

Ensaio Aptima HPV (Panther System)

Instruções de Utilização
Para efeitos de 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 dos reagentes	7
Colheita e conservação de espécimes	7
Panther System	10
Reagentes e materiais fornecidos	10
Materiais necessários, mas disponíveis separadamente	11
Materiais opcionais	12
Procedimento de teste no Panther System	12
Notas sobre o procedimento	15
Procedimentos de controlo de qualidade	16
Interpretação do teste	17
Limitações	18
Resultados previstos do Panther System: Prevalência de mRNA do HPV de alto risco	20
Desempenho do ensaio no Panther System	24
Bibliografia	55
Informações de contacto e histórico de revisões	57

Informações gerais

Utilização prevista

O Aptima HPV Assay é um teste de sonda de ácido nucleico de amplificação do alvo para a detecção qualitativa *in vitro* do RNA mensageiro (mRNA) viral E6/E7 de 14 tipos de alto risco de papilomavírus humano (HPV) (16/18/31/33/35/39/45/51/52/56/58/59/66/68). O Aptima HPV Assay não faz a distinção entre os 14 tipos de alto risco.

- O Aptima HPV assay está indicado para utilização na selecção de doentes com resultados do exame de papanicolau com ASC-US (células escamosas atípicas de significado indeterminado) para determinar a necessidade para encaminhamento para colposcopia. Os resultados deste teste não se destinam a impedir que as mulheres prossigam para colposcopia.
- O Aptima HPV Assay pode ser utilizado com citologia cervical para o rastreio adjuvante (coteste), para avaliar a presença ou ausência de tipos de HPV de alto risco. Esta informação, juntamente com a avaliação da história clínica por parte do médico, outros fatores de risco e orientações profissionais, pode ser utilizada para orientar o tratamento das pacientes.
- O Aptima HPV assay pode ser utilizado como teste de selecção principal de primeira linha, com ou sem citologia cervical, para identificar mulheres com maior risco de desenvolvimento de cancro do colo do útero ou de presença de doença de alto grau. Esta informação, juntamente com a avaliação do historial de selecção do doente por parte do médico, outros factores de risco e directrizes profissionais, pode ser utilizada para guiar a gestão dos doentes.

O Aptima HPV Assay pode ser utilizado para testar os seguintes tipos de espécimes no Panther System: espécimes cervicais colhidos pelo médico em frascos ThinPrep Pap Test com solução PreservCytantes ou depois do processamento da citologia, espécimes cervicais colhidos com o Aptima Cervical Specimen Collection and Transport Kit, espécimes cervicais colhidos em Fluido Conservante SurePath ou espécimes vaginais colhidos pelo paciente no Aptima Multitest Swab Specimen Collection Kit.

Resumo e explicação do teste

O cancro do colo do útero é um dos tipos de cancro feminino mais comuns em todo o mundo. O HPV é o agente etiológico responsável por mais de 99% de todos os cancros do colo do útero.^{1, 2, 3} O HPV é um vírus de DNA comum, sexualmente transmissível, e constituído por mais de 100 genótipos.⁴

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

Catorze genótipos de HPV são considerados patogénicos ou de alto risco para doença do colo do útero.⁵ Diversos estudos têm associado os genótipos 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66 e 68 à progressão da doença.^{2, 6, 7} As mulheres que apresentem uma infeção persistente com um desses tipos possuem um maior risco de desenvolver displasia grave ou carcinoma do colo do útero.^{5, 8}

As infecções por HPV são muito comuns e a maioria das mulheres irão eliminar infecções por HPV no prazo de 6 a 12 meses.^{2, 9} A presença de ácido nucleico de HPV não significa que estejam presentes displasia do colo do útero ou cancro do colo do útero. Uma abordagem mais eficaz à detecção de doença cervical consiste em visar os elementos oncogénicos do HPV que fomentam a infecção viral persistente e a transformação celular.¹⁰

Desempenho clínico do Aptima HPV Assay na selecção principal para cancro do colo do útero

O desempenho clínico do ensaio Aptima HPV, quando utilizado numa modalidade de rastreio primário, foi investigado em vários estudos por investigadores independentes. Pelo menos 25 publicações revistas por pares¹¹⁻³⁵ a partir de 15 estudos clínicos separados indicam o desempenho do Aptima HPV no rastreio primário de mulheres inscritas em onze países (China, Canadá, França, México, Inglaterra, Dinamarca, Países Baixos, Estados Unidos da América, Alemanha, Suécia e Tailândia). Os dados destes estudos mostram que o Aptima HPV tem um desempenho clínico semelhante comparativamente a outros testes HPV clinicamente validados quando utilizado para o rastreio primário de pré-cancro e cancro do colo do útero.

Princípios do procedimento

O Aptima HPV Assay envolve três passos principais, os quais ocorrem num único tubo: captação do alvo, amplificação do alvo por amplificação mediada por transcrição (Transcription-Mediated Amplification, TMA),⁴² e detecção dos produtos de amplificação pelo ensaio de protecção da hibridação (Hybridization Protection Assay, HPA).⁴³ O ensaio incorpora um controlo interno (Internal Control, IC) para controlar a captação, amplificação e detecção do ácido nucleico, bem como o erro do operador ou do instrumento.

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

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

A detecção do produto de amplificação é feita através do HPA utilizando sondas de ácido nucleico de cadeia simples marcadas por quimioluminescência que são complementares do produto de amplificação. As sondas de ácido nucleico marcadas são hibridadas especificamente no produto de amplificação. O Reagente de Selecção diferencia entre sondas hibridadas e

não hibridadas através da desactivação da marca nas sondas não hibridadas. Durante o passo de detecção, a luz emitida a partir dos híbridos RNA:DNA marcados é medida como sinais de fótons denominados Unidades de Luz Relativa (Relative Light Units, RLU) num luminómetro. Os resultados finais do ensaio são interpretados com base no sinal para “cutoff” (S/CO) do analito.

O IC é adicionado a cada reacção através do Reagente de Captação do Alvo. O IC controla os passos da captação, amplificação e detecção do alvo do ensaio. O sinal de IC de cada reacção é distinguido do sinal do HPV pela diferente cinética de emissão de luz de sondas com marcas distintas.⁴⁴ O produto de amplificação específico do IC é detectado utilizando uma sonda com uma emissão de luz rápida (sinal intermitente). O produto de amplificação específico do HPV é detectado com a utilização de sondas com cinética de emissão de luz relativamente mais lenta (sinal contínuo). O ensaio cinético Dual (Dual Kinetic Assay, DKA) é um método usado para diferenciar entre os sinais das marcas do sinal intermitente e do sinal contínuo.⁴⁴

Resumo de segurança e desempenho

O Resumo de segurança e desempenho (SSP, Summary of Safety and Performance) está disponível na base de dados europeia de dispositivos médicos (Eudamed), onde está associado aos identificadores do dispositivo (UDI-DI básico). Para localizar o SSP do Aptima HPV, consulte o identificador único do dispositivo básico (BUDI), que é: **54200455DIAGAPTHPVBR**.

Advertências e precauções

- A. Para utilização em diagnóstico *in vitro*.
- B. Para uso profissional.
- C. Para obter advertências e precauções específicas adicionais, consulte os *Manuais de instruções do Panther/Panther Fusion System*.

Relacionados com o laboratório

- D. Utilize apenas os artigos de laboratório descartáveis que sejam fornecidos ou especificados.
- E. Empregue todas as precauções laboratoriais de rotina. Não coma, não beba nem fume nas áreas de trabalho designadas. Utilize luvas sem pó descartáveis, protecção ocular e batas de laboratório quando manusear espécimes e reagentes de um kit. Lave bem as mãos depois de manusear os espécimes e os reagentes do kit.
- F. **Advertência: Irritante e Corrosivo:** Evite o contacto do Auto Detect 2 com a pele, olhos e membranas mucosas. Se este fluido entrar em contacto com a pele ou os olhos, lave bem com água a zona afectada. Se este fluido derramar, dilua o derrame com água antes de o limpar e secar.
- G. As superfícies de trabalho, as pipetas e outro equipamento têm de ser regularmente descontaminados com solução de hipoclorito de sódio de 2,5% a 3,5% (0,35 M a 0,5 M). Consulte *Procedimento de teste no Panther System* para obter mais informações.
- H. Utilize as boas práticas padrão para os laboratórios moleculares, incluindo a monitorização ambiental.

Relacionados com os espécimes

- I. Mantenha as condições de temperatura adequadas durante o envio e conservação dos espécimes, de modo a garantir a integridade dos espécimes. A estabilidade do espécime não foi avaliada em condições de envio e conservação para além das recomendadas.

- J. As datas de validade indicadas nos kits e tubos de colheita/transferência de espécimes referem-se ao local da colheita/transferência e não às instalações de testes. Os espécimes colhidos/transferidos a qualquer momento antes destas datas de validade são válidos para efeitos de testes, desde que tenham sido transportados e conservados de acordo com o folheto informativo apropriado, mesmo que estas datas de validade tenham passado.
- K. Siga as precauções universais e os protocolos laboratoriais estabelecidos para um manuseamento e eliminação seguros e para a prevenção da contaminação cruzada. Os espécimes só devem ser manuseados por pessoal com a devida formação profissional no manuseamento de materiais infecciosos.
- L. Mude de luvas imediatamente se estas entrarem em contacto com um espécime. Para evitar a contaminação cruzada, elimine os materiais usados e evite passar por cima de outros recipientes.
- M. Após a perfuração, e sob determinadas condições, o líquido pode vazar das tampas dos tubos. Siga as instruções do *Procedimento de teste no Panther System* para evitar esta ocorrência.
- N. Os espécimes de citologia líquida ThinPrep e de Colheita e Transporte de Espécimes do Colo do Útero (Cervical Specimen Collection and Transport, CSCT) devem ser rejeitados se tiver sido deixado um dispositivo de recolha no tubo de amostra.
- O. Os espécimes de citologia líquida SurePath devem ser rejeitados se não estiver presente um dispositivo de colheita no frasco.
- P. Se o laboratório receber um tubo de transporte de kit de colheita de espécimes de esfregaços multiteste Aptima sem o esfregaço, com dois esfregaços, com um esfregaço de limpeza ou com um esfregaço não fornecido pela Hologic, o espécime deverá ser rejeitado.

Relacionados com o ensaio

- Q. Respeite as precauções universais.
- R. Armazene os reagentes às temperaturas especificadas. O desempenho do ensaio pode ser afectado pela utilização de reagentes conservados de forma incorrecta.
- S. Evite a contaminação microbiana ou com ribonuclease dos reagentes.
- T. Não utilize o kit após a data de validade.
- U. Não troque, misture ou combine reagentes do ensaio ou calibradores de kits com números de lote diferentes.
- V. Os fluidos do ensaio Aptima e os reagentes Aptima Auto Detect não fazem parte do lote mestre; pode ser utilizado qualquer lote.
- W. É necessário misturar bem os reagentes do ensaio para alcançar resultados exactos.
- X. Tem de utilizar pontas com encaixes hidrofóbicos.
- Y. Alguns reagentes deste kit possuem símbolos de risco e segurança nos rótulos.

Nota: A informação sobre a comunicação de perigos reflete as classificações das Fichas de dados de segurança (SDS) da União Europeia. Para obter informações de comunicação de perigos específicas da sua região, consulte a respetiva Ficha de dados de segurança na Biblioteca de Fichas de Dados de Segurança em www.hologicds.com. Para obter mais informações sobre os símbolos, consulte a legenda dos símbolos em <https://www.hologic.com/package-inserts>.

Informações sobre riscos para a UE	
 	Selection Reagent <i>Acido bórico 1 – 5%</i> <i>Triton X-100 1 – 5%</i> <i>Hidróxido de sódio <1%</i> — PERIGO H315 – Provoca irritação cutânea. H360FD – Pode afetar a fertilidade. Pode afetar o nascituro. P264 – Lavar o rosto, as mãos e toda a pele exposta cuidadosamente após manuseamento. P280 – Usar luvas de proteção/vestuário de proteção/proteção ocular/proteção facial. P302 + P352 – SE ENTRAR EM CONTACTO COM A PELE: lavar abundantemente com água e sabão. P332 + P313 – Em caso de irritação cutânea: consulte um médico. P362 + P364 – Retirar a roupa contaminada e lavá-la antes de a voltar a usar. P201 – Pedir instruções específicas antes da utilização. P202 – Não manuseie o produto antes de ter lido e percebido todas as precauções de segurança. P308 + P313 – EM CASO DE exposição ou suspeita de exposição: consulte um médico. P405 – Armazenar em local fechado à chave. P501 – Eliminar o conteúdo/recipiente num centro de eliminação de resíduos aprovado.
	Target Capture Reagent <i>HEPES 5 – 10%</i> <i>EDTA 1 – 5%</i> <i>Lithium Hydroxide, Monohydrate 1 – 5%</i> — — H412 – Nocivo para os organismos aquáticos com efeitos duradouros. P273 – Evitar a libertação para o ambiente. P501 – Eliminar o conteúdo/recipiente num centro de eliminação de resíduos aprovado.
—	Amplification Reagent <i>HEPES 25 – 30%</i> — — H402 – Nocivo para os organismos aquáticos. H412 – Nocivo para os organismos aquáticos com efeitos duradouros. P273 – Evitar a libertação para o ambiente. P501 – Eliminar o conteúdo/recipiente num centro de eliminação de resíduos aprovado.
—	Enzyme Reagent <i>HEPES 1 – 5%</i> <i>Triton X-100 1 – 5%</i> — — H412 – Nocivo para os organismos aquáticos com efeitos duradouros. P273 – Evitar a libertação para o ambiente. P501 – Eliminar o conteúdo/recipiente num centro de eliminação de resíduos aprovado.
—	Probe Reagent <i>LAURYL SULFATE LITHIUM SALT 35 – 40%</i> <i>SUCCINIC ACID 10 – 15%</i> — — H412 – Nocivo para os organismos aquáticos com efeitos duradouros. P273 – Evitar a libertação para o ambiente. P501 – Eliminar o conteúdo/recipiente num centro de eliminação de resíduos aprovado.
—	Enzyme Reconstitution Solution <i>Glicerina 20 – 25%</i> <i>Triton X-100 5 – 10%</i> <i>HEPES 1 – 5%</i> — — H412 – Nocivo para os organismos aquáticos com efeitos duradouros. P273 – Evitar a libertação para o ambiente. P501 – Eliminar o conteúdo/recipiente num centro de eliminação de resíduos aprovado.

Requisitos de conservação e manuseamento dos reagentes

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

- A. Os seguintes reagentes são conservados a uma temperatura de 2 °C a 8 °C (refrigerados) após a recepção:
 - Reagente de Amplificação do HPV
 - Reagente Enzimático do HPV
 - Reagente de Sonda do HPV
 - Reagente de Controlo Interno do HPV
 - Calibradores positivos e calibradores negativos do HPV
- B. Os seguintes reagentes são conservados a uma temperatura de 15 °C a 30 °C (temperatura ambiente):
 - Solução de Reconstituição de Amplificação do HPV
 - Solução de reconstituição enzimática do HPV
 - Solução de reconstituição de sondas do HPV
 - Reagente de captação do alvo do HPV
 - Reagente de selecção do HPV
- C. Após a reconstituição, os seguintes reagentes permanecem estáveis durante 30 dias desde que conservados a uma temperatura de 2 °C a 8 °C:
 - Reagente de Amplificação do HPV
 - Reagente Enzimático do HPV
 - Reagente de Sonda do HPV
- D. O reagente de captação do alvo de trabalho (working Target Capture Reagent, wTCR) permanece estável durante 30 dias desde que conservado a uma temperatura de 15 °C a 30 °C. Não refrigere.
- E. Deite fora quaisquer reagentes reconstituídos e o wTCR não utilizados após 30 dias ou após a data de validade do lote principal, conforme o que ocorrer primeiro.
- F. Os reagentes do ensaio Aptima HPV permanecem estáveis durante um período cumulativo de 72 horas quando conservados a bordo do Panther System.
- G. O Reagente de Sonda e o Reagente de Sonda Reconstituído são fotossensíveis. Conserve os reagentes ao abrigo da luz.
- H. Não congele os reagentes.

Colheita e conservação de espécimes

Nota: *Manuseie todos os espécimes como se contivessem agentes potencialmente infecciosos. Respeite as precauções universais.*

- A. Colheita e processamento de espécimes
 - Espécimes de citologia líquida ThinPrep*

1. Efetue a colheita de espécimes do colo do útero em frascos ThinPrep Pap Test com solução PreservCyt com dispositivos de colheita tipo vassoura ou escova/espátula de acordo com as instruções do fabricante.
2. Antes ou depois do processamento com o processador ThinPrep 2000, o processador ThinPrep 5000, o processador ThinPrep 5000 com Autoloader ou o processador ThinPrep Genesis, transfira 1 ml de espécime de citologia líquida ThinPrep para um tubo de transferência de espécimes Aptima, de acordo com as instruções do folheto informativo do Kit de transferência de espécimes Aptima e da solução de transferência.

Espécimes citológicos de base líquida SurePath

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

Espécimes do Kit Aptima de Colheita e Transporte de Espécimes Cervicais

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

Espécimes do Aptima Multitest Swab Specimen Collection Kit

1. Proceda à colheita do espécime de acordo com as instruções de utilização do Aptima Multitest Swab Specimen Collection Kit.

B. Transporte e conservação antes do teste

Espécimes de citologia líquida ThinPrep

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

Espécimes de citologia líquida SurePath

1. Transporte os espécimes de citologia líquida SurePath a uma temperatura de 2 °C a 25 °C.
2. Os espécimes devem ser transferidos para um Tubo de Transferência de Espécimes Aptima num prazo de 7 dias após a colheita.
3. Antes da transferência, os espécimes de citologia líquida SurePath devem ser conservados a temperaturas de 2 °C a 25 °C.
4. Os espécimes de citologia líquida SurePath transferidos para um tubo de Transferência de Espécimes Aptima podem ser conservados a uma temperatura de 2 °C a 25 °C durante um máximo de 7 dias.

Espécimes do Kit Aptima de Colheita e Transporte de Espécimes Cervicais

1. Transporte e conserve os espécimes a uma temperatura de 2 °C a 30 °C durante um máximo de 60 dias.

2. Se for necessário um período de conservação mais longo, os espécimes do kit de transporte podem ser conservados a uma temperatura de -20 °C ou menos durante um máximo de 24 meses.

Espécimes do Aptima Multitest Swab Specimen Collection Kit

1. Transporte de espécimes
 - a. Transporte os espécimes a uma temperatura entre 2 °C e 30 °C.
 - b. Os espécimes devem ser recebidos no laboratório no prazo de 5 dias após a colheita.
2. Conservação de espécimes antes dos testes
 - a. Opção 1: os espécimes podem ser conservados entre 2 °C e 8 °C durante um máximo de 30 dias.
 - b. Opção 2: os espécimes podem ser conservados entre 15 °C e 30 °C durante um máximo de 30 dias.

C. Tratamento dos espécimes de citologia líquida SurePath

Nota: Os espécimes de citologia líquida SurePath têm de ser tratados com a Solução de Transferência Aptima antes de serem analisados com o Aptima HPV Assay.

1. Solução de Transferência Aptima

As amostras tratadas podem ser conservadas entre 2 °C e 8 °C até 17 dias antes da realização de testes com o ensaio Aptima HPV. Consulte mais detalhes no folheto informativo do Kit de transferência de espécimes Aptima e da solução de transferência Aptima.

D. Conservação de espécimes após o teste

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

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

Panther System

Os reagentes para o Aptima HPV Assay estão indicados abaixo para o Panther System. Os Símbolos de Identificação do Reagente também estão indicados ao lado do nome do reagente.

Reagentes e materiais fornecidos

Aptima HPV Assay, 250 testes, Código de Produto 303093 (3 embalagens)

Aptima HPV Assay, 100 testes, Código de Produto 302929 (3 embalagens)

Os calibradores podem ser adquiridos à parte. Veja abaixo os códigos de produto individuais.

Embalagem refrigerada do Aptima HPV (conservar a uma temperatura de 2 °C a 8 °C após a recepção)

Símbolo	Componente	Quantidade
A	Reagente de Amplificação do HPV <i>Ácidos nucleicos não infecciosos desidratados em solução tamponada com < 5% de agente de volume.</i>	1 frasco
E	Reagente Enzimático do HPV <i>Transcriptase reversa e polimerase do RNA desidratadas em solução tamponada com HEPES com < 10% de reagente de volume.</i>	1 frasco
P	Reagente de Sonda do HPV <i>Sondas de DNA quimioluminescentes não infecciosas (< 500 ng/frasco) desidratadas em solução tamponada com succinato contendo < 5% de detergente.</i>	1 frasco
IC	Reagente de Controlo Interno do HPV <i>Transcrito de RNA não infeccioso em solução tamponada com < 5% de detergente.</i>	1 frasco

Embalagem à temperatura ambiente do Aptima HPV (conservar à temperatura ambiente de 15 °C a 30 °C após a recepção)

Símbolo	Componente	Quantidade
AR	Solução de Reconstituição de Amplificação do HPV <i>Solução aquosa contendo conservantes.</i>	1
ER	Solução de reconstituição enzimática do HPV <i>Solução tampão com HEPES contendo um agente tensioactivo e glicerol.</i>	1
PR	Solução de reconstituição de sondas do HPV <i>Solução tamponada com succinato contendo < 5% de detergente.</i>	1
S	Reagente de selecção do HPV <i>Solução tamponada com 600 mM de borato contendo agente tensioactivo.</i>	1
TCR	Reagente de captura do alvo HPV <i>Solução tamponada com fase sólida e oligómeros de captura (< 0,5 mg/ml).</i>	1
	Colarinhos de Reconstituição	3
	Ficha de Códigos de Barras do Lote Principal	1 folha

**Embalagem de calibradores Aptima HPV (Código de Produto 302554)
(conservar a uma temperatura de 2 °C a 8 °C após a recepção)**

Símbolo	Componente	Quantidade
PCAL	Calibrador Positivo do HPV <i>Transcrito in vitro de HPV 16 não infeccioso a 1000 cópias por ml numa solução tamponada contendo < 5% de detergente.</i>	5 frascos
NCAL	Calibrador Negativo do HPV <i>Solução tamponada contendo < 5% de detergente.</i>	5 frascos

Materiais necessários, mas disponíveis separadamente

Nota: Os materiais disponíveis na Hologic têm a indicação do código de produto, a menos que seja especificado em contrário.

Material	Código produto
Panther System	303095
Panther Fusion System	PRD-04172
Fluidos contínuos e resíduos Panther System (Panther Plus)	PRD-06067
Kit de execução Panther	303096
<i>Kit de fluidos do ensaio Aptima</i>	303014
<i>(Solução de lavagem Aptima, tampão para o fluido de desativação Aptima e Reagente de óleo Aptima)</i>	
<i>Kit Auto Detect Aptima</i>	303013
<i>Unidades multitubos (MTUs)</i>	104772-02
<i>Kit de sacos de resíduos Panther</i>	902731
<i>Tampa do recipiente de resíduos Panther</i>	504405
Pontas, 1000 µl, com filtro, condutoras, detecção de líquido e descartáveis	901121 (10612513 Tecan)
<i>Nem todos os produtos estão disponíveis em todas as regiões. Contacte o seu representante para obter informações específicas da região</i>	903031 (10612513 Tecan)
	MME-04134 (30180117 Tecan)
	MME-04128
Kit de transferência de espécimes Aptima	301154C
Kit de transferência de espécimes Aptima— imprimível	PRD-05110
Kit de colheita e transporte de espécimes cervicais Aptima	302657
Kit multitest de colheita de espécimes de esfregaço Aptima	PRD-03546
Tampas perfuráveis Aptima	105668
Tampas não perfuráveis de substituição	103036A
Tampas sobresselentes para kits de 250 testes:	—
<i>Soluções de reconstituição do reagente de amplificação e do reagente de sonda</i>	CL0041
<i>Solução de reconstituição do reagente enzimático</i>	501616
<i>TCR e reagente de seleção</i>	CL0040
Tampas sobresselentes para kits de 100 testes:	—
<i>Soluções de reconstituição do reagente de amplificação e do reagente de sonda</i>	CL0041
<i>Solução de reconstituição do reagente enzimático</i>	CL0041
<i>TCR e reagente de seleção</i>	501604
Lixívia 5,0% a 8,25% (0,7 M a 1,16 M) de solução de hipoclorito de sódio	—

Luvras descartáveis —

Kit de solução de transferência Aptima (apenas para espécimes SurePath) 303658

Materiais opcionais

Material	Código produto
Intensificador de lixívia Hologic para limpeza	302101
Bloco de aquecimento	—
Dispositivo de agitação de tubos por oscilação	—

Procedimento de teste no Panther System

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

A. Preparação da área de trabalho

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

B. Preparação dos reagentes de um novo kit

Nota: A Reconstituição do Reagente deve ser realizada antes de qualquer trabalho no Panther System.

1. Antes do teste, os reagentes de amplificação, enzimático e de sonda devem ser reconstituídos através da combinação dos conteúdos dos frascos de reagente liofilizado com a solução de reconstituição adequada.
 - a. Permita que os reagentes liofilizados atinjam a temperatura ambiente (15 °C a 30 °C) antes da sua utilização.
 - b. Emparelhe cada solução de reconstituição com o respetivo reagente liofilizado. Antes de fixar o aro de reconstituição, certifique-se de que a solução de reconstituição e o reagente possuem rótulos com símbolos correspondentes.
 - c. Verifique os números do lote na Folha de códigos de barras do lote mestre para garantir que estão emparelhados os reagentes adequados. Rotule as tampas dos frascos de solução de reconstituição.
 - d. Abra o frasco de vidro do reagente liofilizado e insira firmemente a extremidade ranhurada do aro de reconstituição na abertura do frasco de vidro (Figura 1, Passo 1).
 - e. Abra o frasco da solução de reconstituição correspondente e coloque a tampa numa superfície de trabalho limpa e coberta.
 - f. Coloque o frasco da solução sobre a bancada e insira com firmeza a outra extremidade do aro de reconstituição na abertura do frasco (Figura 1, Passo 2).

- g. Agite suavemente a solução no frasco para a misturar bem. Evite criar espuma quando agitar o frasco (Figura 1, Passo 4).
- h. Recolha os frascos montados e agite-os para misturar totalmente. Evite formar espuma ao agitar o frasco (Figura 1, Passo 4).
- i. Certifique-se de que o reagente liofilizado entra completamente na solução. Agite os frascos novamente e, em seguida, oscile ligeiramente a solução no interior do frasco de vidro para a frente e para trás para misturar totalmente.
- j. Verifique visualmente se o reagente está completamente em solução, sem pó, aglomerados ou linhas onduladas.
- k. Incline lentamente os frascos montados outra vez para permitir que toda a solução seja novamente drenada para dentro do frasco da solução de reconstituição (Figura 1, Passo 5).
- l. Retire o aro de reconstituição e o frasco de vidro (Figura 1, Passo 6).
- m. Volte a tapar o frasco de plástico com a tampa guardada e rotulada que corresponde ao reagente ou com uma tampa nova. Não misture as tampas. Grave as iniciais do operador e a data de reconstituição na etiqueta (Figura 1, Passo 7).
- n. Descarte o aro de reconstituição e o frasco de vidro (Figura 1, passo 8).
- o. Misture bem cada reagente invertendo-o suavemente antes de carregar no Panther System.

Opção: É permitida a mistura adicional dos reagentes de amplificação, enzimático e de sonda colocando os frascos de plástico tapados num agitador de tubos definido para uma velocidade moderada e inclinado durante um mínimo de 5 minutos. Certifique-se de que os reagentes são bem misturados.

Advertência: Evite formar espuma quando reconstituir os reagentes. A espuma compromete a detecção de nível no Panther System

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

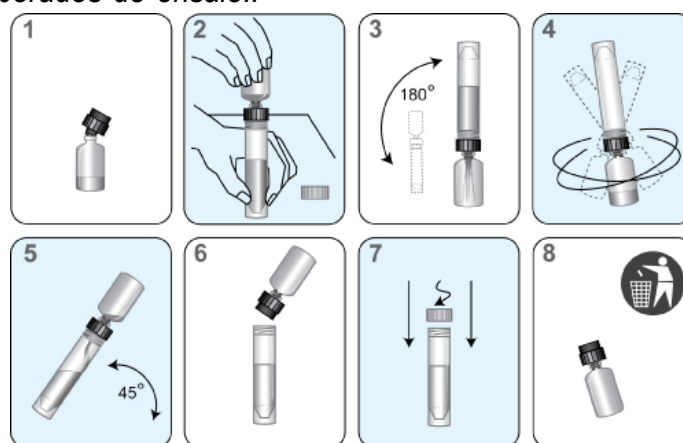


Figura 1. Processo de reconstituição do Panther System

- 2. Prepare o Reagente de Captação do Alvo de trabalho (working Target Capture Reagent, wTCR):
 - a. Emparelhe os frascos de TCR e de Controlo Interno (Internal Control, IC) adequados.

- b. Verifique os números do lote de reagente na Ficha de Códigos de Barras do Lote Principal para garantir que estão emparelhados os reagentes adequados do kit.
 - c. Abra o frasco de TCR e deposite a tampa numa superfície de trabalho limpa e coberta.
 - d. Abra o frasco de IC e deite todo o conteúdo no frasco de TCR. Uma pequena quantidade de líquido deverá ficar no frasco de IC.
 - e. Tape o frasco de TCR e agite suavemente a solução para misturar o conteúdo. Evite formar espuma durante este passo.
 - f. Anote as iniciais do operador e a data actual na etiqueta.
 - g. Deite fora o frasco e a tampa do IC.
 - h. É possível que haja formação de precipitado no wTCR, o que pode resultar em resultados inválidos devido aos erros de verificação de volume. O precipitado pode ser dissolvido aquecendo o wTCR a uma temperatura de 42 °C a 60 °C durante um máximo de 90 minutos. Deixe o wTCR equilibrar à temperatura ambiente antes de ser utilizado. Não utilize se o precipitado persistir.
3. Prepare o Reagente de Selecção
- a. Verifique o número do lote de reagente na Ficha de Códigos de Barras do Lote Principal para garantir que pertence ao kit.
 - b. Se o Reagente de Selecção contiver precipitado, aqueça o Reagente de Selecção a 60 °C $\pm$ 1 °C por um máximo de 45 minutos para facilitar a dissolução do precipitado. Misture o frasco suavemente a cada 5 a 10 minutos. Deixe o Reagente de Selecção equilibrar à temperatura ambiente antes de ser utilizado. Não utilize se o precipitado ou a nebulosidade persistir.

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

C. Preparação de reagentes previamente reconstituídos

1. Os Reagentes de Sonda, Amplificação e Enzimático previamente reconstituídos têm de alcançar a temperatura ambiente (15 °C a 30 °C) antes do início do ensaio.

Opção: Os frascos de plástico tapados dos reagentes de amplificação, enzimático e de sonda reconstituídos podem ser colocados num agitador de tubos definido para uma velocidade moderada e inclinados durante um mínimo de 25 minutos para garantir que os reagentes alcançam a temperatura ambiente e são bem misturados.

2. Se o Reagente de Sonda reconstituído contiver precipitado que não se dissolva novamente à temperatura ambiente, aqueça-o a uma temperatura máxima de 60 °C durante 1 ou 2 minutos. Não utilize se houver precipitado ou nebulosidade.
3. Se o wTCR contiver precipitado, aqueça o wTCR a uma temperatura de 42 °C a 60 °C durante um máximo de 90 minutos. Deixe o wTCR equilibrar à temperatura ambiente antes de ser utilizado. Não utilize se o precipitado persistir.
4. Se o Reagente de Selecção contiver precipitado, aqueça o Reagente de Selecção a 60 °C $\pm$ 1 °C por um máximo de 45 minutos para facilitar a dissolução do precipitado. Misture o frasco suavemente a cada 5 a 10 minutos. Deixe o Reagente de Selecção equilibrar à temperatura ambiente antes de ser utilizado. Não utilize se o precipitado ou a nebulosidade persistir.
5. Misture bem cada reagente invertendo-o suavemente antes de o colocar no sistema. Evite formar espuma durante a inversão dos reagentes.
6. Não ateste frascos de reagente. O Panther System reconhece e rejeita os frascos que tenham sido atestados.

D. Manuseamento de amostras

1. Para cada espécime colhido no Aptima Multitest Swab Specimen Collection Kit, execute os seguintes passos:
 - a. Confirme visualmente a presença de um único esfregaço Aptima Multitest cor-de-rosa no tubo de colheita.
 - b. Aqueça os espécimes de esfregaço Aptima Multitest a 90 °C durante 75 minutos antes de os testar. Os espécimes devem permanecer tapados durante este processo.
2. Deixe as amostras (calibradores e espécimes) alcançar a temperatura ambiente antes de serem processadas.
3. **Não coloque as amostras no vórtex.**
4. Inspeccione os tubos de amostras antes de os colocar no suporte. Se um tubo de amostra contiver bolhas ou um volume mais inferior ao normalmente observado, centrifugue o tubo durante 5 minutos a 420 RCF para garantir que não há líquido na tampa.

Nota: Se o passo 4 não for cumprido, poderá resultar numa descarga de líquido a partir da tampa do tubo de espécime.

E. Preparação do sistema

1. Configure o sistema de acordo com as instruções no *Panther System Operator's Manual* (Manual do Operador do Panther System) e na secção *Notas sobre o procedimento* abaixo. Certifique-se de que são utilizados suportes de reagente e adaptadores de TCR de dimensão adequada.
2. Coloque as amostras.

Notas sobre o procedimento

A. Calibradores

1. Para funcionar adequadamente com o software do Aptima HPV Assay no Panther System, são necessárias três réplicas do Calibrador Positivo e três réplicas do Calibrador Negativo. Um frasco de cada calibrador pode ser colocado em qualquer posição do suporte em qualquer Pista da Zona de Amostras no Panther System. A pipetagem de espécimes começa quando se verificar uma das duas condições seguintes:
 - a. O sistema está actualmente a processar um Calibrador Positivo e um Calibrador Negativo.
 - b. Resultados válidos para os calibradores estão registados no sistema.
2. Uma vez pipetados os tubos de calibrador e quando estiverem a ser processados para um kit de reagente específico, os espécimes podem ser executados com o respectivo kit de reagente de ensaio até 24 horas, a menos que:
 - a. Os resultados dos calibradores sejam inválidos.
 - b. o respectivo kit de reagente de ensaio seja retirado do sistema;
 - c. o respectivo kit de reagente de ensaio tenha ultrapassado os limites de estabilidade.
3. As tentativas de pipetar mais de três réplicas a partir de um tubo de calibrador podem originar erros de processamento.

B. Temperatura

A temperatura ambiente define-se como uma temperatura entre 15 °C e 30 °C.

C. Pó das luvas

Como em qualquer sistema de reagentes, o excesso de pó nalgumas luvas pode causar a contaminação de tubos abertos. É recomendada a utilização de luvas sem pó.

Procedimentos de controlo de qualidade

A. Critérios de validade da execução

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

- Mais de uma réplica de Calibrador Negativo inválido.
- Mais de uma réplica de Calibrador Positivo inválido.

Uma execução pode ser invalidada por um operador se forem observadas e documentadas dificuldades técnicas, do operador ou do instrumento durante a realização do ensaio.

Uma execução inválida tem de ser repetida.

B. Critérios de aceitação do calibrador

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

Calibrador negativo

Analito ≥ 0 e $\leq 45\,000$ RLU

IC $\geq 75\,000$ e $\leq 400\,000$ RLU

Calibrador positivo

Analito $\geq 480\,000$ e $\leq 1\,850\,000$ RLU

IC $\leq 450\,000$ RLU

C. Cálculo do cutoff do IC

O cutoff do IC é determinado a partir do sinal do IC (sinal intermitente) das réplicas do Calibrador Negativo válido.

$$\text{Cutoff do IC} = 0,5 \times [\text{média da RLU do IC das réplicas do Calibrador Negativo válido}]$$

D. Cálculo do cutoff do analito

O cutoff do analito é determinado a partir do sinal do analito (sinal contínuo) das réplicas do Calibrador Negativo válido, bem como do sinal do analito das réplicas do Calibrador Positivo válido

$$\text{“Cutoff” do analito} = \frac{[\text{média da RLU do analito das réplicas do Calibrador Negativo válido}] + [0,09 \times \text{média da RLU do analito das réplicas do Calibrador Positivo válido}]}{1}$$

E. Cálculo do sinal para cutoff (S/CO) do analito

O S/CO do analito é determinado a partir da RLU do analito da amostra de teste e do cutoff do analito para a execução.

$$\text{S/CO do analito} = \frac{\text{RLU do analito da amostra de teste}}{\text{cutoff do analito}}$$

Interpretação do teste

Os resultados dos testes são determinados automaticamente pelo software de ensaio. O resultado de um teste pode ser negativo, positivo ou inválido, conforme determinado pelo IC, pelas RLU e pela S/CO do analito. O primeiro resultado válido é o resultado que deve ser relatado. Um resultado de teste também pode ser inválido devido a outros parâmetros (forma anormal da curva cinética) que estejam fora dos intervalos de valores normalmente esperados. Os resultados de testes inválidos devem ser repetidos. Se o resultado não for válido após novo ensaio, deve ser colhida uma nova amostra.

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

Nota: É necessário um volume mínimo de 1,7 ml para testar 1 alíquota da amostra. Não dilua um espécime diluído inválido. Se um espécime diluído produzir um resultado inválido, deverá ser obtido um novo espécime do doente.

Resultado do Aptima HPV Assay	Critérios
Negativa	S/CO do analito < 0,50 IC ≥ cutoff do IC IC ≤ 2 000 000 RLU
Positiva	S/CO do analito ≥ 0,50 IC ≤ 2 000 000 RLU Analito ≤ 13 000 000 RLU
Inválida	IC > 2 000 000 RLU ou S/CO do analito < 0,50 e IC < cutoff do IC ou Analito > 13 000 000 RLU

Limitações

- A. Não foram avaliados outros tipos de espécimes para além dos identificados na utilização prevista.
- B. O desempenho do Aptima HPV Assay não foi avaliado para indivíduos vacinados contra o HPV.
- C. O Aptima HPV Assay não foi avaliado em casos de suspeita de abuso sexual.
- D. A prevalência de infecção por HPV numa população pode afectar o desempenho. Os valores de prognóstico positivo diminuem quando se examinam populações com baixa prevalência ou indivíduos sem risco de infecção.
- E. Os espécimes de citologia líquida ThinPrep com menos de 1 ml após a preparação de lâminas para o exame de Papanicolau ThinPrep são consideradas inadequadas para o Aptima HPV Assay.
- F. A remoção de 1 ml de espécime de citologia líquida SurePath antes do processamento citológico não foi avaliada relativamente ao impacto do resultado de citologia.
- G. Os resultados dos testes podem ser afectados por uma colheita, conservação ou processamento de espécimes incorrecto.
- H. O Controlo Interno monitoriza os passos de captura do alvo, amplificação e detecção do ensaio. Não se destina a controlar a adequação da amostra do colo do útero.
- I. Um resultado negativo no Aptima HPV Assay não exclui a possibilidade de anormalidades citológicas nem de CIN2, CIN3 ou cancro subjacente ou no futuro.
- J. A presença de lubrificantes pessoais que contenham Poliquatérnio 15 pode interferir com o desempenho do ensaio, quando presentes numa amostra de teste a concentrações superiores a 0,025% (v/v ou p/v).
- K. Os medicamentos antifúngicos que contenham tioconazol podem interferir com o desempenho do ensaio, quando presentes numa amostra de teste a concentrações superiores a 0,075% (v/p).
- L. Os protetores solares que contêm óxido de zinco podem interferir no desempenho do ensaio quando presentes em concentrações superiores a 2,5% (p/v) de uma amostra de teste.
- M. Os cremes para hemorroidas que contêm óxido de zinco, óxido de bismuto e bálsamo do Peru podem interferir no desempenho do ensaio quando presentes em concentrações superiores a 1% (p/v) de uma amostra de teste.
- N. O muco pode interferir no desempenho do ensaio quando presente em concentrações superiores a 2,5% (p/v) de uma amostra de teste.
- O. O Aptima HPV Assay proporciona resultados qualitativos. Portanto, não se pode fazer uma correlação entre a magnitude de um sinal de ensaio positivo e o nível de expressão do mRNA num espécime.
- P. A detecção de mRNA do HPV de alto risco está dependente do número de cópias presentes no espécime e pode ser afectada pelos métodos de colheita do espécime, de factores do doente, da fase da infecção e da presença de substâncias interferentes.

- Q. A infecção por HPV não é um indicador de HSIL citológica nem de CIN subjacente de alto grau, nem implica que CIN2, CIN3 ou cancro se irão desenvolver. A maioria das mulheres infectadas com um ou mais tipos de HPV de alto risco não desenvolvem CIN2, CIN3 ou cancro.
- R. Os efeitos de outras variáveis potenciais como descarga vaginal, utilização de tampões, duches vaginais, etc., e a colheita dos espécimes não foram avaliados.
- S. A utilização deste produto deve ser limitada a pessoal com formação na utilização do Aptima HPV Assay.
- T. A contaminação cruzada de amostras pode dar origem a resultados positivos falsos. A taxa de contaminação por transferência do ensaio Aptima HPV no Panther System foi determinada num estudo não clínico como sendo de 0,7%.
- U. Os resultados do Aptima HPV Assay devem ser interpretados em conjunto com outros dados laboratoriais e clínicos de que o médico disponha.
- V. Podem ocorrer resultados positivos falsos com este teste. Transcritos *in vitro* dos genótipos de HPV 26, 67, 70 e 82 de baixo risco apresentaram reactividade cruzada com o Aptima HPV Assay.
- W. Podem ser observadas diferenças no desempenho com espécimes vaginais de autocolheita em comparação com espécimes cervicais colhidos pelo médico. Os pacientes com resultados positivos em espécimes vaginais de autocolheita devem ser encaminhados para um médico para uma avaliação de acompanhamento.

Resultados previstos do Panther System: Prevalência de mRNA do HPV de alto risco

A prevalência de infecção com HPV de alto risco varia amplamente e é influenciada por diversos factores, sendo a idade o factor com maior preponderância.^{36,37} Há muitos estudos que investigaram a prevalência do HPV determinada pela detecção de DNA do HPV; contudo, poucos estudos indicaram a prevalência com base na detecção de mRNA do HPV oncogénico. Inscreveram-se num estudo clínico prospectivo conhecido como ensaio CLEAR mulheres de várias clínicas (n=18), representando uma ampla distribuição geográfica e uma população diversificada (10 estados dos Estados Unidos da América). Conforme determinada pelo Aptima HPV Assay no Panther System, a prevalência de amostras positivas para mRNA do HPV observada no ensaio clínico foi categorizada, em geral, de acordo com o grupo etário e o local do teste. Os resultados são apresentados na Tabela 1 para as populações de células escamosas atípicas de significado indeterminado (Atypical Squamous Cells of Undetermined Significance, ASC-US) e negativo para lesão intraepitelial ou malignidade (Negative for Intraepithelial Lesion or Malignancy, NILM).

Tabela 1: High-risk HPV mRNA Prevalence by Age Group, Testing Site, and All Combined

	Taxa de Positividade % (x/n)	
	População ASC-US (≥ 21 anos)	População NILM (≥ 30 anos)
Tudo	42,3 (404/956)	4,7 (512/10 860)
Grupo etário (anos)		
21 a 29	60,0 (251/418)	N/A
30 a 39	38,1 (101/265)	6,8 (286/4192)
≥ 40	19,0 (52/273)	3,4 (226/6668)
Local de teste		
1	41,5 (134/323)	3,7 (304/8286)
2	43,1 (137/318)	9,2 (118/1285)
3	42,2 (133/315)	7,0 (90/1289)

N/A = não aplicável

Desenho do estudo clínico do Aptima HPV Assay com espécimes de citologia líquida ThinPrep

O Aptima HPV assay no Sistema Panther foi avaliado utilizando espécimes residuais de citologia de encaminhamento colhidos de mulheres que deram o seu consentimento durante o estudo clínico prospectivo e multicêntrico nos EUA conhecido como o ensaio CLEAR.³⁸

O Aptima HPV Assay foi lançado pela primeira vez no Tigris DTS System, em 2008. Em 2011, as indicações alargaram-se à utilização do Aptima HPV Assay no Panther System. O sistema Panther é uma plataforma de instrumentos mais pequena, que é uma alternativa ao sistema Tigris DTS. Os sistemas destinam-se ambos a automatizar totalmente os testes de ácidos nucleicos dos ensaios de diagnóstico. Os testes de desempenho do ensaio seleccionados concluídos no Tigris DTS System foram aproveitados para apoiar o desempenho do ensaio no Panther System.

Ensaio CLEAR – Avaliação na Linha de Referência

O ensaio CLEAR, para determinar o desempenho clínico do Aptima HPV Assay no Sistema Tigris DTS na detecção de neoplasia intraepitelial cervical de grau 2 ou doença cervical mais grave ($\geq$ CIN2). O Ensaio CLEAR incluiu uma avaliação na linha de referência e uma avaliação de acompanhamento de 3 anos. As mulheres foram inscritas tanto no Estudo ASC-US como no Estudo NILM com base nos respectivos resultados de citologia provenientes de rastreios de rotina ao cancro do colo do útero. A população do Estudo ASC-US incluiu mulheres com 21 anos e idade superior com resultados citológicos de ASC-US e a população do Estudo NILM incluiu mulheres com 30 anos e idade superior com resultados citológicos de NILM. O Estudo NILM foi concebido para apoiar a reivindicação de rastreio auxiliar para mulheres com idade igual ou superior a 30 anos, dado que as mulheres nesta faixa etária com resultados citológicos mais altos do que ASC-US devem seguir para colposcopia, independentemente do seu estado de HPV.³⁹

Foram inscritas mulheres provenientes de 18 clínicas, sobretudo clínicas de obstetrícia/ginecologia, que abrangeram uma ampla distribuição geográfica e uma população diversificada. As mulheres elegíveis foram designadas para o Estudo ASC-US ou o Estudo NILM com base no espécime de citologia de base líquida ThinPrep encaminhado. Na linha de referência, os espécimes residuais encaminhados de mulheres no Estudo ASC-US e no Estudo NILM foram inicialmente testados com o Aptima HPV Assay no Tigris DTS System e com um teste de DNA do HPV disponível no mercado. Os espécimes foram então arquivados e conservados a -70 °C até serem testados com o Aptima HPV Assay no Panther System.

Na linha de referência do ensaio CLEAR (Fase de Linha de Referência), todas as mulheres no Estudo ASC-US foram encaminhadas para colposcopia, independentemente dos seus resultados do teste de HPV. Foi obtida uma curetagem endocervical (ECC), biopsia e biopsias cervicais por punção (1 biopsia de cada um dos 4 quadrantes). Caso fosse visível uma lesão, era obtida uma biopsia por punção (método direccionado; 1 biopsia por lesão) e quadrantes sem uma lesão visível foram submetidos a biopsia na junção escamo-colunar (método aleatório).

No Estudo NILM, as mulheres positivas com o Aptima HPV Assay no Tigris DTS System e/ou o teste de DNA do HPV disponível comercialmente, bem como as mulheres seleccionadas aleatoriamente que tinham sido negativas com os dois ensaios, foram encaminhadas para colposcopia para a avaliação da linha de referência. As mulheres seleccionadas aleatoriamente que tinham sido negativas com os dois ensaios foram incluídas para correcção relativa ao desvio de verificação com estimativas de desempenho ajustadas,

geradas recorrendo a um método de imputação múltipla. Foi obtida uma biopsia ECC de cada uma das mulheres que realizaram colposcopia. As biopsias por punção foram obtidas apenas de lesões visíveis (método direccionado; 1 biopsia por lesão).

O estado da doença foi determinado por um Consenso do Painel de Revisão de Histologia, que foi baseado na concordância de, pelo menos, 2 patologistas especialistas. Os estados de HPV das mulheres não foram apresentados aos patologistas especialistas. O estado de citologia também não foi apresentado, nem os diagnósticos de histologia de cada um. Se os 3 patologistas discordassem, os 3 analisariam as lâminas num microscópio com várias cabeças para chegar a um consenso. Os resultados do teste do HPV não foram apresentados aos investigadores, médicos e mulheres até depois da conclusão da consulta de colposcopia, com o intuito de evitar desvio.

Na linha de referência, o desempenho clínico do Aptima HPV Assay em relação à detecção de $\geq$ CIN2 e neoplasia intraepitelial cervical de grau 3 ou doença cervical mais grave ($\geq$ CIN3) foi determinado relativamente ao estado da doença cervical determinado na linha de referência. O desempenho clínico do teste de DNA do HPV disponível no mercado também foi determinado para comparação directa com os resultados do Aptima HPV Assay.

Ensaio CLEAR – Avaliação de Acompanhamento

As mulheres do Estudo NILM de 14 centros clínicos eram elegíveis para participar na Fase de Acompanhamento de 3 anos do estudo se: i) tivessem realizado uma consulta de colposcopia na linha de referência e não tivessem $\geq$ CIN2, ou ii) não tivessem realizado uma consulta de colposcopia na linha de referência. A Fase de Acompanhamento do estudo foi constituída por consultas anuais. Nestas consultas, foi realizada amostragem cervical para citologia para cada mulher e algumas mulheres foram também testadas com um teste de HPV disponível no mercado. As mulheres com ASC-US ou resultados de citologia mais graves durante o período de acompanhamento foram encaminhadas para colposcopia utilizando os mesmos procedimentos de exame de biopsia e histológico realizados para a avaliação na linha de referência do estudo NILM. O estado da doença cervical na consulta de acompanhamento foi considerado "negativo" com base na citologia NILM ou, para mulheres com resultados anormais do teste de citologia, com base nos resultados normais ou nos resultados do Painel de Revisão de Histologia de Consenso CIN1. As mulheres que tiveram $\geq$ CIN2 detectado durante o período de acompanhamento foram consideradas com tendo concluído o acompanhamento e não realizaram consultas depois de $\geq$ CIN2 ter sido detectado. As mulheres a quem não foi detectado $\geq$ CIN2 durante o período de acompanhamento mas que realizaram uma consulta do estudo no ano 1 do acompanhamento e/ou no ano 2 do acompanhamento e que realizaram uma consulta do estudo no ano 3 do acompanhamento foram consideradas com tendo concluído o acompanhamento.

O objectivo do estudo de acompanhamento consistiu em comparar o risco acumulado de 3 anos de doença cervical nas mulheres com resultados positivos no Aptima HPV assay na linha de referência com o risco acumulado de 3 anos de doença cervical em mulheres com resultados negativos no Aptima HPV assay na linha de referência. O estado da doença cervical de 3 anos foi determinado da seguinte forma:

- Estado positivo de doença cervical ($\geq$ CIN2 e/ou $\geq$ CIN3) – Mulheres a quem foi detectado $\geq$ CIN2 na linha de referência ou durante o acompanhamento.
- Estado negativo de doença cervical ($<$ CIN2) – Mulheres que concluíram o acompanhamento sem detecção de $\geq$ CIN2 e que não foram consideradas como tendo estado "indeterminado" de doença cervical.

- Estado indeterminado de doença cervical – Mulheres que tiveram resultados anormais no teste de citologia durante o acompanhamento e que não tiveram um resultado do Painel de Revisão de Histologia de Consenso subsequente, ou mulheres com citologia inadequada na sua última consulta.
- Perdido para acompanhamento – Mulheres que não concluíram o acompanhamento e que não foram consideradas como tendo um estado "indeterminado" de doença cervical.

O desempenho clínico do Aptima HPV assay no Panther System para a detecção de $\geq$ CIN2 e $\geq$ CIN3 foi avaliado relativamente ao estado de doença cervical de 3 anos.

Desempenho do ensaio no Panther System

População ASC-US ≥ 21 anos: Desempenho clínico do Aptima HPV Assay

Na totalidade, 1252 mulheres com idade igual ou superior a 21 anos com resultados citológicos de ASC-US foram inscritas no Estudo ASC-US; destas, excluíram-se 294 mulheres. As restantes 958 mulheres foram consideradas elegíveis para testes no Panther System. Havia amostras em falta para duas mulheres e 19 tiveram um diagnóstico de doença indeterminada; foram todas excluídas da análise. As restantes 937 mulheres elegíveis para avaliação tinham idade igual ou superior a 21 anos e resultados citológicos de ASC-US, resultados do Aptima HPV Assay no Panther System e um estado de doença conclusivo. Noventa e uma (91) mulheres tinham ≥CIN2 e quarenta e uma (41) tinham ≥CIN3. A prevalência de ≥CIN2 e ≥CIN3 em mulheres elegíveis para avaliação com resultados citológicos de ASC-US foi de 9,7% e 4,4%, respectivamente. Os resultados do Aptima HPV Assay através do Consenso dos Diagnósticos do Painel de Revisão de Histologia são apresentados na Tabela 2.

Tabela 2: População ASC-US ≥ 21 anos: Resultados do Aptima HPV Assay através do consenso dos diagnósticos do painel de revisão de histologia

Resultado do Aptima HPV Assay*	Teste do DNA do HPV	Consenso do diagnóstico do painel de revisão de histologia						Total
		Indeterminado**	Normal	CIN1	CIN2	CIN3	Cancro	
Positiva	Positiva	6	178	110	40	32	1	367
Positiva	Negativa	0	5	2	0	2	0	9
Positiva	Sem resultado***	0	15	11	0	2	0	28
Negativa	Positiva	0	39	15	3	3	0	60
Negativa	Negativa	10	372	53	7	1	0	443
Negativa	Sem resultado***	3	39	7	0	0	0	49
Total		19	648	198	50	40	1****	956

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

**19 participantes compareceram na consulta de colposcopia; no entanto, não foi possível determinar um diagnóstico pelas seguintes razões: < 5 de espécimes de biopsia obtidos, todos com resultados de histologia normais/CIN1 (n=15), não foram colhidas biopsias (n=3) e lâminas da biopsia perdidas (n=1).

***77 mulheres com resultados do Aptima HPV Assay não apresentaram resultados do teste de DNA do HPV devido, sobretudo, ao volume insuficiente do espécime citológico.

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

As estimativas de desempenho clínico do Aptima HPV Assay, incluindo sensibilidade, especificidade, valor de prognóstico positivo (positive predictive value, PPV) e valor de prognóstico negativo (negative predictive value, NPV) para a detecção de ≥CIN2 e ≥CIN3, baseadas na avaliação de todas as biopsias e incluindo apenas biopsias direccionadas, são apresentadas na Tabela 3, bem como as estimativas para o teste de DNA do HPV

Tabela 3: População ASC-US ≥ 21 anos: Desempenho do Aptima HPV Assay e de um teste de DNA do HPV disponível no mercado para a detecção de ≥CIN2 e ≥CIN3

		Aptima HPV Assay N=937		Teste do DNA do HPV N=863*		
Desempenho		Estimativa	(CI de 95%)	Estimativa	(CI de 95%)	
≥CIN2	Todas as biopsias					
	Sensibilidade (%)	84,6 (77/91)	(75,8, 90,6)	88,8 (79/89)	(80,5, 93,8)	
	Especificidade (%)	62,1 (525/846)	(58,7, 65,3)	55,8 (432/774)	(52,3, 59,3)	
	PPV (%)	19,3 (77/398)	(17,3, 21,2)	18,8 (79/421)	(17,0, 20,4)	
	NPV (%)	97,4 (525/539)	(96,0, 98,5)	97,7 (432/442)	(96,2, 98,8)	
	Prevalência (%)	9,7 (91/937)		10,3 (89/863)		
	Biopsias direccionadas**					
	Sensibilidade (%)	90,0 (54/60)	(79,9, 95,3)	93,2 (55/59)	(83,8, 97,3)	
	Especificidade (%)	60,8 (531/874)	(57,5, 63,9)	54,5 (437/802)	(51,0, 57,9)	
	PPV (%)	13,6 (54/397)	(12,0, 15,0)	13,1 (55/420)	(11,7, 14,2)	
	NPV (%)	98,9 (531/537)	(97,8, 99,6)	99,1 (437/441)	(97,9, 99,7)	
	Prevalência (%)	6,4 (60/934)		6,9 (59/861)		
	≥CIN3	Todas as biopsias				
		Sensibilidade (%)	90,2 (37/41)	(77,5, 96,1)	92,3 (36/39)	(79,7, 97,3)
Especificidade (%)		59,7 (535/896)	(56,5, 62,9)	53,3 (439/824)	(49,9, 56,7)	
PPV (%)		9,3 (37/398)	(8,0, 10,3)	8,6 (36/421)	(7,4, 9,4)	
NPV (%)		99,3 (535/539)	(98,3, 99,8)	99,3 (439/442)	(98,3, 99,8)	
Prevalência (%)		4,4 (41/937)		4,5 (39/863)		
Biopsias direccionadas**						
Sensibilidade (%)		93,1 (27/29)	(78,0, 98,1)	96,4 (27/28)	(82,3, 99,4)	
Especificidade (%)		59,1 (535/906)	(55,8, 62,2)	52,8 (440/834)	(49,4, 56,1)	
PPV (%)		6,8 (27/398)	(5,7, 7,5)	6,4 (27/421)	(5,5, 7,0)	
NPV (%)		99,6 (535/537)	(98,8, 100)	99,8 (440/441)	(98,9, 100)	
Prevalência (%)		3,1 (29/935)		3,2 (28/862)		

*74 mulheres com resultados do Aptima HPV Assay não apresentaram resultados do teste de DNA do HPV devido, sobretudo, ao volume insuficiente do espécime citológico.

**O resultado do consenso de histologia foi obtido recorrendo apenas a resultados de biopsias direccionadas. As mulheres sem biopsias direccionadas reflectem uma colposcopia normal e são incluídas nestas análises como não sofrendo de doenças (<CIN2 ou <CIN3, conforme adequado). Nem sempre foi alcançado um consenso quando foram incluídas apenas biopsias direccionadas.

Quando foram avaliadas todas as biopsias, as estimativas de sensibilidade clínica do Aptima HPV Assay e do teste de DNA do HPV disponível no mercado para detecção de $\geq$ CIN2 e $\geq$ CIN3 foram semelhantes nos casos em que estavam disponíveis os resultados dos dois ensaios (as diferenças nas estimativas de sensibilidade não foram estatisticamente significativas). No caso de $\geq$ CIN2, a diferença de sensibilidade foi de -4,5% (CI de 95%: -12,2%, 2,5%). As estimativas de especificidade clínica do Aptima HPV Assay para a detecção de $\geq$ CIN2 e $\geq$ CIN3 foram superiores às do teste de DNA do HPV disponível no mercado (as diferenças nas estimativas de especificidade foram estatisticamente significativas). No caso de $\geq$ CIN2, a diferença de especificidade foi de 6,1% (CI de 95%: 4,2%, 8,2%). Os NPV foram semelhantes mas, para a detecção de $\geq$ CIN2, o PPV para o Aptima HPV Assay foi ligeiramente superior ao PPV para o teste de DNA do HPV disponível no mercado (19,3% vs. 18,8%).

Dos 91 casos de $\geq$ CIN2, 60 (65,9%) foram identificados em biopsias direccionadas e 31 (34,1%) foram identificados a partir de biopsias aleatórias e/ou ECC (ou seja, não em biopsias direccionadas). Estas conclusões são comparáveis a resultados de estudos publicados, nos quais aproximadamente 25% a 40% dos casos de $\geq$ CIN2 foram identificados apenas a partir de espécimes de biopsias aleatórias e/ou ECC.^{40,41} Utilizando apenas biopsias direccionadas para determinar o estado da doença (assumindo que as mulheres sem biopsias direccionadas apresentavam resultados histológicos normais, pois não se encontravam presentes lesões visíveis), a prevalência de $\geq$ CIN2 e $\geq$ CIN3 no estudo foi de 6,4% e 3,1% respectivamente. As estimativas de sensibilidade clínica para a detecção de $\geq$ CIN2 e $\geq$ CIN3 foram superiores para os dois testes utilizando apenas biopsias direccionadas, em relação às estimativas calculadas utilizando todas as biopsias. Para os dois ensaios, a especificidade clínica utilizando apenas biopsias direccionadas foi semelhante à especificidade obtida com todas as biopsias incluídas. Em conformidade, quando foram utilizadas apenas biopsias direccionadas, a especificidade do Aptima HPV Assay foi significativamente superior à do teste de DNA do HPV disponível no mercado.

As estimativas de desempenho clínico do Aptima HPV Assay e do teste de DNA do HPV disponível no mercado são apresentadas por grupo etário na Tabela 4 e na Tabela 5 ($\geq$ CIN2 e $\geq$ CIN3, respectivamente, com base na avaliação de todas as biopsias).

Tabela 4: População ASC-US ≥ 21 anos: Desempenho do Aptima HPV Assay e de um teste de DNA do HPV para a detecção de $\geq$ CIN2 por grupo etário

	Desempenho	Aptima HPV Assay N=937		Teste do DNA do HPV N=863*	
		Estimativa	(CI de 95%)	Estimativa	(CI de 95%)
21 a 29 anos		N=415		N=389	
	Sensibilidade (%)	88,5 (54/61)	(78,2, 94,3)	94,9 (56/59)	(86,1, 98,3)
	Especificidade (%)	44,9 (159/354)	(39,8, 50,1)	35,5 (117/330)	(30,5, 40,8)
	PPV (%)	21,7 (54/249)	(19,3, 23,9)	20,8 (56/269)	(19,0, 22,5)
	NPV (%)	95,8 (159/166)	(92,3, 98,1)	97,5 (117/120)	(93,6, 99,4)
	Prevalência (%)	14,7 (61/415)		15,2 (59/389)	
30 a 39 anos		N=261		N=238	
	Sensibilidade (%)	85,0 (17/20)	(64,0, 94,8)	80,0 (16/20)	(58,4, 91,9)
	Especificidade (%)	66,4 (160/241)	(60,2, 72,1)	61,9 (135/218)	(55,3, 68,1)
	PPV (%)	17,3 (17/98)	(13,1, 21,1)	16,2 (16/99)	(11,8, 19,8)
	NPV (%)	98,2 (160/163)	(95,7, 99,6)	97,1 (135/139)	(94,1, 99,1)
	Prevalência (%)	7,7 (20/261)		8,4 (20/238)	
≥ 40 anos		N=261		N=236	
	Sensibilidade (%)	60,0 (6/10)	(31,3, 83,2)	70,0 (7/10)	(39,7, 89,2)
	Especificidade (%)	82,1 (206/251)	(76,9, 86,3)	79,6 (180/226)	(73,9, 84,4)
	PPV (%)	11,8 (6/51)	(5,6, 17,7)	13,2 (7/53)	(6,9, 18,7)
	NPV (%)	98,1 (206/210)	(96,6, 99,4)	98,4 (180/183)	(96,6, 99,6)
	Prevalência (%)	3,8 (10/261)		4,2 (10/236)	

*74 mulheres com resultados do Aptima HPV Assay não apresentaram resultados do teste de DNA do HPV devido, sobretudo, ao volume insuficiente do espécime citológico.

Tabela 5: População ASC-US ≥ 21 anos: Desempenho do Aptima HPV Assay e de um teste de DNA do HPV para a detecção de $\geq$ CIN3 por grupo etário

	Desempenho	Aptima HPV Assay N=937		Teste do DNA do HPV N=863*	
		Estimativa	(CI de 95%)	Estimativa	(CI de 95%)
21 a 29 anos		N=415		N=389	
	Sensibilidade (%)	96,3 (26/27)	(81,7, 99,3)	100 (25/25)	(86,7, 100)
	Especificidade (%)	42,5 (165/388)	(37,7, 47,5)	33,0 (120/364)	(28,3, 38,0)
	PPV (%)	10,4 (26/249)	(9,0, 11,5)	9,3 (25/269)	(8,2, 10,0)
	NPV (%)	99,4 (165/166)	(97,2, 100)	100 (120/120)	(97,5, 100)
	Prevalência (%)	6,5 (27/415)		6,4 (25/389)	
30 a 39 anos		N=261		N=238	
	Sensibilidade (%)	88,9 (8/9)	(56,5, 98,0)	77,8 (7/9)	(45,3, 93,7)
	Especificidade (%)	64,3 (162/252)	(58,2, 69,9)	59,8 (137/229)	(53,4, 66,0)
	PPV (%)	8,2 (8/98)	(5,0, 10,1)	7,1 (7/99)	(4,0, 9,2)
	NPV (%)	99,4 (162/163)	(97,6, 100)	98,6 (137/139)	(96,4, 99,8)
	Prevalência (%)	3,4 (9/261)		3,8 (9/238)	
≥ 40 anos		N=261		N=236	
	Sensibilidade (%)	60,0 (3/5)	(23,1, 88,2)	80,0 (4/5)	(37,6, 96,4)
	Especificidade (%)	81,3 (208/256)	(76,0, 85,6)	78,8 (182/231)	(73,1, 83,6)
	PPV (%)	5,9 (3/51)	(1,6, 9,7)	7,5 (4/53)	(2,9, 10,7)
	NPV (%)	99,0 (208/210)	(98,0, 99,9)	99,5 (182/183)	(98,2, 100)
	Prevalência (%)	1,9 (5/261)		2,1 (5/236)	

*74 mulheres com resultados do Aptima HPV Assay não apresentaram resultados do teste de DNA do HPV devido, sobretudo, ao volume insuficiente do espécime citológico.

O risco absoluto de doença ($\geq$ CIN2 e $\geq$ CIN3, com base na avaliação de todas as biopsias), conforme o resultado do Aptima HPV Assay, e o risco relativo de doença para resultados do Aptima HPV Assay positivos versus negativos são apresentados na Tabela 6, bem como as estimativas para o teste de DNA do HPV disponível no mercado. O risco relativo de $\geq$ CIN2 foi de 7,4 (CI de 95%: 4,3, 13,0), indicando que uma mulher que tinha tido um resultado positivo com o Aptima HPV Assay tinha 7,4 vezes mais probabilidade de ter $\geq$ CIN2 do que uma mulher que tinha tido um resultado negativo com o Aptima HPV Assay. O risco relativo de $\geq$ CIN3 foi de 12,5 (CI de 95%: 4,5, 34,9).

Tabela 6: População ASC-US $\geq$ 21 anos: Riscos absolutos e relativos de $\geq$ CIN2 e $\geq$ CIN3 para os resultados do Aptima HPV Assay e de um teste de DNA do HPV

	Resultado do ensaio	Aptima HPV Assay N=937		Teste de DNA do HPV N=863*	
		Risco absoluto (CI de 95%)	Risco relativo (CI de 95%)	Risco absoluto (CI de 95%)	Risco relativo (CI de 95%)
≥CIN2	Positiva	19,3 (77/398) (17,3, 21,2)	7,4 (4,3, 13,0)	18,8 (79/421) (17,0, 20,4)	8,3 (4,4, 15,8)
	Negativa	2,6 (14/539) (1,5, 4,0)		2,3 (10/442) (1,2, 3,8)	
	Prevalência (%)		9,7 (91/937)	10,3 (89/863)	
≥CIN3	Positiva	9,3 (37/398) (8,0, 10,3)	12,5 (4,5, 34,9)	8,6 (36/421) (7,4, 9,4)	12,6 (3,9, 40,6)
	Negativa	0,7 (4/539) (0,2, 1,7)		0,7 (3/442) (0,2, 1,7)	
	Prevalência (%)		4,4 (41/937)	4,5 (39/863)	

*74 mulheres com resultados do Aptima HPV Assay não apresentaram resultados do teste de DNA do HPV devido, sobretudo, ao volume insuficiente do espécime citológico.

As estimativas de risco absoluto e relativo de doença ($\geq$ CIN2 e $\geq$ CIN3, com base na avaliação de todas as biopsias) para o Aptima HPV Assay e o teste de DNA do HPV disponível no mercado são apresentadas por grupo etário na Tabela 7.

Tabela 7: População ASC-US $\geq$ 21 anos: Riscos absolutos e relativos de $\geq$ CIN2 e $\geq$ CIN3 para os resultados do Aptima HPV Assay e de um teste de DNA do HPV por grupo etário

		Aptima HPV Assay N=937		Teste do DNA do HPV N=863*		
Idade	Resultado do ensaio	Risco absoluto (CI de 95%)	Risco relativo (CI de 95%)	Risco absoluto (CI de 95%)	Risco relativo (CI de 95%)	
≥CIN2	21 a 29 anos	N=415		N=389		
		Positiva	21,7 (54/249) (19,3, 23,9)	5,1 (2,4, 11,0)	20,8 (56/269) (19,0, 22,5)	8,3 (2,7, 26,1)
		Negativa	4,2 (7/166) (1,9, 7,7)		2,5 (3/120) (0,6, 6,4)	
		Prevalência (%)	9,7 (61/415)		15,2 (59/389)	
	30 a 39 anos	N=261		N=238		
		Positiva	17,3 (17/98) (13,1, 21,1)	9,4 (2,8, 31,3)	16,2 (16/99) (11,8, 19,8)	5,6 (1,9, 16,3)
		Negativa	1,8 (3/163) (0,4, 4,3)		2,9 (4/139) (0,9, 5,9)	
		Prevalência (%)	7,7 (20/261)		8,4 (20/238)	
	≥ 40 anos	N=261		N=236		
		Positiva	11,8 (6/51) (5,6, 17,7)	6,2 (1,8, 21,1)	13,2 (7/53) (6,9, 18,7)	8,1 (2,2, 30,1)
		Negativa	1,9 (4/210) (0,6, 3,4)		1,6 (3/183) (0,4, 3,4)	
		Prevalência (%)	3,8 (10/261)		4,2 (10/236)	
≥CIN3	21 a 29 anos	N=415		N=389		
		Positiva	10,4 (26/249) (9,0, 11,5)	17,3 (2,4, 127)	9,3 (25/269) (8,2, 10,0)	Não calculável
		Negativa	0,6 (1/166) (0,0, 2,8)		0,0 (0/120) (0,0, 2,5)	
		Prevalência (%)	6,5 (27/415)		6,4 (25/389)	
	30 a 39 anos	N=261		N=238		
		Positiva	8,2 (8/98) (5,0, 10,1)	13,3 (1,7, 105)	7,1 (7/99) (4,0, 9,2)	4,9 (1,0, 23,2)
		Negativa	0,6 (1/163) (0,0, 2,4)		1,4 (2/139) (0,2, 3,6)	
		Prevalência (%)	3,4 (9/261)		3,8 (9/238)	
	≥ 40 anos	N=261		N=236		
		Positiva	5,9 (3/51) (1,6, 9,7)	6,2 (1,1, 36,0)	7,5 (4/53) (2,9, 10,7)	13,8 (1,6, 121)
		Negativa	1,0 (2/210) (0,1, 2,0)		0,5 (1/183) (0,0, 1,8)	
		Prevalência (%)	1,9 (5/261)		2,1 (5/236)	

*74 mulheres com resultados do Aptima HPV Assay não apresentaram resultados do teste de DNA do HPV devido, sobretudo, ao volume insuficiente do espécime citológico.

População NILM ≥ 30 anos: Desempenho clínico do Aptima HPV Assay com Espécimes de Citologia Líquida ThinPrep na Linha de Referência

Na totalidade, foram inscritas 11 644 mulheres com resultados citológicos de NILM no Estudo NILM; destas, 773 mulheres foram excluídas. As restantes 10 871 mulheres foram consideradas elegíveis para testes no Panther System. Havia amostras em falta para onze mulheres, tendo sido excluídas da avaliação na linha de referência do Aptima HPV assay no Panther System. As restantes 10 860 mulheres elegíveis para avaliação tinham idade igual ou superior a 30 anos com resultados citológicos de NILM e resultados do Aptima HPV Assay no Panther System. Das 512 mulheres com resultados positivos do Aptima HPV Assay no Panther System, 284 compareceram na colposcopia na linha de referência. Das 10 348 mulheres com resultados negativos do Aptima HPV Assay, 580 compareceram na colposcopia na linha de referência. Vinte (20) mulheres tinham $\geq$ CIN2 e onze (11) tinham $\geq$ CIN3; 798 mulheres tinham histologia normal/CIN1; 46 mulheres apresentavam um estado de doença indeterminado. Os resultados do Aptima HPV Assay no Panther System através do Consenso dos diagnósticos do Pannel de Revisão de Histologia são apresentados na Tabela 8.

Tabela 8: População NILM ≥ 30 anos: Resultados do Aptima HPV Assay e de um teste de DNA do HPV através do consenso dos diagnósticos do pannel de revisão de histologia na linha de referência

Resultado do Aptima HPV Assay*	Teste do DNA do HPV	Consenso do diagnóstico do pannel de revisão de histologia						Total
		Indeterminado**	Normal	CIN1	CIN2	CIN3	Cancro	
Positiva	Positiva	11	211	12	4	7	2	247
Positiva	Negativa	2	19	0	0	0	1	22
Positiva	Sem resultado***	2	12	1	0	0	0	15
Negativa	Positiva	10	170	7	2	1	0	190
Negativa	Negativa	20	353	9	2	0	0	384
Negativa	Sem resultado***	1	4	0	1	0	0	6
Total		46	769	29	9	8	3****	864

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

**46 participantes compareceram na consulta de colposcopia; no entanto, não foi possível determinar um diagnóstico pelas seguintes razões: espécimes de biopsia avaliados como inadequados (n=29), não foram colhidas biopsias (n=15) e lâminas da biopsia perdidas (n=2).

***21 mulheres com resultados do Aptima HPV Assay não apresentaram resultados do teste de DNA do HPV devido, sobretudo, ao volume insuficiente do espécime citológico.

****Três mulheres apresentavam adenocarcinoma in situ (AIS).

Na totalidade, 10 042 mulheres apresentavam um estado de doença não verificado na linha de referência, incluindo indeterminado (Tabela 9). Dado que apenas mulheres seleccionadas aleatoriamente com resultados negativos do Aptima HPV Assay no Tigris DTS System e do teste de DNA do HPV disponível no mercado foram encaminhadas para colposcopia, a proporção de mulheres com um estado de doença não verificado foi elevada neste grupo (96,6%). Para ajustar este desvio de verificação, foi utilizado um método de imputação múltipla para efectuar a estimativa do número de mulheres com doença que teriam sido identificadas caso todas as mulheres tivessem sido submetidas a colposcopia. São apresentadas tanto as estimativas de desempenho ajustadas em relação ao desvio de verificação, como as estimativas de desempenho não ajustadas com base nas 818 mulheres com estado de doença verificado na linha de referência.

Tabela 9: População NILM ≥ 30 anos: Classificação de mulheres NILM elegíveis para avaliação através dos resultados do Aptima HPV Assay de um teste de DNA do HPV, estado da doença ($\geq$ CIN2 e $\geq$ CIN3) e estado de verificação da doença

Resultado do Aptima HPV Assay*		Teste do DNA do HPV	Total de mulheres	Estado de doença verificada: $\geq$ CIN2		Estado de doença verificada: $\geq$ CIN3		Estado de doença não verificada
Panther System	Tigris DTS System			Mulheres doentes ($\geq$ CIN2)	Mulheres não doentes ($<$ CIN2)	Mulheres doentes ($\geq$ CIN3)	Mulheres não doentes ($<$ CIN3)	Mulheres com estado de doença desconhecido (% desconhecida)
Positiva	Positiva	Positiva	313	13	189	9	193	111 (35,5%)
Positiva	Positiva	Negativa	37	1	18	1	18	18 (48,6%)
Positiva	Positiva	Sem resultado**	22	0	13	0	13	9 (40,9%)
Positiva	Negativa	Positiva	70	0	34	0	34	36 (51,4%)
Positiva	Negativa	Negativa	60	0	1	0	1	59 (98,3%)
Positiva	Negativa	Sem resultado**	10	0	0	0	0	10 (100%)
Negativa	Positiva	Positiva	46	0	33	0	33	13 (28,3%)
Negativa	Positiva	Negativa	113	1	41	0	42	71 (62,8%)
Negativa	Positiva	Sem resultado**	8	0	4	0	4	4 (50,0%)
Negativa	Negativa	Positiva	236	3	144	1	146	89 (37,7%)
Negativa	Negativa	Negativa	9354	1	321	0	322	9 032 (96,6%)
Negativa	Negativa	Sem resultado**	591	1	0	0	1	590 (99,8%)
Total			10 860	20	798	11	807	10 042 (92,5%)

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

**631 mulheres com resultados do Aptima HPV Assay não apresentaram resultados do teste de DNA do HPV devido, sobretudo, ao volume insuficiente do espécime citológico.

A prevalência ajustada de $\geq$ CIN2 e $\geq$ CIN3 em mulheres com resultados citológicos de NILM foi de 0,9% e 0,4%, respectivamente. As estimativas ajustadas de risco absoluto e relativo para a detecção de $\geq$ CIN2 e $\geq$ CIN3 na linha de referência são apresentadas na Tabela 10. O risco relativo ajustado de $\geq$ CIN2 foi de 7,5 (CI de 95%: 2,1, 26,3), indicando que uma mulher que tinha tido um resultado positivo com o Aptima HPV Assay tinha 7,5 vezes mais probabilidade de ter $\geq$ CIN2 do que uma mulher que tinha tido um resultado negativo com o Aptima HPV Assay. O risco relativo ajustado de $\geq$ CIN3 foi de 24,9 (CI de 95%: 2,0, 307,0). As estimativas não ajustadas de risco absoluto e relativo para a detecção de $\geq$ CIN2 e $\geq$ CIN3 na linha de referência são apresentadas em geral na Tabela 11 e por grupo etário na Tabela 12.

Tabela 10: População NILM $\geq$ 30 anos: Riscos absolutos e relativos de $\geq$ CIN2 e $\geq$ CIN3 para os resultados do Aptima HPV Assay e de um teste de DNA do HPV (estimativas ajustadas em relação ao desvio de verificação) na linha de referência

	Resultado do ensaio	Aptima HPV Assay		Teste do DNA do HPV	
		Risco absoluto (CI de 95%)	Risco relativo (CI de 95%)	Risco absoluto (CI de 95%)	Risco relativo (CI de 95%)
≥CIN2	Positiva	4,5 (2,7, 7,4)	7,5 (2,1, 26,3)	3,7 (2,3, 6,1)	7,3 (1,6, 33,5)
	Negativa	0,6 (0,2, 1,9)		0,5 (0,1, 2,1)	
	Prevalência (%)		0,9	0,9	
≥CIN3	Positiva	3,0 (1,6, 5,5)	24,9 (2,0, 307,0)	2,3 (1,3, 4,1)	21,0 (1,0, 423,8)
	Negativa	0,1 (0,0, 1,7)		0,1 (0,0, 2,4)	
	Prevalência (%)		0,4	0,4	

Tabela 11: População NILM $\geq$ 30 anos: Riscos absolutos e relativos de $\geq$ CIN2 e $\geq$ CIN3 para os resultados do Aptima HPV Assay e de um teste de DNA do HPV (estimativas não ajustadas) na linha de referência

		Aptima HPV Assay N=818		Teste do DNA do HPV N=800*	
	Resultado do ensaio	Risco absoluto (CI de 95%)	Risco relativo (CI de 95%)	Risco absoluto (CI de 95%)	Risco relativo (CI de 95%)
≥CIN2	Positiva	5,2 (14/269) (3,5, 6,6)	4,8 (1,9, 12,3)	3,8 (16/416) (2,9, 4,5)	4,9 (1,4, 16,8)
	Negativa	1,1 (6/549) (0,5, 1,9)		0,8 (3/384) (0,2, 1,9)	
	Prevalência (%)		2,4 (20/818)		2,4 (19/800)
≥CIN3	Positiva	3,7 (10/269) (2,5, 4,3)	20,4 (2,6, 159)	2,4 (10/416) (1,6, 2,7)	9,2 (1,2, 71,8)
	Negativa	0,2 (1/549) (0,0, 0,8)		0,3 (1/384) (0,0, 1,1)	
	Prevalência (%)		1,3 (11/818)		1,4 (11/800)

*18 mulheres com resultados do Aptima HPV Assay não apresentaram resultados do teste de DNA do HPV devido, sobretudo, ao volume insuficiente do espécime citológico.

Tabela 12: População NILM ≥ 30 anos: Riscos absolutos e relativos de $\geq \text{CIN}2$ e $\geq \text{CIN}3$ para os resultados do Aptima HPV Assay e de um teste de DNA do HPV por grupo etário (estimativas não ajustadas) na linha de referência

		Aptima HPV Assay N=818		Teste do DNA do HPV N=800*		
Idade	Resultado do ensaio	Risco absoluto (CI de 95%)	Risco relativo (CI de 95%)	Risco absoluto (CI de 95%)	Risco relativo (CI de 95%)	
≥CIN2		N=383		N=376		
	30 a 39 anos	Positiva	4,6 (7/153) (2,5, 5,9)	5,3 (1,1, 25,0)	3,3 (7/215) (1,8, 4,1)	2,6 (0,6, 12,4)
		Negativa	0,9 (2/230) (0,1, 2,2)		1,2 (2/161) (0,2, 3,2)	
	Prevalência (%)		2,3 (9/383)		2,4 (9/376)	
		N=435		N=424		
	≥ 40 Idade	Positiva	6,0 (7/116) (3,2, 8,5)	4,8 (1,4, 16,1)	4,5 (9/201) (2,9, 5,3)	10,0 (1,3, 78,1)
Negativa		1,3 (4/319) (0,4, 2,3)	0,4 (1/223) (0,0, 1,8)			
Prevalência (%)		2,5 (11/435)		2,4 (10/424)		
≥CIN3		N=383		N=376		
	30 a 39 anos	Positiva	3,3 (5/153) (1,6, 4,1)	7,5 (0,9, 63,7)	2,3 (5/215) (1,1, 2,9)	3,7 (0,4, 31,7)
		Negativa	0,4 (1/230) (0,0, 1,6)		0,6 (1/161) (0,0, 2,2)	
	Prevalência (%)		1,6 (6/383)		1,6 (6/376)	
		N=435		N=424		
	≥ 40 anos	Positiva	4,3 (5/116) (2,2, 5,1)	Não calculável	2,5 (5/201) (1,3, 2,8)	Não calculável
Negativa		0,0 (0/319) (0,0, 0,8)	0,0 (0/223) (0,0, 1,1)			
Prevalência (%)		1,1 (5/435)		1,2 (5/424)		

*18 mulheres com resultados do Aptima HPV Assay não apresentaram resultados do teste de DNA do HPV devido, sobretudo, ao volume insuficiente do espécime citológico.

As estimativas ajustadas do desempenho clínico do Aptima HPV Assay, incluindo sensibilidade, especificidade, PPV e NPV para a detecção de $\geq$ CIN2 e $\geq$ CIN3 na linha de referência são apresentadas na Tabela 13, bem como as estimativas para o teste de DNA do HPV disponível no mercado. As estimativas não ajustadas do desempenho clínico são apresentadas na Tabela 14. O Aptima HPV Assay e o teste de DNA do HPV disponível no mercado apresentaram sensibilidade semelhante, ao passo que a especificidade foi significativamente superior para o Aptima HPV Assay (CI não sobrepostos de 95%). As estimativas do valor de prognóstico do Aptima HPV Assay foram clinicamente relevantes e semelhantes às estimativas para o teste de DNA do HPV disponível no mercado. Os NPV foram semelhantes mas, para a detecção de $\geq$ CIN2, o PPV para o Aptima HPV Assay foi ligeiramente superior ao PPV para o teste de DNA do HPV disponível no mercado (4,5% vs. 3,7%).

Tabela 13: População NILM $\geq$ 30 anos: Desempenho do Aptima HPV Assay e de um teste de DNA do HPV para a detecção de $\geq$ CIN2 e $\geq$ CIN3 (estimativas ajustadas em relação ao desvio de verificação) na linha de referência

	Desempenho	Aptima HPV Assay		Teste do DNA do HPV	
		Estimativa	(CI de 95%)	Estimativa	(CI de 95%)
≥CIN2	Sensibilidade (%)	28,4	(4,9, 51,8)	35,4	(3,8, 66,9)
	Especificidade (%)	95,5	(95,1, 95,9)	93,7	(93,2, 94,2)
	PPV (%)	4,5	(2,7, 7,4)	3,7	(2,3, 6,1)
	NPV (%)	99,4	(98,1, 99,8)	99,5	(97,9, 99,9)
	Prevalência (%)	0,9 (0,0, 1,9)		0,9 (0,0, 1,9)	
≥CIN3	Sensibilidade (%)	54,0	(3,6, 100)	56,4	(0,4, 100)
	Especificidade (%)	95,4	(95,0, 95,8)	93,6	(93,1, 94,1)
	PPV (%)	3,0	(1,6, 5,5)	2,3	(1,3, 4,1)
	NPV (%)	99,9	(98,3, 100)	99,9	(97,6, 100)
	Prevalência (%)	0,4 (0,0, 1,2)		0,4 (0,0, 1,3)	

Tabela 14: População NILM ≥ 30 anos: Desempenho do Aptima HPV Assay e de um teste de DNA do HPV para a detecção de $\geq$ CIN2 e $\geq$ CIN3 (estimativas não ajustadas) na linha de referência

Desempenho	Aptima HPV Assay N=818		Teste do DNA do HPV N=800*	
	Estimativa	(CI de 95%)	Estimativa	(CI de 95%)
$\geq$ CIN2	Sensibilidade (%)	70,0 (14/20)	84,2 (16/19)	(62,4, 94,5)
	Especificidade (%)	68,0 (543/798)	48,8 (381/781)	(45,3, 52,3)
	PPV (%)	5,2 (14/269)	3,8 (16/416)	(2,9, 4,5)
	NPV (%)	98,9 (543/549)	99,2 (381/384)	(98,1, 99,8)
	Prevalência (%)	2,4 (20/818)		2,4 (19/800)
$\geq$ CIN3	Sensibilidade (%)	90,9 (10/11)	90,9 (10/11)	(62,3, 98,4)
	Especificidade (%)	67,9 (548/807)	48,5 (383/789)	(45,1, 52,0)
	PPV (%)	3,7 (10/269)	2,4 (10/416)	(1,6, 2,7)
	NPV (%)	99,8 (548/549)	99,7 (383/384)	(98,9, 100)
	Prevalência (%)	1,3 (11/818)		1,4 (11/800)

*18 mulheres com resultados do Aptima HPV Assay não apresentaram resultados do teste de DNA do HPV devido, sobretudo, ao volume insuficiente do espécime citológico.

A comparação directa entre o Aptima HPV Assay no Panther System e o teste de DNA do HPV disponível no mercado demonstra uma sensibilidade semelhante e uma especificidade melhorada estatisticamente significativa do Aptima HPV Assay em relação ao teste de DNA do HPV disponível no mercado para a detecção de $\geq$ CIN2, conforme demonstrado pelas relações de taxas de resultados positivos reais e de resultados positivos falsos (Tabela 15 e Tabela 16, respectivamente).

Tabela 15: População NILM $\geq$ 30 anos: Relação de taxas de resultados positivos reais (Aptima HPV Assay/teste de DNA do HPV) para mulheres com $\geq$ CIN2 (estimativas não ajustadas) na linha de referência

		Teste do DNA do HPV		Total
		Positiva	Negativa	
Aptima HPV Assay	Positiva	13	1	14 (73,7%)
	Negativa	3	2	5
	Total	16 (84,2%)	3	19
Relação de taxas de resultados positivos reais = 0,88 (14/16) (95% CI: 0,65, 1,10)				

Tabela 16: População NILM $\geq$ 30 anos: Relação de taxas de resultados positivos falsos (Aptima HPV Assay/teste de DNA do HPV) para mulheres com $<$ CIN2 (estimativas não ajustadas) na linha de referência

		Teste do DNA do HPV		Total
		Positiva	Negativa	
Aptima HPV Assay	Positiva	223	19	242 (31,0%)
	Negativa	177	362	539
	Total	400 (51,2%)	381	781
Relação de taxas de resultados positivos falsos = 0,61 (242/400) (95% CI: 0,55, 0,66)				

População $\geq$ 30 Anos de NILM: Desempenho Clínico do Aptima HPV Assay no Panther System Após 3 anos de Acompanhamento

Haviam 10 843 mulheres com 30 ou mais anos de idade com resultados de citologia NILM e resultados válidos de Aptima HPV assay na linha de referência que eram elegíveis para a Fase de Acompanhamento. Das mulheres sem $\geq$ CIN2, 67,0% (7 247/10 823) das mulheres realizaram uma consulta de papanicolau de acompanhamento no ano 1, 60,3% (6 517/10 814) no ano 2 e 58,7% (6 339/10 807) no ano 3. Na globalidade, 58,8% (6 375/10 843) das mulheres concluíram o estudo (tinham $\geq$ CIN2 na linha de referência ou durante o acompanhamento e/ou realizaram as consultas necessárias).

Das 10 843 mulheres elegíveis, 511 (4,7%) tiveram resultados positivos no Aptima HPV assay no Panther System na linha de referência. Destas 511 mulheres, 255 (49,9%) tiveram estado positivo ou negativo de doença a 3 anos com base em resultados de citologia ou colposcopia/biopsia. As restantes 10 332 mulheres tiveram resultados negativos no Aptima

HPV assay no Panther System na linha de referência. Destas 10 332 mulheres, 5 946 (57,5%) tiveram um estado positivo ou negativo da doença a 3 anos. Das 6 201 mulheres com estado de doença a 3 anos, 47 mulheres tinham $\geq$ CIN2, incluindo 23 com $\geq$ CIN3; 6 154 mulheres tiveram normal/CIN1 pelo Painel de Revisão de Histologia de Consenso. Os resultados na linha de referência do Aptima HPV assay no Panther System e de um ensaio de DNA do HPV disponível no mercado e do estado da doença a 3 anos (inclui avaliação na linha de referência e no acompanhamento) pelo Painel de Revisão de Histologia de Consenso são apresentados na Tabela 17.

Tabela 17: População $\geq$ 30 Anos de NILM: Classificação de Mulheres Elegíveis para a Fase de Acompanhamento por Resultados no HPV Assay na Linha de Referência, Resultados de Teste de DNA do HPV na linha de referência e Estado de Doença ($\geq$ CIN2, $\geq$ CIN3, Não verificado) Determinado nas Fases de Linha de Referência e de Acompanhamento

Resultado no Aptima HPV Assay	Teste de DNA do HPV	Total de Mulheres	Estado de Doença Verificado: $\geq$ CIN2		Estado de Doença Verificado: $\geq$ CIN3		Estado de Doença Não Verificado	
			Mulheres Doentes ($\geq$ CIN2)	Mulheres Não Doentes (<CIN2)	Mulheres Doentes ($\geq$ CIN3)	Mulheres Não Doentes (<CIN3)	Perdidas para Acompanhamento	Indeterminado*
Positivo	Positivo	382	23	171	16	178	167	21
Positivo	Negativo	97	1	48	1	48	44	4
Positivo	Sem Resultado**	32	2	10	1	11	17	3
Negativo	Positivo	281	5	129	2	132	130	17
Negativo	Negativo	9 452	15	5 476	3	5 488	3 756	205
Negativo	Sem Resultado**	599	1	320	0	321	264	14
Total		10 843	47	6 154	23	6 178	4 378	264

*Mulheres que tiveram resultados anormais no teste de citologia durante o acompanhamento e que não tiveram um resultado do Painel de Revisão de Histologia de Consenso subsequente e mulheres com citologia inadequada na sua última consulta. 174 mulheres com estado indeterminado de doença concluíram o acompanhamento de acordo com o protocolo.

**631 mulheres com resultados no Aptima HPV assay não tiveram resultados no teste de DNA do HPV principalmente devido a volume insuficiente do espécime de citologia.

O risco acumulado de 3 anos de doença ($\geq$ CIN2 e $\geq$ CIN3) baseia-se na estimativa Kaplan-Meier (análise vida-tabela) e inclui doença detectada na linha de referência ou no acompanhamento. As mulheres que tinham alguma indicação de doença (ASC-US ou resultados de citologia mais graves) mas sem resultado de Painel de Revisão de Histologia de Consenso foram incluídas na análise utilizando um método de imputação múltiplo para prever o número de mulheres com doença que teriam sido identificadas se as mulheres tivessem sido submetidas a colposcopia.

As estimativas de risco absoluto e relativo acumulado de 3 anos para detecção de $\geq$ CIN2 e $\geq$ CIN3 são mostradas na Tabela 18.

Tabela 18: População ≥ 30 Anos de NILM: Riscos Absoluto e Relativo Acumulado de 3 Anos* de $\geq$ CIN2 e $\geq$ CIN3 para Resultados do Aptima HPV Assay e de um Teste de DNA do HPV na Linha de Referência

		Aptima HPV Assay		Teste de ADN HPV	
	Resultado do Ensaio	Risco Absoluto (95% CI)	Risco Relativo (95% CI)	Risco Absoluto (95% CI)	Risco Relativo (95% CI)
≥CIN2	Positivo	7,90 (5,50, 11,27)	24,45 (13,85, 43,15)	6,43 (4,50, 9,14)	22,71 (12,20, 42,30)
	Negativo	0,32 (0,21, 0,51)		0,28 (0,17, 0,47)	
	Prevalência (%)		0,68	0,68	
≥CIN3	Positivo	5,23 (3,34, 8,13)	57,11 (21,09, 154,62)	4,14 (2,62, 6,52)	51,34 (17,74, 148,58)
	Negativo	0,09 (0,04, 0,23)		0,08 (0,03, 0,22)	
	Prevalência (%)		0,34	0,35	

*Os riscos acumulados de 3 anos ajustados para outros desvios possíveis foram semelhantes aos riscos desta tabela. Devido às diferenças previstas nos riscos no ano 1 e no ano 2 para os dois grupos de mulheres no estudo de acompanhamento (mulheres com colposcopia na linha de referência e mulheres sem colposcopia na linha de referência), foi indicado apenas o risco acumulado de 3 anos para os grupos combinados.

A prevalência acumulada de 3 anos de $\geq$ CIN2 e $\geq$ CIN3 em mulheres com resultados de citologia NILM na linha de referência foi de 0,68% e 0,34%, respectivamente. O risco relativo de $\geq$ CIN2 foi de 24,45 (95% CI 13,85, 43,15), indicando que uma mulher que é positiva no Aptima HPV assay no Panther System tem 24,45 vezes mais probabilidade de ter $\geq$ CIN2 do que uma mulher que é negativa no Aptima HPV assay. O risco relativo de $\geq$ CIN3 foi de 57,11 (95% CI: 21,09, 154,62).

Desempenho clínico do Aptima HPV Assay com espécimes de citologia líquida SurePath

Foram colhidos espécimes de citologia líquida SurePath de mulheres canadianas (n=1350) encaminhadas para seguimento devido a um ou mais exames Papanicolaou anômalos, infecção por HPV ou outra razão. Uma alíquota (0,5 ml) de cada espécime foi transferida para um Tubo de Transferência de Espécimes Aptima e depois tratada com a Solução de Transferência Aptima. Uma única réplica de cada espécime foi testada com o Aptima HPV Assay. Uma alíquota individual (1 ml) de cada espécime foi retirada para ser avaliada com um teste de PCR para o HPV disponível no mercado. A sensibilidade clínica para a detecção da doença, definida como um resultado histológico $\geq$ CIN3, foi calculada tanto para o Aptima HPV Assay como para o teste de PCR para o HPV, conforme apresentada na Tabela 19, com os valores de prognóstico positivos e negativos.

Tabela 19: Desempenho do Aptima HPV Assay e de um teste de PCR para o HPV para a detecção de $\geq$ CIN3

Desempenho	Aptima HPV Assay N=1326		Teste de PCR para o HPV N=1351	
	Estimativa	(CI de 95%)	Estimativa	(CI de 95%)
Sensibilidade (%)	89,6 (69/77)	(80,8 - 94,6)	94,8 (73/77)	(87,4 - 98,0)
Especificidade (%)	57,3 (716/1249)	(54,6 - 60,0)	52,0 (663/1274)	(49,3 - 54,8)
PPV (%)	11,5 (69/602)	(10,3 - 12,4)	10,7 (73/684)	(9,8 - 11,4)
NPV (%)	98,9 (716/724)	(98,0 - 99,5)	99,4 (663/667)	(98,6 - 99,8)
Prevalência (%)	5,8 (77/1326)		5,7 (77/1351)	

Desempenho do ensaio Aptima HPV com espécimes de colheita e transporte de espécimes cervicais

Foram colhidos de 735 indivíduos espécimes citológicos de base líquida ThinPrep e espécimes do Kit Aptima CSCT. Diluiu-se um mililitro (1,0 ml) de cada espécime citológico de base líquida ThinPrep em 2,9 ml de meio de transporte de espécimes Aptima e testou-se uma única réplica com o ensaio Aptima HPV no Tigris DTS System. Foi também testada uma única réplica de cada espécime CSCT com o ensaio Aptima HPV. A percentagem de concordância do ensaio Aptima HPV entre o espécime citológico de base líquida ThinPrep e o espécime CSCT foi determinada e os resultados são apresentados na Tabela 20.

A percentagem de concordância positiva foi de 95,9% (CI de 95%: 92,6-97,8); a percentagem de concordância negativa foi de 95,5% (CI de 95%: 93,3-97,0); e a concordância geral foi de 95,6% (CI de 95%: 93,9-96,9). Observou-se uma forte correlação entre os espécimes citológicos de base líquida e os espécimes do kit de transporte ($\kappa = 0,90$).

Tabela 20: Concordância geral dos resultados do ensaio Aptima HPV de espécimes citológicos de base líquida ThinPrep e espécimes do kit de colheita e transporte de espécimes cervicais Aptima testados no Tigris DTS System

		Espécime citológico de base líquida ThinPrep		Total
		Positivo	Negativo	
Espécime do Kit Aptima CSCT	Positivo	234	22	256
	Negativo	10	469	479
	Total	244	491	735

Concordância positiva = 95,9% (92,6-97,8)

Concordância negativa = 95,5% (93,3-97,0)

Concordância geral = 95,6% (93,9-96,9)

Coefficiente kappa = 0,90

Espécimes clínicos positivos para HPV de alto risco e negativos para HPV de alto risco colhidos tanto de populações de rastreios (consulta de rotina) como de encaminhamentos (consulta para colposcopia) foram testados com o Aptima HPV Assay no Panther System e Tigris DTS System utilizando dois lotes de reagente. A concordância entre o Panther System e o Tigris DTS System para espécimes de CSCT é apresentada na Tabela 21.

No caso dos espécimes de CSCT, a concordância global entre o Panther System e o Tigris DTS System foi > 98%, como mostra a Tabela 21. Dos 632 espécimes clínicos testados, 69 foram CIN2+ e 38 CIN3+. A sensibilidade do Aptima HPV Assay para a detecção de CIN2+ foi de 97,1% (CI de 95%: 90,0%-99,2%) no Panther System e de 98,6% (CI de 95%: 92,2%-99,7%) no Tigris DTS System. A sensibilidade para a detecção de CIN3+ foi de 100% (CI: 90,8%-100%) tanto para o Panther System como para o Tigris DTS System.

Tabela 21: Concordância dos Resultados do Aptima HPV Assay Provenientes de Espécimes de Aptima CSCT Testados no Tigris DTS System e no Panther System

		Tigris DTS System		Total
		Positiva	Negativa	
Panther System	Positiva	490	3	493
	Negativa	9	130	139
	Total	499	133	632

Concordância global = 98,1% (CI 96,7-98,9)

Concordância positiva = 98,2% (CI 96,6-99,0)

Concordância negativa = 97,7% (CI 93,6-99,2)

Desempenho clínico do Aptima HPV Assay com espécimes de esfregaços Aptima Multitest

O desempenho clínico dos espécimes vaginais colhidos no Aptima Multitest Swab Specimen Collection Kit foi demonstrado num estudo realizado em mulheres com idades compreendidas entre 24 e 64 anos em Inglaterra.⁴⁵ As mulheres elegíveis (que cumpriam os critérios de inclusão e apresentavam resultados válidos de HPV colhidos pelo médico e de autocolheita) incluíam mulheres que foram encaminhadas para colposcopia para investigação adicional após um resultado positivo ou inadequado do teste de HPV colhido pelo médico no rastreio primário ou na recolha precoce, no máximo, 8 semanas (≤ 56 dias) antes da colposcopia (n=78) e as que tinham idades compreendidas entre 24 e 64 anos e cujo rastreio de rotina do cancro do colo do útero estava previsto ou em atraso (n=903).

Foram colhidas uma amostra de autocolheita e uma amostra colhida pelo médico de cada participante no estudo. Os espécimes vaginais colhidos com o Aptima Multitest Swab Specimen Collection Kit foram pré-aquecidos a 90 °C durante 75 minutos e deixados arrefecer antes de serem processados no Panther System.

A sensibilidade relativa condicional das amostras de autocolheita foi definida como a proporção de casos de CIN2+ detetados através de uma amostra positiva colhida pelo médico que também apresentava um resultado positivo no teste de HPV numa amostra de autocolheita obtida durante uma consulta de colposcopia de rotina.

Para a especificidade relativa condicional em mulheres sem CIN2+, o número de mulheres no contexto de rastreio primário com um resultado negativo do teste da amostra de autocolheita obtida numa consulta de rastreio de rotina foi comparado com o número de mulheres com um teste negativo na amostra emparelhada colhida pelo médico.

A sensibilidade relativa condicional estimada para neoplasia intraepitelial cervical de alto grau (CIN2+) foi de 0,92 (0,86-0,96) e para CIN3+ foi de 1 (0,92-1,00). A estimativa da especificidade relativa para CIN2+ foi de 0,87 (0,85-0,89).

Limite de detecção (LoD) em espécimes cervicais no cutoff clínico

O limite de detecção (Limit of Detection, LoD) no “cutoff” clínico consiste numa concentração de RNA do HPV que é positiva (acima do “cutoff” clínico) 95% das vezes. O LoD do Aptima HPV Assay foi determinado testando painéis de diluição de transcritos in vitro (IVTs) para os 14 genótipos de alto risco e 4 linhas celulares infectadas por HPV: SiHa, HeLa, MS751 e ME180 (ATCC, Manassas, Virgínia). No caso dos painéis de IVT, o meio de transporte de espécimes foi aditivado com IVT com várias concentrações e depois diluído com espécimes de citologia líquida ThinPrep individuais negativos antes de serem realizados testes. No caso de painéis de células infectadas com HPV, grupos de espécimes de citologia líquida ThinPrep negativos para HPV foram aditivados com células infectadas com HPV com várias concentrações e depois diluídos com meio de transporte de espécimes antes de serem realizados testes. Trinta réplicas de cada nível de cópias foram testadas com cada um de dois lotes de reagente para um total de 60 réplicas. Realizaram-se testes durante 17 dias, com 1 a 12 execuções por dia e 5 réplicas de um dado genótipo, com testes de concentração em cada execução. O limite de detecção de 95% foi calculado a partir da análise de regressão Probit dos resultados de positividade para cada painel de diluição.

Os resultados da análise Probit, Tabela 22, mostram que os tipos 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 56, 59 e 68 de HPV tinham limites de detecção de 95% inferiores a 100 cópias/reacção, tendo os tipos 52, 58 e 66 limites de detecção de 95% entre 100 e 500 cópias/reacção. As quatro linhas celulares testadas tinham limites de detecção de 95% inferiores a 1 célula/reacção.

Tabela 22: Limite de detecção em amostras cervicais colhidas por médicos no "cutoff" clínico

Alvo	Limite de detecção* (CI de 95%)
HPV 16	49,4 (37,1 - 73,0)
HPV 18	44,0 (34,4 - 62,1)
HPV 31	32,5 (23,2 - 52,1)
HPV 33	67,5 (48,8 - 106,2)
HPV 35	32,7 (23,6 - 51,4)
HPV 39	20,9 (16,3 - 29,5)
HPV 45	37,1 (27,9 - 54,7)
HPV 51	51,1 (36,3 - 83,9)
HPV 52	410,2 (310,7 - 595,1)
HPV 56	59,4 (46,7 - 81,5)
HPV 58	124,1 (90,7 - 190,1)
HPV 59	81,1 (61,9 - 116,6)
HPV 66	118,5 (83,2 - 202,0)
HPV 68	22,4 (17,1 - 32,4)
SiHa	0,25 (0,19 - 0,36)
HeLa	0,11 (0,09 - 0,14)
ME180	0,10 (0,08 - 0,16)
MS751	0,17 (0,14 - 0,25)

*Cópias por reação para IVTs e células por reação para linhas celulares

Limite de detecção (LoD) em espécimes vaginais no cutoff clínico

O LoD do Aptima HPV Assay foi determinado testando painéis de diluição de IVTs para os 14 genótipos de alto risco e 4 linhas celulares infectadas por HPV (SiHa, HeLa, ME180 e MS751) na matriz de espécimes vaginais de autocolheita agrupados e negativos para HPV. Cada grupo negativo da matriz de espécimes de esfregaço vaginal foi enriquecido com concentrações-alvo inferiores, iguais e superiores ao LoD. Foram testadas vinte réplicas de cada concentração com cada um dos 2 lotes de reagentes, utilizando 2 Panther/Panther Fusion Systems. O LoD no "cutoff" clínico foi definido como a concentração de RNA do HPV que originou um resultado positivo em pelo menos 95% das vezes.

A Tabela 2 lista o LoD estabelecido a partir do lote de reagentes que produziu o LoD mais conservador (mais elevado) com um intervalo de confiança de 95% bilateral. HPV 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 66 e 68 apresentaram limites de detecção de 95% inferiores a 100 cópias/reação; HPV 52, 56, 58 e 59 apresentaram limites de detecção de 95% entre 100 e 600 cópias/reação. As 4 linhas celulares têm um limite de detecção de 95% igual a 1 ou inferior a 1 célula/reação.

Tabela 23: Limite de detecção em espécimes vaginais de autocolheita no cutoff clínico

Alvo	Limite de detecção*	IC de 95%
HPV 16	50	76,4%–99,1%
HPV 18	75	83,9%–100%
HPV 31	30	76,4%–99,1%
HPV 33	30	76,4%–99,1%
HPV 35	5	76,4%–99,1%
HPV 39	5	83,9%–100%
HPV 45	30	76,4%–99,1%
HPV 51	30	76,4%–99,1%
HPV 52	600	76,4%–99,1%
HPV 56	100	83,9%–100%
HPV 58	100	83,9%–100%
HPV 59	100	76,4%–99,1%
HPV 66	50	76,4%–99,1%
HPV 68	10	76,4%–99,1%
SiHa	1	83,9%–100%
HeLa	0,2	76,4%–99,1%
ME180	0,03	83,9%–100%
MS751	0,1	76,4%–99,1%

*Cópias por reação para IVTs e células por reação para linhas celulares

Precisão do Ensaio

A precisão do Aptima HPV Assay foi avaliada em dois estudos utilizando o mesmo painel de 20 membros. O Estudo 1 decorreu em 3 locais, 2 externos e 1 interno, e o Estudo 2 decorreu internamente. O painel incluiu 13 membros positivos para HPV com concentrações iguais ou superiores ao limite de detecção do ensaio (positividade prevista: $\geq 95\%$), 3 membros positivos para HPV com concentrações abaixo do limite de detecção do ensaio (positividade prevista: $>0\%$ a $<25\%$) e 4 membros negativos para HPV. Os membros do painel positivos para HPV foram preparados aditivando transcritos de RNA *in vitro* (IVT) a solução PreservCyt diluída com meio de transporte de espécimes (specimen transport medium, STM) ou células cultivadas infectadas pelo HPV (SiHa, HeLa e MS751; ATCC, Manassas, Virgínia) a espécimes de citologia líquida ThinPrep negativos agrupados e diluídos com STM. Os membros do painel negativos para HPV foram preparados com solução PreservCyt ou espécimes de citologia líquida ThinPrep negativos agrupados e diluídos com STM.

No Estudo 1, 2 operadores em cada um dos 3 locais de teste (1 instrumento por local) efectuaram 2 listas de trabalho do Aptima HPV Assay por dia (1 com cada lote de reagente) durante 3 dias. Cada lista de trabalho continha 3 réplicas de cada um dos membros do painel de reprodutibilidade. Foram testados cento e oito (108) tubos de amostra individuais para cada membro do painel (3 locais x 1 instrumento x 2 operadores x 2 lotes x 3 listas de trabalho x 3 réplicas). No Estudo 2, os testes foram efectuados internamente durante 13 dias, com um total de 162 reacções testadas para cada membro do painel (1 local x 3 instrumentos x 3 operadores x 3 lotes x 2 listas de trabalho x 3 réplicas).

Os membros do painel são descritos na Tabela 24a (membros do painel com resultados esperados positivos) e Tabela 24b (membros do painel com resultados esperados negativos), juntamente com um resumo da concordância com os resultados esperados e os valores de S/CO do analito nos percentis 2,5, 50 e 97,5 da distribuição de S/CO. A variabilidade do S/CO do analisado para os membros do painel com resultados esperados positivos é apresentada na Tabela 25 para o Estudo 1 e na Tabela 26 para o Estudo 2

Tabela 24a: Precisão do Aptima HPV Assay nos Estudos 1 e 2: Descrição do painel, concordância positiva e percentil de distribuição dos valores de S/CO do analito para os membros do painel com resultados positivos esperados

Descrição do painel (cópias ou células/reação)	Estudo 1 (3 locais de teste)				Estudo 2 (1 local de teste)			
	% de concordância positiva (CI de 95%)	Percentil de S/CO do analisado			% de concordância positiva (CI de 95%)	Percentil de S/CO do analisado		
		2,5	50	97,5		2,5	50	97,5
Amostra clínica positiva alta 1 do HPV	100 (107/107) (96,5, 100)	21,16	29,64	33,63	100 (161/161) (97,7, 100)	22,50	26,84	30,67
Amostra clínica positiva alta 2 do HPV	100 (107/107) (96,5, 100)	25,98	29,77	36,03	100 (162/162) (97,7, 100)	25,00	28,61	33,99
IVT de HPV 16 (1830 cópias)	100 (107/107) (96,5, 100)	10,45	11,18	12,40	100 (161/161) (97,1, 100)	10,40	11,07	11,75
IVT de HPV 18 (1550 cópias)	100 (107/107) (96,5, 100)	13,09	14,55	18,08	100 (162/162) (97,7, 100)	11,26	13,47	15,63
Amostra clínica positiva baixa 1 do HPV	94,4 (101/107) (88,3, 97,4)	0,00	9,93	11,03	89,5 (145/162) (83,3, 93,3)	0,00	9,53	10,95
Amostra clínica positiva baixa 2 do HPV	88,0 (95/108) (80,5, 92,8)	0,00	7,30	16,63	92,0 (149/162) (86,8, 95,3)	0,00	7,56	19,67
Amostra clínica positiva baixa 3 do HPV	100 (108/108) (96,6, 100)	2,80	10,19	17,08	97,5 (157/161) (93,8, 99,0)	1,14	9,53	15,38
Amostra clínica positiva baixa 4 do HPV	90,7 (98/108) (83,8, 94,9)	0,00	4,48	11,16	92,6 (150/162) (87,5, 95,7)	0,00	4,66	12,00
IVT de HPV 16 (183 cópias)	100 (102/102) (96,4, 100)	10,03	11,14	11,97	100 (162/162) (97,7, 100)	10,24	11,05	11,85
IVT de HPV 18 (155 cópias)	100 (108/108) (96,6, 100)	4,87	12,01	15,21	100 (159/159) (97,6, 100)	7,82	11,59	13,84
Células MS751 (0,63 células)	100 (108/108) (96,6, 100)	5,90	10,99	14,00	100 (162/162) (97,7, 100)	5,61	10,14	12,26
Células HeLa (0,35 células)	100 (108/108) (96,6, 100)	1,43	6,19	13,28	100 (162/162) (97,7, 100)	3,24	7,88	12,58
Células SiHa (0,90 células)*	87,9 (94/107) (80,3, 92,8)	0,00	9,80	11,04	89,5 (145/162) (83,8, 93,3)	0,00	9,19	10,94

IVT = transcrito *in vitro*

*A % esperada de concordância positiva foi de ~95%; observou-se um valor mais baixo possivelmente devido à variabilidade de fabrico do membro do painel.

Tabela 24b: Precisão do Aptima HPV Assay nos Estudos 1 e 2: Descrição do painel, concordância negativa e percentil de distribuição dos valores de S/CO do analito para os membros do painel com resultados negativos esperados

Descrição do painel (cópias ou células/reacção)	Estudo 1 (3 locais de teste)				Estudo 2 (1 local de teste)			
	% de concordância negativa (CI de 95%)	Percentil de S/CO do analisado			% de concordância negativa (CI de 95%)	Percentil de S/CO do analisado		
		2,5	50	97,5		2,5	50	97,5
Células MS751 (0,005 células)	87,0 (94/108) (79,4, 92,1)	0,00	0,00	4,37	93,8 (152/162) (89,0, 96,6)	0,00	0,00	2,25
Células SiHa (0,008 células)	97,2 (105/108) (92,1, 99,1)	0,00	0,00	1,53	95,7 (155/162) (91,4, 97,9)	0,00	0,00	7,56
Células HeLa (0,02 células)	70,4 (76/108) (61,2, 78,2)	0,00	0,00	3,95	67,3 (109/162) (59,8, 74,0)	0,00	0,12	6,35
Amostra clínica 1 negativa para HPV	99,1 (107/108) (94,9, 99,8)	0,00	0,00	0,33	100 (162/162) (97,7, 100)	0,00	0,00	0,07
Amostra clínica 2 negativa para HPV	97,2 (105/108) (92,1, 99,1)	0,00	0,00	1,21	100 (162/162) (97,7, 100)	0,00	0,00	0,05
Solução PreservCyt 1	99,1 (107/108) (94,9, 99,8)	0,00	0,00	0,15	100 (162/162) (97,7, 100)	0,00	0,00	0,06
Solução PreservCyt 2	99,1 (107/108) (94,9, 99,8)	0,00	0,00	0,22	100 (161/161) (97,7, 100)	0,00	0,00	0,09

Tabela 25: Precisão do Aptima HPV Assay no Estudo 1: Variabilidade do sinal para os membros do painel com resultados positivos esperados

Descrição do painel (cópias ou células/reacção)	n	S/CO Média	Entre instrumentos		Entre operadores		Entre lotes		Entre listas de trabalho		Nas próprias listas de trabalho		Total	
			DP	CV (%)	DP	CV (%)	DP	CV (%)	DP	CV (%)	DP	CV (%)	DP	CV (%)
Amostra clínica positiva alta 1 do HPV	107*	29,34	0,00	0,0	0,00	0,0	1,43	4,9	1,87	6,4	1,49	5,1	2,79	9,5
Amostra clínica positiva alta 2 do HPV	107*	30,09	0,55	1,8	0,00	0,0	1,06	3,5	0,73	2,4	2,21	7,3	2,61	8,7
IVT de HPV 16 (1830 cópias)	107*	11,20	0,09	0,8	0,16	1,4	0,03	0,3	0,14	1,3	0,46	4,1	0,52	4,6
IVT de HPV 18 (1550 cópias)	107*	14,89	0,18	1,2	0,00	0,0	0,20	1,3	0,14	0,9	1,53	10,3	1,56	10,5
Amostra clínica positiva baixa 1 do HPV	107*	8,24	0,00	0,0	0,00	0,0	0,00	0,0	0,00	0,0	3,23	39,2	3,23	39,2
Amostra clínica positiva baixa 2 do HPV	108	7,07	0,00	0,0	0,41	5,8	0,00	0,0	0,00	0,0	4,57	64,7	4,59	65,0
Amostra clínica positiva baixa 3 do HPV	108	10,23	0,26	2,5	0,00	0,0	0,00	0,0	1,32	12,9	3,23	31,6	3,49	34,2
Amostra clínica positiva baixa 4 do HPV	108	4,68	0,50	10,7	0,20	4,2	0,00	0,0	0,99	21,1	3,02	64,6	3,22	68,9
IVT de HPV 16 (183 cópias)	102*	11,09	0,08	0,7	0,00	0,0	0,00	0,0	0,26	2,3	0,54	4,9	0,61	5,5
IVT de HPV 18 (155 cópias)	108	11,78	0,00	0,0	0,43	3,7	0,00	0,0	1,12	9,5	1,97	16,7	2,30	19,6
Células MS751 (0,63 células)	108	10,73	0,00	0,0	0,59	5,5	0,72	6,7	0,82	7,6	1,86	17,3	2,23	20,8
Células HeLa (0,35 células)	108	6,78	0,00	0,0	0,56	8,3	0,00	0,0	1,23	18,2	3,08	45,5	3,37	49,7
Células SiHa (0,90 células)	107*	7,74	0,37	4,8	0,00	0,0	0,00	0,0	0,00	0,0	3,85	49,8	3,87	50,1

CV = coeficiente de variação; IVT = transcrito *in vitro*; DP = desvio padrão

*Doze amostras apresentaram resultados do Aptima HPV Assay inválidos (1 para a amostra clínica positiva alta 1 do HPV, 1 para a amostra clínica positiva alta 2 do HPV, 1 para IVT de HPV 16 [1830 cópias], 1 para IVT de HPV 18 [1550 cópias], 1 para a amostra clínica positiva baixa 1 do HPV, 6 para IVT de HPV 16 [183 cópias] e 1 para células SiHa [0,90 células]).

Nota: A variabilidade de alguns factores pode ser numericamente negativa. Tal pode ocorrer se a variabilidade provocada por esses factores for muito diminuta. Nestes casos, DP e CV são apresentados como 0.

Tabela 26: Precisão do Aptima HPV Assay no Estudo 2: Variabilidade do sinal para os membros do painel com resultados positivos esperados

Descrição do painel (cópias ou células/reacção)	n	S/CO Média	Entre instrumentos		Entre operadores		Entre lotes		Entre listas de trabalho		Nas próprias listas de trabalho		Total	
			DP	CV (%)	DP	CV (%)	DP	CV (%)	DP	CV (%)	DP	CV (%)	DP	CV (%)
Amostra clínica positiva alta 1 do HPV	161*	26,81	0,75	2,8	0,00	0,0	0,91	3,4	0,48	1,8	1,84	6,9	2,24	8,3
Amostra clínica positiva alta 2 do HPV	162	28,83	0,00	0,0	0,00	0,0	0,96	3,3	0,65	2,3	2,35	8,2	2,62	9,1
IVT de HPV 16 (1830 cópias)	161*	11,07	0,14	1,2	0,00	0,0	0,05	0,5	0,16	1,4	0,32	2,9	0,39	3,5
IVT de HPV 18 (1550 cópias)	162	13,34	0,14	1,1	0,12	0,9	1,00	7,5	0,31	2,3	0,75	5,6	1,31	9,8
Amostra clínica positiva baixa 1 do HPV	162	7,57	0,56	7,5	0,55	7,3	0,63	8,3	0,00	0,0	3,61	47,7	3,75	49,5
Amostra clínica positiva baixa 2 do HPV	162	7,59	0,00	0,0	0,00	0,0	0,00	0,0	0,00	0,0	5,25	69,2	5,25	69,2
Amostra clínica positiva baixa 3 do HPV	161*	8,83	0,00	0,0	0,00	0,0	0,26	3,0	0,00	0,0	3,48	39,4	3,49	39,5
Amostra clínica positiva baixa 4 do HPV	162	4,95	0,00	0,0	0,00	0,0	0,75	15,2	0,00	0,0	3,35	67,6	3,43	69,3
IVT de HPV 16 (183 cópias)	162	11,02	0,13	1,2	0,11	1,0	0,12	1,1	0,13	1,2	0,54	4,9	0,59	5,4
IVT de HPV 18 (155 cópias)	159*	11,40	0,16	1,4	0,17	1,5	1,21	10,6	0,23	2,0	1,17	10,3	1,72	15,0
Células MS751 (0,63 células)	162	9,87	0,76	7,7	0,00	0,0	0,65	6,6	0,65	6,6	1,41	14,3	1,85	18,7
Células HeLa (0,35 células)	162	7,80	0,55	7,0	0,00	0,0	0,85	10,9	0,00	0,0	2,44	31,3	2,65	33,9
Células SiHa (0,90 células)	162	7,30	0,32	4,3	0,00	0,0	0,93	12,7	1,04	14,3	3,49	47,8	3,77	51,7

CV = coeficiente de variação; IVT = transcrito *in vitro*; DP = desvio padrão

*Seis amostras apresentaram resultados do Aptima HPV Assay inválidos (1 para amostra clínica positiva alta 1 do HPV, 1 para IVT de HPV 16 [1830 cópias], 1 para amostra clínica positiva baixa 3 do HPV, 3 para IVT de HPV 18 [155 cópias]).

Nota: A variabilidade de alguns factores pode ser numericamente negativa. Tal pode ocorrer se a variabilidade provocada por esses factores for muito diminuta. Nestes casos, DP e CV são apresentados como 0.

Reatividade cruzada

Nota: Os testes de organismos potencialmente com reatividade cruzada para o ensaio Aptima HPV foram realizados utilizando o Tigris DTS System. O ensaio Aptima HPV foi lançado pela primeira vez no Tigris DTS System, em 2008. Em 2011, as indicações alargaram-se à utilização do ensaio Aptima HPV no Panther System. O Panther System é uma plataforma de instrumentos mais pequena, que é uma alternativa ao Tigris DTS System. Os sistemas destinam-se ambos a automatizar totalmente os testes de ácidos nucleicos dos ensaios de diagnóstico. Os testes de desempenho do ensaio seleccionados concluídos no Tigris DTS System foram aproveitados para apoiar o desempenho do ensaio no Panther System.

A especificidade analítica do ensaio Aptima HPV foi avaliada com meios de solução PreservCyt diluídos a 1:2.9 no STM e enriquecidos com bactérias, leveduras ou fungos em cultura, vírus em cultura ou transcritos *in vitro* de HPV de baixo risco. Os organismos e as concentrações de teste estão identificados na Tabela 27. Os critérios do estudo para a avaliação do efeito da presença de microrganismos na especificidade do ensaio basearam-se na positividade. Foi observada reatividade cruzada com os genótipos de HPV de baixo risco 26, 67, 70, e 82, mas não com qualquer um dos outros organismos testados.

Tabela 27: Pannel de especificidade analítica: Organismos e concentração sem reatividade cruzada

Organismo	Concentração de teste sem reatividade cruzada	Organismo	Concentração de teste sem reatividade cruzada
Bactéria			
<i>Acinetobacter lwoffii</i>	1x10 ⁸ CFU/ml	<i>Lactobacillus mucosae</i> *	1x10 ⁶ CFU/ml
<i>Actinomyces israelii</i>	1x10 ⁸ CFU/ml	<i>Leptotrichia buccalis</i> *	1x10 ⁶ CFU/ml
<i>Alcaligenes faecalis</i>	1x10 ⁸ CFU/ml	<i>Listeria monocytogenes</i>	1x10 ⁸ CFU/ml
<i>Atopobium vaginae</i>	5x10 ⁷ CFU/ml	<i>Micrococcus luteus</i>	1x10 ⁸ CFU/ml
<i>Bacillus cereus</i>	1x10 ⁸ CFU/ml	<i>Mobiluncus curtisii</i>	2x10 ⁷ CFU/ml
<i>Bacteroides fragilis</i>	1x10 ⁸ CFU/ml	<i>Mycobacterium smegmatis</i>	1x10 ⁸ CFU/ml
<i>Bacteroides ureolyticus</i>	1x10 ⁸ CFU/ml	<i>Mycoplasma fermentans</i>	5x10 ⁷ CFU/ml
<i>Bifidobacterium adolescentis</i>	1x10 ⁸ CFU/ml	<i>Mycoplasma genitalium</i>	1x10 ⁸ CFU/ml
<i>Bifidobacterium breve</i>	1x10 ⁸ CFU/ml	<i>Mycoplasma hominis</i>	5x10 ⁷ CFU/ml
<i>Bifidobacterium longum</i> *	1x10 ⁸ CFU/ml	<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	1x10 ⁸ CFU/ml
<i>Campylobacter fetus-fetus</i>	1x10 ⁸ CFU/ml	<i>Neisseria gonorrhoeae</i> e <i>Chlamydia trachomatis</i>	2,5x10 ⁷ CFU/ml 2,3x10 ⁵ TCID ₅₀ /ml
<i>Campylobacter jejuni</i> *	1x10 ⁸ CFU/ml	<i>Neisseria meningitidis</i>	1x10 ⁸ CFU/ml
<i>Chlamydia trachomatis</i>	3,2x10 ⁵ TCID ₅₀ /ml	<i>Peptoniphilus lacrimalis</i>	1x10 ⁸ CFU/ml
<i>Clostridium difficile</i>	6x10 ⁷ CFU/ml	<i>Peptostreptococcus anaerobius</i>	1x10 ⁸ CFU/ml
<i>Clostridium perfringens</i>	1x10 ⁸ CFU/ml	<i>Prevotella bivia</i> *	1x10 ⁸ CFU/ml
<i>Corynebacterium genitalium</i>	1x10 ⁸ CFU/ml	<i>Propionibacterium acnes</i>	1x10 ⁸ CFU/ml
<i>Corynebacterium xerosis</i>	1x10 ⁸ CFU/ml	<i>Proteus mirabilis</i>	1x10 ⁸ CFU/ml
<i>Eggerthella lenta</i> *	1x10 ⁸ CFU/ml	<i>Proteus vulgaris</i>	1x10 ⁸ CFU/ml
<i>Enterobacter cloacae</i>	1x10 ⁸ CFU/ml	<i>Providencia stuartii</i>	1x10 ⁸ CFU/ml
<i>Enterococcus faecalis</i>	1x10 ⁸ CFU/ml	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	1x10 ⁸ CFU/ml
<i>Escherichia coli</i>	1x10 ⁸ CFU/ml	<i>Ruminococcus productus</i>	1x10 ⁸ CFU/ml
<i>Fingoldia magna</i>	1x10 ⁸ CFU/ml	<i>Serratia marcescens</i>	1x10 ⁸ CFU/ml
<i>Fusobacterium nucleatum</i>	1x10 ⁸ CFU/ml	<i>Sneathia amnii</i> *	1x10 ⁸ CFU/ml
<i>Gardnerella vaginalis</i>	1x10 ⁸ CFU/ml	<i>Staphylococcus aureus</i>	1x10 ⁸ CFU/ml
<i>Haemophilus ducreyi</i>	1x10 ⁸ CFU/ml	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	1x10 ⁸ CFU/ml
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	1x10 ⁸ CFU/ml	<i>Staphylococcus saprophyticus</i>	1x10 ⁸ CFU/ml
<i>Lactobacillus acidophilus</i>	1x10 ⁸ CFU/ml	<i>Streptococcus agalactiae</i>	1x10 ⁸ CFU/ml
<i>Lactobacillus crispatus</i>	1x10 ⁸ CFU/ml	<i>Streptococcus pyogenes</i>	1x10 ⁸ CFU/ml

Tabela 27: Painel de especificidade analítica: Organismos e concentração sem reatividade cruzada (continuação)

Organismo	Concentração de teste sem reatividade cruzada	Organismo	Concentração de teste sem reatividade cruzada
<i>Lactobacillus delbrueckii</i> ssp. <i>bulgaricus</i>	1x10 ⁸ CFU/ml	<i>Streptococcus sanguinis</i>	1x10 ⁸ CFU/ml
<i>Lactobacillus gasseri</i> *	1x10 ⁶ CFU/ml	<i>Ureaplasma parvum</i> *	1x10 ⁶ genômica cópias/ml
<i>Lactobacillus iners</i> *	1x10 ⁶ CFU/ml	<i>Ureaplasma urealyticum</i>	1x10 ⁸ CFU/ml
<i>Lactobacillus jensenii</i>	1x10 ⁸ CFU/ml		
Leveduras/protozoários			
<i>Candida albicans</i>	1x10 ⁶ CFU/ml	<i>Pichia fermentans</i> *	1x10 ⁶ CFU/ml
<i>Cryptococcus neoformans</i> *	1x10 ⁶ CFU/ml	<i>Trichomonas tenax</i> *	1x10 ⁶ células/ml
<i>Pentatrichomonas hominis</i> *	1x10 ⁵ células/ml	<i>Trichomonas vaginalis</i>	1x10 ⁷ células/ml
Vírus			
Adenovírus 2	1x10 ⁷ vp/ml	Vírus herpes simplex 1	2,5x10 ⁵ TCID ₅₀ /ml
Adenovírus 40*	1x10 ⁵ cópias genômicas/ml	Vírus herpes simplex 2	5x10 ⁴ TCID ₅₀ /ml
Cytomegalovírus	5,6x10 ² TCID ₅₀ /ml	HIV-1	1,0x10 ⁶ cópias/ml
Vírus Epstein-Barr	4,3x10 ⁶ vp/ml	SV40	1,2x10 ⁴ TCID ₅₀ /ml
Genótipos de HPV não visados			
HPV 6	2,5x10 ⁶ cópias/ml	HPV 61	2,5x10 ⁶ cópias/ml
HPV 11	2,5x10 ⁶ cópias/ml	HPV 67	1 cópia/ml
HPV 26	2,5 cópias/ml	HPV 69	2,5x10 ⁶ cópias/ml
HPV 30	2,5x10 ⁶ cópias/ml	HPV 70	1 cópia/ml
HPV 34	2,5x10 ⁶ cópias/ml	HPV 71	2,5x10 ⁶ cópias/ml
HPV 42	2,5x10 ⁶ cópias/ml	HPV 73	2,5x10 ⁶ cópias/ml
HPV 43	2,5x10 ⁶ cópias/ml	HPV 81	2,5x10 ⁶ cópias/ml
HPV 44	2,5x10 ⁶ cópias/ml	HPV 82	1 cópia/ml
HPV 53	2,5x10 ⁶ cópias/ml	HPV 85	2,5x10 ⁶ cópias/ml
HPV 54	2,5x10 ⁶ cópias/ml		

vp = partículas virais; CFU = unidades formadoras de colônias; TCID₅₀ = dose infecciosa de cultura do tecido 50

Nota: A negrito encontram-se os tipos em que foi observada reatividade cruzada (> 5% positividade) a concentrações superiores às indicadas na tabela.

*Foram avaliados organismos adicionais quanto à reatividade cruzada e interferência microbiana em amostras vaginais de autocolheita. Um painel constituído por 15 organismos foi testado em STM na ausência ou na presença de células SiHa a 3X LoD. Não foi observada qualquer reatividade cruzada ou interferência microbiana em nenhum dos organismos às concentrações listadas.

**Não foi observada reatividade cruzada para *Trichomonas tenax*. Embora se tenha mantido uma positividade de 100% para o alvo de HPV (células SiHa a 3X LoD) na presença de *Trichomonas tenax*, observou-se uma redução nos valores de S/CO, que recuperaram após novo teste a 1x10⁵ células/ml.

A sensibilidade analítica do ensaio Aptima HPV na presença de microrganismos foi avaliada com o mesmo painel descrito na Tabela 27 que foi também aditivado com uma baixa concentração de células SiHa infetadas com HPV (1 célula por reação). Os critérios do

estudo para a avaliação do efeito da presença de microrganismos na sensibilidade do ensaio basearam-se na positividade. A sensibilidade do ensaio Aptima HPV não foi afetada por nenhum dos organismos testados.

Interferência

Nota: Os testes com potenciais substâncias interferentes para o Aptima HPV Assay foram realizados utilizando o Tigris DTS System. O Aptima HPV Assay foi lançado pela primeira vez no Tigris DTS System, em 2008. Em 2011, as indicações alargaram-se à utilização do Aptima HPV Assay no Panther System. O Panther System é uma plataforma de instrumentos alternativa e mais pequena em comparação com o Tigris DTS System. Os sistemas destinam-se ambos a automatizar totalmente os testes de ácidos nucleicos amplificados dos ensaios de diagnóstico. Determinados testes de desempenho do ensaio concluídos no Tigris DTS System foram aproveitados para apoiar o desempenho do ensaio no Panther System.

As substâncias descritas na Tabela 28 foram aditivadas individualmente em solução PreservCyt a 1% e 10% v/v ou p/v, diluídas com STM e, posteriormente, testadas com o ensaio Aptima HPV. Todas as substâncias foram testadas na presença e na ausência de células cultivadas infetadas pelo HPV (SiHa, 3 células/reação). Foi observada interferência com dois dos sete lubrificantes que continham Poliquatérnio 15 e um dos cinco medicamentos antifúngicos que continham tioconazol. Não foi observada interferência com qualquer outra das substâncias testadas.

Tabela 28: Substâncias testadas relativamente a possível interferência com o ensaio Aptima HPV

Categoria do produto	Marca ou tipo de produto	Concentração mais elevada* testada que não interferiu com desempenho do ensaio
Lubrificante	KY Sensual Mist	10% v/v
	KY Warming Jelly	10% p/v
	KY Warming Liquid	10% v/v
	Lubrificante pessoal, marca CVS	10% p/v
	Loção aquecedora para massagem e lubrificante pessoal, Target Brand	10% v/v
	Astroglide Personal Lubricant	0,3% p/v (0,075% p/v da amostra testada)
	Target Brand Lubricating Liquid	0,1% v/v (0,025% v/v da amostra testada)
Espermicida	Gynol II Vaginal Contraceptive Original Formula	10% p/v
	Gynol II Vaginal Contraceptive Extra Strength	10% p/v
	Delfen Vaginal Contraceptive Foam	10% p/v
	Encare Vaginal Contraceptive	10% p/v
	Conceptrol Vaginal Contraceptive	10% p/v
Medicação antifúngica/ anticonicção	Vagisil Maximum Strength	10% p/v
	Monistat Soothing Care	10% p/v
	Monistat 3 Combination Pack	10% p/v
	Target Brand Tioconazole 1	0,3% p/v (0,075% p/v da amostra testada)
	Target Brand Miconazole 3	10% p/v
Gel antibiótico†	Metronidazol gel	123 µg/ml
Creme antiviral†	Zovirax (aciclovir) creme	66 µg/ml
	Abreva Cold Sore Cream	5% p/v
Creme para hemorroidas†	Anusol Hemorrhoid Cream††	1% p/v
	Preparation H Hemorrhoid Cream	5% p/v
Creme esteroide†	Cortizone-10 Max Strength Itch Relief Cream	5% p/v
Duche†	Dynarex Povidone-Iodine Prep Antiseptic Solution	5% v/v
	Summer's Eve Vaginal Douche, Extra Cleansing Vinegar and Water	5% v/v
	Summer's Eve Odor Reduction Douche	5% p/v
Produto de limpeza feminina†	Summer's Eve Cleansing Wash	5% v/v
	Vagisil Dry Wash	5% v/v
Gel eliminador de odores†	RepHresh Odor Eliminating Gel	5% v/v
Desinfetante de mãos†	Germ-X Hand Sanitizer	5% p/v
Sabonete de mãos†	Dial Antibacterial Liquid Hand Soap	5% p/v
	Method Gel Hand Soap	5% p/v
Loção†	NIVEA Body Lotion	5% p/v

Tabela 28: Substâncias testadas relativamente a possível interferência com o ensaio Aptima HPV (*continuação*)

Categoria do produto	Marca ou tipo de produto	Concentração mais elevada* testada que não interferiu com desempenho do ensaio
	CeraVe Moisturizing Lotion	5% p/v
Protetor solar[†]	Neutrogena Sunscreen Lotion	5% p/v
	NIVEA Moisturizing Sun Lotion	5% p/v
	Coppertone Sport Mineral Sunscreen Lotion ^{**}	2,5% p/v
Ácido acético glacial	EMD M/N AX0073-11	10% v/v
Sangue total	Sangue total	10% v/v
Muco[†]	Mucina de suínos ^{**}	2,5% p/v
Hormonas intravaginais[†]	Estradiol (estrogénio)	7,5 pg/ml
	Progesterona	0,18 mg/ml
Fluido seminal[†]	Fluido seminal	5% v/v
Leucócitos[†]	Leucócitos	1x10 ⁶ células/ml

*Concentração no espécime em solução PreservCyt; a concentração da amostra de ensaio é 1/4 da concentração devido à transferência do espécime em solução PreservCyt para o tubo de transferência contendo STM.

**Lubrificantes pessoais que contêm Poliquatérnio 15.

[†]Foram avaliadas outras substâncias quanto à interferência em espécimes vaginais de autocolheita. Um painel constituído por 15 substâncias foi testado em STM na ausência ou na presença de células SiHa a 3X LoD.

^{**}Foi observada interferência com as seguintes substâncias quando presentes em concentrações superiores às especificadas: creme para hemorroidas (contendo óxido de zinco, óxido de bismuto e bálsamo do Peru) a 1% p/v, protetor solar (contendo óxido de zinco) a 2,5% p/v e muco a 2,5% p/v.

Bibliografia

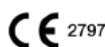
1. **Doorbar, J.** 2006. Molecular biology of human papillomavirus infection and cervical cancer. *Clin Sci (Lond)*. **110(5)**:525-41.
2. **Monsonogo J., F.X. Bosch, P. Coursaget, J.T. Cox, E. Franco, I. Frazer, R. Sankaranarayanan, J. Schiller, A. Singer, T.C. Wright Jr, W. Kinney, C.J. Meijer, J. Linder, E. McGoogan, and C. Meijer.** 2004. Cervical cancer control, priorities and new directions. *Int J Cancer*. **108(3)**:329-33. Erratum in: *Int J Cancer*. **108(6)**:945.
3. **Walboomers, J. M., M.V. Jacobs, M.M. Manos, F.X. Bosch, J.A. Kummer, K.V. Shah, P.J. Snijders, J. Peto, C. J. Meijer, N. Muñoz.** 1999. Human papillomavirus is a necessary cause of invasive cervical cancer worldwide. *J Pathol*. **189**:12-19.
4. **Lambert P.F., H. Pan, H.C. Pitot, A. Liem, M. Jackson, and A.E. Griep.** 1993. Epidermal cancer associated with expression of human papillomavirus type 16 E6 and E7 oncogenes in the skin of transgenic mice. *Proc Natl Acad Sci U S A*. **90(12)**:5583-7.
5. **Kjaer S.K., A.J.C. van den Brule, G., Pauli, E.I. Svare, M.E. Sherman, B.L. Thomsen, M. Suntum, J.E. Bock, P.A. Poll, and C.J.L.M. Meijer.** 2002. Type specific persistence of high risk human papillomavirus (HPV) as indicator of high grade cervical squamous intraepithelial lesions in young women: population based prospective follow up study. *BMJ*. **325(7364)**: 572-579.
6. **Burd, E.M.** 2003. Human papillomavirus and cervical cancer. *Clin Microbiol Rev*. **16(1)**:1-17.
7. **Li N., S. Franceschi, R. Howell-Jones, P. J. Snijders, G. M. Clifford.** 2010. Human papillomavirus type distribution in 30,848 invasive cervical cancers worldwide: Variation by geographical region, histological type and year of publication. *Int J Cancer*, n/a. doi: 10.1002/ijc.25396.
8. **Cuschieri, K.S., M.J. Whitley, H.A. Cubie.** 2004. Human papillomavirus type specific DNA and RNA persistence--implications for cervical disease progression and monitoring. *J. Med. Virol.* **73(1)**: 65-70.
9. **Baseman J.G., and L.A. Koutsky.** 2005. The epidemiology of human papillomavirus infections. *J Clin Virol*. **32 Suppl 1**:S16-24.
10. **Czegledy J., C. Losif, B.G. Hansson, M. Evander, L. Gergely, and G. Wadell.** 1995. Can a test for E6/E7 transcripts of human papillomavirus type 16 serve as a diagnostic tool for the detection of micrometastasis in cervical cancer? *Int J Cancer*. **64(3)**:211-5.
11. **Wu R, Belinson SE, Du H, Na W, Qu X, Wu R, et al.** Human papillomavirus messenger RNA assay for cervical cancer screening: the Shenzhen Cervical Cancer Screening Trial I. *International Journal of Gynecological Cancer: official journal of the International Gynecological Cancer Society*. 2010; 20(8):1411-4.
12. **Ratnam S, Coutlee F, Fontaine D, Bentley J, Escott N, Ghatage P, et al.** Aptima HPV E6/E7 mRNA test is as sensitive as Hybrid Capture 2 Assay but more specific at detecting cervical precancer and cancer. *Journal of Clinical Microbiology*. 2011; 49(2):557-64.
13. **Monsonogo J, Hudgens MG, Zerat L, Zerat J-C, Syrjänen K, Halfon P, et al.** Evaluation of oncogenic human papillomavirus RNA and DNA tests with liquid-based cytology in primary cervical cancer screening: the FASE study. *International Journal of Cancer Journal international du cancer*. 2011;129:691-701.
14. **Monsonogo J, Hudgens MG, Zerat L, Zerat J-C, Syrjänen K, Smith JS.** Risk assessment and clinical impact of liquid-based cytology, oncogenic human papillomavirus (HPV) DNA and mRNA testing in primary cervical cancer screening (the FASE study). *Gynecologic Oncology*. 2012;125:175-80.
15. **Nieves L, Enerson CL, Belinson S, Brainard J, Chiesa-Vottero A, Nagore N, et al.** Primary cervical cancer screening and triage using an mRNA human papillomavirus assay and visual inspection. *International Journal of Gynecological Cancer: official journal of the International Gynecological Cancer Society*. 2013;23(3):513-8.
16. **Cuzick J, Cadman L, Mesher D, Austin J, Ashdown-Barr L, Ho L, et al.** Comparing the performance of six human papillomavirus tests in a screening population. *British Journal of Cancer*. 2013;108:908-13.
17. **Rebolj M, Preisler S, Ejegod DM, Bonde J, Rygaard C, Lynge E.** Prevalence of human papillomavirus infection in unselected SurePath samples using the APTIMA HPV mRNA assay. *The Journal of Molecular Diagnostics*:2013;15(5):670-7.
18. **Rebolj M, Bonde J, Ejegod D, Preisler S, Rygaard C, Lynge E.** A daunting challenge: human papillomavirus assays and cytology in primary cervical screening of women below age 30 years. *European Journal of Cancer*. 2015;51:1456-66.
19. **Rebolj M, Bonde J, Preisler S, Ejegod D, Rygaard C, Lynge E.** Human Papillomavirus Assays and Cytology in Primary Cervical Screening of Women Aged 30 Years and Above. *PLoS One*. 2016 Jan 20;11(1):e0147326.
20. **Preisler S, Rebolj M, Ejegod DM, Lynge E, Rygaard C, Bonde J.** Cross-reactivity profiles of hybrid capture II, cobas, and APTIMA human papillomavirus assays: split-sample study. *BMC Cancer*. 2016;16:510.
21. **Rebolj M, Bonde J, Preisler S, Ejegod D, Rygaard C, Lynge E.** Differential Detection of Human Papillomavirus Genotypes and Cervical Intraepithelial Neoplasia by Four Commercial Assays. *Journal of Clinical Microbiology*. 2016;54(11):2669-2675.
22. **Rebolj M, Njor S, Lynge E, Preisler S, Ejegod D, Rygaard C, Bonde J.** Referral population studies underestimate differences between human papillomavirus assays in primary cervical screening. *Cytopathology*. 2017;28(5):419-428.
23. **Heideman DAM, Hesselink AT, van Kemenade FJ, Iftner T, Berkhof J, Topal F, et al.** The Aptima HPV assay fulfills the cross-sectional clinical and reproducibility criteria of international guidelines for human papillomavirus test requirements for cervical screening. *Journal of Clinical Microbiology*. 2013;51(11):3653-7.
24. **Pyne MT, Hamula CL, Tardif K, Law C, Schlaberg R.** High-risk HPV detection and genotyping by APTIMA HPV using cervical samples. *Journal of Virological Methods*. 2015;221:95-9.
25. **Iftner T, Becker S, Neis KJ, Castanon A, Iftner A, Holz B, et al.** Head-to-Head Comparison of the RNA368 Based Aptima Human Papillomavirus (HPV) Assay and the DNA-Based Hybrid Capture 2 HPV Test in a Routine Screening Population of Women Aged 30 to 60 Years in Germany. *Journal of Clinical Microbiology*. 2015;53:2509-16.

26. **Iftner T, Neis KJ, Castanon A, Landy R, Holz B, Woll-Herrmann A, et al.** Longitudinal Clinical Performance of the RNA-Based Aptima Human Papillomavirus (AHPV) Assay in Comparison to the DNA-Based Hybrid Capture 2 HPV Test in Two Consecutive Screening Rounds with a 6-Year Interval in Germany. *Journal of Clinical Microbiology*. 2019;57(1):e01177-18.
27. **Maggino T, Sciarrone R, Murer B, Dei Rossi MR, Fedato C, Maran M, et al.** Screening women for cervical cancer carcinoma with a HPV mRNA test: first results from the Venice pilot program. *British Journal of Cancer* volume 115, pages 525-532(2016).
28. **Zorzi M, Del Mistro A, Giorgi Rossi P, Laurino L, Battagello J, Lorio M, et al.** Risk of CIN2 or more severe lesions after negative HPVmRNA E6/E7 overexpression assay and after negative HPV-DNA test: Concurrent cohorts with a 5-year follow-up. *International Journal of Cancer*. 2020 Jun 1;146(11):3114-3123.
29. **Cook DA, Smith LW, Law J, Mei W, van Niekerk DJ, Ceballos K, et al.** Aptima HPV Assay versus Hybrid Capture® 2 HPV test for primary cervical cancer screening in the HPV FOCAL trial. *Journal of clinical virology* 2017;87:23-29.
30. **Cook DA, Smith LW, Law JH, Mei W, Gondara L, van Niekerk DJ, et al.** Comparative performance of human papillomavirus messenger RNA versus DNA screening tests at baseline and 48 months in the HPV FOCAL trial. *Journal of Clinical Virology*. 2018;108:32-37.
31. **Huijsmans CJ, Geurts-Giele WR, Leeijen C, Hazenberg HL, van Beek J, de Wild C, et al.** HPV Prevalence in the Dutch cervical cancer screening population (DuSC study): HPV testing using automated HC2, cobas and Aptima workflows. *BMC Cancer*. 2016;16(1):922.
32. **Loonen AJM, Huijsmans CJJ, Geurts-Giele WRR, Leeijen C, van der Linden JC, van den Brule, AJC.** Performance analysis of high-throughput HPV testing on three automated workflows. *APMIS* 2020; 128: 497- 505.
33. **Lindroth Y, Borgfeldt C, Thorn G, Bodelsson G, Forslund O.** Population-based primary HPV mRNA cervical screening compared with cytology screening. *Preventative Medicine*. 2019;124:61-66.
34. **Forslund O, Miriam Elfström K, Lamin H, Dillner J.** HPV-mRNA and HPV-DNA detection in samples taken up to seven years before severe dysplasia of cervix uteri. *International Journal of Cancer*. 2019 Mar 1;144(5):1073-1081.
35. **Sangrajrang S, Laowahutanont P, Wongsena M, Muwonge R, Imsamran W, Ploysawang P, Basu P.** Human papillomavirus (HPV) DNA and mRNA primary cervical cancer screening: Evaluation and triaging options for HPV-positive women. *Journal of Medical Screening*. 2019 Dec;26(4):212-218.
36. **Datta, S. D., L. A. Koutsky, S. Ratelle, E. R. Unger, J. Shlay, T. McClain, B. Weaver, P. Kerndt, J. Zenilman, M. Hagensee, C. J. Suhr, and H. Weinstock.** 2008. Human Papillomavirus Infection and Cervical Cytology in Women Screened for Cervical Cancer in the United States, 2003–2005. *Annals Int Med*. **148**:493.
37. **Clifford, G.M., S. Gallus, R. Herrero, N. Muñoz, P. J. F. Snijders, S. Vaccarella, P. T. H. Anh, C. Ferreccio, N. T. Hieu, E. Matos, M. Molano, R. Rajkumar, G. Ronco, S. de Sanjosé, H. R. Shin, S. Sukvirach, J. O. Thomas, S. Tunsakul, C. J. L. M. Meijer, S. Franceschi, and the IARC HPV Prevalence Surveys Study Group.** Worldwide distribution of human papillomavirus types in cytologically normal women in the International Agency for Research on Cancer HPV prevalence surveys: a pooled Analysis. 2005. *The Lancet*. **366**, 991.
38. **Stoler, M.H., T.C. Wright, Jr., J. Cuzick, J. Dockter, J. Reid, D. Getman, C. Giachetti.** 2013. Aptima HPV assay performance in women with atypical squamous cells of undetermined significance cytology results. *American Journal of Obstetrics & Gynecology*. **208(2)**:144-145.
39. **Wright TC, Jr., Massad LS, Dunton CJ, Spitzer M, Wilkinson EJ, and Solomon D.** 2006 Consensus Guidelines for the Management of Women with Abnormal Cervical Cancer Screening Tests. 2007. *Am J Obstet Gynecol* 197 (4); 346-355.
40. **Pretorius R.G., W. H. Zhang, J. L. Belinson, et al.** Colposcopically directed biopsy, random cervical biopsy, and endocervical curettage in the diagnosis of cervical intraepithelial neoplasia II or worse. 2004. *Am J Obstet Gynecol*. **191**:430-434.
41. **Pretorius R.G., R. J. Kim, J. L. Belinson, P. Elson, Y-L Qiao.** Inflation of sensitivity of cervical cancer screening tests secondary to correlated error in colposcopy. 2006. *J Low Genit Tract Dis*. **10(1)**:5-9.
42. **Kacian, D.L. and T.J. Fultz.** 1995. Nucleic acid sequence amplification methods. U. S. Patent 5,399,491.
43. **Arnold, L. J., P. W. Hammond, W. A. Wiese, and N. C. Nelson.** 1989. Assay formats involving acridinium-ester-labeled DNA probes. *Clin Chem*. **35**: 1588-1594.
44. **Nelson, N. C., A. BenCheikh, E. Matsuda, and M. Becker.** 1996. Simultaneous detection of multiple nucleic acid targets in a homogeneous format. *Biochem*. **35**:8429-8438.
45. **Mathews, C. S., Sargent, A., Cuschieri, K., Rebolj, M., Brentnall, A. R., Mackie, A., Mills, C., Martinelli, C., Wright, A. M., Hunt, K., Bird, A., Patel, H., Smith, D., Johnson, T., Ellis, K., Hunt, M., & Denton, K.** 2025. HPValidate-human papillomavirus testing with DNA and mRNA assays on self-collected samples in cervical screening: comparison of test characteristics on three self-sampling devices. *British journal of cancer*, 133(5), 665–673.

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 nacionais específicos, 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, DTS, Genesis, Panther, Panther Fusion, PreservCyt, ThinPrep, Tigris e os logótipos associados são marcas comerciais ou marcas comerciais registadas da Hologic, Inc. e/ou das respetivas subsidiárias nos Estados Unidos e/ou noutros países.

SurePath e PrepStain são marcas comerciais de BD.

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.

©2016–2026 Hologic, Inc. Todos os direitos reservados.

AW-22202-601 Rev. 003

2026-04

Histórico de revisão	Data	Descrição
AW-22202-601 Rev. 001	Março de 2023	• Criação das Instruções de utilização do Aptima™ HPV Assay (Panther™ System) AW-22202 Rev. 001 com base em AW-14517 Rev. 007 para conformidade regulamentar com o IVDR. • Atualização da Utilização prevista removendo a referência à utilização no Tigris DTS System. • Adicionado o Resumo de segurança e desempenho. • Atualização das Informações sobre riscos para a UE. • Atualização das secções Advertências e precauções, Requisitos de conservação e manuseamento, Colheita e conservação de espécimes, Reagentes e materiais fornecidos, Materiais necessários, mas disponíveis separadamente, Procedimento de teste no Panther System, Limitações, tabelas de Precisão do ensaio, Reatividade cruzada, Interferência 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.
AW-22202-601 Rev. 002	Agosto de 2024	• Tabela de espécimes SurePath com o desempenho clínico atualizado.

Histórico de revisão	Data	Descrição
AW-22202-601 Rev. 003	Abril de 2026	• Adição de informações de segurança, tais como as boas práticas padrão e precauções universais • Atualização da tabela de FDS • Atualização das instruções de preparação de reagentes do novo kit • Atualização da secção Limitações • Adição da secção Desempenho clínico do Aptima HPV Assay com espécimes de esfregaços Aptima Multitest • Atualização da tabela de Interferência de substâncias e organismo/concentração • Remoção das secções Processador ThingPrep pré- e pós-citologia • Atualização das informações da Bibliografia