

Aptima™ Neisseria gonorrhoeae Assay

Instruções de Utilização

Para diagnóstico *in vitro*

Exclusivamente para exportação dos EUA.

Informações gerais	2
Utilização prevista	2
Resumo e explicação do teste	2
Princípios do procedimento	3
Resumo de segurança e desempenho	4
Advertências e precauções	4
Requisitos de conservação e manuseamento de reagentes	6
Colheita e conservação de espécimes	7
Panther System	10
Reagentes e materiais fornecidos	10
Materiais necessários, mas disponíveis separadamente	11
Materiais opcionais	12
Procedimento de teste no Panther System	12
Notas sobre o procedimento	15
Interpretação dos testes - CQ/Resultados do paciente	17
Limitações	20
Resultados do estudo clínico	22
Valores esperados	23
Desempenho clínico	26
Concordância dos espécimes clínicos	37
Concordância dos espécimes clínicos do Panther System	39
Desempenho analítico	40
Bibliografia	48
Informações de contacto e histórico de revisões	49

Informações gerais

Utilização prevista

O Aptima™ *Neisseria gonorrhoeae* assay é um teste de sonda de ácidos nucleicos de amplificação do alvo que utiliza a captura do alvo para a deteção qualitativa *in vitro* de RNA ribossómico (rRNA) de *Neisseria gonorrhoeae* (GC) para ajudar a diagnosticar doenças urogenitais provocadas por gonococos utilizando o Panther™ system. O ensaio pode ser utilizado para testar os seguintes espécimes de indivíduos sintomáticos: esfregaços de origem endocervical, vaginal e uretral masculina colhidos pelo médico, assim como espécimes de urina de ambos os sexos. O ensaio pode ser utilizado para testar os seguintes espécimes de indivíduos assintomáticos: esfregaços de origem endocervical e vaginal colhidos pelo médico, espécimes de esfregaços vaginais¹ colhidos pela paciente e espécimes de urina de ambos os sexos. Este ensaio destina-se também a ser utilizado na análise de espécimes ginecológicos de pacientes sintomáticas e assintomáticas colhidos na solução PreservCyt™.

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

Resumo e explicação do teste

As infeções por *Neisseria gonorrhoeae* são uma das infeções sexualmente transmissíveis mais comuns em todo o mundo. Só nos Estados Unidos, em 2019, estima-se que tenham sido comunicados aos Centros de Controlo de Doenças 616 392 (188 casos por cada 100 000 habitantes) novos casos de infeções por GC (1).

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

O diagnóstico convencional das infeções por GC exige que o organismo seja isolado em meio seletivo ou a observação de diplococos em esfregaços com coloração de Gram (4). Os métodos de cultura podem ter uma boa sensibilidade clínica, mas são altamente dependentes do manuseamento adequado dos espécimes. O armazenamento e o transporte impróprios de espécimes podem resultar na perda de viabilidade do organismo e gerar resultados falsos negativos. Além disso, o uso de más técnicas de amostragem, materiais de amostragem tóxicos e a inibição do crescimento por componentes das secreções corporais podem também dar origem a resultados falsos negativos (5,6). Os métodos de não-cultura normalmente utilizados para a deteção de GC incluem testes de sonda de DNA diretos e testes de amplificação de ácidos nucleicos (NAAT).

A primeira geração de NAAT para GC tem problemas tecnológicos que limitaram o seu desempenho. Esses problemas incluem um processamento de espécimes moroso e a inibição de espécimes, que podem dar origem a resultados falsos negativos (7). O Aptima *Neisseria gonorrhoeae* assay (Aptima GC assay) é um NAAT de segunda geração que utiliza tecnologias de captura do alvo, de amplificação mediada por transcrição (TMA™) e de ensaio de proteção da hibridação (HPA) para simplificar o processamento dos espécimes, amplificar o rRNA alvo e detetar o produto da amplificação, respetivamente. Estudos que compararam o desempenho e a inibição de espécimes de vários sistemas de amplificação demonstraram os benefícios das tecnologias de captura do alvo, TMA e HPA (8,9).

De acordo com o documento “Guidance for the detection of gonorrhoea in England” (Orientação para a detecção de gonorreia em Inglaterra), uma orientação de 2014 emitida pela Public Health England, um teste da gonorreia deve ter um valor preditivo positivo (VPP) mínimo de 90% no contexto local ou na população de pacientes (10). Se o VPP ficar abaixo deste limiar, deve ser utilizado um teste suplementar para confirmar os resultados de testes positivos para melhorar o VPP. Os testes suplementares são descritos como um segundo teste de amplificação de ácidos nucleicos (NAAT) realizado na mesma amostra, mas que deteta uma sequência alvo de ácido nucleico diferente. O Aptima GC assay e o Aptima Combo 2™ assay visam ambos a subunidade de rRNA 16S para captura e detecção. A sonda de captura é a mesma para ambos os ensaios, mas o Aptima GC assay reconhece uma região da subunidade de rRNA 16S diferente do Aptima Combo 2 assay para a detecção e, assim, pode ser considerado um teste suplementar adequado para melhorar o VPP dos testes Aptima Combo 2 quando recomendado pelas orientações de saúde locais.

Princípios do procedimento

O Aptima GC assay combina as tecnologias de captura do alvo, TMA e DKA.

Os espécimes são colhidos e transferidos para os respetivos tubos de transporte de espécimes. A solução de transporte desses tubos liberta o rRNA alvo e impede a respetiva degradação durante o armazenamento. Quando o Aptima GC assay é efetuado no laboratório, a molécula do rRNA alvo é isolada dos espécimes utilizando oligómeros de captura através de uma captura do alvo que utiliza micropartículas magnéticas. O oligómero de captura contém uma sequência complementar a uma região específica da molécula alvo, bem como uma cadeia de resíduos de desoxiadenosina. Durante o passo de hibridação, a região específica da sequência do oligómero de captura liga-se a uma região específica da molécula alvo. O complexo oligómero de captura:alvo é então capturado e retirado da solução reduzindo a temperatura da reação para a temperatura ambiente. Esta redução da temperatura permite que a hibridação ocorra entre a região da desoxiadenosina no oligómero de captura e as moléculas de polidesoxitimidina que estão ligadas de forma covalente às partículas magnéticas. As micropartículas, incluindo a molécula alvo capturada ligada às mesmas, são arrastadas para a secção lateral do tubo de reação por ímanes e o sobrenadante é aspirado. As partículas são lavadas para remover a matriz de espécime residual que possa conter inibidores da reação da amplificação. Concluídos os passos de captura do alvo, os espécimes estão prontos para a amplificação.

Os ensaios de amplificação do alvo baseiam-se na capacidade que os "primers" oligonucleótidos complementares têm de se hibridar especificamente e de permitir a amplificação enzimática das cadeias do ácido nucleico alvo. A reação Hologic® TMA replica uma região específica do rRNA 16S do GC através de intermediários do DNA. Um conjunto exclusivo de "primers" é usado para a molécula alvo. A detecção das sequências do produto da amplificação do rRNA é alcançada com a hibridação do ácido nucleico. Uma sonda de DNA quimioluminescente de cadeia simples, complementar a uma região do produto da amplificação alvo, é marcada com uma molécula de éster de acridina. A sonda de DNA marcada combina com o produto da amplificação para formar híbridos de RNA:DNA estáveis. O reagente de seleção faz a distinção entre a sonda hibridada e a sonda não hibridada, e elimina a geração do sinal da sonda não hibridada. Durante o passo de detecção, a luz emitida pelos híbridos de RNA:DNA marcados é medida como sinais de fótons num luminómetro e indicada em unidades de luz relativas (RLU).

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 Resultado do Aptima Neisseria gonorrhoeae assay, consulte o Identificador único do dispositivo básico (BUDI): **54200455DIAGAPTGCQL**.

Advertências e precauções

- A. Para efeitos de diagnóstico *in vitro*.
- B. Para uso profissional.
- C. Para advertências, precauções e procedimentos adicionais específicos para controlo de contaminação para o Panther System, consulte o *Panther/Panther Fusion System Operator's Manual* (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. Evite comer, beber e fumar 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 com água. Se este fluido se derramar, dilua o derramamento com água antes de secar com um pano.
- 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).

Relacionadas com os espécimes

- H. Este ensaio foi testado utilizando apenas espécimes endocervicais e uretrais masculinos, espécimes de citologia líquida em solução PreservCyt, esfregaços vaginais e espécimes de urina feminina e masculina. O desempenho com outros espécimes além dos especificados em *Colheita e conservação de espécimes* não foi avaliado.
- I. Os prazos de validade indicados nos kits de colheita referem-se à data de colheita, e não à realização de testes. As amostras colhidas em qualquer altura antes do prazo de validade do kit de colheita e transportadas e armazenadas de acordo com o folheto informativo são válidas para testes mesmo que o prazo de validade indicado no tubo de colheita tenha passado.
- J. A solução PreservCyt foi validada como meio alternativo de teste com o Aptima GC assay. Os espécimes de citologia líquida em solução PreservCyt processados com outros instrumentos além dos processadores ThinPrep ou outros instrumentos não foram avaliados para testar a utilização no Aptima GC assay.
- K. Depois de adicionar urina ao tubo de transporte de urina, o nível do líquido deve situar-se entre as duas linhas pretas indicadoras no rótulo do tubo. Se tal não suceder, rejeite o espécime.

- L. Mantenha as condições de conservação adequadas durante o transporte de espécimes, para garantir a integridade do espécime. A estabilidade do espécime noutras condições de transporte que não as recomendadas não foi avaliada.
- M. Os espécimes podem ser infecciosos. Respeite as precauções universais quando realizar este ensaio. A administração do laboratório deve estabelecer métodos adequados de manuseamento e eliminação. Este procedimento de diagnóstico só deve ser realizado por pessoal com a formação adequada no manuseamento de materiais infecciosos.
- N. Evite a contaminação cruzada durante os passos de manuseamento de espécimes. Os espécimes podem conter níveis de organismos extremamente elevados. Certifique-se de que os recipientes de espécimes 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.
- O. Se o laboratório receber um tubo de transporte de espécimes de esfregaço sem o esfregaço, com dois esfregaços, com um esfregaço de limpeza ou com um esfregaço não fornecido pela Hologic, o espécime deve ser rejeitado. Antes de rejeitar um tubo de transporte de zaragatoas sem uma zaragatoa, verifique se não é um tubo de transferência de espécimes Aptima, já que estes tubos não contêm qualquer zaragatoa.
- P. No caso de espécimes de citologia líquida em solução PreservCyt, proceda à respetiva colheita de acordo com as instruções do fabricante. Alíquotas posteriormente removidas do frasco de PreservCyt para teste com o Aptima GC assay devem ser processadas apenas com o kit de transferência de espécimes Aptima.
- Q. Após a perfuração, e sob determinadas condições, o líquido pode vazar das tampas dos tubos de transporte Aptima. Siga as instruções do *Procedimento de teste no Panther System* para evitar esta ocorrência.

Relacionadas com o ensaio

- R. O desempenho do Aptima GC assay não foi avaliado em adolescentes com idade inferior a 15 anos.
- S. Não utilize este kit após o respetivo prazo de validade.
- T. Não troque, misture, nem combine reagentes do ensaio de kits com números de lote diferentes. Os controlos e fluidos do ensaio Aptima podem pertencer a números de lote diferentes.
- U. Evite a contaminação microbiana ou com nucleases dos reagentes.
- V. Feche e guarde os reagentes nas temperaturas especificadas. O desempenho do ensaio pode ser afetado pela utilização de reagentes conservados de forma incorreta. Consulte *Requisitos de conservação e manuseamento de reagentes e Procedimento de teste no Panther System* para obter mais informações.
- W. Não combine quaisquer reagentes ou fluidos do ensaio sem instruções específicas para tal. Não adicione reagentes ou fluidos. O Panther System verifica os níveis dos reagentes.
- X. Alguns reagentes deste kit estão marcados com símbolos de risco e segurança.

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

Informações sobre riscos para a UE	
—	<p>Amplification Reagent <i>HEPES 25 – 30%</i> — H412 – Nocivo para os organismos aquáticos com efeitos duradouros P273 – Evitar a libertação para o ambiente P280 – Usar proteção ocular/proteção facial</p>
—	<p>Enzyme Reagent <i>HEPES 1 – 5%</i> — H412 – Nocivo para os organismos aquáticos com efeitos duradouros P273 – Evitar a libertação para o ambiente P280 – Usar proteção ocular/proteção facial</p>
—	<p>Probe Reagent <i>LAURYL SULFATE LITHIUM SALT 35 – 40%</i> <i>SUCCINIC ACID 10 – 15%</i> <i>LITHIUM HYDROXIDE, MONOHYDRATE 10 – 15%</i> — H412 – Nocivo para os organismos aquáticos com efeitos duradouros P273 – Evitar a libertação para o ambiente P280 – Usar proteção ocular/proteção facial</p>
	<p>Selection Reagent <i>ÁCIDO BÓRICO 1 – 5%</i> ADVERTÊNCIA H315 – Provoca irritação cutânea</p>
—	<p>Target Capture Reagent <i>HEPES 5 – 10%</i> <i>EDTA 1 – 5%</i> <i>LITHIUM HYDROXIDE, MONOHYDRATE 1 – 5%</i> — H412 – Nocivo para os organismos aquáticos com efeitos duradouros P273 – Evitar a libertação para o ambiente P280 – Usar proteção ocular/proteção facial</p>

Requisitos de conservação e manuseamento de reagentes

- A. Os reagentes seguintes permanecem estáveis se armazenados a uma temperatura entre 2 °C e 8 °C (refrigerados):
 - Reagente de amplificação Aptima GC
 - Reagente enzimático Aptima
 - Reagente de sonda Aptima GC
 - Reagente de captura do alvo Aptima B
 - Controlo positivo, GC / Controlo negativo, CT Aptima
 - Controlo positivo, CT / Controlo negativo, GC Aptima

- B. Os reagentes seguintes permanecem estáveis se armazenados a uma temperatura entre 2 °C e 30°C:
- Solução de reconstituição do reagente de amplificação Aptima GC
 - Solução de reconstituição do reagente enzimático Aptima
 - Solução de reconstituição de sonda Aptima GC
 - Reagente de seleção Aptima
- C. Os reagentes seguintes permanecem estáveis se armazenados a uma temperatura entre 15 ° e 30 °C (temperatura ambiente): Reagente de captura do alvo Aptima GC.
- D. O reagente de captura do alvo de trabalho GC (wTCR GC) permanece estável durante 60 dias quando armazenado a uma temperatura entre 15 °C e 30 °C. Não refrigere.
- E. Após a reconstituição, o reagente enzimático, o reagente de amplificação GC e o reagente de sonda GC permanecem estáveis durante 60 dias quando armazenados a uma temperatura entre 2 °C e 8 °C.
- F. Deite fora quaisquer reagentes reconstituídos e o wTCR não usados após 60 dias ou após o prazo de validade do lote mestre, conforme o que ocorrer primeiro.
- G. Os controlos permanecem estáveis até à data indicada nos frascos.
- H. Os reagentes conservados dentro do Panther System têm 72 horas de estabilidade no instrumento.
- I. O reagente de sonda GC e o reagente de sonda reconstituído GC são fotossensíveis. Mantenha os reagentes protegidos da luz.
- J. Com o aquecimento à temperatura ambiente, alguns tubos de controlo podem parecer turvos ou apresentar precipitados. A turvação ou precipitação associada aos controlos não afeta o desempenho dos mesmos. Os controlos podem ser usados quer estejam limpos ou turvos/precipitados. Se quiser utilizar controlos limpos, a solubilização pode ser agilizada incubando-os no limite superior do intervalo de temperatura ambiente (15 °C a 30 °C).
- K. **Não congele os reagentes.**

Colheita e conservação de espécimes

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

- Aptima Unisex Swab Specimen Collection Kit for Endocervical and Male Urethral Swab Specimens
- Kit de colheita de urina Aptima para espécimes de urina masculina e feminina
- Aptima Multitest Swab Specimen Collection Kit
- Kit de transferência de espécimes Aptima (para utilização com amostras ginecológicas colhidas em solução PreservCyt)

A. Instruções de colheita:

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

B. Transporte e armazenamento de espécimes antes do teste:

1. Espécimes de esfregaço:

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

2. Espécimes de urina:

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

3. Espécimes de citologia líquida em solução PreservCyt:

- a. Os espécimes de citologia líquida em solução PreservCyt destinados a serem utilizados em testes de GC devem ser processados para citologia e/ou transferidos para um tubo de transferência de espécimes Aptima num período de 30 dias após a colheita, quando armazenados a uma temperatura situada entre 2 °C e 30 °C (consulte *Estudos de estabilidade dos espécimes*).
- b. Se utilizar o procedimento de remoção de alíquotas ThinPrep, consulte as instruções fornecidas no *ThinPrep Systems Processor Operator's Manual* (Manual de instruções do ThinPrep Systems Processor) relativas à remoção de alíquotas. Transfira 1 ml da alíquota removida para um tubo de transferência de espécimes Aptima, de acordo com as instruções incluídas no folheto informativo do kit de transferência de espécimes Aptima e da solução de transferência Aptima.
- c. Se testar os espécimes depois de os processar com o ThinPrep systems Processor, processe o espécime de citologia líquida em solução PreservCyt de acordo com o *Manual de instruções do ThinPrep Systems Processor* e o folheto informativo do kit de transferência de espécimes Aptima e da solução de transferência Aptima. Transfira 1 ml do fluido restante no frasco de solução PreservCyt para um tubo de transferência de espécimes Aptima, de acordo com as instruções incluídas no folheto informativo do kit de transferência de espécimes Aptima e da solução de transferência Aptima.
- d. Depois de transferir o espécime de citologia líquida em solução PreservCyt para o tubo de transferência de espécimes Aptima, aquele deve ser testado com o Aptima GC assay num período de 30 dias, quando armazenado a uma temperatura de 2 °C a 8 °C ou num período de 14 dias, quando armazenado a uma temperatura de 15 °C a 30 °C. Se necessitar de um período de armazenamento mais longo, congele o espécime no prazo de 7 dias após a transferência num tubo de transferência de espécimes Aptima a uma temperatura de -20 °C a -70 °C para permitir que sejam realizados testes até 12 meses após a transferência (consulte *Estudos de estabilidade dos espécimes*).

C. Acondicionamento de espécimes após o teste:

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

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

Panther System

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

Reagentes e materiais fornecidos

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

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

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

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

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

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

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

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

Materiais necessários, mas disponíveis separadamente

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

	<u>Código produto</u>
Panther System	303095
Kit de fluidos Aptima Assay <i>(Solução de lavagem Aptima, tampão para o fluido de desativação Aptima e reagente de óleo Aptima)</i>	303014 (1000 testes)
Aptima Auto Detect Kit	303013 (1000 testes)
Unidades multitubos (MTUs)	104772-02
Kit de sacos de resíduos Panther	902731
Tampa do recipiente de resíduos Panther ou Kit de execução Panther <i>contém MTUs, sacos de resíduos, tampas de recipientes de resíduos, fluidos de ensaio e reagentes Auto Detect</i>	504405 303096 (5000 testes)
Pontas, 1000 µL, com filtro, condutoras, deteção 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 <i>para utilização com espécimes em solução PreservCyt</i>	301154C
Kit de transferência de espécimes Aptima— imprimível <i>para utilização com espécimes em solução PreservCyt</i>	PRD-05110
Aptima Multitest Swab Specimen Collection Kit	PRD-03546
Aptima Unisex Swab Specimen Collection Kit for Endocervical and Male Urethral Swab Specimens	301041
Aptima Urine Specimen Collection Kit for Male and Female Urine Specimens	301040
Tubos de transporte de espécimes de urina Aptima para espécimes de urina masculina e feminina	105575
Lixívia, solução de hipoclorito de sódio de 5% a 8,25% (0,7 M a 1,16 M)	—
Luvas descartáveis	—

Padrão de calibração SysCheck	301078
Tampas perfuráveis Aptima	105668
Tampas não perfuráveis de substituição	103036A
Tampas de substituição para kits de 100 testes	—
<i>Soluções de amplificação, enzimática e de reconstituição do reagente de sonda</i>	
	<i>CL0041 (100 tampas)</i>
<i>TCR e reagente de seleção</i>	<i>501604 (100 tampas)</i>

Materiais opcionais

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

Procedimento de teste no Panther System

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

A. Preparação da área de trabalho

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

B. Reconstituição/preparação dos reagentes de um novo kit

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

1. Para reconstituir o reagente de amplificação para GC, o reagente enzimático para GC e o reagente de sonda para GC, 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. Enquanto segura o frasco da solução de reconstituição sobre a bancada, insira com firmeza 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. Misture bem a solução no frasco por agitação (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. Remova o aro de reconstituição e o frasco de vidro (Figura 1, Passo 6).
- j. Volte a colocar a tampa do frasco de plástico. Registre as iniciais do operador e a data de reconstituição na etiqueta (Figura 1, Passo 7).
- k. Elimine o aro 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.

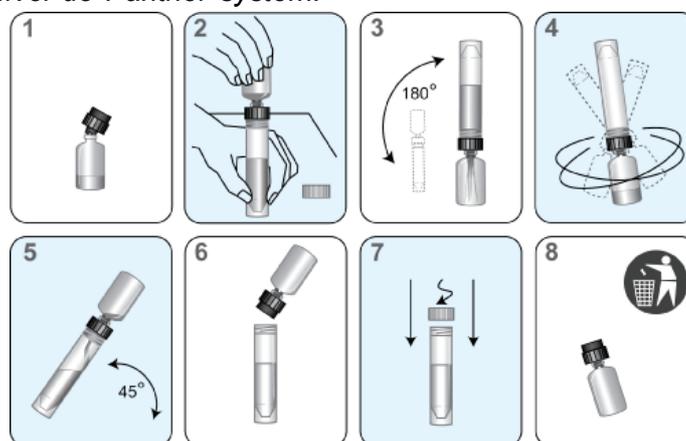


Figura 1. Processo de reconstituição no Panther System

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

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

C. Preparação de reagentes para reagentes previamente reconstituídos

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

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

D. Manuseamento de espécimes

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

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

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

E. Preparação do sistema

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

Notas sobre o procedimento

A. Controlos

1. Para trabalhar corretamente com o software Aptima Assay para o Panther System, é necessário um par de controlos. Os tubos de controlo positivo, CT / controlo negativo, GC e de controlo positivo, GC / controlo negativo, CT podem ser carregados em qualquer posição do suporte ou em qualquer corredor da zona de amostras do Panther System. A pipetagem de espécimes do paciente começa quando se verificar uma das duas condições seguintes:
 - a. Um par de controlos está a ser processado pelo sistema.
 - b. São registados resultados válidos para os controlos no sistema.
2. Depois de os tubos dos controlos serem pipetados e estarem a ser processados para um kit de reagentes específico, os espécimes do paciente podem ser testados com o kit de reagente do ensaio associado até um período máximo de 24 horas **a menos que:**
 - a. Os resultados dos controlos sejam inválidos.
 - b. O respetivo kit de reagente de ensaio seja retirado do sistema.
 - c. O respetivo kit de reagente de ensaio tenha ultrapassado os limites de estabilidade.
3. Cada tubo de controlo Aptima só pode ser testado uma única vez. A tentativa de pipetar mais do que uma vez pode dar origem a erros de processamento.

B. Temperatura

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

C. Pó das luvas

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

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

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

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

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

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

Interpretação dos testes - CQ/Resultados do paciente

A. Interpretação dos testes

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

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

* Um resultado de zero (0 x 1000) RLU no relatório da execução representa um valor entre zero e 999 RLU. Os valores de RLU de 690 no Panther System serão relatados como inválidos.

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

² No intervalo positivo baixo, os dados sugerem que os resultados positivos devem ser interpretados com cautela, tendo em consideração que a probabilidade de o positivo ser falso pode ser mais elevada do que a de o positivo ser verdadeiro.

B. Resultados e aceitabilidade do controlo de qualidade

O controlo negativo Aptima para GC, rotulado com “CONTROL + CT PCT / CONTROL – GC NGC”, e o controlo positivo Aptima para GC, rotulado com “CONTROL + GC PGC / CONTROL – CT NCT”, atuam como controlos nos passos de captura do alvo, de amplificação e de detecção do ensaio. De acordo com as diretrizes ou os requisitos das regulamentações locais, regionais e/ou nacionais ou das organizações de acreditação, é possível incluir controlos adicionais para a lise da célula e a estabilização do RNA. O controlo positivo para GC, rotulado com “CONTROL + GC PGC / CONTROL – CT NCT” contém rRNA de GC não infeccioso. Se desejar, podem ser encomendados controlos adicionais em kit. A preparação correta dos espécimes é confirmada visualmente pela presença de uma única zaragatoa de colheita Aptima num tubo de transporte de espécimes de esfregaço, por um volume final de urina entre as linhas pretas de enchimento de um tubo de transporte de espécimes de urina ou pela ausência de uma zaragatoa num tubo de transferência de espécimes Aptima, no caso de espécimes de citologia líquida.

Os controlos positivos devem produzir os seguintes resultados de teste:

Controlo	RLU total (x1000)	Resultado de GC
Controlo positivo, CT / Controlo negativo, GC	0* e < 50	Negativo
Controlo positivo, GC / Controlo negativo, CT	≥ 100 e < 12 000	Positivo

* Um resultado de zero (0 x 1000) RLU no relatório da execução representa um valor entre zero e 999 RLU. Os valores de RLU inferiores a 690 no Panther System serão relatados como inválidos.

1. O software Aptima Assay avalia automaticamente os controlos de acordo com os critérios anteriores e apresenta o estado da execução como PASS (Aprovado) se os critérios do controlo da execução forem cumpridos, e FAIL (Reprovado) se os critérios do controlo da execução não forem cumpridos.
2. Se o estado da execução for FAIL (Reprovado), todos os resultados de testes da mesma execução são inválidos e não devem ser relatados.
3. Cada laboratório deve implementar procedimentos de controlo adequados para satisfazer os requisitos locais.

Nota: consulte a secção de Resolução de problemas ou contacte o Suporte Técnico da Hologic para obter ajuda relativa a controlos fora do intervalo.

4. Os controlos negativos podem não ser eficazes na monitorização da contaminação por transferência aleatória. Consulte a secção *Estudos de contaminação por transferência para o Panther System* para obter os resultados de um estudo analítico de contaminação por transferência de concentração-alvo elevada que se realizou para demonstrar o controlo da contaminação por transferência no Panther System.

C. Controlo de preparação de espécimes (opcional)

O controlo negativo Aptima para GC, rotulado com “CONTROL + CT PCT / CONTROL – GC NGC”, e o controlo positivo Aptima para GC, rotulado com “CONTROL + GC PGC / CONTROL – CT NCT”, atuam como controlos nos passos de captura do alvo, de amplificação e de deteção do ensaio e devem ser incluídos em cada execução do ensaio. Se desejar, os controlos para a lise celular e a estabilização de RNA podem ser testados de acordo com os requisitos das organizações de acreditação adequadas ou com os procedimentos de laboratórios individuais. Os espécimes positivos conhecidos podem ser utilizados como controlos, se forem preparados e testados em conjunto com espécimes desconhecidos. Os espécimes usados como controlos de preparação devem ser armazenados, manuseados e testados de acordo com o folheto informativo. Os controlos de preparação de espécimes devem ser interpretados da mesma forma descrita para os espécimes de testes de pacientes. Consulte *Interpretação dos testes - CQ/Resultados dos pacientes e/ou Resultados de teste do paciente*.

D. Resultados de teste do paciente

1. Se os controlos de uma execução não gerarem os resultados esperados, os resultados de testes a espécimes de pacientes na mesma execução não devem ser reportados.
2. Resultados dos espécimes de esfregaços, urina e espécime de citologia líquida em solução PreservCyt. Ver as *Notas* abaixo.
 - a. Resultados iniciais

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

b. Resultados do novo teste

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

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

Notas

- O primeiro resultado válido não equívoco para cada analito é o resultado que deve ser relatado.
- Recomenda-se que os dados de desempenho sejam cuidadosamente ponderados durante a interpretação dos resultado do teste Aptima GC em indivíduos assintomáticos ou em quaisquer indivíduos de populações de prevalência baixa.
- Um resultado negativo não impede a presença de uma infecção por GC, visto que os resultados dependem da colheita adequada de espécimes, da ausência de inibidores e de rRNA suficiente a detetar. Os resultados do teste podem ser afetados por uma colheita inadequada de espécimes, armazenamento inadequado de espécimes, um erro técnico, uma mistura de espécimes ou por níveis alvo inferiores ao limite de deteção do ensaio.
- Recomenda-se a realização de testes a espécimes endocervicais de pacientes do sexo feminino sobre as quais haja suspeitas clínicas de padecerem de infeções clamidiais ou gonocócicas. Se forem colhidos esfregaços citológicos e endocervicais, o espécime de citologia líquida em solução PreservCyt deve ser colhido antes do espécime do esfregaço endocervical.

Limitações

- A. A utilização deste ensaio está limitada a pessoal que tenha recebido formação relativa ao procedimento. O não cumprimento das instruções fornecidas neste folheto informativo pode levar a resultados erróneos.
- B. Os efeitos da utilização de um tampão, dos banhos de chuveiro e das variáveis de colheita de espécimes não foram avaliados quanto ao seu impacto na deteção de GC.
- C. A presença de muco nos espécimes endocervicais não interfere na deteção de GC por parte do Aptima GC assay. No entanto, para garantir uma amostragem endocervical adequada, elimine o excesso de muco.
- D. A amostragem de espécimes de urina, esfregaços vaginais e espécimes de citologia líquida em solução PreservCyt não foi concebida para substituir os exames ao colo do útero e a colheita de espécimes endocervicais para o diagnóstico de infeções urogenitais femininas. As pacientes podem ter cervicite, uretrite, infeções do trato urinário ou infeções vaginais devido a outras causas ou a infeções simultâneas com outros agentes.
- E. O Aptima GC assay não se destina a ser utilizado na avaliação de suspeitas de abuso sexual ou de outras indicações médico-legais.
- F. A fiabilidade dos resultados depende da colheita adequada de espécimes. Como o sistema de transporte utilizado para este ensaio não permite a avaliação microscópica de adequação do espécime, a formação dos médicos em técnicas adequadas de colheita de espécimes é necessária. Consulte o folheto informativo do kit de colheita de espécimes Aptima adequado.
- G. O fracasso ou o sucesso terapêutico não podem ser determinados com o Aptima GC assay pois os ácidos nucleicos podem persistir após uma terapêutica antimicrobiana adequada.
- H. Os resultados do Aptima GC assay devem ser interpretados em conjunto com outros dados clínicos e laboratoriais de que o médico disponha.
- I. Um resultado negativo não impede uma possível infeção porque os resultados dependem da colheita adequada de espécimes. Os resultados do teste podem ser afetados por uma colheita inadequada de espécimes, um erro técnico, uma mistura de espécimes ou por níveis alvo inferiores ao limite de deteção do ensaio.
- J. O Aptima GC Assay fornece resultados qualitativos. Por isso, não se pode fazer uma correlação entre a magnitude de um sinal positivo de ensaio e a quantidade de organismos num espécime.
- K. No caso de estudos clínicos de espécimes de esfregaços vaginais, esfregaços endocervicais, esfregaços uretrais masculinos e espécimes de urina, o desempenho da deteção de GC deriva de populações de prevalência elevada. Os resultados positivos em populações de baixa prevalência devem ser interpretados com cautela, tendo em consideração que a probabilidade de o positivo ser falso pode ser mais elevada do que a de o positivo ser verdadeiro.

- L. Para os ensaios clínicos de espécimes de citologia líquida em solução PreservCyt, o desempenho do Aptima GC assay na detecção de GC é obtido sobretudo em populações de baixa prevalência. Não obstante, os resultados positivos em populações de baixa prevalência devem ser interpretados com cautela, tendo em consideração que a probabilidade de o positivo ser falso pode ser mais elevada do que a de o positivo ser verdadeiro.
- M. O desempenho do kit de transferência de espécimes Aptima não foi avaliado quanto à análise do mesmo espécime de citologia líquida em solução PreservCyt antes e após o processamento do ThinPrep Pap Test.
- N. Os espécimes de citologia líquida em solução PreservCyt processados com outros instrumentos além do processador ThinPrep 2000 não foram avaliados quanto à utilização com ensaios Aptima.
- O. Os espécimes de esfregaço vaginal colhidos pelas pacientes são uma opção para efetuar um rastreio às mulheres sempre que um exame pélvico não seja indicado.
- P. A aplicação de espécimes de esfregaço vaginal colhidos pela paciente está limitada a unidades de cuidados de saúde nas quais esteja disponível apoio/aconselhamento para explicar os procedimentos e as precauções.
- Q. O Aptima GC assay não foi validado para ser utilizado com espécimes de esfregaço vaginal colhidos pelas pacientes no domicílio.
- R. O desempenho do Aptima GC assay não foi avaliado em adolescentes com idade inferior a 15 anos.
- S. Não se recomenda a realização de testes a espécimes de esfregaço uretral de homens assintomáticos devido ao baixo valor preditivo de um resultado positivo observado no estudo clínico.
- T. O desempenho do Panther System não foi avaliado em altitudes superiores a 2000 m (6561 pés).
- U. Não há evidências de degradação dos ácidos nucleicos na solução PreservCyt. Se um espécime de citologia líquida em solução PreservCyt tiver uma pequena quantidade de material celular de GC, poderá ocorrer uma distribuição desigual deste material celular. Além disso, quando comparado com amostras diretas de meio de transporte de zaragatoas Aptima, o volume adicional de solução PreservCyt resulta numa maior diluição do material da amostra. Estes fatores podem afetar a capacidade de detetar pequenas quantidades de organismos no material colhido. Se os resultados negativos obtidos com um espécime não corresponderem à impressão clínica, pode ser necessário utilizar um novo espécime.
- V. Os clientes devem validar um processo de transferência LIS de forma independente.

Resultados do estudo clínico

As características de desempenho do Aptima GC assay foram estabelecidas em duas investigações clínicas realizadas na América do Norte. A primeira investigação clínica estabeleceu a sensibilidade, a especificidade e os valores preditivos do Aptima GC assay utilizando esfregaços de origem endocervical, vaginal e uretral masculina colhidos pelo médico, esfregaços vaginais colhidos pela paciente e espécimes de urina de ambos os sexos. A primeira investigação também avaliou a precisão do Aptima GC assay quando executado de acordo com as diretrizes da NCCLS (11). A segunda investigação clínica estabeleceu a sensibilidade, a especificidade e os valores preditivos do Aptima GC assay utilizando meio de transporte PreservCyt (componente do sistema ThinPrep 2000). Também foram avaliados espécimes de citologia líquida em solução PreservCyt quanto a precisão intra-laboratório com o Aptima GC assay.

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

Valores esperados

Prevalência

A prevalência de GC em populações de pacientes depende de fatores de risco tais como a idade, o sexo, a presença de sintomas, o tipo de clínica e o método de teste. As Tabelas 1 e 1a apresentam um resumo da prevalência de GC na América do Norte, por tipo de espécime conforme determinado pelo Aptima GC assay utilizando o sistema DTS e relativamente a duas investigações clínicas. Consulte as secções *Estudo clínico de espécimes de esfregaço endocervical*, *esfregaço da uretra masculina*, *esfregaço vaginal* e *espécimes de urina* e *Estudo clínico de espécimes de citologia líquida em solução PreservCyt* na secção *Desempenho clínico* para obter uma descrição das características de desempenho clínico dos espécimes.

Tabela 1: Prevalência de *N. gonorrhoeae* por centro clínico e geral conforme determinado pelos resultados do Aptima GC Assay

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

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

Tabela 1a: Prevalência de *N. gonorrhoeae* por centro clínico e geral conforme determinado pelos resultados do Aptima GC Assay utilizando espécimes de citologia líquida em solução PreservCyt

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

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

Os valores preditivos positivos e negativos estimados (VPP e VPN) para diferentes taxas de prevalência hipotéticas com a utilização do Aptima GC assay são mostrados na Tabela 2. Estes cálculos baseiam-se em taxas de prevalência hipotéticas e na sensibilidade e especificidade gerais estimadas a partir do estado de infecção do paciente. A sensibilidade e a especificidade gerais para GC foram de 97,6% e 99,3%, respetivamente (Tabela 2). O VPP e o VPN reais para esfregaços de origem endocervical, vaginal e uretral masculina colhidos pelo médico, esfregaços vaginais colhidos pela paciente e espécimes de urina de ambos os sexos são apresentados na Tabela 6 para cada centro clínico e no geral. O VPP e o VPN reais para espécimes de citologia líquida em PreservCyt são apresentados na Tabela 6a.

Tabela 2: Valores preditivos positivos e negativos para taxas de prevalência hipotéticas na América do Norte

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

Distribuição de RLU no Aptima GC Assay

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

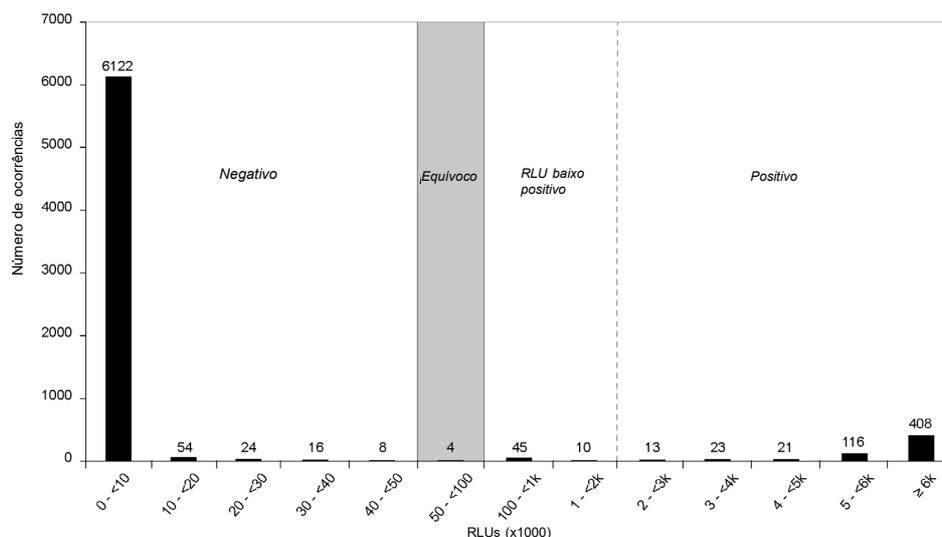


Figura 2. Frequência da distribuição de RLU para o Aptima GC Assay

Tabela 3: Distribuição de RLU no Aptima GC Assay

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

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

A coluna sombreada indica uma zona equívoca.

Desempenho clínico

A sensibilidade, a especificidade e os valores preditivos do Aptima GC assay foram estabelecidos utilizando o sistema DTS. Consulte *Concordância no Tigris DTS System e Concordância dos espécimes clínicos do Panther System* para a determinação da equivalência entre os sistemas DTS, Tigris DTS e Panther system. O Aptima GC assay destina-se atualmente a ser utilizado com o Panther system.

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

Foram colhidos esfregaços de origem endocervical, vaginal e uretral masculina colhidos pelo médico, esfregaços vaginais colhidos pela paciente e espécimes de urina de ambos os sexos de 2787 pacientes sintomáticos e assintomáticos, do sexo masculino e do sexo feminino que compareceram em consultas de obstetrícia/ginecologia, doenças sexualmente transmissíveis (DST), de adolescentes e de planejamento familiar em oito centros clínicos diversos, na América do Norte. Os pacientes foram classificados como sintomáticos caso tenham relatado a presença de sintomas tais como secreções, disúria e dor pélvica. Os sujeitos foram classificados como assintomáticos caso não tenham relatado quaisquer sintomas. Dos 1392 pacientes assintomáticos registados no estudo, 2 tinham menos de 16 anos de idade, 237 tinham entre 16 e 20 anos, 423 tinham entre 21 e 25 anos e 730 tinham mais de 25 anos de idade. Dos 1395 pacientes sintomáticos registados no estudo, 211 tinham entre 16 e 20 anos, 494 tinham entre 21 e 25 anos e 690 tinham mais de 25 anos de idade.

Foram colhidos três espécimes de cada um dos 1322 pacientes do sexo masculino elegíveis. Foram colhidos cinco espécimes de cada uma das 1465 pacientes do sexo feminino elegíveis. Nos pacientes do sexo masculino, foram colhidos dois esfregaços uretrais aleatórios seguidos de um espécime de urina. Nas pacientes do sexo feminino, foi colhido um espécime de urina seguido de um esfregaço vaginal colhido pela paciente, um esfregaço vaginal colhido pelo médico e dois esfregaços endocervicais aleatórios. Os resultados do Aptima GC assay e do Aptima Combo 2 assay GC foram gerados a partir dos dois esfregaços vaginais, de um esfregaço endocervical, de um esfregaço uretral masculino e de uma alíquota de urina de ambos os sexos. Os restantes esfregaços endocervicais, esfregaço uretral masculino e uma alíquota de urina de ambos os sexos foram testados utilizando outro NAAT disponível comercialmente. Utilizaram-se espécimes endocervicais e uretrais masculinos e espécimes de urina de ambos os sexos testados no Aptima Combo 2 assay e o outro NAAT disponível comercialmente como NAATs de referência para determinar o estado de infecção de cada paciente. Os testes aos espécimes foram realizados no local de registo dos participantes ou num centro de testes externo.

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

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

Dos 2787 pacientes registados, havia 15 pacientes com estado de infecção do paciente por GC desconhecido. Os pacientes foram designados com um estado de infecção do paciente desconhecido por haver falta de resultados que permitissem determinar o estado da infecção de forma conclusiva. Os resultados desses pacientes não foram incluídos em qualquer cálculo de desempenho. Dos 7704 resultados do Aptima GC assay, houve 22 espécimes (0,29%) que produziram inicialmente resultados do ensaio inválidos ou equívocos. Após a repetição dos testes destes espécimes, 4 permaneceram equívocos e foram excluídos das análises. Os restantes 18 espécimes produziram resultados de teste válidos após a repetição dos testes e foram utilizados nos cálculos do desempenho clínico.

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

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

PV = Positivo verdadeiro; PF = Positivo falso; NV = Negativo verdadeiro; NF = Negativo falso.

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

Estudo clínico de espécimes de citologia líquida em solução PreservCyt

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

Foram colhidos dois espécimes por cada paciente elegível: um espécime de citologia líquida em solução PreservCyt e um espécime de esfregaço endocervical. Os espécimes de citologia líquida em solução PreservCyt foram colhidos com a espátula/escova citológica ou um dispositivo de colheita de amostras cervicais tipo vassoura. A distribuição dos dispositivos de obtenção de amostras cervicais é resumida na Tabela 5 por centro de colheita de espécimes e no geral.

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

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

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

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

Tabela 5: Distribuição do dispositivo de obtenção de amostras cervicais utilizado para espécimes de citologia líquida em solução PreservCyt

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

Tabela 5a: Sensibilidade e especificidade do Aptima GC assay em relação ao estado de infecção da paciente por estado sintomático e no geral para espécimes de citologia líquida em solução PreservCyt

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Espécime	Centro	N	PV	PF	NV	NF	Prev (%)	Sensibilidade (IC de 95%)	Especificidade (IC de 95%)	VPP (%)	VPN (%)	
Zaragatoa	1	226	12	2	212	0	5,3	100 (73,5–100)	99,1 (96,7 - 99,9)	85,7	100	
	2	197	29	3	164	1	15,2	96,7 (82,8 - 99,9)	98,2 (94,8 - 99,6)	90,6	99,4	
	3	114	4	1	109	0	3,5	100 (39,8–100)	99,1 (95,0–100)	80,0	100	
	4	260	5	1	254	0	1,9	100 (47,8–100)	99,6 (97,8–100)	83,3	100	
	5	199	2	1	196	0	1,0	100 (15,8–100)	99,5 (97,2–100)	66,7	100	
	6	294	19	5	269	1	6,8	95,0 (75,1 - 99,9)	98,2 (95,8 - 99,4)	79,2	99,6	
	7	102	0	0	102	0	0,0	N/D	100 (96,4–100)	N/D	100	
	8	48	1	0	47	0	2,1	100 (2,5–100)	100 (92,5–100)	100	100	
	Todas	1440	72	13	1353	2	5,1	97,3 (90,6 - 99,7)	99,0 (98,4 - 99,5)	84,7	99,9	
Feminino												
Urina	1	227	11	2	213	1	5,3	91,7 (61,5 - 99,8)	99,1 (96,7 - 99,9)	84,6	99,5	
	2	198	30	0	167	1	15,7	96,8 (83,3 - 99,9)	100 (97,8–100)	100	99,4	
	3	113	4	0	109	0	3,5	100 (39,8–100)	100 (96,7–100)	100	100	
	4	265	5	0	260	0	1,9	100 (47,8–100)	100 (98,6–100)	100	100	
	5	199	2	0	197	0	1,0	100 (15,8–100)	100 (98,1–100)	100	100	
	6	296	16	1	275	4	6,8	80,0 (56,3 - 94,3)	99,6 (98,0–100)	94,1	98,6	
	7	102	0	0	102	0	0,0	N/D	100 (96,4–100)	N/D	100	
	8	49	1	0	48	0	2,0	100 (2,5–100)	100 (92,6–100)	100	100	
	Todas	1449	69	3	1371	6	5,2	92,0 (83,4 - 97,0)	99,8 (99,4–100)	95,8	99,6	
Colhido pelo paciente	Esfregaço vaginal (assintomático)	1	70	5	1	64	0	7,1	100 (47,8–100)	98,5 (91,7–100)	83,3	100
		2	46	7	1	38	0	15,2	100 (59,0–100)	97,4 (86,5 - 99,9)	87,5	100
		3	45	2	0	43	0	4,4	100 (15,8–100)	100 (91,8–100)	100	100
		4	152	1	0	151	0	0,7	100 (2,5–100)	100 (97,6–100)	100	100
		5	130	1	0	129	0	0,8	100 (2,5–100)	100 (97,2–100)	100	100
		6	75	5	2	68	0	6,7	100 (47,8–100)	97,1 (90,1 - 99,7)	71,4	100
		7	68	0	0	68	0	0,0	N/D	100 (94,7–100)	N/D	100
		8	43	0	0	43	0	0,0	N/D	100 (91,8–100)	N/D	100
		Todas	629	21	4	604	0	3,3	100 (83,9–100)	99,3 (98,3 - 99,8)	84,0	100
Colhido pelo médico	Esfregaço vaginal	1	227	12	2	213	0	5,3	100 (73,5–100)	99,1 (96,7 - 99,9)	85,7	100
		2	197	30	3	163	1	15,7	96,8 (83,3 - 99,9)	98,2 (94,8 - 99,6)	90,9	99,4
		3	113	4	0	109	0	3,5	100 (39,8–100)	100 (96,7–100)	100	100
		4	263	5	3	255	0	1,9	100 (47,8–100)	98,8 (96,6 - 99,8)	62,5	100
		5	199	2	0	197	0	1,0	100 (15,8–100)	100 (98,1–100)	100	100
		6	295	19	3	272	1	6,8	95,0 (75,1 - 99,9)	98,9 (96,8 - 99,8)	86,4	99,6
		7	102	0	0	102	0	0,0	N/D	100 (96,4–100)	N/D	100
		8	50	1	0	49	0	2,0	100 (2,5–100)	100 (92,7–100)	100	100
		Todas	1446	73	11	1360	2	5,2	97,3 (90,7 - 99,7)	99,2 (98,6 - 99,6)	86,9	99,9

PV = Positivo verdadeiro; PF = Positivo falso; NV = Negativo verdadeiro; NF = Negativo falso.

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

Centro	Resultados da solução PreservCyt no Aptima GC				Prev (%)	Sensibilidade (%) (IC de 95%)	Especificidade (%) (IC de 95%)	VPP(%)	VPN(%)	
	+/+	+/-	-/+	-/-						
1	Positivo	5	0	0	0	5,0	100 (5/5) (47,8 – 100)	100 (95/95) (96,2 – 100)	100	100
	Negativo	0	0	0	95					
	Total	5	0	0	95					
2	Positivo	1	0	0	0	0,8	100 (1/1) (2,5 – 100)	100 (123/123) (97,0 – 100)	100	100
	Negativo	0	0	0	123					
	Total	1	0	0	123					
3	Positivo	4	0	0	0	1,1	80,0 (4/5) (28,4 – 99,5)	100 (470/470) (99,2 – 100)	100	99,8
	Negativo	1	0	0	470					
	Total	5	0	0	470					
4	Positivo	1	0	0	3	0,3	100 (1/1) (2,5 – 100)	99,0 (283/286) (97,0 – 99,8)	25,0	100
	Negativo	0	0	3	280					
	Total	1	0	3	283					
5	Positivo	0	0	0	0	0,0	N/D	100 (297/297) (98,8 – 100)	N/D	100
	Negativo	0	0	0	297					
	Total	0	0	0	297					
6	Positivo	1	0	1 ¹	0	0,3	100 (1/1) (2,5 – 100)	99,7 (362/363) (98,5 – 100)	50,0	100
	Negativo	0	0	2	360					
	Total	1	0	3	360					
TODOS	Positivo	12	0	1	3	0,8	92,3 (12/13) (64,0 – 99,8)	99,8 (1630/1634) (99,4 – 99,9)	75,0	99,9
	Negativo	1	0	5	1625					
	Total	13	0	6	1628					

N/A = não aplicável.

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

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

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

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

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

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

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

N/A = Espécime não obtido ou não disponível para teste. O sinal de igual (=) representa um resultado equívoco ou indeterminado na repetição do teste. **EM** = Esfregaço uretral masculino sintomático; **UM** = Urina masculina.

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

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

Sint. = Sintomático; **Assint.** = Assintomático. **N/A** = Espécime não obtido ou não disponível para teste. O sinal de igual (=) representa um resultado equívoco ou indeterminado na repetição do teste. **EM** = Esfregaço uretral masculino; **UM** = Urina masculina.

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

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

Sint. = Sintomático; **Assint.** = Assintomático. **N/A** = Espécime não obtido ou não disponível para teste. O sinal de igual (=) representa um resultado equívoco ou indeterminado na repetição do teste. **EF** = Esfregaço endocervical feminino; **UF** = Urina feminina.

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

Estado de infecção do paciente	NAAT 1 (Aptima Combo 2 Assay)		NAAT 2		Aptima GC Assay		Estado sintomático		Total
	FS	UF	FS	UF	EVP	EVM	Sint.	Assint.	
Infetado	+	+	+	+	+	+	43	15	58
Infetado	+	+	+	+	-	+	1	0	1
Infetado	+	+	+	+	-	-	1	0	1
Infetado	+	+	+	+	N/D	+	0	1	1
Infetado	+	+	+	-	+	+	2	2	4
Infetado	+	+	+	N/D	+	+	1	0	1
Infetado	+	+	-	+	+	+	1	1	2
Infetado	+	+	-	-	+	+	1	1	2
Infetado	+	-	+	+	+	+	1	0	1
Infetado	+	-	+	-	+	+	2	1	3
Infetado	-	+	+	+	+	+	1	0	1
Infetado	-	+	-	+	+	+	0	1	1
Infetado	-	+	-	+	+	-	0	1	1
Infetado	-	-	+	+	-	-	1	0	1
Não infetado	+	-	-	-	-	-	5	1	6
Não infetado	-	+	-	-	-	-	1	0	1
Não infetado	-	-	+	-	+	+	1	0	1
Não infetado	-	-	+	-	-	-	5	2	7
Não infetado	-	-	-	+	+	+	0	1	1
Não infetado	-	-	-	+	-	-	2	1	3
Não infetado	-	-	-	-	+	+	2	1	3
Não infetado	-	-	-	-	+	-	3	1	4
Não infetado	-	-	-	-	-	+	3	1	4
Não infetado	-	-	-	-	-	-	696	577	1273
Não infetado	-	-	-	-	-	N/D	0	1	1
Não infetado	-	-	-	-	-	=	0	1	1
Não infetado	-	-	-	-	N/D	-	16	9	25
Não infetado	-	-	-	-	N/D	N/D	1	0	1
Não infetado	-	-	-	N/D	-	-	2	2	4
Não infetado	-	-	-	N/D	N/D	-	0	1	1
Não infetado	-	-	-	=	-	-	11	10	21
Não infetado	-	-	-	=	-	N/D	0	1	1
Não infetado	-	-	=	-	-	-	1	1	2
Não infetado	-	N/D	-	-	-	-	0	1	1
Não infetado	-	N/D	-	-	N/D	N/D	1	0	1
Não infetado	N/D	-	-	-	-	-	5	4	9
Não infetado	=	-	-	-	-	-	1	1	2
Total							811	640	1451

Sint. = Sintomático; Assint. = Assintomático. N/A = Espécime não obtido ou não disponível para teste. O sinal de igual (=) representa um resultado equívoco ou indeterminado na repetição do teste. EF = Esfregaço endocervical feminino; UF = Urina feminina; EVP = Esfregaço vaginal colhido pela paciente; EVM = Esfregaço vaginal colhido pelo médico.

Tabela 7e: Resultados do estado de infecção do paciente após estudo clínico de espécimes de citologia líquida em PreservCyt para *N. gonorrhoeae*

Estado de infecção do paciente	Esfregaço endocervical		Estado sintomático	
	Aptima Combo 2 Assay	Aptima GC Assay	Sintomática	Assintomática
Infetado	Positivo	Positivo	7	6
Não infetado	Negativo	Negativo	352	1276
Não infetado	Negativo	Positivo	0	5
Não infetado	Equívoco	Positivo	0	1
Total			359	1288

Distribuição da RLU dos controlos Aptima

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

Tabela 8: Distribuição de RLU dos controlos Aptima durante os estudos clínicos de espécimes incluindo estudos de espécimes de esfregaço endocervical, vaginal e de uretra masculina e espécimes de urina de ambos os sexos e citologia líquida em PreservCyt

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

Concordância dos espécimes clínicos

Concordância no Tigris DTS System

A concordância entre os resultados do Aptima GC assay gerados no Tigris DTS System totalmente automático e nos DTS Systems semiautomáticos foi avaliada testando espécimes de esfregaço endocervicais, esfregaço da uretra masculina, urina de ambos os sexos, esfregaços vaginais e espécimes de citologia líquida em PreservCyt. Cada um dos espécimes clínicos foi testado individualmente com o Aptima GC assay no Tigris DTS System e nos DTS Systems, na Hologic. A ordem dos testes não foi aleatorizada. Os espécimes identificados para inclusão foram testados no Tigris DTS System seguido por testes nos DTS Systems.

Estudo de concordância de espécimes clínicos – espécimes de esfregaço endocervicais, esfregaço da uretra masculina, urina de ambos os sexos, esfregaços vaginais e espécimes de citologia líquida em PreservCyt

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

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

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

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

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

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

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

"+" indica um resultado positivo, "-" um resultado negativo, IC = intervalo de confiança.

*Amostras de esfregaço endocervical e vaginal combinadas.

¹Uma discordância no esfregaço vaginal.

Concordância dos espécimes clínicos do Panther System

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

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

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

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

*Calculado utilizando o método Score com base no número de amostras únicas testadas.

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

Consulte a Tabela 4 para obter as estimativas de desempenho do Aptima GC assay para espécimes de esfregaço endocervical, esfregaço vaginal, esfregaço uretral masculino e de urina de ambos os sexos e a Tabela 5a para os espécimes de citologia líquida em PreservCyt testados nos DTS systems. Tendo em consideração os resultados obtidos na concordância nos estudos de concordância do sistema Tigris DTS e no estudo de concordância do Panther system, as estimativas de desempenho clínico no Panther system com todos os tipos de espécimes deverão ser similares.

Desempenho analítico

Sensibilidade analítica (DTS)

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

Estudo de equivalência da sensibilidade analítica (Tigris)

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

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

O estudo do painel clínico enriquecido com rRNA de GC avaliou a concordância entre os dois sistemas com recurso a seis painéis clínicos de GC preparados pela Hologic e enriquecidos com 0 a 250 000 fg rRNA/ensaio de GC. Os painéis clínicos de GC foram criados a partir de esfregaço endocervical, esfregaço vaginal, esfregaço da uretra, espécimes de urina masculina, urina feminina e citologia líquida em PreservCyt que apresentaram resultados do Aptima GC negativos nos DTS systems quando testados na Hologic. Os espécimes negativos foram agrupados por tipo de espécime enriquecidos ou não com rRNA de GC e foram divididos em alíquotas como réplicas de cada membro do painel. As réplicas de cada um dos 6 membros do painel enriquecidas com diferentes níveis de rRNA foram combinadas para criar um painel clínico para cada tipo de espécime. Cada painel incluiu um total de 132 réplicas.

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

A Tabela 11 mostra as percentagens de concordância de cada nível de rRNA nos painéis de esfregaço endocervical, esfregaço vaginal, esfregaço uretral, urina masculina, urina feminina e citologia líquida em PreservCyt, respetivamente, com os resultados esperados de GC para o Tigris DTS system e os DTS Systems. As concentrações variaram entre 1 logaritmo abaixo e 3 logaritmos acima de 250 fg rRNA/ensaio para GC. A Tabela 11 mostra também as percentagens de concordância geral do estudo do painel clínico entre o Tigris DTS system e os DTS systems.

Tabela 11: Estudo de concordância do painel clínico enriquecido com rRNA de GC

Espécime	Membro do painel	Concentração (fg rRNA/ensaio)	Réplicas	% de concordância Tigris	% de concordância DTS	% de concordância geral entre o Tigris e o DTS (IC de 95%)
Endocervical	Sem alvo	0	12	100	100	100 (97,2-100)
	Muito baixo	25	30	100	100	
	Baixa	250	30	100	100	
	Média	2 500	30	100	100	
	Alto	250 000	30	100	100	
Zaragatoa Vaginal	Sem alvo	0	12	100	100	100 (97,2-100)
	Muito baixo	25	29*	100	100	
	Baixa	250	30	100	100	
	Média	2 500	30	100	100	
	Alto	250 000	30	100	100	
Uretral	Sem alvo	0	12	100	100	100 (97,2-100)
	Muito baixo	25	30	100	100	
	Baixa	250	30	100	100	
	Média	2 500	30	100	100	
	Alto	250 000	30	100	100	
Estudo inicial	Sem alvo	0	12	100	100	91,7 (85,6-95,8)
	Muito baixo	25	30	63,3 (19/30)	100	
	Baixa	250	30	100	100	
	Média	2 500	30	100	100	
	Alto	250 000	30	100	100	
Urina masculina Seguimento 1	Sem alvo	0	18	100	100	100 (97,4-100)
	Muito baixo	25	30	100	100	
	Baixa	250	30	100	100	
	Média	2 500	30	100	100	
	Alto	250 000	30	100	100	
Urina masculina Seguimento 2	Sem alvo	0	18	100	100	100 (97,4-100)
	Muito baixo	25	30	100	100	
	Baixa	250	30	100	100	
	Média	2 500	30	100	100	
	Alto	250 000	30	100	100	

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

Tabela 11: Estudo de concordância do painel clínico enriquecido com rRNA de GC (continuação)

Espécime	Membro do painel	Concentração (fg rRNA/ensaio)	Réplicas	% de concordância Tigris	% de concordância DTS	% de concordância geral entre o Tigris e o DTS (IC de 95%)
Urina feminina	Estudo inicial	Sem alvo	12	100	100	75,8 (67,5-82,8)
		Muito baixo	30	13,3 (4/30)	100	
		Baixa	30	80 (24/30)	100	
		Média	30	100	100	
		Alto	30	100	100	
	Seguimento 1	Sem alvo	18	100	100	99,3 (96,0-100)
		Muito baixo	30	96,7 (29/30)	100	
		Baixa	30	100	100	
		Média	30	100	100	
		Alto	30	100	100	
	Seguimento 2	Sem alvo	18	100	100	97,8 (93,8-99,5)
		Muito baixo	30	90 (27/30)	100	
		Baixa	30	100	100	
		Média	30	100	100	
		Alto	30	100	100	
Citologia líquida em solução PreservCyt	Sem alvo	12	100	100	100 (97,2-100)	
	Muito baixo	30	100	100		
	Baixa	30	100	100		
	Média	30	100	100		
	Alto	30	100	100		

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

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

Amostras de urina negativas individuais foram enriquecidas com GC para criar um painel de 120 positivos para GC. Os membros do painel positivo para GC foram enriquecidos com organismos a 12,5 CFU/ml, 125 CFU/ml ou 1250 CFU/ml (25 fg/ensaio, 250 fg/ensaio ou 2500 fg/ensaio). Além disso, foram colhidos 120 espécimes de urina negativos para GC. Os painéis positivo e negativo foram testados em três Panther e três Tigris DTS systems. A percentagem de concordância positiva entre o Panther system e o Tigris DTS system foi de 100% com um intervalo de confiança de 95% inferior de 98,9. A percentagem de concordância negativa entre o Panther system e o Tigris DTS system foi de 100% com um intervalo de confiança de 95% inferior de 98,9. Os resultados do estudo são apresentados na Tabela 12.

Tabela 12: Estudo de concordância do painel clínico enriquecido: Concordância com os resultados de GC esperados

Membro do painel	Concentração		Réplicas	Tigris	Panther
	CFU/ml	fg/ensaio		% Concordância	% Concordância
Positivo muito baixo	12,5	25	117	100	100
Positivo baixo	125	250	120	100	100
Positivo médio	1 250	2500	120	100	100
Negativo	0	0	360	100	100

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

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

Estudo de sensibilidade analítica (Panther)

A sensibilidade analítica do Aptima GC assay foi testada com três tipos de espécimes representativos. Estes eram esfregaços de urina, PreservCyt, vaginais e STM (como controle). O rRNA de GC foi enriquecido em grupos destas três matrizes de espécimes nas seguintes concentrações: 25 fg/ensaio e 250 fg/ensaio (equivalentes de rRNA de 12,5 CFU/ml and e 125 CFU/ml). Os equivalentes de rRNA foram calculados com base no tamanho do genoma e na relação DNA: RNA por célula estimada de cada organismo. Estes painéis foram testados em três instrumentos Panther utilizando três lotes de reagentes em réplicas de 60. Calculou-se a concordância positiva com o resultado esperado. A concordância com os resultados esperados foi de 100% (IC de 95% entre 95,7–100%) em todos os painéis de urina, de 100% (IC de 95% entre 95,7–100%) em todos os painéis de citologia líquida em solução PreservCyt, de 100% (IC de 95% entre 95,7–100%) em todos os painéis de esfregaço vaginal e de 100% (IC de 95% entre 96,1–100%) para todos os painéis de STM. A sensibilidade analítica para o ensaio é de 125 CFU/ml

Especificidade analítica

Avaliou-se um total de 154 isolados de cultura utilizando o Aptima GC assay. Estes isolados incluíram 86 organismos que podem ser isolados do trato urogenital e 68 organismos adicionais que representam uma secção transversal filogenética de organismos. Os organismos testados incluíram bactérias, fungos, leveduras, parasitas e vírus. Todos os organismos exceto *C. psittaci*, *C. pneumoniae*, *U. urealyticum* e os vírus foram testados a $1,0 \times 10^6$ células/ensaio em meio de transporte de urina KOVA-Trol e 60 organismos foram testados em meio de transporte de zaragatoas. Os organismos Chlamydia e Neisseria foram testados em meios de solução PreservCyt. Testou-se *C. psittaci* (VR601) a $8,0 \times 10^4$ células/ensaio e *C. psittaci* VR125 a $1,0 \times 10^5$ células/ensaio. Testou-se *C. pneumoniae* a $4,0 \times 10^3$ células/ensaio e *U. urealyticum* a $6,7 \times 10^6$ células/ensaio. Os vírus foram testados da seguinte forma: (a) vírus herpes simplex I: $2,5 \times 10^4$ TCID₅₀/ensaio, (b) vírus herpes simplex II: $6,0 \times 10^4$ TCID₅₀/ensaio, (c) vírus do papiloma humano 16: $2,9 \times 10^6$ cópias de DNA/ensaio e (d) citomegalovírus: $4,8 \times 10^5$ células/ensaio. A lista de organismos testados é apresentada na Tabela 13.

Tabela 13: Especificidade analítica

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

(n) = o número de estirpes testadas.

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

Estudo de equivalência da especificidade analítica

Num ensaio de amplificação de ácidos nucleicos, a especificidade analítica relativa a organismos individuais é, em grande medida, determinada pela química do ensaio (por exemplo, as sequências oligonucleótidas) mais do que pela plataforma. Como os reagentes do Aptima GC assay são idênticos entre o Panther System, o Tigris DTS System e os sistemas DTS, as experiências de especificidade analítica no Panther system foram concebidas para se focarem nos isolados de cultura mais complicados. Estes organismos incluíam aqueles conhecidos por fazerem reação cruzada em outros ensaios de amplificação. Selecionaram-se vinte e cinco (25) isolados de cultura no painel de organismos da Tabela 13, incluindo 17 organismos que estão intimamente relacionados com GC. Todos os organismos testados originaram resultados negativos.

Substâncias interferentes

As seguintes substâncias interferentes foram adicionadas individualmente a espécimes de esfregaço, de citologia líquida em PreservCyt e/ou de urina: 10% de sangue, gel contraceptivo, espermicida, hidratante, anestésico hemorroidal, óleo corporal, pó, creme antifúngico, lubrificantes vaginais, spray feminino e leucócitos ($1,0 \times 10^6$ células/ml). As seguintes substâncias interferentes foram adicionadas individualmente a espécimes de urina: 30% de sangue, analitos de urina, proteínas, glucose, cetonas, bilirrubina, nitrato, urobilinogénio, pH4 (ácido), pH9 (alcalino), leucócitos ($1,0 \times 10^6$ células/ml), resíduos celulares, vitaminas, minerais, acetaminofeno, aspirina e ibuprofeno. Todos foram analisados para determinar a possível interferência do ensaio na ausência e na presença de GC no rRNA estimado, equivalente a 50 células GC/ensaio (250 fg/ensaio). Os equivalentes de rRNA foram calculados com base no tamanho do genoma e na relação DNA:RNA por célula estimada de cada organismo.

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

Estudo de equivalência de substâncias interferentes

O sangue habitualmente encontrado em espécimes urogenitais pode interferir em alguns ensaios de amplificação. Utilizou-se sangue total para estabelecer o grau de interferência do sangue no Panther System em relação a este possível interferente. Adicionou-se sangue fresco a grupos clínicos de espécimes de esfregaço vaginal espécimes de citologia líquida em solução PreservCyt pós-processados ou espécimes de urina e estes foram testados para determinar uma possível interferência com o ensaio na presença e na ausência do GC alvo. Utilizou-se o equivalente de rRNA estimado de 125 CFU GC/ml (250 fg/ensaio) como concentração-alvo, pois este representa a sensibilidade analítica do ensaio. Os espécimes foram testados no Panther system. Todas as amostras com ácido nucleico alvo resultaram positivas quando testadas a uma concentração de 10% (vol/vol) de sangue em esfregaço ou em espécimes de citologia líquida em solução PreservCyt e de 30% (vol/vol) de sangue em espécimes de urina. Todas as amostras que não continham o alvo foram corretamente identificadas como negativas. O sangue adicionado aos espécimes de esfregaço, PreservCyt e de urina, em concentrações muito mais altas do que o previsto com uma colheita normal de espécimes, não interferiu com os resultados no Panther system.

Recuperação

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

Estudos de estabilidade dos espécimes

A. Espécimes de esfregaço e de urina

Os dados que suportam as condições recomendadas de transporte e armazenamento das amostras de esfregaço endocervical, uretral e vaginal foram gerados a partir de um grupo de amostras negativas de esfregaços. As amostras agrupadas foram enriquecidas com GC numa concentração final de aproximadamente 50 CFU por reação. As amostras enriquecidas foram mantidas a temperaturas de 4 °C e 30 °C. As amostras foram testadas em duplicado nos dias 0, 20, 77 e 117. Todas as condições de teste foram positivas para GC, em todas as ocasiões e temperaturas.

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

B. Espécimes de citologia líquida em solução PreservCyt

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

Para as amostras processadas, foram utilizados quatro grupos amostras de solução PreservCyt para determinar a estabilidade dos espécimes processados a temperaturas entre 2 °C e 30 °C. Cada grupo de amostras negativo foi enriquecido com 50-100 CFU GC/ensaio e depois testado na linha de base. Antes do processamento, as amostras de solução PreservCyt foram armazenadas a 30 °C durante sete (7) dias para simular o tempo decorrido entre a colheita das amostras o processamento da citologia e o envio para um laboratório de testes de microbiologia. Após sete dias a 30 °C, foram transferidas alíquotas de 1 ml de cada grupo para um tubo de transferência de espécimes Aptima e foram testadas na linha de base antes de serem colocadas a 2 °C, 10 °C e 30 °C. As amostras processadas foram então testadas durante 17 dias, armazenadas a 30 °C e 36 dias armazenadas entre 2 °C e 10 °C. Todas as amostras enriquecidas foram positivas para GC, em todas as ocasiões e temperaturas.

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

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

Estudo de precisão/reprodutibilidade

A precisão do Aptima GC assay foi avaliada com três Panther systems, dois lotes de kits Aptima GC assay, ao longo de um período de 24 dias. Criaram-se painéis, enriquecendo STM com rRNA de GC nas concentrações indicadas na Tabela 14. Os operadores efetuaram duas execuções diárias, analisando cada membro do painel em duas réplicas por execução. A concordância com o resultado esperado foi calculada e a precisão foi estimada de acordo com as diretrizes EP5-A2 da NCCLS (12). O número total de réplicas de cada painel foi de 96. A Tabela 14 apresenta os dados de RLU da precisão em termos de Média, Desvio padrão, Coeficiente de variação (CV), percentagem de concordância com os resultados esperados e cálculos de variabilidade entre instrumentos, entre lotes, entre execuções e intraexecuções.

Tabela 14: Precisão do Panther para o Aptima GC Assay

Matriz	GC (UFC/mL)	N	RLU média (x1000)	% Conc	Entre instrumentos		Entre lotes		Entre execuções		Intraexecução		Total	
					DP (x1000)	CV (%)	DP (x1000)	CV (%)	DP (x1000)	CV (%)	DP (x1000)	CV (%)	DP (x1000)	CV (%)
STM	0	96	3	100	0	0	0	0	0	0	2,01	72,8	2	72,5
	12,5	96	3951	100	215,14	5,4	0	0	0	0	568,24	14,4	607,6	15,4
	125	95*	5839	100	370,17	6,3	0	0	0	0	772,58	13,2	856,7	14,7
	1250	96	6207	100	338,25	5,4	0	0	0	0	787,64	12,7	857,2	13,8
Urina	0	95*	3	100	0,69	21,6	0,81	25,5	0,77	24,2	2,43	76,3	2,8	87,8
	12,5	96	3460	100	0	0	195,84	5,7	113,27	3,3	207,53	6	307	8,9
	125	96	6047	100	158,67	2,6	170,32	2,8	0	0	206,24	3,4	311	5,1
	1250	96	6737	100	218,35	3,2	238,49	3,5	66,22	1	176,72	2,6	374,4	5,6
PreservCyt	0	95*	6	100	1,9	33,6	0	0	0,54	9,5	5,96	105,2	6,3	111,2
	12,5	96	3358	100	257,9	7,7	0	0	0	0	485,45	14,5	549,7	16,4
	125	96	5272	100	243,09	4,6	201,89	3,8	0	0	751,72	14,3	815,4	15,5
	1250	96	5945	100	355,95	6	51,06	0,9	0	0	759,35	12,8	840,2	14,1

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

* o n de 95 indica 1 réplica inválida em 96 que não foi repetida.

Estudos de contaminação por transferência para o Panther System

Para estabelecer se o Panther system minimiza o risco de resultados falsos positivos decorrentes de contaminação por transferência, realizou-se um estudo analítico de múltiplas execuções com painéis enriquecidos em três Panther systems. A contaminação por transferência foi avaliada utilizando cerca de 20% de amostras de GC de título elevado dispersas entre amostras negativas. As execuções incluíram agregados de amostras fortemente positivas com agregados de amostras negativas, assim como positivos fortes únicos dispersos segundo um padrão específico dentro da execução. As amostras de título elevado foram preparadas utilizando STM enriquecido com rRNA de GC de forma a obter uma concentração final de 5×10^5 fg rRNA/reação (equivalente a um rRNA de $2,5 \times 10^5$ CFU/ml). Os testes efetuaram-se utilizando 5 execuções em três Panther systems, num total de 2923 amostras negativas. A taxa de contaminação por transferência global foi de 0%, com um intervalo de confiança de 95% situado entre 0–0,1%. Um total de 17 amostras negativas das execuções com título elevado foram consideradas inválidas e, por isso, excluídas do cálculo.

Bibliografia

1. **Centers for Disease Control and Prevention.** *Sexually Transmitted Disease Surveillance 2019*. Atlanta, GA: U.S. Department of Health and Human Services; 2019. DOI: 10.15620/cdc.79370.
2. **Holmes, K. K., H. H. Handsfield, S. P. Wang, B. B. Wentworth, M. Turck, J. B. Anderson, and E. R. Alexander.** 1975. Etiology of nongonococcal urethritis. *NEJM* **292**:1199-1205.
3. **Masi, A. T., and B. I. Eisenstein.** 1981. Disseminated Gonococcal Infections (DGI) and Gonococcal Arthritis (GCA): II Clinical Manifestations, Diagnosis, Complications, Treatment and Prevention. *Semin. Arthritis Rheum.* **10**:173.
4. **Hook III, E. W. and H. H. Handsfield.** 1999. Gonococcal Infections in the Adult. p. 458. In K. Holmes et. al. (eds.) *Sexually Transmitted Diseases*. McGraw Hill, New York, N.Y.
5. **Ching, S., H. Lee, E. W. Hook, III, M. R. Jacobs, and J. Zenilman.** 1995. Ligase chain reaction for detection of *Neisseria gonorrhoeae* in urogenital swabs. *J. Clin. Microbiol.* **33**:3111-3114.
6. **Krauss, S. J., R. C. Geller, G. H. Perkins, and D. L. Rhoden.** 1976. Interference of *Neisseria gonorrhoeae* growth by other bacterial species. *J. Clin. Microbiol.* **4**:288-295.
7. **Farrel, D. J.** 1999. Evaluation of AMPLICOR *Neisseria gonorrhoeae* PCR using cppB nested PCR and 16S rRNA PCR. *J. Clin. Microbiol.* **37**:386-390.
8. **Chong, S., D. Jang, X. Song, J. Mahony, A. Petrick, P. Barriga, and M. Chernesky.** 2003. Specimen Processing and Concentration of *Chlamydia trachomatis* Added Can Influence False-Negative Rates in the LCx Assay but Not in the Aptima Combo 2 Assay When Testing for Inhibitors. *J. Clin. Microbiol.* **41**:778-782.
9. **Gaydos, C. A., T. C. Quinn, D. Willis, A. Weissfeld, E. W. Hook, D. H. Martin, D. V. Ferraro, and J. Schachter.** 2003. Performance of the Aptima Combo 2 Assay for Detection of *Chlamydia trachomatis* and *Neisseria gonorrhoeae* in Female Urine and Endocervical Swab Specimens. *J. Clin. Microbiol.* **41**:304-309.
10. **Public Health England.** 2014. Guidance for the detection of gonorrhoea in England. <https://www.gov.uk/government/publications/guidance-for-the-detection-of-gonorrhoea-in-england>.
11. **National Committee for Clinical Laboratory Standards.** 2002. NCCLS EP12-A. User Protocol for Evaluation of Qualitative Test Performance; Approved Guideline for additional guidance on appropriate internal quality control testing practices.
12. **National Committee for Clinical Laboratory Standards.** 2004. NCCLS EP5-A2: Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods: Approved Guideline (2nd edition, Vol. 24, No. 25).

Informações de contacto e histórico de revisões



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



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



Hologic BV
Da Vinciilaan 5
1930 Zaventem
Belgium

Para obter o endereço de e-mail e o número de telefone do Suporte técnico e do Apoio ao Cliente específicos de cada país, visite www.hologic.com/support.

Incidentes graves que ocorram em relação ao dispositivo na União Europeia devem ser comunicados ao fabricante e à autoridade competente do Estado Membro onde o utilizador e/ou paciente reside.

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

TECAN é uma marca comercial da Tecan Group AG.

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

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

© 2003-2022 Hologic, Inc. Todos os direitos reservados.

AW-22785-601 Rev. 001

2022-11

Histórico de revisão	Data	Descrição
AW-22785 Rev. 001	Novembro de 2022	<ul style="list-style-type: none"> • Criação das instruções de utilização do APTIMA GC Assay AW-22785 Rev. 001 com base em 502185EN Rev. 009 para conformidade regulamentar com o IVDR • Atualização da Utilização prevista removendo a referência à utilização nos DTS Systems e Tigris DTS Systems • Adicionado o Resumo de segurança e desempenho • Atualização das Informações sobre riscos para a UE • Atualização secção Pontas, 1000 µl, localizada por baixo da tabela Materiais necessários, mas disponíveis separadamente • Atualização das secções de Advertências e precauções, Colheita e conservação de espécimes, tabela Materiais necessários, mas disponíveis separadamente, Panther system, Interpretação dos testes - CQ/Resultados do paciente, Limitações, Resultados do estudo clínico, Valores esperados, Desempenho clínico, Concordância dos espécimes clínicos, Concordância dos espécimes clínicos do Panther System e informações dos espécimes clínicos de Desempenho analítico e da bibliografia • Atualização de informações de contacto incluindo: Representante na CE, marcação CE, informações do representante australiano e suporte técnico • Diversas atualizações de estilo e formatação