</sup> Diversos estudos têm associado os genótipos 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66 e 68 à progressão da doença.<sup>2,6,7</sup> As mulheres doentes que apresentam uma infeção persistente por um destes tipos têm um maior risco de desenvolver displasia grave ou carcinoma do colo do útero.<sup>5,8</sup>

Estudos demonstraram que os diferentes tipos de HPV de alto risco apresentam diferentes níveis de risco de desenvolvimento de displasia grave ou carcinoma do colo do útero. Em todo o mundo, os tipos de HPV 16, 18 e 45 estão associados a aproximadamente 80% de todos os cancros do colo do útero invasivos.<sup>7,10</sup> Estes três tipos são encontrados em 75% de todos os carcinomas escamosos, sendo que o tipo 16 constitui a maioria (85%) destas infeções. Nos adenocarcinomas, os tipos de HPV 16, 18 e 45 são encontrados em 80-94% dos casos, com os tipos 18 e 45 a constituir quase metade de todas estas infeções.<sup>7,10</sup> A presença do HPV de tipo 18 numa fase inicial do cancro do colo do útero foi reportada como estando associada a um mau prognóstico.<sup>11</sup> Os tipos 18 e 45 do HPV são sub-reportados em lesões pré-oncológicas, que podem ser causadas pela presença de lesões ocultas no canal cervical inacessíveis no exame de colposcopia.<sup>12</sup> Em mulheres infetadas por HPV de tipo 16 e/ou 18, o risco cumulativo de desenvolvimento de doença do colo do útero é 10 vezes superior comparativamente ao risco de desenvolvimento de doença devido a outros tipos de alto risco.<sup>13,14,15</sup>

## Princípios do procedimento

O Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay envolve três passos principais, os quais ocorrem num único tubo: captura do alvo, amplificação do alvo por amplificação mediada por transcrição (Transcription-Mediated Amplification, TMA)<sup>16</sup> e detecção dos produtos da amplificação pelo ensaio de proteção da hibridação (Hybridization Protection Assay, HPA).<sup>17</sup> O ensaio incorpora um controlo interno (Internal Control, IC) para monitorizar a captura, amplificação e detecção do ácido nucleico, bem como erros do operador ou do instrumento.

Os espécimes são colhidos ou transferidos para um tubo que contém um meio de transporte de espécimes (Specimen Transport Media, STM) que submete as células ao processo de lise, liberta o mRNA e o protege da degradação durante o armazenamento. Quando se executa o Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay, o mRNA alvo é isolado do espécime através da utilização de oligómeros de captura que estão ligados a micropartículas magnéticas. Os oligómeros de captura contêm sequências complementares para regiões específicas das moléculas alvo do mRNA do HPV, bem como uma cadeia de resíduos de desoxiadenosina. Durante o passo de hibridação, as regiões específicas das sequências dos oligómeros de captura ligam-se a regiões específicas da molécula alvo do mRNA do HPV. O complexo do oligómero de captura/alvo é então capturado e retirado da solução reduzindo a temperatura da reação para a temperatura ambiente. Esta redução da temperatura permite que a hibridação ocorra entre a região da desoxiadenosina no oligómero de captura e as moléculas de polidesoxitimidina que estão ligadas de forma covalente às partículas magnéticas. As micropartículas, incluindo as moléculas alvo do mRNA do HPV capturadas a elas ligadas, são arrastadas para a parte lateral do tubo de reação através de ímanes e o sobrenadante é aspirado. As partículas são lavadas para remover a matriz de espécime residual que possa conter inibidores da amplificação.

Terminada a captura do alvo, o mRNA do HPV é amplificado por TMA, que é um método de amplificação do ácido nucleico baseado na transcrição e que utiliza duas enzimas: a transcriptase reversa MMLV e a T7 RNA polimerase. A transcriptase reversa é utilizada para gerar uma cópia de DNA da sequência do mRNA alvo que contenha uma sequência de promotor da T7 RNA polimerase. A T7 RNA polimerase produz várias cópias do RNA amplicon a partir do modelo da cópia do DNA.

A detecção do produto da amplificação é feita através do HPA utilizando sondas de ácido nucleico de cadeia simples marcadas por quimioluminescência que são complementares do produto da amplificação. As sondas de ácido nucleico marcadas hibridam-se especificamente com o produto da amplificação. O reagente de seleção faz uma distinção entre sondas hibridadas e não hibridadas através da desativação da marcação nas sondas não hibridadas. Durante o passo de detecção, a luz emitida a partir dos híbridos RNA-DNA marcados é medida como sinais de fótons denominados unidades de luz relativa (Relative Light Units, RLU) num luminómetro. Os resultados finais do ensaio são interpretados com base no sinal para "cutoff" (Signal to Cutoff, S/CO) do analisado.

O IC é adicionado a cada reação através do reagente de captura do alvo. O IC monitoriza os passos de captura do alvo, amplificação e detecção do ensaio. O ensaio cinético Dual (Dual Kinetic Assay, DKA) é o método utilizado para distinguir os sinais do HPV e o sinal do IC.<sup>18</sup> Os produtos da amplificação do IC e do HPV 16 são detetados por sondas com cinética de emissão de luz rápida (sinal intermitente). O sinal do IC em cada reação é distinguido do sinal do HPV 16 através da magnitude da emissão de luz. Os produtos da amplificação específicos do HPV 18 e 45 são detetados utilizando sondas com cinética de emissão de luz relativamente mais lenta (sinal contínuo).

## Resumo de segurança e desempenho

O Resumo de segurança e desempenho (SSP, Summary of Safety and Performance) está disponível na base de dados europeia de dispositivos médicos (Eudamed), onde está associado aos identificadores do dispositivo (UDI-DI básico). Para localizar o SSP do Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay, consulte o identificador único do dispositivo básico (Basic Unique Device Identifier, BUDI):

**54200455DIAGAPTHPVGTVK.**

## Advertências e precauções

- A. Para efeitos de diagnóstico *in vitro*.
- B. Para uso profissional.
- C. Para obter mais advertências e precauções específicas relacionadas com a instrumentação, consulte o *Manual de instruções do Panther/Panther Fusion System*.

### Relacionadas com o laboratório

- D. Use somente os artigos de laboratório descartáveis que sejam fornecidos ou especificados.
- E. Tome todas as precauções laboratoriais de rotina. Não coma, beba ou fume nas áreas de trabalho designadas. Use luvas sem pó descartáveis, proteção ocular e batas de laboratório quando manusear espécimes e reagentes de um kit. Lave bem as mãos depois de manusear os espécimes e os reagentes do kit.
- F. **Advertência: Irritante e Corrosivo:** Evite o contacto do Auto Detect 2 com a pele, olhos e membranas mucosas. Se este fluido entrar em contacto com a pele ou os olhos, lave bem com água a zona afetada. Se este fluido derramar, dilua o derrame com água antes de o limpar e secar.
- 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). Consulte *Procedimento de teste do Panther System* para obter mais informações.


### Relacionadas com os espécimes

- H. Mantenha as condições de temperatura adequadas durante o transporte e armazenamento dos espécimes, de modo a garantir a integridade dos espécimes. A estabilidade do espécime não foi avaliada em condições de transporte e armazenamento diferentes das recomendadas.
- I. Os prazos de validade indicados nos kits e tubos de colheita/transferência de espécimes referem-se ao local da transferência e não às instalações de testes. Os espécimes colhidos/transferidos em qualquer data anterior a estes prazos de validade são válidos para efeitos de teste, desde que tenham sido transportados e conservados de acordo com o folheto informativo apropriado, mesmo que estes prazos de validade tenham sido ultrapassados.
- J. Os espécimes podem ser infecciosos. Respeite as precauções universais quando realizar este ensaio. A administração do laboratório deve estabelecer métodos adequados de manuseamento e eliminação. Este procedimento só pode ser feito por pessoal com a formação adequada no manuseamento de materiais infecciosos.
- K. Evite a contaminação cruzada durante os passos de manuseamento de espécimes. Certifique-se de que os recipientes de espécimes não entram em contacto uns com os outros e deite fora os materiais usados sem passá-los por cima de recipientes abertos. Mude de luvas se estas entrarem em contacto com o espécime.
- L. Sob determinadas condições, após a perfuração pode ocorrer uma descarga de líquido proveniente das tampas dos tubos. Consulte *Procedimento de teste do Panther System* para obter mais informações.
- M. Os espécimes citológicos de base líquida ThinPrep e os espécimes provenientes da colheita e transporte de espécimes cervicais (Cervical Specimen Collection and Transport, CSCT) Aptima devem ser rejeitados se tiver sido deixado um dispositivo de colheita no tubo de amostra.
- N. Os espécimes citológicos de base líquida SurePath devem ser rejeitados se não estiver presente um dispositivo de colheita no frasco.

## Relacionadas com o ensaio

- O. Guarde os reagentes nas temperaturas especificadas. O desempenho do ensaio pode ser afetado pela utilização de reagentes conservados de forma incorreta.
- P. Evite a contaminação microbiana e por ribonuclease dos reagentes.
- Q. Não utilize o kit após o fim do respetivo prazo de validade.
- R. Não troque, misture nem combine reagentes do ensaio ou calibradores de kits com números de lote diferentes.
- S. Os fluidos do Aptima Assay e os reagentes Auto Detect não fazem parte do lote mestre; pode ser utilizado qualquer lote.
- T. É necessário misturar bem os reagentes do ensaio para obter resultados exatos.
- U. Utilize pontas com encaixes hidrofóbicos.
- V. Alguns reagentes deste kit estão marcados com símbolos de risco e segurança.

**Nota:** A comunicação dos perigos reflete as classificações das Fichas de Dados de Segurança (Safety Data Sheets, FDS) da União Europeia (UE). Consulte a FDS específica da sua região, disponível na Biblioteca de fichas de dados de segurança (Safety Data Sheet Library) em [www.hologiccsds.com](http://www.hologiccsds.com), para obter informações sobre a comunicação dos perigos específica para a sua região. Para obter mais informações sobre os símbolos, consulte a legenda dos símbolos em [www.hologic.com/package-inserts](http://www.hologic.com/package-inserts).

Informações sobre riscos para a UE	
	<p><b>Selection Reagent</b>  <b>ÁCIDO BÓRICO 1 – 5%</b></p> <p><b>ATENÇÃO</b>  H315 – Provoca irritação cutânea</p>
—	<p><b>Target Capture Reagent</b>  <b>HEPES 5 – 10%</b>  <b>EDTA 1% – 5%</b>  <b>LITHIUM HYDROXIDE, MONOHYDRATE 1 – 5%</b></p> <p>—</p> <p>H412 – Nocivo para os organismos aquáticos com efeitos duradouros  P273 – Evitar a libertação para o ambiente  P280 – Usar proteção ocular/proteção facial</p>
—	<p><b>Amplification Reagent</b>  <b>HEPES 25 – 30%</b></p> <p>—</p> <p>H412 – Nocivo para os organismos aquáticos com efeitos duradouros  P273 – Evitar a libertação para o ambiente  P280 – Usar proteção ocular/proteção facial</p>
—	<p><b>Enzyme Reagent</b>  <b>HEPES 1 – 5%</b></p> <p>—</p> <p>H412 – Nocivo para os organismos aquáticos com efeitos duradouros  P273 – Evitar a libertação para o ambiente  P280 – Usar proteção ocular/proteção facial</p>

**Probe Reagent**

LAURYL SULFATE LITHIUM SALT 35 – 40%

SUCCINIC ACID 10 – 15%

LITHIUM HYDROXIDE, MONOHYDRATE 10 – 15%

H412 – Nocivo para os organismos aquáticos com efeitos duradouros

P273 – Evitar a libertação para o ambiente

P280 – Usar proteção ocular/proteção facial

**Requisitos de conservação e manuseamento de reagentes**

Não utilize reagentes após o prazo de validade indicado nos frascos. Consulte outras instruções de conservação abaixo.

- A. Os seguintes reagentes são conservados a uma temperatura entre 2 °C e 8 °C (refrigerados) após a receção:

HPV 16 18/45 Amplification Reagent

HPV 16 18/45 Enzyme Reagent

HPV 16 18/45 Probe Reagent

HPV 16 18/45 Internal Control Reagent

Calibradores positivos do HPV 16 18/45 e calibradores negativos do HPV 16 18/45

- B. Os seguintes reagentes são conservados a uma temperatura entre 15 °C e 30 °C (temperatura ambiente):

HPV 16 18/45 Amplification Reconstitution Solution

HPV 16 18/45 Enzyme Reconstitution Solution

HPV 16 18/45 Probe Reconstitution Solution

HPV 16 18/45 Target Capture Reagent

HPV 16 18/45 Selection Reagent

- C. Após a reconstituição, os seguintes reagentes permanecem estáveis durante 30 dias desde que conservados a uma temperatura entre 2 °C e 8 °C:

HPV 16 18/45 Amplification Reagent

HPV 16 18/45 Enzyme Reagent

HPV 16 18/45 Probe Reagent

- D. O reagente de captura do alvo de trabalho (working Target Capture Reagent, wTCR) permanece estável durante 30 dias quando armazenado a uma temperatura entre 15 °C e 30 °C. Não refrigere.

- E. Deite fora quaisquer reagentes reconstituídos e o wTCR não usados após 30 dias ou após o prazo de validade do lote mestre, conforme o que ocorrer primeiro.

- F. Os reagentes do Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay permanecem estáveis durante um período cumulativo de 72 horas quando conservados a bordo do Panther System.

- G. O reagente de sonda e o reagente de sonda reconstituído são fotossensíveis. Mantenha os reagentes protegidos da luz.

- H. **Não congele os reagentes.**

## Colheita e conservação de espécimes

### A. Colheita e processamento de espécimes

#### *Espécimes citológicos de base líquida ThinPrep*

1. Efetue a colheita de espécimes cervicais em frascos ThinPrep Pap Test com solução PreservCyt com dispositivos de colheita tipo vassoura ou escova/espátula de acordo com as instruções do fabricante.
2. Antes ou depois do processamento com o ThinPrep 5000 Processor, o ThinPrep 5000 Processor com Autoloader ou o ThinPrep Genesis Processor, transfira 1 ml de espécime citológico de base líquida ThinPrep para um tubo de transferência de espécimes Aptima, de acordo com o folheto informativo do Aptima Specimen Transfer Kit.

#### *Espécimes citológicos de base líquida SurePath*

1. Proceda à colheita de um espécime citológico de base líquida SurePath de acordo com as instruções de utilização do SurePath Pap Test e/ou do PrepStain System.
2. Transfira o espécime citológico de base líquida SurePath para um tubo de transferência de espécimes Aptima, de acordo com as instruções no folheto informativo do Aptima Specimen Transfer Kit.

#### *Espécimes do Aptima Cervical Specimen Collection and Transport Kit*

Proceda à colheita do espécime de acordo com as instruções de utilização do CSCT Kit.

### B. Transporte e conservação antes do teste

#### *Espécimes citológicos de base líquida ThinPrep*

1. Transporte os espécimes citológicos de base líquida ThinPrep a uma temperatura entre 2 °C e 30 °C.
2. Os espécimes devem ser transferidos para um tubo de transferência de espécimes Aptima num prazo de 105 dias após a colheita.
3. Antes da transferência, os espécimes citológicos de base líquida ThinPrep devem ser conservados a uma temperatura entre 2 °C e 30 °C, e não mais de 30 dias a temperaturas acima de 8 °C.
4. Os espécimes citológicos de base líquida ThinPrep transferidos para um tubo de transferência de espécimes Aptima podem ser conservados a uma temperatura entre 2 °C e 30 °C durante um máximo de 60 dias.
5. Se for necessário um período de conservação mais longo, o espécime citológico de base líquida ThinPrep ou o espécime citológico de base líquida ThinPrep diluído no tubo de transferência de espécimes pode ser conservado a uma temperatura entre -20 °C e -70 °C durante um máximo de 24 meses.

#### *Espécimes citológicos de base líquida SurePath*

1. Transporte os espécimes citológicos de base líquida SurePath a uma temperatura entre 2 °C e 25 °C.
2. Os espécimes devem ser transferidos para um tubo de transferência de espécimes Aptima num prazo de 7 dias após a colheita.
3. Antes da transferência, os espécimes citológicos de base líquida SurePath devem ser conservados a uma temperatura entre 2 °C e 25 °C.
4. Os espécimes citológicos de base líquida SurePath transferidos para um tubo de transferência de espécimes Aptima podem ser conservados a uma temperatura entre 2 °C e 25 °C durante um máximo de 7 dias.
5. Os espécimes SurePath transferidos têm de ser tratados com a Aptima Transfer Solution antes de serem realizados testes com o Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay. As amostras tratadas

podem ser conservadas entre 2 °C e 8 °C até 17 dias antes da realização de testes com o Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay. Consulte mais detalhes no folheto informativo do Kit de Transferência de Espécimes.

*Espécimes do Aptima Cervical Specimen Collection and Transport Kit*

1. Transporte e conserve os espécimes a uma temperatura entre 2 °C e 30 °C durante um máximo de 60 dias.
2. Se for necessário um período de conservação mais longo, os espécimes do kit de transporte podem ser conservados a uma temperatura entre -20 °C a -70 °C até 24 meses.

C. Conservação de espécimes após o teste

1. Os espécimes testados devem ser acondicionados num suporte em posição vertical.
2. Os tubos de espécimes devem ser tapados com uma barreira de plástico ou de folha de alumínio nova e limpa.
3. Se os espécimes analisados tiverem de ser congelados ou transportados, remova a tampa perfurável e coloque novas tampas não perfuráveis nos tubos de espécimes. Se os espécimes tiverem de ser transportados para a realização de testes noutras instalações, as temperaturas especificadas deverão ser mantidas. Antes de destapar espécimes que já tenham sido testados e novamente tapados, os tubos de espécimes têm de ser centrifugados durante 5 minutos a uma Força Centrífuga Relativa (Relative Centrifugal Force, RCF) de 420 para levar todo o líquido para o fundo do tubo.

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



## Panther System

## Reagentes e materiais fornecidos

**Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay**, 100 testes, (3 embalagens) Código do produto 303236

Os calibradores podem ser adquiridos em separado. Veja abaixo o código do produto da embalagem individual.

**Embalagem Refrigerada do Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay**  
(conservar a uma temperatura entre 2 °C e 8 °C após a receção)

Símbolo	Componente	Quantidade
<b>A</b>	<b>HPV 16 18/45 Amplification Reagent</b> <i>Ácidos nucleicos não infecciosos liofilizados em solução tamponada com &lt; 5% de agente de volume.</i>	1 frasco
<b>E</b>	<b>HPV 16 18/45 Enzyme Reagent</b> <i>Transcriptase reversa e RNA polimerase liofilizadas em solução tamponada com HEPES contendo &lt; 10% de reagente de volume.</i>	1 frasco
<b>P</b>	<b>HPV 16 18/45 Probe Reagent</b> <i>Sondas de DNA quimioluminescentes não infecciosas (&lt; 500 ng/frasco) desidratadas em solução tamponada com succinato contendo &lt; 5% de detergente.</i>	1 frasco
<b>IC</b>	<b>HPV 16 18/45 Internal Control Reagent</b> <i>Transcrito de RNA não infeccioso em solução tamponada com &lt; 5% de detergente.</i>	1 frasco

**Embalagem à temperatura ambiente do Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay**  
(conservar a uma temperatura entre 15 °C a 30 °C após a receção)

Símbolo	Componente	Quantidade
<b>AR</b>	<b>HPV 16 18/45 Amplification Reconstitution Solution</b> <i>Solução aquosa com conservantes.</i>	1 frasco
<b>ER</b>	<b>HPV 16 18/45 Enzyme Reconstitution Solution</b> <i>Solução tamponada com HEPES com um agente tensioativo e glicerol.</i>	1 frasco
<b>PR</b>	<b>HPV 16 18/45 Probe Reconstitution Solution</b> <i>Solução tamponada com succinato contendo &lt; 5% de detergente.</i>	1 frasco
<b>S</b>	<b>HPV 16 18/45 Selection Reagent</b> <i>Solução tamponada com borato a 600 mM e com surfactante.</i>	1 frasco
<b>TCR</b>	<b>HPV 16 18/45 Target Capture Reagent</b> <i>Solução tamponada com fase sólida e oligómeros de captura (&lt; 0,5 mg/ml).</i>	1 frasco
	<b>Aros de reconstituição</b>	3
	<b>Ficha de Códigos de Barras do Lote Mestre</b>	1 folha

**Embalagem de Calibradores do Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay (Código do produto 303235)**  
(conservar a uma temperatura entre 2 °C e 8 °C após a receção)

<b>Símbolo</b>	<b>Componente</b>	<b>Quantidade</b>
<b>PCAL1</b>	<b>Calibrador positivo 1 do HPV 16 18/45</b> <i>Transcrito in vitro não infeccioso do HPV 18 a 750 cópias por ml numa solução tamponada contendo &lt; 5% de detergente.</i>	5 frascos
<b>PCAL2</b>	<b>Calibrador positivo 2 do HPV 16 18/45</b> <i>Transcrito in vitro não infeccioso do HPV 16 a 1000 cópias por ml numa solução tamponada contendo &lt; 5% de detergente.</i>	5 frascos
<b>NCAL</b>	<b>Calibrador negativo do HPV 16 18/45</b> <i>Solução tamponada com &lt; 5% detergente.</i>	5 frascos

**Materiais necessários, mas disponíveis separadamente**

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

	<b>Código do produto</b>
Panther System	303095
Panther Run Kit	303096
<i>Kit de fluidos Aptima Assay</i> (Solução de lavagem Aptima, tampão para o fluido de desativação Aptima e reagente de óleo Aptima)	303014
<i>Aptima Auto Detect Kit</i>	303013
<i>Unidades multitubos (MTUs)</i>	104772-02
<i>Kit de sacos de resíduos Panther</i>	902731
<i>Tampa do recipiente de resíduos Panther</i>	504405
Pontas, 1000 µL, com filtro, condutoras, detecção de líquido e descartáveis. Nem todos os produtos estão disponíveis em todas as regiões. Contacte o seu representante para obter informações específicas da região	901121 (10612513 Tecan) 903031 (10612513 Tecan) MME-04134 (30180117 Tecan) MME-04128
Kit de transferência de espécimes Aptima	301154C
Aptima Specimen Transfer Kit — imprimível	PRD-05110
Aptima Cervical Specimen Collection and Transport Kit	302657
Tampas perfuráveis Aptima	105668
Tampas não perfuráveis de substituição	103036A
Tampas sobresselentes para kits de 100 testes:	
<i>Soluções de reconstituição do reagente de amplificação e do reagente de sonda</i>	CL0041
<i>Solução de reconstituição do reagente enzimático</i>	CL0041
<i>TCR e reagente de seleção</i>	501604
Lixívia, solução de hipoclorito de sódio de 5% a 8,25% (0,7 M a 1,16 M)	—
Luvas descartáveis e isentas de pó	—
Coberturas de bancada laboratorial com forro de plástico	—
Toalhetes que não libertem pelos	—
Pipetador	—
Aptima Transfer Solution Kit (apenas para espécimes SurePath)	303658
<b>Materiais opcionais</b>	<b><u>Código do produto</u></b>
Intensificador de lixívia para limpeza	302101

## Procedimento de teste do Panther System

**Nota:** Consulte o Manual de instruções do Panther/Panther System para mais informações sobre o procedimento do Panther System.

### A. Preparação da área de trabalho

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

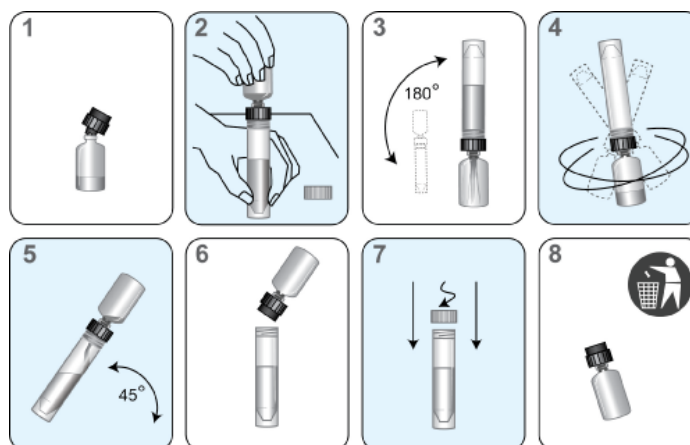
### B. Preparação dos reagentes de um novo kit

**Nota:** A reconstituição dos reagentes deve ser realizada antes de iniciar qualquer trabalho no Panther System.

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

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

**Nota:** Misture bem os reagentes de amplificação, enzimático, de sonda e de seleção invertendo suavemente antes de carregar no sistema. Evite formar espuma durante a inversão dos reagentes.



**Figura 1. Processo de reconstituição no Panther System**

2. Prepare o reagente de captura do alvo de trabalho (wTCR):
  - a. Emparelhe os frascos adequados de TCR e de IC.
  - b. Verifique os números de lote do reagente na Ficha de Códigos de Barras do Lote Mestre para garantir que emparelhou os reagentes adequados do kit.
  - c. Abra o frasco de TCR e coloque a tampa numa superfície de trabalho limpa e coberta.
  - d. Abra o frasco de CI e deite o conteúdo completo no frasco de TCR. Uma pequena quantidade de líquido poderá permanecer no frasco de IC.
  - e. Feche o frasco de TCR e agite suavemente a solução para misturar o conteúdo. Evite formar espuma durante este passo.
  - f. Registe as iniciais do operador e a data atual na etiqueta.
  - g. Deite fora o frasco de IC e a tampa.
  - h. Poderá ocorrer formação de precipitado no wTCR, o que pode dar origem a resultados inválidos devido a erros de verificação de volume. O precipitado pode ser dissolvido aquecendo o wTCR a uma temperatura entre 42 °C e 60 °C durante um máximo de 90 minutos. Permita que o wTCR equilibre até à temperatura ambiente antes da sua utilização. Não utilize se o precipitado persistir.
3. Prepare o reagente de seleção
  - a. Verifique o número do lote de reagente na folha de códigos de barras do lote mestre para garantir que pertence ao kit.
  - b. Se o reagente de seleção contiver precipitado, aqueça o reagente de seleção a 60 °C ± 1 °C durante um máximo de 45 minutos para facilitar a dissolução do precipitado. Misture o frasco suavemente a cada 5 a 10 minutos. Permita que o reagente de seleção equilibre até à temperatura ambiente antes da sua utilização. Não utilize se o precipitado ou o tom turvo persistir.

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

- C. Preparação de reagentes para reagentes previamente reconstituídos
  1. Os reagentes de sonda, amplificação e enzimático previamente reconstituídos têm de alcançar a temperatura ambiente (15 °C a 30 °C) antes do início do ensaio.
  2. Se o reagente de sonda reconstituído contiver precipitado que não se dissolva novamente à temperatura ambiente, aqueça-o a uma temperatura máxima de 60 °C durante 1 a 2 minutos. não utilize o reagente se tiver precipitado ou apresentar um tom turvo.
  3. Se o wTCR contiver um precipitado, aqueça o mesmo à temperatura de 42 °C a 60 °C durante e até 90 minutos. Permita que o wTCR equilibre até à temperatura ambiente antes da sua utilização. Não utilize se o precipitado persistir.

4. Se o reagente de seleção contiver precipitado, aqueça o reagente de seleção a  $60\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$  durante um máximo de 45 minutos para facilitar a dissolução do precipitado. Misture o frasco suavemente a cada 5 a 10 minutos. Permita que o reagente de seleção equilibre até à temperatura ambiente antes da sua utilização. Não utilize se o precipitado ou o tom turvo persistir.
5. Misture bem cada reagente invertendo-o suavemente antes de ser colocado no sistema. Evite formar espuma durante a inversão dos reagentes.
6. Não ateste frascos de reagente. O Panther System reconhece e rejeita os frascos que tenham sido atestados.

#### D. Manuseamento das amostras

1. Permita que as amostras (calibradores, espécimes e quaisquer amostras de controlo de qualidade externo fornecidas pelo utilizador) atinjam a temperatura ambiente antes de serem processadas.
2. **Não coloque as amostras no vórtex.**
3. Inspeccione os tubos de amostras antes de colocá-los no suporte. Se um tubo de amostra contiver bolhas ou um volume inferior ao observado normalmente, centrifugue o tubo durante 5 minutos a uma RCF de 420 para garantir que não há líquido na tampa.

**Nota:** O não cumprimento do passo 3 poderá resultar numa descarga de líquido proveniente da tampa do tubo de amostra.

#### E. Preparação do sistema

Configure o instrumento e a lista de trabalho de acordo com as instruções do *Manual de instruções do Panther/Panther Fusion System* e da secção *Notas sobre o procedimento* abaixo. Certifique-se de que são utilizados suportes de reagente e adaptadores de TCR de dimensão adequada.

## Notas sobre o procedimento

#### A. Calibradores

1. Para trabalhar adequadamente com o software do Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay no Panther System, são necessárias duas réplicas do Calibrador Negativo e de cada Calibrador Positivo. Pode ser colocado um frasco de cada calibrador em qualquer posição do suporte num corredor da zona de amostras no Panther System. A pipetagem de espécimes começa quando se verificar uma das duas condições seguintes:
  - a. Os calibradores positivo e negativo estão atualmente a ser processados pelo Panther System.
  - b. São registados resultados válidos para os calibradores no Panther System.
2. Assim que os tubos dos calibradores forem pipetados e estiverem a ser processados para um kit de reagente específico, os espécimes podem ser executados com o kit de reagente do ensaio associado até 24 horas, a menos que:
  - a. Os calibradores sejam inválidos.
  - b. O kit de reagente do ensaio associado seja removido do Panther System.
  - c. O kit de reagente do ensaio associado tenha ultrapassado os limites de estabilidade.
3. As tentativas de pipetar mais do que duas réplicas de um tubo do calibrador podem dar origem a erros de volume insuficiente.

#### B. Temperatura

A temperatura ambiente definida situa-se entre  $15\text{ }^{\circ}\text{C}$  e  $30\text{ }^{\circ}\text{C}$ .

#### 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.

## Procedimentos de controlo de qualidade

### A. Critérios de validade da execução

O software determina automaticamente a validade da execução. O software invalida uma execução se ocorrer uma das seguintes condições:

- Mais do que uma réplica de calibrador negativo inválido.
- Mais do que uma réplica de calibrador positivo 1 inválido.
- Mais do que uma réplica de calibrador positivo 2 inválido.
- Mais do que 1 de 6 réplicas de calibradores inválidos combinadas.

Uma execução pode ser invalidada por um operador se tiverem sido observadas dificuldades técnicas, do operador ou do instrumento, durante a execução do ensaio e se estas estiverem documentadas.

Uma execução inválida deve ser repetida. As execuções abortadas devem ser repetidas.

### B. Critérios de aceitação do calibrador

A tabela abaixo define os critérios de RLU para as réplicas dos Calibradores Negativo e Positivo.

	Panther System
<b>Calibrador negativo</b>	
RLU do 18/45	$\geq 0$ e $\leq 60.000$ RLU
RLU do IC/16	$\geq 75.000$ e $\leq 300.000$ RLU
<b>Calibrador positivo 1</b>	
RLU do 18/45	$\geq 800.000$ e $\leq 2.200.000$ RLU
RLU do IC/16	$\leq 475.000$ RLU
<b>Calibrador positivo 2</b>	
RLU do 18/45	$\leq 115.000$ RLU
RLU do IC/16	$\geq 625.000$ e $\leq 4.000.000$ RLU

### C. Cutoff de IC

O “cutoff” do IC é determinado a partir do sinal do analisado do IC/16 das réplicas válidas do calibrador negativo.

$$\text{“Cutoff” do IC} = 0,5 \times [\text{RLU média do IC/16 das réplicas válidas do calibrador negativo}]$$

### D. “Cutoff” do analisado 16

O “cutoff” do analisado para o HPV 16 é determinado a partir do sinal da RLU do IC/16 das réplicas válidas do calibrador negativo e das réplicas válidas do calibrador positivo 2.

$$\text{“Cutoff” do analisado 16} = 2 \times [\text{RLU média do IC/16 das réplicas válidas do calibrador negativo}] + 0,1 \times [\text{RLU média do IC/16 das réplicas válidas do calibrador positivo 2}]$$

### E. “Cutoff” do analisado 18/45

O “cutoff” do analisado para o HPV 18/45 é determinado a partir do sinal da RLU do 18/45 das réplicas válidas do calibrador negativo e das réplicas válidas do calibrador positivo 1.

$$\text{“Cutoff” do analisado 18/45} = 1 \times [\text{RLU média do 18/45 das réplicas válidas do calibrador negativo}] + 0,18 \times [\text{RLU média do 18/45 das réplicas válidas do calibrador positivo 1}]$$

## F. Sinal para “cutoff” (S/CO) do analisado 16

O S/CO do analisado do HPV 16 é determinado a partir do sinal da RLU do IC/16 da amostra de teste e do “cutoff” do analisado 16 para a execução.

$$S/CO \text{ do analisado 16} = \frac{RLU \text{ do IC/16 da amostra de teste}}{\text{“cutoff” do analisado 16}}$$

## G. Sinal para “cutoff” (S/CO) do analisado 18/45

O S/CO do analisado para o HPV 18/45 é determinado a partir do sinal da RLU do 18/45 da amostra de teste e do “cutoff” do analisado 18/45 para a execução.

$$S/CO \text{ do analisado 18/45} = \frac{RLU \text{ do 18/45 da amostra de teste}}{\text{“cutoff” do analisado 18/45}}$$



## Interpretação dos testes

Os resultados dos testes são determinados automaticamente pelo software de ensaio. Um resultado do teste pode ser negativo tanto para o HPV 16 como para o HPV 18/45, negativo para o HPV 16 e positivo para o HPV 18/45, positivo para o HPV 16 e negativo para o HPV 18/45, positivo tanto para o HPV 16 como para o HPV 18/45, ou inválido conforme determinado pelas relações de RLU do IC e do S/CO, conforme descrito na tabela abaixo. Um resultado de teste também pode ser inválido devido a outros parâmetros (por ex., forma anormal da curva) que estejam fora dos intervalos de valores normalmente esperados. Os resultados de testes inválidos devem ser repetidos.

Os espécimes do CSCT Kit podem ser diluídos para transpor potenciais substâncias inibitórias. Dilua 1 parte do espécime inválido em 8 partes de meio de transporte de espécimes (a solução nos tubos do CSCT Kit); p. ex., 560 µl do espécime para um novo tubo do CSCT Kit que contém 4,5 ml de meio de transporte de espécimes. Inverta suavemente o espécime diluído para o misturar; evite a criação de espuma. Teste o espécime diluído em conformidade com o procedimento de ensaio padrão.

**Nota:** Não dilua um espécime diluído inválido. Se um espécime diluído produzir um resultado inválido, deverá ser obtido um novo espécime do paciente.

Resultado do Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay	Critérios
Negativo – 16 Negativo – 18/45	RLU do IC/HPV 16 $\geq$ "cutoff" do IC e S/CO do HPV 16 $< 1,00$ e S/CO do HPV 18/45 $< 1,00$
Negativo – 16 Positivo – 18/45	S/CO do HPV 16 $< 1,00$ e S/CO do HPV 18/45 $\geq 1,00$ e RLU do HPV 18/45 $\leq 3.000.000$
Positivo – 16 Negativo – 18/45	S/CO do HPV 16 $\geq 1,00$ e RLU do IC/HPV 16 $\leq 4.000.000$ e S/CO do HPV 18/45 $< 1,00$
Positivo – 16 Positivo – 18/45	S/CO do HPV 16 $\geq 1,00$ e RLU do IC/HPV 16 $\leq 4.000.000$ e S/CO do HPV 18/45 $\geq 1,00$ e RLU do HPV 18/45 $\leq 3.000.000$
Inválido	S/CO do HPV 16 $< 1,00$ e S/CO do HPV 18/45 $< 1,00$ e RLU do IC/HPV 16 $< \text{"cutoff" do IC}$ ou RLU do IC/HPV 16 $> 4.000.000$ ou RLU do HPV 18/45 $> 3.000.000$

## Limitações

- A. Os tipos de espécimes que não estão identificados na utilização prevista não foram avaliados.
- B. O desempenho do Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay não foi avaliado para indivíduos vacinados contra o HPV.
- C. O Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay não foi avaliado em casos de suspeita de abuso sexual.
- D. A prevalência de infecção por HPV numa população pode afetar o desempenho. Os valores de prognóstico positivo diminuem quando se examinam populações com baixa prevalência ou indivíduos sem risco de infecção.
- E. Os espécimes citológicos de base líquida ThinPrep com menos de 1 ml após a preparação de lâminas para o ThinPrep Pap Test são considerados inadequados para o Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay.
- F. Os resultados dos testes podem ser afetados por uma colheita, conservação ou processamento de espécimes incorretos.
- G. O controlo interno monitoriza os passos de captura do alvo, amplificação e deteção do ensaio. Não se destina a controlar a adequação da amostra cervical.
- H. Um resultado negativo do Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay não exclui a possibilidade de anomalias citológicas ou CIN2, CIN3 ou cancro subjacente ou no futuro.
- I. O Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay fornece resultados qualitativos. Por isso, não se pode fazer uma correlação entre a magnitude de um sinal de ensaio positivo e o nível de expressão do mRNA num espécime.
- J. A deteção de mRNA de HPV de alto risco (tipos 16, 18 e 45) está dependente do número de cópias presentes no espécime e pode ser afetada pelos métodos de colheita do espécime, por fatores do paciente, pela fase da infecção e pela presença de substâncias interferentes.
- K. A infecção por HPV não é um indicador de HSIL citológica nem de CIN subjacente de alto grau, nem implica que se irá desenvolver CIN2, CIN3 ou cancro. A maioria das mulheres infetadas com um ou mais tipos de HPV de alto risco não desenvolve CIN2, CIN3 ou cancro.
- L. Os seguintes aspetos podem interferir com o desempenho do ensaio quando se encontram presentes concentrações superiores às especificadas: lubrificantes vaginais (que contenham Poliuretano 15) a 1% p/v, creme antifúngico (que contenha tioconazol) a 0,03% p/v, muco a 0,3% p/v, hormonas intravaginais (que contenham progesterona) a 1% p/v, *Trichomonas vaginalis* a  $3 \times 10^4$  células/ml.
- M. Concentrações altas de HPV 45 podem reduzir a capacidade de deteção da presença de baixos níveis de HPV 16 pelo Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay.
- N. Não foram avaliados os efeitos de outras potenciais variáveis como corrimento vaginal, utilização de tampões, etc. nem as variáveis de colheita de espécimes.
- O. A utilização deste dispositivo pode ser limitada a pessoal que tenha recebido formação para utilizar o Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay.
- P. A contaminação cruzada de amostras pode dar origem a resultados positivos falsos. A taxa de contaminação por transferência do Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay no Panther System é de 0,19%, conforme determinado num estudo não clínico.
- Q. O Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay deve ser interpretado em conjunto com outros dados laboratoriais e clínicos de que o médico disponha.

## Resultados esperados do Panther System: prevalência de mRNA do HPV de alto risco

A prevalência de infecção por HPV de alto risco varia muito e é influenciada por diversos fatores, entre os quais a idade é o fator com mais preponderância. Muitos estudos investigaram a prevalência do HPV conforme determinado pela detecção de DNA do HPV. Contudo, poucos estudos reportaram a prevalência baseada na detecção do mRNA do HPV oncogénico. Foram inscritas num estudo clínico prospetivo conhecido por ensaio CLEAR mulheres provenientes de diversas clínicas (n=18) representativas de uma vasta distribuição geográfica e de uma população diversificada (10 estados dos Estados Unidos da América) para avaliar o Aptima HPV Assay, o qual deteta 14 tipos de HPV de alto risco. Amostras de mulheres do ensaio CLEAR que apresentavam resultados do Aptima HPV Assay positivos no Panther System foram avaliadas em três locais de teste com o Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay no Panther System, num estudo clínico separado. A prevalência do HPV 16, 18/45, bem como dos restantes 11 tipos de HPV de alto risco observados no estudo clínico, com base nos resultados do teste realizado com o Aptima HPV Assay e com o Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay no Panther System, foi categorizada em geral, de acordo com o grupo etário e de acordo com o local de teste. Um resultado negativo do Aptima HPV Assay no Panther System indica que não estava presente nenhum dos 14 tipos de HPV de alto risco, tendo sido designado negativo no Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay no Panther System para fins de análise. Os resultados são apresentados na Tabela 1 para as populações de células escamosas atípicas de significado indeterminado (Atypical Squamous Cells of Undetermined Significance, ASC-US) e negativas para lesão intraepitelial ou malignidade (Negative for Intraepithelial Lesion or Malignancy, NILM).

**Tabela 1:** Prevalência de mRNA do HPV de alto risco em populações por grupo etário, local de teste e todas combinadas

	Taxa de positividade % (x/n)							
	População ASC-US (≥ 21 anos)				População NILM (≥ 30 anos)			
	HPV 16 Pos	HPV 18/45 Pos	HPV 16 e 18/45 Pos	Outros 11 de HR* Pos	HPV 16 Pos	HPV 18/45 Pos	HPV 16 e 18/45 Pos	Outros 11 de HR* Pos
<b>Todas</b>	7,8 (71/911)	5,3 (48/911)	0,3 (3/911)	26,0 (237/911)	0,5 (50/10.839)	0,5 (49/10.839)	<0,1 (1/10.839)	3,6 (391/10.839)
<b>Grupo etário (anos)</b>								
<b>21 a 29</b>	13,4 (52/388)	5,2 (20/388)	0,5 (2/388)	37,9 (147/388)	N/A	N/A	N/A	N/A
<b>30 a 39</b>	5,5 (14/255)	6,7 (17/255)	0,4 (1/255)	23,1 (59/255)	0,7 (31/4.183)	0,7 (31/4.183)	0 (0/4.183)	5,1 (215/4.183)
<b>≥ 40</b>	1,9 (5/268)	4,1 (11/268)	0 (0/268)	11,6 (31/268)	0,3 (19/6.656)	0,3 (18/6.656)	<0,1 (1/6.656)	2,6 (176/6.656)
<b>Local de teste**</b>								
<b>1</b>	5,6 (17/304)	6,6 (20/304)	0,3 (1/304)	27,0 (82/304)	0,4 (16/3.610)	0,4 (16/3.610)	<0,1 (1/3.610)	3,6 (130/3.610)
<b>2</b>	9,6 (29/303)	3,6 (11/303)	0,3 (1/303)	26,4 (80/303)	0,5 (18/3.614)	0,4 (15/3.614)	0 (0/3.614)	3,6 (130/3.614)
<b>3</b>	8,2 (25/304)	5,6 (17/304)	0,3 (1/304)	24,7 (75/304)	0,4 (16/3.615)	0,5 (18/3.615)	0 (0/3.615)	3,6 (131/3.615)

N/A = Não aplicável, HR = Alto risco, Pos = Positivo

Nota: as mulheres com resultados negativos no Aptima HPV Assay no Panther System foram consideradas negativas no Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay no Panther System para fins de análise.

\* Tipos de HPV 31, 33, 35, 39, 51, 52, 56, 58, 59, 66 e 68

\*\* Na população NILM, nem todos os indivíduos com resultados negativos do Aptima HPV Assay no Panther System foram testados com o Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay no Panther System. Para efetuar a análise do local de teste, os resultados destas mulheres foram atribuídos aleatoriamente a um dos 3 locais de teste.

## Desempenho do ensaio no Panther System

O Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay foi lançado pela primeira vez no Tigris DTS System em 2012. Em 2013, as indicações alargaram-se à utilização do Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay no Panther System. O Panther System é uma plataforma de instrumentos mais pequena, que é uma alternativa ao Tigris DTS System. Os sistemas destinam-se ambos a automatizar totalmente os testes de ácidos nucleicos dos ensaios de diagnóstico. Os testes de desempenho do ensaio selecionados concluídos no Tigris DTS System foram aproveitados para apoiar o desempenho do ensaio no Panther System.

### Desenho do estudo clínico do Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay com espécimes citológicos de base líquida ThinPrep

O Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay foi avaliado no Panther System utilizando espécimes citológicos de encaminhamento colhidos em mulheres que expressaram o seu consentimento durante o estudo clínico americano multicêntrico e prospetivo conhecido como ensaio CLEAR.

### Ensaio CLEAR – Avaliação da linha de referência

O ensaio CLEAR foi executado para determinar o desempenho clínico do Aptima HPV Assay no Tigris DTS System em termos de deteção de neoplasia intraepitelial cervical de grau 2 ou de doença do colo do útero mais grave ( $\geq$ CIN2). O ensaio CLEAR incluiu uma avaliação da linha de referência e uma avaliação do acompanhamento durante 3 anos. As mulheres foram inscritas tanto no Estudo ASC-US como no Estudo NILM com base nos seus resultados de encaminhamento de citologia de base líquida ThinPrep provenientes de rastreios de rotina do cancro do colo do útero. A população do Estudo ASC-US incluiu mulheres com idade igual ou superior a 21 anos com resultados citológicos de ASC-US e a população do Estudo NILM incluiu mulheres com idade igual ou superior a 30 anos com resultados citológicos de NILM.

Foram inscritas mulheres provenientes de 18 clínicas, sobretudo clínicas de obstetrícia/ginecologia, que abrangeram uma ampla distribuição geográfica e uma população diversificada. Na linha de referência, foram testados espécimes citológicos de encaminhamento residuais com o Aptima HPV Assay no Tigris DTS System e com um teste de DNA do HPV aprovado pela FDA. Estes espécimes foram depois divididos em alíquotas que foram arquivadas e conservadas a  $-70^{\circ}\text{C}$  até serem testadas com o Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay no Panther System no ensaio clínico do Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay.

Na linha de referência, todas as mulheres do Estudo ASC-US foram encaminhadas para colposcopia, independentemente dos resultados do seu Aptima HPV Assay realizado no Tigris DTS System e do teste do DNA do HPV aprovado pela FDA. Foi obtida uma curetagem endocervical (endocervical curettage, ECC), biopsia e biopsias cervicais por punção (1 biopsia de cada um dos 4 quadrantes). Caso fosse visível uma lesão, era obtida uma biopsia de punção (método direcionado; 1 biopsia por lesão) e os quadrantes sem uma lesão visível eram submetidos a biopsia na junção escamo-colunar (método aleatório).

No Estudo NILM, as mulheres positivas com o Aptima HPV Assay no Tigris DTS System e/ou o teste do DNA do HPV aprovado pela FDA, bem como as mulheres selecionadas aleatoriamente que tinham sido negativas com os dois ensaios, foram encaminhadas para colposcopia para a avaliação da linha de referência. Foi obtida uma biopsia ECC de cada uma das mulheres que realizaram colposcopia. Foram obtidas biopsias de punção apenas de lesões visíveis (método direto; 1 biopsia por lesão).

O estado da doença foi determinado a partir de um consenso do painel de revisão de histologia, que foi baseado na concordância de, pelo menos, 2 patologistas especialistas. Foi ocultado dos patologistas especialistas o estado de HPV e de citologia das mulheres, bem como os diagnósticos de histologia um do outro. Se os 3 patologistas não estivessem de acordo, as lâminas eram revistas pelos 3 patologistas num microscópio de cabeças múltiplas para ser obtido consenso. Os resultados do teste do HPV não foram apresentados aos investigadores, médicos e mulheres até depois da conclusão da consulta de colposcopia, a fim de evitar desvio.

Na linha de referência, foi avaliado o desempenho clínico do Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay no Panther System para detecção de  $\geq$ CIN2 e neoplasia intraepitelial cervical de grau 3 ou doença do colo do útero mais grave ( $\geq$ CIN3) relativamente ao estado da doença do colo do útero determinado na linha de referência.

### Ensaio CLEAR – Avaliação do acompanhamento

As mulheres do Estudo NILM de 14 centros clínicos eram elegíveis para participar na Fase de Acompanhamento durante 3 anos do estudo se: i) tivessem realizado uma consulta de colposcopia na linha de referência e não tivessem  $\geq$ CIN2, ou ii) não tivessem realizado uma consulta de colposcopia na linha de referência. A Fase de Acompanhamento do estudo consistia em consultas anuais. Nestas consultas, eram obtidas amostras cervicais de cada mulher e algumas mulheres faziam também um teste utilizando um teste do HPV aprovado pela FDA. As mulheres com ASC-US ou resultados citológicos mais graves durante o período de acompanhamento eram encaminhadas para colposcopia utilizando os mesmos procedimentos de biopsia e histológicos realizados na avaliação da linha de referência. O estado da doença do colo do útero aquando da consulta de acompanhamento era considerado "negativo" com base na citologia de NILM ou, no caso das mulheres com resultados anómalos no teste citológico, com base num estado normal ou CIN1 segundo o consenso do painel de revisão de histologia. Considerava-se que as mulheres a quem tinha sido detetado  $\geq$ CIN2 durante o período de acompanhamento tinham concluído o acompanhamento, tendo deixado de ir a consultas depois de ter sido detetado  $\geq$ CIN2. Considerava-se que as mulheres em quem não era detetado  $\geq$ CIN2 durante o período de acompanhamento, mas que iam a uma consulta do estudo no ano de acompanhamento 1 e/ou no ano de acompanhamento 2, e que iam a uma consulta do estudo no ano de acompanhamento 3, tinham concluído o acompanhamento.

O objetivo do estudo de acompanhamento era comparar o risco cumulativo de doença do colo do útero durante 3 anos em mulheres que tinham um Aptima HPV Assay positivo na linha de referência e resultados do Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay positivos na linha de referência com o risco cumulativo de doença do colo do útero durante 3 anos em mulheres que tinham um Aptima HPV Assay positivo na linha de referência e resultados do Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay negativos na linha de referência. O estado da doença do colo do útero durante 3 anos era determinado da seguinte forma:

- Estado positivo de doença do colo do útero ( $\geq$ CIN2 e/ou  $\geq$ CIN3) – Mulheres a quem tinha sido detetado  $\geq$ CIN2 na linha de referência ou durante o acompanhamento.
- Estado negativo de doença do colo do útero ( $<$ CIN2) – Mulheres que tinham concluído o acompanhamento sem detecção de  $\geq$ CIN2 e que se considerava não terem um estado de doença do colo do útero "indeterminado".
- Estado indeterminado de doença do colo do útero – Mulheres que apresentavam resultados anómalos no teste citológico durante o acompanhamento e que não dispunham de um resultado subsequente de consenso do painel de revisão de histologia, ou mulheres que tinham apresentado uma citologia inadequada na sua última consulta.
- Perdas durante o acompanhamento – Mulheres que não tinham concluído o acompanhamento e que não se considerava que tivessem um estado de doença do colo do útero "indeterminado".

O desempenho clínico do Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay para detecção de  $\geq$ CIN2 e  $\geq$ CIN3 foi avaliado relativamente ao estado da doença do colo do útero durante 3 anos.

### População ASC-US $\geq$ 21 anos: Desempenho clínico do Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay com espécimes citológicos de base líquida ThinPrep

Na totalidade, houve 404 mulheres avaliáveis com idade igual ou superior a 21 anos com resultados de citologia de ASC-US e resultados do Aptima HPV Assay positivos no Panther System, cujas amostras citológicas de encaminhamento foram elegíveis para a realização de testes com o Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay no Panther System. Destas mulheres, 45 não dispunham de volume de amostra citológica de encaminhamento suficiente para teste neste estudo e 6 apresentavam

diagnóstico de doença indeterminada; após uma análise dos valores em falta, não foram incluídas nos cálculos de desempenho. As 353 mulheres avaliáveis com estado de doença conclusivo apresentaram resultados válidos do Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay no Panther System com base no teste de reflexo a partir de um resultado do Aptima HPV Assay positivo no Panther System. Sessenta e sete (67) mulheres tinham  $\geq$ CIN2 e 30 tinham  $\geq$ CIN3.

Das 353 mulheres avaliáveis com resultados do Aptima HPV Assay positivos no Panther System, 118 mulheres apresentaram resultados positivos com o Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay no Panther System, indicando a presença do HPV 16 e/ou do HPV 18/45; 235 tinham resultados negativos, indicando a presença de um ou mais dos outros 11 tipos de HPV de alto risco conforme detetado pelo Aptima HPV Assay (ou seja, HPV do tipo 31, 33, 35, 39, 51, 52, 56, 58, 59, 66 e 68). Mais 539 mulheres avaliáveis com idade igual ou superior a 21 anos com resultados de citologia ASC-US apresentaram resultados negativos do Aptima HPV Assay no Panther System. Um resultado negativo no Aptima HPV Assay indica que não estava presente nenhum dos 14 tipos de HPV de alto risco e foi considerado negativo no Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay no Panther System para fins de análise. A prevalência de  $\geq$ CIN2 e  $\geq$ CIN3 em mulheres avaliáveis com resultados de citologia de ASC-US foi de 9,1% e 3,8%, respetivamente. Com base nos testes realizados com o Panther System, os resultados do Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay e o resultado do Aptima HPV Assay pelo consenso de diagnóstico do painel de revisão de histologia são apresentados na Tabela 2.

**Tabela 2:** População ASC-US  $\geq$  21 anos: Resultados do Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay e do Aptima HPV Assay segundo o consenso de diagnóstico do painel de revisão de histologia

Resultado do Aptima HPV Assay	Resultado do AHPV-GT Assay*	Interpretação	Consenso de diagnóstico do painel de revisão de histologia						
			Indeterminado**	Normal	CIN1	CIN2	CIN3	Cancro	Total
Positivo	HPV 16 Pos, HPV 18/45 Neg	HPV 16 Pos	1	26	18	11	15	0	71
	HPV 16 Neg, HPV 18/45 Pos	HPV 18/45 Pos	3	23	16	2	3	1	48
	HPV 16 Pos, HPV 18/45 Pos	HPV 16 e 18/45 Pos	0	1	0	1	1	0	3
	HPV 16 Neg, HPV 18/45 Neg	Outros HPV de HR Pos	2	132	70	23	10	0	237
Total			6	182	104	37	29	1	359
Negativo	HPV 16/18/45 Neg***	HPV de HR Neg	13	450	75	10	4	0	552
Total			19	632	179	47	33	1****	911

AHPV-GT = Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay, CIN1 = Neoplasia intraepitelial cervical de grau 1, HR = Alto risco, Neg = Negativo, Pos = Positivo

\*Todas as amostras apresentaram resultados finais válidos (quando foi realizado o teste final ou após resolução de resultados iniciais inválidos por procedimento).

\*\*19 mulheres realizaram a consulta de coloscopia, mas não foi possível determinar um diagnóstico pelas seguintes razões: <5 espécimes de biopsia obtidos, todos com resultados de histologia normais/CIN1 (n=15), não foram colhidas biopsias (n=3) e lâminas da biopsia perdidas (n=1).

\*\*\*As mulheres com resultados negativos no Aptima HPV Assay foram consideradas negativas no Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay para fins de análise.

\*\*\*\*Uma mulher apresentava adenocarcinoma in situ (AIS).

O risco absoluto de doença ( $\geq$ CIN2 e  $\geq$ CIN3), de acordo com o resultado do Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay e com o resultado do Aptima HPV Assay, é apresentado na Tabela 3. O risco de  $\geq$ CIN2 em mulheres com HPV do tipo 16, 18 e/ou 45 presente foi de 28,8% comparativamente a 14,0% em mulheres com um ou mais dos outros 11 tipos de HPV de alto risco presentes e de 2,6% em mulheres sem tipos de HPV de alto risco presentes. O risco absoluto é apresentado por grupo etário na Tabela 4.

**Tabela 3:** População ASC-US  $\geq$  21 anos: Risco absoluto de  $\geq$ CIN2 e  $\geq$ CIN3 para resultados do Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay e do Aptima HPV Assay

Resultado do Aptima HPV Assay	Resultado do AHPV-GT Assay	Interpretação	$\geq$ CIN2	$\geq$ CIN3
			Risco absoluto (IC de 95%)	Risco absoluto (IC de 95%)
<b>Positivo</b>	HPV 16 Pos e/ou HPV 18/45 Pos	HPV 16 e/ou HPV 18/45 Pos	28,8 (34/118) (22,2, 35,7)	16,9 (20/118) (12,1, 21,8)
	HPV 16 Pos, HPV 18/45 Neg	Apenas HPV 16 Pos	37,1 (26/70) (27,4, 47,4)	21,4 (15/70) (13,8, 29,5)
	HPV 16 Neg, HPV 18/45 Pos	Apenas HPV 18/45 Pos	13,3 (6/45) (5,5, 25,1)	8,9 (4/45) (2,9, 19,1)
	HPV 16 Pos, HPV 18/45 Pos	HPV 16 e 18/45 Pos	66,7 (2/3) (15,2, 98,2)	33,3 (1/3) (1,8, 84,6)
	HPV 16/18/45 Neg	Outros HPV de HR Pos	14,0 (33/235) (10,7, 17,7)	4,3 (10/235) (2,3, 6,7)
	Pos ou Neg	HPV de HR Pos	19,0 (67/353) (16,8, 21,1)	8,5 (30/353) (7,1, 9,6)
<b>Negativo</b>	HPV 16/18/45 Neg*	HPV de HR Neg	2,6 (14/539) (1,5, 4,0)	0,7 (4/539) (0,2, 1,6)
Prevalência			9,1% (81/892)	3,8% (34/892)

AHPV-GT = Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay, HR = Alto risco, Pos = Positivo, Neg = Negativo

\*As mulheres com resultados negativos no Aptima HPV Assay foram consideradas negativas no Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay para fins de análise.

**Tabela 4:** População ASC-US ≥ 21 anos: Risco absoluto de ≥CIN2 e ≥CIN3 para resultados do Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay e do Aptima HPV Assay por grupo etário

	Resultado do Aptima HPV Assay	Resultado do AHPV-GT Assay	Interpretação	≥CIN2	≥CIN3
				Risco absoluto (IC de 95%)	Risco absoluto (IC de 95%)
21 a 29 anos	Positivo	HPV 16 Pos e/ou HPV 18/45 Pos	<b>HPV 16 e/ou HPV 18/45 Pos</b>	27,4 (20/73) (19,0, 36,2)	16,4 (12/73) (10,3, 22,5)
		HPV 16 Pos, HPV 18/45 Neg	<b>Apenas HPV 16 Pos</b>	29,4 (15/51) (18,8, 41,1)	19,6 (10/51) (11,3, 28,5)
		HPV 16 Neg, HPV 18/45 Pos	<b>Apenas HPV 18/45 Pos</b>	15,0 (3/20) (3,6, 34,6)	5,0 (1/20) (0,2, 21,6)
		HPV 16 Pos, HPV 18/45 Pos	<b>HPV 16 e 18/45 Pos</b>	100 (2/2) (27,0, 100)	50,0 (1/2) (2,9, 97,1)
		HPV 16/18/45 Neg	<b>Outros HPV de HR Pos</b>	17,1 (25/146) (12,7, 21,7)	5,5 (8/146) (2,8, 8,6)
	Pos ou Neg	<b>HPV de HR Pos</b>	20,5 (45/219) (17,9, 23,0)	9,1 (20/219) (7,5, 10,2)	
	Negativo	HPV 16/18/45 Neg*	<b>HPV de HR Neg</b>	4,2 (7/166) (1,9, 7,6)	0,6 (1/166) (0,0, 2,7)
Prevalência				13,5% (52/385)	5,5% (21/385)
30 a 39 anos	Positivo	HPV 16 Pos e/ou HPV 18/45 Pos	<b>HPV 16 e/ou HPV 18/45 Pos</b>	30,0 (9/30) (16,5, 43,9)	16,7 (5/30) (6,9, 26,2)
		HPV 16 Pos, HPV 18/45 Neg	<b>Apenas HPV 16 Pos</b>	50,0 (7/14) (24,2, 74,2)	21,4 (3/14) (5,1, 41,6)
		HPV 16 Neg, HPV 18/45 Pos	<b>Apenas HPV 18/45 Pos</b>	13,3 (2/15) (1,3, 35,2)	13,3 (2/15) (1,3, 32,1)
		HPV 16 Pos, HPV 18/45 Pos	<b>HPV 16 e 18/45 Pos</b>	0 (0/1) (0,0, 93,5)	0 (0/1) (0,0, 93,3)
		HPV 16/18/45 Neg	<b>Outros HPV de HR Pos</b>	12,1 (7/58) (5,7, 19,5)	3,4 (2/58) (0,5, 8,5)
	Pos ou Neg	<b>HPV de HR Pos</b>	18,2 (16/88) (13,4, 22,3)	8,0 (7/88) (4,6, 10,0)	
	Negativo	HPV 16/18/45 Neg*	<b>HPV de HR Neg</b>	1,8 (3/163) (0,4, 4,3)	0,6 (1/163) (0,0, 2,4)
Prevalência				7,6% (19/251)	3,2% (8/251)
≥ 40 anos	Positivo	HPV 16 Pos e/ou HPV 18/45 Pos	<b>HPV 16 e/ou HPV 18/45 Pos</b>	33,3 (5/15) (12,4, 55,0)	20,0 (3/15) (4,1, 36,0)
		HPV 16 Pos, HPV 18/45 Neg	<b>Apenas HPV 16 Pos</b>	80,0 (4/5) (36,8, 99,0)	40,0 (2/5) (6,3, 78,2)
		HPV 16 Neg, HPV 18/45 Pos	<b>Apenas HPV 18/45 Pos</b>	10,0 (1/10) (0,4, 36,6)	10,0 (1/10) (0,4, 33,1)
		HPV 16 Pos, HPV 18/45 Pos	<b>HPV 16 e 18/45 Pos</b>	--- (0/0)	--- (0/0)
		HPV 16/18/45 Neg	<b>Outros HPV de HR Pos</b>	3,2 (1/31) (0,1, 13,2)	0 (0/31) (0,0, 7,8)
	Pos ou Neg	<b>HPV de HR Pos</b>	13,0 (6/46) (6,1, 19,7)	6,5 (3/46) (1,7, 10,9)	
	Negativo	HPV 16/18/45 Neg*	<b>HPV de HR Neg</b>	1,9 (4/210) (0,6, 3,4)	1,0 (2/210) (0,1, 2,0)
Prevalência				3,9% (10/256)	2,0% (5/256)

AHPV-GT = Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay, HR = Alto risco, Pos = Positivo, Neg = Negativo

\*As mulheres com resultados negativos no Aptima HPV Assay foram consideradas negativas no Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay para fins de análise.



O risco relativo de doença para o Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay com resultados positivos versus negativos é apresentado na Tabela 5. As mulheres que tinham HPV dos tipos 16, 18 e/ou 45 presentes tinham 11,1 vezes mais probabilidades de ter  $\geq$ CIN2 e 22,8 vezes mais probabilidade de ter  $\geq$ CIN3 do que as mulheres que não tinham presentes tipos de HPV de alto risco. As mulheres que tinham HPV dos tipos 16, 18 e/ou 45 presentes tinham 2,1 vezes mais probabilidades de ter  $\geq$ CIN2 e 4,0 vezes mais probabilidade de ter  $\geq$ CIN3 do que as mulheres que tinham presentes um ou mais dos outros 11 tipos de HPV de alto risco.

**Tabela 5:** População ASC-US  $\geq$  21 anos: Risco relativo de  $\geq$ CIN2 e  $\geq$ CIN3 para resultados do Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay e do Aptima HPV Assay

Interpretação do resultado do Aptima Assay*	$\geq$ CIN2	$\geq$ CIN3
	Risco relativo (IC de 95%)	Risco relativo (IC de 95%)
HPV 16 e/ou 18/45 Positivo vs. HPV de HR Negativo	11,1 (6,2, 20,0)	22,8 (8,0, 65,6)
HPV 16 e/ou 18/45 Positivo vs. Outros HPV de HR Positivos	2,1 (1,3, 3,1)	4,0 (1,9, 8,2)
Outros HPV de HR Positivos vs. HPV de HR Negativo	5,4 (2,9, 9,9)	5,7 (1,8, 18,1)
HPV de HR Positivo vs. HPV de HR Negativo	7,3 (4,2, 12,8)	11,5 (4,1, 32,2)
Prevalência	9,1% (81/892)	3,8% (34/892)

IC = Intervalo de confiança, HR = Alto risco

\*As mulheres com resultados negativos no Aptima HPV Assay foram consideradas negativas no Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay para fins de análise.

As relações de probabilidade ( $\geq$ CIN2 e  $\geq$ CIN3) segundo o resultado do Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay são apresentadas na Tabela 6. Os tipos de HPV 16, 18 e/ou 45 tinham 4,1 vezes mais probabilidades de estar presentes numa mulher com  $\geq$ CIN2 e 5,2 vezes mais probabilidades de estar presentes numa mulher com  $\geq$ CIN3.

**Tabela 6:** População ASC-US  $\geq$  21 anos: Relações de probabilidade de  $\geq$ CIN2 e  $\geq$ CIN3 segundo os resultados do Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay e do Aptima HPV Assay

Interpretação do resultado do Aptima Assay*	$\geq$ CIN2	$\geq$ CIN3
	Relação de probabilidade (IC de 95%)	Relação de probabilidade (IC de 95%)
HPV 16 e/ou 18/45 Positivo	4,1 (2,9, 5,6)	5,2 (3,5, 7,0)
Outros HPV de HR Positivos	1,6 (1,2, 2,1)	1,1 (0,6, 1,8)
HPV de HR Negativo	0,3 (0,2, 0,4)	0,2 (0,1, 0,4)

IC = Intervalo de confiança, HR = Alto risco

\*As mulheres com resultados negativos no Aptima HPV Assay foram consideradas negativas no Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay para fins de análise.

## População NILM ≥ 30 anos: Desempenho clínico do Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay com espécimes citológicos de base líquida ThinPrep na linha de referência

Na totalidade, houve 512 mulheres avaliáveis com idade igual ou superior a 30 anos com resultados citológicos de NILM e resultados do Aptima HPV Assay positivos no Panther System, cujas amostras citológicas de encaminhamento foram elegíveis para a realização de testes com o Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay. Destas mulheres, 21 (11 tinham realizado colposcopia e 10 não tinham realizado colposcopia) não dispunham de um volume de amostra de citologia de encaminhamento para teste neste estudo; após uma análise dos valores em falta, não foram incluídas nos cálculos de desempenho. As 491 mulheres avaliáveis tinham resultados do Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay válidos. Destas mulheres, 273 tinham realizado colposcopia. Catorze (14) mulheres tinham ≥CIN2 e 10 tinham ≥CIN3; 245 mulheres tinham histologia normal/CIN1; 14 mulheres tinham estado de doença indeterminado.

Das 259 mulheres avaliáveis com estado de doença conclusivo e resultados do Aptima HPV Assay positivos no Panther System na linha de referência, 65 mulheres apresentaram resultados positivos com o Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay no Panther System, indicando a presença do HPV 16 e/ou do HPV 18/45; 194 apresentaram resultados negativos, indicando a presença de um ou mais dos outros 11 tipos de HPV de alto risco. Mais 549 mulheres avaliáveis com idade igual ou superior a 30 anos com resultados citológicos de NILM e estado de doença conclusivo apresentaram resultados negativos do Aptima HPV Assay no Panther System. Um resultado negativo no Aptima HPV Assay indica que não estava presente nenhum dos 14 tipos de HPV de alto risco e foi considerado negativo no Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay no Panther System para fins de análise. Os resultados do Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay e o resultado do Aptima HPV Assay segundo o consenso de diagnóstico do painel de revisão de histologia são apresentados na Tabela 7.

**Tabela 7:** População NILM ≥ 30 anos: Resultados do Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay e do Aptima HPV Assay segundo o consenso de diagnóstico do painel de revisão de histologia na linha de referência

Resultado do Aptima HPV Assay	Resultado do AHPV-GT Assay*	Interpretação	Consenso de diagnóstico do painel de revisão de histologia						
			Indeterminado**	Normal	CIN1	CIN2	CIN3	Cancro	Total
Positivo	HPV 16 Pos, HPV 18/45 Neg	HPV 16 Pos	2	28	0	0	3	1	34
	HPV 16 Neg, HPV 18/45 Pos	HPV 18/45 Pos	1	28	1	1	0	2	33
	HPV 16 Pos, HPV 18/45 Pos	HPV 16 e 18/45 Pos	0	1	0	0	0	0	1
	HPV 16 Neg, HPV 18/45 Neg	Outros HPV de HR Pos	11	175	12	3	4	0	205
Total			14	232	13	4	7	3	273
Negativo	HPV 16/18/45 Neg***	HPV de HR Neg	31	527	16	5	1	0	580
Total			45	759	29	9	8	3****	853

AHPV-GT = Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay, HR = Alto risco, Pos = Positivo, Neg = Negativo

\*Todas as amostras apresentaram resultados finais válidos (quando foi realizado o teste inicial ou após resolução de resultados iniciais inválidos por procedimento).

\*\*45 mulheres realizaram a consulta de colposcopia, mas não foi possível determinar um diagnóstico pelas seguintes razões: não pôde ser alcançado consenso devido a espécimes inadequados (n=29), não foram colhidas biopsias devido a fatores subjacentes (n=13), não foram colhidas nem analisadas biopsias devido a erro (n=3).

\*\*\*As mulheres com resultados negativos no Aptima HPV Assay foram consideradas negativas no Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay para fins de análise.

\*\*\*\*Três mulheres tinham adenocarcinoma in situ (AIS).

Das 491 mulheres com resultados do Aptima HPV Assay positivos no Panther System e resultados do Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay no Panther System, 232 mulheres tinham um estado de doença não verificado (incluindo indeterminado) (Tabela 8). Das 10.348 mulheres com resultados negativos no Aptima HPV Assay do ensaio CLEAR original, 9799 apresentavam um estado de doença não verificado. Como o estudo tinha sido concebido de forma a serem encaminhadas para colposcopia apenas mulheres selecionadas aleatoriamente com resultados negativos tanto no Aptima HPV Assay no Tigris DTS System como no teste do DNA aprovado pela FDA, a proporção de mulheres com estado de doença não verificado neste grupo foi elevada (96,2%). Para ajustar este desvio de verificação, foi utilizado um método de imputação múltipla para efetuar a estimativa do número de mulheres com doença que teriam sido identificadas caso todas as mulheres tivessem sido submetidas a colposcopia em função dos resultados do teste. Neste método, o estado de doença em falta era imputado com base nos resultados do Aptima HPV Assay no Panther System, do Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay no Panther System e do teste de DNA do HPV aprovado pela FDA. São apresentadas tanto as estimativas de desempenho ajustadas como as estimativas não ajustadas para o desvio de verificação baseadas nas 808 mulheres com estado de doença verificado.

**Tabela 8:** População NILM ≥ 30 anos: Classificação de mulheres com NILM avaliáveis através do Aptima HPV Assay, Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay, resultados do teste do DNA do HPV, estado da doença (≥CIN2 e ≥CIN3) e estado de verificação da doença na linha de referência

Resultado do Aptima HPV Assay*	Resultado do AHPV-GT Assay*	Teste de DNA do HPV	Total de mulheres	Estado de doença verificado: ≥CIN2		Estado de doença verificado: ≥CIN3		Estado de doença não verificado
				Mulheres doentes (≥CIN2)	Mulheres não doentes (<CIN2)	Mulheres doentes (≥CIN3)	Mulheres não doentes (<CIN3)	Mulheres com estado de doença desconhecido (% desconhecido)
Positivo	Positivo	Positivo	88	6	52	5	53	30 (34,1%)
	Positivo	Negativo	10	1	5	1	5	4 (40,0%)
	Positivo	Sem resultados**	2	0	1	0	1	1 (50,0%)
	Negativo	Positivo	291	7	169	4	172	115 (39,5%)
	Negativo	Negativo	85	0	14	0	14	71 (83,5%)
	Negativo	Sem resultados**	15	0	4	0	4	11 (73,3%)
Total			491	14	245	10	249	232 (47,3%)
Negativo	N/A***	Positivo	282	3	177	1	179	102 (36,2%)
	N/A***	Negativo	9.467	2	362	0	364	9.103 (96,2%)
	N/A***	Sem resultados**	599	1	4	0	5	594 (99,2%)
Total			10.839	20	788	11	797	10.031 (92,5%)

AHPV-GT = Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay, N/A = Não aplicável

\*Todas as amostras apresentaram resultados finais válidos (quando foi realizado o teste inicial ou após resolução de resultados iniciais inválidos por procedimento).

\*\*616 mulheres com resultados do Aptima HPV Assay não tinham resultados do teste de DNA do HPV sobretudo devido ao volume insuficiente do espécime de citologia.

\*\*\*As mulheres com resultados negativos no Aptima HPV Assay foram consideradas negativas no Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay para fins de análise.

Os riscos absolutos ajustados de doença ( $\geq$ CIN2 e  $\geq$ CIN3) na linha de referência de acordo com o resultado do Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay e com o resultado do Aptima HPV Assay são apresentados na Tabela 9a. O risco de  $\geq$ CIN2 em mulheres com HPV do tipo 16, 18 e/ou 45 presente foi de 9,7% comparativamente a 3,2% em mulheres com um ou mais dos outros 11 tipos de HPV de alto risco presentes e de 0,7% em mulheres sem tipos de HPV de alto risco presentes. Os riscos absolutos de doença não ajustados são apresentados em geral na Tabela 9b e por grupo etário na Tabela 10.

Tabela 9a: População NILM  $\geq$  30 anos: Risco absoluto de  $\geq$ CIN2 e  $\geq$ CIN3 para os resultados do Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay e do Aptima HPV Assay (estimativas ajustadas para o desvio de verificação) na linha de referência

Resultado do Aptima HPV Assay	Resultado do AHPV-GT Assay	Interpretação	$\geq$ CIN2	$\geq$ CIN3
			Risco absoluto (IC de 95%)	Risco absoluto (IC de 95%)
Positivo	HPV 16 Pos e/ou HPV 18/45 Pos	HPV 16 e/ou HPV 18/45 Pos	9,7 (4,6, 20,2)	8,5 (3,8, 19,2)
	HPV 16 Pos, HPV 18/45 Neg	Apenas HPV 16 Pos	10,4 (4,0, 27,1)	10,3 (3,9, 27,1)
	HPV 16 Neg, HPV 18/45 Pos	Apenas HPV 18/45 Pos	8,8 (2,9, 26,4)	6,5 (1,7, 25,1)
	HPV 16 Pos, HPV 18/45 Pos	HPV 16 e 18/45 Pos	0,0	0,0
	HPV 16/18/45 Neg	Outros HPV de HR Pos	3,2 (1,6, 6,3)	1,8 (0,6, 4,9)
	Pos ou Neg	HPV de HR Pos	4,6 (2,8, 7,4)	3,2 (1,7, 5,9)
Negativo	HPV 16/18/45 Neg*	HPV de HR Neg	0,7 (0,2, 2,5)	0,2 (0,0, 4,8)
Prevalência			1,1%	0,8%

AHPV-GT = Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay, HR = Alto risco, Pos = Positivo, Neg = Negativo, N/A = Não aplicável

\*As mulheres com resultados negativos no Aptima HPV Assay foram consideradas negativas no Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay para fins de análise.

Tabela 9b: População NILM  $\geq$  30 anos: Risco absoluto de  $\geq$ CIN2 e  $\geq$ CIN3 para resultados do Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay e do Aptima HPV Assay (estimativas não ajustadas) na linha de referência

Resultado do Aptima HPV Assay	Resultado do AHPV-GT Assay	Interpretação	$\geq$ CIN2	$\geq$ CIN3
			Risco absoluto (IC de 95%)	Risco absoluto (IC de 95%)
Positivo	HPV 16 Pos e/ou HPV 18/45 Pos	HPV 16 e/ou HPV 18/45 Pos	10,8 (7/65) (5,1, 17,7)	9,2 (6/65) (4,3, 14,2)
	HPV 16 Pos, HPV 18/45 Neg	Apenas HPV 16 Pos	12,5 (4/32) (3,7, 25,2)	12,5 (4/32) (3,9, 23,1)
	HPV 16 Neg, HPV 18/45 Pos	Apenas HPV 18/45 Pos	9,4 (3/32) (2,2, 21,8)	6,3 (2/32) (0,9, 16,8)
	HPV 16 Pos, HPV 18/45 Pos	HPV 16 e 18/45 Pos	0,0 (0/1) (0,0, 93,5)	0,0 (0/1) (0,0, 93,4)
	HPV 16/18/45 Neg	Outros HPV de HR Pos	3,6 (7/194) (1,7, 6,0)	2,1 (4/194) (0,7, 3,9)
	Pos ou Neg	HPV de HR Pos	5,4 (14/259) (3,7, 6,8)	3,9 (10/259) (2,6, 4,5)
Negativo	HPV 16/18/45 Neg*	HPV de HR Neg	1,1 (6/549) (0,5, 1,9)	0,2 (1/549) (0,0, 0,8)
Prevalência			2,5% (20/808)	1,4% (11/808)

AHPV-GT = Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay, HR = Alto risco, Pos = Positivo, Neg = Negativo, N/A = Não aplicável

\*As mulheres com resultados negativos no Aptima HPV Assay foram consideradas negativas no Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay para fins de análise.

**Tabela 10:** População NILM ≥ 30 anos: Risco absoluto de ≥CIN2 e ≥CIN3 para resultados do Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay e do Aptima HPV Assay por grupo etário (estimativas não ajustadas) na linha de referência

	Resultado do Aptima HPV Assay	Resultado do AHPV-GT Assay	Interpretação	≥CIN2	≥CIN3
				Risco absoluto (IC de 95%)	Risco absoluto (IC de 95%)
30 a 39 anos	Positivo	HPV 16 Pos e/ou HPV 18/45 Pos	HPV 16 e/ou HPV 18/45 Pos	8,1 (3/37) (2,0, 16,4)	5,4 (2/37) (0,9, 12,3)
		HPV 16 Pos, HPV 18/45 Neg	Apenas HPV 16 Pos	0 (0/17) (0,0, 15,5)	0 (0/17) (0,0, 14,3)
		HPV 16 Neg, HPV 18/45 Pos	Apenas HPV 18/45 Pos	15,0 (3/20) (3,9, 30,6)	10,0 (2/20) (1,0, 22,8)
		HPV 16 Pos, HPV 18/45 Pos	HPV 16 e 18/45 Pos	N/A (0/0)	N/A (0/0)
		HPV 16/18/45 Neg	Outros HPV de HR Pos	3,6 (4/111) (1,2, 6,2)	2,7 (3/111) (0,7, 4,7)
	Pos ou Neg	HPV de HR Pos	4,7 (7/148) (2,6, 6,1)	3,4 (5/148) (1,6, 4,3)	
	Negativo	HPV 16/18/45 Neg*	HPV de HR Neg	0,9 (2/230) (0,1, 2,2)	0,4 (1/230) (0,0, 1,6)
Prevalência				2,4% (9/378)	1,6% (6/378)
≥ 40 anos	Positivo	HPV 16 Pos e/ou HPV 18/45 Pos	HPV 16 e/ou HPV 18/45 Pos	14,3 (4/28) (4,8, 26,4)	14,3 (4/28) (5,0, 21,9)
		HPV 16 Pos, HPV 18/45 Neg	Apenas HPV 16 Pos	26,7 (4/15) (6,4, 47,9)	26,7 (4/15) (6,5, 43,1)
		HPV 16 Neg, HPV 18/45 Pos	Apenas HPV 18/45 Pos	0 (0/12) (0,0, 21,5)	0 (0/12) (0,0, 18,6)
		HPV 16 Pos, HPV 18/45 Pos	HPV 16 e 18/45 Pos	0,0 (0/1) (0,0, 93,4)	0,0 (0/1) (0,0, 93,1)
		HPV 16/18/45 Neg	Outros HPV de HR Pos	3,6 (3/83) (1,0, 7,8)	1,2 (1/83) (0,0, 4,1)
	Pos ou Neg	HPV de HR Pos	6,3 (7/111) (3,3, 8,9)	4,5 (5/111) (2,3, 5,4)	
	Negativo	HPV 16/18/45 Neg*	HPV de HR Neg	1,3 (4/319) (0,4, 2,3)	0 (0/319) (0,0, 0,8)
Prevalência				2,6% (11/430)	1,2% (5/430)

AHPV-GT = Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay, HR = Alto risco, Pos = Positivo, Neg = Negativo, N/A = Não aplicável

\*As mulheres com resultados negativos no Aptima HPV Assay foram consideradas negativas no Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay para fins de análise.

O risco relativo de doença para o Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay com resultados positivos versus negativos são apresentados na Tabela 11 (ajustadas para o desvio de verificação) e na Tabela 12 (não ajustadas). As mulheres que tinham HPV dos tipos 16, 18 e/ou 45 presentes tinham 12,9 vezes mais probabilidades de ter  $\geq$ CIN2 e 53,3 vezes mais probabilidade de ter  $\geq$ CIN3 do que as mulheres que não tinham presentes tipos de HPV de alto risco. As mulheres que tinham HPV dos tipos 16, 18 e/ou 45 presentes tinham 3,0 vezes mais probabilidades de ter  $\geq$ CIN2 e 4,8 vezes mais probabilidade de ter  $\geq$ CIN3 do que as mulheres que tinham presentes um ou mais dos outros 11 tipos de HPV de alto risco.

**Tabela 11:** População NILM  $\geq$  30 anos: Risco relativo de  $\geq$ CIN2 e  $\geq$ CIN3 para os resultados do Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay e do Aptima HPV Assay (estimativas ajustadas para o desvio de verificação) na linha de referência

Interpretação do teste Aptima Assay*	$\geq$ CIN2	$\geq$ CIN3
	Risco relativo (IC de 95%)	Risco relativo (IC de 95%)
HPV 16 e/ou 18/45 Pos vs. HPV de HR Neg	12,9 (3,1, 54,6)	53,3 (1,5, >999)
HPV 16 e/ou 18/45 Pos vs. Outros HPV de HR Pos	3,0 (1,1, 8,8)	4,8 (1,2, 19,2)
Outros HPV de HR Pos vs. HPV de HR Neg	4,3 (1,2, 15,1)	11,0 (0,4, 289,2)
HPV de HR Pos vs. HPV de HR Neg	6,1 (1,8, 21,0)	20,2 (0,7, 567,7)
Prevalência	1,1%	0,8%

IC = Intervalo de confiança, HR = Alto risco, Pos = Positivo, Neg = Negativo

\*As mulheres com resultados negativos no Aptima HPV Assay foram consideradas negativas no Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay para fins de análise.

**Tabela 12:** População NILM  $\geq$  30 anos: Risco relativo de  $\geq$ CIN2 e  $\geq$ CIN3 para os resultados do Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay e do Aptima HPV Assay (estimativas não ajustadas) na linha de referência

Interpretação do teste Aptima Assay*	$\geq$ CIN2	$\geq$ CIN3
	Risco relativo (IC de 95%)	Risco relativo (IC de 95%)
HPV 16 e/ou 18/45 Pos vs. HPV de HR Neg	9,9 (3,4, 28,4)	50,7 (6,2, 414,4)
HPV 16 e/ou 18/45 Pos vs. Outros HPV de HR Pos	3,0 (1,1, 8,2)	4,5 (1,3, 15,4)
Outros HPV de HR Pos vs. HPV de HR Neg	3,3 (1,1, 9,7)	11,3 (1,3, 100,7)
HPV de HR Pos vs. HPV de HR Neg	4,9 (1,9, 12,7)	21,2 (2,7, 164,7)
Prevalência	2,5% (20/808)	1,4% (11/808)

IC = Intervalo de confiança, HR = Alto risco, Pos = Positivo, Neg = Negativo

\*As mulheres com resultados negativos no Aptima HPV Assay foram consideradas negativas no Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay para fins de análise.

As relações de probabilidade ( $\geq$ CIN2 e  $\geq$ CIN3) na linha de referência segundo o Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay são apresentadas na Tabela 13 (ajustadas para o desvio de verificação) e na Tabela 14 (não ajustadas). Os tipos de HPV 16, 18 e/ou 45 tinham 11,2 vezes mais probabilidades de estar presentes numa mulher com  $\geq$ CIN2 e 24,1 vezes mais probabilidades de estar presentes numa mulher com  $\geq$ CIN3 na linha de referência.

**Tabela 13:** População NILM  $\geq$  30 anos: Relações de probabilidade de  $\geq$ CIN2 e  $\geq$ CIN3 segundo os resultados do Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay e do Aptima HPV Assay (estimativas ajustadas para o desvio de verificação) na linha de referência

Interpretação do resultado do Aptima Assay*	$\geq$ CIN2	$\geq$ CIN3
	Relação de probabilidade (IC de 95%)	Relação de probabilidade (IC de 95%)
HPV 16 e/ou 18/45 Positivo	11,2 (3,3, 38,4)	24,1 (2,6, 225,9)
Outros HPV de HR Positivos	3,5 (1,3, 9,4)	4,7 (0,7, 29,8)
HPV de HR Negativo	0,8 (0,6, 1,1)	0,4 (0,1, 2,2)

IC = Intervalo de confiança, HR = Alto risco

\*As mulheres com resultados negativos no Aptima HPV Assay foram consideradas negativas no Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay para fins de análise.

**Tabela 14:** População NILM  $\geq$  30 anos: Relações de probabilidade de  $\geq$ CIN2 e  $\geq$ CIN3 segundo os resultados do Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay e do Aptima HPV Assay (estimativas não ajustadas) na linha de referência

Interpretação do resultado do Aptima Assay*	$\geq$ CIN2	$\geq$ CIN3
	Relação de probabilidade (IC de 95%)	Relação de probabilidade (IC de 95%)
HPV 16 e/ou 18/45 Positivo	4,8 (2,1, 8,5)	7,4 (3,3, 12,0)
Outros HPV de HR Positivos	1,5 (0,7, 2,5)	1,5 (0,5, 2,9)
HPV de HR Negativo	0,4 (0,2, 0,8)	0,1 (0,0, 0,6)

IC = Intervalo de confiança, HR = Alto risco

\*As mulheres com resultados negativos no Aptima HPV Assay foram consideradas negativas no Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay para fins de análise.

## População NILM ≥ 30 anos: Desempenho clínico do Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay após 3 anos de acompanhamento

Havia 10.822 mulheres com idade igual ou superior a 30 anos com resultados citológicos de NILM e resultados do Aptima HPV Assay positivos e resultados do Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay válidos ou resultados do Aptima HPV Assay negativos no Panther System na linha de referência que eram elegíveis para a Fase de Acompanhamento. Entre as mulheres sem ≥CIN2, 67,0% (7235/10.802) das mulheres tinha concluído uma consulta de acompanhamento com citologia no ano 1, 60,3% (6505/10.793) no ano 2 e 58,7% (6330/10.786) no ano 3. Na globalidade, 58,8% (6366/10.822) das mulheres concluíram o estudo (tinham ≥CIN2 na linha de referência ou durante o acompanhamento), e/ou tinham concluído as consultas necessárias.

Dos 10.822 indivíduos, 490 (4,5%) mulheres tinham resultados do Aptima HPV Assay positivos na linha de referência e resultados do Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay válidos. Destas 490 mulheres, 247 (50,4%) tinham um estado da doença durante 3 anos positivo ou negativo com base nos resultados da citologia ou da colposcopia/biopsia. Vinte e cinco (25) mulheres tinham ≥CIN2, incluindo 18 com ≥CIN3; 222 mulheres tinham histologia normal/CIN1.

Das 247 mulheres avaliáveis com estado da doença durante 3 anos e resultados do Aptima HPV Assay positivos, 47 (19,0%) tinham resultados do Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay positivos que indicavam a presença de HPV 16 e/ou HPV 18/45 acima do “cutoff” clínico; 200 (81,0%) tinham resultados negativos, que indicavam a presença de um ou mais dos outros 11 tipos de HPV de alto risco acima do “cutoff” clínico.

As restantes 10.332 mulheres tinham resultados do Aptima HPV Assay negativos na linha de referência durante o ensaio CLEAR. Destas, 57,6% (5946/10.322) tinham um estado da doença durante 3 anos. Para fins de análise, as mulheres com resultados negativos no Aptima HPV Assay foram consideradas negativas no Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay. Os resultados do Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay na linha de referência e o consenso do painel de revisão de histologia do estado da doença durante 3 anos (inclui linha de referência e avaliação do acompanhamento) são apresentados na Tabela 15.

**Tabela 15:** População NILM ≥ 30 anos: Classificação de mulheres elegíveis para a Fase de Acompanhamento segundo os resultados da linha de referência do Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay e do Aptima HPV Assay, bem como do estado de doença determinado na linha de referência e nas Fases de Acompanhamento

Aptima HPV Resultado do ensaio	Resultado do AHPV-GT Assay	Interpretação	Estado da doença durante 3 anos (inclui linha de referência e avaliação do acompanhamento)							Total
			Perdas durante o acompanhamento	Indeterminado*	Normal	CIN1	CIN2	CIN3	Cancro	
Positivo	HPV 16 Pos, HPV 18/45 Neg	HPV 16 Pos	25	2	16	0	1	5	1	50
	HPV 16 Neg, HPV 18/45 Pos	HPV 18/45 Pos	22	3	18	2	2	0	2	49
	HPV 16 Pos, HPV 18/45 Pos	HPV 16 e 18/45 Pos	1	0	0	0	0	0	0	1
	HPV 16 Neg, HPV 18/45 Neg	Outros HPV de HR Pos	168	22	178	8	4	10	0	390
<b>Total</b>			216	27	212	10	7	15	3	490
Negativo	HPV 16/18/45 Neg**	HPV de HR Neg	4.150	236	5.879	46	16	5	0	10.332
<b>Total</b>			4.366	263	6.091	56	23	20	3 <sup>^</sup>	10.822

AHPV-GT = Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay; HR = Alto risco; Neg = Negativo; Pos = Positivo

\*Mulheres que tinham resultados anómalos no teste citológico durante o acompanhamento e que não dispunham de um resultado subsequente de consenso do painel de revisão de histologia, ou mulheres que tinham apresentado uma citologia inadequada na sua última consulta

\*\*As mulheres com resultados negativos no Aptima HPV Assay foram consideradas negativas no Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay para fins de análise.

<sup>^</sup>Três mulheres tinham adenocarcinoma in situ (AIS).



Os riscos cumulativos de doença durante 3 anos ( $\geq$ CIN2 e  $\geq$ CIN3) baseiam-se na estimativa de Kaplan-Meier (análise das tabelas de mortalidade) e incluem a doença detetada na linha de referência ou no acompanhamento. As mulheres que apresentavam alguma indicação de doença (ASC-US ou resultados citológicos mais graves), mas nenhum resultado de consenso do painel de revisão de histologia, foram incluídas na análise utilizando um método de imputação múltipla para prever o número de mulheres com doença que teriam sido identificadas caso as mulheres tivessem sido submetidas a colposcopia.

Os riscos absolutos cumulativos de doença durante 3 anos ( $\geq$ CIN2 e  $\geq$ CIN3) em função dos resultados do Aptima HPV Assay e do resultado do Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay são apresentados na Tabela 16. O risco relativo cumulativo de doença durante 3 anos para o Aptima 16 18/45 Genotype Assay com resultados positivos versus negativos é apresentado na Tabela 17.

**Tabela 16:** População NILM  $\geq$  30 anos: Risco absoluto cumulativo durante 3 anos\* de  $\geq$ CIN2 e  $\geq$ CIN3 para resultados do Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay e do Aptima HPV Assay na linha de referência

Resultado do Aptima HPV Assay	Resultado do AHPV-GT Assay	Interpretação	$\geq$ CIN2	$\geq$ CIN3
			Risco absoluto (IC de 95%)	Risco absoluto (IC de 95%)
Positivo	HPV 16 Pos e/ou HPV 18/45 Pos	HPV 16 e/ou HPV 18/45 Pos	16,5 (9,4, 28,1)	11,9 (6,0, 22,8)
	HPV 16 Pos, HPV 18/45 Neg	Apenas HPV 16 Pos	21,4 (10,8, 39,7)	18,6 (8,7, 37,3)
	HPV 16 Neg, HPV 18/45 Pos	Apenas HPV 18/45 Pos	12,2 (4,7, 29,6)	5,4 (1,3, 21,1)
	HPV 16 Pos, HPV 18/45 Pos	HPV 16 e 18/45 Pos	N/A	N/A
	HPV 16/18/45 Neg	Outros HPV de HR Pos	5,7 (3,4, 9,5)	3,8 (2,0, 7,2)
	Pos ou Neg	HPV de HR Pos	7,9 (5,4, 11,3)	5,4 (3,5, 8,5)
Negativo	HPV 16/18/45 Neg**	HPV de HR Neg	0,3 (0,2, 0,5)	0,1 (0,0, 0,2)
Prevalência			0,7%	0,3%

AHPV-GT = Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay; HR = Alto risco; N/A = Não aplicável; Neg = Negativo; Pos = Positivo

\*Os riscos cumulativos durante 3 anos ajustados para outros desvios possíveis foram semelhantes aos riscos apresentados nesta tabela. Devido às diferenças previstas em termos de riscos no ano 1 e no ano 2 para os dois grupos de mulheres do estudo de acompanhamento (com colposcopia na linha de referência e sem colposcopia na linha de referência), foi reportado apenas o risco cumulativo durante 3 anos para os grupos combinados.

\*\*As mulheres com resultados negativos no Aptima HPV Assay foram consideradas negativas no Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay para fins de análise.

**Tabela 17:** População NILM ≥ 30 anos: Risco relativo cumulativo durante 3 anos\* de ≥CIN2 e ≥CIN3 para resultados do Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay e do Aptima HPV Assay na linha de referência

Interpretação do teste Aptima Assay**	≥CIN2	≥CIN3
	Risco relativo (IC de 95%)	Risco relativo (IC de 95%)
HPV 16 e/ou 18/45 Pos vs. HPV de HR Neg	51,2 (25,9, 101,0)	129,6 (42,7, 393,5)
HPV 16 e/ou 18/45 Pos vs. Outros HPV de HR Pos	2,9 (1,4, 6,2)	3,1 (1,2, 7,9)
Outros HPV de HR Pos vs. HPV de HR Neg	17,6 (8,9, 34,9)	42,0 (14,2, 124,0)
HPV de HR Pos vs. HPV de HR Neg	24,3 (13,7, 43,2)	59,5 (22,0, 161,0)
<b>Prevalência</b>	0,7%	0,3%

IC = Intervalo de confiança; HR = Alto risco; Neg = Negativo; Pos = Positivo

\*Os riscos cumulativos durante 3 anos ajustados para outros desvios possíveis foram semelhantes aos riscos apresentados nesta tabela. Devido às diferenças previstas em termos de riscos no ano 1 e no ano 2 para os dois grupos de mulheres do estudo de acompanhamento (com colposcopia na linha de referência e sem colposcopia na linha de referência), foi reportado apenas o risco cumulativo durante 3 anos para os grupos combinados.

\*\*As mulheres com resultados negativos no Aptima HPV Assay foram consideradas negativas no Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay para fins de análise.

A prevalência cumulativa durante 3 anos de ≥CIN2 e ≥CIN3 em mulheres com resultados citológicos NILM na linha de referência foi de 0,7% e 0,3%, respectivamente. O risco relativo de detecção de ≥CIN2 nas mulheres com resultados positivos de HPV 16 e/ou 18/45 vs. resultados positivos de Outros HPV de HR foi de 2,9 (IC de 95%: 1,4, 6,2), o que indica que foi detetado ≥CIN2 em mulheres com resultados positivos de HPV 16 e/ou 18/45 2,9 vezes mais frequentemente do que em mulheres com resultados positivos de Outros HPV de HR. O risco relativo de ≥CIN3 foi de 3,1 (IC de 95%: 1,2, 7,9). O risco relativo de detecção de ≥CIN2 nas mulheres com resultados positivos de Outros HPV de HR vs. resultados negativos de HPV de HR foi de 17,6 (IC de 95%: 8,9, 34,9), o que indica que foi detetado ≥CIN2 em mulheres com resultados positivos de Outros HPV de HR 17,6 vezes mais frequentemente do que em mulheres com resultados negativos de HPV de HR. O risco relativo de ≥CIN3 foi de 42,0 (IC de 95%: 14,2, 124,0).

## Desempenho clínico do Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay com espécimes citológicos de base líquida SurePath

Foram colhidos espécimes citológicos de base líquida SurePath de mulheres canadianas encaminhadas para acompanhamento devido a uma ou mais citologias com resultados anómalos, infecção por HPV ou outra razão. Uma alíquota (0,5 ml) de cada espécime foi transferida para um tubo de transferência de espécimes Aptima e depois tratada com a Aptima Transfer Solution. Foi testada uma única réplica de cada espécime com o Aptima HPV Assay (n=500). As amostras positivas foram depois testadas com o Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay e o Aptima HPV Assay, sendo os resultados apresentados na Tabela 18. São apresentados resultados semelhantes para o teste de PCR do HPV disponível no mercado, que distingue o HPV 16 e o HPV 18, mas não o HPV 45, em separado dos outros genótipos de alto risco. O risco relativo de doença para resultados positivos versus negativos de genótipos é apresentado na Tabela 19 para o Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay e o teste de PCR do HPV.

**Tabela 18:** Risco absoluto de  $\geq$ CIN3 para os resultados do Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay e um teste de PCR do HPV disponível no mercado

Resultado do HPV de HR	Resultado do genótipo	Interpretação	Risco absoluto de $\geq$ CIN3 Aptima (IC de 95%)	Risco absoluto de $\geq$ CIN3 de PCR do HPV (IC de 95%)
<b>Positivo</b>	HPV 16 Pos e/ou HPV 18/45* Pos	HPV 16 e/ou HPV 18/45* Pos	13,9 (10,8-17,0)	13,9 (11,4-16,4)
	HPV 16 Pos e HPV 18/45* Neg	Apenas HPV 16 Pos	16,8 (12,4-21,3)	16,2 (12,8-19,5)
	HPV 16 Neg e/ou HPV 18/45* Pos	Apenas HPV 18/45* Pos	6,1 (2,0-12,9)	6,6 (2,1-13,9)
	HPV 16 Pos e/ou HPV 18/45* Pos	HPV 16 e HPV 18/45* Pos	25,0 (2,9-59,8)	12,5 (1,3-34,5)
	HPV 16 Neg e/ou HPV 18/45* Neg	Outros HPV de HR Pos	2,1 (1,4-2,8)	2,0 (1,4-2,7)
	Pos ou Neg	HPV de HR Pos	11,5 (10,3-12,4)	10,7 (9,8-11,4)
<b>Negativo**</b>	HPV 16 Neg e/ou HPV 18/45* Neg	HPV de HR Neg	1,1 (0,5-2,0)	0,6 (0,2-1,4)
Prevalência (%)			4,2%	4,6%

HR = Alto risco; Pos = Positivo; Neg = Negativo

\*O teste de PCR do HPV só distingue o HPV 16 e o HPV 18 dos outros 12 genótipos de alto risco, incluindo o HPV 45.

\*\*As mulheres com resultados negativos no Aptima HPV Assay foram consideradas negativas no Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay para fins de análise.

**Tabela 19:** Risco relativo de  $\geq$ CIN3 para os resultados do Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay e de um teste de PCR do HPV disponível no mercado

Resultados do Aptima Assay		Resultados do teste de PCR do HPV	
Interpretação dos testes	Risco relativo $\geq$ CIN3 (IC de 95%)	Interpretação dos testes	Risco relativo $\geq$ CIN3 (IC de 95%)
HPV 16 e/ou 18/45 positivo vs. HPV de HR negativo	12,6 (5,9-27,0)	HPV 16 e/ou 18/45 positivo vs. HPV de HR negativo	23,3 (8,4-64,3)
HPV 16 e/ou 18/45 positivo vs. outros HPV de HR positivos	3,0 (1,6-5,5)	HPV 16 e/ou 18/45 positivo vs. outros HPV de HR positivos	3,1 (1,8-5,3)
Outros HPV de HR positivos vs. HPV de HR negativo	4,2 (1,8-10,1)	Outros HPV de HR positivos vs. HPV de HR negativo	7,6 (2,6-22,4)
HPV de HR positivo vs. HPV de HR negativo	8,3 (4,0-17,3)	HPV de HR positivo vs. HPV de HR negativo	14,4 (5,3-39,5)
Prevalência	4,2%	Prevalência	4,6%

### Desempenho clínico do Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay com espécimes de colheita e transporte de espécimes cervicais

Os espécimes de CSCT foram colhidos em mulheres em consultas de rastreio ou acompanhamento e foram testados com o Aptima HPV Assay. Os espécimes de CSCT residuais (n=378) que apresentavam um resultado positivo no Aptima HPV Assay foram testados com o Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay no Tigris DTS System. O genótipo de HPV de cada espécime foi determinado utilizando um teste de genotipagem do DNA. Os espécimes que apresentavam discordâncias entre os resultados do teste de genotipagem (DNA e Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay) foram testados com um teste de sequenciação do PCR de transcriptase reversa para resolver o respetivo estado de HPV 16, HPV 18 e HPV 45. Foi determinada a concordância clínica (positiva e negativa) do Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay para a deteção do HPV 16, 18 e 45 de alto risco. Os resultados são apresentados na Tabela 20.

**Tabela 20:** Concordância clínica do Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay no Tigris DTS System para a detecção do HPV 16, 18 e 45 de alto risco em espécimes de CSCT

		Método de referência				Total
		HPV 16 Pos, HPV 18/45 Neg	HPV 16 Neg, HPV 18/45 Pos	HPV 16 Pos, HPV 18/45 Pos	HPV 16 Neg, HPV 18/45 Neg	
Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay	HPV 16 Pos, HPV 18/45 Neg	125	0	1	0	126
	HPV 16 Neg, HPV 18/45 Pos	0	43	0	1	44
	HPV 16 Pos, HPV 18/45 Pos	0	0	8	1	9
	HPV 16 Neg, HPV 18/45 Neg	1	1	0	197	199
	<b>Total</b>	<b>126</b>	<b>44</b>	<b>9</b>	<b>199</b>	<b>378</b>

Pos = Positivo, Neg = Negativo

Concordância positiva: 98,3% (176/179) (IC de 95%: 95,2, 99,4)

Concordância negativa: 99,0% (197/199) (IC de 95%: 96,4, 99,7)

### Desempenho clínico do Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay com espécimes de colheita e transporte de espécimes cervicais

O desempenho do Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay foi avaliado utilizando amostras de CSCT colhidas em mulheres encaminhadas para uma consulta de acompanhamento devido a um resultado de citologia anômalo. Os espécimes foram testados inicialmente com o Aptima HPV Assay (n=651). Os espécimes com um resultado positivo no Aptima HPV Assay (n=414) foram depois testados com o Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay no Tigris DTS System e no Panther System.

A concordância clínica do Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay em termos de detecção do HPV 16, 18 e 45 de alto risco com o Panther System foi determinada utilizando como base o resultado do Tigris DTS System como método de referência. Foram calculados as percentagens de concordância negativa e positiva e os intervalos de confiança da pontuação de 95% associados. Os resultados são apresentados na Tabela 21.

**Tabela 21:** Concordância clínica do Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay no Panther System para detecção do HPV 16, 18 e 45 de alto risco em espécimes de CSCT

		Resultado do Tigris DTS System				Total
		HPV 16 Pos, HPV 18/45 Neg	HPV 16 Neg, HPV 18/45 Pos	HPV 16 Pos, HPV 18/45 Pos	HPV 16 Neg, HPV 18/45 Neg	
Resultado do Panther System	HPV 16 Pos, HPV 18/45 Neg	194	0	1	3	198
	HPV 16 Neg, HPV 18/45 Pos	0	34	0	0	34
	HPV 16 Pos, HPV 18/45 Pos	0	0	7	0	7
	HPV 16 Neg, HPV 18/45 Neg	1	1	0	173	175
	<b>Total</b>	<b>195</b>	<b>35</b>	<b>8</b>	<b>176</b>	<b>414</b>

Pos = Positivo, Neg = Negativo

Concordância positiva: 98,7% (235/238) (IC de 95%: 96,4, 99,6)

Concordância negativa: 98,3% (173/176) (IC de 95%: 95,1, 99,4)

## Comparação dos resultados do Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay no Panther System em termos de amostras clínicas pré e pós-citologia ThinPrep

Foi realizado um estudo para avaliar a concordância dos resultados do Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay no Panther System em amostras cervicais testadas antes (Pré-citologia) ou depois (Pós-citologia) do processamento citológico no ThinPrep 5000 Processor.

As amostras pertenciam a mulheres nas quais tinha sido feita a colheita de espécimes cervicais que depois tinham sido mergulhados em frascos de citologia ThinPrep no âmbito dos cuidados padrão de rastreio do cancro do colo do útero.

Para cada indivíduo, foram transferidas manualmente duas alíquotas de 1 ml do espécime cervical conservado no frasco do ThinPrep Pap Test para dentro de um tubo de transferência de espécimes Aptima (amostra A e amostra B pré-citologia). A seguir ao processamento com o ThinPrep 5000, um 1 ml do espécime ThinPrep residual foi transferido para um tubo de transferência de espécimes Aptima (amostra C pós-citologia).

Foi avaliado um total de 214 amostras com resultados positivos no Aptima HPV Assay utilizando o Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay. A frequência de HPV 16 e/ou HPV 18/45 detetados pelo ensaio é apresentada na Tabela 22 para a população total, na Tabela 23 para a população NILM ( $\geq 30$  anos) e na Tabela 24 para a população ASC-US ( $\geq 21$  anos). Foram incluídas na análise apenas as amostras com resultados positivos no Aptima HPV Assay para a amostra A ou para a amostra B e positivos para a amostra C.

**Tabela 22:** População total<sup>1</sup>: frequência de genótipos de HPV 16 e/ou 18/45 detetados pelo Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay em amostras pré e pós-citologia

		Amostras A e B pré-citologia			
		HPV 16 Pos, HPV 18/45 Neg	HPV 16 Neg, HPV 18/45 Pos	Outros HPV de HR <sup>3</sup> Pos, HPV 16/18/45 Neg	Indeterminado <sup>4</sup>
Amostra C pós-citologia <sup>2</sup>	HPV 16 Pos, HPV 18/45 Neg	18	0	0	2
	HPV 16 Neg, HPV 18/45 Pos	0	9	2	4
	HPV 16 Pos e HPV 18/45 Pos	0	0	0	1
	Outros HPV de HR <sup>3</sup> Pos, HPV 16/18/45 Neg	0	0	175	3

HR = Alto risco, Neg = negativo, Pos = positivo.

<sup>1</sup> A população total inclui >ASC-US, NILM, ASC-US.

<sup>2</sup> Todas as amostras têm um conjunto completo de resultados para um espécime no Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay.

<sup>3</sup> Genótipos de HPV 31, 33, 35, 39, 51, 52, 56, 58, 59, 66, e/ou 68.

<sup>4</sup> Inclui amostras nas quais pelo menos uma amostra pré-citologia (A ou B) é negativa para HPV 16 e/ou HPV 18/45.

**Tabela 23:** População NILM ≥ 30 anos: Frequência de genótipos de HPV 16 e/ou 18/45 detetados pelo Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay em amostras pré e pós-citologia

		Amostras A e B pré-citologia			
		HPV 16 Pos, HPV 18/45 Neg	HPV 16 Neg, HPV 18/45 Pos	Outros HPV de HR <sup>2</sup> Pos, HPV 16/18/45 Neg	Indeterminado <sup>3</sup>
Amostra C pós-citologia <sup>1</sup>	HPV 16 Pos, HPV 18/45 Neg	5	0	0	2
	HPV 16 Neg, HPV 18/45 Pos	0	1	0	1
	Outros HPV de HR <sup>2</sup> Pos, HPV 16/18/45 Neg	0	0	71	2

HR = Alto risco, Neg = negativo, Pos = positivo.

<sup>1</sup> Todas as amostras têm um conjunto completo de resultados para um espécime no Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay.

<sup>2</sup> Genótipos de HPV 31, 33, 35, 39, 51, 52, 56, 58, 59, 66, e/ou 68.

<sup>3</sup> Inclui amostras nas quais pelo menos uma amostra pré-citologia (A ou B) é negativa para HPV 16 e/ou HPV 18/45.

**Tabela 24:** População ASC-US ≥ 21 anos: frequência de genótipos de HPV 16 e/ou 18/45 detetados pelo Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay em amostras pré e pós-citologia

		Amostras A e B pré-citologia			
		HPV 16 Pos, HPV 18/45 Neg	HPV 16 Neg, HPV 18/45 Pos	Outros HPV de HR <sup>2</sup> Pos, HPV 16/18/45 Neg	Indeterminado <sup>3</sup>
Amostra C pós-citologia <sup>1</sup>	HPV 16 Pos, HPV 18/45 Neg	3	0	0	0
	HPV 16 Neg, HPV 18/45 Pos	0	3	1	1
	Outros HPV de HR <sup>2</sup> Pos, HPV 16/18/45 Neg	0	0	48	0

HR = Alto risco, Neg = negativo, Pos = positivo.

<sup>1</sup> Todas as amostras têm um conjunto completo de resultados para um espécime no Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay.

<sup>2</sup> Genótipos de HPV 31, 33, 35, 39, 51, 52, 56, 58, 59, 66, e/ou 68.

<sup>3</sup> Inclui amostras nas quais pelo menos uma amostra pré-citologia (A ou B) é negativa para HPV 16 e/ou HPV 18/45.

## Sensibilidade analítica

O limite de detecção (Limit of Detection, LOD) no “cutoff” clínico é uma concentração que é positiva (acima do “cutoff” clínico) 95% das vezes. O LoD do Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay foi estimado testando espécimes individuais ou grupos de espécimes citológicos de base líquida ThinPrep negativos enriquecidos com transcritos de HPV *in vitro* ou células de cultura infectadas por HPV (SiHa, HeLa e MS751; ATCC, Manassas, Virginia) em várias concentrações. No caso dos painéis de transcritos *in vitro*, foram testadas 60 réplicas de cada nível de cópia com cada um dos dois lotes de reagentes para um total de 120 réplicas. No caso dos painéis de linhas celulares, foram testadas 30 réplicas de nível de cópia com cada um dos dois lotes de reagentes, para um total de 60 réplicas. O teste foi efetuado durante oito dias, com um mínimo de três execuções efetuadas por dia e cinco réplicas de um determinado genótipo testado em cada execução. O limite de detecção de 95% (Tabela 25) foi calculado a partir da análise de regressão Probit dos resultados de positividade para cada painel de diluição.

**Tabela 25:** Limite de detecção no “cutoff” clínico do Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay

Alvo	Limite de detecção* (IC de 95%)
HPV 16	23,7 (19,1, 30,9)
HPV 18	26,1 (21,2, 33,9)
HPV 45	34,5 (28,5, 43,6)
SiHa	0,4 (0,3, 0,7)
HeLa	0,7 (0,4, 1,4)
MS751	0,2 (0,1, 0,3)

\*cópias por reação para transcritos *in vitro* e células por reação para linhas celulares

## Precisão do ensaio

A precisão do Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay foi avaliada em dois estudos utilizando o mesmo painel de 24 membros. O Estudo 1 foi realizado em 3 locais de teste externos a fim de determinar a reprodutibilidade do ensaio. O Estudo 2 foi realizado internamente com o objetivo de determinar a precisão em laboratório. O painel incluiu 17 membros HPV 16 e/ou 18/45 positivos com concentrações iguais ou superiores ao limite de detecção do ensaio (positividade prevista:  $\geq 95\%$ ), 3 membros HPV 16 e/ou 18/45 positivos com concentrações abaixo do limite de detecção do ensaio (positividade prevista:  $> 0\%$  a  $< 25\%$ ) e 4 membros HPV negativos. Os membros positivos do painel do HPV 16 e/ou 18/45 foram preparados através do enriquecimento de transcritos *in vitro* ou células de cultura infectadas por HPV (SiHa, HeLa e MS751; ATCC, Manassas, Virginia) em espécimes citológicos de base líquida ThinPrep residuais agrupados ou diluindo espécimes clínicos do HPV 16, 18 e/ou 45 em espécimes citológicos de base líquida ThinPrep residuais agrupados diluídos com STM. Os membros negativos do painel do HPV foram preparados com espécimes citológicos de base líquida ThinPrep agrupados ou solução PreservCyt diluída com STM.

No Estudo 1, 2 operadores em cada um dos 3 locais de teste (1 instrumento por local) executaram 2 listas de trabalho do Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay por dia durante 3 dias. O teste foi executado utilizando 2 lotes de reagente. Cada lista de trabalho continha 3 réplicas de cada um dos membros do painel de reprodutibilidade. Foram testados cento e oito (108) tubos de amostra individuais para cada membro do painel (3 locais x 1 instrumento x 2 operadores x 2 lotes x 3 dias x 3 réplicas). No Estudo 2, o teste foi efetuado internamente durante 13 dias com um total de 162 reações testadas para cada membro do painel (1 local x 3 instrumentos x 3 operadores x 3 lotes x 2 listas de trabalho x 3 réplicas).

Os membros do painel são descritos na Tabela 26a e Tabela 26b, juntamente com um resumo da concordância com os resultados esperados para 16 HPV e HPV 18/45, respectivamente. A Tabela 27 apresenta os valores de S/CO do analisado do HPV 16 e do HPV 18/45 nos percentis 2,5, 50 e 97,5 da distribuição de S/CO. A variabilidade do S/CO do analisado do HPV 16 é apresentada na Tabela 28 para o Estudo 1 e na Tabela 29 para o Estudo 2 para os membros do painel com um resultado positivo esperado para o HPV 16. A variabilidade do S/CO do analisado do HPV 18/45 é apresentada na Tabela 30 para o Estudo 1 e na Tabela 31 para o Estudo 2 para os membros do painel com um resultado positivo esperado para o HPV 18/45.

Tabela 26a: Estudo de precisão 1 e 2 do Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay: descrição do painel e percentagem de concordância com os resultados esperados do HPV 16

Descrição do painel (cópias ou células/reacção)	HPV 16 Resultado esperado	Percentagem de concordância (IC de 95%)	
		Estudo 1 (3 locais de teste)	Estudo 2 (1 local de teste)
IVT do HPV 16 (240 cópias) Positivo alto	Positivo	100 (108/108) (96,6, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)
IVT do HPV 18 (260 cópias) Positivo alto	Negativo	100 (107/107) (96,5, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)
IVT do HPV 45 (350 cópias) Positivo alto	Negativo	99,1 (107/108) (94,9, 99,8)	99,4 (161/162) (96,6, 99,9)
Amostra clínica 1 do HPV 16 Positivo alto	Positivo	100 (108/108) (96,6, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)
Amostra clínica 1 do HPV 18/45 Positivo alto	Negativo	100 (108/108) (96,6, 100)	100 (161/161) (97,7, 100)
Células SiHa (4 células) – Positivo alto e células HeLa (0,7 células) – Positivo baixo	Positivo	100 (108/108) (96,6, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)
Células SiHa (0,4 células) – Positivo baixo e células HeLa (7 células) – Positivo alto	Positivo	99,1 (107/108) (94,9, 99,8)	97,5 (158/162) (94,0, 99,1)
Células SiHa (0,4 células) Positivo baixo	Positivo	99,1 (107/108) (94,9, 99,8)	97,5 (158/162) (94,0, 99,1)
Células HeLa (0,7 células) Positivo baixo	Negativo	100 (108/108) (96,6, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)
Células MS751 (0,2 células) Positivo baixo	Negativo	100 (108/108) (96,6, 100)	99,4 (158/159) (96,5, 99,9)
IVT do HPV 16 (24 cópias) Positivo baixo	Positivo	100 (107/107) (96,5, 100)	96,9 (157/162) (93,2, 98,7)
IVT do HPV 18 (26 cópias) Positivo baixo	Negativo	100 (108/108) (96,6, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)
IVT do HPV 45 (35 cópias) Positivo baixo	Negativo	100 (108/108) (96,6, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)
Amostra clínica 2 do HPV 16 Positivo baixo	Positivo	98,1 (105/107) (93,4, 99,5)	98,8 (160/162) (95,7, 99,7)
Amostra clínica 3 do HPV 16 Positivo baixo	Positivo	99,1 (107/108) (94,9, 99,8)	97,5 (158/162) (94,0, 99,1)
Amostra clínica 2 do HPV 18/45 Positivo baixo	Negativo	100 (107/107) (96,5, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)
Amostra clínica 3 do HPV 18/45 Positivo baixo	Negativo	100 (108/108) (96,6, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)
Células SiHa (0,001 células) Negativo alto	Negativo	97,2 (105/108) (92,1, 99,1)	98,1 (158/161) (94,8, 99,4)
Células HeLa (0,001 células) Negativo alto	Negativo	100 (108/108) (96,6, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)
Células MS751 (0,006 células) Negativo alto	Negativo	100 (108/108) (96,6, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)
Amostra clínica 1 negativa para HPV	Negativo	100 (107/107) (96,5, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)
Amostra clínica 2 negativa para HPV	Negativo	100 (108/108) (96,6, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)
PreservCyt 1 negativa para HPV	Negativo	100 (107/107) (96,5, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)
PreservCyt 2 negativa para HPV	Negativo	100 (107/107) (96,5, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)

IC = Intervalo de confiança de pontuação

*Nota: a percentagem de concordância pode ter sido afetada por variações de enriquecimento, diluição e/ou alíquotagem.*



Tabela 26b: Estudo de precisão 1 e 2 do Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay: descrição do painel e percentagem de concordância com os resultados esperados do HPV 18/45

Descrição do painel (cópias ou células/reacção)	Percentagem de concordância (IC de 95%)		
	Resultado esperado do HPV 18/45	Estudo 1 (3 locais de teste)	Estudo 2 (1 local de teste)
IVT do HPV 16 (240 cópias) Positivo alto	Negativo	100 (108/108) (96,6, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)
IVT do HPV 18 (260 cópias) Positivo alto	Positivo	100 (107/107) (96,5, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)
IVT do HPV 45 (350 cópias) Positivo alto	Positivo	100 (108/108) (96,6, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)
Amostra clínica 1 do HPV 16 Positivo alto	Negativo	100 (108/108) (96,6, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)
Amostra clínica 1 do HPV 18/45 Positivo alto	Positivo	100 (108/108) (96,6, 100)	100 (161/161) (97,7, 100)
Células SiHa (4 células) – Positivo alto e células HeLa (0,7 células) – Positivo baixo	Positivo	100 (108/108) (96,6, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)
Células SiHa (0,4 células) – Positivo baixo e células HeLa (7 células) – Positivo alto	Positivo	100 (108/108) (96,6, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)
Células SiHa (0,4 células) Positivo baixo	Negativo	100 (108/108) (96,6, 100)	99,4 (161/162) (96,6, 99,9)
Células HeLa (0,7 células) Positivo baixo	Positivo	100 (108/108) (96,6, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)
Células MS751 (0,2 células) Positivo baixo	Positivo	99,1 (107/108) (94,9, 99,8)	88,7 (141/159) (84,5, 93,5)
IVT do HPV 16 (24 cópias) Positivo baixo	Negativo	100 (107/107) (96,5, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)
IVT do HPV 18 (26 cópias) Positivo baixo	Positivo	99,1 (107/108) (94,9, 99,8)	100 (162/162) (97,7, 100)
IVT do HPV 45 (35 cópias) Positivo baixo	Positivo	99,1 (107/108) (94,9, 99,8)	98,1 (159/162) (94,7, 99,4)
Amostra clínica 2 do HPV 16 Positivo baixo	Negativo	100 (107/107) (96,5, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)
Amostra clínica 3 do HPV 16 Positivo baixo	Negativo	100 (108/108) (96,6, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)
Amostra clínica 2 do HPV 18/45 Positivo baixo	Positivo	100 (107/107) (96,5, 100)	95,7 (155/162) (91,7, 98,0)
Amostra clínica 3 do HPV 18/45 Positivo baixo	Positivo	100 (108/108) (96,6, 100)	98,8 (160/162) (95,6, 99,7)
Células SiHa (0,001 células) Negativo alto	Negativo	100 (108/108) (96,6, 100)	100 (161/161) (97,7, 100)
Células HeLa (0,001 células) Negativo alto	Negativo	97,2 (105/108) (92,1, 99,1)	98,1 (159/162) (94,7, 99,4)
Células MS751 (0,006 células) Negativo alto	Negativo	75,0 (81/108) (66,1, 82,2)	88,3 (143/162) (84,2, 93,2)
Amostra clínica 1 negativa para HPV	Negativo	99,1 (106/107) (94,9, 99,8)	100 (162/162) (97,7, 100)
Amostra clínica 2 negativa para HPV	Negativo	100 (108/108) (96,6, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)
PreservCyt 1 negativa para HPV	Negativo	100 (107/107) (96,5, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)
PreservCyt 2 negativa para HPV	Negativo	100 (107/107) (96,5, 100)	100 (162/162) (97,7, 100)

IC = Intervalo de confiança de pontuação

*Nota: a percentagem de concordância pode ter sido afetada por variações de enriquecimento, diluição e/ou alíquotagem.*

**Tabela 27:** Estudo de precisão 1 e 2 do Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay: distribuição dos percentis dos valores de S/CO do analisado do HPV 16 e HPV 18/45

Descrição do painel (cópias ou células/reacção)	Percentil de S/CO do analisado do HPV 16						Percentil de S/CO do analisado do HPV 18/45					
	Estudo 1 (3 locais de teste)			Estudo 2 (1 local de teste)			Estudo 1 (3 locais de teste)			Estudo 2 (1 local de teste)		
	2,5	50	97,5	2,5	50	97,5	2,5	50	97,5	2,5	50	97,5
IVT do HPV 16 (240 cópias) Positivo alto	2,86	3,26	3,53	2,92	3,30	3,60	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
IVT do HPV 18 (260 cópias) Positivo alto	0,00	0,30	0,59	0,13	0,34	0,51	5,22	5,66	8,86	5,24	5,53	6,17
IVT do HPV 45 (350 cópias) Positivo alto	0,00	0,22	0,43	0,08	0,24	0,41	4,37	4,92	8,78	4,40	5,05	5,99
Amostra clínica 1 do HPV 16 Positivo alto	2,49	3,12	3,34	2,67	3,10	3,41	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Amostra clínica 1 do HPV 18/45 Positivo alto	0,00	0,30	0,56	0,15	0,33	0,50	4,95	6,67	8,95	4,49	6,22	8,27
Células SiHa (4 células) – Positivo alto e células HeLa (0,7 células) – Positivo baixo	2,48	3,26	3,60	2,83	3,29	3,62	3,76	4,64	6,16	4,12	4,58	5,28
Células SiHa (0,4 células) – Positivo baixo e células HeLa (7 células) – Positivo alto	1,14	2,77	3,40	1,25	2,95	3,47	4,01	4,87	6,73	4,36	4,70	5,34
Células SiHa (0,4 células) Positivo baixo	1,60	2,81	3,24	1,13	2,70	3,26	0,00	0,00	0,09	0,00	0,00	0,00
Células HeLa (0,7 células) Positivo baixo	0,00	0,31	0,56	0,17	0,33	0,52	3,63	5,11	7,17	4,15	5,15	5,66
Células MS751 (0,2 células) Positivo baixo	0,00	0,26	0,41	0,12	0,28	0,38	1,33	4,23	6,28	0,34	3,34	5,38
IVT do HPV 16 (24 cópias) Positivo baixo	1,56	3,16	3,43	0,99	3,16	3,57	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
IVT do HPV 18 (26 cópias) Positivo baixo	0,00	0,30	0,52	0,14	0,30	0,51	4,76	5,48	8,01	4,47	5,42	5,86
IVT do HPV 45 (35 cópias) Positivo baixo	0,00	0,24	0,43	0,12	0,24	0,39	1,57	4,81	8,91	2,04	4,80	5,85
Amostra clínica 2 do HPV 16 Positivo baixo	1,37	2,95	3,51	1,25	2,90	3,30	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Amostra clínica 3 do HPV 16 Positivo baixo	1,80	2,96	3,58	1,15	2,84	3,26	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Amostra clínica 2 do HPV 18/45 Positivo baixo	0,03	0,28	0,46	0,16	0,33	0,46	2,50	4,20	7,04	0,69	3,60	4,85
Amostra clínica 3 do HPV 18/45 Positivo baixo	0,00	0,32	0,54	0,14	0,32	0,48	2,37	4,83	8,07	1,68	4,08	7,21
Células SiHa (0,001 células) Negativo alto	0,28	0,32	1,12	0,28	0,31	0,43	0,00	0,00	0,04	0,00	0,00	0,02
Células HeLa (0,001 células) Negativo alto	0,28	0,33	0,43	0,29	0,32	0,36	0,00	0,00	1,28	0,00	0,00	0,87
Células MS751 (0,006 células) Negativo alto	0,17	0,32	0,35	0,27	0,32	0,36	0,00	0,01	4,32	0,00	0,01	2,03
Amostra clínica 1 negativa para HPV	0,24	0,32	0,35	0,28	0,31	0,35	0,00	0,00	0,03	0,00	0,00	0,02
Amostra clínica 2 negativa para HPV	0,27	0,32	0,35	0,29	0,32	0,34	0,00	0,00	0,03	0,00	0,00	0,03
PreservCyt 1 negativa para HPV	0,27	0,33	0,37	0,30	0,33	0,36	0,00	0,00	0,02	0,00	0,00	0,02
PreservCyt 2 negativa para HPV	0,29	0,33	0,37	0,30	0,33	0,35	0,00	0,00	0,02	0,00	0,00	0,01

**Tabela 28:** Estudo de precisão 1 do Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay: variabilidade do sinal do analisado do HPV 16 dos membros do painel com um resultado positivo esperado de HPV 16

Descrição do painel (cópias ou células/reação)	N	S/CO média	Entre centros		Entre operadores		Entre lotes		Entre listas de trabalho		Dentro das listas de trabalho		Total	
			DP	CV (%)	DP	CV (%)	DP	CV (%)	DP	CV (%)	DP	CV (%)	DP	CV (%)
<b>IVT do HPV 16 (240 cópias) Positivo alto</b>	108	3,23	0,06	2,0	0,00	0,0	0,00	0,0	0,09	2,9	0,14	4,2	0,18	5,5
<b>Amostra clínica 1 do HPV 16 – Positivo alto</b>	108	3,07	0,07	2,4	0,00	0,0	0,00	0,0	0,11	3,6	0,16	5,2	0,21	6,8
<b>Células SiHa (4 células) Positivo alto e células HeLa (0,7 células) Positivo baixo</b>	108	3,22	0,10	3,2	0,02	0,6	0,00	0,0	0,08	2,4	0,21	6,5	0,25	7,6
<b>Células SiHa (0,4 células) Positivo baixo e células HeLa (7 células) Positivo alto</b>	108	2,63	0,05	1,8	0,00	0,0	0,00	0,0	<0,01	0,0	0,58	22,3	0,59	22,3
<b>Células SiHa (0,4 células) Positivo baixo</b>	108	2,65	0,00	0,0	0,00	0,0	0,12	4,6	0,00	0,0	0,44	16,6	0,46	17,3
<b>IVT do HPV 16 (24 cópias) Positivo baixo</b>	107*	3,01	0,06	2,1	0,05	1,5	0,05	1,6	0,00	0,0	0,44	14,6	0,45	14,9
<b>Amostra clínica 2 do HPV 16 Positivo baixo</b>	107*	2,88	0,08	2,8	0,00	0,0	0,08	2,9	0,17	5,9	0,39	13,7	0,44	15,4
<b>Amostra clínica 3 do HPV 16 Positivo baixo</b>	108	2,89	0,00	0,0	0,00	0,0	0,00	0,0	0,14	4,8	0,39	13,5	0,41	14,4

CV = Coeficiente de variação; DP = Desvio padrão

\*Duas amostras tiveram resultados do Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay inválidos e não foram incluídas na análise.

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 mostrados como zero.

**Tabela 29:** Estudo de precisão 2 do Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay: variabilidade do sinal do analisado do HPV 16 dos membros do painel com um resultado positivo esperado de HPV 16

Descrição do painel (cópias ou células/reação)	N	S/CO média	Entre instrumentos		Entre operadores		Entre lotes		Entre listas de trabalho		Dentro das listas de trabalho		Total	
			DP	CV (%)	DP	CV (%)	DP	CV (%)	DP	CV (%)	DP	CV (%)	DP	CV (%)
IVT do HPV 16 (240 cópias) Positivo alto	162	3,28	0,05	1,5	0,02	0,5	0,12	3,8	0,17	5,3	0,13	3,8	0,25	7,7
Amostra clínica 1 do HPV 16 Positivo alto	162	3,08	0,04	1,2	0,00	0,0	0,08	2,6	0,07	2,3	0,19	6,2	0,22	7,2
Células SiHa (4 células) Positivo alto e células HeLa (0,7 células) Positivo baixo	162	3,27	0,05	1,6	0,00	0,0	0,05	1,4	0,13	4,0	0,18	5,5	0,23	7,2
Células SiHa (0,4 células) Positivo baixo e células HeLa (7 células) Positivo alto	162	2,78	0,08	2,8	0,04	1,3	0,28	10,2	0,20	7,1	0,53	18,9	0,64	22,8
Células SiHa (0,4 células) Positivo baixo	162	2,54	0,16	6,2	0,05	2,0	0,29	11,4	0,25	9,9	0,47	18,6	0,63	24,8
IVT do HPV 16 (24 cópias) Positivo baixo	162	3,04	0,03	1,0	0,05	1,5	0,20	6,5	0,34	11,3	0,36	11,8	0,54	17,7
Amostra clínica 2 do HPV 16 Positivo baixo	162	2,77	0,08	2,9	0,00	0,0	0,23	8,3	0,21	7,5	0,37	13,3	0,49	17,7
Amostra clínica 3 do HPV 16 Positivo baixo	162	2,67	0,03	1,1	0,04	1,6	0,22	8,1	0,25	9,2	0,49	18,2	0,59	22,0

CV = Coeficiente de variação; DP = Desvio padrão

**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 mostrados como zero.

**Tabela 30:** Estudo de precisão 1 do Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay: variabilidade do sinal do analisado do HPV 18/45 dos membros do painel com um resultado positivo esperado de HPV 18/45

Descrição do painel (cópias ou células/reacção)	N	S/CO média	Entre centros		Entre operadores		Entre lotes		Entre listas de trabalho		Dentro das listas de trabalho		Total	
			DP	CV (%)	DP	CV (%)	DP	CV (%)	DP	CV (%)	DP	CV (%)	DP	CV (%)
IVT do HPV 18 (260 cópias) Positivo alto	107*	5,88	0,33	5,5	0,52	8,9	0,00	0,0	0,43	7,4	0,17	2,8	0,77	13,1
IVT do HPV 45 (350 cópias) Positivo alto	108	5,12	0,43	8,4	0,47	9,2	0,31	6,1	0,58	11,3	0,18	3,6	0,93	18,2
Amostra clínica 1 do HPV 18/45 Positivo alto	108	6,71	0,66	9,8	0,58	8,7	0,50	7,5	0,42	6,2	0,94	14,0	1,44	21,5
Células SiHa (4 células) Positivo alto e células HeLa (0,7 células) Positivo baixo	108	4,69	0,22	4,7	0,10	2,1	0,08	1,7	0,10	2,2	0,54	11,4	0,60	12,8
Células SiHa (0,4 células) Positivo baixo e células HeLa (7 células) Positivo alto	108	4,94	0,28	5,7	0,00	0,0	0,00	0,0	0,38	7,7	0,42	8,4	0,63	12,7
Células HeLa (0,7 células) Positivo baixo	108	5,17	0,38	7,4	0,00	0,0	0,00	0,0	0,40	7,6	0,56	10,8	0,78	15,1
Células MS751 (0,2 células) Positivo baixo	108	4,00	0,62	15,4	0,00	0,0	0,38	9,5	0,47	11,8	0,94	23,5	1,28	31,9
IVT do HPV 18 (26 cópias) Positivo baixo	108	5,52	0,21	3,8	0,15	2,7	0,00	0,0	0,37	6,7	0,60	10,9	0,75	13,7
IVT do HPV 45 (35 cópias) Positivo baixo	108	4,71	0,34	7,1	0,41	8,6	0,15	3,1	0,69	14,6	0,88	18,6	1,24	26,3
Amostra clínica 2 do HPV 18/45 Positivo baixo	107*	4,29	0,17	4,0	0,00	0,0	0,00	0,0	0,38	8,9	1,05	24,6	1,13	26,5
Amostra clínica 3 do HPV 18/45 Positivo baixo	108	5,12	0,38	7,5	0,00	0,0	0,38	7,4	0,00	0,0	1,37	26,8	1,47	28,8

CV = Coeficiente de variação; DP = Desvio padrão

\*Duas amostras tiveram resultados do Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay inválidos e não foram incluídas na análise.

**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 mostrados como zero.

**Tabela 31:** Estudo de precisão 2 do Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay: variabilidade do sinal do analisado do HPV 18/45 dos membros do painel com um resultado positivo esperado de HPV 18/45

Descrição do painel (cópias ou células/reação)	N	S/CO média	Entre instrumentos		Entre operadores		Entre lotes		Entre listas de trabalho		Dentro das listas de trabalho		Total	
			DP	CV (%)	DP	CV (%)	DP	CV (%)	DP	CV (%)	DP	CV (%)	DP	CV (%)
IVT do HPV 18 (260 cópias) Positivo alto	162	5,56	0,08	1,5	0,06	1,1	0,05	0,9	0,13	2,4	0,14	2,6	0,23	4,1
IVT do HPV 45 (350 cópias) Positivo alto	162	5,09	0,16	3,1	0,00	0,0	0,54	10,6	0,46	9,1	0,12	2,3	0,74	14,5
Amostra clínica 1 do HPV 18/45 Positivo alto	161*	6,22	0,10	1,7	0,00	0,0	0,26	4,2	0,00	0,0	1,06	17,1	1,10	17,7
Células SiHa (4 células) Positivo alto e células HeLa (0,7 células) Positivo baixo	162	4,59	0,00	0,0	0,07	1,5	0,07	1,4	0,20	4,3	0,23	5,0	0,32	6,9
Células SiHa (0,4 células) Positivo baixo e células HeLa (7 células) Positivo alto	162	4,78	0,00	0,0	0,08	1,7	0,00	0,0	0,30	6,3	0,24	5,0	0,39	8,2
Células HeLa (0,7 células) Positivo baixo	162	5,08	0,08	1,5	0,00	0,0	0,00	0,0	0,15	3,0	0,31	6,1	0,35	7,0
Células MS751 (0,2 células) Positivo baixo	159*	3,19	0,18	5,7	0,36	11,2	0,71	22,4	0,15	4,7	1,36	42,6	1,59	50,0
IVT do HPV 18 (26 cópias) Positivo baixo	162	5,38	0,00	0,0	0,00	0,0	0,00	0,0	0,23	4,4	0,25	4,7	0,35	6,4
IVT do HPV 45 (35 cópias) Positivo baixo	162	4,79	0,31	6,4	0,11	2,3	0,55	11,4	0,62	13,0	0,50	10,5	1,02	21,4
Amostra clínica 2 do HPV 18/45 Positivo baixo	162	3,21	0,00	0,0	0,02	0,8	0,36	11,1	0,00	0,0	1,14	35,5	1,20	37,2
Amostra clínica 3 do HPV 18/45 Positivo baixo	162	4,09	0,00	0,0	0,00	0,0	0,00	0,0	0,15	3,6	1,33	32,6	1,34	32,8

CV = Coeficiente de variação; DP = Desvio padrão

\*Duas amostras tiveram resultados do Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay inválidos e não foram incluídas na análise.

**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 mostrados como zero.

## Reatividade cruzada

**Nota:** Os testes de organismos potencialmente com reatividade cruzada para o Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay foram realizados utilizando o Tigris DTS System. O Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay foi lançado pela primeira vez no Tigris DTS System em 2012. Em 2013, as indicações alargaram-se à utilização do Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay no Panther System. O Panther System é uma plataforma de instrumentos mais pequena, que é uma alternativa ao Tigris DTS System. Os sistemas destinam-se ambos a automatizar totalmente os testes de ácidos nucleicos dos ensaios de diagnóstico. Os testes de desempenho do ensaio selecionados concluídos no Tigris DTS System foram aproveitados para apoiar o desempenho do ensaio no Panther System.

A especificidade analítica do Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay foi avaliada com grupos de espécimes citológicos de base líquida ThinPrep residuais diluídos a 1:2,9 no STM (comparável a um espécime transferido para um tubo de transferência de espécimes Aptima) e enriquecidos com bactérias, leveduras ou fungos em cultura, vírus em cultura ou transcritos *in vitro* de HPV não alvos. Os organismos e as concentrações de teste nos quais não foi observada reatividade cruzada encontram-se identificados na Tabela 32. Os critérios do estudo para a avaliação do efeito da presença de microrganismos na especificidade do ensaio basearam-se na positividade.

**Tabela 32:** Painel de especificidade analítica: organismos e concentração sem reatividade cruzada

Organismo	Concentração de teste sem reatividade cruzada	Organismo	Concentração de teste sem reatividade cruzada
<b>Bactérias</b>			
<i>Acinetobacter lwoffii</i>	1x10 <sup>6</sup> CFU/ml	<i>Lactobacillus acidophilus</i>	1x10 <sup>6</sup> CFU/ml
<i>Actinomyces israelii</i>	1x10 <sup>6</sup> CFU/ml	<i>Lactobacillus crispatus</i>	1x10 <sup>6</sup> CFU/ml
<i>Alcaligenes faecalis</i>	1x10 <sup>6</sup> CFU/ml	<i>Listeria monocytogenes</i>	1x10 <sup>6</sup> CFU/ml
<i>Atopobium vaginae</i>	1x10 <sup>6</sup> CFU/ml	<i>Mobiluncus curtisii</i>	1x10 <sup>6</sup> CFU/ml
<i>Bacteroides fragilis</i>	1x10 <sup>6</sup> CFU/ml	<i>Mycoplasma genitalium*</i>	2,5x10 <sup>6</sup> cópias/ml
<i>Bifidobacterium adolescentis</i>	1x10 <sup>6</sup> CFU/ml	<i>Mycoplasma hominis</i>	1x10 <sup>6</sup> CFU/ml
<i>Campylobacter jejuni</i>	1x10 <sup>6</sup> CFU/ml	<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	1x10 <sup>6</sup> CFU/ml
<i>Chlamydia trachomatis</i>	1x10 <sup>5</sup> IFU/ml	<i>Peptostreptococcus magnus</i>	1x10 <sup>6</sup> CFU/ml
<i>Clostridium difficile</i>	1x10 <sup>6</sup> CFU/ml	<i>Prevotella bivia</i>	1x10 <sup>6</sup> CFU/ml
<i>Corynebacterium genitalium</i>	1x10 <sup>6</sup> CFU/ml	<i>Propionibacterium acnes</i>	1x10 <sup>6</sup> CFU/ml
<i>Cryptococcus neoformans</i>	1x10 <sup>6</sup> CFU/ml	<i>Proteus vulgaris</i>	1x10 <sup>6</sup> CFU/ml
<i>Enterobacter cloacae</i>	1x10 <sup>6</sup> CFU/ml	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	1x10 <sup>6</sup> CFU/ml
<i>Enterococcus faecalis</i>	1x10 <sup>6</sup> CFU/ml	<i>Staphylococcus aureus</i>	1x10 <sup>6</sup> CFU/ml
<i>Escherichia coli</i>	1x10 <sup>6</sup> CFU/ml	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	1x10 <sup>6</sup> CFU/ml
<i>Fusobacterium nucleatum</i>	1x10 <sup>6</sup> CFU/ml	<i>Streptococcus agalactiae</i>	1x10 <sup>6</sup> CFU/ml
<i>Gardnerella vaginalis</i>	1x10 <sup>6</sup> CFU/ml	<i>Streptococcus pyogenes</i>	1x10 <sup>6</sup> CFU/ml
<i>Haemophilus ducreyi</i>	1x10 <sup>6</sup> CFU/ml	<i>Ureaplasma urealyticum</i>	1x10 <sup>6</sup> CFU/ml
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	1x10 <sup>6</sup> CFU/ml		
<b>Genótipos de HPV de alto risco não alvo*</b>			
HPV 31	2,5x10 <sup>6</sup> cópias/ml	HPV 56	2,5x10 <sup>6</sup> cópias/ml
HPV 33	2,5x10 <sup>6</sup> cópias/ml	HPV 58	2,5x10 <sup>6</sup> cópias/ml
HPV 35	2,5x10 <sup>6</sup> cópias/ml	HPV 59	2,5x10 <sup>6</sup> cópias/ml
HPV 39	2,5x10 <sup>6</sup> cópias/ml	HPV 66	2,5x10 <sup>6</sup> cópias/ml

Tabela 32: Painel de especificidade analítica: organismos e concentração sem reatividade cruzada (continuação)

Organismo	Concentração de teste sem reatividade cruzada	Organismo	Concentração de teste sem reatividade cruzada
HPV 51	2,5x10 <sup>6</sup> cópias/ml	HPV 68	2,5x10 <sup>6</sup> cópias/ml
HPV 52	2,5x10 <sup>6</sup> cópias/ml		
<b>Leveduras/protozoários</b>			
<i>Candida albicans</i>	1x10 <sup>6</sup> CFU/ml	<i>Trichomonas vaginalis</i> **	1x10 <sup>5</sup> células/ml
<b>Vírus</b>			
Adenovírus	5,25x10 <sup>7</sup> PFU/ml	HIV-1	2,5x10 <sup>6</sup> cópias/ml
Citomegalovírus	1,58x10 <sup>6</sup> TCID <sub>50</sub> /ml	Vírus herpes simplex 1	3,39x10 <sup>6</sup> TCID <sub>50</sub> /ml
Vírus Epstein-Barr	1,59x10 <sup>6</sup> TD <sub>50</sub> /ml	Vírus herpes simplex 2	2,29x10 <sup>6</sup> TCID <sub>50</sub> /ml
<b>Genótipos de outros HPV não alvo*</b>			
HPV 6	2,5x10 <sup>6</sup> cópias/ml	HPV 53	2,5x10 <sup>6</sup> cópias/ml
HPV 11	2,5x10 <sup>6</sup> cópias/ml	HPV 67	2,5x10 <sup>6</sup> cópias/ml
HPV 26	2,5x10 <sup>6</sup> cópias/ml	HPV 69	2,5x10 <sup>6</sup> cópias/ml
HPV 30	2,5x10 <sup>6</sup> cópias/ml	HPV 70	2,5x10 <sup>6</sup> cópias/ml
HPV 34	2,5x10 <sup>6</sup> cópias/ml	HPV 73	2,5x10 <sup>6</sup> cópias/ml
HPV 42	2,5x10 <sup>6</sup> cópias/ml	HPV 82	2,5x10 <sup>6</sup> cópias/ml
HPV 43	2,5x10 <sup>6</sup> cópias/ml	HPV 85	2,5x10 <sup>6</sup> cópias/ml
HPV 44	2,5x10 <sup>6</sup> cópias/ml		

CFU = Unidades de formação de colônias, PFU = Unidades de formação de placas, TD<sub>50</sub> = Dose de transformação 50, TCID<sub>50</sub> = Dose infecciosa de cultura de tecido 50

\*Transcrito *in vitro* testado.

\*\*Embora não tenha sido observada reatividade cruzada para *Trichomonas vaginalis*, foi observada interferência (ver abaixo).

A sensibilidade analítica do Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay na presença de microrganismos foi avaliada com o mesmo painel descrito na Tabela 32 que foi também enriquecido com uma baixa concentração de células SiHa infetadas por HPV (1,6 células por reação) e células HeLa infetadas por HPV (0,3 células/reação). Os critérios do estudo para a avaliação do efeito da presença de microrganismos na sensibilidade do ensaio basearam-se na positividade. A presença de microrganismos não interferiu com o Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay com exceção da *Trichomonas vaginalis* (TV). Foi observada interferência com TV quando presente em concentrações superiores a 3 x 10<sup>4</sup> células/ml.



## Interferência

**Nota:** Os testes com potenciais substâncias interferentes para o Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay foram realizados utilizando o Tigris DTS System. O Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay foi lançado pela primeira vez no Tigris DTS System em 2012. Em 2013, as indicações alargaram-se à utilização do Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay no Panther System. O Panther System é uma plataforma de instrumentos mais pequena, que é uma alternativa ao Tigris DTS System. Os sistemas destinam-se ambos a automatizar totalmente os testes de ácidos nucleicos dos ensaios de diagnóstico. Os testes de desempenho do ensaio selecionados concluídos no Tigris DTS System foram aproveitados para apoiar o desempenho do ensaio no Panther System.

As substâncias descritas na Tabela 33 foram enriquecidas individualmente em espécimes de citologia de base líquida ThinPrep agrupados diluídos a 1:2,9 em STM nas concentrações especificadas na tabela. Todas as substâncias foram testadas com o Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay na presença e ausência de células de cultura infetadas por HPV (SiHa, 1,6 células/reação e HeLa, 0,3 células/reação). Foi observada interferência com o seguinte quando presente em concentrações superiores às especificadas: lubrificantes vaginais (que contenham Poliquatérnio 15) a 1% p/v, creme antifúngico (que contenha tioconazol) a 0,03% p/v, muco a 0,3% p/v, hormonas intravaginais (que contenham progesterona) a 1% p/v.

**Tabela 33:** Substâncias testadas relativamente a possível interferência com o Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay

Categoria do produto	Marca ou tipo de produto	Concentração mais elevada testada que não interferiu com o ensaio*
Lubrificante vaginal	KY natural feeling liquid	10% v/v
	up & up (Target brand) personal lubricant liquid	
	Astroglide**	1% p/v
Espermicida/gel contraceptivo	Vaginal Contraceptive Foam (VCF)	10% p/v
	Options Conceptrol Vaginal Contraceptive Gel	
Creme antifúngico	up & up (Target brand) miconazole 3	10% p/v
	Monistat 3 Combination Pack	
	up & up (Target brand) Tioconazole 1	0,03% p/v
Duche	Summer's Eve Douche	10% v/v
	up & up (Target brand) feminine douche	
Spray feminino	Summer's Eve Feminine Deodorant Spray	10% p/v
	FDS Feminine Deodorant Spray	
Muco	Mucina de suínos	0,3% p/v
Hormonas intravaginais	Crema vaginal Estrace (estrogénio)	10% p/v
	Crema Crinone (progesterona)	1% p/v
Sangue total***	sangue total	5% v/v
Leucócitos	leucócitos	1x10 <sup>7</sup> células/ml
Solução de lavagem de ácido acético glacial <sup>^</sup>	Ácido acético glacial + Solução CytoLyt	2,6% v/v

\*Concentração na amostra de teste; espécime citológico de base líquida ThinPrep diluído a 1:2.9 no STM (comparável a um espécime transferido para um tubo de transferência de espécimes Aptima)

\*\*Lubrificante pessoal que contenha Poliquatérnio 15.

\*\*\*O sangue total interferiu com o ensaio quando presente a 10% v/v da concentração do teste

<sup>^</sup>solução de lavagem de ácido acético glacial preparada misturando 1 parte de ácido acético glacial com 9 partes de solução CytoLyt, conforme indicado no Manual de instruções dos sistemas ThinPrep.

## Bibliografia

1. **Doorbar, J.** 2006. Molecular biology of human papillomavirus infection and cervical cancer. *Clin Sci (Lond)*. 110(5):525-41.
2. **Monsonego J., F.X. Bosch, P. Coursaget, J.T. Cox, E. Franco, I. Frazer, R. Sankaranarayanan, J. Schiller, A. Singer, T.C. Wright Jr, W. Kinney, C.J. Meijer, J. Linder, E. McGoogan e C. Meijer.** 2004. Cervical cancer control, priorities and new directions. *Int J Cancer*. 108(3):329-33. Errata em: *Int J Cancer*. 108(6):945.
3. **Walboomers, J. M., M.V. Jacobs, M.M. Manos, F.X. Bosch, J.A. Kummer, K.V. Shah, P.J. Snijders, J. Peto, C. J. Meijer, N. Muñoz.** 1999. Human papillomavirus is a necessary cause of invasive cervical cancer worldwide. *J Pathol*. 189:12-19.
4. **Lambert P.F., H. Pan, H.C. Pitot, A. Liem, M. Jackson, and A.E. Griep.** 1993. Epidermal cancer associated with expression of human papillomavirus type 16 E6 and E7 oncogenes in the skin of transgenic mice. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 90(12):5583-7.
5. **Kjaer S.K., A.J.C. van den Brule, G., Paull, E.I. Svare, M.E. Sherman, B.L. Thomsen, M. Suntum, J.E. Bock, P.A. Poll, and C.J.L.M. Meijer.** 2002. Type specific persistence of high risk human papillomavirus (HPV) as indicator of high grade cervical squamous intraepithelial lesions in young women: population based prospective follow up study. *BMJ*. 325(7364): 572-579.
6. **Burd, E.M.** 2003. Human papillomavirus and cervical cancer. *Clin Microbiol Rev*. 16(1):1-17.
7. **Li N., Franceschi S., Howell-Jones R., Snijders P.J.F., Clifford G.M.** Human papillomavirus type distribution in 30,848 invasive cervical cancers worldwide: Variation by geographical region, histological type and year of publication. *Int J Cancer*. 2011;128: 927-935. doi 10.1002/ijc.25396.
8. **Cuschieri, K.S., M.J. Whitley, H.A. Cubie.** 2004. Human papillomavirus type specific DNA and RNA persistence--implications for cervical disease progression and monitoring. *J. Med. Virol*. 73(1): 65-70.
9. **Czegledy J., C. Losif, B.G. Hansson, M. Evander, L. Gergely e G. Wadell.** 1995. Can a test for E6/E7 transcripts of human papillomavirus type 16 serve as a diagnostic tool for the detection of micrometastasis in cervical cancer? *Int J Cancer*. 64(3):211-5.
10. **De Sanjose S., et al.** 2010. Human papillomavirus genotype attribution in invasive cervical cancer: a retrospective cross-sectional worldwide study. *The Lancet*. DOI 10.1016/S1470-2045(10)70230-8.
11. **Burger R.A., B. J. Monk, T. Kurosaki, H. Anton-Culver, S. Vasilv, M. L. Berman and S.P. Wilczynski.** 1996. Human Papillomavirus Type 18: Association with poor prognosis in early stage cervical cancer. *J. Nat. Cancer institute*. 88(19): 1361-1368.
12. **Safaeian M., M. Schiffman, J. Gage, D. Solomon, C. Wheeler and P. Castle.** 2009. Detection of Precancerous Cervical Lesions Is Differential by Human Papillomavirus Type. *Cancer Res*. 69(8): 3262-3266.
13. **Khan, M.J., P.E. Castle, A.T. Lorincz, S. Wacholder, M. Sherman, D.R. Scott, B.B. Rush, A.G. Glass and M. Schiffman.** 2005. The elevated 10-year risk of cervical precancer and cancer in women with human papillomavirus (HPV) type 16 or 18 and the possible utility of type-specific HPV testing in clinical practice. *J. Natl. Cancer Inst*. 97(14): 1072-1079.
14. **ASCCP: American Society for Colposcopy and Cervical Pathology.** HPV Genotyping Clinical Update. 2009. [http://www.asccp.org/Portals/9/docs/pdfs/Consensus%20Guidelines/clinical\\_update\\_20090408.pdf](http://www.asccp.org/Portals/9/docs/pdfs/Consensus%20Guidelines/clinical_update_20090408.pdf). Consultado em 22 de março de 2012.
15. **Wright T.C., S. Massad, C. J. Dunton, M. Spitzer, E.J. Wilkinson and D. Solomon.** 2007. 2006 Consensus guidelines for the management of women with abnormal cervical screening tests. *Journal of Lower Genital Tract Disease*. 11(4):201-222.
16. **Kacian, D.L. and T.J. Fultz.** 1995. Nucleic acid sequence amplification methods. U. S. Patent 5,399,491.
17. **Arnold, L. J., P. W. Hammond, W. A. Wiese, and N. C. Nelson.** 1989. Assay formats involving acridinium-ester-labeled DNA probes. *Clin Chem*. 35: 1588-1594.
18. **Nelson, N.C., A. BenCheikh, E. Matsuda, and M. Becker.** 1996. Simultaneous detection of multiple nucleic acid targets in a homogeneous format. *Biochem*. 35:8429-8438.

## Informações de contacto e histórico de revisões



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



Morada do promotor australiano:  
Hologic (Australia & New Zealand) Pty Ltd  
Macquarie Park NSW 2113



**Hologic BV**  
Da Vincilaan 5  
1930 Zaventem  
Belgium

Para obter o endereço de e-mail e o número de telefone da assistência técnica e do apoio ao cliente específicos de cada país, visite [www.hologic.com/support](http://www.hologic.com/support).

Este produto destina-se a ser utilizado apenas no âmbito do diagnóstico *in vitro* em seres humanos.

Os incidentes graves que ocorram na União Europeia e estejam relacionados com o dispositivo devem ser comunicados ao fabricante e às autoridades competentes do Estado-Membro onde o utilizador e/ou o paciente reside(m).

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

SUREPATH e PREPSTAIN são marcas comerciais da TriPath Imaging, Inc.

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

Este produto pode estar abrangido por uma ou mais patentes nos Estados Unidos, as quais estão identificadas em: [www.hologic.com/patents](http://www.hologic.com/patents).

© 2007-2022 Hologic, Inc. Todos os direitos reservados.  
AW-22203-601 Rev. 001  
2022-09

Histórico de Revisões	Data	Descrição
AW-22203 Rev. 001	Setembro de 2022	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Criação das Instruções de utilização do Aptima HPV-GT Assay AW-22203 Rev. 001 com base na AW-11504 Rev. 010 para conformidade regulamentar com o IVDR.</li> <li>• Atualização das informações sobre perigos para a UE</li> <li>• Atualização das secções de Informações gerais da utilização prevista, Advertências e precauções, Requisitos de Conservação e Manuseamento de Reagentes, Procedimento de controlo de qualidade, Colheita e conservação de espécimes, Reagentes e materiais fornecidos, Materiais necessários, mas disponíveis em separado e Desempenho do Panther System Assay.</li> <li>• Atualização da Tabela 18 e da Tabela 19 da secção Desempenho clínico do Aptima HPV 16 18/45 Genotype Assay com espécimes citológicos de base líquida SurePath.</li> <li>• Atualização das informações de contacto, incluindo: representante na CE, marcação CE, informações do representante australiano e suporte técnico.</li> </ul>