

Ensaio Aptima HPV (Sistema Panther)

Instruções de uso
Para uso em diagnóstico *in vitro*
Apenas para exportação aos EUA

Informações gerais	2
Uso pretendido	2
Resumo e explicação do teste	2
Princípios do procedimento	3
Resumo de segurança e desempenho	4
Avisos e precauções	4
Requisitos de armazenamento e manuseio dos reagentes	7
Coleta e armazenamento de amostras biológicas	7
Sistema Panther	10
Reagentes e materiais fornecidos	10
Materiais necessários, mas disponibilizados separadamente	11
Materiais opcionais	12
Procedimento de teste do sistema Panther	12
Notas de procedimento	15
Procedimentos de controle de qualidade	16
Interpretação do teste	17
Limitações	18
Resultados esperados do sistema Panther: prevalência de mRNA de HPV de alto risco	20
Desempenho do ensaio do sistema Panther	23
Bibliografia	53
Informações de contato e histórico de revisões	55

Informações gerais

Uso pretendido

O Ensaio Aptima HPV é um teste com sonda de amplificação do ácido nucleico alvo para a detecção qualitativa *in vitro* do RNA mensageiro viral (mRNA) 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 Ensaio Aptima HPV não discrimina entre os 14 tipos de alto risco.

- O Ensaio Aptima HPV é indicado para uso na triagem de pacientes com resultados de teste de Papanicolaou ASC-US (células escamosas atípicas de significado indeterminado) para determinar a necessidade de encaminhamento para colposcopia. Os resultados deste teste não têm a intenção de impedir que as mulheres realizem uma colposcopia.
- O Ensaio Aptima HPV pode ser usado com citologia cervical para triagem adicional (coteste) para avaliar a presença ou ausência de tipos de HPV de alto risco. Essas informações, combinadas com a avaliação do histórico citológico feita pelo médico, outros fatores de risco e diretrizes profissionais, podem ser usadas para orientar o tratamento do paciente.
- O Ensaio Aptima HPV pode ser usado como um teste de triagem primária de primeira linha, com ou sem citologia cervical, para identificar mulheres com maior risco de desenvolvimento de câncer cervical ou presença de doença de alto grau. Essas informações, juntamente com a avaliação do médico sobre o histórico de triagem do paciente, outros fatores de risco e diretrizes profissionais, podem ser usadas para orientar o tratamento do paciente.

O Ensaio Aptima HPV pode ser usado para testar os seguintes tipos de amostras biológicas no sistema Panther: amostras biológicas cervicais coletadas pelo médico em frascos de teste de Papanicolaou ThinPrep contendo solução PreservCyt pré ou pós-processamento do exame de Papanicolaou, amostras biológicas cervicais coletadas com o kit de coleta e transporte de amostras biológicas cervicais Aptima, amostras biológicas cervicais coletadas em fluido preservativo SurePath ou amostras biológicas vaginais autocoletadas com o kit de coleta de amostras biológicas de swab multiteste Aptima.

Resumo e explicação do teste

O câncer cervical é um dos cânceres femininos mais comuns no mundo. O HPV é o agente etiológico responsável por mais de 99% de todos os cânceres de colo do útero.^{1, 2, 3} O HPV é um vírus de DNA comum, transmitido sexualmente, composto por mais de 100 genótipos.⁴

O genoma viral do HPV é um DNA circular de fita dupla com aproximadamente 7.900 pares de bases de comprimento. O genoma tem oito quadros de leitura abertos sobrepostos. Existem seis genes precoces (P), dois genes tardios (T) e uma região de controle longa não traduzida. Os genes L1 e L2 codificam as proteínas do capsídeo principal e secundária. Genes precoces regulam a replicação viral do HPV. Os genes E6 e E7 de genótipos de HPV de alto risco são oncogenes conhecidos. Proteínas expressas do mRNA policistônico E6/E7 alteram as funções celulares da proteína p53 e do retinoblastoma, levando à interrupção dos pontos de verificação do ciclo celular e à instabilidade do genoma celular.^{1, 4}

Quatorze genótipos de HPV são considerados patogênicos ou de alto risco para doenças cervicais.⁵ Vários estudos relacionaram os genótipos 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66 e 68 à progressão da doença.^{2, 6, 7} Mulheres com infecção persistente por um desses tipos têm maior risco de desenvolver displasia grave ou carcinoma cervical.^{5, 8}

As infecções por HPV são muito comuns, e a maioria das mulheres as elimina em 6 a 12 meses.^{2, 9} A presença de ácido nucleico do HPV não significa que haja displasia cervical ou câncer cervical. Entretanto, uma abordagem eficaz para a detecção da doença cervical é atingir os elementos oncogênicos do HPV que promovem infecção viral persistente e transformação celular.¹⁰

Desempenho clínico do Ensaio Aptima HPV na triagem primária do câncer cervical

O desempenho clínico do Ensaio Aptima HPV quando usado em uma modalidade de triagem primária foi investigado em vários estudos por pesquisadores independentes. Pelo menos 25 publicações revisadas por pares¹¹⁻³⁵ de 15 estudos clínicos separados relatam o desempenho do Aptima HPV na triagem primária em mulheres inscritas em onze países (China, Canadá, França, México, Inglaterra, Dinamarca, Holanda, Estados Unidos, Alemanha, Suécia e Tailândia). Os dados desses estudos mostram que o Aptima HPV tem desempenho clínico semelhante ao de outros testes de HPV clinicamente validados quando usado para triagem primária de câncer e pré-câncer cervical.

Princípios do procedimento

O Ensaio Aptima HPV envolve três etapas principais, que ocorrem em um único tubo: captura do alvo, amplificação do alvo por Amplificação Mediada por Transcrição (TMA),⁴² e detecção dos produtos de amplificação (amplicon) pelo ensaio de proteção de hibridização (HPA).⁴³ O ensaio incorpora um controle interno (CI) para monitorar a captura, amplificação e detecção de ácido nucleico, bem como erros do operador ou do instrumento.

As amostras são coletadas ou transferidas para um tubo contendo meio de transporte de amostras (STM) que lisa as células, libera o mRNA e o protege da degradação durante o armazenamento. Quando o Ensaio Aptima HPV é realizado, o mRNA alvo é isolado da amostra pelo uso de oligômeros de captura que são ligados a micropartículas magnéticas. Os oligômeros de captura contêm sequências complementares a regiões específicas das moléculas-alvo do mRNA do HPV, bem como uma cadeia de resíduos de desoxiadenosina. Durante a etapa de hibridização, as regiões específicas da sequência dos oligômeros de captura se ligam a regiões específicas da molécula-alvo do mRNA do HPV. O complexo oligômero de captura:alvo é então capturado da solução diminuindo a temperatura da reação até a temperatura ambiente. Essa redução de temperatura permite que ocorra a hibridização entre a região da desoxiadenosina no oligômero de captura e as moléculas de poli-desoxitimidina que são ligadas de forma covalente às partículas magnéticas. As micropartículas, incluindo as moléculas-alvo do mRNA do HPV capturadas e ligadas a elas, são puxadas para a lateral do tubo de reação usando ímãs e o sobrenadante é aspirado. As partículas são lavadas para remover a matriz de amostra residual que pode conter inibidores de amplificação.

Após a captura do alvo ser concluída, o mRNA do HPV é amplificado usando TMA, que é um método de amplificação do ácido nucleico baseado em transcrição que utiliza duas enzimas, a transcriptase reversa MMLV e a polimerase de RNA T7. A transcriptase reversa é usada para gerar uma cópia de DNA da sequência de mRNA alvo contendo uma sequência promotora para a polimerase de RNA T7. A polimerase de RNA T7 produz várias cópias do amplicon de RNA com base no modelo de cópia do DNA.

A detecção do amplicon é realizada por HPA usando sondas de ácido nucleico de fita simples com marcadores quimioluminescentes complementares ao amplicon. As sondas de ácido nucleico marcadas hibridizam especificamente com o amplicon. O reagente de seleção diferencia entre sondas hibridizadas e não hibridizadas, inativando o marcador nas sondas não hibridizadas. Durante a etapa de detecção, a luz emitida pelos híbridos de RNA:DNA marcados é medida como sinais de fótons chamados Unidades Relativas de Luz (RLU) em um luminômetro. Os resultados finais do ensaio são interpretados com base no sinal de corte (S/CO) do analito.

O CI é adicionado a cada reação por meio do reagente de captura de alvo. O CI monitora as etapas de captura, amplificação e detecção do alvo do ensaio. O sinal de CI em cada reação é discriminado com base no sinal do HPV pela cinética diferencial de emissão de luz de sondas com marcadores diferentes.⁴⁴ O amplicon específico para o CI é detectado usando uma sonda com rápida emissão de luz (sinal refletor). O amplicon específico do HPV é detectado usando sondas com cinética de emissão de luz relativamente mais lenta (sinal de luminescência). O Ensaio Cinético Duplo (DKA) é um método usado para diferenciar entre os sinais dos marcadores de sinal refletor e sinal de luminescência.⁴⁴

Resumo de segurança e desempenho

O SSP (Resumo de Segurança e Desempenho) está disponível no banco de dados europeu sobre dispositivos médicos (Eudamed), onde está vinculado aos identificadores de dispositivos (UDI-DI básico). Para localizar o SSP para o Aptima HPV, consulte o Identificador Único Básico de Dispositivo (BUDI), que é: **54200455DIAGAPTHPVBR**.

Avisos e precauções

- A. Para uso em diagnóstico *in vitro*.
- B. Para uso profissional.
- C. Para avisos e precauções específicas adicionais, consulte os *Manuais do operador do sistema Panther/Panther Fusion*.

Relacionado ao laboratório

- D. Use somente os utensílios de laboratório descartáveis fornecidos ou especificados.
- E. Siga as precauções de rotina do laboratório. Não coma, beba ou fume nas áreas de trabalho designadas. Use luvas sem talco descartáveis, proteção ocular e jaleco de laboratório ao manusear as amostras biológicas e os reagentes do kit. Lave bem as mãos após manusear as amostras biológicas e os reagentes do kit.
- F. **Aviso: irritante e corrosivo.** Evite que o Auto Detect 2 entre em contato com a pele, com os olhos e com as membranas mucosas. Se esse líquido entrar em contato com a pele ou com os olhos, lave a área afetada com água. Caso respingue em algum lugar, dilua-o com água antes de secar com um pano.
- G. As superfícies de trabalho, pipetas e outros equipamentos devem ser descontaminados regularmente com solução de hipoclorito de sódio de 2,5% a 3,5% (0,35M a 0,5M). Consulte *Procedimento de teste do sistema Panther* para mais informações.
- H. Siga as boas práticas padronizadas para os laboratórios moleculares, incluindo o monitoramento do ambiente.

Relacionado às amostras biológicas

- I. Mantenha condições de temperatura apropriadas durante o transporte e o armazenamento da amostra biológica para garantir a integridade da amostra. A estabilidade da amostra não foi avaliada em condições de transporte e armazenamento diferentes das recomendadas.
- J. As datas de validade listadas nos kits e tubos de coleta/transferência de amostras referem-se ao local de coleta/transferência e não à unidade de teste. As amostras coletadas/transferidas a qualquer momento antes dessas datas de validade são válidas para testes, desde que tenham sido transportadas e armazenadas de acordo com a bula apropriada, mesmo que essas datas de validade tenham passado.
- K. Respeite as precauções universais e os protocolos de laboratório estabelecidos para o manuseio e descarte seguros e a prevenção da contaminação cruzada. Somente profissionais devidamente treinados no manuseio de materiais infecciosos devem ter permissão para manusear amostras.

- L. Troque as luvas imediatamente caso elas entrem em contato com a amostra biológica. Para evitar a contaminação cruzada, descarte os materiais usados e evite passar por cima de outros recipientes.
- M. Ao perfurar, o líquido pode vazar das tampas dos tubos sob certas condições. Siga as instruções em *Procedimento de teste do sistema Panther* para evitar que isso ocorra.
- N. Amostras de citologia líquida ThinPrep e de coleta e transporte de amostras cervicais (CSCT) devem ser rejeitadas se um dispositivo de coleta tiver sido deixado no tubo de amostra.
- O. As amostras de citologia líquida SurePath devem ser rejeitadas se um dispositivo de coleta não estiver presente no frasco.
- P. Se o laboratório receber um tubo de transporte do kit de coleta de amostras biológicas de swab multiteste Aptima sem swab, com dois swabs, um swab de limpeza ou um swab não fornecido pela Hologic, a amostra biológica deverá ser rejeitada.

Relacionado ao ensaio

- Q. Siga as precauções universais.
- R. Armazene os reagentes nas temperaturas especificadas. O desempenho do ensaio pode ser afetado pelo uso de reagentes armazenados incorretamente.
- S. Evite a contaminação microbiana ou por ribonuclease dos reagentes.
- T. Não utilize o kit após a data de validade.
- U. Não troque, misture ou combine reagentes de ensaio ou calibradores de kits com números de lote diferentes.
- V. Os líquidos do ensaio Aptima e os reagentes Aptima Auto Detect não fazem parte do lote mestre; qualquer lote pode ser usado.
- W. A mistura completa dos reagentes do ensaio é necessária para obter resultados precisos.
- X. Devem ser utilizadas pontas com plugues hidrofóbicos.
- Y. Alguns reagentes deste kit estão rotulados com símbolos de risco e segurança.

Observação: a comunicação de riscos reflete as classificações das Fichas de Dados de Segurança da UE (SDS). Para obter informações de comunicação de riscos específicas para sua região, consulte a SDS específica da região na Biblioteca de fichas de dados de segurança, em www.hologicds.com. Para obter mais informações sobre os símbolos, consulte a legenda dos símbolos na página <https://www.hologic.com/package-inserts>.

Informações de riscos para a UE	
 	Selection Reagent <i>Boric Acid 1 – 5%</i> <i>Triton X-100 1 – 5%</i> <i>Sodium Hydroxide < 1%</i> — PERIGO H315 - Provoca irritação à pele. H360FD - Pode prejudicar a fertilidade. Pode prejudicar o feto. P264 - Lave cuidadosamente o rosto, as mãos e qualquer parte da pele exposta após o manuseio. P280 - Use luvas de proteção/roupa de proteção/proteção ocular/proteção facial. P302 + P352 - EM CASO DE CONTATO COM A PELE: Lave com água e sabão em abundância. P332 + P313 - Em caso de irritação cutânea: Consulte um médico. P362 + P364 - Retire toda a roupa contaminada e lave-a antes de usá-la novamente. P201 - Obtenha instruções específicas antes da utilização. P202 - Não manuseie o produto antes de ter lido e compreendido todas as precauções de segurança. P308 + P313 - EM CASO DE exposição ou suspeita de exposição: Consulte um médico. P405 - Armazene em local fechado à chave. P501 - Descarte o conteúdo/recipiente em uma unidade de disposição de resíduos licenciada.
	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 prolongados. P273 - Evite a liberação para o meio ambiente. P501 - Descarte o conteúdo/recipiente em uma unidade de disposição de resíduos licenciada.
—	Amplification Reagent <i>HEPES 25 – 30%</i> — H402 - Nocivo para os organismos aquáticos. H412 - Nocivo para os organismos aquáticos, com efeitos prolongados. P273 - Evite a liberação para o meio ambiente. P501 - Descarte o conteúdo/recipiente em uma unidade de disposição de resíduos licenciada.
—	Enzyme Reagent <i>HEPES 1 – 5%</i> <i>Triton X-100 1 – 5%</i> — H412 - Nocivo para os organismos aquáticos, com efeitos prolongados. P273 - Evite a liberação para o meio ambiente. P501 - Descarte o conteúdo/recipiente em uma unidade de disposição de resíduos licenciada.
—	Probe Reagent <i>LAURYL SULFATE LITHIUM SALT 35 – 40%</i> <i>SUCCINIC ACID 10 – 15%</i> — H412 - Nocivo para os organismos aquáticos, com efeitos prolongados. P273 - Evite a liberação para o meio ambiente. P501 - Descarte o conteúdo/recipiente em uma unidade de disposição de resíduos licenciada.
—	Enzyme Reconstitution Solution <i>Glycerol 20 – 25%</i> <i>Triton X-100 5 – 10%</i> <i>HEPES 1 – 5%</i> — H412 - Nocivo para os organismos aquáticos, com efeitos prolongados. P273 - Evite a liberação para o meio ambiente. P501 - Descarte o conteúdo/recipiente em uma unidade de disposição de resíduos licenciada.

Requisitos de armazenamento e manuseio dos reagentes

Não utilize reagentes após a data de validade indicada nos frascos. Veja abaixo instruções adicionais de armazenamento.

- A. Os seguintes reagentes são armazenados de 2 °C a 8 °C (refrigerados) no recebimento:
 - Reagente de amplificação do HPV
 - Reagente de enzimas do HPV
 - Reagente de sonda do HPV
 - Reagente de controle interno do HPV
 - Calibradores positivos e negativos do HPV
- B. Os seguintes reagentes são armazenados 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 sonda do HPV
 - Reagente de captura de alvo do HPV
 - Reagente de seleção do HPV
- C. Após reconstituição, os seguintes reagentes são estáveis por 30 dias quando armazenados de 2 °C a 8 °C:
 - Reagente de amplificação do HPV
 - Reagente de enzimas do HPV
 - Reagente de sonda do HPV
- D. O Reagente de Captura de Alvo de Trabalho (wTCR) é estável por 30 dias quando armazenado entre 15 °C e 30 °C. Não refrigerar.
- E. Descarte reagentes reconstituídos não utilizados e wTCR após 30 dias ou após a data de validade do lote mestre, o que ocorrer primeiro.
- F. Os reagentes do Ensaio Aptima HPV são estáveis por um período cumulativo de 72 horas quando armazenados a bordo do sistema Panther.
- G. O reagente de sonda e o reagente de sonda reconstituído são fotossensíveis. Armazene os reagentes ao abrigo da luz.
- H. **Não congele os reagentes.**

Coleta e armazenamento de amostras biológicas

Observação: manuseie todas as amostras biológicas como se contivessem agentes potencialmente infecciosos. Siga as precauções universais.

- A. Coleta e processamento de amostras biológicas

Amostras de citologia líquida ThinPrep

1. Colete amostras cervicais em frascos de teste de Papanicolau ThinPrep contendo solução PreservCyt com dispositivos de coleta do tipo vassoura ou escova citológica/espátula, de acordo com as instruções do fabricante.

2. Antes ou depois do processamento com o processador ThinPrep 2000, processador ThinPrep 5000, processador ThinPrep 5000 com carregador automático ou processador ThinPrep Genesis, transfira
1 mL da amostra de citologia líquida ThinPrep em um tubo de transferência de amostras biológicas Aptima, de acordo com as instruções na bula do kit de transferência de amostras biológicas Aptima e da solução de transferência Aptima.

Amostras de citologia líquida SurePath

1. Colete uma amostra de citologia líquida SurePath de acordo com as instruções de uso do teste de Papanicolaou SurePath e/ou do sistema PrepStain.
2. Transfira a amostra de citologia líquida SurePath para um tubo de transferência de amostras biológicas Aptima de acordo com as instruções na bula do kit de transferência de amostras biológicas Aptima e da solução de transferência Aptima.

Amostras do kit de coleta e transporte de amostras cervicais Aptima

1. Colete a amostra de acordo com as instruções de uso do kit Aptima CSCT.

Amostras biológicas do kit de coleta de amostras biológicas de swab multiteste Aptima

1. Colete a amostra biológica de acordo com as instruções de uso do kit de coleta de amostras biológicas de swab multiteste Aptima.

B. Transporte e armazenamento antes do teste

Amostras de citologia líquida ThinPrep

1. Transporte as amostras de citologia líquida ThinPrep entre 2 °C e 30 °C.
2. As amostras devem ser transferidas para um tubo de transferência de amostras Aptima dentro de 105 dias após a coleta.
3. Antes da transferência, as amostras de citologia líquida ThinPrep devem ser armazenadas entre 2 °C e 30 °C, com no máximo 30 dias em temperaturas acima de 8 °C.
4. As amostras de citologia líquida ThinPrep transferidas para um tubo de transferência de amostras Aptima podem ser armazenadas de 2 °C a 30 °C por até 60 dias.
5. Se for necessário um armazenamento mais longo, a amostra de citologia líquida ThinPrep ou a amostra de citologia líquida ThinPrep diluída no tubo de transferência de amostras pode ser armazenada a -20 °C ou menos por até 24 meses.

Amostras de citologia líquida SurePath

1. Transporte as amostras de citologia líquida SurePath entre 2 °C e 25 °C.
2. As amostras devem ser transferidas para um tubo de transferência de amostras Aptima dentro de 7 dias após a coleta.
3. Antes da transferência, as amostras de citologia líquida SurePath devem ser armazenadas entre 2 °C e 25 °C.
4. As amostras de citologia líquida SurePath transferidas para um tubo de transferência de amostras Aptima podem ser armazenadas de 2 °C a 25 °C por até 7 dias.

Amostras do kit de coleta e transporte de amostras cervicais Aptima

1. Transporte e armazene as amostras entre 2 °C e 30 °C por até 60 dias.
2. Se for necessário armazenamento mais longo, as amostras do kit de transporte podem ser armazenadas a -20 °C ou menos por até 24 meses.

Amostras biológicas do kit de coleta de amostras biológicas de swab multiteste Aptima

1. Transporte de amostras biológicas
 - a. Transporte as amostras biológicas entre 2 °C e 30 °C.
 - b. As amostras biológicas devem ser recebidas no laboratório até 5 dias após a coleta.
2. Armazenamento de amostras biológicas antes do teste
 - a. Opção 1: As amostras biológicas podem ser armazenadas entre 2 °C e 8 °C por até 30 dias.
 - b. Opção 2: As amostras biológicas podem ser armazenadas entre 15 °C e 30 °C por até 30 dias.

C. Tratamento de amostras de citologia líquida SurePath

Observação: as amostras de citologia líquida SurePath devem ser tratadas com a solução de transferência Aptima antes do teste com o Ensaio Aptima HPV.

1. Solução de transferência Aptima

Amostras tratadas podem ser armazenadas entre 2 °C e 8 °C por até 17 dias antes do teste com o Ensaio Aptima HPV. Consulte a bula do kit de transferência de amostras biológicas Aptima e da solução de transferência Aptima para obter mais detalhes.

D. Armazenamento de amostras biológicas após o teste

1. As amostras biológicas que tiverem sido testadas devem ser armazenadas em um suporte na posição vertical.
2. Os tubos de amostra devem ser cobertos com uma barreira nova e limpa de plástico ou papel alumínio.
3. Se for necessário congelar ou transportar as amostras testadas, remova a tampa perfurável e coloque novas tampas não perfuráveis nos tubos de amostras biológicas. Se as amostras precisarem ser enviadas para testes em outra instalação, as temperaturas especificadas deverão ser mantidas. Antes de destampar amostras previamente testadas e tampadas novamente, os tubos de transporte de amostras biológicas devem ser centrifugados por 5 minutos a uma força centrífuga relativa (RCF) de 420 para que todo o líquido vá para o fundo do tubo.

Observação: as amostras biológicas devem ser transportadas em conformidade com os regulamentos de transporte nacionais e internacionais aplicáveis.

Sistema Panther

Os reagentes para o Ensaio Aptima HPV estão listados abaixo para o sistema Panther. Os símbolos de identificação de reagentes também estão listados ao lado do nome do reagente.

Reagentes e materiais fornecidos

Ensaio Aptima HPV, 250 testes, Cat. Nº 303093 (3 caixas)

Ensaio Aptima HPV, 100 testes, Cat. Nº 302929 (3 caixas)

Os calibradores podem ser adquiridos separadamente. Veja os números de catálogo individuais abaixo.

Caixa refrigerada Aptima HPV

(armazenar entre 2 °C e 8 °C após o recebimento)

Símbolo	Componente	Quantidade
A	Reagente de amplificação do HPV <i>Ácidos nucleicos não infecciosos secos em solução tamponada contendo < 5% de agente de volume.</i>	1 frasco
E	Reagente de enzimas do HPV <i>Transcriptase reversa e RNA polimerase secas em solução tamponada HEPES contendo < 10% de reagente de volume.</i>	1 frasco
P	Reagente de sonda do HPV <i>Sondas de DNA quimioluminescentes não infecciosas (< 500 ng/frasco) secas em solução tamponada com succinato contendo < 5% de detergente.</i>	1 frasco
CI	Reagente de controle interno do HPV <i>Transcrição de RNA não infecciosa em solução tamponada contendo < 5% de detergente.</i>	1 frasco

Caixa de temperatura ambiente Aptima HPV

(armazenar em temperatura ambiente, 15 °C a 30 °C após o recebimento)

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 tamponada HEPES contendo um surfactante e glicerol.</i>	1
PR	Solução de reconstituição de sonda do HPV <i>Solução tamponada de succinato contendo <5% de detergente.</i>	1
S	Reagente de seleção do HPV <i>Solução tamponada de borato de 600 mM contendo surfactante.</i>	1
TCR	Reagente de captura de alvo do HPV <i>Solução tamponada contendo oligômeros de fase sólida e de captura (<0,5 mg/mL).</i>	1
	Aros de reconstituição	3
	Folha de códigos de barras do lote mestre	1 folha

Caixa de calibradores Aptima HPV (cat. Nº 302554)
(armazenar entre 2 °C e 8 °C após o recebimento)

Símbolo	Componente	Quantidade
PCAL	Calibrador positivo do HPV <i>Transcrição in vitro de HPV 16 não infecciosa a 1.000 cópias por mL em 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 disponibilizados separadamente

Observação: os materiais disponibilizados pela Hologic têm os números de referência listados, exceto quando especificado de outra forma.

Material	Nº da Cat.
Sistema Panther	303095
Panther Fusion System	PRD-04172
Fluidos e resíduos contínuos do sistema Panther (Panther Plus)	PRD-06067
Kit de corrida Panther	303096
<i>Kit de líquidos do Ensaio Aptima</i>	303014
<i>(Solução de lavagem Aptima, tampão Aptima para fluido de desativação e reagente de óleo Aptima)</i>	
<i>Kit Aptima Auto Detect</i>	303013
<i>Unidades multitubos (MTUs)</i>	104772-02
<i>Kit de sacos de resíduos Panther</i>	902731
<i>Tampa para cesto de resíduos Panther</i>	504405
Pontas, 1.000 µL filtradas, condutivas, sensoriais de líquidos e descartáveis	901121 (10612513 Tecan)
	903031 (10612513 Tecan)
<i>Nem todos os produtos estão disponíveis em todas as regiões. Entre em contato com seu representante para obter informações específicas da região</i>	MME-04134 (30180117 Tecan)
	MME-04128
Kit de transferência de amostras biológicas Aptima	301154C
Kit de transferência de amostras biológicas Aptima — imprimível	PRD-05110
Kit de coleta e transporte de amostras cervicais Aptima	302657
Kit de coleta de amostras biológicas de swab multitestado Aptima	PRD-03546
Tampas perfuráveis Aptima	105668
Tampas não perfuráveis de substituição	103036A
Tampas de reposição para 250 kits de teste:	—
<i>Soluções de reconstituição de reagentes de amplificação e reagentes de sonda</i>	CL0041
<i>Solução de reconstituição de reagente enzimático</i>	501616
<i>TCR e reagente de seleção</i>	CL0040
Tampas de reposição para 100 kits de teste:	—
<i>Soluções de reconstituição de reagentes de amplificação e reagentes de sonda</i>	CL0041
<i>Solução de reconstituição de reagente enzimático</i>	CL0041
<i>TCR e reagente de seleção</i>	501604
Água sanitária, solução de hipoclorito de sódio 5,0% a 8,25% (0,7 M a 1,16 M)	—

Luvras descartáveis	—
Kit de solução de transferência Aptima (somente para amostras SurePath)	303658

Materiais opcionais

Material	Nº da Cat.
Intensificador de água sanitária Hologic para limpeza	302101
Bloco de aquecimento	—
Agitador de tubos	—

Procedimento de teste do sistema Panther

Observação: consulte o *Manual do Operador do Sistema Panther/Panther Fusion* para obter informações adicionais sobre os procedimentos do sistema Panther.

A. Preparação da área de trabalho

1. Limpe as superfícies de trabalho nas quais os reagentes serão preparados. Limpe as superfícies de trabalho com 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 em contato com as superfícies por pelo menos 1 minuto e, em seguida, enxágue com água deionizada (DI). Não deixe que a solução de hipoclorito de sódio seque. Cubra a superfície da bancada, sobre a qual os reagentes e as amostras serão preparados, com protetores plásticos de bancada de laboratório absorventes e limpos.
2. Limpe uma superfície de trabalho separada, na qual as amostras serão preparadas. Use o procedimento descrito acima (Etapa A.1).
3. Limpe todos os pipetadores. Use o procedimento de limpeza descrito acima (Etapa A.1).

B. Preparação de reagentes de um novo kit

Observação: a reconstituição de reagentes deve ser realizada antes de iniciar qualquer trabalho no sistema Panther.

1. Antes dos testes, os reagentes de amplificação, enzimáticos e de sonda devem ser reconstituídos combinando o conteúdo dos frascos de reagente liofilizado com a solução de reconstituição apropriada.
 - a. Deixe os reagentes liofilizados atingirem a temperatura ambiente (15 °C a 30 °C) antes de usá-los.
 - b. Combine cada solução de reconstituição com o respectivo reagente liofilizado. Antes de colocar o anel de reconstituição, certifique-se de que a solução de reconstituição e o reagente tenham símbolos de rótulo correspondentes.
 - c. Verifique os números de lote na Folha de códigos de barras do lote mestre para conferir se os reagentes adequados estão emparelhados. Coloque etiquetas nas tampas dos frascos da solução de reconstituição.
 - d. Abra o frasco de vidro de reagente liofilizado e insira firmemente a extremidade com fenda do aro de reconstituição na abertura do frasco de vidro (Figura 1, Etapa 1).
 - e. Abra o frasco da solução de reconstituição correspondente e coloque a tampa em uma superfície de trabalho coberta e limpa.
 - f. Apoiando o frasco da solução na bancada, insira com firmeza a outra extremidade do aro de reconstituição na abertura do frasco (Figura 1, Etapa 2).

- g. Gire suavemente a solução no frasco para misturar bem. Evite criar espuma ao girar o frasco (Figura 1, Etapa 4).
- h. Pegue os frascos montados e gire-os para misturar bem. Evite criar espuma ao girar o frasco (Figura 1, Etapa 4).
- i. Certifique-se de que o reagente liofilizado esteja completamente dissolvido. Gire os frascos novamente e, em seguida, oscile a solução no frasco de vidro para a frente e para trás para misturá-la totalmente.
- j. Verifique visualmente se o reagente está completamente dissolvido, sem pó, grumos ou linhas onduladas.
- k. Incline lentamente os frascos montados outra vez para permitir que toda a solução seja novamente drenada no frasco da solução de reconstituição (Figura 1, Etapa 5).
- l. Remova o aro de reconstituição e o frasco de vidro (Figura 1, Etapa 6).
- m. Recoloque a tampa no frasco de plástico, seja a tampa original etiquetada correspondente ao reagente ou uma tampa nova. Não misture as tampas. Registre as iniciais do operador e a data da reconstituição no rótulo (Figura 1, Etapa 7).
- n. Descarte o aro de reconstituição e o frasco de vidro (Figura 1, Etapa 8).
- o. Misture bem cada reagente invertendo-os delicadamente antes de carregá-los no sistema Panther.

Opcional: para uma mistura adicional dos reagentes de amplificação, enzimáticos e de sonda, coloque os frascos de plástico tampados em um agitador de tubos ajustado em velocidade e inclinação moderadas por no mínimo 5 minutos. Certifique-se de que os reagentes estejam completamente misturados.

Aviso: evite a formação de espuma ao reconstituir os reagentes. A espuma compromete o sensor de nível no sistema Panther.

Aviso: é necessário misturar os reagentes adequadamente para atingir os resultados esperados do ensaio.

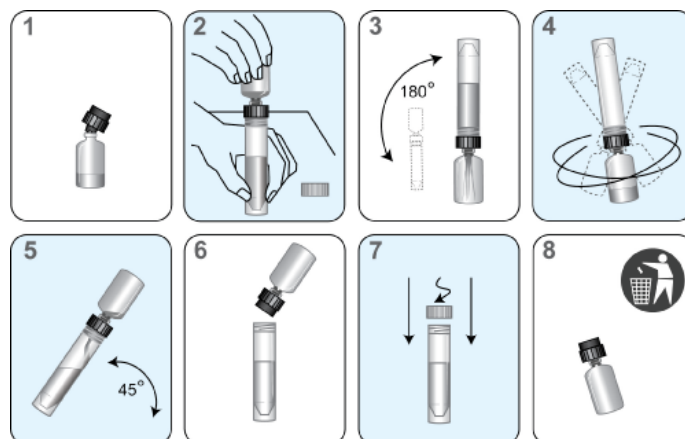


Figura 1. Processo de reconstituição do sistema Panther

- 2. Prepare o reagente de captura de alvo de trabalho (wTCR):
 - a. Emparelhe os frascos apropriados de TCR e CI.
 - b. Verifique os números de lote de reagentes na Folha de códigos de barras do lote mestre para garantir que os reagentes adequados do kit sejam combinados.
 - c. Abra o frasco de TCR e coloque a tampa em uma superfície de trabalho limpa e coberta.

- d. Abra o frasco de CI e despeje todo o conteúdo no frasco de TCR. Espere que uma pequena quantidade de líquido permaneça no frasco de CI.
 - e. Tampe o frasco de TCR e faça a solução girar suavemente para misturar o conteúdo. Evite a formação de espuma durante esta etapa.
 - f. Registre as iniciais do operador e a data atual no rótulo.
 - g. Descarte o frasco de CI e a tampa.
 - h. Pode ocorrer formação de precipitado no wTCR, o que pode gerar resultados inválidos devido a erros de verificação de volume. O precipitado pode ser dissolvido aquecendo o wTCR de 42 °C a 60 °C por até 90 minutos. Deixe o wTCR atingir a temperatura ambiente antes de usar. Não utilize se o precipitado persistir.
3. Preparar o reagente de seleção
- a. Verifique o número do lote do reagente na Folha de código de barras do lote mestre para se certificar de que ele pertence ao kit.
 - b. Se o reagente de seleção contiver precipitado, aqueça-o a 60 °C $\pm$ 1 °C por até 45 minutos para facilitar a dissolução do precipitado. Misture delicadamente o frasco a cada 5 a 10 minutos. Deixe o reagente de seleção atingir a temperatura ambiente antes de usar. Não utilize se o precipitado ou a turvação persistirem.

Observação: *misture cuidadosamente invertendo gentilmente todos os reagentes antes de carregá-los no sistema. Evite a formação de espuma ao inverter os reagentes.*

C. Preparação de reagentes para reagentes previamente reconstituídos

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

Opcional: os frascos de plástico com tampa contendo os reagentes de amplificação, enzima e sonda reconstituídos podem ser colocados em um agitador de tubos ajustado em velocidade moderada e inclinados por no mínimo 25 minutos para garantir que os reagentes atinjam a temperatura ambiente e sejam completamente misturados.

2. Se o reagente de sonda reconstituído contiver precipitado que não retorna à solução à temperatura ambiente, aqueça a uma temperatura que não exceda 60 °C por 1 a 2 minutos. Não utilize se houver precipitado ou turvação.
3. Se o wTCR contiver precipitado, aqueça-o de 42 °C a 60 °C por até 90 minutos. Deixe o wTCR atingir a temperatura ambiente antes de usar. Não utilize se o precipitado persistir.
4. Se o reagente de seleção contiver precipitado, aqueça-o a 60 °C $\pm$ 1 °C por até 45 minutos para facilitar a dissolução do precipitado. Misture delicadamente o frasco a cada 5 a 10 minutos. Deixe o reagente de seleção atingir a temperatura ambiente antes de usar. Não utilize se o precipitado ou a turvação persistirem.
5. Misture bem cada reagente invertendo-os delicadamente antes de carregá-los no sistema. Evite a formação de espuma ao inverter os reagentes.
6. Não encha os frascos do reagente até o topo. O sistema Panther reconhece e rejeita frascos que foram enchidos até o topo.

D. Manuseio de amostras

1. Para cada amostra biológica coletada no kit de coleta de amostras biológicas de swab multiteste Aptima, execute os seguintes passos:
 - a. Confirme visualmente a presença de um único swab multiteste rosa Aptima dentro do tubo de coleta.
 - b. Aqueça as amostras biológicas no swab multiteste Aptima a 90 °C durante 75 minutos antes do teste. As amostras biológicas devem permanecer tampadas durante esse processo.

2. Deixe as amostras (calibradores e amostras de controle) atingirem a temperatura ambiente antes do processamento.
3. **Não agitar as amostras.**
4. Inspeção os tubos de amostra antes de carregá-los no suporte. Se um tubo de amostra contiver bolhas ou tiver um volume menor do que o normalmente observado, centrifugue o tubo por 5 minutos a 420 RCF para garantir que não haja líquido na tampa.

Observação: Não seguir a Etapa 4 pode resultar em vazamento de líquido pela tampa do tubo de amostra biológica.

E. Preparação do sistema

1. Configure o sistema de acordo com as instruções no *Manual do Operador do Sistema Panther* e a seção *Notas de procedimento* abaixo. Use os suportes de reagentes e adaptadores de TCR de tamanho adequado.
2. Carregue as amostras.

Notas de procedimento

A. Calibradores

1. Para funcionar corretamente com o software de Ensaio Aptima HPV no sistema Panther, são necessárias três réplicas do calibrador positivo e três réplicas do calibrador negativo. Um frasco de cada calibrador pode ser carregado em qualquer posição do rack em qualquer faixa de compartimento de amostras no sistema Panther. A pipetagem de amostras biológicas começará quando uma das duas condições a seguir for atendida:
 - a. Um calibrador positivo e um negativo estão sendo processados pelo sistema.
 - b. Os resultados válidos para os calibradores são registrados no sistema.
2. Depois que os tubos calibradores forem pipetados e estiverem sendo processados para um kit de reagentes específico, as amostras podem ser executadas com o kit de reagentes de ensaio associado por até 24 horas, a menos que:
 - a. Os resultados dos calibradores sejam inválidos.
 - b. O kit de reagentes de ensaio associado tenha sido removido do sistema.
 - c. O kit de reagentes de ensaio associado tenha excedido os limites de estabilidade.
3. Tentativas de pipetar mais de três réplicas de um tubo calibrador podem levar a erros de processamento.

B. Temperatura

Define-se temperatura ambiente como aquela entre 15 °C e 30 °C.

C. Talco para luva

Como em qualquer sistema de reagentes, o excesso de talco em algumas luvas pode causar a contaminação de tubos abertos. É recomendado o uso de luvas sem talco.

Procedimentos de controle de qualidade

A. Critérios de validade de execução

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

- Mais de uma réplica inválida do calibrador negativo.
- Mais de uma réplica inválida do calibrador positivo.

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

Uma execução inválida deve ser repetida.

B. Critérios de aceitação do calibrador

A tabela abaixo define os critérios de RLU para as réplicas do calibrador negativo e positivo.

Calibrador negativo	
Analito	≥ 0 e ≤ 45.000 RLU
CI	≥ 75.000 e ≤ 400.000 RLU

Analito	≥ 0 e ≤ 45.000 RLU
CI	≥ 75.000 e ≤ 400.000 RLU

Calibrador positivo	
Analito	≥ 480.000 e $\leq 1.850.000$ RLU
CI	≤ 450.000 RLU

Analito	≥ 480.000 e $\leq 1.850.000$ RLU
CI	≤ 450.000 RLU

C. Cálculo de corte de CI

O corte de CI é determinado a partir do sinal de CI (sinal refletor) das réplicas válidas do calibrador negativo.

$$\text{Corte de CI} = 0,5 \times [\text{RLU médio de CI das réplicas válidas do calibrador negativo}]$$

D. Cálculo do corte do analito

O corte do analito é determinado a partir do sinal do analito (sinal de luminescência) das réplicas válidas do calibrador negativo, bem como do sinal do analito das réplicas válidas do calibrador positivo

$$\text{Corte do analito} = \frac{[\text{RLU médio do analito das réplicas válidas do calibrador negativo}] + [0,09 \times \text{RLU médio do analito das réplicas válidas do calibrador positivo}]$$

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

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

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

Interpretação do teste

Os resultados dos testes são determinados automaticamente pelo software do ensaio. Um resultado de teste pode ser negativo, positivo ou inválido, conforme determinado pelo RLU do CI e S/CO para o analito. O primeiro resultado válido é o resultado que deve ser relatado. Um resultado de teste também pode ser inválido devido a outros parâmetros (formato anormal da curva cinética) estarem fora das faixas normais esperadas. Resultados de testes inválidos devem ser repetidos. Se o resultado for inválido em um novo teste, uma nova amostra biológica deverá ser coletada.

As amostras do kit Aptima CSCT podem ser diluídas para superar potenciais substâncias inibidoras. Dilua 1 parte da amostra inválida em 8 partes de meio de transporte de amostra (a solução nos tubos do kit CSCT); por exemplo, 560 µL de amostra em um novo tubo do kit CSCT que contém 4,5 mL de meio de transporte de amostra. Inverta delicadamente a amostra diluída para misturar; evite criar espuma. Teste a amostra diluída de acordo com o procedimento de ensaio padrão.

Observação: é necessário um volume mínimo de 1,7 mL para testar 1 alíquota da amostra. Não dilua uma amostra diluída inválida. Se uma amostra diluída produzir um resultado inválido, uma nova amostra deverá ser obtida do paciente.

Resultado do Ensaio Aptima HPV	Critérios
Negativo	<i>S/CO do analito <0,50</i> <i>CI ≥ corte de CI</i> <i>CI ≤2.000.000 RLU</i>
Positivo	<i>S/CO do analito ≥0,50</i> <i>CI ≤2.000.000 RLU</i> <i>Analito ≤13.000.000 RLU</i>
Inválido	<i>CI >2.000.000 RLU</i> <i>ou</i> <i>S/CO do analito <0,50 e CI < corte de CI</i> <i>ou</i> <i>Analito >13.000.000 RLU</i>

Limitações

- A. Não foram avaliados tipos de amostras diferentes daquelas identificadas no uso pretendido.
- B. O desempenho do Ensaio Aptima HPV não foi avaliado em indivíduos vacinados contra o HPV.
- C. O Ensaio Aptima HPV não foi avaliado em casos de suspeita de abuso sexual.
- D. A prevalência da infecção por HPV em uma população pode afetar o desempenho. Os valores preditivos positivos diminuem ao testar populações com baixa prevalência ou indivíduos sem risco de infecção.
- E. Amostras de citologia líquida ThinPrep contendo menos de 1 mL após a preparação da lâmina do teste de Papanicolau ThinPrep são consideradas inadequadas para o Ensaio Aptima HPV.
- F. A remoção de 1 mL de uma amostra de citologia líquida SurePath antes do processamento citológico não foi avaliada em relação ao impacto no resultado da citologia.
- G. Os resultados do teste podem ser afetados pela coleta, armazenamento ou processamento inadequado da amostra.
- H. O Controle Interno monitora as etapas de captura, amplificação e detecção do alvo do ensaio. Não se destina a controlar a adequação da amostragem cervical.
- I. Um resultado negativo no Ensaio Aptima HPV não exclui a possibilidade de anormalidades citológicas ou de CIN2, CIN3 ou câncer futuros ou subjacentes.
- J. Lubrificantes pessoais que contêm poliquatérnio 15 podem interferir no desempenho do ensaio quando presentes em concentrações maiores que 0,025% (v/v ou p/v) de uma amostra de teste.
- K. Medicamentos antifúngicos que contêm tioconazol podem interferir no desempenho do ensaio quando presentes em concentrações maiores que 0,075% (p/v) de uma amostra de teste.
- L. Protetor solar que contém óxido de zinco pode interferir no desempenho do ensaio quando presente em concentrações maiores que 2,5% (p/v) de uma amostra de teste.
- M. Creme para hemorroidas que contém óxido de zinco, óxido de bismuto e bálsamo do Peru pode interferir no desempenho do ensaio quando presente em concentrações maiores que 1% (p/v) de uma amostra de teste.
- N. Muco pode interferir no desempenho do ensaio quando presente em concentrações maiores que 2,5% (p/v) de uma amostra de teste.
- O. O Ensaio Aptima HPV fornece resultados qualitativos. Portanto, não é possível traçar uma correlação entre a magnitude de um sinal de ensaio positivo e o nível de expressão de mRNA em uma amostra.
- P. A detecção do mRNA do HPV de alto risco depende do número de cópias presentes na amostra e pode ser afetada pelos métodos de coleta da amostra, fatores do paciente, estágio da infecção e presença de substâncias interferentes.

- Q. A infecção pelo HPV não é um indicador de HSIL citológico ou CIN de alto grau subjacente, nem implica que CIN2, CIN3 ou câncer se desenvolverão. A maioria das mulheres infectadas com um ou mais tipos de HPV de alto risco não desenvolve CIN2, CIN3 ou câncer.
- R. Os efeitos de outras variáveis potenciais, como corrimento vaginal, uso de absorventes internos, duchas higiênicas, etc. e variáveis de coleta de amostras, não foram avaliados.
- S. O uso deste produto deve ser limitado a pessoal treinado no uso do Ensaio Aptima HPV.
- T. A contaminação cruzada de amostras pode causar resultados falso-positivos. A taxa de transferência do Ensaio Aptima HPV no sistema Panther foi determinada em um estudo não clínico como sendo de 0,7%.
- U. O Ensaio Aptima HPV deve ser interpretado em conjunto com outros dados laboratoriais e clínicos disponíveis ao médico.
- V. Podem ocorrer resultados falso-positivos com este teste. Transcrições *in vitro* dos genótipos de HPV de baixo risco 26, 67, 70 e 82 exibiram reatividade cruzada com o Ensaio Aptima HPV.
- W. Podem ser observadas diferenças de desempenho em amostras biológicas vaginais autocoletadas quando comparadas a amostras biológicas cervicais coletadas por um profissional de saúde. Pacientes com resultados positivos em amostras biológicas vaginais autocoletadas devem ser encaminhadas a um médico para avaliação de acompanhamento.

Resultados esperados do sistema Panther: prevalência de mRNA de HPV de alto risco

A prevalência da infecção por HPV de alto risco varia muito e é influenciada por vários fatores, dos quais a idade é o maior contribuinte.^{36,37} Muitos estudos investigaram a prevalência do HPV determinada pela detecção do DNA do HPV, porém, poucos estudos relatam a prevalência com base na detecção do mRNA oncogênico do HPV. Mulheres de vários locais clínicos (n=18) representando uma ampla distribuição geográfica e uma população diversificada (10 estados nos Estados Unidos) foram inscritas em um estudo clínico prospectivo conhecido como ensaio CLEAR. Conforme determinado pelo Ensaio Aptima HPV no sistema Panther, a prevalência de amostras positivas para mRNA do HPV observadas no ensaio clínico foi categorizada como geral, por faixa etária e por local de teste. Os resultados são mostrados em Tabela 1 para as populações ASC-US (células escamosas atípicas de significado indeterminado) e NILM (negativo para lesão intraepitelial ou malignidade).

Tabela 1: Prevalência de mRNA de HPV de alto risco por faixa etária, local de teste e todos combinados

	Taxa de positividade % (x/n)	
	População ASC-US (≥21 anos)	População NILM (≥30 anos)
Todos	42,3 (404/956)	4,7 (512/10.860)
Faixa etária (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

Projeto de estudo clínico do Ensaio Aptima HPV com amostras de citologia líquida ThinPrep

O Ensaio Aptima HPV no sistema Panther foi avaliado usando amostras de citologia de referência residuais coletadas de mulheres que consentiram durante o estudo clínico multicêntrico prospectivo dos EUA conhecido como ensaio CLEAR.³⁸

O Ensaio Aptima HPV foi lançado pela primeira vez no sistema Tigris DTS em 2008. Em 2011, as indicações foram expandidas para usar o Ensaio Aptima HPV no sistema Panther. O sistema Panther é uma plataforma de instrumentos menor e alternativa ao sistema Tigris DTS. Ambos os sistemas foram projetados para automatizar completamente os testes de ácido nucleico amplificado em ensaios diagnósticos. Os testes de desempenho de ensaios selecionados concluídos no sistema Tigris DTS foram aproveitados para dar suporte ao desempenho do ensaio no sistema Panther.

Ensaio CLEAR – Avaliação de base

O estudo CLEAR foi conduzido para determinar o desempenho clínico do Ensaio Aptima HPV no sistema Tigris DTS para detecção de neoplasia intraepitelial cervical de grau 2 ou doença cervical mais grave ($\geq$ CIN2). O estudo CLEAR incluiu uma avaliação inicial e uma avaliação de acompanhamento de 3 anos. As mulheres foram inscritas no estudo ASC-US ou no estudo NILM com base nos resultados da citologia do rastreamento rotineiro do câncer cervical. A população do estudo ASC-US incluiu mulheres com 21 anos ou mais com resultados de citologia ASC-US e a população do estudo NILM incluiu mulheres com 30 anos ou mais com resultados de citologia NILM. O estudo NILM foi desenvolvido para dar suporte à alegação de triagem adjuvante para mulheres com 30 anos ou mais, uma vez que mulheres nessa faixa etária com resultados de citologia maiores que ASC-US devem realizar colposcopia independentemente de seu status de HPV.³⁹

Foram inscritas mulheres de 18 locais clínicos, principalmente clínicas de obstetrícia/ginecologia, que cobriam uma ampla distribuição geográfica e uma população diversificada. Mulheres elegíveis foram designadas para o estudo ASC-US ou estudo NILM com base em sua amostra de citologia líquida ThinPrep de referência. No início do estudo, amostras residuais de referência de mulheres no estudo ASC-US e no estudo NILM foram testadas inicialmente com o Ensaio Aptima HPV no sistema Tigris DTS e um teste de DNA de HPV disponível comercialmente. As amostras foram então arquivadas e armazenadas a -70 °C até serem testadas com o Ensaio Aptima HPV no sistema Panther.

No início do estudo CLEAR (fase de linha de base), todas as mulheres no estudo ASC-US foram encaminhadas para colposcopia, independentemente dos resultados do teste de HPV. Uma biópsia de curetagem endocervical (CEC) e biópsias cervicais por punção (1 biópsia de cada um dos 4 quadrantes) foram obtidas. Se uma lesão fosse visível, uma biópsia por punção era obtida (método direcionado; 1 biópsia por lesão) e os quadrantes sem lesão visível eram biopsiados na junção escamocolumnar (método aleatório).

No estudo NILM, mulheres positivas no Ensaio Aptima HPV no sistema Tigris DTS e/ou no teste de DNA de HPV disponível comercialmente, bem como mulheres selecionadas aleatoriamente que foram negativas em ambos os ensaios, foram encaminhadas para colposcopia para avaliação inicial. As mulheres selecionadas aleatoriamente que apresentaram resultados negativos em ambos os ensaios foram incluídas para corrigir o viés de verificação com estimativas de desempenho ajustadas geradas usando um método de imputação múltipla. Uma biópsia de ECC foi obtida de cada mulher que compareceu à colposcopia. As biópsias por punção foram obtidas apenas de lesões visíveis (método direcionado; 1 biópsia por lesão).

O estado da doença foi determinado por um Painel de Revisão Histológica de Consenso, que foi baseado no acordo de pelo menos dois patologistas especialistas. Os patologistas especialistas não sabiam do status de HPV da mulher. Eles também foram mascarados quanto ao status da citologia, bem como aos diagnósticos histológicos um do outro. Se todos os três patologistas discordassem, todos eles revisariam as lâminas em um microscópio multiocular para chegar a um consenso. Pesquisadores, médicos e mulheres não tiveram acesso aos resultados do teste de HPV até a conclusão da consulta de colposcopia, para evitar viés.

No início do estudo, o desempenho clínico do Ensaio Aptima HPV para detecção de $\geq$ CIN2 e neoplasia intraepitelial cervical grau 3 ou doença cervical mais grave ($\geq$ CIN3) foi avaliado em relação ao estado da doença cervical determinado no início do estudo. O desempenho clínico do teste de DNA do HPV disponível comercialmente também foi determinado para comparação direta com os resultados do Ensaio Aptima HPV.

Estudo CLEAR – Avaliação de acompanhamento

Mulheres no estudo NILM de 14 locais clínicos eram elegíveis para participar da fase de acompanhamento de 3 anos do estudo se: i) tivessem uma consulta de colposcopia no início do estudo e não tivessem $\geq$ CIN2, ou ii) não tivessem uma consulta de colposcopia no início do estudo. A fase de acompanhamento do estudo consistiu em visitas anuais. Nessas visitas, foi realizada coleta de amostras cervicais para citologia em cada mulher, e algumas mulheres também foram testadas com um teste de HPV disponível comercialmente. Mulheres com resultados de citologia ASC-US ou mais graves durante o período de acompanhamento foram encaminhadas para colposcopia usando os mesmos procedimentos de biópsia e exame histológico realizados para a avaliação inicial do estudo NILM. O estado da doença cervical em uma visita de acompanhamento foi considerado “negativo” com base na citologia NILM ou, para mulheres com resultados anormais de teste de citologia, com base nos resultados normais ou do Painel de Revisão Histológica de Consenso CIN1. Mulheres que tiveram $\geq$ CIN2 detectado durante o período de acompanhamento foram consideradas como tendo completado o acompanhamento e não compareceram às consultas após $\geq$ CIN2 ter sido detectado. Mulheres que não tiveram $\geq$ CIN2 detectado durante o período de acompanhamento, mas que compareceram a uma visita de estudo no ano de acompanhamento 1 e/ou no ano de acompanhamento 2 e que compareceram a uma visita de estudo no ano de acompanhamento 3 foram consideradas como tendo concluído o acompanhamento.

O objetivo do estudo de acompanhamento foi comparar o risco cumulativo de 3 anos de doença cervical em mulheres com resultados positivos no Ensaio Aptima HPV com o risco cumulativo de 3 anos de doença cervical em mulheres com resultados iniciais negativos no Ensaio Aptima HPV. O estado da doença cervical em 3 anos foi determinado da seguinte forma:

- Estado positivo da doença cervical ($\geq$ CIN2 e/ou $\geq$ CIN3) – Mulheres que tiveram $\geq$ CIN2 detectado no início do estudo ou durante o acompanhamento.
- Estado negativo da doença cervical ($<$ CIN2) – Mulheres que completaram o acompanhamento sem detecção de $\geq$ CIN2 e que não foram consideradas como tendo estado “indeterminado” da doença cervical.
- Estado indeterminado da doença cervical – Mulheres que apresentaram resultados anormais de citologia durante o acompanhamento e que não apresentaram um resultado subsequente do Painel de Revisão Histológica de Consenso, ou mulheres com citologia inadequada na última consulta.
- Perda de acompanhamento – Mulheres que não concluíram o acompanhamento e que não foram consideradas como tendo status de doença cervical “indeterminado”.

O desempenho clínico do Ensaio Aptima HPV no sistema Panther para detecção de $\geq$ CIN2 e $\geq$ CIN3 foi avaliado em relação ao estado da doença cervical em 3 anos.

Desempenho do ensaio do sistema Panther

População ASC-US ≥21 anos: desempenho clínico do Ensaio Aptima HPV

No total, havia 1.252 mulheres com 21 anos de idade ou mais com resultados de citologia ASC-US inscritas no estudo ASC-US; dessas, 294 mulheres foram retiradas. As 958 mulheres restantes eram elegíveis para testes no sistema Panther. Duas mulheres tiveram amostras faltantes e 19 tiveram diagnóstico de doença indeterminado; todas foram excluídas da análise. As 937 mulheres avaliáveis restantes tinham 21 anos de idade ou mais, com resultados de citologia ASC-US, resultados do Ensaio Aptima HPV no sistema Panther e 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 avaliáveis com resultados de citologia ASC-US foi de 9,7% e 4,4%, respectivamente. Os resultados do Ensaio Aptima HPV pelo Painel de Revisão Histológica de Consenso são apresentados em Tabela 2.

Tabela 2: População ASC-US ≥21 anos – resultados do Ensaio Aptima HPV pelo Diagnóstico do Painel de Revisão Histológica de Consenso

Aptima HPV Resultado do ensaio*	Teste de DNA do HPV	Diagnóstico do Painel de Revisão Histológica de Consenso						
		Indeterminado**	Normal	CIN1	CIN2	CIN3	Câncer	Total
Positivo	Positivo	6	178	110	40	32	1	367
Positivo	Negativo	0	5	2	0	2	0	9
Positivo	Nenhum resultado***	0	15	11	0	2	0	28
Negativo	Positivo	0	39	15	3	3	0	60
Negativo	Negativo	10	372	53	7	1	0	443
Negativo	Nenhum resultado***	3	39	7	0	0	0	49
Total		19	648	198	50	40	1****	956

*Todas as amostras tiveram resultados finais válidos (após o teste inicial ou após a resolução de resultados inválidos iniciais por procedimento).

**19 indivíduos compareceram à consulta de colposcopia, mas o diagnóstico não pôde ser determinado pelos seguintes motivos: <5 amostras de biópsia obtidas, todas com resultados histológicos Normal/CIN1 (n=15), nenhuma biópsia coletada (n=3) e lâminas de biópsia perdidas (n=1).

***77 mulheres com resultados do Ensaio Aptima HPV não apresentaram resultados do teste de DNA do HPV, principalmente devido ao volume insuficiente da amostra citológica.

****Um sujeito tinha adenocarcinoma in situ (AIS).

As estimativas de desempenho clínico do Ensaio Aptima HPV, incluindo sensibilidade, especificidade, valor preditivo positivo (VPP) e valor preditivo negativo (VPN) para a detecção de ≥CIN2 e ≥CIN3 com base na avaliação de todas as biópsias e incluindo apenas biópsias direcionadas são mostradas em Tabela 3, assim como as estimativas para o teste de DNA do HPV disponível comercialmente.

Tabela 3: População ASC-US ≥21 anos – desempenho do Ensaio Aptima HPV e de um teste de DNA do HPV para detecção de ≥CIN2 e ≥CIN3

		Ensaio Aptima HPV N=937		Teste de DNA do HPV N=863*		
Desempenho		Estimativa	(CI 95%)	Estimativa	(CI 95%)	
≥CIN2	Todas as biópsias					
	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)		
	Biópsias direcionadas**					
	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 biópsias				
		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)		
Biópsias direcionadas**						
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 no Ensaio Aptima HPV não apresentaram resultados de teste de DNA do HPV, principalmente devido ao volume insuficiente da amostra citológica.

**O resultado da histologia de consenso foi derivado usando apenas resultados de biópsias direcionadas. Mulheres sem biópsias direcionadas refletem uma colposcopia normal e são incluídas nessas análises como não doentes (<CIN2 ou <CIN3, conforme apropriado). Nem sempre foi alcançado um consenso quando apenas biópsias direcionadas foram incluídas.

Ao avaliar todas as biópsias, as estimativas de sensibilidade clínica do Ensaio Aptima HPV e do teste de DNA do HPV disponível comercialmente para a detecção de $\geq$ CIN2 e $\geq$ CIN3, em que ambos os resultados do ensaio estão disponíveis, foram semelhantes (as diferenças nas estimativas de sensibilidade não foram estatisticamente significativas). Para $\geq$ CIN2 a diferença de sensibilidade foi de -4,5% (CI 95%: -12,2%, 2,5%). As estimativas de especificidade clínica do Ensaio Aptima HPV para a detecção de $\geq$ CIN2 e $\geq$ CIN3 foram maiores do que as do teste de DNA do HPV disponível comercialmente (as diferenças nas estimativas de especificidade foram estatisticamente significativas). Para $\geq$ CIN2, a diferença de especificidade foi de 6,1% (CI 95%: 4,2%, 8,2%). Os NPVs foram semelhantes, mas para a detecção de $\geq$ CIN2, o PPV para o Ensaio Aptima HPV foi ligeiramente maior que o PPV para o teste de DNA de HPV disponível comercialmente (19,3% x 18,8%).

Dos 91 casos $\geq$ CIN2, 60 (65,9%) foram identificados em biópsias direcionadas e 31 (34,1%) foram identificados em biópsias aleatórias e/ou ECC (ou seja, não em biópsias direcionadas). Essas descobertas são comparáveis aos resultados de estudos publicados, nos quais aproximadamente 25% a 40% dos casos $\geq$ CIN2 foram identificados apenas a partir de amostras de biópsia aleatória e/ou de ECC.^{40,41} Usando apenas biópsias direcionadas para determinar o estado da doença (assumindo que mulheres sem biópsias direcionadas tiveram resultados histológicos normais porque não havia lesões visíveis presentes), 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 maiores para ambos os testes usando apenas biópsias direcionadas do que as estimativas calculadas usando todas as biópsias. Para ambos os ensaios, a especificidade clínica usando apenas biópsias direcionadas foi semelhante à especificidade obtida com todas as biópsias incluídas. Consequentemente, ao utilizar apenas biópsias direcionadas, a especificidade do Ensaio Aptima HPV foi significativamente maior do que a do teste de DNA do HPV disponível comercialmente.

As estimativas de desempenho clínico do Ensaio Aptima HPV e do teste de DNA do HPV disponível comercialmente são mostradas por faixa etária em Tabela 4 e Tabela 5 ($\geq$ CIN2 e $\geq$ CIN3, respectivamente, com base na avaliação de todas as biópsias).

Tabela 4: População ASC-US ≥21 anos – desempenho do Ensaio Aptima HPV e de um teste de DNA do HPV para detecção de ≥CIN2 por faixa etária

		Ensaio Aptima HPV N=937		Teste de DNA do HPV N=863*	
Desempenho		Estimativa	(CI 95%)	Estimativa	(CI 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 no Ensaio Aptima HPV não apresentaram resultados de teste de DNA do HPV, principalmente devido ao volume insuficiente da amostra citológica.

Tabela 5: População ASC-US ≥21 anos – desempenho do Ensaio Aptima HPV e de um teste de DNA do HPV para detecção de ≥CIN3 por faixa etária

		Ensaio Aptima HPV N=937		Teste de DNA do HPV N=863*	
Desempenho		Estimativa	(CI 95%)	Estimativa	(CI 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 no Ensaio Aptima HPV não apresentaram resultados de teste de DNA do HPV, principalmente devido ao volume insuficiente da amostra citológica.

O risco absoluto de doença ($\geq$ CIN2 e $\geq$ CIN3, com base na avaliação de todas as biópsias) pelo resultado do Ensaio Aptima HPV e o risco relativo de doença para resultados positivos versus negativos do Ensaio Aptima HPV são mostrados em Tabela 6, assim como as estimativas para o teste de DNA do HPV disponível comercialmente. O risco relativo de $\geq$ CIN2 foi de 7,4 (CI 95%: 4,3, 13,0), indicando que uma mulher com Ensaio Aptima HPV positivo tinha 7,4 vezes mais probabilidade de ter $\geq$ CIN2 do que uma mulher com Ensaio Aptima HPV negativo. O risco relativo de $\geq$ CIN3 foi de 12,5 (CI 95%: 4,5, 34,9).

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

	Resultado do ensaio*	Ensaio Aptima HPV N=937		Teste de DNA do HPV N=863*	
		Risco absoluto (CI 95%)	Risco relativo (CI 95%)	Risco absoluto (CI 95%)	Risco relativo (CI 95%)
≥CIN2	Positivo	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)
	Negativo	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	Positivo	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)
	Negativo	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 no Ensaio Aptima HPV não apresentaram resultados de teste de DNA do HPV, principalmente devido ao volume insuficiente da amostra citológica.

As estimativas de risco absoluto e relativo da doença ($\geq$ CIN2 e $\geq$ CIN3, com base na avaliação de todas as biópsias) para o Ensaio Aptima HPV e o teste de DNA do HPV disponível comercialmente são mostradas por faixa etária em Tabela 7.

Tabela 7: População ASC-US $\geq$ 21 anos – riscos absolutos e relativos de $\geq$ CIN2 e $\geq$ CIN3 para resultados do Ensaio Aptima HPV e de um teste de DNA do HPV por faixa etária

		Ensaio Aptima HPV N=937		Teste de DNA do HPV N=863*		
Idade	Resultado do ensaio*	Risco absoluto (CI 95%)	Risco relativo (CI 95%)	Risco absoluto (CI 95%)	Risco relativo (CI 95%)	
≥CIN2	21 a 29 anos	N=415		N=389		
		Positivo	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)
		Negativo	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		
		Positivo	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)
		Negativo	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		
		Positivo	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)
		Negativo	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		
		Positivo	10,4 (26/249) (9,0, 11,5)	17,3 (2,4, 127)	9,3 (25/269) (8,2, 10,0)	Não calculável
		Negativo	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		
		Positivo	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)
		Negativo	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		
		Positivo	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)
		Negativo	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 no Ensaio Aptima HPV não apresentaram resultados de teste de DNA do HPV, principalmente devido ao volume insuficiente da amostra citológica.

População NILM ≥ 30 anos: desempenho clínico do Ensaio Aptima HPV com amostras de citologia líquida ThinPrep no início do estudo

No total, havia 11.644 mulheres com resultados de citologia NILM inscritas no estudo NILM; dessas, 773 mulheres foram retiradas. As 10.871 mulheres restantes eram elegíveis para testes no sistema Panther. Onze mulheres tiveram amostras faltantes e foram excluídas da avaliação inicial do Ensaio Aptima HPV no sistema Panther. As 10.860 mulheres avaliáveis restantes tinham 30 anos de idade ou mais, com resultados de citologia NILM e resultados do Ensaio Aptima HPV no sistema Panther. Das 512 mulheres com resultados positivos no Ensaio Aptima HPV no sistema Panther, 284 realizaram colposcopia no início do estudo. Das 10.348 mulheres com resultados negativos no Ensaio Aptima HPV, 580 realizaram colposcopia no início do estudo. Vinte (20) mulheres tinham $\geq \text{CIN}2$ e onze (11) tinham $\geq \text{CIN}3$; 798 mulheres tinham histologia Normal/CIN1; 46 mulheres tinham estado de doença indeterminado. Os resultados do Ensaio Aptima HPV no sistema Panther pelo diagnóstico do Pannel de Revisão Histológica de Consenso no início do estudo são apresentados em Tabela 8.

Tabela 8: População NILM ≥ 30 anos – resultados do Ensaio Aptima HPV e de um teste de DNA do HPV pelo diagnóstico do Pannel de Revisão Histológica de Consenso no início do estudo

Resultado do Ensaio Aptima HPV*	Teste de DNA do HPV	Diagnóstico do Pannel de Revisão Histológica de Consenso						Total
		Indeterminado**	Normal	CIN1	CIN2	CIN3	Câncer	
Positivo	Positivo	11	211	12	4	7	2	247
Positivo	Negativo	2	19	0	0	0	1	22
Positivo	Nenhum resultado***	2	12	1	0	0	0	15
Negativo	Positivo	10	170	7	2	1	0	190
Negativo	Negativo	20	353	9	2	0	0	384
Negativo	Nenhum resultado***	1	4	0	1	0	0	6
Total		46	769	29	9	8	3****	864

*Todas as amostras tiveram resultados finais válidos (após o teste inicial ou após a resolução de resultados inválidos iniciais por procedimento).

**46 indivíduos compareceram à consulta de colposcopia, mas o diagnóstico não pôde ser determinado pelos seguintes motivos: amostras de biópsia consideradas inadequadas (n=29), nenhuma biópsia coletada (n=15) e lâminas de biópsia perdidas (n=2).

***21 mulheres com resultados no Ensaio Aptima HPV não apresentaram resultados do teste de DNA do HPV, principalmente devido ao volume insuficiente da amostra citológica.

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

No total, 10.042 mulheres tinham estado de doença não verificado (incluindo indeterminado) no início do estudo (Tabela 9). Como apenas mulheres selecionadas aleatoriamente com resultados negativos tanto para o Ensaio Aptima HPV no sistema Tigris DTS quanto para o teste de DNA do HPV disponível comercialmente foram encaminhadas para colposcopia, a proporção de mulheres com estado de doença não verificado foi alta neste grupo (96,6%). Para ajustar esse viés de verificação, um método de imputação múltipla foi usado para estimar o número de mulheres com a doença que teriam sido identificadas se todas as mulheres tivessem sido submetidas à colposcopia. São apresentadas estimativas de desempenho ajustadas ao viés de verificação e estimativas de desempenho não ajustadas com base nas 818 mulheres com estado de doença verificado no início do estudo.

Tabela 9: População NILM ≥30 anos – classificação de mulheres NILM avaliáveis pelo Ensaio Aptima HPV e resultados de teste de DNA do HPV, estado da doença (≥CIN2 e ≥CIN3) e estado de verificação da doença

Aptima HPV Resultado do ensaio*		DNA do HPV Teste	Total de mulheres	Estado de doença verificado: ≥CIN2		Estado de doença verificado: ≥CIN3		Estado de doença não verificado
Sistema Panther	Sistema DTS Tigris			Mulheres doentes (≥CIN2)	Mulheres não doentes (<CIN2)	Mulheres doentes (≥CIN3)	Mulheres não doentes (<CIN3)	Mulheres com estado de doença desconhecido (% desconhecido)
Positivo	Positivo	Positivo	313	13	189	9	193	111 (35,5%)
Positivo	Positivo	Negativo	37	1	18	1	18	18 (48,6%)
Positivo	Positivo	Nenhum resultado**	22	0	13	0	13	9 (40,9%)
Positivo	Negativo	Positivo	70	0	34	0	34	36 (51,4%)
Positivo	Negativo	Negativo	60	0	1	0	1	59 (98,3%)
Positivo	Negativo	Nenhum resultado**	10	0	0	0	0	10 (100%)
Negativo	Positivo	Positivo	46	0	33	0	33	13 (28,3%)
Negativo	Positivo	Negativo	113	1	41	0	42	71 (62,8%)
Negativo	Positivo	Nenhum resultado**	8	0	4	0	4	4 (50,0%)
Negativo	Negativo	Positivo	236	3	144	1	146	89 (37,7%)
Negativo	Negativo	Negativo	9.354	1	321	0	322	9.032 (96,6%)
Negativo	Negativo	Nenhum resultado**	591	1	0	0	1	590 (99,8%)
Total			10.860	20	798	11	807	10.042 (92,5%)

*Todas as amostras tiveram resultados finais (após o teste inicial ou após a resolução de resultados inválidos iniciais por procedimento).

**631 mulheres com resultados no Ensaio Aptima HPV não apresentaram resultados de teste de DNA do HPV, principalmente devido ao volume insuficiente da amostra citológica.

A prevalência ajustada de $\geq$ CIN2 e $\geq$ CIN3 em mulheres com resultados de citologia NILM foi de 0,9% e 0,4%, respectivamente. As estimativas ajustadas de risco absoluto e relativo para detecção de $\geq$ CIN2 e $\geq$ CIN3 no início do estudo são mostradas em Tabela 10. O risco relativo ajustado de $\geq$ CIN2 foi de 7,5 (CI 95%: 2,1, 26,3), indicando que uma mulher com Ensaio Aptima HPV positivo tem 7,5 vezes mais probabilidade de ter $\geq$ CIN2 do que uma mulher com Ensaio Aptima HPV negativo. O risco relativo ajustado de $\geq$ CIN3 foi de 24,9 (CI 95%: 2,0, 307,0). As estimativas de risco absoluto e relativo não ajustado para detecção de $\geq$ CIN2 e $\geq$ CIN3 no início do estudo são mostradas globalmente em Tabela 11 e por faixa etária em Tabela 12.

Tabela 10: População NILM $\geq$ 30 anos – riscos absolutos e relativos de $\geq$ CIN2 e $\geq$ CIN3 para resultados do Ensaio Aptima HPV e de um teste de DNA do HPV (estimativas ajustadas por viés de verificação) no início do estudo

	Resultado do ensaio*	Ensaio Aptima HPV		Teste de DNA do HPV	
		Risco absoluto (CI 95%)	Risco relativo (CI 95%)	Risco absoluto (CI 95%)	Risco relativo (CI 95%)
≥CIN2	Positivo	4,5 (2,7, 7,4)	7,5 (2,1, 26,3)	3,7 (2,3, 6,1)	7,3 (1,6, 33,5)
	Negativo	0,6 (0,2, 1,9)		0,5 (0,1, 2,1)	
	Prevalência (%)		0,9	0,9	
≥CIN3	Positivo	3,0 (1,6, 5,5)	24,9 (2,0, 307,0)	2,3 (1,3, 4,1)	21,0 (1,0, 423,8)
	Negativo	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 resultados do Ensaio Aptima HPV e de um teste de DNA do HPV (estimativas não ajustadas) no início do estudo

	Resultado do ensaio*	Ensaio Aptima HPV N=818		Teste de DNA do HPV N=800*	
		Risco absoluto (CI 95%)	Risco relativo (CI 95%)	Risco absoluto (CI 95%)	Risco relativo (CI 95%)
≥CIN2	Positivo	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)
	Negativo	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	Positivo	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)
	Negativo	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 Ensaio Aptima HPV não apresentaram resultados do teste de DNA do HPV, principalmente devido ao volume insuficiente da amostra citológica.

Tabela 12: População NILM ≥30 anos – riscos absolutos e relativos de ≥CIN2 e ≥CIN3 para resultados do Ensaio Aptima HPV e de um teste de DNA do HPV por faixa etária (estimativas não ajustadas) no início do estudo

		Ensaio Aptima HPV N=818		Teste de DNA do HPV N=800*		
Idade	Resultado do ensaio*	Risco absoluto (CI 95%)	Risco relativo (CI 95%)	Risco absoluto (CI 95%)	Risco relativo (CI 95%)	
≥CIN2	30 a 39 anos	N=383		N=376		
		Positivo	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)
		Negativo	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)	
	≥40 Anos	N=435		N=424		
		Positivo	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)
		Negativo	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	30 a 39 anos	N=383		N=376	
			Positivo	3,3 (5/153) (1,6, 4,1)	7,5 (0,9, 63,7)	2,3 (5/215) (1,1, 2,9)
Negativo			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)	
≥40 Anos		N=435		N=424		
		Positivo	4,3 (5/116) (2,2, 5,1)	Não calculável	2,5 (5/201) (1,3, 2,8)	Não calculável
		Negativo	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 Ensaio Aptima HPV não apresentaram resultados do teste de DNA do HPV, principalmente devido ao volume insuficiente da amostra citológica.

As estimativas ajustadas de desempenho clínico do Ensaio Aptima HPV, incluindo sensibilidade, especificidade, PPV e NPV para a detecção de $\geq$ CIN2 e $\geq$ CIN3 no início do estudo são mostradas em Tabela 13, assim como as estimativas para o teste de DNA do HPV disponível comercialmente. As estimativas de desempenho clínico não ajustadas são mostradas em Tabela 14. O Ensaio Aptima HPV e o teste de DNA do HPV disponível comercialmente tiveram sensibilidade semelhante, enquanto a especificidade foi significativamente maior para o Ensaio Aptima HPV (CIs de 95% não sobrepostos). As estimativas de valor preditivo do Ensaio Aptima HPV foram clinicamente relevantes e semelhantes às estimativas do teste de DNA do HPV disponível comercialmente. Os NPVs foram semelhantes, mas, para a detecção de $\geq$ CIN2, o PPV para o Ensaio Aptima HPV foi ligeiramente maior que o PPV para o teste de DNA do HPV disponível comercialmente (4,5% x 3,7%).

Tabela 13: População NILM $\geq$ 30 anos – desempenho do Ensaio Aptima HPV e de um teste de DNA do HPV para detecção de $\geq$ CIN2 e $\geq$ CIN3 (estimativas ajustadas por viés de verificação) no início do estudo

Desempenho	Ensaio Aptima HPV		Teste de DNA do HPV	
	Estimativa	(CI 95%)	Estimativa	(CI 95%)
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)
$\geq$CIN2				
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)	
Sensibilidade (%)	54,0	(3,6, 100)	56,4	(0,4, 100)
Especificidade (%)	95,4	(95,0, 95,8)	93,6	(93,1, 94,1)
$\geq$CIN3				
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 Ensaio Aptima HPV e de um teste de DNA do HPV para detecção de ≥CIN2 e ≥CIN3 (estimativas não ajustadas) no início do estudo

Desempenho	Ensaio Aptima HPV N=818		Teste de DNA do HPV N=800*	
	Estimativa	(CI 95%)	Estimativa	(CI 95%)
≥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)
≥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 Ensaio Aptima HPV não apresentaram resultados do teste de DNA do HPV, principalmente devido ao volume insuficiente da amostra citológica.

A comparação direta do Ensaio Aptima HPV no sistema Panther e o teste de DNA do HPV disponível comercialmente demonstra sensibilidade semelhante e especificidade estatisticamente significativa melhorada do Ensaio Aptima HPV em relação ao teste de DNA do HPV disponível comercialmente para detecção de $\geq$ CIN2, conforme demonstrado pelas proporções de taxas de verdadeiro-positivo e falso-positivo (Tabela 15 e Tabela 16, respectivamente).

Tabela 15: População NILM $\geq$ 30 anos – proporção de taxas de verdadeiro-positivos (Ensaio Aptima HPV/teste de DNA do HPV) para mulheres com $\geq$ CIN2 (estimativas não ajustadas) no início do estudo

		Teste de DNA do HPV		Total
		Positivo	Negativo	
Ensaio Aptima HPV	Positivo	13	1	14 (73,7%)
	Negativo	3	2	5
	Total	16 (84,2%)	3	19
Proporção de taxas de verdadeiro-positivos = 0,88 (14/16) (CI 95%: 0,65, 1,10)				

Tabela 16: População NILM $\geq$ 30 anos – proporção de taxas de falso-positivos (Ensaio Aptima HPV/teste de DNA do HPV) para mulheres com $<$ CIN2 (estimativas não ajustadas) no início do estudo

		Teste de DNA do HPV		Total
		Positivo	Negativo	
Ensaio Aptima HPV	Positivo	223	19	242 (31,0%)
	Negativo	177	362	539
	Total	400 (51,2%)	381	781
Proporção de taxas de falso-positivos = 0,61 (242/400) (CI 95%: 0,55, 0,66)				

População NILM $\geq$ 30 anos: Ensaio Aptima HPV no desempenho clínico do sistema Panther após 3 anos de acompanhamento

Havia 10.843 mulheres com 30 anos de idade ou mais com resultados de citologia NILM e resultados válidos do Ensaio Aptima HPV no sistema Panther no início do estudo que eram elegíveis para a fase de acompanhamento. Das mulheres sem $\geq$ CIN2, 67,0% (7.247/10.823) das mulheres completaram 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. No geral, 58,8% (6.375/10.843) das mulheres concluíram o estudo (tinham $\geq$ CIN2 no início do estudo ou durante o acompanhamento e/ou concluíram as consultas necessárias).

Das 10.843 mulheres avaliáveis, 511 (4,7%) apresentaram resultados positivos no Ensaio Aptima HPV no sistema Panther no início do estudo. Dessas 511 mulheres, 255 (49,9%) apresentaram estado da doença positivo ou negativo em 3 anos com base nos resultados de citologia ou colposcopia/biópsia. As 10.332 mulheres restantes tiveram resultados negativos no Ensaio Aptima HPV no sistema Panther no início do estudo. Dessas 10.332 mulheres, 5.946 (57,5%) apresentaram estado positivo ou negativo da doença em 3 anos. Das 6.201 mulheres com estado de doença de 3 anos, 47 mulheres tinham $\geq$ CIN2, incluindo 23 com $\geq$ CIN3; 6.154 mulheres tinham estado normal/CIN1 segundo o Painel de Revisão Histológica de Consenso. Os resultados basais do Ensaio Aptima HPV no sistema Panther e do ensaio de DNA do HPV disponível comercialmente e o estado da doença de 3 anos (inclui avaliação basal e de acompanhamento) pelo Painel de Revisão Histológica de Consenso são apresentados em Tabela 17.

Tabela 17: População NILM $\geq$ 30 anos – classificação de mulheres elegíveis para a fase de acompanhamento pelos resultados basais do Ensaio Aptima HPV, resultados basais do teste de DNA do HPV e estado da doença ($\geq$ CIN2, $\geq$ CIN3, não verificado) determinado nas fases basais e de acompanhamento

Resultado do Ensaio Aptima HPV	Teste de DNA do HPV	Total de mulheres	Estado da doença verificado: $\geq$ CIN2		Estado da 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)	Perdido para Acompanhamento	Indeterminado*
Positivo	Positivo	382	23	171	16	178	167	21
Positivo	Negativo	97	1	48	1	48	44	4
Positivo	Nenhum 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	Nenhum resultado**	599	1	320	0	321	264	14
Total		10.843	47	6.154	23	6.178	4.378	264

*Mulheres que apresentaram resultados anormais de citologia durante o acompanhamento e que não apresentaram resultado posterior no Painel de Revisão Histológica de Consenso, e mulheres com citologia inadequada na última consulta. 174 mulheres com estado de doença indeterminado completaram seu acompanhamento conforme o protocolo.

**631 mulheres com resultados no Ensaio Aptima HPV não apresentaram resultados de teste de DNA do HPV, principalmente devido ao volume insuficiente da amostra citológica.

O risco cumulativo de doença em 3 anos ($\geq$ CIN2 e $\geq$ CIN3) é baseado na estimativa de Kaplan-Meier (análise de tabela de vida) e inclui doença detectada no início do estudo ou no acompanhamento. Mulheres que tinham alguma indicação de doença (ASC-US ou resultados de citologia mais graves), mas sem resultado do Painel de Revisão Histológica de Consenso, foram incluídas na análise usando um método de imputação múltipla para prever o número de mulheres com doença que teriam sido identificadas se tivessem sido submetidas à colposcopia.

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

Tabela 18: População NILM ≥ 30 anos – riscos absolutos e relativos cumulativos de 3 anos* de $\geq \text{CIN}2$ e $\geq \text{CIN}3$ para resultados do Ensaio Aptima HPV e de um teste de DNA do HPV no início do estudo

	Resultado do ensaio*	Ensaio Aptima HPV		Teste de DNA do HPV	
		Risco absoluto (CI 95%)	Risco relativo (CI 95%)	Risco absoluto (CI 95%)	Risco relativo (CI 95%)
≥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 cumulativos de 3 anos ajustados para outros possíveis vieses foram semelhantes aos riscos nesta tabela. Devido às diferenças previstas nos riscos no ano 1 e no ano 2 para os dois grupos de mulheres no estudo de acompanhamento (aquelas com colposcopia no início do estudo e aquelas sem colposcopia no início do estudo), apenas o risco cumulativo de 3 anos para os grupos combinados foi relatado.

A prevalência cumulativa de 3 anos de $\geq \text{CIN}2$ e $\geq \text{CIN}3$ em mulheres com resultados de citologia NILM no início do estudo foi de 0,68% e 0,34%, respectivamente. O risco relativo de $\geq \text{CIN}2$ foi de 24,45 (CI 95% 13,85, 43,15), indicando que uma mulher com Ensaio Aptima HPV positivo no sistema Panther tem 24,45 vezes mais probabilidade de ter $\geq \text{CIN}2$ do que uma mulher com Ensaio Aptima HPV negativo. O risco relativo de $\geq \text{CIN}3$ foi de 57,11 (CI 95%: 21,09, 154,62).

Desempenho clínico do Ensaio Aptima HPV com amostras de citologia líquida SurePath

Amostras de citologia líquida SurePath foram coletadas de mulheres canadenses (n=1.350) que foram encaminhadas para acompanhamento devido a um ou mais testes de Papanicolaou anormais, infecção por HPV ou algum outro motivo. Uma alíquota (0,5 mL) de cada amostra foi transferida para um tubo de transferência de amostras Aptima e então tratada usando a solução de transferência Aptima. Uma única réplica de cada amostra foi testada com o Ensaio Aptima HPV. Uma alíquota separada (1 mL) de cada amostra foi removida para avaliação com um teste de PCR para HPV disponível comercialmente. A sensibilidade clínica para a detecção da doença, definida como um resultado histológico $\geq$ CIN3, foi calculada tanto para o Ensaio Aptima HPV quanto para o teste de PCR para HPV, conforme mostrado em Tabela 19, com os valores preditivos positivos e negativos.

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

Desempenho	Ensaio Aptima HPV N=1.326		Teste PCR para HPV N=1.351	
	Estimativa	(CI 95%)	Estimativa	(CI 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 coleta e transporte de amostra cervicais

Amostras pareadas de citologia líquida ThinPrep e amostras do kit Aptima CSCT foram coletadas de 735 indivíduos. Um mililitro (1,0 mL) de cada amostra de citologia líquida ThinPrep foi diluído em 2,9 mL de meio de transporte de amostras Aptima e uma única réplica foi testada com o Ensaio Aptima HPV no sistema Tigris DTS. Uma única réplica de cada amostra CSCT também foi testada com o Ensaio Aptima HPV. A concordância percentual do Ensaio Aptima HPV entre a amostra de citologia líquida ThinPrep e a amostra CSCT foi determinada, e os resultados são mostrados em Tabela 20.

A porcentagem de concordância positiva foi de 95,9% (CI 95%: 92,6-97,8); a porcentagem de concordância negativa foi de 95,5% (CI 95%: 93,3-97,0); e a concordância geral foi de 95,6% (CI 95%: 93,9-96,9). Foi observada uma forte correlação entre as amostras de citologia líquida e do kit de transporte ($\kappa = 0,90$).

Tabela 20: Concordância geral dos resultados do Ensaio Aptima HPV de amostras de citologia líquida ThinPrep e amostras do kit de coleta e transporte de amostras cervicais Aptima testadas no sistema Tigris DTS

		Amostra de citologia líquida ThinPrep		
		Positivo	Negativo	Total
Amostra 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

Amostras clínicas de alto risco positivas para HPV e de alto risco negativas para HPV coletadas de populações de triagem (consulta de rotina) e encaminhamento (consulta de colposcopia) com o kit Aptima CSCT foram testadas com o Ensaio Aptima HPV nos sistemas Panther e Tigris DTS usando dois lotes de reagentes. A concordância entre os sistemas DTS Panther e Tigris para amostras CSCT é mostrada em Tabela 21.

Para amostras CSCT, a concordância geral entre os sistemas Panther e Tigris DTS foi >98%, conforme mostrado em Tabela 21. Das 632 amostras clínicas testadas, 69 eram CIN2+ e 38 eram CIN3+. A sensibilidade do Ensaio Aptima HPV para detecção de CIN2+ foi de 97,1% (CI de 95% 90,0%-99,2%) no sistema Panther e de 98,6% (CI de 95%: 92,2-99,7) no sistema Tigris DTS. A sensibilidade para detecção de CIN3+ foi de 100% (CI: 90,8%-100%) nos sistemas Panther e Tigris DTS.

Tabela 21: Concordância dos resultados do Ensaio Aptima HPV a partir de amostras Aptima CSCT testadas nos sistemas Tigris DTS e Panther

		Sistema DTS Tigris		
		Positivo	Negativo	Total
Sistema Panther	Positivo	490	3	493
	Negativo	9	130	139
	Total	499	133	632

Concordância geral = 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 Ensaio Aptima HPV com amostras biológicas do swab de amostras biológicas multiteste Aptima

O desempenho clínico de amostras biológicas vaginais coletadas com o kit de coleta de amostras biológicas de swab multiteste Aptima foi demonstrado em um estudo realizado com mulheres de 24 a 64 anos na Inglaterra.⁴⁵ As mulheres elegíveis (que atendiam aos critérios de inclusão e tinham resultados válidos de HPV coletados pelo médico e autocoletados) incluíam aquelas encaminhadas para colposcopia para investigação adicional após um resultado positivo ou inadequado do teste de HPV coletado pelo médico na triagem primária ou em um retorno precoce no máximo 8 semanas (≤ 56 dias) antes da colposcopia ($n=78$), e aquelas com idade entre 24 e 64 anos que estavam com a triagem de rotina para câncer cervical próxima ou atrasada ($n=903$).

Foram coletadas amostras de cada participante do estudo, tanto por autocoleta quanto por médico. As amostras biológicas vaginais coletadas utilizando o kit de coleta de amostras biológicas de swab multiteste Aptima foram pré-aquecidas a 90 °C por 75 minutos e deixadas esfriar antes do processamento no sistema Panther.

A sensibilidade relativa condicional para amostras autocoletadas foi definida como a proporção de casos NIC2+ detectados por meio de uma amostra positiva coletada pelo médico que também apresentou resultado positivo no teste de HPV em uma amostra autocoletada durante uma consulta de colposcopia de rotina.

Para avaliar a especificidade relativa condicional em mulheres sem NIC2+, comparou-se o número de mulheres no contexto do rastreamento primário com um resultado negativo no teste de amostra autocoletada em uma consulta de rotina com o número de mulheres com um resultado negativo no teste da amostra coletada pelo médico.

A sensibilidade relativa condicional estimada para neoplasia intraepitelial cervical de alto grau (NIC2+) foi de 0,92 (0,86–0,96) e para NIC3+ foi de 1 (0,92–1,00). A estimativa da especificidade relativa para NIC2+ foi de 0,87 (0,85–0,89).

Limite de detecção (LoD) em amostras biológicas cervicais no cutoff clínico

O Limite de Detecção (LoD) no ponto de corte clínico é a concentração de RNA do HPV que dá um resultado positivo (acima do ponto de corte clínico) 95% das vezes. O LoD do Ensaio Aptima HPV foi determinado testando painéis de diluição de transcrições in vitro (IVT) para todos os 14 genótipos de alto risco e 4 linhas celulares infectadas por HPV: SiHa, HeLa, MS751 e ME180 (ATCC, Manassas, Virgínia). Para os painéis IVT, o meio de transporte de amostras foi enriquecido com IVT em várias concentrações e então diluído com amostras individuais negativas de citologia líquida ThinPrep antes do teste. Para os painéis de células infectadas por HPV, pools de amostras de citologia líquida ThinPrep negativas para HPV foram enriquecidos com células infectadas por HPV em várias concentrações e então diluídos com meio de transporte de amostras antes do teste. Trinta réplicas de cada nível de cópia foram testadas com cada um dos dois lotes de reagentes, totalizando 60 réplicas. Os testes foram realizados ao longo de 17 dias, com 1 a 12 execuções realizadas por dia e 5 réplicas de um determinado genótipo e concentração testadas 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 em Tabela 22 mostram que os HPV 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 56, 59 e 68 tiveram limites de detecção de 95% menores que 100 cópias/reação; e os tipos 52, 58 e 66 tiveram limites de detecção de 95% entre 100 e 500 cópias/reação. As quatro linhas celulares testadas tiveram limites de detecção de 95%, menos que 1 célula/reação.

Tabela 22: Limite de detecção em amostras cervicais coletadas por profissionais de saúde no ponto de corte clínico

Alvo	Limite de detecção* (CI 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 IVT e células por reação para linhas celulares

Limite de detecção (LoD) em amostras biológicas vaginais no cutoff clínico

O LoD do Ensaio Aptima HPV foi determinado testando painéis de diluição de IVT para todos os 14 genótipos de alto risco e 4 linhas celulares infectadas por HPV (SiHa, HeLa, ME180 e MS751) na matriz de amostras biológicas vaginais autocoletadas e negativas para HPV. Cada amostra biológica negativa de swab vaginal foi enriquecida com concentrações alvo abaixo, no nível e acima do LoD. Vinte réplicas de cada concentração foram testadas com cada um dos 2 lotes de reagentes, utilizando 2 sistemas Panther/Panther Fusion. O LoD no cutoff clínico foi definido como a concentração de RNA do HPV que apresentou um resultado positivo em pelo menos 95% dos casos.

A Tabela 23 apresenta o LoD estabelecido a partir do lote de reagentes que produz o LoD mais conservador (mais alto), com intervalo de confiança bilateral de 95%. Os HPV 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 66 e 68 apresentaram limites de detecção de 95% inferiores a 100 cópias/reação; os HPV 52, 56, 58 e 59 apresentaram limites de detecção de 95% entre 100 e 600 cópias/reação. As 4 linhagens celulares apresentam um limite de detecção de 95% com 1 ou menos de 1 célula/reação.

Tabela 23: Limite de detecção em amostras biológicas vaginais autocoletadas 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 IVT e células por reação para linhas celulares

Precisão do ensaio

A precisão do Ensaio Aptima HPV foi avaliada em dois estudos usando o mesmo painel de 20 membros. O Estudo 1 foi conduzido em 3 locais, 2 externos e 1 interno, e o Estudo 2 foi conduzido internamente. O painel incluiu 13 membros HPV-positivos com concentrações iguais ou superiores ao limite de detecção do ensaio (positividade esperada: $\geq 95\%$), 3 membros HPV-positivos com concentrações abaixo do limite de detecção do ensaio (positividade esperada: $>0\%$ a $<25\%$) e 4 membros HPV-negativos. Os membros do painel positivos para HPV foram preparados adicionando transcrições de RNA *in vitro* (IVT) na solução PreservCyt diluída com meio de transporte de amostras (STM) ou células cultivadas infectadas com HPV (SiHa, HeLa e MS751; ATCC, Manassas, Virgínia) em amostras citológicas líquidas ThinPrep negativas agrupadas diluídas com STM. Os membros do painel HPV-negativos foram preparados com solução PreservCyt ou amostras de citologia líquida ThinPrep negativas agrupadas diluídas com STM.

No Estudo 1, 2 operadores em cada um dos 3 locais de teste (1 instrumento por local) realizaram 2 listas de trabalho de Ensaio Aptima HPV 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. Cento e oito (108) tubos de amostra individuais foram testados 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 conduzidos internamente ao longo de 13 dias, com um total de 162 reações testadas para cada membro do painel (1 local x 3 instrumentos x 3 operadores x 3 lotes x 2 listas de trabalho x 3 réplicas).

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

Tabela 24a: Estudo de precisão do Ensaio Aptima HPV 1 e 2 – descrição do painel, concordância positiva e distribuição percentual dos valores de S/CO do analito para 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 95%)	S/CO do analito Percentil			% de concordância positiva (CI 95%)	S/CO do analito Percentil		
		2,5°	50°	97,5°		2,5°	50°	97,5°
Amostra clínica 1 de HPV altamente positivo	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 2 de HPV altamente positivo	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 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 HPV 18 (1.550 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 1 de HPV baixo positivo	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 2 de HPV baixo positivo	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 3 de HPV baixo positivo	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 4 de HPV baixo positivo	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 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 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 = transcrição *in vitro*

*% de concordância positiva esperada ~95%; observada possivelmente menor devido à variabilidade de fabricação do membro do painel.

Tabela 24b: Estudo de precisão do Ensaio Aptima HPV 1 e 2 – descrição do painel, concordância negativa e distribuição percentual dos valores de S/CO do analito para 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 95%)	S/CO do analito Percentil			% de concordância negativa (CI 95%)	S/CO do analito Percentil		
		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 de HPV negativo	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 de HPV negativo	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: Estudo de precisão do Ensaio Aptima HPV 1 – variabilidade do sinal para membros do painel com resultados positivos esperados

Descrição do painel (cópias ou células/reacção)	n	Média S/CO	Entre instrumentos		Entre operadores		Entre lotes		Entre listas de trabalho		Dentro das listas de trabalho		Total	
			DP	CV (%)	DP	CV (%)	DP	CV (%)	DP	CV (%)	DP	CV (%)	DP	CV (%)
Amostra clínica 1 de HPV altamente positivo	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 2 de HPV altamente positivo	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 HPV 16 (1.830 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 HPV 18 (1.550 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 1 de HPV baixo positivo	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 2 de HPV baixo positivo	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 3 de HPV baixo positivo	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 4 de HPV baixo positivo	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 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 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 = transcrição *in vitro*; DP = desvio padrão

*Doze amostras apresentaram resultados inválidos do Ensaio Aptima HPV (1 para amostra clínica 1 altamente positiva para HPV, 1 para amostra clínica 2 altamente positiva para HPV, 1 para IVT HPV 16 (1.830 cópias), 1 para IVT HPV 18 (1.550 cópias), 1 para amostra clínica 1 de HPV baixo positivo, 6 para IVT HPV 16 (183 cópias) e 1 para células SiHa (0,90 células)).

Observação: a variabilidade de alguns fatores poderá ser numericamente negativa. Isso poderá ocorrer se a variabilidade for muito pequena devido a esses fatores. Nesses casos, o DP e o CV serão mostrados como zero.

Tabela 26: Estudo de precisão 2 do Ensaio Aptima HPV – variabilidade do sinal para membros do painel com resultados positivos esperados

Descrição do painel (cópias ou células/reacção)	n	Média S/CO	Entre instrumentos		Entre operadores		Entre lotes		Entre listas de trabalho		Dentro das listas de trabalho		Total	
			DP	CV (%)	DP	CV (%)	DP	CV (%)	DP	CV (%)	DP	CV (%)	DP	CV (%)
Amostra clínica 1 de HPV altamente positivo	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 2 de HPV altamente positivo	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 HPV 16 (1.830 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 HPV 18 (1.550 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 1 de HPV baixo positivo	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 2 de HPV baixo positivo	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 3 de HPV baixo positivo	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 4 de HPV baixo positivo	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 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 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 = transcrição *in vitro*; DP = desvio padrão

*Seis amostras apresentaram resultados inválidos no Ensaio Aptima HPV (1 para amostra clínica 1 altamente positiva para HPV, 1 para IVT HPV 16 (1.830 cópias), 1 para amostra clínica 3 para HPV baixo positivo, 3 para IVT HPV 18 (155 cópias)).

Observação: a variabilidade de alguns fatores poderá ser numericamente negativa. Isso poderá ocorrer se a variabilidade for muito pequena devido a esses fatores. Nesses casos, o DP e o CV serão mostrados como zero.

Reatividade cruzada

Observação: testes com organismos potencialmente reativos para o Ensaio Aptima HPV foram realizados usando o sistema Tigris DTS. O Ensaio Aptima HPV foi lançado pela primeira vez no sistema Tigris DTS em 2008. Em 2011, as indicações foram expandidas para usar o Ensaio Aptima HPV no sistema Panther. O sistema Panther é uma plataforma de instrumentos menor e alternativa ao sistema Tigris DTS. Ambos os sistemas foram projetados para automatizar completamente os testes de ácido nucleico amplificado em ensaios diagnósticos. Os testes de desempenho de ensaios selecionados concluídos no sistema Tigris DTS foram aproveitados para dar suporte ao desempenho do ensaio no sistema Panther.

A especificidade analítica do Ensaio Aptima HPV foi avaliada com meio de solução PreservCyt diluído 1:2,9 em STM e enriquecido com bactérias, leveduras ou fungos cultivados; vírus cultivados; ou transcrições *in vitro* de HPV de baixo risco. Os organismos e as concentrações de teste são identificados em Tabela 27. Os critérios do estudo para avaliar o efeito da presença do microrganismo na especificidade do ensaio foram baseados 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: Painel de especificidade analítica – organismos e concentração sem reatividade cruzada

Organismo	Teste Concentração sem reatividade cruzada	Organismo	Teste Concentração sem reatividade cruzada
Bactérias			
<i>Acinetobacter lwoffii</i>	1x10 ⁸ UFC/mL	<i>Lactobacillus mucosae</i> *	1x10 ⁶ UFC/mL
<i>Actinomyces israelii</i>	1x10 ⁸ UFC/mL	<i>Leptotrichia buccalis</i> *	1x10 ⁶ UFC/mL
<i>Alcaligenes faecalis</i>	1x10 ⁸ UFC/mL	<i>Listeria monocytogenes</i>	1x10 ⁸ UFC/mL
<i>Atopobium vaginae</i>	5x10 ⁷ UFC/mL	<i>Micrococcus luteus</i>	1x10 ⁸ UFC/mL
<i>Bacillus cereus</i>	1x10 ⁸ UFC/mL	<i>Mobiluncus curtisii</i>	2x10 ⁷ UFC/mL
<i>Bacteroides fragilis</i>	1x10 ⁸ UFC/mL	<i>Mycobacterium smegmatis</i>	1x10 ⁸ UFC/mL
<i>Bacteroides ureolyticus</i>	1x10 ⁸ UFC/mL	<i>Mycoplasma fermentans</i>	5x10 ⁷ UFC/mL
<i>Bifidobacterium adolescentis</i>	1x10 ⁸ UFC/mL	<i>Mycoplasma genitalium</i>	1x10 ⁸ UFC/mL
<i>Bifidobacterium breve</i>	1x10 ⁸ UFC/mL	<i>Mycoplasma hominis</i>	5x10 ⁷ UFC/mL
<i>Bifidobacterium longum</i> *	1x10 ⁸ UFC/mL	<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	1x10 ⁸ UFC/mL
<i>Campylobacter fetus-fetus</i>	1x10 ⁸ UFC/mL	<i>Neisseria gonorrhoeae</i> e <i>Chlamydia trachomatis</i>	2,5x10 ⁷ UFC/mL 2,3x10 ⁵ TCID ₅₀ /mL
<i>Campylobacter jejuni</i> *	1x10 ⁶ UFC/mL	<i>Neisseria meningitidis</i>	1x10 ⁸ UFC/mL
<i>Chlamydia trachomatis</i>	3,2x10 ⁵ TCID ₅₀ /mL	<i>Peptoniphilus lacrimalis</i>	1x10 ⁸ UFC/mL
<i>Clostridium difficile</i>	6x10 ⁷ UFC/mL	<i>Peptostreptococcus anaerobius</i>	1x10 ⁸ UFC/mL
<i>Clostridium perfringens</i>	1x10 ⁸ UFC/mL	<i>Prevotella bivia</i> *	1x10 ⁶ UFC/mL
<i>Corynebacterium genitalium</i>	1x10 ⁸ UFC/mL	<i>Propionibacterium acnes</i>	1x10 ⁸ UFC/mL
<i>Corynebacterium xerosis</i>	1x10 ⁸ UFC/mL	<i>Proteus mirabilis</i>	1x10 ⁸ UFC/mL
<i>Eggerthella lenta</i> *	1x10 ⁶ UFC/mL	<i>Proteus vulgaris</i>	1x10 ⁸ UFC/mL
<i>Enterobacter cloacae</i>	1x10 ⁸ UFC/mL	<i>Providencia stuartii</i>	1x10 ⁸ UFC/mL
<i>Enterococcus faecalis</i>	1x10 ⁸ UFC/mL	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	1x10 ⁸ UFC/mL
<i>Escherichia coli</i>	1x10 ⁸ UFC/mL	<i>Ruminococcus productus</i>	1x10 ⁸ UFC/mL

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

Organismo	Teste Concentração sem reatividade cruzada	Organismo	Teste Concentração sem reatividade cruzada
<i>Finegoldia magna</i>	1x10 ⁸ UFC/mL	<i>Serratia marcescens</i>	1x10 ⁸ UFC/mL
<i>Fusobacterium nucleatum</i>	1x10 ⁸ UFC/mL	<i>Sneathia amnii</i> *	1x10 ⁸ UFC/mL
<i>Gardnerella vaginalis</i>	1x10 ⁸ UFC/mL	<i>Staphylococcus aureus</i>	1x10 ⁸ UFC/mL
<i>Haemophilus ducreyi</i>	1x10 ⁸ UFC/mL	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	1x10 ⁸ UFC/mL
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	1x10 ⁸ UFC/mL	<i>Staphylococcus saprophyticus</i>	1x10 ⁸ UFC/mL
<i>Lactobacillus acidophilus</i>	1x10 ⁸ UFC/mL	<i>Streptococcus agalactiae</i>	1x10 ⁸ UFC/mL
<i>Lactobacillus crispatus</i>	1x10 ⁸ UFC/mL	<i>Streptococcus pyogenes</i>	1x10 ⁸ UFC/mL
<i>Lactobacillus delbrueckii ssp. bulgaricus</i>	1x10 ⁸ UFC/mL	<i>Streptococcus sanguinis</i>	1x10 ⁸ UFC/mL
<i>Lactobacillus gasseri</i> *	1x10 ⁸ UFC/mL	<i>Ureaplasma parvum</i> *	1x10 ⁶ cópias genômicas/mL
<i>Lactobacillus iners</i> *	1x10 ⁸ UFC/mL	<i>Ureaplasma urealyticum</i>	1x10 ⁸ UFC/mL
<i>Lactobacillus jensenii</i>	1x10 ⁸ UFC/mL		
Levedura/protozoário			
<i>Candida albicans</i>	1x10 ⁸ UFC/mL	<i>Pichia fermentans</i> *	1x10 ⁶ UFC/mL
<i>Cryptococcus neoformans</i> *	1x10 ⁶ UFC/mL	<i>Trichomonas tenax</i> *	1x10 ⁶ células/mL **
<i>Pentatrichomonas hominis</i> *	1x10 ⁶ células/mL	<i>Trichomonas vaginalis</i>	1x10 ⁷ células/mL
Vírus			
Adenovírus 2	1x10 ⁷ vp/mL	Vírus do herpes simples 1	2,5x10 ⁵ TCID ₅₀ /mL
Adenovírus 40*	1x10 ⁵ cópias genômicas/ mL	Vírus do herpes simples 2	5x10 ⁴ TCID ₅₀ /mL
Citomegalovírus	5,6x10 ² TCID ₅₀ /mL	HIV-1	1,0x10 ⁶ cópias/mL
Vírus Epstein-Barr	4,3x10 ⁶ vp/mL	SV40	1,2 x10 ⁴ TCID ₅₀ /mL
Genótipos de HPV não direcionados			
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

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

Observação: negrito indica tipos onde reatividade cruzada (> 5% de positividade) foi observada quando testados em concentrações maiores do que as indicadas na tabela.

*Outros organismos foram avaliados quanto à reatividade cruzada e interferência microbiana em amostras vaginais autocoletadas. Um painel composto por 15 organismos foi testado em STM na ausência ou na presença de células SiHa a 3X LoD. Não foi observada nenhuma reação cruzada ou interferência microbiana para nenhum dos organismos nas concentrações listadas.

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

A sensibilidade analítica do Ensaio Aptima HPV na presença de microrganismos foi avaliada com o mesmo painel descrito em Tabela 27, que também foi enriquecido com uma baixa concentração de células SiHa infectadas pelo HPV (1 célula por reação). Os critérios do estudo para avaliar o efeito da presença de microrganismos na sensibilidade do ensaio foram baseados na positividade. A sensibilidade do Ensaio Aptima HPV não foi afetada por nenhum dos organismos testados.

Interferência

Observação: os testes com potenciais substâncias interferentes para o Ensaio Aptima HPV foram realizados usando o sistema Tigris DTS. O Ensaio Aptima HPV foi lançado pela primeira vez no sistema Tigris DTS em 2008. Em 2011, as indicações foram expandidas para usar o Ensaio Aptima HPV no sistema Panther. O sistema Panther é uma plataforma de instrumentos menor e alternativa em comparação ao sistema Tigris DTS. Ambos os sistemas foram projetados para automatizar completamente os testes de ácido nucleico amplificado em ensaios diagnósticos. Os testes de desempenho de ensaios selecionados concluídos no sistema Tigris DTS foram aproveitados para dar suporte ao desempenho do ensaio no sistema Panther.

As substâncias descritas em Tabela 28 foram adicionadas individualmente à solução PreservCyt a 1% e 10% v/v ou p/v, diluídas com STM e então testadas com o Ensaio Aptima HPV. Todas as substâncias foram testadas na presença e ausência de células cultivadas infectadas 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 nenhuma das outras substâncias testadas.

Tabela 28: Substâncias testadas para possível interferência no Ensaio Aptima HPV

Categoria do produto	Marca ou tipo de produto	Maior concentração* testada que não interferiu no desempenho do ensaio
Lubrificante	KY Sensual Mist	10% v/v
	KY – gel aquecedor	10% p/v
	KY – líquido aquecedor	10% v/v
	CVS – lubrificante íntimo	10% p/v
	Target – loção de massagem aquecedora e lubrificante íntimo	10% v/v
	Astroglide – lubrificante íntimo**	0,3% p/v (amostra de teste 0,075% p/v)
	Target – líquido lubrificante**	0,1% v/v (amostra de teste 0,025% v/v)
Espermicida	Gynol II – contraceptivo vaginal, fórmula original	10% p/v
	Gynol II – contraceptivo vaginal, extraforte	10% p/v
	Delfen – contraceptivo vaginal, espuma	10% p/v
	Encare – contraceptivo vaginal	10% p/v
	Conceptrol – contraceptivo vaginal	10% p/v
Antifúngico/ Medicamento antioceira	Vagisil – potência máxima	10% p/v
	Monistat – cuidado suave	10% p/v
	Monistat – embalagem com 3	10% p/v
	Target – Tioconazol 1	0,3% p/v (amostra de teste 0,075% p/v)
	Target – Miconazol 3	10% p/v
Gel antibiótico[†]	Gel de metronidazol	123 µg/mL
Creme antiviral[†]	Crema Zovirax (Aciclovir)	66 µg/mL
	Crema Abreva para herpes	5% p/v
Crema para hemorroidas[†]	Crema para hemorroidas Anusol ^{††}	1% p/v
	Crema para hemorroidas Preparation H	5% p/v

Tabela 28: Substâncias testadas para possível interferência no Ensaio Aptima HPV (continuação)

Categoria do produto	Marca ou tipo de produto	Maior concentração* testada que não interferiu no desempenho do ensaio
Creme esteroide†	Creme Cortizone-10 Max Strength para alívio da coceira	5% p/v
Ducha†	Solução antisséptica de preparação de povidona-iodo Dynarex	5% v/v
	Ducha vaginal Summer's Eve, vinagre e água para limpeza extra	5% v/v
	Ducha vaginal Summer's Eve para redução de odores	5% p/v
Sabonete íntimo†	Sabonete líquido Summer's Eve	5% v/v
	Lavagem a seco Vagisil	5% v/v
Gel eliminador de odores†	Gel eliminador de odores RepHresh	5% v/v
Antisséptico para as mãos†	Antisséptico para as mãos Germ-X	5% p/v
Sabonete para as mãos†	Sabonete antibacteriano para as mãos Dial	5% p/v
	Sabonete líquido para mãos Method	5% p/v
Loção†	Loção corporal NIVEA	5% p/v
	Loção hidratante CeraVe	5% p/v
Protetor solar†	Protetor Solar Neutrogena	5% p/v
	Protetor solar hidratante NIVEA	5% p/v
	Protetor solar mineral Coppertone Sport††	2,5% p/v
Ácido acético glacial	EMD M/N AX0073-11	10% v/v
Sangue total	Sangue total	10% v/v
Muco†	Mucina suína††	2,5% p/v
Hormônios intravaginais†	Estradiol (estrogênio)	7,5 µg/mL
	Progesterona	0,18 mg/mL
Fluido seminal†	Fluido seminal	5% v/v
Leucócitos†	Leucócitos	1x10 ⁶ células/mL

*Concentração na amostra biológica da solução PreservCyt; a concentração da amostra de teste é 1/4 da concentração devido à transferência de

amostras biológicas na solução PreservCyt ao tubo de transferência contendo STM.

**Lubrificantes íntimos que contêm Poliquatérnio 15.

†Outras substâncias foram avaliadas quanto à interferência em amostras vaginais autocoletadas. Um painel composto por 15 substâncias foi testado em STM na ausência ou na presença de células SiHa a 3X LoD.††Observou-se interferência com os seguintes produtos quando presentes em concentrações superiores às especificadas: creme para hemorroida (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.

††Observou-se interferência com os seguintes produtos quando presentes em concentrações superiores às especificadas: creme para hemorroida (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., Paull, E.I. Svare, M.E. Sherman, B.L. Thomsen, M. Suntum, J.E. Bock, P.A. Poll, and C.J.L.M. Meijer.** 2002. Type specific persistence of high risk human papillomavirus (HPV) as indicator of high grade cervical squamous intraepithelial lesions in young women: population based prospective follow up study. *BMJ*. **325(7364)**: 572-579.
6. **Burd, EM** 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 JG e LA 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 contato e histórico de revisões



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



Hologic BV
Da Vincilaan 5
1930 Zaventem
Bélgica

Patrocinador australiano
Hologic (Austrália e Nova
Zelândia) Pty. Ltd.
Macquarie Park NSW 2113

Para suporte técnico específico do país e endereço de e-mail e número de telefone do serviço de atendimento ao cliente, visite www.hologic.com/support.

Incidentes graves que ocorram em relação ao dispositivo na União Europeia devem ser reportados ao fabricante e à autoridade competente do Estado-Membro em que o usuário e/ou o paciente estão estabelecidos.

Hologic, Aptima, DTS, Genesis, Panther, Panther Fusion, PreservCyt, ThinPrep, Tigris e logotipos associados são marcas comerciais ou marcas registradas da Hologic, Inc. e/ou suas subsidiárias nos Estados Unidos e/ou em outros países.

SurePath e PrepStain são marcas registradas da BD.

Todas as outras marcas comerciais que possam aparecer neste folheto informativo são propriedade dos seus respectivos proprietários.

Este produto pode estar coberto por uma ou mais patentes dos EUA indicadas em www.hologic.com/patents.

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

AW-22202-2301 Rev. 002
2026-04

Histórico de revisões	Data	Descrição
AW-22202-2301 Rev.001	Junho de 2025	Esta versão está alinhada com AW-22202 Rev. 002 (This versión aligns with AW-22202 Rev. 002)
AW-22202-2301 Rev. 002	Abril de 2026	• Adição de informações de segurança, como boas práticas padrão e precauções universais • Atualização da Tabela SDS • Atualização das instruções para o preparo dos reagentes do novo kit • Atualização da seção Limitações • Adição da seção de desempenho clínico do Ensaio Aptima HPV com amostras biológicas do swab de amostras biológicas multitestes Aptima • Atualização da tabela de Interferência de substâncias e Organismo/concentração • Remoção das seções pré e pós-citologia do processador ThinPrep • Atualização das informações bibliográficas