

Ensaio Aptima Combo 2™ (Panther™ System)

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

Informações gerais	2
Utilização prevista	2
Resumo e explicação do teste	2
Princípios do procedimento	3
Resumo de segurança e desempenho	4
Advertências e precauções	4
Requisitos de conservação e manuseamento de reagentes	7
Colheita e conservação de espécimes	9
Panther System	11
Reagentes e materiais fornecidos	11
Materiais necessários, mas disponíveis separadamente	12
Materiais opcionais	13
Procedimento de teste no Panther System	14
Notas sobre o procedimento	17
Interpretação dos testes - CQ/Resultados do paciente	18
Limitações	21
Valores esperados	23
Prevalência	23
Valores preditivos positivos e negativos para taxas de prevalência hipotéticas	26
Desempenho clínico	29
Estudo clínico 1. Estudo clínico com espécimes de esfregaço vaginal, citologia líquida em solução PreservCyt, esfregaço endocervical feminino e esfregaço da uretra masculina	29
Estudo clínico 2. Estudo clínico de espécimes de urina masculina	30
Estudo clínico 3. Estudo clínico de espécimes de urina feminina	31
Estudo clínico 4. Estudo clínico de espécimes de esfregaço faríngeo e retal	32
Desempenho clínico de esfregaços faríngeos e retais colhidos pelo paciente	50
Distribuição da RLU dos controlos Aptima Combo 2	50
Desempenho analítico	52
Estudo de sensibilidade analítica	52
Estudo da especificidade analítica	52
Substâncias interferentes	55
Estudo de precisão dentro do laboratório	55
Estudos de reprodutibilidade	56
Estudos de contaminação por transferência para o Panther System	58
Estudo de concordância de espécimes clínicos	59
Estudos de estabilidade dos espécimes	59
Bibliografia	61
Informações de contacto e histórico de revisões	63

Informações gerais

Utilização prevista

O ensaio Aptima Combo 2™ é um teste de sonda de ácidos nucleicos de amplificação do alvo que utiliza a captura do alvo para a detecção qualitativa *in vitro* e a diferenciação de RNA ribossômico (rRNA) de *Chlamydia trachomatis* (CT) e/ou *Neisseria gonorrhoeae* (GC) para ajudar a diagnosticar doenças provocadas por clamídias e/ou gonococos utilizando o Panther™ system conforme especificado.

No Panther system, o ensaio pode ser utilizado para testar os seguintes espécimes de indivíduos sintomáticos e assintomáticos: espécimes endocervicais, de citologia líquida em solução PreservCyt™, espécimes de esfregaços vaginais, faríngeos, retais e da uretra masculina colhidos pelo médico; espécimes de esfregaços vaginais, faríngeos e retais colhidos pelo paciente¹ e espécimes de urina de ambos os sexos.

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 infecções por *Chlamydia trachomatis* (CT) e *Neisseria gonorrhoeae* (GC) são duas das infecções sexualmente transmissíveis mais comuns em todo o mundo. Apenas nos Estados Unidos da América, foi relatado um total de 1 808 703 casos de infecções por CT (552,8 por população de 100 000) e 616 392 casos de infecções por GC (188,4 por população de 100 000) aos Centers for Disease Control, em 2019 (8). As diretrizes de tratamento de DST dos CDC incluem recomendações de testes e rastreio de CT e GC e fornecem orientações sobre a metodologia e a frequência dos testes, bem como tipos de espécimes para populações de pacientes específicas.

As clamídias são bactérias intracelulares imóveis, gram-negativas e estritas. As espécies CT são constituídas por, pelo menos, quinze serotipos (A, B, Ba, C, D, E, F, G, H, I, J, K, L1, L2 e L3) que podem provocar doenças nos seres humanos (43). Os serotipos D a K são a principal causa de infecções genitais por clamídia em homens e mulheres (34). A *C. trachomatis* pode causar uretrite não-gonocócica, epididimite, proctite, cervicite, salpingite aguda e doença inflamatória pélvica (DIP) (4, 22, 36, 37). As infecções por *C. trachomatis* são frequentemente assintomáticas tanto em homens como em mulheres. As crianças que nascem de mães infetadas correm um risco significativamente superior de sofrer de conjuntivite de inclusão e de pneumonia associada a clamídia (2, 16, 35).

Historicamente, utilizaram-se vários métodos de detecção de CT em laboratórios clínicos, incluindo a cultura de células, o teste fluorescente direto de anticorpos e o imunoensaio enzimático. Metodologias mais recentes de detecção de CT incluem ensaios de sonda de DNA diretos e ensaios de sonda de DNA por teste de amplificação do ácido nucleico (NAAT). A cultura de células já foi considerado o “padrão de referência” para detecção de CT. A cultura é bastante específica, mas publicações científicas demonstraram que as tecnologias de sonda de DNA de NAAT têm uma sensibilidade clínica superior à das culturas (3, 12, 24, 39).

A *N. gonorrhoeae* é o agente causador da gonorreia. As *N. gonorrhoeae* são diplococos imóveis e gram-negativos. A maior parte das infecções gonorreicas são infecções simples do trato genital inferior e podem ser assintomáticas. No entanto, se não forem tratadas nas mulheres, as infecções podem ascender e causar DIP, que pode manifestar-se como endometrite, salpingite, peritonite pélvica e abscessos tubo-ováricos. Uma pequena percentagem de pessoas com infecções gonocócicas pode desenvolver infecção gonocócica disseminada (IGD) (21, 28). Se não

for tratada nos homens, a uretrite, incluindo disúria, epididimite e dor no escroto, pode persistir. As infecções orofaríngeas por CT e NG podem apresentar garganta inflamada, embora a maioria seja assintomática. As infecções retais, quando sintomáticas, podem apresentar descarga, prurido anal, sensibilidade, hemorragia e movimentos intestinais dolorosos (6, 8).

O diagnóstico convencional das infecções por GC exige que o organismo seja isolado em meio seletivo ou a observação de diplococos em esfregaços com coloração de Gram (23). 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. 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 (10, 26).

Os CDC recomendam a utilização de NAAT para a detecção de CT e GC em homens e mulheres com e sem sintomas, não apenas para espécimes urogenitais, mas também para locais extragenitais (5).

A primeira geração de NAAT para CT e 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 (9, 13, 19, 27, 31, 40, 41, 42). O ensaio Aptima Combo 2 é um NAAT de segunda geração que utiliza tecnologias de captura do alvo, de amplificação mediada por transcrição (TMA) e de ensaio cinético Dual (DKA) 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 DKA (11, 17). O ensaio Aptima Combo 2 no Panther system deteta qualitativamente rRNA de CT e/ou GC em espécimes endocervicais, de citologia líquida em solução PreservCyt, espécimes de esfregaços vaginais, faríngeos, retais e da uretra masculina colhidos pelo médico; espécimes de esfregaços vaginais colhidos pela paciente e espécimes de urina de ambos os sexos de indivíduos sintomáticos e assintomáticos.

Em 2019, foram descobertas novas variantes de *C. trachomatis* que contêm mutações pontuais que afetam a detecção pela versão original do ensaio Aptima Combo 2 (20, 25, 32, 33, 45, 46). Foram relatadas anteriormente (44) estirpes variantes de chlamydia com mutações que afetam o desempenho dos testes de diagnóstico, sendo um produto natural da evolução microbiana. A versão atualizada do ensaio Aptima Combo 2 fornece cobertura de detecção para as estirpes variantes de *C. trachomatis* que surgiram em 2019.

Princípios do procedimento

O ensaio Aptima Combo 2 combina as tecnologias de captura do alvo, TMA e DKA.

Os espécimes são colhidos e transferidos para os respetivos tubos de transporte de espécimes. As soluções de transporte desses tubos libertam os rRNA alvo e impedem a respetiva degradação durante o armazenamento. Quando o ensaio Aptima Combo 2 é efetuado no laboratório, as moléculas do rRNA alvo são isoladas dos espécimes utilizando oligómeros de captura através de uma captura do alvo que utiliza micropartículas magnéticas. Os oligómeros de captura contêm sequências complementares a regiões específicas das moléculas alvo, bem como uma cadeia de resíduos de desoxiadenosina. Utiliza-se um oligómero de captura individual para cada alvo. Durante o passo de hibridação, as regiões específicas da sequência dos oligómeros de captura ligam-se a regiões específicas das moléculas 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 oligômero de captura e as moléculas de polidesoxitimidina que estão ligadas de forma covalente às partículas magnéticas. As micropartículas, incluindo as moléculas alvo capturadas ligadas às mesmas, são arrastadas para a secção lateral do tubo de reação por ímãs 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. O ensaio Aptima Combo 2 replica uma região específica do rRNA 23S da CT e uma região específica do rRNA 16S da GC através de intermediários de DNA. Um conjunto exclusivo de "primers" é usado para cada molécula alvo. A detecção das sequências do produto da amplificação do rRNA é alcançada com a hibridação do ácido nucleico. Sondas quimioluminescentes de ácido nucleico de cadeia simples, complementares a uma região de cada produto da amplificação alvo, são marcadas com diferentes moléculas de éster de acridina. A versão atualizada do ensaio Aptima Combo 2 incorpora uma segunda sonda de CT, complementar a uma região única do produto da amplificação de CT existente. Esta sonda tandem fornece cobertura de detecção para as estirpes variantes de *C. trachomatis* que surgiram em 2019. As sondas marcadas combinam com o produto da amplificação para formar híbridos 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 marcados é medida como sinais de fótons num luminómetro e indicada em unidades de luz relativas (RLU). Na DKA, diferenças nos perfis cinéticos das sondas marcadas com CT e GC permitem efetuar a distinção dos sinais; os perfis cinéticos são obtidos a partir das medições do débito de fótons durante o tempo de leitura de detecção. A reação de detecção quimioluminescente para o sinal CT apresenta uma cinética muito rápida e tem um tipo cinético de "sinal intermitente". A reação de detecção quimioluminescente para o sinal GC é relativamente mais lenta e tem um tipo cinético de "sinal contínuo". Os resultados do ensaio são determinados por um "cut-off" baseado na RLU total e no tipo de curva cinética.

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 ensaio Aptima Combo 2, consulte o Identificador único do dispositivo básico (BUDI): 54200455DIAGAPTCOMBO2P8.

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, os olhos e as membranas mucosas. Se este fluido entrar em contacto com a pele ou os olhos, lave com água. Se este fluido se derramar, dilua o derramamento com água antes de o limpar e secar.
- 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 os seguintes espécimes no Panther system:
- Espécimes de esfregaços endocervicais, vaginais, faríngeos, retais e da uretra masculina colhidos pelo médico
 - Espécimes de urina feminina e masculina
 - Espécimes de citologia líquida em solução PreservCyt colhidos pelo médico
 - Espécimes de esfregaços vaginais colhidos pela paciente
- As amostras ginecológicas colhidas para preparação com o processador ThinPrep™ devem ser colhidas usando dispositivos de colheita tipo escova ou espátulas endocervicais de combinação escova/plástico.
- 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 ensaio Aptima Combo 2. Os espécimes de citologia líquida em solução PreservCyt processados com outros instrumentos além do processador ThinPrep não foram avaliados quanto à utilização com ensaios Aptima.
- 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 ensaio Aptima Combo 2 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. Não utilize este kit após o respetivo prazo de validade.
- S. Não troque, misture, nem combine reagentes do ensaio de kits com números de lote diferentes. Os controlos e fluidos do ensaio Aptima (Panther system) podem pertencer a números de lote diferentes.
- T. 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 HEPES 25 – 30%</p> <p>—</p> <p>H412 – Nocivo para os organismos aquáticos com efeitos duradouros P273 – Evitar a libertação para o ambiente P280 – Usar proteção ocular/proteção facial</p>
—	<p>Enzyme Reagent HEPES 1 – 5%</p> <p>—</p> <p>H412 – Nocivo para os organismos aquáticos com efeitos duradouros P273 – Evitar a libertação para o ambiente P280 – Usar proteção ocular/proteção facial</p>
—	<p>Probe Reagent LAURYL SULFATE LITHIUM SALT 35 – 40% SUCCINIC ACID 10 – 15% LITHIUM HYDROXIDE, MONOHYDRATE 10 – 15%</p> <p>—</p> <p>—</p> <p>H412 – Nocivo para os organismos aquáticos com efeitos duradouros P273 – Evitar a libertação para o ambiente P280 – Usar proteção ocular/proteção facial</p>
	<p>Selection Reagent ÁCIDO BÓRICO 1 – 5%</p> <p>ATENÇÃO H315 – Provoca irritação cutânea</p>
—	<p>Target Capture Reagent HEPES 5 – 10% EDTA 1 – 5% LITHIUM HYDROXIDE, MONOHYDRATE 1 – 5%</p> <p>—</p> <p>—</p> <p>H412 – Nocivo para os organismos aquáticos com efeitos duradouros P273 – Evitar a libertação para o ambiente P280 – Usar proteção ocular/proteção facial</p>

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 Combo 2
 - Reagente enzimático Aptima Combo 2
 - Reagente de sonda Aptima Combo 2
 - Reagente B de captura do alvo Aptima Combo 2
 - Controlo positivo, CT / Controlo negativo, GC Aptima
 - Controlo positivo, GC / Controlo negativo, CT Aptima
- B. Os reagentes seguintes permanecem estáveis se armazenados a uma temperatura entre 2 °C e 30 °C:

Solução de reconstituição da amplificação Aptima Combo 2

Solução de reconstituição enzimática Aptima Combo 2

Solução de reconstituição de sonda Aptima Combo 2

Reagente de seleção Aptima Combo 2

- C. Os reagentes seguintes permanecem estáveis se armazenados a uma temperatura entre 15 °C e 30 °C (temperatura ambiente):

Reagente de captura do alvo Aptima Combo 2

- D. O reagente de captura do alvo de trabalho (wTCR) permanece estável durante 30 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 e o reagente de sonda permanecem estáveis durante 30 dias quando armazenados a uma temperatura entre 2 °C e 8 °C.

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

- G. Os controlos permanecem estáveis até à data indicada nos frascos.

- H. Os reagentes conservados dentro do Panther system permanecem estáveis durante 72 horas.

- I. O reagente de sonda e o reagente de sonda reconstituído são fotossensíveis. Mantenha os reagentes protegidos da luz. A estabilidade reconstituída especificada baseia-se numa exposição de 12 horas do Reagente de sonda reconstituído a duas lâmpadas fluorescentes de 60 W, a uma distância de 43 cm (17 pol.) e a uma temperatura inferior a 30 °C. A exposição à luz do Reagente de sonda reconstituído deve ser limitada em conformidade.

- 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 ensaio Aptima Combo 2 foi concebido para detetar a presença de CT e GC nos seguintes espécimes: espécimes endocervicais, de citologia líquida em solução PreservCyt, espécimes de esfregaços vaginais, faríngeos, retais e da uretra masculina colhidos pelo médico; espécimes de esfregaços vaginais, faríngeos e retais e espécimes de urina de ambos os sexos colhidos pelo paciente de indivíduos sintomáticos e assintomáticos.

- Kit de colheita de espécimes de esfregaço unissexo Aptima™ para espécimes de esfregaço endocervical e da uretra masculina
- Kit de colheita de urina Aptima™ para espécimes de urina masculina e feminina
- Kit de colheita de espécimes de esfregaço multiteste Aptima™ (para utilização com espécimes de esfregaço vaginal, faríngeo e retal)
- 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 urogenital:
 - a. Após a colheita, transporte e armazene o esfregaço no tubo de transporte de espécimes de esfregaço a uma temperatura entre 2 °C e 30 °C até ser testado. Os espécimes devem ser testados com o ensaio Aptima Combo 2 num período de 60 dias após a colheita. Se for necessário um período de armazenamento mais longo, congele os espécimes urogenitais no tubo de transporte de espécimes de esfregaço no prazo de 7 dias após a colheita a uma temperatura entre -20 °C e -70 °C para permitir que sejam realizados testes até 12 meses após a colheita (consulte *Estudos de estabilidade dos espécimes*).
2. Espécimes de esfregaços extragenitais (faríngeos e retais)
 - a. Após a colheita, transporte e armazene o esfregaço no tubo de transporte de espécimes de esfregaço a uma temperatura entre 4 °C e 30 °C ou -20 °C e -70 °C até ser testado. Os espécimes devem ser testados com o ensaio Aptima Combo 2 num período de 60 dias após a colheita (consulte *Estudo de estabilidade dos espécimes extragenitais*).
3. 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 espaço de 24 horas após a colheita. Transporte para o laboratório no recipiente de colheita primário ou no 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 ensaio Aptima Combo 2 no prazo de 30 dias 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 testes até 12 meses após a colheita (consulte *Estudos de estabilidade dos espécimes*).
4. Espécimes de citologia líquida em solução PreservCyt:

- a. Os espécimes de citologia líquida em solução PreservCyt destinados a serem utilizados em testes de CT e/ou 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 ensaio Aptima Combo 2 num período de 30 dias, quando armazenado a uma temperatura de 2 °C a 8 °C ou num período de 14 dias, quando armazenado a uma temperatura de 15 °C a 30 °C. Se necessitar de um período de armazenamento mais longo, congele o espécime no prazo de 7 dias após a transferência para o tubo de transferência de espécimes Aptima a uma temperatura de -20 °C a -70 °C para permitir que sejam realizados testes até 12 meses após a transferência (consulte *Estudos de estabilidade dos espécimes*).
- C. Acondicionamento de espécimes após o teste:
1. Os espécimes testados devem ser acondicionados num suporte em posição vertical.
 2. Os tubos de transporte de espécimes devem ser cobertos com uma película de plástico nova e limpa ou com folha de alumínio.
 3. Se as amostras testadas tiverem de ser congeladas ou expedidas, retire a tampa perfurável e coloque novas tampas não perfuráveis nos tubos de transporte de espécimes. Se os espécimes tiverem de ser expedidos para serem testados noutra local, mantenha as temperaturas recomendadas. Antes de destapar amostras previamente testadas e tapadas de novo, centrifugue os tubos de transporte de espécimes durante 5 minutos a uma Força Centrifuga Relativa (RCF) de 420 para levar todo o líquido para o fundo do tubo. **Evite salpicos e contaminação cruzada.**

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

Panther System

Os reagentes do ensaio Aptima Combo 2 para CT e GC são indicados abaixo para o Panther system. Os símbolos de identificação do reagente também estão indicados junto ao nome do reagente.

Reagentes e materiais fornecidos

Kit do ensaio Aptima Combo 2

100 testes (2 caixas e 1 kit de controlos) (Código de produto PRD-05576)

250 testes (2 caixas e 1 kit de controlos) (Código de produto PRD-05571)

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

Símbolo	Componente	Quantidade Kit de 250 testes	Quantidade Kit de 100 testes
A	Reagente de amplificação Aptima Combo 2 <i>Ácidos nucleicos não infecciosos liofilizados em solução tamponada com <5% de agente de volume.</i>	1 frasco	1 frasco
E	Reagente enzimático Aptima Combo 2 <i>Transcriptase reversa e RNA polimerase liofilizadas em solução tamponada com HEPES contendo < 10% de reagente de volume.</i>	1 frasco	1 frasco
P	Reagente de sonda Aptima Combo 2 <i>Sondas de DNA quimioluminescentes não infecciosas liofilizadas em solução tamponada com succinato contendo <5% de detergente.</i>	1 frasco	1 frasco
TCR-B	Reagente B de captura do alvo Aptima Combo 2 <i>Ácido nucleico não infeccioso em solução tamponada com < 5% de detergente.</i>	1 x 0,61 ml	1 x 0,30 ml

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

Símbolo	Componente	Quantidade Kit de 250 testes	Quantidade Kit de 100 testes
AR	Solução de reconstituição da amplificação Aptima Combo 2 <i>Solução aquosa com conservantes.</i>	1 x 27,7 ml	1 x 11,9 ml
ER	Solução de reconstituição enzimática Aptima Combo 2 <i>Solução tamponada com HEPES com surfactante e glicerol.</i>	1 x 11,1 ml	1 x 6,3 ml
PR	Solução de reconstituição de sonda Aptima Combo 2 <i>Solução tamponada com succinato contendo < 5% de detergente.</i>	1 x 35,4 ml	1 x 15,2 ml
S	Reagente de seleção Aptima Combo 2 <i>Solução tamponada com borato a 600 mM e com surfactante.</i>	1 x 108 ml	1 x 43,0 ml

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

Símbolo	Componente	Quantidade Kit de 250 testes	Quantidade Kit de 100 testes
TCR	Reagente de captura do alvo Aptima Combo 2 <i>Solução salina tamponada com fase sólida e oligómeros de captura.</i>	1 x 54 ml	1 x 26,0 ml
	Aros de reconstituição	3	3
	Folha de códigos de barras do lote mestre	1 folha	1 folha

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

Símbolo	Componente	Quantidade
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
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

*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
Panther Fusion™ System	PRD-04172
Panther™ System, Fluidos e resíduos contínuos (Panther Plus)	PRD-06067
Kit de fluidos do ensaio Aptima™ <i>(Solução de lavagem Aptima, tampão para o fluido de desativação Aptima e reagente de óleo Aptima)</i>	303014 (1000 testes)
Kit Aptima™ Auto Detect	303013 (1000 testes)
Unidades multitubos (MTUs)	104772-02
Kit de sacos de resíduos Panther™	902731
Tampa do recipiente de resíduos Panther™	504405
ou Kit de execução Panther <i>contém MTUs, sacos de resíduos, tampas de recipientes de resíduos, fluidos de ensaio e reagentes Auto Detect</i>	303096 (5000 testes)

	<u>Código produto</u>
Pontas, 1000 µL, com filtro, condutoras, deteção de líquido e descartáveis	901121 (10612513 Tecan) 903031 (10612513 Tecan)
<i>Nem todos os produtos estão disponíveis em todas as regiões. Contacte o seu representante para obter informações específicas da região</i>	MME-04134 (30180117 Tecan) MME-04128
Kit de transferência de espécimes Aptima™ <i>para utilização com espécimes em solução PreservCyt</i>	301154C
Kit de transferência de espécimes Aptima™ — imprimível <i>para utilização com espécimes em solução PreservCyt</i>	PRD-05110
Kit de colheita de espécimes de esfregaço multiteste Aptima™	PRD-03546
Kit de colheita de espécimes de esfregaço unissexo Aptima™ para espécimes de esfregaço endocervical e da uretra masculina	301041
Kit de colheita de espécimes de urina Aptima™ para espécimes de urina masculina e feminina	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)	—
Luvras descartáveis	—
Padrão de calibração SysCheck	301078
Tampas perfuráveis Aptima™	105668
Tampas não perfuráveis de substituição	103036A
Tampas de substituição para kits de 250 testes	—
<i>Soluções de amplificação e de reconstituição do reagente de sonda</i>	
	<i>CL0041 (100 tampas)</i>
<i>Solução de reconstituição do reagente enzimático</i>	<i>501616 (100 tampas)</i>
<i>TCR e reagente de seleção</i>	<i>CL0040 (100 tampas)</i>
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
Dispositivo de agitação de tubos por oscilação	—

Procedimento de teste no Panther System

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

A. Preparação da área de trabalho

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

B. Reconstituição/preparação dos reagentes de um novo kit

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

1. Para reconstituir o reagente de amplificação, o reagente enzimático e o reagente de sonda, combine os frascos de reagente liofilizado com a solução de reconstituição. Se estiverem refrigeradas, deixe as soluções de reconstituição atingirem a temperatura ambiente antes de utilizá-las.
 - a. Emparelhe cada solução de reconstituição com o respetivo reagente liofilizado. Certifique-se de que a solução de reconstituição e o reagente têm cores de rótulo correspondentes antes de inserir o aro de reconstituição.
 - b. Verifique os números do lote na Ficha de Códigos de Barras do Lote Mestre para garantir que estão emparelhados os reagentes adequados.
 - c. Abra o frasco 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. Coloque o frasco da solução de reconstituição sobre a bancada e insira com firmeza a outra extremidade do aro de reconstituição na abertura do frasco (Figura 1, Passo 2).
 - 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 de vidro por agitação (Figura 1, passo 4).
 - h. Aguarde até que o reagente liofilizado passe para a solução e, em seguida, inverta novamente os frascos preparados, inclinando-os num ângulo de 45° para reduzir ao mínimo a formação de espuma (Figura 1, Passo 5). Deixe passar o líquido todo novamente para o frasco de plástico.
 - i. Retire o aro de reconstituição e o frasco de vidro (Figura 1, Passo 6).
 - j. Volte a colocar a tampa do frasco de plástico. Grave as iniciais do operador e a data de reconstituição na etiqueta (Figura 1, Passo 7).
 - k. Descarte o aro de reconstituição e o frasco de vidro (Figura 1, Passo 8).

Opção: É permitida a mistura adicional dos reagentes de amplificação, enzimático e de sonda utilizando um agitador de tubos. Os reagentes podem ser misturados colocando o frasco de plástico tapado num agitador de tubos definido para 20 RPM (ou equivalente) durante um mínimo de 5 minutos.

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

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

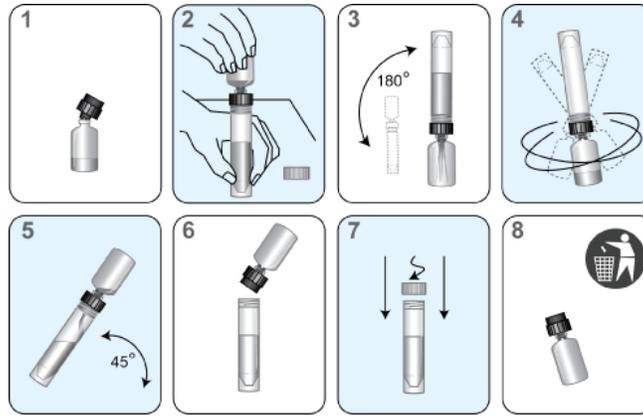


Figura 1. Processo de reconstituição dos reagentes

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

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

C. Preparação de reagentes para reagentes previamente reconstituídos

1. Os reagentes de amplificação, enzimático e de sonda previamente reconstituídos devem atingir a temperatura ambiente (15 °C a 30 °C) antes do início do ensaio.

Opção: Os reagentes podem ser colocados à temperatura ambiente colocando os reagentes de amplificação, enzimático e de sonda reconstituídos num agitador de tubos definido para 20 RPM (ou equivalente) durante um mínimo de 25 minutos.
2. Se o reagente de sonda reconstituído contiver um precipitado que não regresse à solução à temperatura ambiente, aqueça o frasco tapado a uma temperatura não superior a 62 °C durante 1 a 2 minutos. Após este passo de aquecimento, o reagente de sonda pode ser utilizado mesmo que contenha resíduos de precipitado. Misture o

reagente de sonda por inversão, tendo o cuidado de não induzir a formação de espuma, antes de o carregar para o sistema.

3. Misture bem cada reagente, invertendo-os suavemente antes de os colocar no sistema. Evite formar espuma durante a inversão dos reagentes. Este passo não é necessário se os reagentes forem carregados no sistema diretamente após a mistura no agitador de tubos.
4. Não ateste frascos de reagente. O Panther system 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 Aptima cor-de-rosa num tubo de multiteste ou de transporte de espécimes de esfregaço.
 - 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 os colocar no suporte:
 - a. Se um tubo de espécime contiver bolhas no espaço entre o líquido e a tampa, centrifugue o tubo durante 5 minutos a uma RCF de 420 para eliminar as bolhas.
 - b. Se um tubo de espécime tiver um volume inferior ao normalmente observado quando se seguem as instruções de colheita, centrifugue o tubo durante 5 minutos a uma RCF de 420 para garantir que o líquido não está retido na tampa.
 - c. Se o nível do líquido num tubo de espécime de urina não se situar entre as duas linhas pretas indicadoras no rótulo, o espécime deve ser rejeitado. Não perfure um tubo demasiado cheio.
 - d. Se um tubo de espécime de urina contiver um precipitado, aqueça o espécime a 37 °C durante até 5 minutos. Se o precipitado não regressar à solução, certifique-se visualmente de que o precipitado não está a impedir a transferência do espécime.

Nota: *Se os passos 4a–c não forem cumpridos, poderá resultar numa descarga de líquido a partir da tampa do tubo de espécime.*

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

E. Preparação do sistema

1. Configure o sistema de acordo com as instruções do *Manual de instruções do Panther/ Panther Fusion System* e das *Notas sobre o procedimento*. 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 dos tubos dos controlos serem pipetados e estarem a ser processados para um kit de reagentes específico, os espécimes do paciente podem ser testados com o kit associado até um período máximo de 24 horas a menos que:
 - a. Os resultados dos controlos sejam inválidos.
 - b. O respetivo kit de reagente de ensaio seja retirado do sistema.
 - c. O respetivo kit de reagente de ensaio tenha ultrapassado os limites de estabilidade.
3. Cada tubo de controlo Aptima só pode ser testado uma única vez. A tentativa de pipetar mais do que uma vez pode dar origem a erros de processamento.

B. Temperatura

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

C. Pó das luvas

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

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

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

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

1. Rotule os tubos de transporte de zaragoas com os números correspondentes às áreas a testar.
2. Retire a zaragatoa de colheita do espécime (zaragatoa de haste azul com impressão verde) da embalagem, humedeça-a no meio de transporte de espécimes (STM) 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 zaragoas e aperte bem.
6. Repita os passos 2 a 5 nas áreas nas quais deseje recolher amostras.

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

Interpretação dos testes - CQ/Resultados do paciente

A. Interpretação dos testes

Os resultados de teste do ensaio são interpretados automaticamente pelo software Aptima Assay, utilizando o protocolo Aptima Combo 2, e apresentados como resultados de testes individuais para CT e GC. O resultado de um teste pode ser negativo, equívoco, positivo ou inválido, conforme determinado pelo tipo cinético e pela RLU total no passo de deteção (ver abaixo). O resultado de um teste pode ser inválido devido a um parâmetro fora dos intervalos previstos normais. Os resultados de testes equívocos e inválidos iniciais devem ser novamente testados.

Tipo cinético	RLU total (x1000) para obter o resultado de CT		
	Negativo	Equívoco	Positivo
Apenas CT	1 a < 25	25 a < 100	100 a < 4500
CT e GC	1 a < 85	85 a < 250	250 a < 4500
CT indeterminado	1 a < 85	85 a < 4500	N/A

Tipo cinético	RLU total (x1000) para obter o resultado de GC		
	Negativo	Equívoco	Positivo
Apenas GC	1 a < 60	60 a < 150	150 a < 4500
GC e CT	1 a < 85	85 a < 250	250 a < 4500
GC indeterminado	1 a < 85	85 a < 4500	N/A

B. Resultados e aceitabilidade do controlo de qualidade

O controlo positivo, CT / controlo negativo, GC e o controlo positivo, GC / controlo negativo, CT agem como controlos para os passos de captura do alvo, amplificação e deteção do ensaio. De acordo com as diretrizes ou os requisitos das regulamentações locais/regionais ou das organizações de acreditação, é possível incluir controlos adicionais para a lise da célula e a estabilização do RNA. O controlo positivo, CT / controlo negativo, GC serve como controlo negativo para os resultados de teste GC. O controlo positivo, GC / controlo negativo, CT serve como controlo negativo para os resultados de teste CT. Se desejar, poderá adicionar um controlo negativo duplo fornecido pelo utilizador para monitorizar o sinal de fundo do ensaio. 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 em solução PreservCyt.

Os controlos positivos devem produzir os seguintes resultados de teste:

Controlo	RLU total (x1000)	Resultado de CT	Resultado de GC
Controlo positivo, CT / Controlo negativo, GC	≥ 100 e < 3000	Positivo	Negativo
Controlo positivo, GC / Controlo negativo, CT	≥ 150 e < 3000	Negativo	Positivo

1. O software do ensaio Aptima avalia automaticamente os controlos de acordo com os critérios anteriores e os resultados serão refletidos no relatórios de resultados.
2. Cada laboratório deve implementar procedimentos de controlo adequados para satisfazer os requisitos locais.

3. Os controlos negativos podem não ser eficazes na monitorização da contaminação por transferência aleatória. Consulte a secção *Desempenho analítico* 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 positivo, CT / controlo negativo, GC e o controlo positivo, GC / controlo negativo, CT incluídos no kit agem como controlos para os passos de captura do alvo, amplificação e 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 em meios de transporte apropriados (Solução PreservCyt, STM) 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 o *Interpretação dos testes - CQ/Resultados 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 de espécimes de esfregaço, de citologia líquida em solução PreservCyt e de urina (consulte as Notas abaixo).

a. Resultados iniciais

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

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

Notas

- Recomenda-se que os dados de desempenho sejam cuidadosamente ponderados durante a interpretação dos resultados do ensaio Aptima Combo 2 em indivíduos assintomáticos ou em quaisquer indivíduos de populações de prevalência baixa.
- O primeiro resultado válido para cada analito é o resultado que deve ser relatado.
- Um resultado negativo não impede a presença de uma infecção por CT ou 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 pela colheita inadequada de espécimes, o armazenamento inadequado de espécimes, um erro técnico ou pela mistura de espécimes.
- Tal como sucede com todos os métodos de não cultura, um espécime positivo obtido a partir de um paciente após tratamento terapêutico não pode ser interpretado como indicador da presença de CT ou GC viável.
- Um esfregaço vaginal é o tipo de espécime recomendado para as pacientes do sexo feminino sobre as quais haja suspeitas clínicas de padecerem de infeções clamidiais ou gonocócicas (30).
- 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 CT ou GC.
- C. A amostragem de espécimes de 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.
- D. O ensaio Aptima Combo 2 não se destina a ser utilizado na avaliação de suspeitas de abuso sexual ou de outras indicações médico-legais.
- E. 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 Hologic adequado.
- F. O fracasso ou o sucesso terapêutico não podem ser determinados com o ensaio Aptima Combo 2 pois os ácidos nucleicos podem persistir após uma terapêutica antimicrobiana adequada.
- G. Os resultados do ensaio Aptima Combo 2 devem ser interpretados em conjunto com outros dados clínicos e laboratoriais de que o médico disponha.
- H. 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.
- I. O ensaio Aptima Combo 2 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.
- J. 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.
- K. Os espécimes de citologia líquida em solução PreservCyt processados com outros instrumentos além do processador ThinPrep não foram avaliados quanto à utilização com ensaios Aptima.
- L. Os espécimes de esfregaço vaginal colhidos pela paciente são uma opção para efetuar um rastreio às mulheres sempre que um exame pélvico não seja indicado.
- M. A aplicação de espécimes de esfregaço vaginal colhidos pela paciente está limitada a contextos clínicos nos quais esteja disponível apoio/aconselhamento para explicar os procedimentos e as precauções.

- N. O ensaio Aptima Combo 2 não foi validado para utilização em esfregaços vaginais colhidos em casa pelas pacientes.
- O. O desempenho do Panther system não foi avaliado em altitudes superiores a 6561 pés (2000 m).
- P. 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 CT e GC, poderá ocorrer uma distribuição desigual deste material celular. Além disso, quando comparado com amostras diretas de meio de transporte de espécimes 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.
- Q. Os clientes devem validar um processo de transferência LIS de forma independente.
- R. Os espécimes da primeira urina da manhã são aceitáveis, mas podem detetar até 10% menos infecções por CT/GC do que os espécimes de esfregaço vaginal e endocervical (5).

Valores esperados

Prevalência

A prevalência de CT e GC em populações de pacientes depende de fatores de risco tais como a idade, o sexo, a presença ou ausência de sintomas, o tipo de clínica e a sensibilidade do teste utilizado para detectar as infecções. As Tabelas 1, 2 3 e 4 apresentam um resumo da positividade de três resultados de doenças provocadas por CT e GC, determinadas pelo ensaio Aptima Combo 2 no Panther system, para quatro estudos clínicos multicêntricos por centro clínico e no geral.

Tabela 1: Estudo clínico 1. Positividade de infecções por CT e GC determinada pelo ensaio Aptima Combo 2 em amostras de esfregaço da uretra masculina, esfregaço vaginal, citologia líquida em solução PreservCyt e esfregaço endocervical por centro clínico

Centro	% de positividade (n.º positivos/n.º testados com resultados válidos)											
	EM			EVM/EVP			PCyt			EF		
	CT+/GC-	CT-/GC+	CT+/GC+	CT+/GC-	CT-/GC+	CT+/GC+	CT+/GC-	CT-/GC+	CT+/GC+	CT+/GC-	CT-/GC+	CT+/GC+
1	0 (-)	0 (-)	0 (-)	9,9 (21/212)	3,3 (7/212)	3,8 (8/212)	8,9 (20/225)	2,7 (6/225)	3,1 (7/225)	10,4 (20/193)	3,1 (6/193)	3,6 (7/193)
2	13,9 (28/202)	5,9 (12/202)	3,0 (6/202)	8,3 (19/230)	3,9 (9/230)	1,3 (3/230)	8,8 (21/239)	4,6 (11/239)	0,8 (2/239)	8,2 (19/231)	4,8 (11/231)	0,9 (2/231)
3	1,3 (1/76)	1,3 (1/76)	0,0 (0/76)	2,7 (6/222)	0,5 (1/222)	0,0 (0/222)	3,1 (7/226)	0,4 (1/226)	0,0 (0/226)	2,7 (6/223)	0,4 (1/223)	0,0 (0/223)
4	24,4 (33/135)	1,5 (2/135)	4,4 (6/135)	11,7 (40/342)	1,5 (5/342)	1,2 (4/342)	10,2 (35/342)	1,5 (5/342)	0,9 (3/342)	11,3 (38/337)	1,8 (6/337)	0,9 (3/337)
5	0 (-)	0 (-)	0 (-)	4,5 (1/22)	0,0 (0/22)	0,0 (0/22)	4,8 (1/21)	0,0 (0/21)	0,0 (0/21)	4,3 (1/23)	0,0 (0/23)	0,0 (0/23)
6	21,5 (28/130)	5,4 (7/130)	0,8 (1/130)	11,9 (13/109)	3,7 (4/109)	0,9 (1/109)	8,7 (10/115)	1,7 (2/115)	0,9 (1/115)	8,8 (10/114)	1,8 (2/114)	0,9 (1/114)
7	16,7 (1/6)	0,0 (0/6)	0,0 (0/6)	3,2 (5/157)	2,5 (4/157)	0,6 (1/157)	2,5 (4/161)	2,5 (4/161)	0,6 (1/161)	2,6 (4/152)	2,6 (4/152)	0,7 (1/152)
Todas	16,6 (91/549)	4,0 (22/549)	2,4 (13/549)	8,1 (105/1294)	2,3 (30/1294)	1,3 (17/1294)	7,4 (98/1329)	2,2 (29/1329)	1,1 (14/1329)	7,7 (98/1273)	2,4 (30/1273)	1,1 (14/1273)

EVM = esfregaço vaginal colhido pelo médico, EF = esfregaço endocervical feminino, EM = esfregaço uretral masculino, PCyt = citologia líquida em solução PreservCyt, EVP = esfregaço vaginal colhido pela paciente.

Tabela 2: Estudo clínico 1 e Estudo clínico 2. Positividade de infecções por CT e GC determinada pelo ensaio Aptima Combo 2 em amostras de urina masculina por centro clínico

Centro	% de positividade (n.º positivos/n.º testados com resultados válidos)		
	CT+/GC-	CT-/GC+	CT+/GC+
1	6,0 (6/100)	0,0 (0/100)	0,0 (0/100)
2	3,0 (2/67)	3,0 (2/67)	0,0 (0/67)
3	0,0 (0/109)	0,9 (1/109)	0,0 (0/109)
4	13,0 (13/100)	3,0 (3/100)	1,0 (1/100)
5	13,6 (17/125)	5,6 (7/125)	0,0 (0/125)
6	15,1 (43/284)	7,0 (20/284)	2,1 (6/284)
7	1,4 (3/212)	0,9 (2/212)	0,0 (0/212)
8	1,3 (1/75)	0,0 (0/75)	0,0 (0/75)
9	16,7 (42/251)	5,2 (13/251)	3,2 (8/251)
10	20,5 (17/83)	1,2 (1/83)	0,0 (0/83)
11	4,1 (6/146)	0,7 (1/146)	0,7 (1/146)
12	14,3 (16/112)	4,5 (5/112)	2,7 (3/112)
13	8,9 (10/112)	2,7 (3/112)	2,7 (3/112)
14	7,7 (2/26)	0,0 (0/26)	0,0 (0/26)
Todas	9,9 (178/1802)	3,2 (58/1802)	1,2 (22/1802)

Nota. A positividade a CT e GC foi estimada utilizando amostras de urina masculina de pacientes sintomáticos do Estudo clínico 2 e amostras de urina masculina de pacientes assintomáticos de ambos os estudos.

Tabela 3: Estudo clínico 3. Positividade de infecções por CT e GC determinada pelo ensaio Aptima Combo 2 em amostras de urina feminina por centro clínico

Centro	% de positividade (n.º positivos/n.º testados com resultados válidos)		
	CT+/GC-	CT-/GC+	CT+/GC+
1	14,8 (23/155)	3,2 (5/155)	1,9 (3/155)
2	2,5 (5/199)	0,0 (0/199)	0,0 (0/199)
3	2,0 (4/199)	0,0 (0/199)	0,0 (0/199)
4	6,3 (5/79)	0,0 (0/79)	0,0 (0/79)
5	5,1 (5/99)	0,0 (0/99)	0,0 (0/99)
6	9,8 (15/153)	2,0 (3/153)	2,0 (3/153)
7	7,3 (18/247)	0,0 (0/247)	0,0 (0/247)
8	7,4 (14/189)	1,1 (2/189)	0,0 (0/189)
9	6,7 (6/90)	0,0 (0/90)	1,1 (1/90)
10	6,1 (6/99)	0,0 (0/99)	0,0 (0/99)
11	3,2 (3/93)	0,0 (0/93)	0,0 (0/93)
12	0,0 (0/97)	0,0 (0/97)	0,0 (0/97)
13	8,7 (26/299)	1,0 (3/299)	0,3 (1/299)
14	4,6 (9/196)	0,0 (0/196)	0,0 (0/196)
15	5,0 (5/100)	0,0 (0/100)	0,0 (0/100)
16	8,8 (23/261)	1,5 (4/261)	0,8 (2/261)
17	20,0 (5/25)	4,0 (1/25)	0,0 (0/25)
Todas	6,7 (172/2580)	0,7 (18/2580)	0,4 (10/2580)

Tabela 4: Estudo clínico 4. Positividade de infecções por CT e GC determinada pelo ensaio Aptima Combo 2 em amostras de esfregaço retal e faríngeo por centro clínico

Centro	% de positividade (n.º positivos/n.º testados com resultados válidos)					
	ER			EFa		
	CT+/GC-	CT-/GC+	CT+/GC+	CT+/GC-	CT-/GC+	CT+/GC+
1	10,6 (15/141)	6,4 (9/141)	2,1 (3/141)	2,8 (4/143)	9,8 (14/143)	0,0 (0/143)
2	6,3 (14/223)	1,3 (3/223)	0,4 (1/223)	0,4 (1/225)	1,3 (3/225)	0,0 (0/225)
3	4,5 (16/357)	4,5 (16/357)	3,4 (12/357)	0,8 (3/363)	5,5 (20/363)	0,3 (1/363)
4	1,8 (2/110)	0,9 (1/110)	0,0 (0/110)	0,9 (1/112)	1,8 (2/112)	0,0 (0/112)
5	4,2 (14/332)	3,6 (12/332)	2,4 (8/332)	1,5 (5/333)	4,5 (15/333)	0,6 (2/333)
6	2,5 (10/395)	5,8 (23/395)	0,8 (3/395)	1,0 (4/398)	7,8 (31/398)	0,3 (1/398)
7	5,5 (16/290)	5,5 (16/290)	3,4 (10/290)	1,7 (5/288)	9,7 (28/288)	0,3 (1/288)
8	10,9 (40/366)	6,3 (23/366)	1,6 (6/366)	4,1 (15/367)	10,4 (38/367)	0,3 (1/367)
9	9,8 (34/348)	12,9 (45/348)	4,6 (16/348)	1,7 (6/355)	17,2 (61/355)	0,8 (3/355)
Todas	6,3 (161/2562)	5,8 (148/2562)	2,3 (59/2562)	1,7 (44/2584)	8,2 (212/2584)	0,3 (9/2584)

ER = esfregaço retal, EFa = esfregaço faríngeo

Nota. a positividade a CT e GC foi estimada utilizando amostras de esfregaço retal e faríngeo de sujeitos sintomáticos e assintomáticos do Estudo clínico 4.

Valores preditivos positivos e negativos para taxas de prevalência hipotéticas

Na Tabela 5 são apresentados os valores preditivos positivos e negativos (VPP e VPN) calculados do ensaio Aptima Combo 2 em diferentes taxas de prevalência hipotéticas para cada tipo de espécime. Para cada tipo de espécime, o VPP e o VPN são derivados para diferentes taxas de prevalência hipotéticas, utilizando os cálculos de sensibilidade e de especificidade dos três estudos clínicos multicêntricos (consulte as Tabelas 6, 8, 12 e 14).

Tabela 5: Valores preditivos positivos e negativos para taxas de prevalência hipotéticas por tipo de espécime

Tipo de espécime	Prevalência hipotética (%)	Detecção de CT		Detecção de GC	
		VPP (%)	VPN (%)	VPP (%)	VPN (%)
Esfregaço vaginal colhido pelo médico/ Esfregaço vaginal colhido pela paciente	1	38,9	100	70,6	100
	2	56,3	99,9	82,9	100
	5	76,8	99,9	92,6	99,9
	10	87,5	99,7	96,3	99,7
	15	91,7	99,5	97,7	99,6
	20	94,0	99,3	98,3	99,4
	25	95,5	99,1	98,8	99,2
Citologia líquida em solução PreservCyt	1	100	100	100	100
	2	100	100	100	100
	5	100	99,9	100	100
	10	100	99,8	100	100
	15	100	99,7	100	100
	20	100	99,6	100	100
	25	100	99,4	100	100
Esfregaço endocervical feminino	1	58,5	100	85,8	100
	2	74,0	99,9	92,4	100
	5	88,0	99,9	96,9	100
	10	93,9	99,7	98,5	100
	15	96,1	99,5	99,1	100
	20	97,2	99,3	99,3	100
	25	97,9	99,1	99,5	100
Esfregaço da uretra masculina	1	53,1	100	100	100
	2	69,6	100	100	100
	5	85,5	100	100	100
	10	92,6	100	100	100
	15	95,2	100	100	100
	20	96,6	100	100	100
	25	97,4	100	100	100
Urina masculina	1	83,6	100	77,4	100
	2	91,2	99,9	87,4	100
	5	96,4	99,7	94,7	99,9
	10	98,2	99,5	97,4	99,9
	15	98,9	99,2	98,4	99,8
	20	99,2	98,8	98,8	99,7
	25	99,4	98,4	99,1	99,6
Zaragatoa retal	1	46,5	99,9	64,2	100
	2	63,7	99,8	78,4	99,9
	5	81,9	99,6	90,3	99,9
	10	90,5	99,1	95,2	99,7
	15	93,8	98,5	96,9	99,6
	20	95,6	97,9	97,8	99,4
	25	96,6	97,3	98,3	99,2

Tabela 5: Valores preditivos positivos e negativos para taxas de prevalência hipotéticas por tipo de espécime (continuação)

Tipo de espécime	Prevalência hipotética (%)	Deteção de CT		Deteção de GC	
		VPP (%)	VPN (%)	VPP (%)	VPN (%)
Esfregaço faríngeo	1	73,8	99,9	48,0	100
	2	85,1	99,8	65,1	99,9
	5	93,6	99,4	82,8	99,8
	10	96,9	98,7	91,0	99,6
	15	98,0	98,0	94,2	99,3
	20	98,6	97,1	95,8	99,0
	25	98,9	96,2	96,8	98,7

Nota. O desempenho do ensaio Aptima Combo 2 foi calculado utilizando os resultados de amostras de esfregaço vaginal, citologia líquida em solução PreservCyt, esfregaço endocervical feminino e esfregaço da uretra masculina dos Estudo clínico 1, resultados de amostras de urina masculina de pacientes sintomáticos do Estudo clínico 2, resultados de amostras de uretra masculina de pacientes assintomáticos dos Estudos clínicos 1 e 2 e resultados de amostras de esfregaços retais e faríngeos do Estudo clínico 4.

Desempenho clínico

As investigações clínicas iniciais para estabelecer a sensibilidade, a especificidade e os valores preditivos do ensaio Aptima Combo 2 foram realizadas utilizando um DTS system semiautomatizado. O ensaio foi depois integrado num Tigris DTS system totalmente automatizado e finalmente migrado para o Panther system totalmente automatizado.

Foi realizado um estudo clínico multicêntrico (17) utilizando o DTS system para investigar a sensibilidade e a especificidade do ensaio utilizando espécimes endocervicais e espécimes de urina colhidos de pacientes do sexo feminino. Os resultados dos testes do Aptima Combo 2 foram comparados com um estado de infecção do paciente de 1391 pacientes para a deteção de CT e 1484 pacientes para a deteção de GC.

Para a deteção de CT, a sensibilidade e a especificidade dos esfregaços endocervicais foram de 94,2% (CI de 95%: 90,1-97,0%) e 97,6% (CI de 95%: 96,6-98,4%), respetivamente. Em comparação, a sensibilidade e a especificidade dos espécimes de urina foram de 94,7% (CI de 95%: 90,7-97,3%) e 98,9% (CI de 95%: 98,1-99,4%).

Para a deteção de GC, a sensibilidade e a especificidade dos esfregaços endocervicais foram de 99,2% (CI de 95%: 95,7-100%) e 98,7% (CI de 95%: 98,0-99,3%), respetivamente. Em comparação, a sensibilidade e a especificidade dos espécimes de urina foram de 91,3% (CI de 95%: 85,0-95,6%) e 99,3% (CI de 95%: 98,6-99,6%).

Os estudos clínicos subsequentes para investigar o desempenho do ensaio Aptima Combo 2 no Panther system são descritos em detalhe abaixo.

Foram realizados quatro estudos clínicos. O desempenho clínico do ensaio Aptima Combo 2 foi calculado com espécimes de esfregaço da uretra masculina, esfregaço vaginal, citologia líquida em solução PreservCyt e esfregaço endocervical no Estudo clínico 1, com espécimes de urina masculina no Estudo clínico 2, com espécimes de urina feminina no Estudo clínico 3 e espécimes de esfregaço retal e faríngeo no Estudo clínico 4.

Estudo clínico 1. Estudo clínico com espécimes de esfregaço vaginal, citologia líquida em solução PreservCyt, esfregaço endocervical feminino e esfregaço da uretra masculina²

Foi realizado um estudo clínico multicêntrico prospetivo para estabelecer as características de desempenho do ensaio Aptima Combo 2 no Panther system. Os espécimes foram colhidos em homens (n=580) e mulheres (n=1332) sintomáticos e assintomáticos registados em 7 centros clínicos dos EUA, geográfica e etnicamente diversos, incluindo clínicas de obstetria e ginecologia, de planeamento familiar, de saúde pública e de DST. Os sujeitos foram classificados como sintomáticos se tiverem relatado a existência de sintomas. Os sujeitos foram classificados como assintomáticos caso não tenham relatado quaisquer sintomas. Dos 580 sujeitos do sexo masculino, nenhum tinha idade <18 anos, 72 tinham 18 a 20 anos, 201 tinham 21 a 25 anos e 307 tinham idade >25 anos. Dos 1332 sujeitos do sexo feminino, 11 tinham 14 a 15 anos, 59 tinham 16 a 17 anos, 319 tinham 18 a 20 anos, 401 tinham 21 a 25 anos e 542 tinham idade >25 anos.

Foram colhidos até 2 espécimes em cada sujeito do sexo masculino (1 esfregaço da uretra e 1 da primeira urina da manhã, por esta ordem) e foram colhidos até 4 espécimes em cada indivíduo do sexo feminino (1 da primeira urina da manhã, 1 esfregaço vaginal, 1 espécime de

² Este estudo incluiu testes a amostras de urina masculina com o ensaio Aptima Combo 2 no Panther system que não foram incluídas nos resultados de desempenho originais devido a baixa prevalência de GC na população do estudo.

citologia líquida em solução PreservCyt e 1 esfregaço endocervical, por esta ordem). Todos os espécimes foram colhidos por médicos à exceção dos espécimes de urina e aproximadamente metade dos espécimes de esfregaço vaginal, que foram colhidos pelo sujeito na clínica. Aproximadamente metade dos espécimes de citologia líquida em solução PreservCyt foram colhidos com um dispositivo de colheita tipo vassoura e metade foram colhidos com uma espátula e um escova citológica. As amostras foram preparadas para os testes com o Aptima, de acordo com as instruções do folheto informativo do kit de colheita de espécimes Aptima adequado.

Todas as amostras avaliáveis (567 amostras de esfregaço da uretra masculina, 580 de urina masculina, 1319 esfregaços vaginais, 1330 de citologia líquida em solução PreservCyt e 1310 de esfregaços endocervicais) foram testadas com o ensaio Aptima Combo 2 no Panther system de acordo com as instruções do folheto informativo. As amostras foram divididas entre três laboratórios (dois laboratórios externos e internamente). As amostras com resultados iniciais inválidos, equívocos ou com erro foram sujeitas a novos testes. Dezoito (18) amostras de esfregaço da uretra masculina, 25 esfregaços vaginais, 1 de citologia líquida em solução PreservCyt e 37 esfregaços endocervicais tiveram resultados finais inválidos e foram excluídas das análises. A maioria dos resultados inválidos deveram-se a volume de amostra insuficiente. Um esfregaço vaginal e 1 esfregaço endocervical tiveram resultados finais equívocos para CT e 1 amostra de citologia líquida em solução PreservCyt e 1 esfregaço endocervical tiveram resultados finais para GC equívocos e foram excluídos das análises.

Foram testadas amostras de esfregaço da uretra masculina, de uretra masculina e feminina e de citologia líquida em solução PreservCyt com os testes de amplificação de ácidos nucleicos (NAAT) com marcação CE para estabelecer o estado de infecção. O algoritmo do estado de infecção utilizou os resultados de dois tipos de espécimes e dois NAAT de referência. Os sujeitos eram categorizados como infetados se ocorresse um resultado positivo em cada um dos dois NAAT de referência. Para os sujeitos do sexo feminino, se os resultados positivos do NAAT ocorressem apenas nos espécimes de urina e não nos espécimes de citologia líquida em solução PreservCyt, o sujeito era categorizado como infetado; no entanto, para a avaliação dos tipos de espécime não urina, os espécimes eram considerados não infetados. Os sujeitos que não puderam ser categorizados como infetados ou não infetados foram excluídos das análises de desempenho.

Além disso, as amostras de urina masculina testadas com o ensaio Aptima Combo 2 no Panther system foram excluídas das análises de desempenho devido a baixa prevalência de GC na população do estudo, especialmente nos sujeitos assintomáticos.

Estudo clínico 2. Estudo clínico de espécimes de urina masculina

Foi realizado um estudo clínico multicêntrico prospetivo para estabelecer as características de desempenho do ensaio Aptima Combo 2 no Panther system em espécimes de urina masculina. Os espécimes foram colhidos em homens (n=1492) sintomáticos e assintomáticos registados em 13 centros de investigação clínica dos EUA, geográfica e etnicamente diversos, e clínicas de planeamento familiar, de saúde pública, de saúde dos homens e de DST. Os sujeitos foram classificados como sintomáticos se tiverem relatado a existência de sintomas. Os sujeitos foram classificados como assintomáticos caso não tenham relatado quaisquer sintomas. Dos 1492 sujeitos registados, 14 foram retirados.

Foram colhidos dois espécimes de cada sujeito (1 esfregaço da uretra e 1 da primeira urina da manhã, por esta ordem). Os espécimes de esfregaço da uretra foram colhidos pelo médico e os espécimes de urina foram colhidos pelo sujeito na clínica. Os espécimes de urina de cada sujeito foram processados em diversas amostras para testes de CT/GC com diferentes NAAT de acordo com as instruções do folheto informativo do kit de colheita de espécimes adequado. As

amostras de urina masculina para testes com o ensaio Aptima Combo 2 no Panther system foram divididas entre três laboratórios externos.

Todas as 1478 amostras de urina masculina de sujeitos não retirados foram testadas com o ensaio Aptima Combo 2 no Panther system de acordo com as instruções do folheto informativo do ensaio Aptima Combo 2. As amostras com resultados iniciais inválidos, equívocos ou com erro foram sujeitas a novos testes. Uma amostra de urina masculina teve um resultado final inválido e foi excluída das análises. O resultado inválido deveu-se a volume de amostra insuficiente. Dos 1477 sujeitos do sexo masculino avaliáveis restantes, 46 tinham 16 a 17 anos, 155 tinham 18 a 20 anos, 524 tinham 21 a 30 anos, 279 tinham 31 a 40 anos e 473 tinham idade >40 anos.

Foram testadas amostras de esfregaço da uretra masculina e de urina com NAAT aprovados para estabelecer o estado de infecção. O algoritmo do estado de infecção utilizou resultados de esfregaço da uretra e amostras de urina de um NAAT de referência para CT e GC e amostras de urina de dois NAAT de referência adicionais para CT e GC para gerar quatro resultados de referência para cada analito. Os sujeitos eram categorizados como infetados se ocorresse um resultado positivo em, pelo menos, dois NAAT de referência. Os sujeitos que não puderam ser categorizados como infetados ou não infetados foram excluídos das análises de desempenho; 1 sujeito teve um estado de infecção por CT indeterminado e foi excluído das análises de desempenho para a detecção de CT.

Estudo clínico 3. Estudo clínico de espécimes de urina feminina

Foi realizado estudo retrospectivo que utilizou resultados e restos de amostras de urina feminina de um estudo clínico multicêntrico prospectivo concluído anteriormente para estabelecer as características de desempenho do ensaio Aptima Combo 2 no Panther system em espécimes de urina feminina. Os espécimes foram colhidos em mulheres (n=2640) sintomáticas e assintomáticas registradas em 17 centros clínicos dos EUA, geográfica e etnicamente diversos, incluindo clínicas de planejamento familiar, clínicas de centros acadêmicos e clínicas de saúde pública. Os sujeitos foram classificados como sintomáticos se tiverem relatado a existência de sintomas. Os sujeitos foram classificados como assintomáticos caso não tenham relatado quaisquer sintomas. Dos 2640 sujeitos registrados, 42 foram retirados.

Foram utilizados três espécimes de cada sujeito (1 da primeira urina da manhã e 2 esfregaços vaginais, por esta ordem). Os espécimes de urina foram colhidos pelo sujeito na clínica e os espécimes de esfregaço vaginal foram colhidos pelo médico. Os espécimes de urina de cada sujeito foram processados em diversas amostras para testes de CT/GC com diferentes NAAT de acordo com as instruções do folheto informativo do kit de colheita de espécimes adequado. As amostras de urina feminina para testes com o ensaio Aptima Combo 2 no Panther system foram divididas entre três laboratórios externos.

As amostras de urina feminina foram testadas com NAAT aprovados para estabelecer um resultado de algoritmo comparador composto (CCA). O CCA utilizou resultados de amostras de urina de até três NAAT de referência para CT e GC para gerar resultados de referência para cada analito. Os sujeitos foram categorizados como positivos se 2 em 3 resultados do NAAT de referência fossem positivos e negativos se 2 em 3 resultados do NAAT de referência fossem negativos. Os sujeitos que não puderam ser categorizados como CCA-positivos ou CCA-negativos foram excluídos das análises de desempenho.

Dos 2598 sujeitos não retirados, 2581 tiveram as suas amostras de urina testadas com o ensaio Aptima Combo 2 no Panther system de acordo com as instruções do folheto informativo do ensaio Aptima Combo 2. Dezassete sujeitos tiveram amostras que foram retiradas ou não

colhidas (não tendo resultados do ensaio Aptima Combo 2 [Panther system] para CT e GC). As amostras com resultados iniciais inválidos, equívocos ou com erro foram sujeitas a novos testes. Todas as 2581 amostras tiveram resultados finais válidos após a repetição dos testes necessários. Uma amostra teve um resultado equívoco para CT repetido e uma amostra teve um resultado equívoco para GC repetido.

Dos 2581 sujeitos que tiveram resultados válidos no ensaio Aptima Combo 2 (Panther system), 2580 sujeitos tiveram um estado do comparador composto conclusivo para CT e/ou GC e foram avaliáveis para o desempenho; um sujeito teve estado do comparador composto desconhecido para CT e GC e não foi avaliável. Um sujeito avaliável teve um resultado final equívoco para CT (resultado negativo para GC) e um sujeito avaliável teve um resultado final equívoco para GC (resultado negativo para CT). Dos 2580 sujeitos avaliáveis, 47 tinham 16 a 17 anos, 346 tinham 18 a 20 anos, 1350 tinham 21 a 30 anos, 550 tinham 31 a 40 anos e 287 tinham idade >40 anos.

Dos 2580 sujeitos avaliáveis, 2572 sujeitos foram avaliáveis para análises de desempenho para a detecção de CT (incluindo um com um resultado final equívoco). Os 8 sujeitos restantes tiveram estado do comparador composto desconhecido para CT. Dos 2580 sujeitos avaliáveis, 2579 sujeitos foram avaliáveis para análises de desempenho para a detecção de GC (incluindo um com um resultado final equívoco). O sujeito restante teve estado do comparador composto desconhecido para GC. As amostras com resultados finais equívocos foram categorizadas como negativos falsos em relação ao resultado do CCA (47).

Além disso, a urina feminina detetou menos 8,3% de infecções por CT do que os espécimes de esfregaço vaginal e endocervical e 12,9% menos infecções por GC do que os espécimes de esfregaço vaginal e 15,2% menos infecções por GC do que os espécimes de esfregaço endocervical em comparação com a utilização do algoritmo de estado de infecção do paciente (EIP).

Estudo clínico 4. Estudo clínico de espécimes de esfregaço faríngeo e retal

Foi realizado um estudo clínico multicêntrico prospectivo para estabelecer as características de desempenho do ensaio Aptima Combo 2 no Panther system em espécimes de esfregaço faríngeo e retal. Os espécimes foram colhidos em mulheres e homens sintomáticos e assintomáticos registados em 9 centros clínicos dos EUA, geográfica e etnicamente diversos, incluindo clínicas de rastreio e tratamento de IST, de planeamento familiar, de saúde de estudantes, de saúde da mulher e de tratamento de HIV e clínicas dedicadas à população lésbica, gay, bissexual e transgénero (LGBT). Os sujeitos foram classificados como sintomáticos no local anatómico faríngeo e/ou retal se o sujeito relatasse sintomas específicos no local anatómico. Dos 2767 sujeitos registados, 8 não realizaram a consulta de colheita e os respetivos espécimes não foram enviados para testes, 167 tiveram amostras testadas, mas foram excluídos devido a desvios de temperatura que comprometeram a integridade do espécime e 1 não teve amostras testadas por erro.

Dos 2591 sujeitos não excluídos que tiveram pelo menos um tipo de amostra testada, 181 tinham 18 a 20 anos, 565 tinham 21 a 25 anos e 1845 tinham idade >25 anos.

Foram colhidos até oito espécimes pelo médico de cada sujeito: 4 espécimes de esfregaço faríngeo e 4 de esfregaço retal, colhidos por ordem aleatória. Os espécimes foram processados para testes de CT/GC com o ensaio Aptima Combo 2 e diferentes NAAT, de acordo com as instruções do folheto informativo do kit de colheita de espécimes adequado.

Foram utilizados os resultados de até três NAAT de referência – aprovados para a detecção de infecção por CT/GC urogenital e validados para utilização em espécimes de esfregaço faríngeo e retal – para estabelecer o estado de infecção do local anatómico (ASIS) em cada local anatómico para cada sujeito. O ASIS foi determinado com base nos resultados dos testes do mesmo tipo

de amostra. Os sujeitos eram categorizados como infetados se ocorresse um resultado positivo em, pelo menos, dois NAAT de referência e como não infetados se, pelo menos, 2 dos resultados de referência fossem negativos; a terceira referência (desempate) era necessária apenas se os primeiros 2 resultados de referência fossem discordantes.

No total, foram testadas 5500 amostras com o ensaio Aptima Combo 2 no Panther system, incluindo amostras dos 167 sujeitos com resultados excluídos devido a desvios de temperatura. As amostras foram divididas entre dois laboratórios externos. Os centros receberam instruções para testar novamente as amostras com resultados iniciais inválidos, equívocos ou com erro. Das 5500 amostras testadas, 2 (0,04%) tiveram resultados iniciais inválidos e 30 (0,55%) tiveram resultados iniciais equívocos para CT ou GC. Ambas as amostras com resultados iniciais inválidos foram testadas novamente; uma amostra foi negativa para CT e GC na repetição do teste e a outra foi inválida na repetição do teste. Das 30 amostras com resultados iniciais equívocos, 5 não foram testadas novamente, 14 tiveram resultados equívocos na repetição do teste, 5 tiveram resultados negativos na repetição do teste, 5 tiveram resultados positivos na repetição do teste e 1 foi inválida na repetição do teste.

Dos 2591 sujeitos não excluídos dos quais foi testada, pelo menos, uma amostra, foram excluídas as seguintes amostras das análises de desempenho: 6 amostras faríngeas foram excluídas das avaliações de desempenho para CT (4 não foram testadas com o ensaio Aptima Combo 2 e 2 com ASIS inválido/indeterminado); 12 amostras faríngeas foram excluídas das avaliações de desempenho para GC (4 sem resultados apresentados para o ensaio Aptima Combo 2, 3 com resultados finais equívocos no ensaio Aptima Combo 2 e 5 com ASIS inválido/indeterminado); 29 amostras retais foram excluídas das avaliações de desempenho para CT (2 amostras não foram colhidas, 1 com resultados inválidos para o ensaio Aptima Combo 2, 9 não testadas com o ensaio Aptima Combo 2, 12 com resultados finais equívocos no ensaio Aptima Combo 2 (2 das quais tiveram ASIS indeterminado) e 5 com ASIS inválido/indeterminado); e 22 amostras de esfregaço retal foram excluídas das avaliações de desempenho para GC (2 amostras não foram colhidas, 1 com resultados inválidos para o ensaio Aptima Combo 2, 9 não testadas com o ensaio Aptima Combo 2, 5 com resultados finais equívocos no ensaio Aptima Combo 2 e 5 com ASIS inválido/indeterminado).

Resultados de desempenho de *Chlamydia trachomatis*

As características de desempenho do ensaio Aptima Combo 2 para a detecção de CT foram calculadas para cada tipo de espécime e são apresentadas nas Tabelas 6, 7 e 8, incluindo dados dos quatro estudos clínicos. O algoritmo do estado de infecção foi diferente nos quatro estudos clínicos (consulte as Tabelas 18 a 23 para obter os algoritmos do estado da infecção por CT). A Tabela 6 mostra a sensibilidade, a especificidade, o VPP e o VPN do ensaio Aptima Combo 2 para a detecção de CT e a prevalência de CT (com base no estado de infecção) em amostras de urina masculina e espécimes de esfregaço da uretra e em espécimes de esfregaço vaginal feminino, endocervical e em PCyt.

A Tabela 7 mostra a percentagem de concordância positiva (PPA) e a percentagem de concordância negativa (NPA) do ensaio Aptima Combo 2 para a detecção de CT com base no CCA em amostras de urina feminina.

A Tabela 8 mostra a sensibilidade, a especificidade, o VPP e o VPN do ensaio Aptima Combo 2 para a detecção de CT e a prevalência de CT com base no ASIS em espécimes de esfregaço faríngeo e retal.

Tabela 6: Características de desempenho do ensaio Aptima Combo 2 para a detecção de CT em espécimes femininos e masculinos

Tipo de espécime ¹	n	PV	PF	NV	NF	Prev %	Sensibilidade % (CI de 95%) ²	Especificidade % (CI de 95%) ²	VPP % (CI de 95%) ³	VPN % (CI de 95%) ³
EVM/EVP	1274	104	18	1149	3	8,4	97,2 (92,1-99,0)	98,5 (97,6-99,0)	85,2 (78,8-90,5)	99,7 (99,3-99,9)
PCyt	1311	112	0	1197	2	8,7	98,2 (93,8-99,5)	100 (99,7-100)	100 (96,9-100)	99,8 (99,4-100)
EF	1254	104	8	1139	3	8,5	97,2 (92,1-99,0)	99,3 (98,6-99,6)	92,9 (87,1-96,7)	99,7 (99,3-99,9)
EM	549	100	4	445	0	18,2	100 (96,3-100)	99,1 (97,7-99,7)	96,2 (90,8-98,9)	100 (99,2-100)
UM	1799	197	3	1589	10	11,5	95,2 (91,3-97,4)	99,8 (99,4-99,9)	98,5 (95,8-99,7)	99,4 (98,9-99,7)

CI = intervalo de confiança, EVM = esfregaço vaginal colhido pelo médico, NF = negativo falso, PF = positivo falso, EF = esfregaço endocervical feminino, EM = esfregaço da uretra masculina, UM = urina masculina, VPN = valor preditivo negativo, PCyt = citologia líquida em solução PreservCyt, VPP = valor preditivo positivo, Prev = prevalência, EVP = esfregaço vaginal colhido pela paciente, NV = negativo verdadeiro, PV = positivo verdadeiro.

¹ Os resultados das amostras de esfregaço da uretra masculina, esfregaço vaginal, citologia líquida em solução PreservCyt e endocervical são do Estudo clínico 1. Os resultados das amostras de urina masculina de pacientes sintomáticos são do Estudo clínico 2 e os resultados das amostras de urina masculina de pacientes assintomáticos são dos Estudos clínicos 1 e 2.

² CI da pontuação.

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

Tabela 7: Características de desempenho do ensaio Aptima Combo 2 para a detecção de CT em amostras de urina feminina

Tipo de espécime ¹	n	CCA+ AC2+	CCA- AC2+	CCA- AC2-	CCA+ AC2- ²	PPA % (CI de 95%) ³	NPA % (CI de 95%) ³
UF	2572	174	5	2391	2	98,9 (96,0-99,7)	99,8 (99,5-99,9)

AC2 = ensaio Aptima Combo 2, CCA = algoritmo comparador composto, CI = intervalo de confiança, UF = urina feminina, NPA = percentagem de concordância negativa, PPA = percentagem de concordância positiva.

¹ Os resultados das amostras de urina feminina de pacientes sintomáticas e assintomáticas são do Estudo clínico 3.

² Inclui resultados equívocos de testes do AC2 no Panther. Os resultados equívocos dos testes do AC2 são considerados indeterminados; é necessário colher um novo espécime.

³ CI da pontuação.

Tabela 8: Características de desempenho do ensaio Aptima Combo 2 para a detecção de CT em espécimes de esfregaço retal e faríngeo

Tipo de espécime ¹	n	PV	PF	NV	NF	Prev %	Sensibilidade % (CI de 95%) ²	Especificidade % (CI de 95%) ²	VPP % (CI de 95%) ³	VPN % (CI de 95%) ³
ER	2562	197	25	2322	18	8,4	91,6 ⁴ (87,2-94,6)	98,9 ⁴ (98,4-99,3)	88,7 (84,4-92,3)	99,2 (98,8-99,5)
EFa	2585	45	8	2526	6	2,0	88,2 (76,6-94,5)	99,7 (99,4-99,8)	84,9 (74,5-92,5)	99,8 (99,5-99,9)

CI = intervalo de confiança, NF = negativo falso, PF = positivo falso, VPN = valor preditivo negativo, VPP = valor preditivo positivo, Prev = prevalência, ER = esfregaço retal, NV = negativo verdadeiro, PV = positivo verdadeiro, EFa = esfregaço faríngeo.

¹ Os resultados das amostras de esfregaço retal e faríngeo são do Estudo clínico 4.

² CI da pontuação.

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

⁴ Resultados equívocos excluídos; a percentagem de resultados equívocos é de 0,4% (10/2572). Se todos os resultados equívocos forem considerados resultados discordantes (por ex., positivo falso ou negativo falso), sensibilidade = 89,5% (197/220), CI de 95%: 84,8% - 92,9% e especificidade = 98,7% (2322/2352), CI de 95%: 98,2% - 99,1).

A Tabela 9 mostra a sensibilidade, a especificidade, o VPP e o VPN do ensaio Aptima Combo 2 para a detecção de CT e a prevalência de CT (com base no estado de infecção) em amostras de urina masculina e espécimes de esfregaço da uretra e em espécimes de esfregaço vaginal

feminino, endocervical e em PCyt por estado sintomático. A prevalência de CT foi superior em homens e mulheres sintomáticos, em comparação com os sujeitos assintomáticos.

A Tabela 10 mostra a PPA e a NPA do ensaio Aptima Combo 2 para a detecção de CT com base no CCA em amostras de urina feminina por estado sintomático.

A Tabela 11 mostra a sensibilidade, a especificidade, o VPP e o VPN do ensaio Aptima Combo 2 para CT com base no ASIS em espécimes de esfregaço faríngeo e retal por estado sintomático. A prevalência de CT foi superior em sujeitos sintomáticos, em comparação com os sujeitos assintomáticos.

Tabela 9: Características de desempenho do ensaio Aptima Combo 2 para a detecção de CT por estado sintomático em espécimes femininos e masculinos

Tipo de espécime ¹	Estado sintomático	n	PV	PF	NV	NF	Prev %	Sensibilidade % (CI de 95%) ²	Especificidade % (CI de 95%) ²	VPP % (CI de 95%) ³	VPN % (CI de 95%) ³
EVM/EVP	Sint	810	73	8	729	0	9,0	100 (95,0-100)	98,9 (97,9-99,4)	90,1 (82,3-95,5)	100 (99,5-100)
	Assint	464	31	10	420	3	7,3	91,2 (77,0-97,0)	97,7 (95,8-98,7)	75,6 (63,1-86,2)	99,3 (98,1-99,8)
PCyt	Sint	838	76	0	762	0	9,1	100 (95,2-100)	100 (99,5-100)	100 (95,4-100)	100 (99,5-100)
	Assint	473	36	0	435	2	8,0	94,7 (82,7-98,5)	100 (99,1-100)	100 (91,1-100)	99,5 (98,5-99,9)
EF	Sint	794	71	5	718	0	8,9	100 (94,9-100)	99,3 (98,4-99,7)	93,4 (85,9-97,8)	100 (99,5-100)
	Assint	460	33	3	421	3	7,8	91,7 (78,2-97,1)	99,3 (97,9-99,8)	91,7 (79,9-98,0)	99,3 (98,1-99,8)
EM	Sint	238	59	1	178	0	24,8	100 (93,9-100)	99,4 (96,9-99,9)	98,3 (91,5-100)	100 (98,0-100)
	Assint	311	41	3	267	0	13,2	100 (91,4-100)	98,9 (96,8-99,6)	93,2 (82,5-98,5)	100 (98,7-100)
UM	Sint	497	85	1	406	5	18,1	94,4 (87,6-97,6)	99,8 (98,6-100)	98,8 (94,1-100)	98,8 (97,3-99,6)
	Assint	1302	112	2	1183	5	9,0	95,7 (90,4-98,2)	99,8 (99,4-100)	98,2 (94,1-99,8)	99,6 (99,1-99,9)

Assint = assintomático, CI = intervalo de confiança, EVM = esfregaço vaginal colhido pelo médico, NF = negativo falso, PF = positivo falso, EF = esfregaço endocervical feminino, EM = esfregaço da uretra masculina, UM = urina masculina, VPN = valor preditivo negativo, PCyt = citologia líquida em solução PreservCyt, VPP = valor preditivo positivo, Prev = prevalência, EVP = esfregaço vaginal colhido pela paciente, Sint = sintomático, NV = negativo verdadeiro, PV = positivo verdadeiro.

¹ Os resultados das amostras de esfregaço da uretra masculina, esfregaço vaginal, citologia líquida em solução PreservCyt e endocervical são do Estudo clínico 1. Os resultados das amostras de urina masculina de pacientes sintomáticos são do Estudo clínico 2 e os resultados das amostras de urina masculina de pacientes assintomáticos são dos Estudos clínicos 1 e 2.

² CI da pontuação.

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

Tabela 10: Características de desempenho do ensaio Aptima Combo 2 para a detecção de CT por estado sintomático em amostras de urina feminina

Tipo de espécime ¹	Estado sintomático	n	CCA+ AC2+	CCA- AC2+	CCA- AC2-	CCA+ AC2- ²	PPA % (CI de 95%) ³	NPA % (CI de 95%) ³
UF	Sint	1379	109	2 ⁴	1267 ⁵	1	99,1 (95,0-99,8)	99,8 (99,4-100)
	Assint	1193	65	3 ⁶	1124 ⁷	1 ²	98,5 (91,9-99,7)	99,7 (99,2-99,9)

AC2 = ensaio Aptima Combo 2, Assint = assintomático, CCA = algoritmo comparador composto, CI = intervalo de confiança, UF = urina feminina, NPA = percentagem de concordância negativa, PPA = percentagem de concordância positiva, Sint = sintomático.

¹ Os resultados das amostras de urina feminina de pacientes sintomáticas e assintomáticas são do Estudo clínico 3.

² Inclui resultados equívocos de testes do AC2 no Panther. Os resultados equívocos dos testes do AC2 são considerados indeterminados; é necessário colher um novo espécime.

³ CI da pontuação.

⁴ 2/2 sujeitos tiveram resultados de amostras de esfregaços vaginais positivos para CT em ambos os NAAT de referência.

⁵ 38/1267 sujeitos tiveram, pelo menos, um resultado de amostra de esfregaço vaginal positivo para CT por um NAAT de referência; um ou mais resultados de referência de amostras de esfregaço vaginal não estavam disponíveis para 11/1267 sujeitos; 1218/1267 sujeitos tiveram resultados de referência de amostras de esfregaço vaginal negativos.

⁶ 1/3 sujeitos tiveram resultados de amostras de esfregaços vaginais positivos para CT em ambos os NAAT de referência; 2/3 sujeitos tiveram resultados de referência de amostras de esfregaços vaginais negativos.

⁷ 20/1124 sujeitos tiveram, pelo menos, um resultado de amostra de esfregaço vaginal positivo para CT por um NAAT de referência; um ou mais resultados de referência de amostras de esfregaço vaginal não estavam disponíveis para 11/1124 sujeitos; 1093/1124 sujeitos tiveram resultados de referência de amostras de esfregaço vaginal negativos.

Tabela 11: Características de desempenho do ensaio Aptima Combo 2 para a detecção de CT por estado sintomático em espécimes de esfregaço retal e faríngeo

Tipo de espécime ¹	Estado sintomático	n	PV	PF	NV	NF	Prev %	Sensibilidade % (CI de 95%) ²	Especificidade % (CI de 95%) ²	VPP % (CI de 95%) ³	VPN % (CI de 95%) ³
ER	Sint	190	23	2	164	1	12,6	95,8 ⁴ (79,8-99,3)	98,8 ⁴ (95,7-99,7)	92,0 (77,0-98,8)	99,4 (97,0-100)
	Assint	2372	174	23	2158	17	8,1	91,1 ⁵ (86,2-94,4)	98,9 ⁵ (98,4-99,3)	88,3 (83,6-92,1)	99,2 (98,8-99,5)
EFa	Sint	306	9	1	296	0	2,9	100 (70,1-100)	99,7 (98,1-99,9)	90,0 (61,9-99,7)	100 (99,0-100)
	Assint	2279	36	7	2230	6	1,8	85,7 (72,2-93,3)	99,7 (99,4-99,8)	83,7 (71,9-92,4)	99,7 (99,5-99,9)

CI = intervalo de confiança, NF = negativo falso, PF = positivo falso, VPN = valor preditivo negativo, VPP = valor preditivo positivo, Prev = prevalência, ER = esfregaço retal, Sint = sintomático, NV = negativo verdadeiro, PV = positivo verdadeiro, EFa = esfregaço faríngeo.

¹ Os resultados das amostras de esfregaço retal e faríngeo são do Estudo clínico 4.

² CI da pontuação.

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

⁴ Resultados equívocos excluídos; a percentagem de resultados equívocos é de 0,5% (1/191). Se todos os resultados equívocos forem considerados resultados discordantes (por ex., positivo falso ou negativo falso), sensibilidade = 95,8% (23/24), CI de 95%: 79,8% - 99,3% e especificidade = 98,2% (164/167), CI de 95%: 94,9% - 99,4%.

⁵ Resultados equívocos excluídos; a percentagem de resultados equívocos é de 0,4% (9/2381). Se todos os resultados equívocos forem considerados resultados discordantes (por ex., positivo falso ou negativo falso), sensibilidade = 88,8% (174/196), CI de 95%: 83,6% - 92,5% e especificidade = 98,8% (2158/2185), CI de 95%: 98,2% - 99,1%.

Resultados de desempenho de *Neisseria gonorrhoeae*

As características de desempenho do ensaio Aptima Combo 2 para a detecção de GC foram calculadas para cada tipo de espécime e são apresentados nas Tabelas 12, 13 e 14, incluindo dados dos quatro estudos clínicos. O algoritmo do estado de infecção foi diferente nos quatro estudos clínicos (consulte as Tabelas 24 a 29 para obter os algoritmos do estado da infecção por GC). A Tabela 12 mostra a sensibilidade, a especificidade, o VPP e o VPN do ensaio Aptima Combo 2 para a detecção de GC e a prevalência de GC (com base no estado de infecção) em amostras de urina masculina e espécimes de esfregaço da uretra e em espécimes de esfregaço vaginal feminino, endocervical e em PCyt.

A Tabela 13 mostra a PPA e a NPA do ensaio Aptima Combo 2 para a detecção de GC com base no CCA em amostras de urina feminina.

A Tabela 14 mostra a sensibilidade, a especificidade, o VPP e o VPN do ensaio Aptima Combo 2 para a detecção de GC e a prevalência de GC com base no ASIS em espécimes de esfregaço retal e faríngeo.

Tabela 12: Características de desempenho do ensaio Aptima Combo 2 para a detecção de GC em espécimes femininos e masculinos

Tipo de espécime ¹	n	PV	PF	NV	NF	Prev %	Sensibilidade % (CI de 95%) ²	Especificidade % (CI de 95%) ²	VPP % (CI de 95%) ³	VPN % (CI de 95%) ³
EVM/EVP	1258	42	5	1210	1	3,4	97,7 (87,9-99,6)	99,6 (99,0-99,8)	89,4 (78,6-96,1)	99,9 (99,6-100)
PCyt	1293	43	0	1250	0	3,3	100 (91,8-100)	100 (99,7-100)	100 (92,1-100)	100 (99,7-100)
EF	1238	42	2	1194	0	3,4	100 (91,6-100)	99,8 (99,4-100)	95,5 (85,4-99,4)	100 (99,7-100)
EM	546	34	0	512	0	6,2	100 (89,8-100)	100 (99,3-100)	100 (90,2-100)	100 (99,3-100)
UM	1797	75	5	1716	1	4,2	98,7 (92,9-99,8)	99,7 (99,3-99,9)	93,8 (86,7-97,8)	99,9 (99,7-100)

CI = intervalo de confiança, EVM = esfregaço vaginal colhido pelo médico, NF = negativo falso, PF = positivo falso, EF = esfregaço endocervical feminino, EM = esfregaço da uretra masculina, UM = urina masculina, VPN = valor preditivo negativo, PCyt = citologia líquida em solução PreservCyt, VPP = valor preditivo positivo, Prev = prevalência, EVP = esfregaço vaginal colhido pela paciente, NV = negativo verdadeiro, PV = positivo verdadeiro.

¹ Os resultados de amostras de esfregaço vaginal, citologia líquida em solução PreservCyt, endocervical e da uretra masculina são do Estudo clínico 1. Os resultados das amostras de urina masculina de pacientes sintomáticos são do Estudo clínico 2 e os resultados das amostras de urina masculina de pacientes assintomáticos são dos Estudos clínicos 1 e 2.

² CI da pontuação.

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

Tabela 13: Características de desempenho do ensaio Aptima Combo 2 para a detecção de GC em amostras de urina feminina

Tipo de espécime ¹	n	CCA+ AC2+	CCA- AC2+	CCA- AC2-	CCA+ AC2- ²	PPA % (CI de 95%) ³	NPA % (CI de 95%) ³
UF	2579	28	0	2550	1	96,6 (82,8-99,4)	100 (99,8-100)

AC2 = ensaio Aptima Combo 2, CCA = algoritmo comparador composto, CI = intervalo de confiança, UF = urina feminina, NPA = percentagem de concordância negativa, PPA = percentagem de concordância positiva.

¹ Os resultados das amostras de urina feminina de pacientes sintomáticas e assintomáticas são do Estudo clínico 3.

² Inclui resultados equívocos de testes do AC2 no Panther. Os resultados equívocos dos testes do AC2 são considerados indeterminados; é necessário colher um novo espécime.

³ CI da pontuação.

Tabela 14: Características de desempenho do ensaio Aptima Combo 2 para a detecção de GC em espécimes de esfregaço retal e faríngeo

Tipo de espécime ¹	n	PV	PF	NV	NF	Prev %	Sensibilidade % (CI de 95%) ²	Especificidade % (CI de 95%) ²	VPP % (CI de 95%) ³	VPN % (CI de 95%) ³
ER	2569	192	13	2359	5	7,7	97,5 ⁴ (94,2-98,9)	99,5 ⁴ (99,1-99,7)	93,7 (89,8-96,4)	99,8 (99,5-99,9)
EFa	2579	195	25	2351	8	7,9	96,1 ⁵ (92,4-98,0)	98,9 ⁵ (98,5-99,3)	88,6 (84,2-92,2)	99,7 (99,3-99,9)

CI = intervalo de confiança, NF = negativo falso, PF = positivo falso, VPN = valor preditivo negativo, VPP = valor preditivo positivo, Prev = prevalência, ER = esfregaço retal, NV = negativo verdadeiro, PV = positivo verdadeiro, EFa = esfregaço faríngeo.

¹ Os resultados das amostras de esfregaço retal e faríngeo são do Estudo clínico 4.

² CI da pontuação.

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

⁴ Resultados equívocos excluídos; a percentagem de resultados equívocos é de 0,2% (5/2574). Se todos os resultados equívocos forem considerados resultados discordantes (por ex., positivo falso ou negativo falso), sensibilidade = 96,5% (192/199), CI de 95%: 92,9% - 98,3% e especificidade = 99,3% (2359/2375), CI de 95%: 98,9% - 99,6%.

⁵ Resultados equívocos excluídos; a percentagem de resultados equívocos é de 0,1% (3/2582). Se todos os resultados equívocos forem considerados resultados discordantes (por ex., positivo falso ou negativo falso), sensibilidade = 96,1% (195/203), CI de 95%: 92,4% - 98,0% e especificidade = 98,8% (2351/2379), CI de 95%: 98,3% - 99,2%.

A Tabela 15 mostra a sensibilidade, a especificidade, o VPP e o VPN do ensaio Aptima Combo 2 para a detecção de GC e a prevalência de GC (com base no estado de infeção) em amostras de urina masculina e espécimes de esfregaço da uretra e em espécimes de esfregaço vaginal feminino, endocervical e em PCyt por estado sintomático. A prevalência de GC foi superior em homens sintomáticos, mas semelhante em mulheres sintomáticas e assintomáticas.

A Tabela 16 mostra a PPA e a NPA do ensaio Aptima Combo 2 para a detecção de CT com base no CCA em amostras de urina feminina por estado sintomático.

A Tabela 17 mostra a sensibilidade, a especificidade, o VPP e o VPN do ensaio Aptima Combo 2 para a detecção de GC e a prevalência de GC com base no ASIS em espécimes de esfregaço faríngeo e retal por estado sintomático. A prevalência de GC foi superior em sujeitos sintomáticos, em comparação com os sujeitos assintomáticos.

Tabela 15: Características de desempenho do ensaio Aptima Combo 2 para a detecção de GC por estado sintomático em espécimes femininos e masculinos

Tipo de espécime ¹	Estado sintomático	n	PV	PF	NV	NF	Prev %	Sensibilidade % (CI de 95%) ²	Especificidade % (CI de 95%) ²	VPP % (CI de 95%) ³	VPN % (CI de 95%) ³
EVM/EVP	Sint	802	27	4	771	0	3,4	100 (87,5-100)	99,5 (98,7-99,8)	87,1 (72,6-96,1)	100 (99,6-100)
	Assint	456	15	1	439	1	3,5	93,8 (71,7-98,9)	99,8 (98,7-100)	93,8 (74,0-99,8)	99,8 (98,9-100)
PCyt	Sint	829	27	0	802	0	3,3	100 (87,5-100)	100 (99,5-100)	100 (88,0-100)	100 (99,6-100)
	Assint	464	16	0	448	0	3,4	100 (80,6-100)	100 (99,1-100)	100 (81,3-100)	100 (99,3-100)
EF	Sint	785	26	1	758	0	3,3	100 (87,1-100)	99,9 (99,3-100)	96,3 (82,4-99,9)	100 (99,5-100)
	Assint	453	16	1	436	0	3,5	100 (80,6-100)	99,8 (98,7-100)	94,1 (74,3-99,8)	100 (99,3-100)
EM	Sint	236	31	0	205	0	13,1	100 (89,0-100)	100 (98,2-100)	100 (89,5-100)	100 (98,3-100)
	Assint	310	3	0	307	0	1,0	100 (43,9-100)	100 (98,8-100)	100 (44,4-100)	100 (99,3-100)
UM	Sint	497	66	1	430	0	13,3	100 (94,5-100)	99,8 (98,7-100)	98,5 (92,3-100)	100 (99,2-100)
	Assint	1300	9	4	1286	1	0,8	90,0 (59,6-98,2)	99,7 (99,2-99,9)	69,2 (45,6-91,7)	99,9 (99,7-100)

Assint = assintomático, CI = intervalo de confiança, EVM = esfregaço vaginal colhido pelo médico, NF = negativo falso, PF = positivo falso, EF = esfregaço endocervical feminino, EM = esfregaço da uretra masculina, UM = urina masculina, VPN = valor preditivo negativo, PCyt = citologia líquida em solução PreservCyt, VPP = valor preditivo positivo, Prev = prevalência, EVP = esfregaço vaginal colhido pela paciente, Sint = sintomático, NV = negativo verdadeiro, PV = positivo verdadeiro.

¹ Os resultados de amostras de esfregaço vaginal, citologia líquida em solução PreservCyt, endocervical e da uretra masculina são do Estudo clínico 1. Os resultados das amostras de urina masculina de pacientes sintomáticos são do Estudo clínico 2 e os resultados das amostras de urina masculina de pacientes assintomáticos são dos Estudos clínicos 1 e 2.

² CI da pontuação.

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

Tabela 16: Características de desempenho do ensaio Aptima Combo 2 para a detecção de GC por estado sintomático em amostras de urina feminina

Tipo de espécime ¹	Estado sintomático	n	CCA+ AC2+	CCA- AC2+	CCA- AC2-	CCA+ AC2- ²	PPA % (CI de 95%) ³	NPA % (CI de 95%) ³
UF	Sint	1383	19	0	1363 ⁴	1	95,0 (76,4-99,1)	100 (99,7-100)
	Assint	1196	9	0	1187 ⁵	0	100 (70,1-100)	100 (99,7-100)

AC2 = ensaio Aptima Combo 2, Assint = assintomático, CCA = algoritmo comparador composto, CI = intervalo de confiança, UF = urina feminina, NPA = percentagem de concordância negativa, PPA = percentagem de concordância positiva, Sint = sintomático.

¹ Os resultados das amostras de urina feminina de pacientes sintomáticas e assintomáticas são do Estudo clínico 3.

² Inclui resultados equívocos de testes do AC2 no Panther. Os resultados equívocos dos testes do AC2 são considerados indeterminados; é necessário colher um novo espécime.

³ CI da pontuação.

⁴ 5/1363 sujeitos tiveram, pelo menos, um resultado de amostra de esfregaço vaginal positivo para GC por um NAAT de referência; um ou mais resultados de referência de amostras de esfregaço vaginal não estavam disponíveis para 11/1363 sujeitos; 1347/1363 sujeitos tiveram resultados de referência de amostras de esfregaço vaginal negativos.

⁵ 6/1187 sujeitos tiveram, pelo menos, um resultado de amostra de esfregaço vaginal positivo para GC por um NAAT de referência; um ou mais resultados de referência de amostras de esfregaço vaginal não estavam disponíveis para 11/1187 sujeitos; 1170/1187 sujeitos assintomáticos tiveram resultados de referência de amostras de esfregaço vaginal negativos.

Tabela 17: Características de desempenho do ensaio Aptima Combo 2 para a detecção de GC por estado sintomático em espécimes de esfregaço retal e faríngeo

Tipo de espécime ¹	Estado sintomático	n	PV	PF	NV	NF	Prev %	Sensibilidade % (CI de 95%) ²	Especificidade % (CI de 95%) ²	VPP % (CI de 95%) ³	VPN % (CI de 95%) ³
ER	Sint	192	38	0	154	0	19,8	100 ⁴ (90,8-100)	100 ⁴ (97,6-100)	100 (91,2-100)	100 (97,8-100)
	Assint	2377	154	13	2205	5	6,7	96,9 ⁵ (92,9-98,6)	99,4 ⁵ (99,0-99,7)	92,2 (87,6-95,6)	99,8 (99,5-99,9)
EFa	Sint	303	39	2	262	0	12,9	100 ⁶ (91,0-100)	99,2 ⁶ (97,3-99,8)	95,1 (84,5-99,4)	100 (98,7-100)
	Assint	2276	156	23	2089	8	7,2	95,1 ⁷ (90,7-97,5)	98,9 ⁷ (98,4-99,3)	87,2 (82,1-91,4)	99,6 (99,3-99,8)

CI = intervalo de confiança, NF = negativo falso, PF = positivo falso, VPN = valor preditivo negativo, VPP = valor preditivo positivo, Prev = prevalência, ER = esfregaço retal, Sint = sintomático, NV = negativo verdadeiro, PV = positivo verdadeiro, EFa = esfregaço faríngeo.

¹ Os resultados das amostras de esfregaço retal e faríngeo são do Estudo clínico 4.

² CI da pontuação.

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

⁴ Resultados equívocos excluídos; a percentagem de resultados equívocos é de 0,5% (1/193). Se todos os resultados equívocos forem considerados resultados discordantes (por ex., positivo falso ou negativo falso), sensibilidade = 97,4% (38/39), CI de 95%: 86,8% - 99,5% e especificidade = 100% (154/154), CI de 95%: 97,6% - 100%.

⁵ Resultados equívocos excluídos; a percentagem de resultados equívocos é de 0,2% (4/2381). Se todos os resultados equívocos forem considerados resultados discordantes (por ex., positivo falso ou negativo falso), sensibilidade = 96,3% (154/160), CI de 95%: 92,1% - 98,3% e especificidade = 99,3% (2205/2221), CI de 95%: 98,8% - 99,6%.

⁶ Resultados equívocos excluídos; a percentagem de resultados equívocos é de 0,7% (2/305). Se todos os resultados equívocos forem considerados resultados discordantes (por ex., positivo falso ou negativo falso), sensibilidade = 100% (39/39), CI de 95%: 91,0% - 100% e especificidade = 98,5% (262/266), CI de 95%: 96,2% - 99,4%.

⁷ Resultados equívocos excluídos; a percentagem de resultados equívocos é de 0,04% (1/2277). Se todos os resultados equívocos forem considerados resultados discordantes (por ex., positivo falso ou negativo falso), sensibilidade = 95,1% (156/164), CI de 95%: 90,7% - 97,5% e especificidade = 98,9% (2089/2113), CI de 95%: 98,3% - 99,2%.

Tabelas do estado de infecção por *Chlamydia trachomatis*

A frequência dos resultados de testes de NAAT de referência e de testes experimentais no Panther system é resumida nas Tabelas 18 a 23 para CT.

Tabela 18: Estudo clínico 1. Estado de infecção por CT para avaliação do desempenho em amostras de esfregaço vaginal feminino, citologia líquida em solução PreservCyt e esfregaço endocervical

Estado de infecção por CT	Resultados dos ensaios							Estado sintomático	
	AC2 Tigris		ACT Tigris		AC2 Panther			Sint	Assint
	PCyt	UF	PCyt	UF	EVM/EVP	PCyt	EF		
Infetado	+	+	+	+	+	+	+	62	26
Infetado	+	+	+	+	+	+	-	0	1
Infetado	+	+	+	+	+	+	NA	3	0
Infetado	+	+	+	+	+	-	+	0	2
Infetado	+	+	+	+	-	+	+	0	1
Infetado	+	+	+	+	ND	+	+	1	1
Infetado	+	+	+	+	NA	+	NA	2	1
Infetado	+	-	+	+	+	+	+	4	1
Infetado	+	-	+	+	NA	+	NA	0	1
Infetado	+	-	+	-	+	+	+	4	0
Infetado	+	-	+	-	-	+	-	0	1
Infetado	+	-	+	-	NA	+	+	0	1
Infetado	+	NA	+	NA	+	+	+	0	1
Infetado	+	NA	+	NA	-	+	-	0	1
Infetado ¹	-	+	-	+	+	-	+	1	0
Infetado ¹	-	+	-	+	+	-	-	2	0
Infetado ¹	-	+	-	+	-	-	-	1	1
Não infetado	+	-	-	-	-	-	-	0	2
Não infetado	-	+	-	-	-	-	-	1	0
Não infetado	-	-	+	-	+	-	+	0	1
Não infetado	-	-	+	-	-	-	-	5	0
Não infetado	-	-	-	+	+	-	-	0	1
Não infetado	-	-	-	+	+	-	NA	0	1
Não infetado	-	-	-	+	-	-	-	1	3
Não infetado	-	-	-	-	+	-	+	1	0
Não infetado	-	-	-	-	+	-	-	2	7
Não infetado	-	-	-	-	+	-	NA	2	0
Não infetado	-	-	-	-	-	-	+	2	2
Não infetado	-	-	-	-	-	-	-	680	396
Não infetado	-	-	-	-	-	-	NA	29	8
Não infetado	-	-	-	-	-	NA	-	1	0
Não infetado	-	-	-	-	NA	-	-	17	4
Não infetado	-	-	-	-	NA	-	NA	8	1
Não infetado	-	NA	-	-	-	-	-	8	6
Não infetado	-	NA	-	-	-	-	NA	0	1
Não infetado	NA	-	-	-	-	-	-	0	1
Não infetado	NA	-	-	-	-	-	NA	1	0
Não infetado	NA	-	-	-	NA	-	+	1	0

AC2 = ensaio Aptima Combo 2, ACT = ensaio Aptima CT, Assint = assintomático, EVM = esfregaço vaginal colhido pelo médico, EF = esfregaço endocervical feminino, UF = urina feminina, NA = resultado não disponível, Panther = Panther system, PCyt = citologia líquida em solução PreservCyt, EVP = esfregaço vaginal colhido pela paciente, Sint = sintomático, Tigris = Tigris DTS system.

¹ Para a avaliação dos tipos de espécimes não urina, os espécimes foram considerados não infetados.

Tabela 19: Estudo clínico 1. Estado de infecção por CT para avaliação do desempenho em amostras de esfregaço da uretra masculina

Estado de infecção por CT	Resultados dos ensaios					Estado sintomático	
	AC2 DTS		ACT Tigris		AC2 Panther	Sint	Assint
	EM	UM	EM	UM	EM		
Infetado	+	+	+	+	+	50	37
Infetado	+	+	+	+	NA	4	1
Infetado	+	+	+	-	+	2	0
Infetado	+	-	+	+	+	4	2
Infetado	+	-	+	-	+	3	2
Não infetado	+	+	-	-	-	0	1
Não infetado	+	-	-	-	+	0	1
Não infetado	+	-	-	-	-	1	1
Não infetado	-	-	+	-	-	3	2
Não infetado	-	-	-	+	-	1	1
Não infetado	-	-	-	-	+	1	2
Não infetado	-	-	-	-	-	173	262
Não infetado	-	-	-	-	NA	10	9
Não infetado	NA	-	-	-	NA	1	2

AC2 = ensaio Aptima Combo 2, ACT = ensaio Aptima CT, Assint = assintomático, DTS = DTS systems, EM = esfregaço da uretra masculina, UM = urina masculina, NA = resultado não disponível, Panther = Panther system, Sint = sintomático, Tigris = Tigris DTS system.

Tabela 20: Estudo clínico 1 e Estudo clínico 2. Estado de infecção por CT para avaliação do desempenho em amostras de urina masculina

Estado de infecção por CT	Resultados dos ensaios						Estado sintomático		
	AC2 ¹		ACT Tigris		NAAT 1 ³	NAAT 2 ³	AC2 Panther	Sint	Assint
	EM	UM	EM	UM	UM	UM	UM		
Estudo clínico 1									
Infetado	+	+	+	+			+		38
Infetado	+	-	+	+			+		2
Infetado	+	-	+	-			-		2
Estudo clínico 2									
Infetado	+	+			+	+	+	73	66
Infetado	+	+			+	+	-	2	1
Infetado	+	+			+	-	+	0	1
Infetado	+	+			+	NA	+	0	1
Infetado	+	+			-	+	+	3	0
Infetado	+	+			-	+	-	0	1
Infetado	+	-			+	+	+	4	0
Infetado	+	-			+	+	-	3	0
Infetado	+	=			-	+	-	0	1
Infetado	-	+			+	+	+	5	4
Estudo clínico 1									
Não infetado	+	+	-	-			-		1
Não infetado	+	-	-	-			-		2
Não infetado	-	-	+	-			-		2

Tabela 20: Estudo clínico 1 e Estudo clínico 2. Estado de infecção por CT para avaliação do desempenho em amostras de urina masculina (continuação)

Estado de infecção por CT	Resultados dos ensaios						Estado sintomático		
	AC2 ¹		ACT Tigris		NAAT 1 ³	NAAT 2 ³	AC2 Panther	Sint	Assint
	EM	UM	EM	UM	UM	UM	UM		
Não infetado	-	-	-	+			+		1
Não infetado	-	-	-	-			-		273
Não infetado	NA	-	-	-			-		2
Estudo clínico 2									
Não infetado	+	-			-	-	-	1	6
Não infetado	-	+			-	-	+	0	1
Não infetado	-	-			+	-	+	1	0
Não infetado	-	-			+	-	-	0	2
Não infetado	-	-			-	-	-	388	874
Não infetado	-	-			-	=	-	0	1
Não infetado	-	-			-	NA	-	10	18
Não infetado	-	-			NA	-	-	1	2
Não infetado	-	NA			-	-	-	2	0
Não infetado	NA	-			-	-	-	4	0

AC2 = ensaio Aptima Combo 2, ACT = ensaio Aptima CT, Assint = assintomático, EM = esfregaço da uretra masculina, UM = urina masculina, NA = resultado não disponível, Panther = Panther system, Sint = sintomático, Tigris = Tigris DTS system.

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

¹ As amostras de esfregaço da uretra masculina e de urina masculina foram testadas com o ensaio Aptima Combo 2 nos DTS systems no Estudo clínico 1 e no Tigris DTS system no Estudo clínico 2.

² As amostras de esfregaço da uretra masculina e de urina masculina foram testadas com o ensaio Aptima CT no Tigris DTS system no Estudo clínico 1.

³ As amostras de urina masculina foram testadas com dois NAAT de CT aprovados pela FDA no Estudo clínico 2.

Nota. Os dados de homens assintomáticos no Estudo clínico 1 estão combinados com os dados do Estudo clínico 2.

Tabela 21: Estudo clínico 3. Estado do comparador composto para CT para avaliação do desempenho em amostras de urina feminina

Estado do comparador composto	Resultados dos ensaios				Estado sintomático	
	NAAT 1	NAAT 2	NAAT 3	AC2 Panther	Sint	Assint
	UF	UF	UF	UF		
Positivo	+	+	NR	+	101	61
Positivo	+	+	NR	-	1	0
Positivo	+	+	NR	=	0	1
Positivo	+	-	+	+	4	4
Positivo	-	+	+	+	3	0
Positivo	=	+	+	+	1	0
Negativo	-	+	-	+	1	0
Negativo	-	+	-	-	3	1
Negativo	-	-	NR	+	1	3
Negativo	-	-	NR	-	1261	1119
Negativo	-	NA	-	-	1	1
Negativo	NA	-	-	-	2	3

Assint = assintomático, UF = urina feminina, NA = resultado não disponível, NR = não necessário, AC2 Panther = ensaio Aptima Combo 2 no Panther system, Sint = sintomático.

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

Tabela 22: Estudo clínico 4. Estado de infecção por CT para avaliação do desempenho em amostras de esfregaço retal

Estado de infecção retal	Resultados dos ensaios				Estado de Estado sintomático	
	NAAT1	NAAT 2	NAAT 3	AC2 Panther	Sint	Assint
Infetado	+	+	+	+	0	3
Infetado	+	+	+	-	0	6
Infetado	+	+	+	=	0	3
Infetado	+	+	-	=	0	1
Infetado	+	+	N/A	+	21	148
Infetado	+	-	+	+	1	13
Infetado	+	-	+	-	0	7
Infetado	+	NR	+	+	0	2
Infetado	-	+	+	+	1	7
Infetado	-	+	+	-	1	4
Infetado	-	+	+	=	0	1
Infetado	NR	+	+	+	0	1
Não infetado	+	-	-	+	0	2
Não infetado	+	-	-	-	1	4
Não infetado	-	+	-	+	0	1
Não infetado	-	+	-	-	1	10
Não infetado	-	-	+	+	2	9
Não infetado	-	-	+	=	0	2
Não infetado	-	-	-	+	0	10
Não infetado	-	-	-	-	0	2
Não infetado	-	-	-	=	0	2
Não infetado	-	-	N/A	-	158	2062
Não infetado	-	NR	-	-	0	47
Não infetado	NR	-	-	+	0	1
Não infetado	NR	-	-	-	4	33
Não infetado	NR	-	-	=	1	0

AC2 Panther = ensaio Aptima Combo 2 no Panther system, Assint = assintomático, N/A = não aplicável, NR = resultado não disponível, Sint = sintomático.

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

Tabela 23: Estudo clínico 4. Estado de infecção por CT para avaliação do desempenho em amostras de esfregaço faríngeo

Estado de infecção retal	Resultados dos ensaios				Estado sintomático faríngeo	
	NAAT1	NAAT 2	NAAT 3	AC2 Panther	Sint	Assint
Infetado	+	+	+	+	0	1
Infetado	+	+	+	-	0	2
Infetado	+	+	-	-	0	1
Infetado	+	+	=	-	0	1
Infetado	+	+	N/A	+	8	31
Infetado	+	-	+	+	1	4
Infetado	+	-	+	-	0	1
Infetado	+	NR	+	-	0	1
Não infetado	+	-	-	+	0	1
Não infetado	+	-	-	-	0	3
Não infetado	-	+	-	+	0	1
Não infetado	-	+	-	-	0	2
Não infetado	-	-	+	+	0	1
Não infetado	-	-	-	+	1	4
Não infetado	-	-	-	-	1	6
Não infetado	-	-	N/A	-	295	2202
Não infetado	-	=	-	-	0	1
Não infetado	-	NR	-	-	0	6
Não infetado	NR	-	-	-	0	10

AC2 Panther = ensaio Aptima Combo 2 no Panther system, Assint = assintomático, N/A = não aplicável, NR = resultado não disponível, Sint = sintomático.

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

Tabelas do estado de infecção por *Neisseria gonorrhoeae*

A frequência dos resultados de testes de NAAT de referência e de testes experimentais no Panther system é resumida nas Tabelas 24 a 29 para GC.

Tabela 24: Estudo clínico 1. Estado de infecção por GC para avaliação do desempenho em amostras de esfregaço vaginal feminino, citologia líquida em solução PreservCyt e esfregaço endocervical

Estado de infecção por GC	Resultados dos ensaios							Estado sintomático	
	AC2 Tigris		AGC Tigris		AC2 Panther			Sint	Assint
	PCyt	UF	PCyt	UF	EVM/EVP	PCyt	EF		
Infetado	+	+	+	+	+	+	+	22	10
Infetado	+	+	+	+	+	+	NA	1	0
Infetado	+	+	+	-	+	+	+	1	0
Infetado	+	+	+	=	+	+	+	0	1
Infetado	+	-	+	-	+	+	+	3	3
Infetado	+	-	+	-	-	+	+	0	1
Infetado	+	NA	+	NA	+	+	+	0	1
Não infetado	+	NA	-	-	-	=	-	0	1
Não infetado	-	-	NA	NA	+	-	+	0	1
Não infetado	-	-	NA	NA	+	-	-	3	0
Não infetado	-	-	NA	NA	+	-	NA	1	0
Não infetado	-	-	NA	NA	-	-	+	1	0
Não infetado	-	-	NA	NA	-	-	-	736	429
Não infetado	-	-	NA	NA	-	-	=	1	0
Não infetado	-	-	NA	NA	-	-	NA	32	9
Não infetado	-	-	NA	NA	-	NA	-	1	0
Não infetado	-	-	NA	NA	NA	-	-	18	6
Não infetado	-	-	NA	NA	NA	-	NA	10	3

AC2 = ensaio Aptima Combo 2, AGC = ensaio Aptima GC, Assint = assintomático, EVM = esfregaço vaginal colhido pelo médico, EF = esfregaço endocervical feminino, UF = urina feminina, NA = resultado não disponível, Panther = Panther system, PCyt = citologia líquida em solução PreservCyt, EVP = esfregaço vaginal colhido pela paciente, Sint = sintomático, Tigris = Tigris DTS system.

O sinal de igualdade (=) representa um resultado equívoco na repetição do teste.

Tabela 25: Estudo clínico 1. Estado de infecção por GC para avaliação do desempenho em amostras de esfregaço da uretra masculina

Estado de infecção por GC	Resultados dos ensaios					Estado sintomático	
	AC2 DTS		AGC DTS		AC2 Panther	Sint	Assint
	EM	UM	EM	UM	EM		
Infetado	+	+	+	+	+	30	2
Infetado	+	+	+	+	NA	0	1
Infetado	+	-	+	-	+	1	1
Infetado	NA	+	NA	+	NA	1	0
Não infetado	-	-	NA	NA	-	205	307
Não infetado	-	-	NA	NA	NA	14	9

AC2 = ensaio Aptima Combo 2, AGC = ensaio Aptima GC, Assint = assintomático, DTS = DTS systems, EM = esfregaço da uretra masculina, UM = urina masculina, NA = resultado não disponível, Panther = Panther system, Sint = sintomático.

Tabela 26: Estudo clínico 1 e Estudo clínico 2. Estado de infecção por GC para avaliação do desempenho em amostras de urina masculina

Estado de infecção por GC	Resultados dos ensaios						Estado sintomático		
	AC2 ¹		AGC DTS ²		NAAT 1 ³	NAAT 2 ³	AC2 Panther	Sint	Assint
	EM	UM	EM	UM	UM	UM	UM		
Estudo clínico 1									
Infetado	+	+	+	+			+		3
Infetado	+	-	+	-			-		1
Estudo clínico 2									
Infetado	+	+			+	+	+	63	4
Infetado	+	+			+	NA	+	1	1
Infetado	-	+			+	-	+	0	1
Infetado	NA	+			+	+	+	2	0
Estudo clínico 1									
Não infetado	-	-	NA	NA			+		2
Não infetado	-	-	NA	NA			-		314
Estudo clínico 2									
Não infetado	+	-			-	-	-	2	4
Não infetado	-	+			-	-	+	0	1
Não infetado	-	-			+	-	-	6	2
Não infetado	-	-			-	+	-	1	0
Não infetado	-	-			-	-	+	1	1
Não infetado	-	-			-	-	-	407	945
Não infetado	-	-			-	NA	-	9	19
Não infetado	-	-			NA	-	-	1	2
Não infetado	-	NA			-	-	-	2	0
Não infetado	NA	-			-	-	-	2	0

AC2 = ensaio Aptima Combo 2, AGC = ensaio Aptima GC, Assint = assintomático, DTS = DTS systems, EM = esfregaço da uretra masculina, UM = urina masculina, NA = resultado não disponível, Panther = Panther system, Sint = sintomático.

¹ As amostras de esfregaço da uretra masculina e de urina masculina foram testadas com o ensaio Aptima Combo 2 nos DTS systems no Estudo clínico 1 e no Tigris DTS system no Estudo clínico 2.

² As amostras de esfregaço da uretra masculina e de urina masculina foram testadas com o ensaio Aptima GC nos DTS systems no Estudo clínico 1.

³ As amostras de urina masculina foram testadas com dois NAAT de GC aprovados pela FDA no Estudo clínico 2.

Nota. Os dados de homens assintomáticos no Estudo clínico 1 estão combinados com os dados do Estudo clínico 2.

Tabela 27: Estudo clínico 3. Estado do comparador composto para GC para avaliação do desempenho em amostras de urina feminina

Estado do comparador composto	Resultados dos ensaios				Estado sintomático	
	NAAT 1	NAAT 2	NAAT 3	AC2 Panther	Sint	Assint
	UF	UF	UF	UF		
Positivo	+	+	NR	+	19	9
Positivo	=	+	+	=	1	0
Negativo	-	-	NR	-	1360	1183
Negativo	-	NA	-	-	1	1
Negativo	NA	-	-	-	2	3

Assint = assintomático, UF = urina feminina, NA = resultado não disponível, NR = não necessário, AC2 Panther = ensaio Aptima Combo 2 no Panther system, Sint = sintomático.

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

Tabela 28: Estudo clínico 4. Estado de infecção por GC para avaliação do desempenho em amostras de esfregaço retal

Estado de infecção retal	Resultados dos ensaios				Estado de Estado sintomático	
	NAAT1	NAAT 2	NAAT 3	AC2 Panther	Sint	Assint
Infetado	+	+	+	+	1	0
Infetado	+	+	+	-	0	1
Infetado	+	+	+	=	1	0
Infetado	+	+	-	-	0	2
Infetado	+	+	-	=	0	1
Infetado	+	+	N/A	+	34	137
Infetado	+	-	+	+	2	11
Infetado	+	-	+	-	0	2
Infetado	-	+	+	+	1	5
Infetado	NR	+	+	+	0	1
Não infetado	+	-	-	-	0	4
Não infetado	-	+	-	+	0	1
Não infetado	-	+	-	-	0	5
Não infetado	-	-	+	+	0	8
Não infetado	-	-	+	=	0	1
Não infetado	-	-	-	+	0	4
Não infetado	-	-	-	-	0	5
Não infetado	-	-	-	=	0	2
Não infetado	-	-	N/A	-	148	2109
Não infetado	-	NR	-	-	1	48
Não infetado	NR	-	-	-	5	34

AC2 Panther = ensaio Aptima Combo 2 no Panther system, Assint = assintomático, N/A = não aplicável, NR = resultado não disponível, Sint = sintomático.

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

Tabela 29: Estudo clínico 4. Estado de infecção por GC para avaliação do desempenho em amostras de esfregaço faríngeo

Estado de infecção retal	Resultados dos ensaios				Estado sintomático faríngeo	
	NAAT1	NAAT 2	NAAT 3	AC2 Panther	Sint	Assint
Infetado	+	+	+	+	1	3
Infetado	+	+	+	-	0	2
Infetado	+	+	-	-	0	4
Infetado	+	+	N/A	+	36	135
Infetado	+	-	+	+	2	14
Infetado	+	-	+	-	0	2
Infetado	+	NR	+	+	0	2
Infetado	-	+	+	+	0	2
Não infetado	+	-	-	+	0	4
Não infetado	+	-	-	-	1	15
Não infetado	+	-	-	=	1	0
Não infetado	-	+	-	+	0	2
Não infetado	-	+	-	-	0	4
Não infetado	-	+	-	=	1	0
Não infetado	-	-	+	+	2	3
Não infetado	-	-	+	=	0	1
Não infetado	-	-	-	+	0	14
Não infetado	-	-	-	-	1	7
Não infetado	-	-	N/A	-	260	2049
Não infetado	-	NR	-	-	0	5
Não infetado	NR	-	-	-	0	9

AC2 Panther = ensaio Aptima Combo 2 no Panther system, Assint = assintomático, N/A = não aplicável, NR = resultado não disponível, Sint = sintomático.

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

Desempenho clínico de esfregaços faríngeos e retais colhidos pelo paciente

Esfregaços faríngeos e retais colhidos pelo paciente foram avaliados na literatura científica e demonstraram ter um desempenho semelhante ao dos espécimes faríngeos e retais colhidos pelo médico (1, 14, 15, 18, 29, 38).

Distribuição da RLU dos controlos Aptima Combo 2

A distribuição dos valores da RLU para os controlos Aptima Combo 2 é apresentada na Tabela 30 de todas as execuções válidas no Panther system efetuadas durante o Estudo clínico 1, o Estudo clínico 2, o Estudo clínico 3 e o Estudo clínico 4.

Tabela 30: Distribuição da RLU dos controlos Aptima Combo 2

Controlo	Estatística	RLU total (x1000)			
		Estudo clínico 1	Estudo clínico 2	Estudo clínico 3	Estudo clínico 4
Controlo positivo, CT/ Controlo negativo, GC	N	66	23	41	96
	Máxima	1335	1258	1577	1464
	Mediana	1081,5	1135,0	1091,0	1164,0
	Mínima	624	910	771	824
	CV %	11,2	7,5	13,5	8,4
Controlo positivo, GC/ Controlo negativo, CT	N	66	23	41	96
	Máxima	1241	1311	1308	1137
	Mediana	1172,0	1174,0	1060,0	983,5
	Mínima	1063	1082	905	817
	CV %	3,2	4,9	8,9	8,4

Estudo de concordância do painel clínico

O estudo de concordância do painel clínico avaliou a equivalência entre as versões original e atualizada do ensaio Aptima Combo 2 utilizando 20 painéis clínicos preparados de CT/GC com 0 a 2500 IFU/ml de CT de tipo selvagem, 0 a 500 IFU/ml de variante finlandesa de *Chlamydia trachomatis* (FI-nvCT) e 0 a 125 000 CFU/ml of GC em espécimes de urina. Cada um dos 20 painéis foi testado em triplicado em duas execuções por dia, em três Panther systems, por dois operadores, utilizando três lotes de reagentes, ao longo de seis dias. A Tabela 31 mostra a percentagem de concordância com os resultados de CT e GC esperados para as duas versões do ensaio Aptima Combo 2.

Tabela 31: Estudo de concordância do painel clínico de CT/GC nas versões original e atualizada do Aptima Combo 2

Concentração do membro do painel			CT				GC			
CT IFU/ml	FI-nvCT IFU/ml*	GC CFU/ml	AC2 original Resultado esperado	AC2 original % concordância	AC2 atualizado Resultado esperado	AC2 atualizado % concordância	AC2 original Resultado esperado	AC2 original % concordância	AC2 atualizado Resultado esperado	AC2 atualizado % concordância
0	0	0	Neg	100%	Neg	100%	Neg	100%	Neg	100%
0	0	12,5	Neg	100%	Neg	100%	Pos	100%	Pos	100%
0	0	125	Neg	100%	Neg	100%	Pos	100%	Pos	100%
0	0	1250	Neg	100%	Neg	100%	Pos	100%	Pos	100%
0	0	125 000	Neg	100%	Neg	100%	Pos	100%	Pos	100%
0,25	0	0	Pos	100%	Pos	100%	Neg	100%	Neg	100%
2,5	0	0	Pos	100%	Pos	100%	Neg	100%	Neg	100%
25	0	0	Pos	100%	Pos	100%	Neg	100%	Neg	100%
2 500	0	0	Pos	100%	Pos	100%	Neg	100%	Neg	100%
0	0,02	0	Neg	100%	Pos	100%	Neg	100%	Neg	100%
0	0,05	0	Neg	100%	Pos	100%	Neg	100%	Neg	100%
0	0,2	0	Neg	98,2%	Pos	100%	Neg	99,1%	Neg	100%
0	500	0	Neg	100%	Pos	100%	Neg	100%	Neg	100%
2,5	0	125	Pos	100%	Pos	100%	Pos	100%	Pos	100%
25	0	1250	Pos	100%	Pos	100%	Pos	100%	Pos	100%
2 500	0	125	Pos	100%	Pos	100%	Pos	100%	Pos	100%
2,5	0	125 000	Pos	100%	Pos	100%	Pos	100%	Pos	100%
0	500	125	Neg	100%	Pos	100%	Pos	100%	Pos	100%
0	0,05	125 000	Neg	100%	Pos	100%	Pos	100%	Pos	100%
2 500	500	125	Pos	100%	Pos	100%	Pos	100%	Pos	100%

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

Desempenho analítico

Estudo de sensibilidade analítica

Espécimes urogenitais

A sensibilidade analítica da *Chlamydia trachomatis* (limite de detecção) foi determinada testando diluições de organismos de CT no ensaio Aptima Combo 2. A sensibilidade analítica declarada para o ensaio é de 1 IFU/ensaio (7,25 IFU/esfregaço, 9,75 IFU/ml de citologia líquida em solução PreservCyt, 5,0 IFU/ml de urina). No entanto, as diluições inferiores a 1 IFU/ensaio apresentaram resultado positivo no ensaio Aptima Combo 2 para os seguintes 12 serotipos: D, E, F, G, H, I, J, K, L1, L2, L2a e L3 (observou-se uma positividade $\geq 95\%$ em amostras com concentrações de CT de 1,89 IFU/ml).

A sensibilidade analítica de FI-nvCT foi determinada testando diluições de transcrição *in vitro* em espécimes de urina negativos, espécimes de ThinPrep negativos e espécimes de matriz de esfregaços simulados. Foram testadas trinta réplicas de cada diluição no Panther system com cada um dos três lotes de reagentes do ensaio Aptima Combo 2, num total de 90 réplicas por tipo de espécime. A sensibilidade analítica foi determinada como sendo inferior a uma IFU por ensaio em espécimes de urina, ThinPrep e matriz de esfregaços simulados. As capacidades de detecção da versão atualizada do ensaio Aptima Combo 2 foram confirmadas em várias variantes de CT.

A sensibilidade analítica da *Neisseria gonorrhoeae* (limite de detecção) foi determinada testando diluições de organismos de GC no ensaio Aptima Combo 2. A sensibilidade analítica declarada para o ensaio é de 50 células/ensaio (362 células/esfregaço, 488 células/ml de citologia líquida em solução PreservCyt, 250 células/ml de urina). No entanto, as diluições inferiores a 50 células/ensaio apresentaram resultado positivo no ensaio Aptima Combo 2 para 30 estirpes diferentes de GC (observou-se uma positividade $\geq 95\%$ em amostras com concentrações de GC de 0,36 células/ml).

Espécimes extragenitais

No caso de esfregaços faríngeos e retais, determinou-se um limite de detecção de 95% para os esfregaços extragenitais com o ensaio Aptima Combo 2. Dois serotipos de CT (E e G) e dois isolados clínicos de GC foram adicionados a grupos destes esfregaços. Os painéis foram testados em dois Panther systems, utilizando um lote de reagente num mínimo de 20 réplicas ao longo de oito dias.

O limite de detecção de 95% para esfregaços faríngeos e retais foi de 0,007 IFU/ml para CT. O limite de detecção de 95% para esfregaços faríngeos e retais foi de 0,10 CFU/ml para GC.

Estudo da especificidade analítica

Em dois estudos, avaliou-se um total de 198 organismos com o ensaio Aptima Combo 2. Um estudo inicial incluiu 154 isolados de cultura, os quais incluíam 86 organismos que podem ser isolados do trato urogenital e 68 organismos adicionais que representam uma secção transversal filogenética de organismos. Um estudo adicional de amostras extragenitais incluiu 44 micróbios que podem ser encontrados em espécimes extragenitais. Os organismos testados incluíram bactérias, fungos, leveduras, parasitas e vírus.

A especificidade analítica da versão atualizada do ensaio Aptima Combo 2 foi avaliada utilizando um subconjunto de micro-organismos indicados na Tabela 32 e na Tabela 33. Os 86 micro-organismos testados consistiram principalmente em estirpes de vírus, bactérias e

leveduras. Concluiu-se que nenhum dos micro-organismos testados exercem impacto sobre o desempenho ou a especificidade analítica da versão atualizada do ensaio Aptima Combo 2.

Espécimes urogenitais

Este estudo da especificidade analítica foi realizado em DTS™ systems. Avaliou-se um total de 154 isolados de cultura utilizando o ensaio Aptima Combo 2. 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* e os vírus foram testados a $1,0 \times 10^6$ células/ensaio em STM. Os organismos Chlamydia e Neisseria foram testados em meio de solução PreservCyt. *C. psittaci* e *C. pneumoniae* foram testados a $1,0 \times 10^5$ IFU/ensaio. Os vírus foram testados da seguinte forma: (a) vírus do herpes simplex I e II: $2,5 \times 10^4$ TCID₅₀/ensaio, (b) vírus do papiloma humano 16: $2,9 \times 10^6$ cópias de DNA/ensaio e (c) citomegalovírus: $4,8 \times 10^5$ células de cultura de células infetadas/ensaio. Apenas as amostras de CT e GC produziram resultados positivos no ensaio Aptima Combo 2. A lista de organismos testados é apresentada na Tabela 32.

Tabela 32: 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 dentrificans</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>

“(n)” representa o número de estirpes testadas.

Todos os organismos testados obtiveram um resultado negativo no ensaio Aptima Combo 2 com base no tipo de perfil cinético e na RLU.

Tabela 32: Especificidade analítica (continuação)

Organismo	Organismo	Organismo
<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 dentrificans</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)” representa o número de estirpes testadas.

Todos os organismos testados obtiveram um resultado negativo no ensaio Aptima Combo 2 com base no tipo de perfil cinético e na RLU.

Espécimes extragenitais

Um total de 44 micróbios que podem ser encontrados em espécimes extragenitais foram avaliados utilizando o ensaio Aptima Combo 2 no Panther system. Os organismos testados incluíram bactérias, parasitas e vírus. Apenas as amostras de CT e GC produziram resultados positivos no ensaio Aptima Combo 2. A lista de organismos testados é apresentada na Tabela 33.

Tabela 33: Micro-organismos de reatividade cruzada para espécimes faríngeos e retais

Organismo	Organismo	Organismo
Adenovírus	<i>Eggerthella lenta</i>	Metapneumo vírus
<i>Anaerococcus spp.</i>	<i>Entamoeba histolytica</i>	<i>Moraxella catarrhalis</i>
<i>Arcanobacterium haemolyticum</i>	Enterovírus	<i>Mycoplasma pneumoniae</i>
<i>Bacteroides oralis</i>	Vírus Epstein-Barr	Norovírus
<i>Bordetella parapertussis</i>	<i>Fusobacterium necrophorum</i>	<i>Peptostreptococcus micros</i>
<i>Bordetella pertussis</i>	<i>Giardia lamblia</i>	<i>Prevotella spp.</i>
<i>Burkholderia cepacia</i>	<i>Haemophilus parahaemolyticus</i>	Vírus sincicial respiratório
<i>Campylobacter rectus</i>	<i>Haemophilus parainfluenzae</i>	Rinovírus
<i>Citrobacter koseri</i>	<i>Helicobacter pylori</i>	<i>Shigella dysenteriae</i>
<i>Clostridioides difficile</i>	Vírus da hepatite B	<i>Shigella flexneri</i>
Coronavírus	Vírus da hepatite C	<i>Shigella sonnei</i>
<i>Corynebacterium diphtheriae</i>	Vírus da gripe humana A	<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>
<i>Corynebacterium pseudodiphtheriticum</i>	Vírus da gripe humana B	Grupo de <i>Streptococcus anginosus</i>
Vírus Coxsackie	<i>Legionella jordanis</i>	<i>Veillonella parvula</i>
Ecovírus	<i>Legionella micdadei</i>	

Substâncias interferentes

Espécimes urogenitais

O desempenho do ensaio Aptima Combo 2 na presença de substâncias potencialmente interferentes foi testado em DTS™ systems, incluindo as seguintes substâncias interferentes individualmente adicionadas a espécimes de esfregaço e citologia líquida em solução PreservCyt: 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). Todos foram analisados para determinar a possível interferência do ensaio na ausência e na presença de CT e GC no rRNA estimado, equivalente a 1,0 IFU de CT/ensaio (5 fg/ensaio) e a 50 células de 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.

A interferência de sangue também foi avaliada no Panther system e os resultados destes testes indicaram que o sangue não interfere no desempenho do ensaio Aptima Combo 2.

Espécimes extragenitais

As seguintes substâncias interferentes foram individualmente adicionadas a STM e testadas no Panther system: medicação para aftas, protetor labial, pomadas hemorroidais, fezes humanas, supressores da tosse, pasta de dentes, elixir oral, supositórios laxantes, medicamentos antidiarreicos e antiácidos. Todas foram testadas em relação a possíveis interferências com o ensaio na ausência e na presença de CT e de GC ligeiramente acima do limite de detecção.

Não se observou qualquer interferência com qualquer uma das substâncias testadas nos dois estudos acima mencionados. Não se observaram inibidores da amplificação no ensaio Aptima Combo 2.

Estudo de precisão dentro do laboratório

A precisão do ensaio Aptima Combo 2 foi avaliada na Hologic utilizando o Panther system. Os testes foram realizados utilizando três Panther systems e três lotes de reagentes do ensaio. Os testes foram realizados ao longo de 24 dias.

Os membros do painel de reprodutibilidade foram criados utilizando espécimes de citologia líquida em solução PreservCyt, urina e STM. Os membros do painel positivo foram criados adicionando organismos CT e/ou GC nas concentrações-alvo indicadas na Tabela 34.

Para cada membro do painel, a Tabela 34 apresenta a variação da RLU média, entre instrumentos, entre lotes, entre execuções, intraexecuções e geral como DP e percentagem de CV. Indica-se igualmente a percentagem de concordância com os resultados esperados.

Tabela 34: Dados de precisão dentro do laboratório

Matriz	Concentração-alvo		Concordaram/N	Conc (%)	Média RLU (x1000)	Entre instrumentos		Entre lotes		Entre execuções		Intraexecuções		Total			
	CT	GC				DP	CV	DP	CV	DP	CV	DP	CV	DP	CV	DP	CV
	(IFU/ml)	(CFU/ml)				(x1000)	(%)	(x1000)	(%)	(x1000)	(%)	(x1000)	(%)	(x1000)	(%)	(x1000)	(%)
STM	0	0	96/96	100	6	0,1	1,0	0,9	13,5	0,0	0,0	1,0	15,7	1,3	20,1		
	0,25	0	95/95	100	1226	70,0	5,7	20,0	1,6	8,4	0,7	47,1	3,8	87,1	7,1		
	2,5	0	96/96	100	1249	78,0	6,2	6,1	0,5	0,0	0,0	32,9	2,6	84,8	6,8		
	25	0	95/95	100	1268	72,9	5,7	15,3	1,2	0,0	0,0	39,6	3,1	84,3	6,6		
	0	12,5	96/96	100	1081	18,4	1,7	28,6	2,6	0,0	0,0	26,7	2,5	43,2	4,0		
	0	125	96/96	100	1266	29,8	2,4	0,0	0,0	8,9	0,7	27,6	2,2	41,6	3,3		
	0	1250	96/96	100	1309	29,4	2,2	0,0	0,0	9,8	0,8	31,8	2,4	44,4	3,4		
	2,5	125	96/96	100	2456	86,6	3,5	0,0	0,0	0,0	0,0	53,0	2,2	101,5	4,1		
	2,5	2500	96/96	100	2509	73,1	2,9	0,0	0,0	19,8	0,8	46,8	1,9	89,0	3,5		
	1000	2500	96/96	100	2496	31,7	1,3	6,1	0,2	0,0	0,0	193,7	7,8	196,3	7,9		
Urina	0	0	94/94	100	6	0,2	3,2	0,7	10,8	0,4	5,9	1	16,3	1,3	21,2		
	0,25	0	95/95	100	863	70,7	8,2	165,7	19,2	48,0	5,6	132,3	15,3	228,6	26,5		
	2,5	0	95/95	100	1129	56,0	5	89,6	7,9	8,6	0,8	74,2	6,6	129,4	11,5		
	25	0	96/96	100	1246	60,5	4,9	14,0	1,1	13,4	1,1	43,0	3,5	76,7	6,2		
	0	12,5	96/96	100	1016	18,8	1,9	31,8	3,1	7,9	0,8	49,5	4,9	62,3	6,1		
	0	125	96/96	100	1209	49,3	4,1	23,5	1,9	1,7	0,1	40,3	3,3	67,9	5,6		
	0	1250	96/96	100	1252	53,0	4,2	40,3	3,2	7,7	0,6	40,2	3,2	78,2	6,2		
	2,5	125	95/95	100	2290	73,9	3,2	40,9	1,8	10,4	0,5	56,1	2,5	101,9	4,4		
	0	0	96/96	100	7	0,0	0,0	0,8	11,7	0,0	0,0	1,5	22,4	1,7	24,7		
	0,25	0	96/96	100	1113	92,3	8,3	30,1	2,7	0,0	0,0	63,6	5,7	116,0	10,4		
PCyt	2,5	0	96/96	100	1194	62,5	5,2	24,8	2,1	0,0	0,0	47,0	3,9	82,1	6,9		
	25	0	95/95	100	1222	65,1	5,3	26,4	2,2	14,7	1,2	35,0	2,9	79,8	6,5		
	0	12,5	93/93	100	994	33,3	3,3	36,9	3,7	16,0	1,6	26,2	2,6	58,4	5,9		
	0	125	95/95	100	1189	40,1	3,4	4,5	0,4	10,9	0,9	21,4	1,8	47,0	4,0		
	0	1250	95/95	100	1239	37,7	3,0	7,5	0,6	13,6	1,1	18,0	1,5	44,6	3,6		
	2,5	125	95/95	100	2333	99,7	4,3	35,3	1,5	12,6	0,5	48,9	2,1	117,2	5,0		

Conc = concordância, CFU = unidade formadora de colônias, CV = coeficiente de variação, IFU = unidade formadora de inclusão, N = número de amostras, PCyt = citologia líquida em solução PreservCyt, RLU = unidade de luz relativa, DP = desvio padrão, STM = meio de transporte de espécimes.

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 acontece, a variabilidade é medida com o desvio padrão e a %CV é definida para 0.

Estudos de reprodutibilidade

A reprodutibilidade do ensaio Aptima Combo 2 no Panther system foi avaliada em dois estudos diferentes utilizando membros do painel criados com meio de transporte de espécimes (STM) no Estudo de reprodutibilidade 1 e utilizando membros do painel criados com espécimes clínicos de urina no Estudo de reprodutibilidade 2.

Estudo de reprodutibilidade 1

A reprodutibilidade do ensaio Aptima Combo 2 foi avaliada com membros do painel criados utilizando STM em três laboratórios externos nos EUA utilizando o Panther system. Fizeram-se testes com um lote de reagentes do ensaio e um total de seis operadores (dois em cada centro). Os testes foram realizados ao longo de, pelo menos, 10 dias em cada centro. O membro do painel negativo consistiu em STM e os membros do painel positivo foram criados adicionando STM ao lisado de organismos CT e/ou GC para resultar em membros do painel com concentrações-alvo esperadas. A Tabela 35 mostra as concentrações de CT e GC para cada membro do painel e a média, o desvio padrão (DP) e o coeficiente de variação (CV) dos dados de RLU para cada membro do painel entre centros, entre operadores, entre dias, entre execuções, intraexecuções e geral. Indica-se igualmente a percentagem de concordância com os resultados esperados. Só foram incluídas nas análises as amostras com resultados válidos.

Tabela 35: Dados do estudo de reprodutibilidade 1

Concentração-alvo		Concordaram/N	Conc (%)	RLU Média (x1000)	Entre centros		Entre operadores		Entre dias		Entre execuções		Intra-execuções		Total	
CT (IFU/ml)	GC (CFU/ml)				DP (x1000)	CV (%)	DP (x1000)	CV (%)	DP (x1000)	CV (%)	DP (x1000)	CV (%)	DP (x1000)	CV (%)	DP (x1000)	CV (%)
0	0	180/180	100	6	1,0	17,5	0,5	8,1	0,2	3,7	0,5	8,2	1,5	24,4	1,9	32,4
0,25	0	180/180	100	1207	45,0	3,7	17,3	1,4	0,0	0,0	35,1	2,9	66,9	5,5	89,7	7,4
2,5	0	180/180	100	1272	41,3	3,2	19,2	1,5	0,0	0,0	31,0	2,4	36,8	2,9	66,3	5,2
25	0	180/180	100	1292	43,7	3,4	14,9	1,2	7,7	0,6	35,1	2,7	36,3	2,8	68,8	5,3
1000	0	180/180	100	1294	48,1	3,7	14,3	1,1	26,8	2,1	29,6	2,3	34,8	2,7	73,0	5,6
0	0,25	180/180	100	589	92,2	15,7	19,9	3,4	28,1	4,8	21,2	3,6	44,8	7,6	110,2	18,7
0	12,5	179/179	100	1251	163,5	13,1	0,0	0,0	15,1	1,2	31,5	2,5	29,8	2,4	169,8	13,6
0	125	180/180	100	1295	168,3	13,0	6,7	0,5	33,4	2,6	21,1	1,6	33,3	2,6	176,2	13,6
0	1250	180/180	100	1309	166,5	12,7	0,0	0,0	28,4	2,2	27,6	2,1	31,2	2,4	173,9	13,3
0	2500	179/179	100	1305	170,9	13,1	11,4	0,9	30,4	2,3	15,2	1,2	32,2	2,5	177,5	13,6
2,5	125	178/178	100	2513	123,9	4,9	24,6	1,0	24,0	1,0	57,5	2,3	52,4	2,1	150,3	6,0
2,5	2500	180/180	100	2515	123,5	4,9	6,5	0,3	33,8	1,3	39,3	1,6	59,4	2,4	146,6	5,8
1000	125	179/179	100	2524	117,4	4,6	35,2	1,4	52,1	2,1	28,9	1,1	54,7	2,2	146,8	5,8
1000	2500	180/180	100	2525	118,2	4,7	21,6	0,9	38,7	1,5	54,8	2,2	48,5	1,9	145,9	5,8

Conc = concordância, CFU = unidade formadora de colónias, CV = coeficiente de variação, IFU = unidade formadora de inclusão, RLU = unidade de luz relativa DP = desvio padrão.

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 acontece, a variabilidade é medida com o desvio padrão e a %CV é definida para 0.

Estudo de reprodutibilidade 2

A reprodutibilidade do ensaio Aptima Combo 2 foi avaliada com membros do painel criados utilizando espécimes clínicos de urina em dois laboratórios externos nos EUA e internamente utilizando o Panther system. Fizeram-se testes com um lote de reagentes do ensaio e um total de seis operadores (dois em cada centro). Os testes foram realizados ao longo de, pelo menos, 10 dias em cada centro. O membro do painel negativo consistiu em urina negativa e os

membros do painel positivo foram criados adicionando urina negativa ao lisado de organismos CT e/ou GC para resultar em membros do painel com concentrações-alvo esperadas. A Tabela 36 mostra as concentrações de CT e GC para cada membro do painel e a média, o DP e o CV dos dados de RLU para cada membro do painel entre centros, entre operadores, entre dias, entre execuções, intraexecuções e geral. Indica-se igualmente a percentagem de concordância com os resultados esperados. Só foram incluídas nas análises as amostras com resultados válidos.

Tabela 36: Dados do estudo de reprodutibilidade 2

Concentração-alvo		Concordaram/N	Conc (%)	Média RLU (x1000)	Entre centros		Entre operadores		Entre dias		Entre execuções		Intraexecuções		Total	
CT (IFU/ml)	GC (CFU/ml)				DP (x1000)	CV (%)	DP (x1000)	CV (%)	DP (x1000)	CV (%)	DP (x1000)	CV (%)	DP (x1000)	CV (%)	DP (x1000)	CV (%)
0	0	178/180	98,9	6	1,2	19,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	8,2	131,7	8,3	133,0
0,25	0	180/180	100	1202	92,4	7,7	0,0	0,0	0,0	0,0	62,9	5,2	50,3	4,2	122,6	10,2
2,5	0	178/178	100	1185	90,9	7,7	0,0	0,0	0,0	0,0	53,8	4,5	34,6	2,9	111,1	9,4
25	0	180/180	100	1265	97,4	7,7	18,9	1,5	0,0	0,0	62,4	4,9	35,1	2,8	122,4	9,7
1000	0	180/180	100	1278	101,9	8,0	15,7	1,2	20,6	1,6	61,4	4,8	31,8	2,5	125,9	9,8
0	0,25	177/179	98,9	422	40,3	9,5	21,9	5,2	27,6	6,5	35,3	8,4	72,7	17,2	96,9	23,0
0	12,5	179/180	99,4	1142	11,9	1,0	0,0	0,0	44,4	3,9	37,3	3,3	75,8	6,6	96,2	8,4
0	125	180/180	100	1224	31,4	2,6	13,0	1,1	11,1	0,9	19,8	1,6	34,3	2,8	53,4	4,4
0	1250	180/180	100	1263	16,7	1,3	9,4	0,7	21,0	1,7	14,0	1,1	30,6	2,4	44,1	3,5
0	2500	180/180	100	1309	20,7	1,6	13,4	1,0	0,0	0,0	21,7	1,7	25,3	1,9	41,4	3,2
2,5	125	180/180	100	2468	71,9	2,9	31,5	1,3	21,7	0,9	64,8	2,6	44,4	1,8	113,1	4,6
2,5	2500	180/180	100	2453	76,2	3,1	30,9	1,3	0,0	0,0	62,5	2,5	51,6	2,1	115,4	4,7
1000	125	179/179	100	2504	74,0	3,0	38,5	1,5	0,0	0,0	59,1	2,4	39,1	1,6	109,4	4,4
1000	2500	180/180	100	2357	79,1	3,4	0,0	0,0	0,0	0,0	74,2	3,1	55,2	2,3	121,7	5,2

Conc = concordância, CFU = unidade formadora de colónias, CV = coeficiente de variação, IFU = unidade formadora de inclusão, RLU = unidade de luz relativa DP = desvio padrão.

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 acontece, a variabilidade é medida com o desvio padrão e a %CV é definida para 0.

Estudos de contaminação por transferência para o Panther System

Foram realizados dois estudos para avaliar a contaminação por transferência no Panther system. No primeiro estudo, a contaminação por transferência foi avaliada em múltiplas execuções em três Panther systems com 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 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 $2,5 \times 10^5$ CFU/ml. Foram realizadas cinco execuções em cada um dos três Panther systems. A contaminação por transferência foi calculada a partir de um total de 2938 resultados negativos válidos. A taxa de contaminação por transferência global deste estudo foi de 0%, com um intervalo de confiança de 95% situado entre 0–0,1%.

O segundo estudo de contaminação por transferência foi realizado num Panther system com amostras de GC positivas de alta titulação (STM enriquecido com rRNA de GC equivalente a $2,5 \times 10^5$ CFU/ml) alternativamente processadas com amostras negativas num formato de tabuleiro de damas. Foram efetuadas cinco execuções em tabuleiro de damas. A taxa de contaminação por transferência global deste estudo foi de 0,74% (1/135 amostras negativas).

Estudo de concordância de espécimes clínicos

A concordância de espécimes clínicos entre a versão original e a versão atualizada do ensaio Aptima Combo 2 foi avaliada utilizando resíduos de espécimes de esfregaços colhidos em pacientes submetidos a rastreios de CT e/ou GC. Foi testada uma única réplica de cada espécime com a versão original e a versão atualizada do ensaio Aptima Combo 2 no Panther system. A Tabela 37 e a Tabela 38 mostram a percentagem de concordância geral, de positivos e de negativos de CT e GC nos 325 espécimes avaliados.

Tabela 37: Estudo de concordância de espécimes clínicos de *Chlamydia trachomatis*

		Versão original do AC2 Assay	
		CT Positivo	CT Negativo
Versão atualizada do AC2 Assay	CT Positivo	49	3
	CT Negativo	0	273
Percentagem de concordância de positivos (CI de 95%): 100% (92,7% - 100%)			
Percentagem de concordância de negativos (CI de 95%): 98,9% (96,9% - 99,6%)			
Percentagem de concordância geral (CI de 95%): 99,1% (97,3% - 99,7%)			

Tabela 38: Estudo de concordância de espécimes clínicos de *Neisseria gonorrhoeae*

		Versão original do AC2 Assay	
		GC Positivo	GC Negativo
Versão atualizada do AC2 Assay	GC Positivo	47	1
	GC Negativo	0	275
Percentagem de concordância de positivos (CI de 95%): 100% (92,4% - 100%)			
Percentagem de concordância de negativos (CI de 95%): 99,6% (98,0% - 99,9%)			
Percentagem de concordância geral (CI de 95%): 99,7% (98,3% - 99,9%)			

Foram excluídas desta análise duas amostras com resultados equívocos para GC.

Estudos de estabilidade dos espécimes

A estabilidade dos espécimes seguintes foi avaliada utilizando os DTS systems e/ou o Tigris™ DTS system.

A. Espécimes de esfregaço endocervical

Os dados que suportam as condições recomendadas de transporte e armazenamento das amostras de esfregaço endocervical foram gerados a partir de um grupo de amostras negativas de esfregaços. Enriqueceram-se cinco amostras agrupadas com CT e GC em concentrações finais de 10 IFU e de 100 CFU por reação, respetivamente. As amostras enriquecidas foram mantidas a temperaturas de 4 °C e 30 °C. As amostras foram testadas em duplicado nos dias 0, 20, 35, 60 e 90. Todas as condições de teste foram positivas para CT e GC, em todas as ocasiões e temperaturas.

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 um grupo de amostras negativas de citologia líquida em solução PreservCyt. Enriqueceram-se quatro amostras agrupadas com CT e GC em concentrações finais de 10 IFU e de 100 CFU por reação, respetivamente. As amostras de citologia líquida em solução PreservCyt foram armazenadas a 30 °C durante 7 dias, após os quais se adicionou 1,0 ml da amostra a um

tubo de transferência de espécimes Aptima. As amostras enriquecidas foram mantidas a temperaturas de 4 °C, 10 °C e 30 °C. As amostras armazenadas a 4 °C e 10 °C foram testadas em duplicado nos dias 0, 6, 13, 26, 30 e 36. As amostras armazenadas a 30 °C foram testadas em duplicado nos dias 0, 5, 8, 14 e 17. Todas as condições de teste foram positivas para CT e GC, em todas as ocasiões e temperaturas.

C. Espécimes de esfregaço vaginal

Os dados que suportam as condições recomendadas de transporte e armazenamento das amostras de esfregaço vaginal foram gerados a partir de um grupo de amostras negativas de esfregaços. Enriqueceram-se quinze amostras agrupadas de esfregaço vaginal com CT e GC em concentrações finais de 1,0 IFU e de 50 CFU por reação, respetivamente. As amostras enriquecidas foram mantidas a temperaturas de 4 °C e 30 °C. As amostras foram testadas com uma alíquota nos dias 0, 20, 36, 73 e 114. Todas as condições de teste foram positivas para CT e GC, em todas as ocasiões e temperaturas.

D. Espécimes de urina

Os dados que suportam as condições recomendadas de transporte e armazenamento das amostras de urina foram gerados a partir de dez amostras negativas de urina feminina e dez amostras de urina masculina. As amostras de urina foram enriquecidas com CT e GC em concentrações finais de 10 IFU e de 100 CFU por reação, respetivamente. Dois conjuntos de amostras de urina enriquecida foram mantidos a 4 °C e a 30 °C durante 24 horas antes de serem adicionados ao meio de transporte de urina (UTM). Os dois conjuntos de amostras em UTM foram depois mantidos a 4 °C e a 30 °C e testados em triplicado nos dias 1, 5, 20 e 35. Todas as amostras cumpriram os critérios de aceitação pré-especificados para CT e GC no dia 35.

E. 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 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 CT e GC a 1,0 IFU e 50 CFU por reação, respetivamente; 30 espécimes foram enriquecidos com CT e GC a 0,1 IFU e 5 CFU por reação, respetivamente; e 30 espécimes não foram enriquecidos. Os espécimes em meio de transporte foram armazenados congelados no prazo de 7 dias após a colheita e testados nos dias 200 e 400. Os espécimes cumpriram os critérios de aceitação de 95% de concordância com os resultados esperados.

F. Estudo de estabilidade dos espécimes extragenitais

Os dados que suportam as condições recomendadas de armazenamento das amostras de esfregaço extragenital foram gerados a partir de um grupo de amostras negativas de esfregaços. Os grupos de amostras faríngeas e retais foram enriquecidos com CT e GC a concentrações ligeiramente superiores ao limite de deteção por cada tipo de amostra de esfregaço. As amostras enriquecidas foram mantidas a temperaturas de -70 °C, -20 °C, 4 °C e 30 °C. As amostras foram testadas nos dias 0, 8, 15, 23, 36 e 60. Todas as condições de teste foram, pelo menos, 95% positivas para CT e GC, em todas as ocasiões e temperaturas.

Bibliografia

1. **Alexander, S., et al.** 2008. Self-taken pharyngeal and rectal swabs are appropriate for the detection of *Chlamydia trachomatis* and *Neisseria gonorrhoeae* in asymptomatic men who have sex with men. *Sex Transm Infect.* Nov 84(6):488-92.
2. **Beem, M. O., and E. M. Saxon.** 1977. Respiratory tract colonization and a distinctive pneumonia syndrome in infants infected with *Chlamydia trachomatis*. *NEJM* 296:306-310.
3. **Buimer, M., G. J. J. Van Doornum, S. Ching, P. G. H. Peerbooms, P. K. Plier, D. Ram, and H. H. Lee.** 1996. Detection of *Chlamydia trachomatis* and *Neisseria gonorrhoeae* by Ligase chain reaction-based assays with clinical specimens from various sites: implications for diagnostic testing and screening. *J. Clin. Microbiol.* 34:2395-2400.
4. **Cates, Jr., W., and J. N. Wasserheit.** 1991. Genital chlamydia infections: epidemiology and reproductive sequelae. *Am. J. Obstet. Gynecol.* 164:1771-1781.
5. **Centers for Disease Control and Prevention.** Prepared by Rapp JR, Schachter J, Gaydos CA, Van Der Pol B). Recommendations for the laboratory-based detection of *Chlamydia trachomatis* and *Neisseria gonorrhoeae*- 2014. *Morb Mortal Wkly Rports* 2014;63(RR2):1-19.
6. **Centers for Disease Control and Prevention.** 2016. Gonorrhea-CDC Fact Sheet. <https://www.cdc.gov/std/gonorrhea/stdfact-gonorrhea-detailed.htm>.
7. **Centers for Disease Control and Prevention.** 2016. STD Risk and Oral Sex-CDC Fact Sheet. <https://www.cdc.gov/std/healthcomm/stdfact-stdriskandoralsex.htm>.
8. **Centers for Disease Control and Prevention.** 2021. Sexually Transmitted Disease Surveillance 2019. Última revisão em 13 de abril de 2021. Consultado em 6 de maio de 2021. <https://www.cdc.gov/std/statistics/2019/overview.htm>
9. **Chernesky, M. A., D. Jang, J. Sellors, K. Luinstra, S. Chong, S. Castriciano, and J. B. Mahony.** 1996. Urinary inhibitors of polymerase chain reaction and Ligase chain reaction and testing of multiple specimens may contribute to lower assay sensitivities for diagnosing *Chlamydia trachomatis* infected women. *Mol. Cell. Probes.* 11:243-249.
10. **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.
11. **Chong, S., D. Jang, X. Song, J. Mahoney, A. Petrich, 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.
12. **Crotchfelt, K. A., B. Pare, C. Gaydos, and T. C. Quinn.** 1998. Detection of *Chlamydia trachomatis* by the Hologic AMPLIFIED Chlamydia Trachomatis assay (AMP CT) in urine specimens from men and women and endocervical specimens from women. *J. Clin. Microbiol.* 36:391-394.
13. **Farrel, D. J.** 1999. Evaluation of AMPLICOR *Neisseria gonorrhoeae* PCR using cppB nested PCR and 16S rRNA PCR. *J. Clin. Microbiol.* 37:386-390.
14. **Footman, A., Dionne-Odom, J., Aaron, K.J., Raper, J.L., Van Der Pol B.** 2020. Performance of 4 Molecular Assays for Detection of Chlamydia and Gonorrhea in a Sample of Human Immunodeficiency Virus-Positive Men Who Have Sex With Men. *Sex Transm Dis.* 47(3):158-161.
15. **Freeman, A.H., et al.** 2011. Evaluation of self-collected versus clinician-collected swabs for the detection of *Chlamydia trachomatis* and *Neisseria gonorrhoeae* pharyngeal infection among men who have sex with men. *Sex Transm Dis.* Nov 38(11):1036-1039.
16. **Frommell, G. T., R. Rothenberg, S. Wang, and K. McIntosh.** 1979. Chlamydial infection of mothers and their infants. *Journal of Pediatrics* 95:28-32.
17. **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.
18. **Geiger, R., et al.** 2016. Investigation of the GeneXpertCT/NG assay for use with male pharyngeal and rectal swabs. *Int J STD AIDS.* August.
19. **Goessens, W. H. F., J. W. Mouton, W. I. Van Der Meijden, S. Deelen, T. H. Van Rijsoort-Vos, N. L. Toom, H. Verbrugh, and R. P. Verkooyen.** 1997. Comparison of three commercially available amplification assays, AMP CT, LCx, and COBAS AMPLICOR, for detection of *Chlamydia trachomatis* in first-void urine. *J. Clin. Microbiol.* 35:2628-2633.
20. **Hokynar, K., et al.** The Finnish New Variant of *Chlamydia trachomatis* with a Single Nucleotide Polymorphism in the 23S rRNA Target Escapes Detection by the Aptima Combo 2 Test. *Microorganisms* 2019, 7(8), 227. <https://www.mdpi.com/2076-2607/7/8/227/htm>.
21. **Holmes, K. K., G. W. Counts, and H. N. Beatz.** 1971. Disseminated Gonococcal infection. *Ann. of Intern. Med.* 74:979-993.
22. **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.
23. **Hook, E. W., III, 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, NY.
24. **Jaschek, G., C. A. Gaydos, L. E. Welsh, and T. C. Quinn.** 1993. Direct detection of *Chlamydia trachomatis* in urine specimens from symptomatic and asymptomatic men by using a rapid polymerase chain reaction assay. *J. Clin. Microbiol.* 31:1209-1212.

25. **Johansen, T.B., et al.** The 'Finnish new variant of Chlamydia trachomatis' escaping detection in the Aptima Combo 2 Assay is widespread across Norway, June to August 2019. *Euro Surveill.* 2019;24(42):pii=1900592. <https://www.eurosurveillance.org/content/10.2807/1560-7917.ES.2019.24.42.1900592>.
26. **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.
27. **Mahony, J., S. Chong, D. Jang, K. Luinstra, M. Faught, D. Dalby, J. Sellors, and M. Chernesky.** 1998. Urine specimens from pregnant and nonpregnant women inhibitory to amplification of *Chlamydia trachomatis* nucleic acid by PCR, Ligase chain reaction, and transcription-mediated amplification: identification of urinary substances associated with inhibition and removal of inhibitory activity. *J. Clin. Microbiol.* 36:3122-3126.
28. **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.
29. **Moncada, J., et al.** 2009. Evaluation of self-collected glans and rectal swabs from men who have sex with men for detection of *Chlamydia trachomatis* and *Neisseria gonorrhoeae* by use of nucleic acid amplification tests. *J Clin Microbiol.* Jun 47(6): 1657-62.
30. **Papp, JR., Schachter, J., Gaydos, C.A., et al.** Recommendations for the laboratory-based detection of *Chlamydia trachomatis* and *Neisseria gonorrhoeae*-2014. *MMWR Recomm Rep.* 2014;63:1-19. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4047970>.
31. **Peterson, E. M., V. Darrow, J., Blanding, S., Aarnaes, and L. M. de La Maza.** 1997. Reproducibility problems with the AMPLICOR PCR *Chlamydia trachomatis* test, *J. Clin. Microbiol.* 35:957-959.
32. **Rantakokko-Jalava et al.** *Chlamydia trachomatis* samples testing falsely negative in the Aptima Combo 2 test in Finland, 2019. *Euro Surveill.* 2019;24(22):pii=1900298. <https://www.eurosurveillance.org/content/10.2807/1560-7917.ES.2019.24.22.1900298>.
33. **Roberts, D.J., et al.** Prevalence of new variants of *Chlamydia trachomatis* escaping detection by the Aptima Combo 2 Assay, England, June to August 2019. *Euro Surveill.* 2019;24(38):pii=1900557. <https://www.eurosurveillance.org/content/10.2807/1560-7917.ES.2019.24.38.1900557>.
34. **Schachter, J.,** 1985. *Chlamydiae* (Psittacosis-Lymphogranuloma Venereum-Trachoma group), p. 856-862. *In* E. H. Lennette, et al. (ed.), *Manual of Clinical Microbiology*, 4th ed. American Society for Microbiology, Washington, D.C.
35. **Schachter, J., and M. Grossman.** 1981. chlamydial infections. *Ann. Rev. Med.* 32:45-61.
36. **Schachter, J.,** 1978. Medical progress: chlamydial infections (third of three parts). *NEJM* 298:540-549.
37. **Schachter, J., E. C. Hill, E. B. King, V. R. Coleman, P. Jones, and K. F. Meyer.** 1975. Chlamydial infection in women with cervical dysplasia. *Am. J. Obstet. Gynecol.* 123:753-757.
38. **Sexton, M.E., et al.** 2013. How reliable is self-testing for gonorrhoea and chlamydia among men who have sex with men? *J Fam Pract.* Feb 62(2):70-78.
39. **Stary, A., E. Schuh, M. Kerschbaumer, B. Gotz, and H. Lee.** 1998. Performance of transcription-mediated amplification and Ligase chain reaction assays for detection of chlamydial infection in urogenital samples obtained by invasive and noninvasive methods. *J. Clin. Microbiol.* 36:2666-2670.
40. **Toye, B., W. Woods, M. Bobrowska, and K. Ramotar.** 1998. Inhibition of PCR in genital and urine specimens submitted for *Chlamydia trachomatis* testing. *J. Clin. Microbiol.* 36:2356-2358.
41. **Verkooyen, R. P., A. Luijendijk, W. M. Huisman, W. H. F. Goessens, J. A. J. W. Kluytmans, J. H. Rijsoort-Vos, and H. A. Verbrugh.** 1996. Detection of PCR inhibitors in cervical specimens by using the AMPLICOR *Chlamydia trachomatis* assay. *J. Clin. Microbiol.* 34:3072-3074.
42. **Vincelette, J., J. Schirm, M. Bogard, A. Bourgault, D. Luijt, A. Bianchi, P. C. Van Voorst Vader, A. Butcher, and M. Rosenstraus.** 1999. Multicenter evaluation of the fully automated COBAS AMPLICOR PCR test for detection of *Chlamydia trachomatis* in urogenital specimens. *J. Clin. Microbiol.* 37:74-80.
43. **Yuan, Y., Y-X. Zhang, N. G. Watkins, and H. D. Caldwell.** 1989. Nucleotide and deduced amino acid sequences for the four variable domains of the major outer membrane proteins of the 15 *Chlamydia trachomatis* serovars. *Infect. Immun.* 57:1040-1049.
44. **Unemo and Clarke.** The Swedish new variant of *Chlamydia trachomatis*. *Curr Opin Infect Dis.* 2011 Feb;24(1):62-9. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21157332>.
45. **Unemo, M., et al.** Letter to the editor: *Chlamydia trachomatis* samples testing falsely negative in the Aptima Combo 2 test in Finland, 2019. *Euro Surveill.* 2019;24(24):pii=1900354. <https://www.eurosurveillance.org/content/10.2807/1560-7917.ES.2019.24.24.1900354>.
46. **Unemo, M., et al.** Finnish new variant of *Chlamydia trachomatis* escaping detection in the Aptima Combo 2 Assay also present in Örebro County, Sweden, May 2019. *Euro Surveill.* 2019;24(26):pii=1900370. <https://www.eurosurveillance.org/content/10.2807/1560-7917.ES.2019.24.26.1900370>.
47. **U.S. Food and Drug Administration.** 2007. *Guidance for Industry and FDA Staff: Statistical Guidance on Reporting Results from Studies Evaluating Diagnostic Tests.*

Informações de contacto e histórico de revisões



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



Hologic BV
Da Vincilaan 5
1930 Zaventem
Belgium

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

Para obter o endereço de e-mail e o número de telefone do Suporte técnico e do Apoio ao Cliente 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, Panther Fusion, PreservCyt, ThinPrep, Tigris e os logótipos associados são marcas comerciais e/ou marcas comerciais registadas da Hologic, Inc. e/ou das respetivas subsidiárias nos Estados Unidos e/ou noutros países.

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

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

©2001-2023 Hologic, Inc. Todos os direitos reservados.

AW-27745-601 Rev. 001
2023-09

Histórico de revisão	Data	Descrição
AW-27745 Rev. 001	Setembro de 2023	<ul style="list-style-type: none"> • Criadas novas instruções de utilização do ensaio Aptima Combo 2 AW-27745 Rev. 001 para conformidade regulamentar com o IVDR que irão substituir o documento AW-19693. • Atualização da Utilização prevista removendo a referência à utilização no Tigris DTS System. • Adicionado o Resumo de segurança e desempenho. • Atualização das informações sobre perigos para a UE. • Atualização das secções Advertências e precauções, Colheita e conservação de espécimes, Materiais necessários, mas disponíveis separadamente, Panther system, Interpretação dos testes - CQ/Resultados do paciente, Limitações, Desempenho clínico, Desempenho analítico e 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.