GEN-PROBE

APTIMA

# Ensaio APTIMA COMBO 2

Para fins de diagnóstico *in vitro*.

Exclusivamente para exportação dos EUA.


**Informações gerais . . . . . 2**

Utilização pretendida . . . . . 2
Resumo e explicação do teste . . . . . 2
Princípios do procedimento . . . . . 3
Avisos e precauções . . . . . 4
Requisitos de armazenamento e manuseamento dos reagentes . . . . . 7
Colheita e armazenamento de espécimes . . . . . 8

**Interpretação do teste — controlo de qualidade/resultados do paciente . . 38**
**Limitações . . . . . 41**
**Valores esperados dos Sistemas DTS . . . . . 44**
**Desempenho clínico nos Sistemas DTS . . . . . 46**
**Desempenho analítico nos Sistemas DTS . . . . . 68**
**Concordância de espécimes clínicos no Sistema TIGRIS DTS . . . . 72**
**Desempenho analítico no Sistema TIGRIS DTS . . . . . 79**
**Desempenho analítico no Sistema PANTHER . . . . . 82**
**Bibliografia . . . . . 85**


DTS Direct Tube Sampling SYSTEMS


**Sistemas DTS .....10**
Reagentes e materiais fornecidos .....10
Materiais necessários, mas disponíveis separadamente ....11
Materiais Opcionais .....12
**Procedimento de Teste dos Sistemas DTS .....13**
Notas ao procedimento .....18


PANTHER


**Sistema PANTHER .....30**
Reagentes e materiais fornecidos .....30
Materiais necessários, mas disponíveis separadamente ....31
Materiais Opcionais .....32
**Procedimento de teste do Sistema PANTHER .....33**
Notas ao procedimento .....36


TIGRIS DTS


**Sistema TIGRIS DTS ..... 23**
Reagentes e materiais fornecidos .....23
Materiais necessários, mas disponíveis separadamente ... 24
Materiais Opcionais .....25
**Procedimento de Teste do Sistema TIGRIS DTS .....25**
Notas ao procedimento .....28

# Informações gerais

## Utilização pretendida

O ensaio APTIMA COMBO 2 é um teste de sonda de ácido nucleico alvo amplificado que utiliza a captura do alvo para a detecção qualitativa *in vitro* e a diferenciação de RNA ribossómico (rRNA) de *Chlamydia trachomatis* (CT) e/ou *Neisseria gonorrhoeae* (GC) para ajudar a diagnosticar doenças urogenitais provocadas por clamídias ou gonococos utilizando o Sistema TIGRIS DTS, o Sistema PANTHER ou a instrumentação semiautomática dos Sistemas DTS, conforme especificado. O ensaio pode ser utilizado para testar os seguintes espécimes de indivíduos sintomáticos: esfregaços colhidos pelo médico de origem endocervical, vaginal e uretral masculina; assim como espécimes de urina de ambos os sexos. O ensaio pode ser utilizado para testar os seguintes espécimes de indivíduos assintomáticos: esfregaços colhidos pelo médico de origem endocervical, vaginal e uretral masculina; esfregaços vaginais colhidos pela paciente[1]; e espécimes de urina de ambos os sexos. Este ensaio destina-se também a ser utilizado na análise de espécimes ginecológicos de pacientes sintomáticas e assintomáticas. Estes espécimes cervicais colhidos nos frascos de solução PreservCyt podem ser testados antes ou depois do processamento citológico. O teste de espécimes já submetidos a processamento citológico está limitado a espécimes processados apenas com o ThinPrep 2000 System.

[1]Os espécimes de esfregaços vaginais recolhidos pela paciente são uma opção para efectuar o rastreio de mulheres quando um exame pélvico não for indicado de outro modo. O kit de colheita de espécimes de esfregaço vaginal não é para utilização domiciliar.

## Resumo e explicação do teste

As infecções por *Chlamydia trachomatis* (CT) e *Neisseria gonorrhoeae* (GC) são duas das infecções sexualmente transmissíveis mais comuns em todo o mundo. Só nos Estados Unidos, em 2010, estima-se que tenham sido notificadas aos Centers for Disease Control 1.307.893 (426,0 por 100.000 habitantes) novos casos de CT e 309.341 (100,8 por 100.000 habitantes) novos casos de infeções de GC (5).

Chlamydia é uma bactéria intracelular, não móvel, gram-negativa e obrigatória. A espécie CT é constituída por quinze serovares (A, B, Ba, C, D, E, F, G, H, I, J, K, L1, L2 e L3) que podem provocar doenças em seres humanos (34). Os serovares D a K são a principal causa de infecções genitais por clamídia em homens e mulheres (26). A *C. trachomatis* pode causar uretrite não-gonocócica, epididimite, proctite, cervicite, salpingite aguda e doença inflamatória pélvica (PID) (3, 15, 28, 29). As infecções por *C. trachomatis* são frequentemente assintomáticas tanto em homens como em mulheres. As crianças que nascem de mães infectadas correm um risco significativamente superior de conjuntivite de inclusão e pneumonia associada a clamídia (1, 11, 27).

Historicamente, vários métodos de detecção de CT foram utilizados em laboratório clínico, incluindo cultura de células, teste fluorescente directo de anticorpos, e ensaio imunoenzimático. Metodologias mais recentes de detecção de CT incluem ensaios directos de sondas de DNA e ensaios de sondas de DNA por teste de amplificação do ácido nucleico (NAAT). A cultura de células já foi considerada como o "método de ouro" para detecção de CT. A cultura é bastante específica, mas foi demonstrado em publicações científicas que as tecnologias de análise de DNA por testes de amplificação de ácidos nucleicos (nucleic acid amplification test, NAAT) têm uma sensibilidade clínica maior que a da cultura (2, 9, 17, 30). Devido a sua sensibilidade clínica mais baixa e desempenho variável entre laboratórios, a cultura foi substituída em muitos laboratórios pelo teste directo de sondas de DNA e NAATs.

A *N. gonorrhoeae* é o agente causador da gonorreia. As *N. gonorrhoeae* são diplococos não-móveis e gram-negativos. A maioria das infecções gonorreicas são infecções descomplicadas do tracto genital inferior e devem ser assintomáticas. Entretanto, se não tratadas em mulheres, as infecções podem se agravar e causar PID. PID pode se manifestar como endometrite, salpingite, peritonite pélvica, abcessos tubo-ovarianos. Uma percentagem menor de pessoas com infecções gonocócicas pode adquirir infecção gonocócica disseminada (IGD) (14, 20).

O diagnóstico convencional das infecções por GC exige que o organismo seja isolado em meio selectivo ou a observação de diplococos em esfregaços após coloração de Gram (16). Métodos de culturas podem ter boa sensibilidade clínica, mas são altamente dependentes do manuseamento adequado dos espécimes. O armazenamento e o transporte impróprios de espécimes podem resultar na perda de viabilidade do organismo e gerar resultados negativos incorrectos. Além disso, o uso de más técnicas de amostragem, materiais de amostragem tóxicos e a inibição do crescimento por componentes das secreções corporais podem também acarretar resultados negativos falsos (7, 18). Métodos de não-cultura comummente utilizados para a detecção de GC incluem testes directos de sondas de DNA e NAATs.

A primeira geração de NAATs para CT e GC tem problemas tecnológicos que limitaram o seu desempenho. Estes problemas incluem um processamento de espécimes incómodo e a inibição de espécimes, que podem originar resultados negativos falsos (6, 10, 13, 19, 25, 31, 32, 33). O ensaio APTIMA COMBO 2 é um NAAT de segunda geração que utiliza tecnologias de captura de alvo, amplificação mediada por transcrição (Transcription-Mediated Amplification, TMA) e ensaio cinético Dual (Dual Kinetic Assay, DKA) para aperfeiçoar o processamento do espécime, ampliar rRNA-alvo e detectar produtos da amplificação, respectivamente. Estudos que compararam o desempenho e inibição de espécimes de vários sistemas de amplificação demonstraram os benefícios das tecnologias de captura de alvo, TMA e DKA (8, 12). O ensaio APTIMA COMBO 2 detecta qualitativamente CT e/ou GC rRNA em esfregaços endocervicais, vaginais e uretrais masculinos colhidos pelo médico, esfregaços vaginais colhidos pela paciente, espécimes citológicos em base líquida PreservCyt, e em espécimes masculinos e femininos de urina de indivíduos sintomáticos e assintomáticos.

## Princípios do procedimento

O ensaio APTIMA COMBO 2 combina as tecnologias de captura de alvo, TMA e DKA.

Os espécimes são colhidos e transferidos em seus respectivos tubos de transporte de espécimes. As soluções de transporte nesses tubos liberam os rRNA alvos e os protegem da degradação durante o armazenamento. Quando o ensaio APTIMA COMBO 2 é realizado em laboratório, as moléculas de rRNA alvo são isoladas dos espécimes utilizando oligómeros de captura através de uma captura de alvos que utiliza micropartículas magnéticas. Os oligómeros de captura contêm sequências complementares a regiões específicas das moléculas alvo, bem como uma cadeia de resíduos de desoxiadenosina. Um oligómero de captura separado é usado para cada alvo. Durante o passo de hibridização, as regiões específicas para a sequência dos oligómeros de captura são ligadas a regiões específicas das moléculas alvo. O oligómero de captura: o complexo alvo é então capturado da solução ao reduzir a temperatura da sala de reacção para temperatura ambiente. Esta redução de temperatura permite que a hibridização ocorra entre a região de desoxiadenosina no oligómero de captura e as moléculas de poli-desoxitimidina que são ligadas de forma covalente às partículas magnéticas. As micropartículas, incluindo as moléculas alvo capturadas ligadas a elas, são arrastadas para o lado do recipiente de reacção com a utilização de imãs, e o sobrenadante é aspirado. As partículas são lavadas para remover matrizes de espécimes residuais, que podem conter inibidores da reacção de amplificação. Após a conclusão dos passos da captura de alvo, os espécimes estão prontos para a amplificação.

Os ensaios de amplificação de alvo são baseados na capacidade que os iniciadores oligonucleótidos complementares têm de efectuar hibridação específica, e permitem a amplificação enzimática das cadeias do ácido nucleico alvo. O ensaio APTIMA COMBO 2 replica uma região específica do rRNA da subunidade 23S da CT e uma região específica do rRNA da subunidade 16S da GC através de intermediários de DNA. Um conjunto exclusivo de iniciadores é usado para cada molécula alvo. A detecção das seqüências de produto da amplificação de rRNA (amplicon) é alcançada com a utilização da hibridização do ácido nucleico. Sondas de DNA de cadeia única quimioluminescente, que são complementares a uma região de cada amplicon alvo, são marcadas com diferentes moléculas de éster de acridínio. As sondas de DNA marcadas são combinadas com o amplicon para formar híbridos estáveis de RNA:DNA. O Reagente de selecção diferencia a sonda hibridizada da não-hibridizada, eliminando a geração de sinal da sonda não-hibridizada. Durante o passo de detecção, a luz emitida dos híbridos rotulados como RNA:DNA é medida como sinais de fotões num luminómetro, e são relatadas Unidades de Luz Relativa (RLU). Na DKA, diferenças dos perfis cinéticos das sondas marcadas de CT e GC permitem a distinção dos sinais; os perfis cinéticos são obtidos a partir das medições do débito de fotões durante o tempo de leitura de detecção. A reacção de detecção quimioluminescente para o sinal CT apresenta cinética demasiado rápida, e seu tipo cinético é de “luz intermitente”. A reacção de detecção quimioluminescente para o sinal GC é relativamente mais lenta, e seu tipo cinético é de “sinal brilhante”. Os resultados do ensaio são determinados por um recorte baseado na RLU total e no tipo de curva cinética.

## Avisos e precauções

A. Para fins de diagnóstico *in vitro*.

B. Para mais avisos, precauções e procedimentos para controlo de contaminação para o Sistema TIGRIS DTS, consulte o *TIGRIS DTS System Operator’s Manual (Manual de instruções do Sistema TIGRIS DTS).*

C. Para mais avisos, precauções e procedimentos de controlo da contaminação para o Sistema PANTHER, consulte o *PANTHER System Operator’s Manual (Manual de instruções do Sistema PANTHER).*

### Relacionado com o Laboratório

D. O ensaio não foi avaliado em populações de pacientes com baixa prevalência de doença provocada por CT; por conseguinte, o desempenho em situações de baixa prevalência não foi determinado.

E. Utilize apenas artigos de laboratório descartáveis fornecidos ou especificados.

F. Adopte precauções de laboratório de rotina. Não coma, beba ou fume em áreas de trabalho designadas. Utilize luvas sem pó, descartáveis, óculos de protecção e batas de laboratório quando manusear espécimes e reagentes do kit. Lave bem as mãos após manusear os espécimes e os reagentes do kit.

G. **Aviso: irritantes e corrosivos**: Evite o contacto do Auto Detect 1 e do Auto Detect 2 com a pele, olhos e membranas mucosas. Lave com água se estes fluidos entrarem em contacto com a pele ou os olhos. Se ocorrer o derrame destes fluidos, dilua com água e seque com um pano.

H. As superfícies de trabalho, pipetas e outros equipamentos têm de ser regularmente descontaminados com solução de hipoclorito de sódio de 2,5% a 3,5% (0,35 M a 0,5 M).

*Específicos dos sistemas DTS*

I. É altamente recomendada a presença de uma área separada para DKA para minimizar a contaminação de produtos de amplificação no ensaio. Esta área dedicada deve ser distante da área de preparação de reagentes, captura de alvo e área de amplificação.

J. Para impedir que as áreas do laboratório fiquem contaminadas com o produto de amplificação, a área do laboratório deve ser disposta de modo a que o fluxo de trabalho seja unidireccional: da preparação dos reagentes para DKA. Espécimes, equipamentos e reagentes não devem ser devolvidos à área onde um passo anterior tenha sido executado. Além disso, a equipa não deve voltar a reas de trabalho anteriores sem as devidas medidas de protecção contra contaminação.

**Relacionado com os espécimes**

K. Este ensaio foi testado utilizando apenas espécimes endocervicais e uretrais masculinos, espécimes citológicos em base líquida PreservCyt, esfregaços vaginais e espécimes de urina feminina e masculina. O desempenho com outros espécimes que não os especificados em *Colheita e armazenamento de espécimes* não foi avaliado.

Os laboratórios podem validar outros dispositivos de colheita (21, 23).

Nos Sistemas DTS, foram validados os kits de colheita PACE para utilização somente com o kit adaptador APTIMA. A utilização do kit de colheita PACE e do kit adaptador APTIMA não está actualmente qualificada para o Sistema TIGRIS DTS ou para o Sistema PANTHER.

As amostras ginecológicas colhidas para a preparação com a utilização do Sistema ThinPrep 2000 devem ser colhidas usando dispositivos de colheita tipo escova ou espátulas endocervicais de combinação escova/plástico.

L. As datas de validade listadas nos kits de colheita referem-se ao local de colheita, e não à instalação de testes. As amostras colhidas em qualquer momento antes da data de validade do kit de colheita e transportadas e armazenadas de acordo com o folheto da embalagem são válidas para testes mesmo que a data de validade no tubo de colheita tenha passado.

M. A solução PreservCyt foi validada como meio alternativo para o teste com o ensaio APTIMA COMBO 2. Os espécimes citológicos em base líquida PreservCyt processados com o ThinPrep 3000 Processor ou outros instrumentos não foram avaliados para teste da *Chlamydia trachomatis* e *Neisseria gonorrhoeae* utilizando o ensaio APTIMA COMBO 2.

N. Após adicionar a urina ao tubo de transporte de urina, o nível de líquido tem de situar-se entre as duas linhas pretas indicadoras no rótulo do tubo. Caso contrário, o espécime deve ser rejeitado.

O. Mantenha condições de armazenamento adequadas durante o envio do espécime, para garantir a integridade do mesmo. A estabilidade do espécime sob condições de envio diferentes das recomendadas não foi avaliada.

P. Os espécimes podem ser infecciosos. Utilize Precauções Universais ao executar este ensaio. Métodos apropriados para manuseamento e descarte devem ser estabelecidos pelo director do laboratório. Apenas membros de equipa devidamente treinados no manuseamento de materiais infecciosos devem ter permissão para realizar este procedimento diagnóstico.

Q. Evite a contaminação cruzada durante os passos de manuseamento dos espécimes. Os espécimes podem conter níveis extremamente altos de organismos. Certifique-se de que os recipientes de espécime não entram em contacto uns com os outros, e elimine materiais usados sem os passar por cima de recipientes abertos. Troque de luvas se elas entrarem em contacto com o espécime.

R. Caso o laboratório receba um tubo de transporte de esfregaços que não contenha o esfregaço, contenha dois esfregaços, um esfregaço de limpeza, ou um esfregaço que não tenha sido fornecido pela Gen-Probe, o espécime deverá ser rejeitado. Antes de rejeitar um tubo de transporte de esfregaços sem o esfregaço, verifique se não é um Tubo APTIMA de Transferência de Espécimes, pois este não deve conter qualquer esfregaço.

S. Para espécimes citológicos em base líquida PreservCyt faça a colheita de acordo com as instruções do fabricante. Alíquotas posteriormente removidas do frasco de PreservCyt para teste com o ensaio APTIMA COMBO 2 devem ser processadas usando apenas o Kit APTIMA de Transferência de Espécimes.

T. Após a perfuração, o líquido pode vazar das tampas dos tubos de transporte APTIMA sob certas condições. Siga as instruções do *Procedimento de teste* adequado para impedir que isto aconteça.

**Relacionados com o ensaio**

U. O desempenho dos esfregaços vaginais não foi avaliado em grávidas.

V. O desempenho dos espécimes de esfregaços endocervicais, vaginais, uretrais masculinos e dos espécimes de urina feminina e masculina, assim como dos espécimes citológicos em base líquida PreservCyt, não foi avaliado em adolescentes com menos de 16 anos de idade.

W. Não utilize este kit após a data de validade.

X. **Não troque, misture ou combine reagentes de ensaio** provenientes de kits com números de lote diferentes. Os controlos e fluidos do ensaio APTIMA podem apresentar números de lote diferentes.

*Específicos dos sistemas DTS*

Y. Pontas com encaixes hidrofóbicos devem ser usadas. No mínimo, é necessário dedicar duas pipetas de repetição ao uso com este ensaio: uma para utilizar nos passos de captura do alvo e amplificação e outra para utilizar nos passos de DKA. É necessário dedicar duas micropipetas ao uso com este ensaio: uma para utilizar na transferência de espécimes e outra para utilizar na preparação de reagentes. Todas as pipetas têm de ser limpas regularmente da forma descrita em *Procedimento de Teste dos Sistemas DTS, Notas ao procedimento*.

Z. Ao utilizar pipetas de repetição para adição de reagentes, não toque o tubo com a ponta da pipeta para evitar a passagem de um tubo para outro.

AA. A mistura adequada é necessária para alcançar resultados acurados nos ensaios. Para obter todos os dados consulte o *Procedimento de Teste dos Sistemas DTS, Notas ao procedimento*.

AB. Banhos de água separados devem ser dedicados para os passos de captura de alvo, amplificação e DKA no ensaio.

AC. Os cartões de selagem devem ser eliminados em recipientes para resíduos imediatamente após removê-los dos tubos de reacção. Devem sempre utilizar-se cartões de selagem novos: estes nunca deverão ser reutilizados de passos anteriores. Os cartões de selagem devem ser fixados firmemente ao topo de todos os tubos de reacção.

## Requisitos de armazenamento e manuseamento dos reagentes

A. Os seguintes reagentes são estáveis quando armazenados entre 2 °C e 8 °C (refrigerados):

   Reagente de Amplificação APTIMA COMBO 2

   Reagente Enzimático APTIMA COMBO 2

   Reagente de Sonda APTIMA COMBO 2

   Reagente B de Captura de Alvo APTIMA COMBO 2

   Controlo Positivo APTIMA, CT / Controlo Negativo, GC

   Controlo Positivo APTIMA, GC / Controlo Negativo, CT

B. Os seguintes reagentes são estáveis quando armazenados entre 2 °C e 30 °C:

   Solução de Reconstituição de Amplificação APTIMA COMBO 2

   Solução de Reconstituição Enzimática APTIMA COMBO 2

   Solução de Reconstituição de Sonda APTIMA COMBO 2

   Reagente de selecção APTIMA COMBO 2

C. Os seguintes reagentes são estáveis quando armazenados entre 15 °C e 30 °C (temperatura ambiente):

   Reagente de captura do alvo

   Solução de Lavagem APTIMA

   Tampão para o fluido de desactivação APTIMA

   Reagente a Óleo APTIMA

D. O reagente de captura do alvo de trabalho (Working Target Capture Reagent, wTCR) é estável durante 30 dias quando armazenado entre 15 °C e 30 °C. Não refrigere.

E. Após a reconstituição, o Reagente Enzimático, o Reagente de Amplificação, e o Reagente de Sonda são estáveis por 30 dias quando armazenados entre 2 °C a 8 °C.

F. Elimine os reagentes reconstituídos e wTCR não utilizados após 30 dias ou depois de a data de validade do lote principal passar, o que acontecer primeiro.

G. Os controlos são estáveis até à data indicada nos frascos.

H. Os reagentes armazenados no Sistema TIGRIS DTS têm uma estabilidade de 48 horas no instrumento.

I. Os reagentes armazenados no Sistema PANTHER têm uma estabilidade de 72 horas no instrumento.

J. O Reagente de Sonda e o Reagente de Sonda Reconstituído são fotossensíveis. Armazene os reagentes ao abrigo da luz. A estabilidade reconstituída especificada é baseada na exposição de 12 horas do Reagente de Sonda Reconstituído à lâmpadas fluorescentes de

60 W, a uma distância de 43 cm, e temperatura abaixo de 30 °C. A exposição de luz do Reagente de Sonda Reconstituído deve ser adequadamente limitada.

K. Com o aquecimento à temperatura ambiente, alguns tubos de controlo podem parecer nublados ou apresentar precipitações. A névoa ou precipitação associada aos controlos não afecta o desempenho do controlo. Os controlos podem ser usados mesmo que estejam nublados ou precipitados. Caso controlos limpos sejam desejados, a solubilização pode ser agilizada incubando-os no extremo superior do intervalo de temperatura ambiente (15 °C a 30 °C).

**L. Não congele os reagentes.**

## Colheita e armazenamento de espécimes

O ensaio APTIMA COMBO 2 foi concebido para detectar a presença de CT e GC nos seguintes espécimes: esfregaços endocervicais e uretrais masculinos, esfregaços vaginais, espécimes citológicos em base líquida PreservCyt e espécimes de urina femininos e masculinos. Não foi avaliado o desempenho com outros espécimes que não os colhidos com os seguintes kits de colheita:

- Kit Unissexo APTIMA de Colheita de Espécimes de Esfregaço para Espécimes de Esfregaço Endocervical e da Uretra Masculina
- Kit APTIMA de Colheita de Espécimes de Urina para Espécimes de Urina Masculina e Feminina
- Kit APTIMA de colheita de esfregaços vaginais
- Kit de transferência de espécimes APTIMA (para utilização com amostras ginecológicas colhidas em solução PreservCyt)

*Específicos dos sistemas DTS*

- Kit PACE de Colheita de Espécimes para Espécimes da Uretra Masculina ou da Conjuntiva (em conjunto com o Kit Adaptador APTIMA)
- Kit PACE de Colheita de Espécimes para Espécimes Endocervicais (em conjunto com o Kit Adaptador APTIMA)

A. Instruções para colheita:

Consulte o folheto da embalagem do respectivo kit de colheita de espécimes para instruções de colheita.

B. Transporte e armazenamento de espécimes antes do teste:

1. Espécimes de esfregaço:
   a. Após a colheita, transporte e armazene o esfregaço no tubo de transporte de espécimes de esfregaço entre 2 °C a 30 °C até que seja testado. Os espécimes têm de ser analisados com o ensaio APTIMA COMBO 2 no espaço de 60 dias após a colheita. Caso seja necessário um armazenamento mais prolongado, congele a uma temperatura entre -20 °C e -70 °C durante até 12 meses após a colheita (ver *Estudos de Estabilidade de Espécime*).
2. Espécimes de urina:
   a. As amostras de urina que permanecem no recipiente de colheita principal devem ser transportadas ao laboratório entre 2 °C a 30 °C. Transfira a amostra de urina ao tubo de transporte de espécimes de urina APTIMA em até 24 horas após a colheita. Armazene entre 2 °C a 30 °C e teste em até 30 dias após a colheita.

b. Após a colheita, transporte os espécimes de urina processada no tubo de transporte APTIMA de espécimes de urina a uma temperatura entre 2 °C e 30 °C e armazene a 2 °C e 30 °C até à análise. Os espécimes de urina processados devem ser analisados com o ensaio APTIMA COMBO 2 no espaço de 30 dias após a colheita. Caso seja necessário um armazenamento mais prolongado, congele a uma temperatura entre -20 °C e -70 °C durante até 12 meses após a colheita (ver *Estudos de Estabilidade de Espécime*).

3. Espécimes citológicos em base líquida PreservCyt:
   a. Os espécimes citológicos em base líquida PreservCyt destinados a análise de CT e/ou GC têm de ser processados para citologia e/ou transferidos para um tubo de transferência de espécimes APTIMA no espaço de 30 dias após a colheita quando armazenados entre 2 °C e 30 °C (ver *Estudos de Estabilidade de Espécime*).
   b. Caso se utilize o procedimento de remoção de alíquotas de ThinPrep, consulte o *ThinPrep 2000 ou ThinPrep 3000 Processor Operator's Manual—Addendum (Adenda do Manual do operador do ThinPrep 2000 Processor ou do ThinPrep 3000 Processor)*. Transfira 1 mL da alíquota retirada para um tubo de transferência de espécimes APTIMA de acordo com as instruções do folheto informativo do kit de transferência de espécimes APTIMA.
   c. Caso analise o espécime após o processamento no ThinPrep 2000 Processor, processe o espécime citológico em base líquida PreservCyt de acordo com o *ThinPrep 2000 Processor Operator's Manual (Manual do operador do ThinPrep 2000 Processor)* e o folheto informativo do kit de transferência de espécimes APTIMA. Transfira 1 mL do fluido restante no frasco de solução PreservCyt para um tubo de transferência de espécimes APTIMA de acordo com as instruções do folheto informativo do kit de transferência de espécimes APTIMA.
   d. Depois de o espécime citológico em base líquida PreservCyt ser transferido para o tubo de transferência de espécimes APTIMA, o espécime tem de ser analisado com o ensaio APTIMA COMBO 2 no espaço de 30 dias quando armazenado entre 2 °C e 8 °C ou de 14 dias quando armazenado entre 15 °C e 30 °C. Caso seja necessário um armazenamento mais prolongado, congele a uma temperatura entre -20 °C e -70 °C durante até 12 meses após a transferência (ver *Estudos de Estabilidade de Espécime*).

C. Armazenamento de espécimes após o teste:
   1. Os espécimes que foram testados devem ser armazenados em posição vertical num suporte.
   2. Os tubos de transporte de espécimes devem ser cobertos com uma película plástica nova e limpa ou com folha de alumínio.
   3. Caso as amostras testadas precisem ser congeladas ou despachadas, remova a tampa perfurável e coloque novas tampas não-perfuráveis nos tubos de transporte de espécimes. Caso os espécimes precisem ser despachados para teste em outro local, as temperaturas recomendadas deverão ser mantidas. Antes de destampar amostras anteriormente testadas e novamente tampadas, os tubos de transporte de espécimes devem ser centrifugados por 5 minutos em 420 de Força Centrífuga Relativa (RCF) para levar todo o líquido ao fundo do tubo. **Evite salpicos e contaminação cruzada**.

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

# Sistemas DTS

Os reagentes do ensaio APTIMA COMBO 2 para CT e GC são indicados abaixo para os Sistemas DTS. Os Símbolos para Identificação dos Reagentes também são listados junto ao nome do reagente.

## Reagentes e materiais fornecidos

**Kit de ensaio APTIMA COMBO 2**, 100 testes (2 caixas) (Ref.ª Cat. 301032)

**Caixa refrigerada APTIMA COMBO 2 (Caixa 1 de 2)**
**(armazenar entre 2 °C e 8 °C após recepção)**

| Símbolo | Componente | Quantidade |
|---|---|---|
| **A** | **Reagente de Amplificação APTIMA COMBO 2**<br>*Ácidos nucleicos não infecciosos secos em solução tamponada contendo < 5% de agente de volume.* | 1 frasco |
| **E** | **Reagente Enzimático APTIMA COMBO 2**<br>*Transcriptase reversa e RNA polimerase secos em solução tamponada HEPES contendo < 10% de reagente de volume.* | 1 frasco |
| **P** | **Reagente de Sonda APTIMA COMBO 2**<br>*Sondas de DNA quimioluminescentes não-infecciosas secas em solução tamponada com succinato contendo < 5% de detergente.* | 1 frasco |
| **TCR-B** | **Reagente B de Captura de Alvo APTIMA COMBO 2**<br>*Ácidos nucleicos não-infecciosos em solução tamponada contendo < 5% de detergente.* | 1 x 0,35 mL |
| **PCT/NGC** | **Controlo Positivo APTIMA, CT / Controlo Negativo, GC**<br>*Ácido nucleico de CT não infeccioso em solução tamponada contendo < 5% de detergente. Cada amostra de 400 µL contém rRNA que se estima ser equivalente a 1 unidade formadora de inclusões (inclusion forming unit, IFU) de CT (5 fg/ensaio*).* | 3 x 1,7 mL |
| **PGC/NCT** | **Controlo Positivo APTIMA, GC / Controlo Negativo, CT**<br>*Ácido nucleico de GC não infeccioso em solução tamponada contendo < 5% de detergente. Cada amostra de 400 µL contém rRNA que se estima ser equivalente a 50 células de CT (250 fg/ensaio*).* | 3 x 1,7 mL |

*Os equivalentes rRNA foram calculados com base no tamanho do genoma e a taxa estimada média/célula DNA:RNA de cada organismo.

**A caixa refrigerada contém também os seguintes artigos (tabuleiro de armazenamento):**
**(armazenar entre 2 °C e 30 °C após recepção)**

| Símbolo | Componente | Quantidade |
|---|---|---|
| **AR** | **Solução de Reconstituição de Amplificação APTIMA COMBO 2**<br>*Solução aquosa contendo conservantes.* | 1 x 9,3 mL |
| **ER** | **Solução de Reconstituição Enzimática APTIMA COMBO 2**<br>*Solução tampão HEPES contendo um surfactante e glicerol.* | 1 x 3,3 mL |
| **PR** | **Solução de Reconstituição de Sonda APTIMA COMBO 2**<br>*Solução tamponada de succinato contendo < 5% de detergente.* | 1 x 12,4 mL |

**A caixa refrigerada contém também os seguintes artigos (tabuleiro de armazenamento): (armazenar entre 2 °C e 30 °C após recepção)**

| Símbolo | Componente | Quantidade |
|---|---|---|
| **S** | **Reagente de selecção APTIMA COMBO 2**<br>*Solução tamponada com borato a 600 mM contendo surfactante.* | 1 x 31 mL |
| | **Colarinho de Reconstituição** | 3 |
| | **Cartão de Selagem** | 1 embalagem |

**Caixa APTIMA COMBO 2 de temperatura ambiente (Caixa 2 de 2) (armazenar entre 15 °C e 30 °C após recepção)**

| Símbolo | Componente | Quantidade |
|---|---|---|
| **TCR** | **Reagente de Captura de Alvo APTIMA COMBO 2**<br>*Solução salina tamponada contendo fase sólida e oligómeros de captura.* | 1 x 22 mL |
| **W** | **Solução de Lavagem APTIMA**<br>*Solução tamponada com HEPES a 10 mM contendo < 2% de detergente.* | 1 x 402 mL |
| **DF** | **Tampão para o fluido de desactivação APTIMA**<br>*800 mM solução tamponada de bicarbonato.* | 1 x 402 mL |
| **O** | **Reagente a Óleo APTIMA**<br>*Óleo de Silicone.* | 1 x 24,6 mL |

## Materiais necessários, mas disponíveis separadamente

***Nota:*** *Excepto indicação em contrário, as referências de catálogo dos materiais disponibilizados pela Gen-Probe são mencionadas.*

| | Ref.ª Cat. |
|---|---|
| Luminómetro LEADER HC+ | 104747-01 |
| Sistema de captura do alvo (Target Capture System, TCS) GEN-PROBE | 104555 |
| Incubadoras e vórtex: | |
| *Duas misturadoras em vórtex multi-tubo.* | *102160* |
| *3 Banhos de água com circulação (62 °C ± 1 °C, 42 °C ± 1 °C, 62 °C ± 1 °C)* | *104586* |
| *3 Espaçadores para banhos de água* | *104627* |
| OU | |
| *2 Banhos de calor seco/Vórtexes SB100* | *105524* |
| *Podem ser necessários mais banhos SB100 se o volume de testes aumentar* | |
| Kit de auto-detecção APTIMA | 301048 |
| 2 pipetas Eppendorf Repeater Plus | 105725 |
| 2 pipetas, 1.000 µL RAININ PR1000 | 901715 |
| Pipeta eppendorf, 20 µL a 200 µL | 105726 |
| Pontas para pipeta de repetição, 2,5 mL | 21-381-329 |
| Pontas para pipeta de repetição, 5,0 mL | 21-381-330 |
| Pontas para pipeta de repetição, 25,0 mL | 21-381-115 |

| | Ref.ª Cat. |
|---|---|
| Pontas, P1000 Style<br>*ponta de diâmetro especial apenas disponível na Gen-Probe* | 105049 |
| Pontas de pipeta 20 µL a 200 µL | 705512 (Fisher) |
| Unidades de dez tubos (Ten Tube Units, TTU) | TU0022 |
| Cassetes de dez pontas (Ten Tip Cassettes, TTC) | 104578 |
| Kit Unissexo APTIMA de Colheita de Espécimes de Esfregaço para Espécimes de Esfregaço Endocervical e da Uretra Masculina | 301041 |
| Kit APTIMA de colheita de espécimes de urina para espécimes de urina masculinos e femininos | 301040 |
| Tubos de transporte APTIMA para espécimes de urina para espécimes de urina masculinos e femininos | 105575 |
| Kit APTIMA de colheita de esfregaços vaginais | 301162 |
| Kit de transferência de espécimes APTIMA | 301154C |
| Padrão de calibração SysCheck | 301078 |
| Lixívia, solução de hipoclorito de sódio 5% a 7% (0,7 M a 1,0 M) | — |
| Recipientes padrão para colheita de urina, sem conservantes | — |
| Recipiente plástico com tampa grande | — |
| Tampas penetráveis APTIMA | 105668 |
| Tampas não-penetráveis de substituição | 103036A |

## Materiais Opcionais

| | Ref.ª Cat. |
|---|---|
| Kit de colheita de espécimes PACE para espécimes uretrais masculinos ou provenientes da conjuntiva | 103275 |
| Kit de colheita de espécimes PACE para espécimes endocervicais | 103300 |
| Kit adaptador APTIMA | 301087 |
| Reforço de lixívia GEN-PROBE<br>*para a limpeza de rotina de superfícies e equipamento* | 302101 |
| Kit de controlos APTIMA | 301110 |
| Fluidos do ensaio APTIMA<br>*(solução de lavagem APTIMA, tampão para o fluido de desactivação APTIMA e reagente a óleo APTIMA)* | 302002C |
| Painel de competência de DST | 102325 |
| Pontas, 1.000 µL, condutoras, com sensores de líquido | 10612513 (Tecan) |
| TECAN Freedom EVO 100/4 contendo<br>*Sistemas DTS 800 APTIMA COMBO 2 Placa do tabuleiro 105200*<br>*Reservatório de reagentes (quarto de módulo de 40 mL) 104765*<br>*Reservatório de reagentes dividido (quarto de módulo de 19 mL x 2) 104763* | 900932 |

## Procedimento de Teste dos Sistemas DTS

A. Preparação do Equipamento

1. Ajuste um banho de água em 62 °C ± 1 °C (para captura de alvo e hibridação dos iniciadores), um segundo banho de água em 42 °C ± 1 °C (para amplificação), e um terceiro banho de água em 62 °C ± 1 °C (para DKA). *Se* o banho de calor seco/vórtex SB100 estiver a ser utilizado consulte a *SB100 Dry Heat Bath/Vortexer Application Sheet (Ficha de aplicação do Banho de calor seco/vórtex SB100)(SB100 Application Sheet [Ficha de aplicação do SB100])*.
2. Antes do início do ensaio, limpe as superfícies de trabalho e pipetas 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 contacto com as superfícies e pipetas durante pelo menos 1 minuto, enxaguando-as depois com água. Não deixe secar a solução de hipoclorito de sódio. Cubra a superfície da bancada em que será executado o teste com capas absorventes para bancadas de laboratórios com forro plástico.
3. Coloque um número suficiente de Dez Cassetes de Pontas no Sistema de Captura de Alvo (TCS). Assegure-se de que o frasco de lavagem do TCS esteja cheio com a Solução de Lavagem APTIMA e que o distribuidor de aspirado esteja conectado à bomba de vácuo. (Consulte o *Target Capture System Operator's Manual [Manual do Operador do Sistema de Captura de Alvo]*).

B. Reconstituição de Reagentes

***Nota:*** *A Reconstituição de Reagentes deve ser executada antes de iniciar a transferência de espécimes.*

1. Para reconstituir os Reagentes de Amplificação, Enzimático e de Sonda, combine os frascos do reagente liofilizado com a solução de reconstituição. Se estiverem refrigeradas, deixe as soluções de reconstituição alcançar a temperatura ambiente antes de serem utilizadas.
   a. Emparelhe a solução de reconstituição adequada com o reagente liofilizado. As etiquetas são codificadas por cores para serem correctamente emparelhadas.
   b. Abra o frasco de reagente liofilizado e insira com firmeza a extremidade ranhurada do colarinho de reconstituição na abertura do frasco (Figura 1, Passo 1).
   c. Abra o frasco da solução de reconstituição correspondente, e deposite a tampa sobre uma superfície de trabalho limpa e coberta.
   d. Enquanto segura o frasco da solução de reconstituição na bancada, insira firmemente a outra extremidade do colarinho de reconstituição na abertura do frasco (Figura 1, Passo 2).
   e. Inverta lentamente o conjunto do frasco do reagente e do frasco de solução. Permita que a solução escoe do frasco de solução para o frasco de reagente (Figura 1, Passo 3).
   f. Agite suavemente a solução no frasco. Evite a criação de espuma ao agitar o frasco (Figura 1, Passo 4).
   g. Aguarde que o reagente liofilizado entre em solução e depois inverta novamente o conjunto de frascos, inclinando-o a um ângulo de 45° para minimizar a formação de espuma (Figura 1, Passo 5). Permita que todo o líquido escoe para o frasco.
   h. Retire o colarinho de reconstituição do frasco (Figura 1, Passo 6).
   i. Volte a colocar a tampa no frasco. Anote as iniciais do operador e a data de reconstituição na etiqueta (Figura 1, Passo 7).

j. Deite fora o colarinho de reconstituição e o frasco (Figura 1, Passo 8).

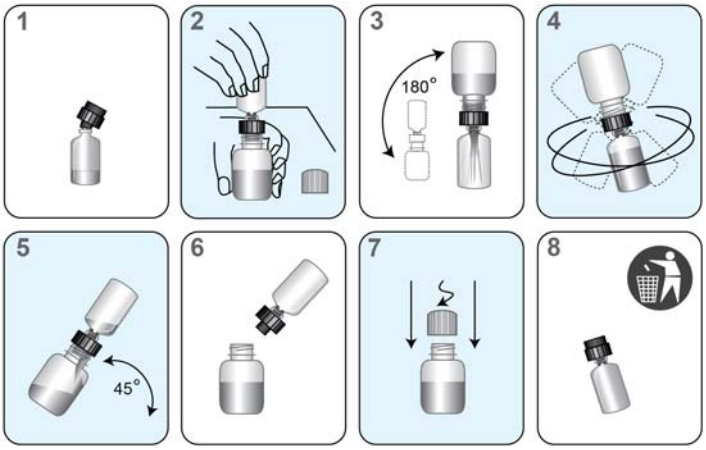


***Figura 1. Processo de reconstituição nos sistemas DTS***

2. Os reagentes de amplificação, enzimático e de sonda previamente reconstituídos têm de alcançar a temperatura ambiente (15 °C a 30 °C) antes do início do ensaio. Caso o Reagente de Sonda contenha precipitado que não retorne à solução em temperatura ambiente, aqueça-o a 62 °C por 1 a 2 minutos. Após este passo de aquecimento, o Reagente de Sonda pode ser usado mesmo se ainda houver precipitado residual. Após a nova suspensão, misture invertendo suavemente, com cuidado para não induzir a formação de espuma.

   ***Nota:*** *Este passo de inversão deve ser executada a qualquer momento em que o precipitado seja levado à solução, seja aquecendo-o a 62 °C ou à temperatura ambiente.*

3. Prepare o reagente de captura do alvo de trabalho (Working Target Capture Reagent, wTCR)
   a. Transfira 20 mL de TCR a um recipiente de tamanho apropriado, dedicado, limpo e seco.
   b. Utilizando uma micropipeta, adicione 200 µL de TCR-B ao TCR.
   c. Misture completamente a solução com movimentos circulares.
   d. Etiquete o recipiente. Registe as iniciais do operador, data de preparação, e ambos números de lote.

   ***Nota:*** *Para um número menor de reacções (espécimes e controlos), utilize os seguintes dados para calcular os volumes de TCR e TCR-B:*

   Volume de TCR (mL) = (número de reacções + 5 reacções extra) x 0,1 mL

   Volume de TCR-B (mL) = Volume de TCR (mL) / 100

C. Captura de Alvo (Target Capture)

A pipeta de repetição usada na captura de alvo e amplificação deve ser dedicada para utilização somente nestes passos. Consulte a secção *Avisos e precauções* para mais informações.

*Preparação dos Suportes*

1. Deixe que os espécimes e controlos alcancem a temperatura ambiente antes do processamento.
2. **Não agite os espécimes no vórtex**.

3. Confirme visualmente se todos os tubos de espécimes cumprem um dos seguintes critérios:
   a. Presença de uma única zaragatoa de colheita azul APTIMA num tubo de transporte de esfregaços unissexo.
   b. Presença de uma única zaragatoa de colheita cor-de-rosa APTIMA num tubo de transporte de esfregaços vaginais.
   c. Volume final de urina entre as linhas de enchimento pretas dos tubos de transporte de espécimes de urina.
   d. Ausência de zaragatoa no tubo de transporte de espécimes APTIMA para espécimes citológicos em base líquida PreservCyt.
4. Inspeccione os tubos de espécimes antes de os perfurar:
   a. Caso um tubo de espécime contenha bolhas no espaço entre o líquido e a tampa, centrifugue o tubo por 5 minutos com 420 RCF para eliminar as bolhas.
   b. Caso um tubo de espécime apresente um volume menor do que o habitualmente observado quando se seguem as instruções de colheita, centrifugue o tubo por 5 minutos com 420 RCF para garantir que o líquido não fique retido na tampa.
   c. Se o nível de líquido num tubo de espécimes de urina não estiver entre as duas linhas pretas indicadoras do rótulo, o espécime tem de ser rejeitado. Não perfure um tubo demasiado cheio.
   d. Se um tubo de espécimes de urina contiver precipitado, aqueça o espécime a 37 °C durante até 5 minutos. Se o precipitado não voltar a entrar em solução, certifique-se visualmente de que o precipitado não impede a distribuição do espécime.

   ***Nota:*** *Caso os Passos 4a-c não sejam seguidos, pode haver descarga de líquido da tampa do tubo de espécimes.*
5. Caso espécimes com tampa padrão (não-perfurável) devam ser testados, eles deverão ser centrifugados por 5 minutos com 420 de RCF (Força Centrífuga Relativa) para que todo o líquido fique no fundo do tubo antes de destapar. **Evite salpicos e contaminação cruzada.**
6. Nos suportes TTU, coloque TTU suficientes para acomodar os calibradores, controlos e espécimes.
7. Caso uma lista de trabalho seja desejada, crie-a neste ponto. Para instruções sobre a criação de uma lista de trabalho, consulte o *APTIMA Assay Software Operator's Manual (Manual do Operador do Software de Ensaio APTIMA)*.
8. Misture bem o wTCR. Utilizando a pipeta de repetição, adicione 100 µL a cada tubo de reacção.
9. Para trabalhar adequadamente com o software de teste APTIMA, o controlo positivo, CT / controlo negativo, GC devem estar na primeira posição da primeira TTU.
   a. Segure o tubo de controlo positivo, CT / controlo negativo, GC numa mão, ou mantenha-o num suporte. Esta etiqueta é cor-de-rosa. O texto da etiqueta é "CONTROL + CT PCT / CONTROL – GC NGC". Com a utilização de uma micropipeta, perfure a tampa, tomando cuidado para não chegar com a ponta ao fundo do tubo. Adicione 400 µL de controlo positivo, CT / controlo negativo, GC ao primeiro tubo de reacção.
   b. Da mesma forma, e utilizando uma nova ponta de pipeta, adicione 400 µL de controlo positivo, GC / controlo negativo, CT ao segundo tubo de reacção. A etiqueta do segundo controlo é azul esverdeada. O texto da etiqueta é "CONTROL + GC PGC / CONTROL – CT NCT".

10. Continue o procedimento de preparação do suporte adicionando 400 µL de cada espécime aos tubos de reacção restantes. Utilize uma nova ponta de pipeta para cada espécime e controlo. O volume de espécime ou controlo aceitável para adição a um tubo de reacção é de 400 µL ± 100 µL. Consulte as secções *Notas ao procedimento* e *Pipetação de Controlos e Espécimes* para mais informações.

*Captura de Alvo*

A utilização do Sistema de Captura de Alvo GEN-PROBE é descrito no *Target Capture System Operator's Manual (Manual do Operador do Sistema de Captura de Alvo)*. Caso utilize o banho de calor seco/vórtex SB100 consulte a *SB100 Application Sheet (Ficha de aplicação SB100)*.

11. Cubra as TTU com cartões de selagem e agite o suporte manualmente com suavidade. **Não coloque os espécimes no vórtex.** Incube o suporte a 62 °C ± 1 °C num banho de água por 30 ± 5 minutos.
12. Remova o suporte do banho de água e seque a parte inferior dos tubos com material absorvente.
13. Assegure-se de que os cartões de selagem estão bem colocados. Caso necessário, substitua-os com novos cartões de selagem e sele bem as TTU.
14. Leve o suporte ao vórtex por 60 segundos no misturador vórtex multitubos. Consulte a secção *Notas ao procedimento*, *Utilização do vórtex* para mais informações. Inicie o procedimento de vórtex num período de 2 minutos após a remoção do suporte do banho de água.
15. Sem remover os cartões de selagem, incube o suporte à temperatura ambiente durante 30 ± 5 minutos.
16. Coloque o suporte na base magnética TCS durante 5 a 10 minutos.
17. Prepare a linha da bomba da estação de fornecimento bombeando a Solução de Lavagem APTIMA através do distribuidor. Bombeie líquido bastante pelo sistema para que não haja bolhas de ar na linha e que todos os dez bocais forneçam um fluxo constante de líquido.
18. Ligue a bomba de vácuo e desconecte o distribuidor de aspiração do primeiro conector entre o distribuidor de aspiração e o frasco de apreensão. Assegure-se de que o manómetro de vácuo cumpre as especificações do teste de fuga.[1] Poderá demorar 15 segundos a obter esta leitura. Reconecte o distribuidor de aspiração, e assegure-se de que o manómetro de vácuo cumpre as especificações do nível de vácuo. Deixe a bomba de vácuo ligada até que os passos de captura do alvo estejam concluídos e a tubagem de aspiração esteja seca.
19. Aplique firmemente o distribuidor de aspiração ao primeiro conjunto de pontas. Aspire todo o líquido baixando as pontas na primeira TTU até as pontas entrarem brevemente em contacto com as partes inferiores dos tubos. Não mantenha as pontas em contacto com as partes inferiores dos tubos.
20. Após ter terminado a aspiração, ejecte as pontas na TTC original. Repita os passos da aspiração para as TTU restantes, usando uma ponta dedicada para cada espécime.
21. Coloque o distribuidor sobre cada TTU e, usando a bomba da estação de fornecimento, forneça 1,0 mL de Solução de Lavagem APTIMA a cada tubo da TTU.
22. Cubra os tubos com um cartão de selagem e retire o suporte da base magnética TCS. Coloque uma vez no misturador vórtex de multitubos. Consulte a secção *Notas ao procedimento*, *Utilização do vórtex* para mais informações.

1 Consulte a Ficha de Especificações de Vácuo do Sistema de Captura de Alvo, localizada na parte posterior do *Target Capture System Operator's Manual (Manual do Operador do Sistema de Captura de Alvo)* ou contacte o Suporte Técnico.

23. Coloque o suporte na base magnética TCS durante 5 a 10 minutos.
24. Aspire todo o líquido, como nos Passos 19 e 20.
25. Após a aspiração final, retire o suporte da base magnética TCS e inspeccione visualmente os tubos para se assegurar de que todo o líquido foi aspirado e todos os tubos contêm grânulos de partículas magnéticas. Se for visível qualquer líquido, coloque o suporte de novo na base magnética TCS durante 2 minutos e repita a aspiração para esta TTU utilizando as mesmas pontas usadas anteriormente para cada espécime.

***Nota:*** *Se for visível qualquer grânulo de partícula magnética após ter terminado a aspiração, o tubo pode ser aceite. Se não for visível qualquer grânulo, o espécime deve ser testado novamente. Se o mesmo espécime não contiver um grânulo de partícula magnética neste passo num teste posterior, isto poderá ser indicação de que existe um problema específico do espécime. Nesta situação, recomenda-se uma nova colheita de espécimes.*

D. Amplificação

Caso utilize o banho de calor seco/vórtex SB100 consulte a *SB100 Application Sheet (Ficha de aplicação SB100)*.

1. Utilizando a pipeta de repetição, adicione 75 µL do reagente de amplificação reconstituído a cada tubo de reacção. Todas as misturas de reacção no suporte deverão estar de cor vermelha.
2. Utilizando a pipeta de repetição, adicione 200 µL do reagente a óleo a cada tubo de reacção.
3. Cubra os tubos com um cartão de selagem e leve ao misturador vórtex multitubos.
4. Incube o suporte num banho de água a 62 °C ± 1 °C por 10 ± 5 minutos.
5. Incube o suporte num banho de água a 42 °C ± 1 °C por 5 ± 2 minutos.
6. Com o suporte no banho de água, remova cuidadosamente o cartão de selagem e, utilizando a pipeta de repetição, adicione 25 µL do reagente enzimático reconstituído a cada tubo de reacção. Todas as reacções deverão agora ter a cor laranja.
7. Cubra imediatamente os tubos com um cartão de selagem novo, retire o suporte do banho de água e misture os tubos de reacção agitando suavemente o suporte manualmente.
8. Incube o suporte num banho de água a 42 °C ± 1 °C por 60 ± 15 minutos.

E. Dual Kinetic Assay (DKA)

Caso utilize o banho de calor seco/vórtex SB100 consulte a *SB100 Application Sheet (Ficha de aplicação SB100)*.

A pipeta de repetição usada nos passos de hibridização e selecção deve ser dedicada para utilização somente nestes passos. Consulte a secção *Avisos e precauções*.

1. Hibridação
   a. Remova o suporte do banho de água e transfira para a área de DKA. Utilizando a pipeta de repetição, adicione 100 µL do reagente de sonda reconstituído a cada tubo de reacção. Todas as reacções deverão agora ter a cor amarela.
   b. Cubra os tubos com um cartão de selagem e leve ao misturador vórtex multitubos.
   c. Incube o suporte num banho de água a 62 °C ± 1 °C por 20 ± 5 minutos.
   d. Remova o suporte do banho de água e incube a temperatura ambiente por 5 ± 1 minutos.

2. Selecção
    a. Utilizando a pipeta de repetição, adicione 250 µL do reagente de selecção a cada tubo de reacção. Todas as reacções deverão agora ter a cor vermelha.
    b. Cubra os tubos com um cartão de selagem, leve o suporte ao vórtex durante 10 segundos ou até a cor ficar uniforme, e faça a incubação do suporte num banho de água a 62 °C ± 1 °C durante 10 ± 1 minutos.
    c. Retire o suporte do banho de água.
3. Detecção

A detecção deve ser executada entre 18 °C a 28 °C.

    a. Incube o suporte entre 18 °C a 28 °C por 15 ± 3 minutos.

***Nota:*** *Este intervalo de temperatura é crítico para o desempenho do ensaio.*

    b. Para utilização do LEADER HC+ Luminómetro e o software de ensaio APTIMA, consulte o *LEADER HC+ Luminometer Operator's Manual (Manual do Operador LEADER HC+ Luminómetro)* e o *APTIMA Assay Software Operator's Manual (Manual do Operador do Software de Ensaio APTIMA).*
    c. Assegure-se de que existem volumes suficientes de Auto Detect 1 e 2 para completar os testes.
    d. Prepare o LEADER HC+ Luminómetro colocando uma TTU vazia na posição 1 da cassete e execute o protocolo **Wash** (lavagem).
    e. Carregue as TTU no luminómetro.
    f. Inicie a sessão no computador. Clique em **New Run** (Novo teste), escolha o protocolo do ensaio **APTIMA COMBO 2** e introduza o número de tubos (controlos e espécimes). Clique em **Next** (Seguinte) para iniciar a execução.

***Nota:*** *O teste deve ser terminado num período de 2 horas a partir do final da incubação do passo de selecção.*

    g. Prepare o fluido de desactivação misturando volumes iguais de solução de hipoclorito de sódio 5% a 7% (0,7 M a 1,0 M) e tampão para fluido de desactivação APTIMA num recipiente de plástico com tampa grande. Coloque a etiqueta e escreva a data de validade no recipiente de plástico. O Fluido de Desactivação fica estável durante 4 semanas à temperatura ambiente. Elimine o Fluido de Desactivação após 4 semanas ou após 100 amostras processadas terem sido desactivadas (o que vier primeiro).
    h. Após remover as TTU usadas do luminómetro, coloque-as no recipiente de Fluido de Desactivação. Deixe que as TTU estabilizem no recipiente durante, pelo menos, 15 minutos, antes de serem eliminadas. Métodos apropriados para manuseamento e descarte devem ser estabelecidos pelo director do laboratório.

## Notas ao procedimento

A. Controlos

Para trabalhar adequadamente com o Software de ensaio APTIMA, o controlo positivo, CT / controlo negativo, GC devem estar na primeira posição da primeira TTU. A etiqueta deste controlo é cor-de-rosa. O texto da etiqueta é "CONTROL + CT PCT / CONTROL – GC NGC". O controlo positivo GC / controlo negativo CT deve estar na segunda posição da primeira TTU. A etiqueta deste controlo é azul esverdeada. O texto da etiqueta é "CONTROL + GC PGC CONTROL – CT NCT". A colocação na posição

errada causará a falha do teste. Quaisquer controlos adicionais deverão ser digitados como espécimes de pacientes e monitorados pelo operador para aceitabilidade.

B. Pipetação de Controlos e Espécimes

O volume de controlo ou espécime adicionado ao tubo de reacção deve ser de 400 µL ± 100 µL. Recomenda-se a inspecção visual do volume pipetado para o tubo de reacção para assegurar uma transferência adequada do volume. É necessário um volume adequado de espécime ou controlo para fornecer resultados precisos. Se não tiver sido pipetado o volume adequado, volte a pipetar o wTCR e o controlo ou espécime para num novo tubo de reacção.

C. Reagentes

A Solução de Reconstituição de Sonda pode precipitar durante o armazenamento. Caso isto ocorra, aqueça a Solução de Reconstituição de Sonda a 62 °C durante 1 a 2 minutos. Após este passo de aquecimento, o Reagente de Reconstituição de Sonda pode ser usado mesmo se ainda houver precipitado residual. Após a nova suspensão, misture o frasco invertendo suavemente, com cuidado para não induzir a formação de espuma.

D. Temperatura

1. Os passos de captura de alvo, amplificação, hibridização e selecção dependem da temperatura. Assim, torna-se imperativo que os banhos de água sejam mantidos nos intervalos de temperatura especificados.
2. A temperatura ambiente está definida entre 15 °C a 30 °C.
3. Os passos de detecção no ensaio devem ser executados entre 18 °C a 28 °C.

E. Tempo

Os passos de captura de alvo, amplificação, hibridização e selecção dependem do tempo. Cumpra os tempos especificados no *Procedimento de Teste dos Sistemas DTS.*

F. Utilização do vórtex

Um procedimento de vórtex adequado é importante para um desempenho bem-sucedido do ensaio APTIMA COMBO 2. Quando se atinge um movimento de vórtex adequado, a suspensão gira a uma velocidade que eleva a solução para a parte superior do tubo. Esta manipulação (vórtex) é mantida por períodos de tempo específicos. Para fazer o vórtex de reacções, defina a velocidade de misturador do vórtex multitubos para a posição mais baixa, fixe o suporte e ligue a corrente eléctrica. Aumente a velocidade lentamente até que o líquido suba até metade do tubo. Sujeite ao vórtex durante 10 segundos, durante o tempo indicado ou até a cor ficar uniforme. Rode a velocidade para a definição mais baixa antes de desligar o misturador vórtex multi-tubos e remover o suporte. As misturas de reacção não devem nunca tocar os cartões de selagem.

G. Banhos de Água

1. O nível da água nos banhos de água deve ser mantido a uma profundidade de 3,8 a 5 cm (1,5 a 2,0 polegadas) conforme medido a partir do tabuleiro de metal de apoio (no fundo do banho de água) até à superfície da água. Assim ficará assegurada uma transferência de calor adequada.
2. Para evitar contaminação cruzada, os banhos de água devem ser dedicados para um passo específico do ensaio.

H. Descontaminação

1. Superfícies e pipetas

   As superfícies das bancadas do laboratório e as pipetas têm de ser regularmente descontaminadas 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 contacto com as superfícies durante pelo menos 1 minuto, enxaguando-as depois com água. Não deixe secar a solução de hipoclorito de sódio. As soluções com cloretos podem provocar corrosão nos equipamentos e metais. Enxagúe bem o equipamento com água para evitar a corrosão.

2. Distribuidor de Aspiração TCS
   a. Coloque um TTC novo no suporte de TTC. Active a bomba de vácuo. Aplique o distribuidor de aspiração às pontas no TTC. Aspire toda a Solução de Lavagem restante na malga de preparação da estação de distribuição de Solução de Lavagem. (Tire o distribuidor do caminho.)
   b. Coloque pelo menos 100 mL de solução de hipoclorito sódio entre 0,5% a 0,7% (0,07 M a 0,1 M), ou, se preferir, 2,5% a 3,5% (0,35 M a 0,5 M), na malga de preparação. Aspire toda a solução com o distribuidor de aspiração.
   c. Coloque pelo menos 100 mL de água desionizada na malga de preparação. Aspire toda a água com o distribuidor de aspiração.
   d. Ejecte as pontas no TTC original.
   e. Deixe a bomba de vácuo ligada até que o distribuidor esteja seco para evitar o refluxo.
   f. Descontamine as superfícies do distribuidor de aspiração da forma descrita na *Unidade TCS*.

3. Recipiente de resíduos TCS

   Quando o frasco de resíduos estiver 25% cheio, ou semanalmente, remova o frasco de resíduos do Sistema de Captura de Alvo.
   a. Desligue a bomba de vácuo e permita que a pressão do vácuo seja equalizada.
   b. Libere os encaixes de desconexão rápida entre o frasco de resíduos e o frasco de recolha de líquido, e o frasco de resíduos e o distribuidor de aspiração.
   c. Remova o frasco de resíduos do compartimento de apreensão de vácuo.
   d. Retire a tampa e adicione cuidadosamente 400 mL de solução de hipoclorito de sódio 5% a 7% (0,7 M a 1,0 M) ao frasco (ou 1 L se estiver a utilizar um frasco de resíduos de 10 L).

      ***Nota:*** *Isto pode ser feito numa cobertura de vapores para evitar o escape de vapores no laboratório.*
   e. Tape o frasco de resíduos e agite gentilmente o conteúdo até que se misturem completamente.
   f. Deixe o frasco de resíduos repousar por 15 minutos e então elimine o conteúdo (resíduos).
   g. Enxagúe o frasco de resíduos com água para remover qualquer resíduo restante.
   h. Tape o frasco de resíduos vazio e coloque-o no compartimento de apreensão de vácuo. Aplique os encaixes de desconexão rápida à unidade TCS. Elimine cuidadosamente ambas as luvas.

4. Unidade TCS

   Limpe as superfícies da unidade TCR, do distribuidor de aspiração e das pontas do ejector do tampão de lavagem com toalhetes de papel humedecidos em solução de hipoclorito de sódio de 2,5% a 3,5% (0,35 M a 0,5 M). Após o passo de limpeza com hipoclorito de sódio, enxague com água e, em seguida, seque totalmente as superfícies com toalhetes de papel.

5. Suportes

   Mergulhe os suportes em solução de hipoclorito de sódio 2,5% a 3,5% (0,35 M a 0,5 M), assegurando que ficam cobertos pela solução de hipoclorito de sódio. Mantenha os suportes mergulhados por 10 minutos. Uma exposição mais prolongada danificará os suportes. Lave bem os suportes com água, coloque-os sobre uma superfície absorvente limpa, e permita que os suportes sequem ao ar completamente. Para prolongar a vida útil dos suportes, permita que eles sequem em posição erecta e não de cabeça para baixo.

I. Contaminação do Ensaio

1. A introdução de materiais contaminantes pode ocorrer se não for tido o cuidado suficiente durante o protocolo de ensaio.
2. As TTU têm de ser descontaminadas com fluido de desactivação conforme descrito em *Detecção*. Não volte a utilizar as TTU.
3. Realize regularmente uma descontaminação do equipamento e das superfícies de trabalho conforme descrito na secção *Notas ao procedimento*, *Descontaminação*.
4. Como em qualquer sistema de reagente, o excesso de pó em algumas luvas pode causar a contaminação de tubos abertos. É recomendada a utilização de luvas sem pó.

J. Protocolo de Monitorização de Contaminação Laboratorial para Sistemas DTS

Existem muitos factores específicos do laboratório que podem contribuir para a contaminação, incluindo volume de testes, fluxo de trabalho, predomínio de doenças e várias outras actividades laboratoriais. Esses factores devem ser considerados ao estabelecer-se a frequência da monitorização de contaminação. Os intervalos para a monitorização de contaminação devem ser estabelecidos com base nas práticas e procedimentos de cada laboratório.

Para monitorizar a contaminação laboratorial, o seguinte procedimento deve ser executado usando o Kit Unissexo APTIMA de Colheita de Espécimes de Esfregaço para Espécimes de Esfregaço Endocervical e da Uretra Masculina:

1. Etiquete os tubos de transporte dos esfregaços com números correspondentes às áreas a serem testadas.
2. Remova o esfregaço de colheita de espécimes (esfregaço com haste azul e impressão verde) de sua embalagem, humedeça-o no meio para transporte de esfregaço, e esfregue a área designada com um movimento circular.
3. Insira imediatamente o esfregaço no tubo de transporte.
4. Quebre com cuidado a haste da zaragatoa na linha marcada, tendo o cuidado de evitar que o conteúdo salpique.
5. Tape novamente o tubo de transporte de esfregaços bem apertado.
6. Repita os Passos 2 a 5 em cada área a amostrar com a zaragatoa.
7. Teste o esfregaço utilizando o ensaio APTIMA COMBO 2 de acordo com o *Procedimento de Teste dos Sistemas DTS.*

   Se os resultados forem positivos ou equívocos para CT ou GC (consulte *Interpretação do teste — controlo de qualidade/resultados do paciente*), a superfície pode estar

contaminada e deve ser descontaminada tratando-a com solução de hipoclorito de sódio, tal como recomendado no *Procedimento de Teste dos Sistemas DTS*, *Preparação do Equipamento*.

***Nota:*** *Em caso de suspeita de contaminação do banho de água, ele poderá ser testado usando o procedimento de teste de espécime de urina, adicionando 2,0 mL da água a um tubo de transporte de espécimes de urina.*

K. Resolução de Problemas

1. Valores de controlo positivo baixos podem ser causados por temperaturas incorrectas durante vários passos no ensaio ou ao permitir que o tempo de selecção no passo de selecção dure mais do que o recomendado.
2. Antecedentes altos podem ocorrer se o tempo de selecção no passo de selecção for abreviado, a temperatura de selecção não estiver correcta ou ocorrer mistura insuficiente após adicionar o Reagente de selecção.
3. Se o controlo positivo, CT / controlo negativo, GC for positivo ou equívoco para GC, ou se o controlo positivo, GC / controlo negativo, CT for positivo ou equívoco para CT, consulte *Notas ao procedimento*, *Contaminação do Ensaio* para mais informações.

# Sistema TIGRIS DTS

Os reagentes do ensaio APTIMA COMBO 2 para CT e GC são indicados abaixo para o Sistema TIGRIS DTS. Os Símbolos para Identificação dos Reagentes também são listados junto ao nome do reagente.

## Reagentes e materiais fornecidos

**Kit de ensaio APTIMA COMBO 2**, 250 testes (2 caixas e 1 kit de controlos) (Ref.ª Cat. 301130 e 301130B)

**Caixa refrigerada APTIMA COMBO 2 (Embalagem 1 de 2)**
**(armazenar entre 2 °C e 8 °C após recepção)**

| Símbolo | Componente | Quantidade |
|---|---|---|
| **A** | **Reagente de Amplificação APTIMA COMBO 2**<br>*Ácidos nucleicos não infecciosos secos em solução tamponada contendo < 5% de agente de volume.* | 1 frasco |
| **E** | **Reagente Enzimático APTIMA COMBO 2**<br>*Transcriptase reversa e RNA polimerase secos em solução tamponada HEPES contendo < 10% de reagente de volume.* | 1 frasco |
| **P** | **Reagente de Sonda APTIMA COMBO 2**<br>*Sondas de DNA quimioluminescentes não-infecciosas secas em solução tamponada com succinato contendo < 5% de detergente.* | 1 frasco |
| **TCR-B** | **Reagente B de Captura de Alvo APTIMA COMBO 2**<br>*Ácidos nucleicos não-infecciosos em solução tamponada contendo < 5% de detergente.* | 1 x 0,61 mL |

**Caixa APTIMA COMBO 2 de temperatura ambiente (Embalagem 2 de 2)**
**(armazenar entre 15 °C e 30 °C após recepção)**

| Símbolo | Componente | Quantidade |
|---|---|---|
| **AR** | **Solução de Reconstituição de Amplificação APTIMA COMBO 2**<br>*Solução aquosa contendo conservantes.* | 1 x 27,7 mL |
| **ER** | **Solução de Reconstituição Enzimática APTIMA COMBO 2**<br>*Solução tampão HEPES contendo um surfactante e glicerol.* | 1 x 11,1 mL |
| **PR** | **Solução de Reconstituição de Sonda APTIMA COMBO 2**<br>*Solução tamponada de succinato contendo < 5% de detergente.* | 1 x 35,4 mL |
| **S** | **Reagente de selecção APTIMA COMBO 2**<br>*Solução tamponada com borato a 600 mM contendo surfactante.* | 1 x 108 mL |
| **TCR** | **Reagente de Captura de Alvo APTIMA COMBO 2**<br>*Solução tamponada salina contendo fase sólida e oligómeros de captura.* | 1 x 54 mL |
| | **Colarinho de Reconstituição** | 3 |
| | **Folha de código de barras do lote principal** | 1 folha |

**Kit de controlos APTIMA**
**(armazenar entre 2 °C e 8 °C após recepção)**

| Símbolo | Componente | Quantidade |
|---|---|---|
| **PCT/NGC** | **Controlo Positivo APTIMA, CT / Controlo Negativo, GC**<br>*Ácido nucleico de CT não infeccioso em solução tamponada contendo < 5% de detergente. Cada amostra de 400 µL contém rRNA que se estima ser equivalente a 1 unidade formadora de inclusões (inclusion forming unit, IFU) de CT (5 fg/ensaio*).* | 5 x 1,7 mL |
| **PGC/NCT** | **Controlo Positivo APTIMA, GC / Controlo Negativo, CT**<br>*Ácido nucleico de GC não infeccioso em solução tamponada contendo < 5% de detergente. Cada amostra de 400 µL contém rRNA que se estima ser equivalente a 50 células de CT (250 fg/ensaio*).* | 5 x 1,7 mL |

*Os equivalentes rRNA foram calculados com base no tamanho do genoma e a taxa estimada média/célula DNA:RNA de cada organismo.

## Materiais necessários, mas disponíveis separadamente

***Nota:*** *Excepto indicação em contrário, as referências de catálogo dos materiais disponibilizados pela Gen-Probe são mencionadas.*

| | Ref.ª Cat. |
|---|---|
| Sistema TIGRIS DTS | 105118 |
| Kit de fluidos do ensaio APTIMA<br>*(solução de lavagem APTIMA, tampão para o fluido de desactivação APTIMA e reagente a óleo APTIMA)* | 302382 |
| Kit de auto-detecção APTIMA | 301048 |
| Kit de conservantes dos fluidos do ensaio APTIMA | 302380 |
| Pontas, 1.000 µL, condutoras, com sensores de líquido | 10612513 (Tecan) |
| Kit de execução do Sistema TIGRIS DTS contendo<br>*Unidades multitubos (Multi-tube Units, MTU) 104772-02*<br>*Kit de saco de pontas usadas de MTU 900907*<br>*Deflectores do recipiente de resíduos de MTU 900931*<br>*Tampas do recipiente de resíduos de MTU 105523* | 301191 |
| Kit de transferência de espécimes APTIMA<br>*para utilização com espécimes em solução PreservCyt* | 301154C |
| Kit APTIMA de colheita de esfregaços vaginais | 301162 |
| Kit Unissexo APTIMA de Colheita de Espécimes de Esfregaço para Espécimes de Esfregaço Endocervical e da Uretra Masculina | 301041 |
| Kit APTIMA de colheita de espécimes de urina para espécimes de urina masculinos e femininos | 301040 |
| Tubos de transporte APTIMA para espécimes de urina para espécimes de urina masculinos e femininos | 105575 |
| Lixívia, solução de hipoclorito de sódio 5% a 7% (0,7 M a 1,0 M) | — |
| Água para o Sistema TIGRIS DTS<br>*consulte o TIGRIS DTS System Operator's Manual (Manual de Instruções do Sistema TIGRIS DTS) para obter as especificações* | — |

| | Ref.ª Cat. |
|---|---|
| Luvas descartáveis | — |
| Padrão de calibração SysCheck | 301078 |
| Tampas penetráveis APTIMA | 105668 |
| Tampas não-penetráveis de substituição | 103036A |
| Tampas suplentes para os kits de 250 testes | — |
| *Soluções de reconstituição de amplificação e de sonda* | *CL0041 (100 tampas)* |
| *Solução de reconstituição enzimática* | *501616 (100 tampas)* |
| *TCR e reagente de selecção* | *CL0040 (100 tampas)* |

## Materiais Opcionais

| | Ref.ª Cat. |
|---|---|
| Kit de controlos APTIMA | 301110 |
| Reforço de lixívia GEN-PROBE<br>*para a limpeza de rotina de superfícies e equipamento* | 302101 |

## Procedimento de Teste do Sistema TIGRIS DTS

***Nota:*** *Consulte o TIGRIS DTS System Operator's Manual (Manual de Instruções do Sistema TIGRIS DTS) para para mais informações sobre procedimentos do Sistema TIGRIS DTS.*

A. Preparação da área de trabalho

1. Limpe as superfícies de trabalho onde os reagentes e amostras 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 contacto com as superfícies durante pelo menos 1 minuto, enxaguando-as depois com água. Não deixe secar a solução de hipoclorito de sódio. Cubra a superfície da bancada onde os reagentes e as amostras serão preparados com capas absorventes para bancadas de laboratórios com forro plástico.

B. Reconstituição dos reagentes/Preparação de um novo kit

***Nota:*** *A reconstituição dos reagentes deve ser realizada antes de começar qualquer trabalho no Sistema TIGRIS DTS.*

1. Para reconstituir os Reagentes de Amplificação, Enzimático e de Sonda, combine os frascos do reagente liofilizado com a solução de reconstituição. Se estiverem refrigeradas, deixe que as soluções de reconstituição atinjam a temperatura ambiente antes de utilizá-las.
   a. Emparelhe cada solução de reconstituição com seu reagente liofilizado. Certifique-se de que a solução de reconstituição e o reagente liofilizado tenham cores de etiqueta correspondentes antes de aplicar o colarinho de reconstituição.
   b. Verifique os números do lote na Ficha de Código de Barras do Lote Principal para garantir que os reagentes adequados sejam emparelhados.
   c. Abra o frasco de reagente liofilizado e insira com firmeza a extremidade ranhurada do colarinho de reconstituição na abertura do frasco (Figura 2, Passo 1).
   d. Abra o frasco da solução de reconstituição correspondente, e deposite a tampa sobre uma superfície de trabalho limpa e coberta.
   e. Enquanto segura o frasco da solução de reconstituição na bancada, insira firmemente a outra extremidade do colarinho de reconstituição na abertura do frasco (Figura 2, Passo 1).

f. Inverta lentamente os frascos montados. Permita que a solução escoe do frasco de solução para o frasco de vidro (Figura 2, Passo 3).

g. Agite suavemente a solução no frasco para misturar. Evite a criação de espuma enquanto agita o frasco (Figura 2, Passo 4).

h. Aguarde que o reagente liofilizado entre em solução e depois inverta novamente os frascos montados, inclinando-o a um ângulo de 45° para minimizar a formação de espuma (Figura 2, Passo 5). Deixe todo o líquido escoar de volta para o frasco de plástico.

i. Retirar o colarinho de reconstituição e o frasco de vidro (Figura 2, Passo 6).

j. Volte a colocar a tampa no frasco de plástico. Registe as iniciais do operador e a data de reconstituição no rótulo (Figura 2, Passo 7).

k. Deite fora o colarinho de reconstituição e o frasco de vidro (Figura 2, Passo 8).

***Aviso:*** *Evite formar espuma ao reconstituir os reagentes. A espuma compromete o sensor de nível no Sistema TIGRIS DTS.*

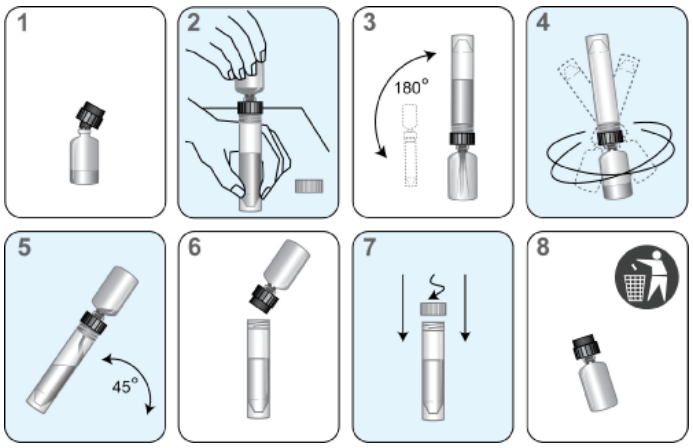


***Figura 2. Processo de reconstituição nos sistemas TIGRIS DTS ou PANTHER***

2. Prepare o reagente de captura do alvo de trabalho (Working Target Capture Reagent, wTCR)
   a. Emparelhe os frascos adequados de TCR e TCR-B.
   b. Verifique os números do lote na Ficha de Código de Barras do Lote Principal para garantir que os reagentes adequados no kit estejam emparelhados.
   c. Abra o frasco de TCR e deposite a tampa sobre uma superfície de trabalho limpa e coberta.
   d. Abra o frasco de TCR-B e verta o conteúdo por inteiro no frasco de TCR. Espere que uma pequena quantidade de líquido permaneça no frasco de TCR-B.
   e. Tape o frasco de TCR e agite suavemente a solução para misturar o conteúdo. Evite formar espuma durante este passo.
   f. Registe as iniciais do operador e a data actual na etiqueta.
   g. Elimine o frasco e a tampa de TCR-B.

3. Prepare o reagente de selecção
    a. Verifique o número do lote no frasco de reagente para se certificar de que corresponde ao número de lote na folha de código de barras do lote principal.
    b. Registe as iniciais do operador e a data actual na etiqueta.

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

C. Preparação de reagentes para reagentes previamente reconstituídos
1. Os reagentes de amplificação, enzimático e de sonda previamente reconstituídos têm de atingir a temperatura ambiente (15 °C a 30 °C) antes do início do ensaio.
2. Se o reagente de sonda reconstituído contiver um precipitado que não volte a solubilizar-se à temperatura ambiente, aqueça o frasco tapado a uma temperatura não superior a 62 °C durante 1 a 2 minutos. Após este passo de aquecimento, o Reagente de Sonda pode ser usado mesmo se ainda houver precipitado residual. Misture o Reagente de Sonda por inversão, tomando o cuidado de não induzir espuma, antes de carregá-lo no sistema.
3. Misture bem todos os reagentes, invertendo-os suavemente, antes de os carregar no sistema. Evite formar espuma durante a inversão dos reagentes.
4. Não encha demasiado os frascos de reagentes. O Sistema TIGRIS DTS reconhece e rejeita frascos que estejam demasiadamente cheios.

D. Manuseamento de espécimes
1. Deixe que os espécimes e controlos alcancem a temperatura ambiente antes do processamento.
2. **Não agite os espécimes no vórtex.**
3. Confirme visualmente se todos os tubos de espécimes cumprem um dos seguintes critérios:
    a. Presença de uma única zaragatoa de colheita azul APTIMA num tubo de transporte de esfregaços unissexo.
    b. Presença de uma única zaragatoa de colheita cor-de-rosa APTIMA num tubo de transporte de esfregaços vaginais.
    c. Volume final de urina entre as linhas de enchimento pretas dos tubos de transporte de espécimes de urina.
    d. Ausência de zaragatoa no tubo de transporte de espécimes APTIMA para espécimes citológicos em base líquida PreservCyt.
4. Inspeccione os tubos de espécimes antes de os carregar no suporte:
    a. Caso um tubo de espécime contenha bolhas no espaço entre o líquido e a tampa, centrifugue o tubo por 5 minutos com 420 RCF para eliminar as bolhas.
    b. Caso um tubo de espécime apresente um volume menor do que o habitualmente observado quando se seguem as instruções de colheita, centrifugue o tubo por 5 minutos com 420 RCF para garantir que o líquido não fique retido na tampa.
    c. Se o nível de líquido num tubo de espécimes de urina não estiver entre as duas linhas pretas indicadoras do rótulo, o espécime tem de ser rejeitado. Não perfure um tubo demasiado cheio.

d. Se um tubo de espécimes de urina contiver precipitado, aqueça o espécime a 37 °C durante até 5 minutos. Se o precipitado não voltar a entrar em solução, certifique-se visualmente de que o precipitado não impede a distribuição do espécime.

***Nota:*** *Caso os Passos 4a-c não sejam seguidos, pode haver descarga de líquido da tampa do tubo de espécimes.*

***Nota:*** *Podem ser testadas até 3 alíquotas distintas de cada tubo de espécimes. A tentativa de pipetar mais de 3 alíquotas do tubo de espécimes pode provocar erros por volume insuficiente.*

E. Preparação do sistema

Defina o sistema e a lista de trabalho de acordo com as instruções do *TIGRIS DTS System Operator's Manual (Manual de Instruções do Sistema TIGRIS DTS)* e das *Notas ao procedimento*.

## Notas ao procedimento

A. Controlos

1. Para trabalhar adequadamente com o software de ensaio APTIMA para o Sistema TIGRIS DTS, são necessários controlos frontais e finais. O controlo positivo, CT / controlo negativo, GC deve ocupar a primeira posição e a penúltima posição de uma lista de trabalho. A etiqueta deste controlo é cor-de-rosa. O texto da etiqueta é "CONTROL + CT PCT / CONTROL – GC NGC". O controlo positivo, GC / controlo negativo, CT deve ocupar a segunda posição e a última posição de uma lista de trabalho. A etiqueta deste controlo é azul esverdeada. O texto da etiqueta é "CONTROL + GC PGC / CONTROL – CT NCT".
2. Cada tubo de controlo APTIMA pode ser testado uma vez. A tentativa de pipetar mais de uma vez do tubo de espécimes pode provocar erros por volume insuficiente.

B. Temperatura

Considera-se que a temperatura ambiente é a compreendida entre 15 °C e 30 °C.

C. Pó das Luvas

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

D. Protocolo de Monitorização de Contaminação Laboratorial para o Sistema TIGRIS DTS

Existem muitos factores específicos do laboratório que podem contribuir para a contaminação, incluindo volume de testes, fluxo de trabalho, predomínio de doenças e várias outras actividades laboratoriais. Esses factores devem ser considerados ao estabelecer-se a frequência da monitorização de contaminação. Os intervalos para a monitorização de contaminação devem ser estabelecidos com base nas práticas e procedimentos de cada laboratório.

Para monitorizar a contaminação laboratorial, o seguinte procedimento deve ser executado usando o Kit Unissexo APTIMA de Colheita de Espécimes de Esfregaço para Espécimes de Esfregaço Endocervical e da Uretra Masculina:

1. Etiquete os tubos de transporte dos esfregaços com números correspondentes às áreas a serem testadas.
2. Remova o esfregaço de colheita de espécimes (esfregaço com haste azul e impressão verde) de sua embalagem, humedeça-o no meio para transporte de esfregaço, e esfregue a área designada com um movimento circular.
3. Insira imediatamente o esfregaço no tubo de transporte.

4. Quebre com cuidado a haste da zaragatoa na linha marcada, tendo o cuidado de evitar que o conteúdo salpique.
5. Tape novamente o tubo de transporte de esfregaços bem apertado.
6. Repita os Passos 2 a 5 em cada área a amostrar com a zaragatoa.

Caso os resultados de CT ou GC sejam positivos ou inconclusivos, consulte *Interpretação do teste — controlo de qualidade/resultados do paciente*. Consulte o *TIGRIS DTS System Operator's Manual (Manual de instruções do Sistema TIGRIS DTS)* para obter mais informações sobre monitorização de contaminações específicas do Sistema TIGRIS DTS.

## Sistema PANTHER

Os reagentes do ensaio APTIMA COMBO 2 para CT e GC são indicados abaixo para o Sistema PANTHER. Os Símbolos para Identificação dos Reagentes também são listados junto ao nome do reagente.

### Reagentes e materiais fornecidos

**Kit de ensaio APTIMA COMBO 2**

100 testes (2 caixas e um kit de controlos) (Ref.ª Cat. 302923)

250 testes (2 caixas e um kit de controlos) (Ref.ª Cat. 303094)

**Caixa refrigerada APTIMA COMBO 2 (Caixa 1 de 2)**
**(armazenar entre 2 °C e 8 °C após recepção)**

| Símbolo | Componente | Quantidade kit de 250 testes | Quantidade kit de 100 testes |
|---|---|---|---|
| A | **Reagente de Amplificação APTIMA COMBO 2**<br>*Ácidos nucleicos não infecciosos secos em solução tamponada contendo < 5% de agente de volume.* | 1 frasco | 1 frasco |
| E | **Reagente Enzimático APTIMA COMBO 2**<br>*Transcriptase reversa e RNA polimerase secos em solução tamponada HEPES contendo < 10% de reagente de volume.* | 1 frasco | 1 frasco |
| P | **Reagente de Sonda APTIMA COMBO 2**<br>*Sondas de DNA quimioluminescentes não-infecciosas secas em solução tamponada com succinato contendo < 5% de detergente.* | 1 frasco | 1 frasco |
| TCR-B | **Reagente B de Captura de Alvo APTIMA COMBO 2**<br>*Ácidos nucleicos não-infecciosos numa solução tampão contendo < 5% de detergente.* | 1 x 0,61 mL | 1 x 0,30 mL |

**Caixa APTIMA COMBO 2 de temperatura ambiente (Caixa 2 de 2)**
**(armazenar entre 15 °C e 30 °C após recepção)**

| Símbolo | Componente | Quantidade kit de 250 testes | Quantidade kit de 100 testes |
|---|---|---|---|
| AR | **Solução de Reconstituição de Amplificação APTIMA COMBO 2**<br>*Solução aquosa contendo conservantes.* | 1 x 27,7 mL | 1 x 11,9 mL |
| ER | **Solução de Reconstituição Enzimática APTIMA COMBO 2**<br>*Solução tampão HEPES contendo um surfactante e glicerol.* | 1 x 11,1 mL | 1 x 6,3 mL |

**Caixa APTIMA COMBO 2 de temperatura ambiente (Caixa 2 de 2)**
**(armazenar entre 15 °C e 30 °C após recepção)**

| Símbolo | Componente | Quantidade kit de 250 testes | Quantidade kit de 100 testes |
|---|---|---|---|
| **PR** | **Solução de Reconstituição de Sonda APTIMA COMBO 2**<br>*Solução tamponada de succinato contendo < 5% de detergente.* | 1 x 35,4 mL | 1 x 15,2 mL |
| **S** | **Reagente de selecção APTIMA COMBO 2**<br>*Solução tamponada com borato a 600 mM contendo surfactante.* | 1 x 108 mL | 1 x 43,0 mL |
| **TCR** | **Reagente de Captura de Alvo APTIMA COMBO 2**<br>*Solução tamponada salina contendo fase sólida e oligómeros de captura.* | 1 x 54 mL | 1 x 26,0 mL |
| | **Colarinho de Reconstituição** | 3 | 3 |
| | **Folha de código de barras do lote principal** | 1 folha | 1 folha |

**Kit de controlos APTIMA**
**(armazenar entre 2 °C e 8 °C após recepção)**

| Símbolo | Componente | Quantidade |
|---|---|---|
| **PCT/ NGC** | **Controlo Positivo APTIMA, CT / Controlo Negativo, GC**<br>*Ácido nucleico de CT não infeccioso em solução tamponada contendo < 5% de detergente. Cada amostra de 400 µL contém rRNA que se estima ser equivalente a 1 unidade formadora de inclusões (inclusion forming unit, IFU) de CT (5 fg/ensaio*).* | 5 x 1,7 mL |
| **PGC/ NCT** | **Controlo Positivo APTIMA, GC / Controlo Negativo, CT**<br>*Ácido nucleico de GC não infeccioso em solução tamponada contendo < 5% de detergente. Cada amostra de 400 µL contém rRNA que se estima ser equivalente a 50 células de GC (250 fg/ensaio*).* | 5 x 1,7 mL |

*Os equivalentes rRNA foram calculados com base no tamanho do genoma e a taxa estimada média/célula DNA:RNA de cada organismo.

## Materiais necessários, mas disponíveis separadamente

***Nota:*** *Excepto indicação em contrário, as referências de catálogo dos materiais disponibilizados pela Gen-Probe são mencionadas.*

| | Ref.ª Cat. |
|---|---|
| Sistema PANTHER | 303095 |
| Kit de fluidos do ensaio APTIMA<br>*(solução de lavagem APTIMA, tampão para o fluido de desactivação APTIMA e reagente a óleo APTIMA)* | 303014 (1.000 testes) |
| Kit de auto-detecção APTIMA | 303013 (1.000 testes) |
| Unidades multitubos (Multi-tube units, MTU) | 104772-02 |
| Kit de sacos de resíduos PANTHER | 902731 |

| | |
|---|---|
| Tampa do recipiente de resíduos do PANTHER | 902714 |
| Ou kit de teste PANTHER<br>*contém MTU, sacos de resíduos, tampas de recipientes de resíduos, fluidos do ensaio e líquidos Auto Detect* | 303096 (5.000 testes) |
| Pontas, 1.000 µL, condutoras, com sensores de líquido | 10612513 (Tecan) |
| Kit de transferência de espécimes APTIMA<br>*para utilização com espécimes em solução PreservCyt* | 301154C |
| Kit APTIMA de colheita de esfregaços vaginais | 301162 |
| Kit Unissexo APTIMA de Colheita de Espécimes de Esfregaço para Espécimes de Esfregaço Endocervical e da Uretra Masculina | 301041 |
| Kit APTIMA de colheita de espécimes de urina para espécimes de urina masculinos e femininos | 301040 |
| Tubos de transporte APTIMA para espécimes de urina para espécimes de urina masculinos e femininos | 105575 |
| Lixívia, solução de hipoclorito de sódio 5% a 7% (0,7 M a 1,0 M) | — |
| Luvas descartáveis | — |
| Padrão de calibração SysCheck | 301078 |
| Tampas penetráveis APTIMA | 105668 |
| Tampas não-penetráveis de substituição | 103036A |
| Tampas suplentes para os kits de 250 testes | — |
| *Soluções de reconstituição de amplificação e de sonda* | *CL0041 (100 tampas)* |
| *Solução de reconstituição enzimática* | *501616 (100 tampas)* |
| *TCR e reagente de selecção* | *CL0040 (100 tampas)* |
| Tampas suplentes para os kits de 100 testes | — |
| *Soluções de reconstituição dos reagentes de amplificação, enzimático e de sonda* | *CL0041 (100 tampas)* |
| *TCR e reagente de selecção* | *501604 (100 tampas)* |

## Materiais Opcionais

| | Ref.ª Cat. |
|---|---|
| Kit de controlos APTIMA | 301110 |
| Reforço de lixívia GEN-PROBE<br>*para a limpeza de rotina de superfícies e equipamento* | 302101 |

## Procedimento de teste do Sistema PANTHER

***Nota:*** *Consulte o PANTHER System Operator's Manual (Manual de Instruções do Sistema PANTHER) para mais informações sobre procedimentos do Sistema PANTHER.*

A. Preparação da área de trabalho

1. Limpe as superfícies de trabalho onde os reagentes e amostras 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 contacto com as superfícies durante pelo menos 1 minuto, enxaguando-as depois com água. Não deixe secar a solução de hipoclorito de sódio. Cubra a superfície da bancada onde os reagentes e as amostras serão preparados com capas absorventes para bancadas de laboratórios com forro plástico.

B. Reconstituição dos reagentes/Preparação de um novo kit

***Nota:*** *A reconstituição do reagente deve ser realizada antes de começar qualquer trabalho no Sistema PANTHER.*

1. Para reconstituir os reagentes de amplificação, enzimático e de sonda, combine os frascos de reagente liofilizado com a solução de reconstituição. Se estiverem refrigeradas, deixe que as soluções de reconstituição atinjam a temperatura ambiente antes de utilizá-las.
   a. Emparelhe cada solução de reconstituição com seu reagente liofilizado. Certifique-se de que a solução de reconstituição e o reagente têm cores de etiqueta correspondentes antes de aplicar o colarinho de reconstituição.
   b. Verifique os números do lote na Ficha de Código de Barras do Lote Principal para garantir que os reagentes adequados sejam emparelhados.
   c. Abra o frasco de reagente liofilizado e insira com firmeza a extremidade ranhurada do colarinho de reconstituição na abertura do frasco (Figura 3, Passo 1).
   d. Abra o frasco da solução de reconstituição correspondente e coloque a tampa numa superfície de trabalho limpa e coberta.
   e. Segurando o frasco da solução de reconstituição na bancada, insira com firmeza a outra extremidade do colarinho de reconstituição na abertura do frasco (Figura 3, Passo 2).
   f. Inverta lentamente os frascos montados. Permita que a solução escoe do frasco de solução para o frasco de vidro (Figura 3, Passo 3).
   g. Agite suavemente a solução no frasco para a misturar. Evite a criação de espuma durante a agitação do frasco (Figura 3, Passo 4).
   h. Aguarde que o reagente liofilizado entre em solução e depois inverta novamente os frascos montados, inclinando-o a um ângulo de 45° para minimizar a formação de espuma (Figura 3, Passo 5). Deixe todo o líquido escoar de volta para o frasco de plástico.
   i. Retire o colarinho de reconstituição e o frasco de vidro (Figura 3, Passo 6).
   j. Volte a colocar a tampa no frasco de plástico. Anote as iniciais do operador e a data de reconstituição na etiqueta (Figura 3, Passo 7).
   k. Deite fora o colarinho de reconstituição e o frasco de vidro (Figura 3, Passo 8).

***Aviso:*** *Evite formar espuma ao reconstituir os reagentes. A espuma compromete o sensor de nível no Sistema PANTHER.*

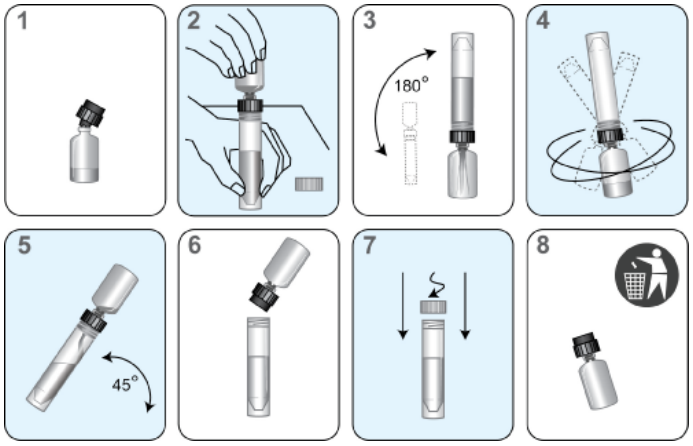


***Figura 3. Processo de reconstituição nos sistemas TIGRIS DTS ou PANTHER***

2. Prepare o reagente de captura do alvo de trabalho (Working Target Capture Reagent, wTCR)
   a. Emparelhe os frascos adequados de TCR e TCR-B.
   b. Verifique os números do lote na Ficha de Código de Barras do Lote Principal para garantir que os reagentes adequados no kit estejam emparelhados.
   c. Abra o frasco de TCR e deposite a tampa sobre uma superfície de trabalho limpa e coberta.
   d. Abra o frasco de TCR-B e verta o conteúdo por inteiro no frasco de TCR. Espere que uma pequena quantidade de líquido permaneça no frasco de TCR-B.
   e. Tape o frasco de TCR e agite suavemente a solução para misturar o conteúdo. Evite formar espuma durante este passo.
   f. Registe as iniciais do operador e a data actual na etiqueta.
   g. Elimine o frasco e a tampa de TCR-B.
3. Prepare o reagente de selecção
   a. Verifique o número do lote no frasco de reagente para se certificar de que corresponde ao número de lote na folha de código de barras do lote principal.
   b. Registe as iniciais do operador e a data actual na etiqueta.

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

C. Preparação de reagentes (para reagentes previamente reconstituídos)
1. Os reagentes de amplificação, enzimático e de sonda previamente reconstituídos têm de atingir a temperatura ambiente (15 °C a 30 °C) antes do início do ensaio.
2. Se o reagente de sonda reconstituído contiver um precipitado que não volte a solubilizar-se à temperatura ambiente, aqueça o frasco tapado a uma temperatura não superior a 62 °C durante 1 a 2 minutos. Após este passo de aquecimento, o Reagente de Sonda pode ser usado mesmo se ainda houver precipitado residual. Misture o Reagente de Sonda por inversão, tomando o cuidado de não induzir espuma, antes de carregá-lo no sistema.
3. Misture bem todos os reagentes, invertendo-os suavemente, antes de os carregar no sistema. Evite formar espuma durante a inversão dos reagentes.

4. Não encha demasiado os frascos de reagentes. O Sistema PANTHER reconhece e rejeita frascos que estejam demasiadamente cheios.

D. Manuseamento de espécimes

1. Deixe que os espécimes e controlos alcancem a temperatura ambiente antes do processamento.
2. **Não agite os espécimes no vórtex.**
3. Confirme visualmente se todos os tubos de espécimes cumprem um dos seguintes critérios:
   a. Presença de uma única zaragatoa de colheita azul APTIMA num tubo de transporte de esfregaços unissexo.
   b. Presença de uma única zaragatoa de colheita cor-de-rosa APTIMA num tubo de transporte de esfregaços vaginais.
   c. Volume final de urina entre as linhas de enchimento pretas dos tubos de transporte de espécimes de urina.
   d. Ausência de zaragatoa no tubo de transporte de espécimes APTIMA para espécimes citológicos em base líquida PreservCyt.
4. Inspeccione os tubos de espécimes antes de os carregar no suporte:
   a. Caso um tubo de espécime contenha bolhas no espaço entre o líquido e a tampa, centrifugue o tubo por 5 minutos com 420 RCF para eliminar as bolhas.
   b. Caso um tubo de espécime apresente um volume menor do que o habitualmente observado quando se seguem as instruções de colheita, centrifugue o tubo por 5 minutos com 420 RCF para garantir que o líquido não fique retido na tampa.
   c. Se o nível de líquido num tubo de espécimes de urina não estiver entre as duas linhas pretas indicadoras do rótulo, o espécime tem de ser rejeitado. Caso um tubo de transporte de urina apresente um volume menor do que o habitualmente observado, centrifugue o tubo por 5 minutos com 420 RCF para garantir que o líquido não fique retido na tampa. Não perfure um tubo demasiado cheio.
   d. Se um tubo de espécimes de urina contiver precipitado, aqueça o espécime a 37 °C durante até 5 minutos. Se o precipitado não voltar a entrar em solução, certifique-se visualmente de que o precipitado não impede a distribuição do espécime.

***Nota:*** *Caso os Passos 4a-c não sejam seguidos, pode haver descarga de líquido da tampa do tubo de espécimes.*

***Nota:*** *Podem ser testadas até 3 alíquotas distintas de cada tubo de espécimes. A tentativa de pipetar mais de 3 alíquotas do tubo de espécimes pode provocar erros de processamento.*

E. Preparação do sistema

1. Defina o sistema de acordo com as instruções do *PANTHER System Operator's Manual (Manual de Instruções do Sistema PANTHER)* e das *Notas ao procedimento*. Certifique-se de que são utilizados suportes de reagente e adaptadores de TCR de dimensão adequada.
2. Carregue as amostras.

## Notas ao procedimento

A. Controlos

1. Para funcionar correctamente com o software do ensaio APTIMA no Sistema PANTHER, é necessário um par de controlos. Os tubos de controlo positivo, CT / controlo negativo GC e de controlo positivo GC / controlo negativo CT podem ser carregados em qualquer posição do suporte ou em qualquer calha da zona de amostras do Sistema PANTHER. A pipetagem de espécimes do paciente começa quando se cumpre uma das duas condições seguintes:
   a. Está a ser actualmente processado pelo sistema um par de controlos.
   b. São registados no sistema resultados válidos para os controlos.
2. Depois de os tubos de controlo terem sido pipetados e estarem a ser processados para um kit de reagente específico, os espécimes dos pacientes podem ser testados com o kit associado durante até 24 horas **excepto se:**
   a. Os resultados dos controlos forem inválidos.
   b. O kit de reagente do ensaio associado for retirado do sistema.
   c. O kit de reagente do ensaio associado tiver excedido os limites de estabilidade.
3. Cada tubo de controlo APTIMA pode ser testado uma vez. A tentativa de pipetar mais de uma vez do tubo pode provocar erros de processamento.

B. Temperatura

Considera-se que a temperatura ambiente é a compreendida entre 15 °C e 30 °C.

C. Pó das Luvas

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

D. Protocolo de monitorização de contaminação laboratorial para o Sistema PANTHER

Existem muitos factores específicos do laboratório que podem contribuir para a contaminação, incluindo volume de testes, fluxo de trabalho, predomínio de doenças e várias outras actividades laboratoriais. Esses factores devem ser considerados ao estabelecer-se a frequência da monitorização de contaminação. Os intervalos para a monitorização de contaminação devem ser estabelecidos com base nas práticas e procedimentos de cada laboratório.

Para monitorizar a contaminação laboratorial, o seguinte procedimento deve ser executado usando o Kit Unissexo APTIMA de Colheita de Espécimes de Esfregaço para Espécimes de Esfregaço Endocervical e da Uretra Masculina:

1. Etiquete os tubos de transporte dos esfregaços com números correspondentes às áreas a serem testadas.
2. Remova o esfregaço de colheita de espécimes (esfregaço com haste azul e impressão verde) de sua embalagem, humedeça-o no meio para transporte de esfregaço, e esfregue a área designada com um movimento circular.
3. Insira imediatamente o esfregaço no tubo de transporte.
4. Quebre com cuidado a haste da zaragatoa na linha marcada, tendo o cuidado de evitar que o conteúdo salpique.
5. Tape novamente o tubo de transporte de esfregaços bem apertado.
6. Repita os Passos 2 a 5 em cada área a amostrar com a zaragatoa.

Caso os resultados de CT ou GC sejam positivos ou inconclusivos, consulte *Interpretação do teste — controlo de qualidade/resultados do paciente*. Para mais informações sobre a monitorização de contaminações específicas do Sistema PANTHER, contacte a assistência técnica da Gen-Probe.

# Interpretação do teste — controlo de qualidade/resultados do paciente

A. Interpretação do Teste

Os resultados de teste do ensaio são interpretados automaticamente pelo software de ensaio APTIMA, utilizando o protocolo APTIMA COMBO 2, e apresentados como resultados de testes individuais para CT e GC. Um resultado de teste pode ser negativo, dúbio, positivo ou inválido, conforme determinado pelo tipo cinético e a RLU no passo de detecção (vide abaixo). Um resultado de teste pode ser inválido devido a um parâmetro que esteja fora dos intervalos normais esperados. Os resultados de testes iniciais dúbios e inválidos devem ser testados novamente.

| Tipo Cinético | Total de RLU (x1.000) para alcançar Resultado CT | | |
|---|---|---|---|
| | Negativo | Equívoco | Positivo |
| Apenas CT | 1 a < 25 | 25 a < 100 | 100 a < 4.500 |
| CT e GC | 1 a < 85 | 85 a < 250 | 250 a < 4.500 |
| CT indeterminado | 1 a < 85 | 85 a < 4.500 | N/A |

| Tipo Cinético | Total de RLU (x1.000) para alcançar Resultado GC | | |
|---|---|---|---|
| | Negativo | Equívoco | Positivo |
| Apenas GC | 1 a < 60 | 60 a < 150 | 150 a < 4.500 |
| GC e CT | 1 a < 85 | 85 a < 250 | 250 a < 4.500 |
| GC indeterminado | 1 a < 85 | 85 a < 4.500 | N/A |

B. Resultados de Controlo de Qualidade e Aceitabilidade

O controlo positivo, CT / controlo negativo, GC e o controlo positivo, GC / controlo negativo, CT agem como controlos para os passos de captura de alvo, amplificação, e detecção do ensaio. De acordo com directrizes ou exigências de regulamentos locais, estaduais e/ou federais, ou organizações de acreditação, controlos adicionais para lise celular e estabilização de RNA podem ser incluídos. O controlo positivo, CT / controlo negativo, GC serve como o controlo negativo para os resultados de teste GC. O controlo positivo, GC / controlo negativo, CT serve como o controlo negativo para os resultados de teste CT. Se desejado, um controlo negativo duplo fornecido pelo usuário pode ser adicionado para monitorizar o sinal de fundo do ensaio. A preparação correcta dos espécimes é confirmada visualmente pela presença de uma única zaragatoa de colheita APTIMA num tubo de transporte de esfregaços, um volume final de urina situado entre as linhas pretas de enchimento num tubo de transporte de espécimes de urina ou a ausência de qualquer zaragatoa num tubo de transferência de espécimes APTIMA para espécimes citológicos líquidos.

Os Controlos Positivos devem produzir os seguintes resultados de testes:

| Controlo | Total de RLU (x1.000) | Resultado da CT | Resultado da GC |
|---|---|---|---|
| Controlo positivo, CT/ Controlo negativo, GC | ≥ 100 e < 3.000 | Positivo | Negativo |
| Controlo positivo, GC/ Controlo negativo, CT | ≥ 150 e < 3.000 | Negativo | Positivo |

1. O Software de ensaio APTIMA avalia os controlos de acordo com os critérios acima, e relatará o Status de Execução como APROVADO (PASS) se os critérios do controlo de execução forem atendidos, e REPROVADO (FAIL) se os critérios do controlo de execução não forem atendidos.
2. Se o Status de Execução for REPROVADO (FAIL), todos os resultados de testes da mesma execução serão inválidos e não deverão ser relatados.

3. Cada laboratório deve implementar procedimentos de controlo adequados para atender aos requisitos dos regulamentos CLIA (secção 493.1256).

***Nota:*** *Consulte a secção Resolução de Problemas ou contacte a assistência técnica da Gen-Probe para auxílio com controlos fora dos intervalos nos Sistemas DTS.*

4. Um parâmetro do Sistema TIGRIS DTS permite que cada local especifique uma frequência de "suporte de controlo", pela qual conjuntos adicionais de controlos podem ser colocados em intervalos definidos dentro da lista de trabalho. Caso este parâmetro seja especificado, o Sistema TIGRIS DTS exigirá que um conjunto de controlos seja aplicado após o número definido de espécimes no suporte de controlo. O Sistema TIGRIS DTS avalia automaticamente cada controlo na lista de trabalho de acordo com os critérios acima, e invalidará todos os espécimes no(s) suporte(s) de controlo(s) afectados, caso os critérios de controlos não seja atendido. Consulte o *TIGRIS DTS System Operator's Manual (Manual do Operador do Sistema TIGRIS DTS)* para obter mais detalhes.
5. Controlos negativos podem não ser efectivos na monitorização de transmissão aleatória. Consulte as *Desempenho analítico no Sistema TIGRIS DTS* para obter os resultados de um estudo de transmissão analítica de alto alvo que se realizou para demonstrar o controlo da transmissão no Sistema TIGRIS DTS. Consulte as *Desempenho analítico no Sistema PANTHER* para obter os resultados de um estudo de transmissão analítica de alto alvo que se realizou para demonstrar o controlo da transmissão no Sistema PANTHER.

C. Controlo de Preparação de Espécime (Opcional)

O controlo positivo, CT / controlo negativo, GC e o controlo positivo, GC / controlo negativo, CT fornecidos no kit agem como controlos para os passos de captura de alvo, amplificação, e detecão em cada execução do ensaio. Caso desejado, os controlos para a lise celular e a estabilização de RNA em meios de transporte apropriados (Solução PreservCyt, STM) podem ser testados de acordo com as exigências das agências de acreditação adequadas ou procedimentos de laboratórios individuais. Espécimes positivos conhecidos podem servir como controlos sendo preparados e testados em conjunto com espécimes desconhecidos. Os espécimes usados como controlos de preparação devem ser armazenados, manipulados e testados de acordo com o folheto da embalagem. Os controlos de preparação de espécimes devem ser interpretados da mesma forma descrita para espécimes de testes de pacientes. Consulte a secção *Interpretação do teste — controlo de qualidade/resultados do paciente*, *Resultados de Testes de Pacientes*.

D. Resultados de Testes de Pacientes

1. Se os controlos em qualquer execução não gerarem os resultados esperados, os resultados de testes em espécimes de pacientes na mesma execução não devem ser reportados.

2. Resultados de esfregaços, espécimes citológicos em base líquida PreservCyt e de urina (ver Notas abaixo).
   a. Resultados iniciais

| | |
|---|---|
| Pos para CT | Positivo para CT rRNA. |
| Neg para CT | Presumidamente negativo para CT rRNA. |
| Equiv para CT | A amostra deve ser testada novamente. |
| Pos para GC | Positivo para GC rRNA. |
| Neg para GC | Presumidamente negativo para GC rRNA. |
| Equiv para GC | A amostra deve ser testada novamente. |
| Inválido | A amostra deve ser testada novamente. |

   b. Resultados do Novo Teste

| | |
|---|---|
| Pos para CT | Positivo para CT rRNA. |
| Neg para CT | Presumidamente negativo para CT rRNA. |
| Equiv para CT | Indeterminado, um novo espécime deve ser recolhido. |
| Pos para GC | Positivo para GC rRNA. |
| Neg para GC | Presumidamente negativo para GC rRNA. |
| Equiv para GC | Indeterminado, um novo espécime deve ser recolhido. |
| Inválido | Indeterminado, um novo espécime deve ser recolhido. |

*Notas:*

- Recomenda-se que sejam cuidadosamente ponderados os dados de desempenho aquando da interpretação dos resultados do ensaio APTIMA COMBO 2 em indivíduos assintomáticos ou em quaisquer indivíduos de populações de prevalência baixa.
- O primeiro resultado válido para cada analito é o que deve ser relatado.
- Um resultado negativo não impede a presença de uma infecção CT ou GC, visto que os resultados dependem da colheita adequada de espécimes, ausência de inibidores e rRNA suficiente para serem detectados. Os resultados do teste podem ser afectados pela colheita inadequada de espécimes, armazenamento inadequado de espécimes, erro técnico ou mistura do espécime.
- Como é válido para todos os métodos de não cultura, um espécime positivo obtido a partir de um paciente após tratamento terapêutico não pode ser interpretado como se estivesse indicando a presença de CT ou GC viável.
- Como é válido para todos os métodos de testes de urina, um resultado negativo de urina para uma paciente feminina, sobre a qual há suspeitas clínicas de haver infecções por chlamydia ou gonocócicas, não descartam a presença de CT ou GC no tracto urogenital. Nestes casos, recomenda-se o teste de um espécime endocervical. Além disso, um resultado de urina negativo para GC de uma paciente feminina tem menor valor preditivo negativo do que um resultado de esfregaço endocervical.
- Recomendam-se os testes de espécimes endocervicais para pacientes femininas, sobre as quais há suspeitas clínicas de haver infecções por clamídia ou gonocócicas. Se forem recolhidos esfregaços citológicos e endocervicais, o espécime citológico líquido em solução PreservCyt tem de ser recolhido antes do espécime do esfregaço endocervical.

# Limitações

A. A utilização deste ensaio se limita ao pessoal que foi treinado no procedimento. Não seguir as instruções dadas no folheto desta embalagem pode levar a resultados errados.

B. Os esfregaços foram avaliados com o ensaio APTIMA COMBO 2 em Sistemas DTS para verificar a eventual interferência de sangue, lubrificantes ginecológicos e espermicidas. Os espécimes de urina foram avaliados para verificar a interferência de sangue, vitaminas consumidas comummente, minerais e analgésicos vendidos sem receita médica. Foi também avaliada a interferência do sangue no Sistema TIGRIS DTS e no Sistema PANTHER. Os dados não indicaram nenhuma interferência destas substâncias no ensaio.

C. Os efeitos das variáveis de utilização de tampão, da irrigação e da colheita de espécimes não foram avaliados quanto a seu impacto sobre a detecção de CT ou GC.

D. A presença de muco nos espécimes endocervicais não interfere na detecção de CT ou de GC pelo ensaio APTIMA COMBO 2. No entanto, para garantir a colheita de células infectadas com CT, devem ser amostradas as células epiteliais que revestem o endocérvix. Se o muco excessivo não for removido, a amostragem destas células não será garantida.

E. Este ensaio foi testado utilizando apenas os seguintes espécimes:

- Espécimes de esfregaço endocervicais, vaginais e da uretra masculina recolhidos por médico
- Espécimes citológicos líquidos em solução PreservCyt recolhidos por médico
- Espécimes de esfregaço vaginal recolhidos pela paciente
- Espécimes de urina feminina e masculina recolhidos pelo paciente

Não foi avaliado o desempenho com outros espécimes que não os colhidos com os seguintes kits de colheita:

- Kit Unissexo APTIMA de Colheita de Espécimes de Esfregaço para Espécimes de Esfregaço Endocervical e da Uretra Masculina
- Kit APTIMA de Colheita de Espécimes de Urina para Espécimes de Urina Masculina e Feminina
- Kit APTIMA de colheita de esfregaços vaginais
- Kit de transferência de espécimes APTIMA (para utilização com amostras ginecológicas colhidas em solução PreservCyt)

*Específicos dos sistemas DTS*

- Kit PACE de Colheita de Espécimes para Espécimes da Uretra Masculina ou da Conjuntiva (em conjunto com o Kit Adaptador APTIMA)
- Kit PACE de Colheita de Espécimes para Espécimes Endocervicais (em conjunto com o Kit Adaptador APTIMA)

F. A amostragem de espécimes de urina, esfregaços vaginais e espécimes citológicos em base líquida PreservCyt não foi concebida para substituir os exames ao colo do útero e a colheita de espécimes endocervicais para o diagnóstico de infecções urogenitais femininas. Os pacientes podem ter cervicite, uretrite, infecções do tracto urinário ou infecções vaginais devido a outras causas ou infecções simultâneas com outros agentes.

G. O ensaio APTIMA COMBO 2 não tem por finalidade a avaliação de suspeita de abuso sexual ou para outras indicações médico-legais. Para os pacientes que possam vir a

sofrer um impacto psicossocial adverso por causa de um resultado falso positivo, os CDC recomendam a realização de novos testes (4).

H. Resultados fiáveis dependem da colheita adequada de espécimes. Como o sistema de transporte utilizado para este ensaio não permite a avaliação microscópica de adequação do espécime, o treinamento de médicos em técnicas adequadas de colheita de espécimes é necessário. Consulte o folheto informativo do kit de colheita de espécimes da GEN-PROBE adequado.

I. O fracasso ou o sucesso terapêutico não podem ser determinados com o ensaio APTIMA COMBO 2 pois os ácidos nucleicos podem persistir após uma terapêutica antimicrobiana adequada.

J. Os resultados do ensaio APTIMA COMBO 2 devem ser interpretados em conjunto com outros dados laboratoriais e clínicos de que o médico disponha.

K. Um resultado negativo não impede a possível infecção porque os resultados dependem da colheita adequada de espécimes. Os resultados de teste podem ser afectados por colheita inadequada de espécimes, erro técnico, mistura de espécimes ou níveis do alvo abaixo do limite de detecção do ensaio.

L. O ensaio APTIMA COMBO 2 fornece resultados qualitativos. Portanto, não se pode fazer uma correlação entre a magnitude de um sinal positivo de ensaio e o número de organismos em um espécime.

M. No caso de estudos clínicos de espécimes de esfregaços vaginais, esfregaços endocervicais, esfregaços uretrais masculinos e espécimes de urina, o desempenho da detecção de CT e GC deriva de populações de prevalência elevada. Os resultados positivos em populações de baixa prevalência devem ser interpretados com cautela, tendo a noção de que a probabilidade de o positivo ser falso pode ser mais elevada do que a de o positivo ser verdadeiro.

N. Para os ensaios clínicos de espécimes citológicos em base líquida PreserCyt, o desempenho do ensaio APTIMA COMBO 2 na detecção de CT e GC é obtido sobretudo de populações de baixa prevalencia. Não obstante, resultados positivos em populações de baixa prevalência devem ser interpretados cuidadosamente levando em consideração que a probabilidade de um falso positivo podem ser mais alta do que um positivo verdadeiro.

O. O desempenho do kit de transferência de espécimes APTIMA não foi avaliado quanto à análise do mesmo espécime citológico líquido em solução PreservCyt antes e após o processamento citológico ThinPrep.

P. Os espécimes citológicos em base líquida PreservCyt processados em outros instrumentos além do ThinPrep 2000 Processor não foram avaliados quanto à utilização com ensaios APTIMA.

Q. Os espécimes de esfregaços vaginais recolhidos pela paciente são uma opção para efectuar o rastreio de mulheres quando um exame pélvico não for indicado de outro modo.

R. A aplicação dos espécimes de esfregaços vaginais recolhidos pela paciente está limitada a clínicas nas quais suporte/aconselhamento está disponível para explicar procedimentos e precauções.

S. O ensaio APTIMA COMBO 2 não foi validado para utilização em esfregaços vaginais colhidos em casa pelas pacientes.

T. O desempenho dos espécimes de esfregaço vaginal não foi avaliado em mulheres grávidas.

U. O desempenho dos espécimes de esfregaços endocervicais, vaginais, uretrais masculinos e dos espécimes de urina feminina e masculina, assim como dos espécimes citológicos em base líquida PreservCyt, não foi avaliado em adolescentes com menos de 16 anos de idade.

V. O desempenho do Sistema TIGRIS DTS não foi determinado a altitudes acima dos 2.240 m (7.355 pés). Realizar-se-ão verificações volumétricas adicionais e estudos específicos para os ensaios antes ou como parte do processo de instalação e aceitação em laboratórios acima dos 2.240 m (7.355 pés) de altitude.

W. O desempenho do Sistema PANTHER não foi determinado a altitudes acima dos 2.000 m (6.561 pés).

X. Não há evidências de degradação de ácidos nucléicos em Solução PreservCyt. Se os espécimes citológicos líquidos em solução PreservCyt tiverem pequena quantidade de material celular CT e GC, pode ocorrer distribuição desigual deste material celular. Além disso, quando comparado com amostras directas de Meio de Transporte de Esfregaços APTIMA, o volume adicional de solução PreservCyt resulta em maior diluição do material de amostra. Esses factores podem afectar a habilidade de detectar pequena quantidade de organismos no material colhido. Se resultados negativos dos espécimes não se encaixarem na impressão clínica, um novo espécime pode ser necessário.

Y. Clientes devem validar um processo de transferência LIS independentemente.

# Valores esperados dos Sistemas DTS

## Prevalência

A prevalência das doenças CT e/ou GC em populações de pacientes dependem de factores de risco como idade, sexo, presença de sintomas, o tipo de clínica e o método de teste. As Tabelas 1a, 1b e 1c apresentam um resumo da prevalência de três resultados de doenças provocadas por CT e GC, segundo o ensaio APTIMA COMBO 2, provenientes de três estudos clínicos multicêntricos; os dados são apresentados por instituição clínica e no total.

### Prevalência das Doenças *C. trachomatis* e/ou *N. gonorrhoeae* conforme Determinado pelos Resultados do Ensaio APTIMA COMBO 2 por Local Clínico

*Tabela 1a: Espécimes de Esfregaços Endocervicais e da Uretra Masculina e de Urina*

| Local | Esfregaços Endocervicais e da Uretra Masculina % Prevalência (n.º positivos/n.º testados) | | | | | | Urina % Prevalência (n.º positivos/n.º testados) | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | CT+/GC+ | | CT+/GC- | | CT-/GC+ | | CT+/GC+ | | CT+/GC- | | CT-/GC+ | |
| **1** | 10,0 | (39/392) | 12,8 | (50/392) | 14,5 | (57/392) | 8,4 | (33/395) | 12,9 | (51/395) | 13,9 | (55/395) |
| **2** | 7,0 | (13/186) | 12,9 | (24/186) | 6,5 | (12/186) | 5,3 | (13/245) | 13,9 | (34/245) | 8,6 | (21/245) |
| **3** | 10,4 | (48/462) | 22,9 | (106/462) | 14,3 | (66/462) | 10,3 | (48/465) | 20,9 | (97/465) | 12,7 | (59/465) |
| **4** | 3,3 | (9/270) | 12,2 | (33/270) | 7,0 | (19/270) | 3,3 | (9/270) | 11,5 | (31/270) | 6,7 | (18/270) |
| **5** | 1,9 | (10/533) | 8,4 | (45/533) | 2,3 | (12/533) | 2,1 | (12/567) | 9,4 | (53/567) | 1,8 | (10/567) |
| **6** | 6,3 | (43/678) | 12,8 | (87/678) | 16,2 | (110/678) | 5,9 | (40/681) | 10,9 | (74/681) | 13,5 | (92/681) |
| **7** | 4,4 | (11/252) | 8,7 | (22/252) | 21,8 | (55/252) | 4,1 | (12/295) | 9,2 | (27/295) | 18,0 | (53/295) |
| **Tudo** | 6,2 | (173/2.773) | 13,2 | (367/2.773) | 11,9 | (331/2.773) | 5,7 | (167/2.918) | 12,6 | (367/2.918) | 10,6 | (308/2.918) |

*Tabela 1b: Espécimes de Esfregaço Vaginal Colhido pela Paciente e de Esfregaço Vaginal Colhido pelo Médico*

| Local | Esfregaço Vaginal Colhido pela Paciente % Prevalência (n.º positivos/n.º testados) | | | | | | Esfregaço Vaginal Colhido pelo Médico % Prevalência (n.º positivos/n.º testados) | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | CT+/GC+ | | CT+/GC- | | CT-/GC+ | | CT+/GC+ | | CT+/GC- | | CT-/GC+ | |
| **1** | 1,8 | (4/220) | 16,4 | (36/220) | 4,1 | (9/220) | 3 | (7/230) | 15,7 | (36/230) | 3,5 | (8/230) |
| **2** | 9,6 | (19/198) | 18,7 | (37/198) | 6,6 | (13/198) | 9,5 | (19/199) | 18,1 | (36/199) | 7 | (14/199) |
| **3** | 0,9 | (1/111) | 9 | (10/111) | 2,7 | (3/111) | 0,9 | (1/113) | 9,7 | (11/113) | 1,8 | (2/113) |
| **4** | 0,4 | (1/266) | 9 | (24/266) | 1,9 | (5/266) | 0,4 | (1/267) | 11,2 | (30/267) | 2,2 | (6/267) |
| **5** | 0,5 | (1/199) | 7,5 | (15/199) | 0,5 | (1/199) | 0,5 | (1/199) | 7 | (14/199) | 0,5 | (1/199) |
| **6** | 2,8 | (8/290) | 10 | (29/290) | 5,5 | (16/290) | 2 | (6/296) | 12,2 | (36/296) | 5,4 | (16/296) |
| **7** | 0 | (0/102) | 11,8 | (12/102) | 0 | (0/102) | 0 | (0/102) | 9,8 | (10/102) | 0 | (0/102) |
| **8** | 0 | (0/48) | 8,3 | (4/48) | 2,1 | (1/48) | 0 | (0/51) | 7,8 | (4/51) | 2 | (1/51) |
| **Tudo** | 2,4 | (34/1.434) | 11,6 | (167/1.434) | 3,3 | (48/1.434) | 2,4 | (35/1.457) | 12,1 | (177/1.457) | 3,3 | (48/1.457) |

*Tabela 1c: Espécimes citológicos em base líquida PreservCyt*

| Local | Citologia em base líquida PreservCyt % Prevalência (n.° positivos/n.° testados) | | |
|---|---|---|---|
| | CT+/GC+ | CT+/GC- | CT-/GC+ |
| **1** | 3,0 (3/100) | 13,0 (13/100) | 2,0 (2/100) |
| **2** | 0 (0/124) | 3,2 (4/124) | 0,8 (1/124) |
| **3** | 0,4 (2/475) | 6,1 (29/475) | 0,4 (2/475) |
| **4** | 0,4 (1/287) | 4,2 (12/287) | 0 (0/287) |
| **5** | 0 (0/297) | 5,1 (15/297) | 1,0 (3/297) |
| **6** | 0 (0/364) | 5,5 (20/364) | 0,6 (2/364) |
| **TODOS** | 0,4 (6/1.647) | 5,6 (93/1.647) | 0,6 (10/1.647) |

As prevalências de CT e GC foram calculadas usando os resultados do ensaio APTIMA COMBO 2 de Espécime citológico em base líquida PreservCyt.

## Valores Preditivos Positivos e Negativos para Taxas de Prevalência Hipotéticas na América do Norte

Os valores preditivos positivos e negativos estimados (PPV e NPV) para diferentes taxas de prevalência com a utilização do ensaio APTIMA COMBO 2 são apresentados na Tabelas 2 e 3 para CT e GC. Esses cálculos são baseados em uma prevalência hipotética e a sensibilidade e especificidade gerais calculadas a partir do estado de infecção do paciente para dois estudos clínicos multicêntricos. A sensibilidade e a especificidade globais para CT foram de 96,1% e 98,0%, respectivamente (Tabela 2). A sensibilidade e a especificidade globais para GC foram de 97,8% e 99,2%, respectivamente (Tabela 3). Os valores reais de PPV e NPV calculados utilizando os dados dos ensaios clínicos são apresentados nas Tabelas 6a e 10a (esfregaços e espécimes de urina), nas Tabelas 6b e 10b (esfregaços vaginais) e nas Tabelas 6c e 10c (espécimes citológicos em base líquida PreservCyt).

*Tabela 2: PPV e NPV Hipotéticos para CT*

| Taxa de Prevalência (%) | Sensibilidade (%) | Especificidade (%) | Valor Positivo Preditivo (%) | Valor Negativo Preditivo (%) |
|---|---|---|---|---|
| **1** | 96,1 | 98,0 | 33,1 | 100,0 |
| **2** | 96,1 | 98,0 | 50,0 | 99,9 |
| **5** | 96,1 | 98,0 | 72,0 | 99,8 |
| **10** | 96,1 | 98,0 | 84,5 | 99,6 |
| **15** | 96,1 | 98,0 | 89,6 | 99,3 |
| **20** | 96,1 | 98,0 | 92,4 | 99,0 |
| **25** | 96,1 | 98,0 | 94,2 | 98,7 |
| **30** | 96,1 | 98,0 | 95,4 | 98,3 |

*Tabela 3: PPV e NPV hipotéticos para GC*

| Taxa de Prevalência (%) | Sensibilidade (%) | Especificidade (%) | Valor Positivo Preditivo (%) | Valor Negativo Preditivo (%) |
|---|---|---|---|---|
| **1** | 97,8 | 99,2 | 55,3 | 100,0 |
| **2** | 97,8 | 99,2 | 71,4 | 100,0 |
| **5** | 97,8 | 99,2 | 86,6 | 99,9 |
| **10** | 97,8 | 99,2 | 93,2 | 99,7 |
| **15** | 97,8 | 99,2 | 95,6 | 99,6 |
| **20** | 97,8 | 99,2 | 96,8 | 99,4 |
| **25** | 97,8 | 99,2 | 97,6 | 99,2 |
| **30** | 97,8 | 99,2 | 98,1 | 99,0 |

# Desempenho clínico nos Sistemas DTS

Consulte a *Concordância de espécimes clínicos no Sistema TIGRIS DTS* após a secção *Desempenho analítico nos Sistemas DTS* para obter o desempenho clínico específico do Sistema TIGRIS DTS.

## Resultados de Estudos Clínicos

O desempenho do ensaio APTIMA COMBO 2 em Sistemas DTS foi estabelecido em três estudos clínicos multicêntricos realizados na América do Norte. O primeiro estudo clínico multicêntrico avaliou esfregaços endocervicais e da uretra masculina colhidos pelo médico e espécimes de urina masculina e feminina de 1.363 pacientes masculinos e 1.569 pacientes femininos registados em sete locais geograficamente diversos. O segundo estudo clínico multicêntrico avaliou espécimes de esfregaço vaginal colhidos pelo médico e colhidos pela paciente em 1.464 pacientes femininas registadas em oito locais geograficamente diversos. O terceiro estudo clínico multicêntrico avaliou espécimes citológicos em base líquida PreservCyt de 1.647 indivíduos registados em seis locais clínicos. Nos cálculos de desempenho baseados no status dos sintomas, os pacientes foram classificados como sintomáticos caso sintomas como secreções, disúria, e dor pélvica tenham sido relatados pelo paciente. Os pacientes foram classificados como assintomáticos se não relataram sintomas.

## Estudos Clínicos de Esfregaço Endocervical, Esfregaço da Uretra Masculina, e Espécime de Urina

Nos estudos clínicos multicêntricos de esfregaço endocervical, esfregaço da uretra e de espécime de urina, 2.932 pacientes masculinos e femininos sintomáticos e assintomático que frequentavam clínicas de DST, OB/GIN e planeamento familiar foram registados no estudo. Até três esfregaços de uretra e um espécime de urina foram colhidos de pacientes masculinos e quatro esfregaços endocervicais e um espécime de urina foram colhidos de pacientes femininos. Para pacientes masculinos que forneceram um esfregaço da uretra, o teste inclui apenas a cultura GC. Para pacientes masculinos que forneceram três esfregaços, o teste incluiu a cultura GC, o ensaio APTIMA COMBO 2, e um NAAT comercialmente disponível para CT e GC. O teste em esfregaços endocervicais incluiu o ensaio APTIMA COMBO 2, dois NAAT comercialmente disponíveis para CT, um NAAT comercialmente disponível para GC, e cultura GC. O esfregaço de cultura GC foi colhido primeiro e a ordem de colheita para os esfregaços restantes foi alternada para minimizar a influência da colheita. A urina foi testada pelo ensaio APTIMA COMBO 2, dois NAAT comercialmente disponíveis para CT, e um ensaio amplificado comercialmente disponível para GC. Os ensaios de amplificação comercialmente disponíveis foram usados como ensaios de referência neste estudo clínico do ensaio APTIMA COMBO 2.

Todos os cálculos de desempenho foram baseados no número total de espécimes de esfregaço endocervical e de uretra masculina e espécimes de urina masculina e feminina do ensaio APTIMA COMBO 2 comparados com o algoritmo de estado de infecção do paciente de cada sexo. Em cada algoritmo específico do sexo, a designação de um paciente como tendo sido infectado, não infectado, ou inconclusivo foi baseada nos resultados combinados dos NAAT endocervicais e de uretra masculina e de urina. Para o estado de infecção com CT, quaisquer dois resultados positivos no NAAT de referência por qualquer combinação de esfregaço e urina designaram o paciente como infectado. Se os resultados de todos os ensaios de referência foram negativos, o paciente foi designado como não infectado. Caso houvesse apenas um resultado positivo, o paciente era designado como inconclusivo. Para o estado de infecção com GC, uma cultura positiva ou resultados positivos de esfregaço e de urina pelo ensaio ampliado de referência, designaram o paciente como infectado. Uma

cultura negativa e um único resultado positivo pelo ensaio amplificado de referência resultaram num estadoinconclusivo. Se os resultados de todos os ensaios de referência foram negativos, o paciente foi designado como não infectado. As Tabelas 7a, 7b, 7c, 8, 11a, 11b, 11c e 12 indicam a frequência de resultados dos testes para dois NAAT de referência e para o o ensaio APTIMA COMBO 2 em participantes em estudos clínicos.

Os resultados do ensaio APTIMA COMBO 2 para os esfregaços endocervicais e da uretra masculina colhidos pelo médico, e os espécimes de urina masculina e feminina foram comparados ao algoritmo de estado de infecção do paciente para a determinação da sensibilidade, especificidade e do valor preditivo. Um total de 15.661 resultados de testes de CT e 14.144 resultados de testes GC foram usados na análise dos dados. A sensibilidade e a especificidade para CT por sexo, tipo de espécime e estado sintomático são apresentadas na Tabela 5a. A Tabela 6a mostra os valores de sensibilidade, especificidade e preditivos do ensaio APTIMA COMBO 2 para CT em comparação com o estado de infecção do paciente para cada instituição clínica e no geral. A sensibilidade e a especificidade para GC por sexo, tipo de espécime e estado sintomático são apresentadas na Tabela 9a. A Tabela 10a mostra os valores de sensibilidade, especificidade e preditivos do ensaio APTIMA COMBO 2 para GC em comparação com o estado de infecção do paciente para cada instituição clínica e no geral. As amostras que foram positivas para o ensaio APTIMA COMBO 2 e apresentaram status de paciente infectado negativo (ou seja, aparentes falsos positivos) foram testados nos ensaios de amplificação alternativos da GEN-PROBE para CT e GC. Esses ensaios amplificam as seqüências CT e GC que são diferentes daquelas amplificadas pelo ensaio APTIMA COMBO 2. Os testes foram realizados espécime a espécime (ou seja, não necessariamente em pares de esfregaços e espécimes de urina) e os resultados dos ensaios de amplificações alternativos não foram usados para alterar as categorizações originais do paciente (Tabelas 5a e 9a).

Espécimes de esfregaço endocervical foram avaliados para o impacto de sangue em desempenho de ensaio CT e GC. Das 2.454 espécimes avaliadas para desempenho CT, 234 (9,5%) apresentaram sangue. Das 2.829 espécimes avaliadas para desempenho GC, 247 (8,7%) apresentaram sangue. Os desempenhos de ensaio CT e GC não foram estatisticamente diferentes para espécimes com sangue quando comparados com espécimes sem sangue. Podem encontrar-se dados adicionais sobre o teste de sangue em *Substâncias Interferentes*.

O desempenho do ensaio com esfregaço endocervical e espécimes de urina de mulheres grávidas foi avaliado no estudo clínico. Para CT, sensibilidade em esfregaço endocervical e espécimes de urina foi 100% (8/8) e 100% (8/8), respectivamente. A especificidade para esfregaço endocervical e espécimes de urina foi 95,8% (23/24) e 100% (24/24), respectivamente. Para GC, sensibilidade em esfregaço endocervical e espécimes de urina foi 100% (8/8) e 100% (8/8), respectivamente. A especificidade para esfregaço endocervical e espécimes de urina foi 100% (26/26) e 100% (26/26), respectivamente.

Dos 11.406 resultados do teste ensaio APTIMA COMBO 2 deste estudo clínico multicêntrico, três resultados CT e nove resultados GC foram dúbios nos testes de repetição e foram excluídos da análise. Um espécime foi invalidado tanto para resultados CT quanto para GC e foi excluído do estudo.

## Estudo Clínico de Espécimes de Esfregaço Vaginal

No estudo clínico multicêntrico de esfregaço vaginal, 1.464 pacientes mulheres sintomáticas e assintomáticas que frequentam clínicas de DST, OB/GIN, adolescente e planeamento familiar foram registadas no estudo clínico. Das 646 pacientes assintomáticas registadas no estudo, duas tinham menos de 16 anos de idade, 158 tinham entre 16 e 20 anos, 231 tinham entre 21 e 25 anos, e 255 tinham mais de 25 anos de idade. Das 818 pacientes

sintomáticas registadas no estudo, 160 tinham entre 16 e 20 anos, 324 tinham entre 21 e 25 anos, e 334 tinham mais de 25 anos de idade. Foram colhidos cinco espécimes de cada indivíduo elegível; um espécime de urina, um esfregaço vaginal colhido pela paciente, um esfregaço vaginal colhido pelo médico e dois esfregaços endocervicais aleatórios. Os resultados do ensaio APTIMA COMBO 2 foram gerados a partir dos dois esfregaços vaginais, um dos esfregaços endocervicais, e uma alíquota do espécime de urina. O segundo esfregaço endocervical e uma segunda alíquota do espécime de urina foram testados utilizando outro NAAT disponível no mercado para CT e outro NAAT disponível no mercado para GC. Esfregaço endocervical e espécimes de urina testados no ensaio APTIMA COMBO 2 e os outros NAAT disponíveis no mercado foram usados como NAATs de referência para determinar o estado de infecção do paciente no estudo clínico de espécimes de esfregaço vaginal. O teste de espécimes foi conduzido ou no local do registo do paciente ou em um local de teste externo.

Todos os cálculos realizados foram baseados no número total de resultados dos esfregaços vaginais recolhidos pela paciente e pelo médico ensaio APTIMA COMBO 2 comparado com um algoritmo de estado de infecção do paciente. Um total de 2.073 resultados de testes de esfregaço vaginal CT e 2.073 resultados de testes de esfregaço vaginal GC foram usados na análise de dados. No algoritmo, a designação de um paciente como infectado ou não infectado com CT ou GC foi baseada em resultados de esfregaço vaginal e espécime de urina do ensaio APTIMA COMBO 2 disponível no mercado e do outro NAAT disponível no mercado. Os pacientes foram considerados infectados com CT ou GC se dois dos quatro esfregaços endocervicais e espécimes de urina apresentaram resultado positivo no ensaio APTIMA COMBO 2 e no outro NAAT de referência (um espécime positivo em cada NAAT). Os pacientes foram considerados não infectados se menos de dois resultados NAAT de referência tiveram resultado positivo. As Tabelas 7b e 11b resumem o número de resultados de indivíduos sintomáticos e assintomáticos designados como infectados ou não infectados com CT ou GC, respectivamente, de acordo com o algoritmo de estado de infecção do paciente. Para este estudo clínico, dois NAATs disponíveis no mercado foram utilizados para determinar o estado de infecção por GC. A cultura não foi utilizada como teste de referência, pois o ensaio APTIMA COMBO 2 já tinha sido avaliado frente a culturas de outros tipos de espécimes (consulte o *Estudos Clínicos de Esfregaço Endocervical, Esfregaço da Uretra Masculina, e Espécime de Urina* para mais pormenores).

A sensibilidade e a especificidade para CT por sexo, tipo de espécime e estado sintomático são apresentadas na Tabela 5b. A Tabela 6b mostra os valores de sensibilidade, especificidade e preditivos do ensaio APTIMA COMBO 2 para CT em comparação com o estado de infecção do paciente para cada instituição clínica e no geral. A sensibilidade e a especificade para GC por sexo, tipo de espécime e estado sintomático são apresentadas na Tabela 9b. A Tabela 9b mostra os valores de sensibilidade, especificidade e preditivos do ensaio APTIMA COMBO 2 para GC em comparação com o estado de infecção do paciente para cada instituição clínica e no geral. As amostras de ensaio APTIMA COMBO 2 que tiveram resultado positivo e pacientes infectados com status negativo (ou seja, falsos positivos aparentes) foram testados em ensaios TMA alternados para CT e GC; estes ensaios TMA alternados têm como alvo seqüências que são únicas em relação aos que têm como alvo o ensaio APTIMA COMBO 2. Os resultados dos ensaios TMA alternativos não foram utilizados para alterar as categorizações originais dos pacientes (Tabelas 5b e 9b).

Dos 1.464 pacientes registados, havia 13 com estado de infecção do paciente por CT desconhecido e 14 pacientes com estado de infecção do paciente por GC desconhecido. Os pacientes foram designados com um estado de infecção do paciente desconhecido se havia falta de resultados que evitassem determinações conclusivas de status de infecção. Os resultados desses pacientes não foram incluídos em qualquer cálculo de desempenho. Dos

5.782 resultados de esfregaço ensaio APTIMA COMBO 2 do estudo clínico multicêntrico, houve uma pequena percentagem (28, 0,5%) de espécimes de esfregaço vaginal que tiveram resultado inicialmente inválido ou dúbio para CT ou GC. Após a repetição do teste, apenas três resultados CT e dois resultados GC foram dúbios e foram excluídos da análise. Nenhum espécime teve resultado inválido após a repetição do teste.

## Estudo Clínico de Espécimes citológicos em base líquida PreservCyt

Um estudo clínico multicêntrico prospectivo foi conduzido para avaliar a utilização da Solução PreservCyt (um componente do sistema ThinPrep 2000) como meio alternativo para espécimes ginecológicas para a detecção de CT e GC. Mil seiscentos e quarenta e sete (1.647) pacientes mulheres sintomáticas e assintomáticas que frequentam clínicas de OB/GIN, planeamento familiar, saúde pública, da mulher e de DST foram avaliadas no estudo clínico. Dos 1.647 pacientes disponíveis, 1.288 eram pacientes assintomáticos e 359 eram pacientes sintomáticos. Os pacientes foram registados através de locais com prevalência de CT que varia de 3,2% a 14,0% e prevalência de GC que varia de 0% a 5,0%. Foram colhidos dois espécimes por cada indivíduo elegível: um espécime citológico em base líquida PreservCyt e um esfregaço endocervical. Os espécimes citológicos em base líquida PreservCyt foram processados de acordo com o ThinPrep 2000 Processor Operator's Manual (Manual do operador do ThinPrep 2000 Processor) e de acordo com o folheto informativo do kit de transferência de espécimes APTIMA. Após processar o espécime citológico em base líquida PreservCyt com o Processador ThinPrep 2000, o espécime terá sido transferido ao Kit APTIMA de Transferência de Espécimes para testes no ensaio APTIMA COMBO 2. O espécime citológico em base líquida PreservCyt e o esfregaço endocervical foram testados no ensaio APTIMA COMBO 2.

A sensibilidade e especificidade para espécimes citológicos em base líquida PreservCyt foram calculadas por meio de uma comparação dos resultados com o algoritmo de estado do paciente infectado. No algoritmo, a designação de um indivíduo como infectado ou não infectado com CT ou GC teve como base os resultados dos esfregaços endocervical obtidos com dois NAAT disponíveis no mercado (Tabelas 7c e 11c). Para CT, os NAATs de referência incluíram o ensaio APTIMA COMBO 2 e o ensaio APTIMA CT. Para GC, os NAATs de referência incluíram o ensaio APTIMA COMBO 2 e o ensaio APTIMA GC. Foram exigidos resultados positivos para os dois NAATs de referência para determinar um paciente como *infectado*. Um paciente foi determinado como *não infectado* quando os resultados dos dois NAAT de referência divergiram ou foram negativos.

A sensibilidade e especificidade relativas a CT em espécimes citológicos em base líquida PreservCyt testados com o ensaio APTIMA COMBO 2, por estado sintomático e a nível global, são apresentadas na Tabela 5c. Para CT, a sensibilidade geral foi de 96,7% (87/90). Em indivíduos sintomáticos e assintomáticos, a sensibilidade foi de 96,7% (29/30) e 96,7 (58/60), respectivamente. A especificidade geral para os espécime citológico em base líquida PreservCyt CT foi de 99,2% (1.545/1.557). Em indivíduos sintomáticos e assintomáticos, a especificidade foi de 98,5% (324/329) e 99,4% (1.221/1.228), respectivamente. A Tabela 6c mostra a sensibilidade e a especificidade para CT do ensaio APTIMA COMBO 2 em espécimes citológicos em base líquida PreservCyt por instituição clínica e no geral. Para CT, a sensibilidade teve variação de 92,9% a 100%. A especificidade teve variação de 97,7% a 100%.

A sensibilidade e especificidade relativas a GC em espécimes citológicos em base líquida PreservCyt testados com o ensaio APTIMA COMBO 2, por estado sintomático e a nível global, são apresentadas na Tabela 9c. Para GC, a sensibilidade geral foi de 92,3% (12/13). Em indivíduos sintomáticos e assintomáticos, a sensibilidade foi de 100% (7/7) e 83,3% (5/6), respectivamente. A especificidade geral para os espécimes citológicos em base líquida

PreservCyt GC foi de 99,8% (1.630/1.634). Em indivíduos sintomáticos e assintomáticos, a especificidade foi de 100% (352/352) e 99,7% (1.278/1.282), respectivamente. A Tabela 10c mostra a sensibilidade e a especificidade para GC do ensaio APTIMA COMBO 2 em espécimes citológicos em base líquida PreservCyt por instituição clnica e no geral. Para GC, a sensibilidade teve variação de 80,0% a 100%. A especificidade teve variação de 99,0% a 100%.

A distribuição dos dispositivos de amostragem cervical utilizados neste estudo clínico, de acordo com a instituição clínica, é resumida na Tabela 4.

*Tabela 4: Resumo de Dispositivos de Amostragem Cervical Utilizados no Estudo de espécimes citológicos em base líquida PreservCyt*

| Dispositivo de amostragem cervical | Local de Colheita Clínica | | | | | | Total |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | |
| Espátula/Cytobrush | 0 | 124 | 475 | 287 | 57 | 364 | 1.307 |
| Dispositivo tipo Escova | 100 | 0 | 0 | 0 | 240 | 0 | 340 |

## Tabelas de desempenho para *Chlamydia trachomatis*

### Sensibilidade e especificidade para *C. trachomatis*

*Tabela 5a: Espécimes analisados com o ensaio APTIMA COMBO 2 vs. estado de infecção do paciente*

| Espécime | | Sintomas Estado | N | PV | FP[4] | NV | FN | Sensibilidade (IC de 95%) | Especificidade (IC de 95%) |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Masculino | Esfregaço | Sint. | 676 | 190 | 15[a] | 464 | 7 | 96,4% (92,8–98,6) | 96,9% (94,9–98,2) |
| | | Assint. | 388 | 70 | 5[b] | 309 | 4 | 94,6% (86,7–98,5) | 98,4% (96,3–99,5) |
| | | Tudo[1] | 1.065 | 260 | 20[c] | 774 | 11 | 95,9% (92,9–98,0) | 97,5% (96,1–98,5) |
| | Urina | Sint. | 694 | 199 | 8[d] | 484 | 3 | 98,5% (95,7–99,7) | 98,4% (96,8–99,3) |
| | | Assint. | 400 | 77 | 4[e] | 316 | 3 | 96,3% (89,4–99,2) | 98,8% (96,8–99,7) |
| | | Tudo[1] | 1.095 | 276 | 12[f] | 801 | 6 | 97,9% (95,4–99,2) | 98,5% (97,4–99,2) |
| Feminino | Esfregaço | Sint. | 819 | 133 | 22[g] | 653 | 11 | 92,4% (86,7–96,1) | 96,7% (95,1–97,9) |
| | | Assint. | 569 | 61 | 6[h] | 501 | 1 | 98,4% (91,3–100) | 98,8% (97,4–99,6) |
| | | Tudo[2] | 1.389 | 195 | 28[i] | 1.154 | 12 | 94,2% (90,1–97,0) | 97,6% (96,6–98,4) |
| | Urina | Sint. | 821 | 136 | 8[j] | 668 | 9 | 93,8% (88,5–97,1) | 98,8% (97,7–99,5) |
| | | Assint. | 569 | 60 | 5[k] | 502 | 2 | 96,8% (88,8–99,6) | 99,0% (97,7–99,7) |
| | | Todos[2] | 1.391 | 197 | 13[l] | 1.170 | 11 | 94,7% (90,7–97,3) | 98,9% (98,1–99,4) |
| Total | Esfregaço | Sint. | 1.495 | 323 | 37[m] | 1.117 | 18 | 94,7% (91,8–96,8) | 96,8% (95,6–97,7) |
| | | Assint. | 957 | 131 | 11[n] | 810 | 5 | 96,3% (91,6–98,8) | 98,7% (97,6–99,3) |
| | | Tudo[3] | 2.454 | 455 | 48[o] | 1.928 | 23 | 95,2% (92,9–96,9) | 97,6% (96,8–98,2) |
| | Urina | Sint. | 1.515 | 335 | 16[p] | 1.152 | 12 | 96,5% (94,0–98,2) | 98,6% (97,8–99,2) |
| | | Assint. | 969 | 137 | 9[q] | 818 | 5 | 96,5% (92,0–98,8) | 98,9% (97,9–99,5) |
| | | Tudo[3] | 2.486 | 473 | 25[r] | 1.971 | 17 | 96,5% (94,5–98,0) | 98,7% (98,2–99,2) |

**PV** = Positivo verdadeiro; **FP** = Falso positivo; **NV** = Negativo verdadeiro; **FN** = Falso negativo.

[1] Inclui um indivíduo do sexo masculino para o qual os sintomas não foram relatados.

[2] Inclui um indivíduo do sexo feminino para o qual os sintomas não foram relatados.

[3] Inclui um indivíduo do sexo masculino e um do sexo feminino para o qual os sintomas não foram relatados.

[4] Os resultados de TMA alternada relativos a CT representam o n.° de resultados positivos / n.° de espécimes testados: a: 11/14; b: 3/5; c: 14/19; d: 4/8; e: 0/4; f: 4/12; g: 18/22; h: 4/6; i: 22/28; j: 2/8; k: 1/5; l: 3/13, m: 29/36, n: 7/11, o: 36/47, p: 6/16, q: 1/9, e r: 7/25.

*Tabela 5b: Esfregaços vaginais analisados com o ensaio APTIMA COMBO 2 vs. estado de infecção do paciente*

| Espécime | | Estado sintomático | N | PV | FP[1] | NV | FN | Sensibilidade (IC de 95%) | Especificidade (IC de 95%) |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| **Colhido pela Paciente** | **Esfregaço Vaginal** | Assint. | 628 | 60 | 18[a] | 549 | 1 | 98,4% (91,2–100) | 96,8% (95,0–98,1) |
| **Colhido pelo Médico** | **Esfregaço Vaginal** | Sint. | 809 | 111 | 25[b] | 669 | 4 | 96,5% (91,3–99,0) | 96,4% (94,7–97,7) |
| | | Assint. | 636 | 59 | 16[c] | 559 | 2 | 96,7% (88,7–99,6) | 97,2% (95,5–98,4) |
| | | Tudo | 1.445 | 170 | 41[d] | 1.228 | 6 | 96,6% (92,7–98,7) | 96,8% (95,6–97,7) |

**PV** = Positivo verdadeiro; **FP** = Falso positivo; **NV** = Negativo verdadeiro; **FN** = Falso negativo.

[1]Os resultados de amplificação alternada por TMA relativos a CT representam o n.° de resultados positivos / n.° de espécimes testados: a: 15/18, b: 17/25, c: 15/16, e d: 32/41.

*Tabela 5c: Espécimes em PreserCyt analisados com o ensaio APTIMA COMBO 2 vs. estado de infecção do paciente*

| Symptom Estado | AC2/CT PreservCyt Result | +/+ | +/- | -/+ | -/- | Sensibilidade (IC de 95%) | Especificidade (95%IC) |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| **Assint.** | Positivo | 58 | 1 | 0 | 6 | 96,7% (88,5 - 99,6) | 99,4% (98,8 - 99,8) |
| | Negativo | 2 | 1 | 12 | 1.208 | | |
| | Total | 60 | 2 | 12 | 1.214 | | |
| **Sint.** | Positivo | 29 | 0 | 0 | 5 | 96,7% (82,8 - 99,9) | 98,5% (96,5 - 99,5) |
| | Negativo | 1 | 3 | 4 | 317 | | |
| | Total | 30 | 3 | 4 | 322 | | |
| **Tudo** | Positivo | 87 | 1 | 0 | 11 | 96,7% (90,6 - 99,3) | 99,2% (98,7 - 99,6) |
| | Negativo | 3 | 4 | 16 | 1.525 | | |
| | Total | 90 | 5 | 16 | 1.536 | | |

+/+ = Resultado positivo em esfregaço endocervical no ensaio AC2 / Resultado positivo em esfregaço endocervical no ensaio ACT.

+/- = Resultado positivo em esfregaço endocervical no ensaio AC2 / Resultado negativo em esfregaço endocervical no ensaio ACT.

-/+ = Resultado negativo em esfregaço endocervical no ensaio AC2 / Resultado positivo em esfregaço endocervical no ensaio ACT.

-/- = Resultado negativo em esfregaço endocervical no ensaio AC2 / Resultado negativo em esfregaço endocervical no ensaio ACT.

## Desempenho por instituição clínica para *C. trachomatis*

*Tabela 6a: Espécimes do ensaio APTIMA COMBO 2 vs. Estado de infecção do paciente*

| Espécime | | Local | N | PV | FP | NV | FN | Prev (%) | Sensibilidade (IC de 95%) | Especificidade (IC de 95%) | PPV (%) | NPV (%) |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Masculino | Esfregaço | 1 | 157 | 35 | 6 | 115 | 1 | 22,9 | 97,2% (85,5–99,9) | 95,0% (89,5–98,2) | 85,4 | 99,1 |
| | | 2 | 93 | 19 | 2 | 72 | 0 | 20,4 | 100% (82,4–100) | 97,3% (90,6–99,7) | 90,5 | 100 |
| | | 3 | 248 | 76 | 5 | 165 | 2 | 31,5 | 97,4% (91,0–99,7) | 97,1% (93,3–99,0) | 93,8 | 98,8 |
| | | 4 | 51 | 12 | 1 | 38 | 0 | 23,5 | 100% (73,5–100) | 97,4% (86,5–99,9) | 92,3 | 100 |
| | | 5 | 138 | 24 | 0 | 113 | 1 | 18,1 | 96,0% (79,6–99,9) | 100% (96,8–100) | 100 | 99,1 |
| | | 6 | 353 | 74 | 6 | 268 | 5 | 22,4 | 93,7% (85,8–97,9) | 97,8% (95,3–99,2) | 92,5 | 98,2 |
| | | 7 | 25 | 20 | 0 | 3 | 2 | 88,0* | 90,9% (70,8–98,9) | 100% (29,2–100) | 100 | 60,0 |
| | | TODOS | 1.065 | 260 | 20 | 774 | 11 | 25,4 | 95,9% (92,9–98,0) | 97,5% (96,1–98,5) | 92,9 | 98,6 |
| | Urina | 1 | 157 | 35 | 6 | 115 | 1 | 22,9 | 97,2% (85,5–99,9) | 95,0% (89,5–98,2) | 85,4 | 99,1 |
| | | 2 | 96 | 22 | 1 | 73 | 0 | 22,9 | 100% (84,6–100) | 98,6% (92,7–100) | 95,7 | 100 |
| | | 3 | 249 | 78 | 2 | 169 | 0 | 31,3 | 100% (95,4–100) | 100% (95,8–99,9) | 97,5 | 100 |
| | | 4 | 51 | 12 | 0 | 39 | 0 | 23,5 | 100% (73,5–100) | 98,8% (91,0–100) | 100 | 100 |
| | | 5 | 162 | 31 | 2 | 129 | 0 | 19,1 | 100% (88,8–100) | 98,5% (94,6–99,8) | 93,9 | 100 |
| | | 6 | 353 | 74 | 1 | 273 | 5 | 22,4 | 93,7% (85,8–97,9) | 99,6% (98,0–100) | 98,7 | 98,2 |
| | | 7 | 27 | 24 | 0 | 3 | 0 | 88,9* | 100% (85,8–100) | 100% (29,2–100) | 100 | 100 |
| | | TODOS | 1.095 | 276 | 12 | 801 | 6 | 25,8 | 97,9% (95,4–99,2) | 98,5% (97,4–99,2) | 95,8 | 99,3 |
| Feminino | Esfregaço | 1 | 150 | 34 | 4 | 110 | 2 | 24,0 | 94,4% (81,3–99,3) | 96,5% (91,3–99,0) | 89,5 | 98,2 |
| | | 2 | 81 | 11 | 1 | 68 | 1 | 14,8 | 91,7% (61,5–99,8) | 98,6% (92,2–100) | 91,7 | 98,6 |
| | | 3 | 184 | 51 | 13 | 114 | 6 | 31,0 | 89,5% (78,5–96,0) | 89,8% (83,1–94,4) | 79,7 | 95,0 |
| | | 4 | 196 | 27 | 2 | 167 | 0 | 13,8 | 100% (87,2–100) | 98,8% (95,8–99,9) | 93,1 | 100 |
| | | 5 | 370 | 27 | 1 | 341 | 1 | 7,6 | 96,4% (81,7–99,9) | 99,7% (98,4–100) | 96,4 | 99,7 |
| | | 6 | 274 | 35 | 7 | 230 | 2 | 13,5 | 94,6% (81,8–99,3) | 97,0% (94,0–98,8) | 83,3 | 99,1 |
| | | 7 | 134 | 10 | 0 | 124 | 0 | 7,5 | 100% (69,2–100) | 100% (97,1–100) | 100 | 100 |
| | | TODOS | 1.389 | 195 | 28 | 1.154 | 12 | 14,9 | 94,2% (90,1–97,0) | 97,6% (96,6–98,4) | 87,4 | 99,0 |
| | Urina | 1 | 150 | 34 | 4 | 110 | 2 | 24,0 | 94,4% (81,3–99,3) | 96,5% (91,3–99,0) | 89,5 | 98,2 |
| | | 2 | 81 | 12 | 1 | 68 | 0 | 14,8 | 100% (73,5–100) | 98,6% (92,2–100) | 92,3 | 100 |
| | | 3 | 185 | 54 | 3 | 125 | 3 | 30,8 | 94,7% (85,4–98,9) | 97,7% (93,3–99,5) | 94,7 | 97,7 |
| | | 4 | 196 | 24 | 2 | 167 | 3 | 13,8 | 88,9% (70,8–97,6) | 98,8% (95,8–99,9) | 92,3 | 98,2 |
| | | 5 | 369 | 28 | 2 | 338 | 1 | 7,9 | 96,6% (82,2–99,9) | 99,4% (97,9–99,9) | 93,3 | 99,7 |
| | | 6 | 276 | 35 | 1 | 238 | 2 | 13,4 | 94,6% (81,8–99,3) | 99,6% (97,7–100) | 97,2 | 99,2 |
| | | 7 | 134 | 10 | 0 | 124 | 0 | 7,5 | 100% (69,2–100) | 100% (97,1–100) | 100 | 100 |
| | | TODOS | 1.391 | 197 | 13 | 1.170 | 11 | 15,0 | 94,7% (90,7–97,3) | 98,9% (98,1–99,4) | 93,8 | 99,1 |

**PV** = Positivo verdadeiro; **FP** = Falso positivo; **NV** = Negativo verdadeiro; **FN** = Falso negativo.

* Prevalência sobrestimada devido à colheita inicial ter sido limitada ao rastreio de pacientes sintomáticos.

*Tabela 6b: Esfregaços vaginais analisados com o ensaio APTIMA COMBO 2 vs. estado de infecção do paciente*

| Espécime | | Local | N | PV | FP | NV | FN | Prev, (%) | Sensibilidade (IC de 95%) | Especificidade (IC de 95%) | PPV (%) | NPV (%) |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Colhido pela Paciente | Esfregaço Vaginal | 1 | 70 | 14 | 3 | 53 | 0 | 20,0 | 100% (76,8–100) | 94,6% (85,1–98,9) | 82,4 | 100 |
| | | 2 | 45 | 13 | 3 | 29 | 0 | 28,9 | 100% (75,3–100) | 90,6% (75,0–98,0) | 81,3 | 100 |
| | | 3 | 45 | 4 | 2 | 39 | 0 | 8,9 | 100% (39,8–100) | 95,1% (83,5–99,4) | 66,7 | 100 |
| | | 4 | 152 | 6 | 3 | 142 | 1 | 4,6 | 85,7% (42,1–99,6) | 99,7% (94,1–99,6) | 66,7 | 99,3 |
| | | 5 | 130 | 7 | 3 | 120 | 0 | 5,4 | 100% (59,0–100) | 97,6% (93,0–99,5) | 70,0 | 100 |
| | | 6 | 75 | 8 | 2 | 65 | 0 | 10,7 | 100% (63,1–100) | 97,0% (89,6–99,6) | 80,0 | 100 |
| | | 7 | 68 | 5 | 1 | 62 | 0 | 7,4 | 100% (47,8–100) | 98,4% (91,5–100) | 83,3 | 100 |
| | | 8 | 43 | 3 | 1 | 39 | 0 | 7,0 | 100% (29,2–100) | 97,5% (86,8–99,9) | 75,0 | 100 |
| | | TODOS | 628 | 60 | 18 | 549 | 1 | 9,7 | 98,4% (91,2–100) | 96,8% (95,0–98,1) | 76,9 | 99,8 |
| Colhido pelo Médico | Esfregaço Vaginal | 1 | 227 | 34 | 9 | 182 | 2 | 15,9 | 94,4% (81,3–99,3) | 95,3% (91,2–97,8) | 79,1 | 98,9 |
| | | 2 | 196 | 50 | 5 | 139 | 2 | 26,5 | 96,2% (86,8–99,5) | 96,5% (92,1–98,9) | 90,9 | 98,6 |
| | | 3 | 113 | 9 | 3 | 101 | 0 | 8,0 | 100% (66,4–100) | 97,1% (91,8–99,4) | 75,0 | 100 |
| | | 4 | 262 | 19 | 11 | 231 | 1 | 7,6 | 95,0% (75,1–99,9) | 95,5% (92,0–97,7) | 63,3 | 99,6 |
| | | 5 | 199 | 13 | 2 | 184 | 0 | 6,5 | 100% (75,3–100) | 98,9% (96,2–99,9) | 86,7 | 100 |
| | | 6 | 296 | 33 | 9 | 254 | 0 | 11,1 | 100% (89,4–100) | 96,6% (93,6–98,4) | 78,6 | 100 |
| | | 7 | 102 | 9 | 1 | 91 | 1 | 9,8 | 90,0% (55,5–99,7) | 98,9% (94,1–100) | 90,0 | 98,9 |
| | | 8 | 50 | 3 | 1 | 46 | 0 | 6,0 | 100% (29,2–100) | 97,9% (88,7–99,9) | 75,0 | 100 |
| | | TODOS | 1.445 | 170 | 41 | 1.228 | 6 | 12,2 | 96,6% (92,7–98,7) | 96,8% (95,6–97,7) | 80,6 | 99,5 |

**PV** = Positivo verdadeiro; **FP** = Falso positivo; **NV** = Negativo verdadeiro; **FN** = Falso negativo.

*Tabela 6c: Espécimes em PreserCyt analisados com o ensaio APTIMA COMBO 2 vs. estado de infecção do paciente*

| Local | AC2/CT PreservCyt Result | +/+ | +/- | -/+ | -/- | Prev (%) | Sensibilidade (IC de 95%) | Especificidade (95%IC) | PPV (%) | NPV (%) |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 1 | Positivo | 14 | 0 | 0 | 2 | 14,0 | 100% (76,8 - 100) | 97,7% (91,9 - 99,7) | 87,5 | 100 |
| | Negativo | 0 | 0 | 1 | 83 | | | | | |
| | Total | 14 | 0 | 1 | 85 | | | | | |
| 2 | Positivo | 4 | 0 | 0 | 0 | 3,2 | 100% (39,8 - 100) | 100% (97,0 - 100) | 100 | 100 |
| | Negativo | 0 | 0 | 2 | 118 | | | | | |
| | Total | 4 | 0 | 2 | 118 | | | | | |
| 3 | Positivo | 29 | 0 | 0 | 2 | 6,5 | 93,5% (78,6 - 99,2) | 99,5% (98,4 - 99,9) | 93,5 | 99,5 |
| | Negativo | 2 | 0 | 2 | 440 | | | | | |
| | Total | 31 | 0 | 2 | 442 | | | | | |
| 4 | Positivo | 8 | 1 | 0 | 4 | 2,8 | 100% (63,1 - 100) | 98,2% (95,9 - 99,4) | 61,5 | 100 |
| | Negativo | 0 | 2 | 1 | 271 | | | | | |
| | Total | 8 | 3 | 1 | 275 | | | | | |
| 5 | Positivo | 13 | 0 | 0 | 2 | 4,7 | 92,9% (66,1 - 99,8) | 99,3% (97,5 - 99,9) | 86,7 | 99,6 |
| | Negativo | 1 | 1 | 4 | 276 | | | | | |
| | Total | 14 | 1 | 4 | 278 | | | | | |
| 6 | Positivo | 19 | 0 | 0 | 1 | 5,2 | 100% (82,4 - 100) | 99,7% (98,4 - 100) | 95,0 | 100 |
| | Negativo | 0 | 1 | 6 | 337 | | | | | |
| | Total | 19 | 1 | 6 | 338 | | | | | |
| Tudo | Positivo | 87 | 1 | 0 | 11 | 5,5 | 96,7% (90,6 - 99,3) | 99,2% (98,7 - 99,6) | 87,9 | 99,8 |
| | Negativo | 3 | 4 | 16 | 1.525 | | | | | |
| | Total | 90 | 5 | 16 | 1.536 | | | | | |

+/+ = Resultado positivo em esfregaço endocervical no ensaio AC2 / Resultado positivo em esfregaço endocervical no ensaio ACT.
+/- = Resultado positivo em esfregaço endocervical no ensaio AC2 / Resultado negativo em esfregaço endocervical no ensaio ACT.
-/+ = Resultado negativo em esfregaço endocervical no ensaio AC2 / Resultado positivo em esfregaço endocervical no ensaio ACT.
-/- = Resultado negativo em esfregaço endocervical no ensaio AC2 / Resultado negativo em esfregaço endocervical no ensaio ACT.

## Análises de *Chlamydia trachomatis* por estado de infecção em pacientes do sexo feminino

*Tabela 7a: Esfregaço Endocervical e Espécime de Urina*

| Estado de infecção do paciente | NAAT 1 | | NAAT 2 | | Ensaio APTIMA COMBO 2 | | Estado sintomático | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | UF | EF | UF | EF | UF | EF | Sint. | Assint. |
| Infectado | N/A | N/A | + | + | + | + | 1 | 0 |
| Infectado | N/A | + | N/A | + | + | + | 1 | 0 |
| Infectado | N/A | + | + | + | - | + | 0 | 1 |
| Infectado | - | + | N/A | + | - | + | 1 | 0 |
| Infectado | - | + | - | + | - | + | 4 | 0 |
| Infectado | - | + | - | + | + | + | 6 | 1 |
| Infectado | - | + | + | + | - | + | 1 | 0 |
| Infectado | - | + | + | + | + | + | 7 | 3 |
| Infectado | + | N/A | + | + | + | + | 1 | 0 |
| Infectado | + | - | N/A | + | + | - | 1 | 0 |
| Infectado | + | - | + | - | - | - | 1 | 0 |
| Infectado | + | - | + | - | + | - | 7 | 1 |
| Infectado | + | - | + | - | + | + | 2 | 1 |
| Infectado | + | - | + | + | + | - | 1 | 0 |
| Infectado | + | - | + | + | + | + | 3 | 3 |
| Infectado | + | + | N/A | + | + | + | 6 | 2 |
| Infectado | + | + | - | N/A | + | + | 1 | 0 |
| Infectado | + | + | - | + | + | + | 7 | 3 |
| Infectado | + | + | + | N/A | + | + | 1 | 0 |
| Infectado | + | + | + | - | + | + | 2 | 2 |
| Infectado | + | + | + | + | - | - | 1 | 0 |
| Infectado | + | + | + | + | - | + | 1 | 1 |
| Infectado | + | + | + | + | + | N/A | 1 | 0 |
| Infectado | + | + | + | + | + | + | 88 | 44 |
| Não infectado | - | - | - | - | N/A | - | 1 | 1 |
| Não infectado | - | - | - | - | - | N/A | 2 | 1 |
| Não infectado | - | - | - | - | - | - | 648 | 497 |
| Não infectado | - | - | - | - | - | + | 18 | 4 |
| Não infectado | - | - | - | - | + | - | 4 | 3 |
| Não infectado | - | - | - | - | + | + | 4 | 2 |
| Total | | | | | | | 822 | 570 |

**UF** = Urina feminina; **EF** = Esfregaço endocervical feminino.

"N/A" representa espécimes que não foram obtidos ou não estavam disponíveis para teste.

*Tabela 7b: Espécimes de Esfregaço Vaginal Colhido pela Paciente e de Esfregaço Vaginal Colhido pelo Médico*

| Estado de infecção do paciente | NAAT 1 | | NAAT 2 (APTIMA COMBO 2) | | Ensaio APTIMA COMBO 2 | | Estado sintomático | | Total |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | EF | UF | EF | UF | PVS | CVS | Sint. | Assint. | |
| Infectado | + | + | + | + | + | + | 79 | 43 | 122 |
| Infectado | + | + | + | + | + | - | 0 | 1 | 1 |
| Infectado | + | + | + | + | - | + | 1 | 0 | 1 |
| Infectado | + | + | + | + | N/A | - | 1 | 0 | 1 |
| Infectado | + | - | + | + | + | + | 8 | 5 | 13 |
| Infectado | + | - | + | + | - | - | 1 | 0 | 1 |
| Infectado | + | - | + | + | N/A | + | 1 | 0 | 1 |
| Infectado | + | = | + | + | + | + | 1 | 0 | 1 |
| Infectado | - | + | + | + | + | + | 8 | 3 | 11 |
| Infectado | - | + | + | + | - | - | 1 | 0 | 1 |
| Infectado | - | - | + | + | + | + | 1 | 2 | 3 |
| Infectado | - | N/A | + | + | + | + | 1 | 0 | 1 |
| Infectado | + | + | + | - | + | + | 5 | 3 | 8 |
| Infectado | + | - | + | - | + | + | 5 | 0 | 5 |
| Infectado | + | - | + | - | - | + | 2 | 0 | 2 |
| Infectado | + | + | - | + | + | + | 0 | 1 | 1 |
| Infectado | - | + | - | + | + | + | 1 | 4 | 5 |
| Infectado | - | + | - | + | + | - | 1 | 0 | 1 |
| Infectado | - | + | - | + | - | - | 0 | 1 | 1 |
| Não infectado | - | - | + | - | + | + | 0 | 4 | 4 |
| Não infectado | - | - | + | - | + | - | 2 | 1 | 3 |
| Não infectado | - | - | + | - | - | + | 2 | 1 | 3 |
| Não infectado | - | - | + | - | - | - | 6 | 4 | 10 |
| Não infectado | - | - | + | - | N/A | + | 1 | 0 | 1 |
| Não infectado | - | - | + | - | N/A | - | 1 | 0 | 1 |
| Não infectado | - | - | - | + | + | + | 4 | 2 | 6 |
| Não infectado | - | - | - | + | + | - | 1 | 0 | 1 |
| Não infectado | - | - | - | + | - | - | 0 | 2 | 2 |
| Não infectado | + | - | - | - | - | - | 1 | 1 | 2 |
| Não infectado | - | + | - | - | - | - | 1 | 2 | 3 |
| Não infectado | - | - | - | - | + | + | 3 | 2 | 5 |
| Não infectado | - | - | - | - | + | - | 2 | 7 | 9 |
| Não infectado | - | - | - | - | - | + | 12 | 3 | 15 |
| Não infectado | - | - | - | - | - | - | 623 | 516 | 1.139 |
| Não infectado | - | - | - | - | - | N/A | 0 | 2 | 2 |
| Não infectado | - | - | - | - | - | = | 1 | 0 | 1 |
| Não infectado | - | - | - | - | N/A | + | 0 | 1 | 1 |
| Não infectado | - | - | - | - | N/A | - | 11 | 8 | 19 |
| Não infectado | - | - | - | - | N/A | N/A | 1 | 0 | 1 |
| Não infectado | - | - | - | - | N/A | = | 0 | 1 | 1 |
| Não infectado | - | - | - | - | = | + | 0 | 1 | 1 |
| Não infectado | - | N/A | - | - | - | - | 2 | 2 | 4 |
| Não infectado | - | N/A | - | - | N/A | - | 0 | 1 | 1 |
| Não infectado | - | = | - | - | - | - | 12 | 9 | 21 |
| Não infectado | - | = | - | - | - | N/A | 0 | 1 | 1 |

*Tabela 7b: Espécimes de Esfregaço Vaginal Colhido pela Paciente e de Esfregaço Vaginal Colhido pelo Médico (continua)*

| Estado de infecção do paciente | NAAT 1 | | NAAT 2 (APTIMA COMBO 2) | | Ensaio APTIMA COMBO 2 | | Estado sintomático | | Total |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | EF | UF | EF | UF | PVS | CVS | Sint. | Assint. | |
| Não infectado | = | - | - | - | - | - | 1 | 1 | 2 |
| Não infectado | - | - | - | N/A | - | - | 0 | 1 | 1 |
| Não infectado | - | - | N/A | - | - | - | 5 | 4 | 9 |
| Não infectado | - | - | = | - | - | + | 1 | 0 | 1 |
| Não infectado | - | - | = | - | - | - | 1 | 0 | 1 |
| Total | | | | | | | 811 | 640 | 1.451 |

**EF** = Esfregaço endocervical feminino; **UF** = Urina feminina; **PVS** = Esfregaço vaginal colhido por paciente assintomática; **CVS** = Esfregaço vaginal colhido pelo médico; "N/A" representa espécimes que não foram obtidos ou não estavam disponíveis para teste. O símbolo de igual (=) representa teste dúbio ou repetido.

*Tabela 7c: Resultados do estado de infecção de pacientes após estudo clínico de espécimes citológicos em base líquida PreservCyt para C. trachomatis*

| Estado de infecção do paciente | Resultado de Esfregaço Endocervical | | Estado sintomático | |
|---|---|---|---|---|
| | AC2 | ACT | Sint. | Assint. |
| Infectado | + | + | 30 | 60 |
| Não-infectado | - | + | 4 | 12 |
| Não-infectado | + | - | 3 | 2 |
| Não-infectado | - | - | 322 | 1.214 |
| Total | | | 359 | 1.288 |

### Análises de *C. trachomatis* por estado de infecção em pacientes do sexo masculino

*Tabela 8: Análises de C. trachomatis em esfregaços uretrais e espécimes de urina por estado de infecção em pacientes do sexo masculino*

| Estado de infecção do paciente | NAAT 1 | | NAAT 2 | Ensaio APTIMA COMBO 2 | | Estado sintomático | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | UM | EM | UM | UM | EM | Sint. | Assint. |
| Infectado | N/A | + | + | + | + | 2 | 0 |
| Infectado | - | + | + | + | + | 10 | 4 |
| Infectado | + | N/A | + | + | N/A | 4 | 6 |
| Infectado | + | N/A | + | + | - | 2 | 0 |
| Infectado | + | N/A | + | + | + | 21 | 1 |
| Infectado | + | - | + | + | - | 3 | 3 |
| Infectado | + | - | + | + | + | 4 | 3 |
| Infectado | + | + | N/A | - | + | 1 | 0 |
| Infectado | + | + | N/A | + | + | 8 | 2 |
| Infectado | + | + | - | + | + | 12 | 4 |
| Infectado | + | + | + | - | - | 1 | 0 |
| Infectado | + | + | + | - | + | 1 | 3 |
| Infectado | + | + | + | + | N/A | 1 | 0 |
| Infectado | + | + | + | + | - | 1 | 1 |
| Infectado | + | + | + | + | + | 131 | 53 |
| Não infectado | - | - | - | N/A | - | 0 | 2 |
| Não infectado | - | - | - | - | N/A | 13 | 8 |
| Não infectado | - | - | - | - | - | 461 | 303 |
| Não infectado | - | - | - | - | + | 10 | 5 |
| Não infectado | - | - | - | + | - | 3 | 4 |
| Não infectado | - | - | - | + | + | 5 | 0 |
| Total | | | | | | 694 | 402 |

**UM** = Urina masculina; **EM** = Esfregaço uretral masculino.

"N/A" representa espécime não obtido ou disponível para teste.

# Tabelas de desempenho para *Neisseria gonorrhoeae*

## Sensibilidade e especificidade para *N. gonorrhoeae*

*Tabela 9a: Espécimes analisados com o ensaio APTIMA COMBO 2 vs. estado de infecção do paciente*

| Espécime | | Sintomas | N | PV | FP[4] | NV | FN | Sensibilidade (IC de 95%) | Especificidade (IC de 95%) |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Masculino | Esfregaço | Sint. | 724 | 304 | 5[a] | 412 | 3 | 99,0% (97,2–99,8) | 98,8% (97,2–99,6) |
| | | Assint. | 378 | 15 | 12[b] | 351 | 0 | 100% (78,2–100) | 96,7% (94,3–98,3) |
| | | Todos[1] | 1.103 | 319 | 17[c] | 764 | 3 | 99,1% (97,3–99,8) | 97,8% (96,5–98,7) |
| | Urina | Sint. | 750 | 311 | 1[d] | 433 | 5 | 98,4% (96,3–99,5) | 99,8% (98,7–100) |
| | | Assint. | 383 | 13 | 2[e] | 368 | 0 | 100% (75,3–100) | 99,5% (98,1–99,9) |
| | | Todos[1] | 1.134 | 324 | 3[f] | 802 | 5 | 98,5% (96,5–99,5) | 99,6% (98,9–99,9) |
| Feminino | Esfregaço | Sint. | 881 | 94 | 15[g] | 772 | 0 | 100% (96,2–100) | 98,1% (96,9–98,9) |
| | | Assint. | 596 | 31 | 2[h] | 562 | 1 | 96,9% (83,8–99,9) | 99,6% (98,7–100) |
| | | Todos[2] | 1.479 | 126 | 17[i] | 1.335 | 1 | 99,2% (95,7–100) | 98,7% (98,0–99,3) |
| | Urina | Sint. | 883 | 87 | 7[j] | 782 | 7 | 92,6% (85,3–97,0) | 99,1% (98,2–99,6) |
| | | Assint. | 599 | 28 | 3[k] | 564 | 4 | 87,5% (71,0–96,5) | 99,5% (98,5–99,9) |
| | | Todos[2] | 1.484 | 116 | 10[l] | 1.347 | 11 | 91,3% (85,0–95,6) | 99,3% (98,6–99,6) |
| Total | Esfregaço | Sint. | 1.605 | 398 | 20[m] | 1.184 | 3 | 99,3% (97,8–99,8) | 98,3% (97,4–99,0) |
| | | Assint. | 974 | 46 | 14[n] | 913 | 1 | 97,9% (88,7–99,9) | 98,5% (97,5–99,2) |
| | | Todos[3] | 2.582 | 445 | 34[o] | 2.099 | 4 | 99,1% (97,7–99,8) | 98,4% (97,8–98,9) |
| | Urina | Sint. | 1.633 | 398 | 8[p] | 1.215 | 12 | 97,1% (94,9–98,5) | 99,3% (98,7–99,7) |
| | | Assint. | 982 | 41 | 5[q] | 932 | 4 | 91,1% (78,8–97,5) | 99,5% (98,8–99,8) |
| | | Todos[3] | 2.618 | 440 | 13[r] | 2.149 | 16 | 96,5% (94,4–98,0) | 99,4% (99,0–99,7) |

**PV** = Positivo verdadeiro; **FP** = Falso positivo; **NV** = Negativo verdadeiro; **FN** = Falso negativo.

[1] Inclui um indivíduo do sexo masculino para o qual os sintomas não foram relatados.

[2] Inclui uma mulher para a qual os sintomas não foram relatados.

[3] Inclui um homem e uma mulher para quem os sintomas não foram relatados.

[4] Os resultados de TMA alternativo relativos a GC representam o n.° de resultados positivos / n.° de espécimes testados: a: 5/5, b: 12/12, c: 17/17, d: 0/1, e: 2/2, f: 2/3, g: 13/15, h: 2/2, i: 15/17, j: 4/7, k: 0/2, l: 4/9, m: 18/20, n: 14/14, o: 32/34, p: 4/8, q: 2/4, e r: 6/12.

*Tabela 9b: Esfregaços vaginais analisados com o ensaio APTIMA COMBO 2 vs. estado de infecção do paciente*

| Espécime | | Symptom Estado | N | PV | FP[1] | NV | FN | Sensibilidade (IC de 95%) | Especificidade (IC de 95%) |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Colhido pela Paciente | Esfregaço Vaginal | Assint, | 629 | 21 | 3[a] | 605 | 0 | 100% (83,9–100) | 99,5% (98,6–99,9) |
| Colhido pelo Médico | Esfregaço Vaginal | Sint, | 807 | 51 | 7[b] | 747 | 2 | 96,2% (87,0–99,5) | 99,1% (98,1–99,6) |
| | | Assint, | 637 | 21 | 4[c] | 611 | 1 | 95,5% (77,2–99,9) | 99,3% (98,3–99,8) |
| | | Tudo | 1.444 | 72 | 11[d] | 1.358 | 3 | 96,0% (88,8–99,2) | 99,2% (98,6–99,6) |

**PV** = Positivo verdadeiro; **FP** = Falso positivo; **NV** = Negativo verdadeiro; **FN** = Falso negativo.

[1] Os resultados de amplificação alternada por TMA relativos a GC representam o n.° de resultados positivos / n.° de espécimes testados: a: 3/3, b: 6/7, c: 3/4, e d: 9/11.

*Tabela 9c: Espécimes em PreserCyt analisados com o ensaio APTIMA COMBO 2 vs. estado de infecção do paciente*

| Symptom Estado | Resultado de AC2/ GC PreservCyt | +/+ | +/- | -/+ | -/- | Sensibilidade (IC de 95%) | Especificidade (IC de 95%) |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| **Assint.** | Positivo | 5 | 0 | 1[1] | 3 | 83,3% (35,9 - 99,6) | 99,7% (99,2 - 99,9) |
| | Negativo | 1 | 0 | 5 | 1.273 | | |
| | Total | 6 | 0 | 6 | 1.276 | | |
| **Sint.** | Positivo | 7 | 0 | 0 | 0 | 100% (59,0 - 100) | 100% (99,0 - 100) |
| | Negativo | 0 | 0 | 0 | 352 | | |
| | Total | 7 | 0 | 0 | 352 | | |
| **Tudo** | Positivo | 12 | 0 | 1 | 3 | 92,3% (64,0 - 99,8) | 99,8% (99,4 - 99,9) |
| | Negativo | 1 | 0 | 5 | 1.625 | | |
| | Total | 13 | 0 | 6 | 1.628 | | |

[1] Um espécime teve um resultado discordante: Resultado dúbio de espécime de esfregaço endocervical no ensaio APTIMA COMBO 2/Resultado positivo de espécime de esfregaço endocervical no ensaio APTIMA GC.

+/+ = Resultado positivo em esfregaço endocervical no ensaio AC2 / Resultado positivo em esfregaço endocervical no ensaio AGC.

+/- = Resultado positivo em esfregaço endocervical no ensaio AC2 / Resultado negativo em esfregaço endocervical no ensaio AGC.

-/+ = Resultado negativo em esfregaço endocervical no ensaio AC2 / Resultado positivo em esfregaço endocervical no ensaio AGC.

-/- = Resultado negativo em esfregaço endocervical no ensaio AC2 / Resultado negativo em esfregaço endocervical no ensaio AGC.

## Desempenho por instituição clínica para *Neisseria gonorrhoeae*

*Tabela 10a: Espécimes analisados com o ensaio APTIMA COMBO 2 vs. estado de infecção do paciente*

| Espécime | | Local | N | PV | FP | NV | FN | Prev (%) | Sensibilidade (IC de 95%) | Especificidade (IC de 95%) | PPV (%) | NPV (%) |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Masculino | Esfregaço | 1 | 159 | 56 | 1 | 101 | 1 | 35,8 | 98,2% (90,6–100) | 99,0% (94,7–100) | 98,2 | 99,0 |
| | | 2 | 97 | 13 | 0 | 84 | 0 | 13,4 | 100% (75,3–100) | 100% (95,7–100) | 100 | 100 |
| | | 3 | 264 | 71 | 6 | 187 | 0 | 26,9 | 100% (94,9–100) | 96,9% (93,4–98,9) | 92,2 | 100 |
| | | 4 | 53 | 20 | 0 | 33 | 0 | 37,7 | 100% (83,2–100) | 100% (89,4–100) | 100 | 100 |
| | | 5 | 139 | 12 | 0 | 127 | 0 | 8,6 | 100% (73,5–100) | 100% (97,1–100) | 100 | 100 |
| | | 6 | 336 | 94 | 10 | 231 | 1 | 28,3 | 98,9% (94,3–100) | 95,9% (92,5–98,0) | 90,4 | 99,6 |
| | | 7 | 55 | 53 | 0 | 1 | 1 | 98,2* | 98,1% (90,1–100) | 100% (2,5–100) | 100 | 50,0 |
| | | TODOS | 1.103 | 319 | 17 | 764 | 3 | 29,2 | 99,1% (97,3–99,8) | 97,8% (96,5–98,7) | 94,9 | 99,6 |
| | Urina | 1 | 161 | 57 | 0 | 103 | 1 | 36,0 | 98,3% (90,8–100) | 100% (96,5–100) | 100 | 99,0 |
| | | 2 | 104 | 19 | 0 | 85 | 0 | 18,3 | 100% (82,4–100) | 100% (95,8–100) | 100 | 100 |
| | | 3 | 265 | 71 | 2 | 192 | 0 | 26,8 | 100% (94,9–100) | 99,0% (96,3–99,9) | 97,3 | 100 |
| | | 4 | 53 | 20 | 0 | 33 | 0 | 37,7 | 100% (83,2–100) | 100% (89,4–100) | 100 | 100 |
| | | 5 | 160 | 14 | 0 | 146 | 0 | 8,8 | 100% (76,8–100) | 100% (97,5–100) | 100 | 100 |
| | | 6 | 335 | 89 | 1 | 241 | 4 | 27,8 | 95,7% (89,4–98,8) | 99,6% (97,7–100) | 98,9 | 98,4 |
| | | 7 | 56 | 54 | 0 | 2 | 0 | 96,4* | 100% (93,4–100) | 100% (15,8–100) | 100 | 100 |
| | | TODOS | 1.134 | 324 | 3 | 802 | 5 | 29,0 | 98,5% (96,5–99,5) | 99,6% (98,9–99,9) | 99,1 | 99,4 |
| Feminino | Esfregaço | 1 | 196 | 30 | 2 | 164 | 0 | 15,3 | 100%(88,4–100) | 98,8% (95,7–99,9) | 93,8 | 100 |
| | | 2 | 83 | 9 | 1 | 72 | 1 | 12,0 | 90,0% (55,5–99,7) | 98,6% (92,6–100) | 90,0 | 98,6 |
| | | 3 | 191 | 31 | 2 | 158 | 0 | 16,2 | 100% (88,8–100) | 98,8% (95,6–99,8) | 93,9 | 100 |
| | | 4 | 215 | 7 | 0 | 208 | 0 | 3,3 | 100% (59,0–100) | 100% (98,2–100) | 100 | 100 |
| | | 5 | 382 | 8 | 1 | 373 | 0 | 2,1 | 100% (63,1–100) | 99,7% (98,5–100) | 88,9 | 100 |
| | | 6 | 278 | 36 | 8 | 234 | 0 | 12,9 | 100% (90,3–100) | 96,7% (93,6–98,6) | 81,8 | 100 |
| | | 7 | 134 | 5 | 3 | 126 | 0 | 3,7 | 100% (47,8–100) | 97,7% (93,4–99,5) | 62,5 | 100 |
| | | TODOS | 1.479 | 126 | 17 | 1.335 | 1 | 8,6 | 99,2% (95,7–100) | 98,7% (98,0–99,3) | 88,1 | 99,9 |
| | Urina | 1 | 196 | 24 | 2 | 164 | 6 | 15,3 | 80,0% (61,4–92,3) | 98,8% (95,7–99,9) | 92,3 | 96,5 |
| | | 2 | 83 | 9 | 1 | 72 | 1 | 12,0 | 90,0% (55,5–99,7) | 98,6% (92,6–100) | 90,0 | 98,6 |
| | | 3 | 191 | 30 | 2 | 158 | 1 | 16,2 | 96,8% (83,3–99,9) | 98,8% (95,6–99,8) | 93,8 | 99,4 |
| | | 4 | 215 | 5 | 2 | 206 | 2 | 3,3 | 71,4% (29,0–96,3) | 99,0% (96,6–99,9) | 71,4 | 99,0 |
| | | 5 | 383 | 8 | 0 | 375 | 0 | 2,1 | 100% (63,1–100) | 100% (99,0–100) | 100 | 100 |
| | | 6 | 282 | 35 | 2 | 244 | 1 | 12,8 | 97,2% (85,5–99,9) | 99,2% (97,1–99,9) | 94,6 | 99,6 |
| | | 7 | 134 | 5 | 1 | 128 | 0 | 3,7 | 100% (47,8–100) | 99,2% (95,8–100) | 83,3 | 100 |
| | | TODOS | 1.484 | 116 | 10 | 1.347 | 11 | 8,6 | 91,3% (85,0–95,6) | 99,3% (98,6–99,6) | 92,1 | 99,2 |

**PV** = Positivo verdadeiro; **FP** = Falso positivo; **NV** = Negativo verdadeiro; **FN** = Falso negativo.

* Prevalência sobrestimada devido à colheita inicial ter sido limitada ao rastreio de pacientes sintomáticos.

*Tabela 10b: Espécimes de Esfregaço Vaginal do ensaio APTIMA COMBO 2 vs. Estado de infecção do paciente*

| Espécime | | Local | N | PV | FP | NV | FN | Prev (%) | Sensibilidade (IC de 95%) | Especificidade (IC de 95%) | PPV (%) | NPV (%) |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Colhido pela Paciente | Esfregaço Vaginal | 1 | 70 | 5 | 1 | 65 | 0 | 7,1 | 100% (47,8 - 100) | 98,5 (91,7 - 100) | 83,3 | 100 |
| | | 2 | 46 | 7 | 0 | 39 | 0 | 15,2 | 100% (59,0 - 100) | 100% (91,0 - 100) | 100 | 100 |
| | | 3 | 45 | 2 | 0 | 43 | 0 | 4,4 | 100% (15,8 - 100) | 100% (91,8 - 100) | 100 | 100 |
| | | 4 | 152 | 1 | 0 | 151 | 0 | 0,7 | 100% (2,5 - 100) | 100% (97,6 - 100) | 100 | 100 |
| | | 5 | 130 | 1 | 0 | 129 | 0 | 0,8 | 100% (2,5 - 100) | 100% (97,2 - 100) | 100 | 100 |
| | | 6 | 75 | 5 | 2 | 68 | 0 | 6,7 | 100% (47,8 - 100) | 97,1 (90,1 - 99,7) | 71,4 | 100 |
| | | 7 | 68 | 0 | 0 | 68 | 0 | 0,0 | N/A | 100% (94,7 - 100) | N/A | 100 |
| | | 8 | 43 | 0 | 0 | 43 | 0 | 0,0 | N/A | 100% (91,8 - 100) | N/A | 100 |
| | | TODOS | 629 | 21 | 3 | 605 | 0 | 3,3 | 100% (83,9 - 100) | 99,5 (98,6 - 99,9) | 87,5 | 100 |
| Colhido pelo Médico | Esfregaço Vaginal | 1 | 227 | 12 | 3 | 212 | 0 | 5,3 | 100% (73,5 - 100) | 98,6% (96,0 - 99,7) | 80,0 | 100 |
| | | 2 | 196 | 31 | 2 | 163 | 0 | 15,8 | 100% (88,8 - 100) | 98,8% (95,7 - 99,9) | 93,9 | 100 |
| | | 3 | 113 | 3 | 0 | 109 | 1 | 3,5 | 75,0% (19,4 - 99,4) | 100% (96,7 - 100) | 100 | 99,1 |
| | | 4 | 262 | 5 | 2 | 255 | 0 | 1,9 | 100% (47,8 - 100) | 99,2% (97,2 - 99,9) | 71,4 | 100 |
| | | 5 | 198 | 2 | 0 | 196 | 0 | 1,0 | 100% (15,8 - 100) | 100% (98,1 - 100) | 100 | 100 |
| | | 6 | 296 | 18 | 4 | 272 | 2 | 6,8 | 90,0% (68,3 - 98,8) | 98,6% (96,3 - 99,6) | 81,8 | 99,3 |
| | | 7 | 102 | 0 | 0 | 102 | 0 | 0,0 | N/A | 100% (96,4 - 100) | N/A | 100 |
| | | 8 | 50 | 1 | 0 | 49 | 0 | 2,0 | 100% (2,5 - 100) | 100% (92,7 - 100) | 100 | 100 |
| | | TODOS | 1.444 | 72 | 11 | 1.358 | 3 | 5,2 | 96,0% (88,8 - 99,2) | 99,2% (98,6 - 99,6) | 86,7 | 99,8 |

**PV** = Positivo verdadeiro; **FP** = Falso positivo; **NV** = Negativo verdadeiro; **FN** = Falso negativo.

*Tabela 10c: Espécimes em PreserCyt analisados com o ensaio APTIMA COMBO 2 vs. estado de infecção do paciente*

| Local | Resultado de AC2/GC PreservCyt | +/+ | +/- | -/+ | -/- | Prev (%) | Sensibilidade (IC de 95%) | Especificidade (IC de 95%) | PPV (%) | NPV (%) |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| **1** | Positivo | 5 | 0 | 0 | 0 | 5,0 | 100% (47,8 - 100) | 100% (96,2 - 100) | 100 | 100 |
| | Negativo | 0 | 0 | 0 | 95 | | | | | |
| | Total | 5 | 0 | 0 | 95 | | | | | |
| **2** | Positivo | 1 | 0 | 0 | 0 | 0,8 | 100% (2,5 - 100) | 100% (97,0 - 100) | 100 | 100 |
| | Negativo | 0 | 0 | 0 | 123 | | | | | |
| | Total | 1 | 0 | 0 | 123 | | | | | |
| **3** | Positivo | 4 | 0 | 0 | 0 | 1,1 | 80,0% (28,4 - 99,5) | 100% (99,2 - 100) | 100 | 99,8 |
| | Negativo | 1 | 0 | 0 | 470 | | | | | |
| | Total | 5 | 0 | 0 | 470 | | | | | |
| **4** | Positivo | 1 | 0 | 0 | 0 | 0,3 | 100% (2,5 - 100) | 100% (98,7 - 100) | 100 | 100 |
| | Negativo | 0 | 0 | 3 | 283 | | | | | |
| | Total | 1 | 0 | 3 | 283 | | | | | |
| **5** | Positivo | 0 | 0 | 0 | 3 | 0,0 | N/A | 99,0% (97,1 - 99,8) | 0,0 | 100 |
| | Negativo | 0 | 0 | 0 | 294 | | | | | |
| | Total | 0 | 0 | 0 | 297 | | | | | |
| **6** | Positivo | 1 | 0 | 1[1] | 0 | 0,3 | 100% (2,5 - 100) | 99,7% (98,5 - 100) | 50,0 | 100 |
| | Negativo | 0 | 0 | 2 | 360 | | | | | |
| | Total | 1 | 0 | 3 | 360 | | | | | |
| **Tudo** | Positivo | 12 | 0 | 1 | 3 | 0,8 | 92,3% (64,0 - 99,8) | 99,8% (99,4 - 99,9) | 75,0 | 99,9 |
| | Negativo | 1 | 0 | 5 | 1.625 | | | | | |
| | Total | 13 | 0 | 6 | 1.628 | | | | | |

[1] Um espécime teve um resultado discordante: Resultado dúbio de espécime de esfregaço endocervical no ensaio APTIMA COMBO 2/Resultado positivo de espécime de esfregaço endocervical no ensaio APTIMA GC.

+/+ = Resultado positivo em esfregaço endocervical no ensaio AC2 / Resultado positivo em esfregaço endocervical no ensaio AGC.

+/- = Resultado positivo em esfregaço endocervical no ensaio AC2 / Resultado negativo em esfregaço endocervical no ensaio AGC.

-/+ = Resultado negativo em esfregaço endocervical no ensaio AC2 / Resultado positivo em esfregaço endocervical no ensaio AGC.

-/- = Resultado negativo em esfregaço endocervical no ensaio AC2 / Resultado negativo em esfregaço endocervical no ensaio AGC.

## Análises de *Neisseria gonorrhoeae* por estado de infecção em pacientes do sexo feminino

*Tabela 11a: Esfregaço Endocervical e Espécime de Urina*

| Estado de infecção do paciente | NAAT | | Cultura | Ensaio APTIMA COMBO 2 | | Estado sintomático | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | UF | EF | EF | UF | EF | Sint. | Assint. |
| Infectado | N/A | + | + | + | + | 1 | 1 |
| Infectado | - | - | + | - | - | 0 | 1 |
| Infectado | - | + | + | - | + | 5 | 2 |
| Infectado | - | + | + | + | + | 9 | 2 |
| Infectado | + | N/A | + | + | + | 1 | 0 |
| Infectado | + | - | + | + | + | 3 | 1 |
| Infectado | + | + | N/A | + | + | 0 | 1 |
| Infectado | + | + | - | + | + | 11 | 2 |
| Infectado | + | + | + | - | + | 2 | 1 |
| Infectado | + | + | + | + | + | 62 | 21 |
| Não-infectado | - | - | - | - | N/A | 2 | 3 |
| Não-infectado | - | - | - | - | - | 768 | 559 |
| Não-infectado | - | - | - | - | + | 12 | 2 |
| Não-infectado | - | - | - | + | - | 4 | 3 |
| Não-infectado | - | - | - | + | + | 3 | 0 |
| Total | | | | | | 883 | 599 |

**UF** = Urina feminina; **EF** = Esfregaço endocervical feminino.

"N/A" representa espécimes que não foram obtidos ou não estavam disponíveis para teste.

*Tabela 11b: Análise de Espécimes de Esfregaço Vaginal Colhido pela Paciente e de Esfregaço Vaginal Colhido pelo Médico*

| Estado de infecção do paciente | NAAT 1 | | NAAT 2 | | Ensaio APTIMA COMBO 2 | | Estado sintomático | | Total |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | EF | UF | EF | UF | PVS | CVS | Sint. | Assint. | |
| Infectado | + | + | + | + | + | + | 44 | 15 | 59 |
| Infectado | + | + | + | + | + | - | 1 | 0 | 1 |
| Infectado | + | + | + | + | N/A | + | 0 | 1 | 1 |
| Infectado | + | - | + | + | + | + | 2 | 2 | 4 |
| Infectado | + | N/A | + | + | + | + | 1 | 0 | 1 |
| Infectado | - | + | + | + | + | + | 1 | 1 | 2 |
| Infectado | - | - | + | + | + | + | 1 | 1 | 2 |
| Infectado | + | + | + | - | + | + | 1 | 0 | 1 |
| Infectado | + | - | + | - | + | + | 1 | 1 | 2 |
| Infectado | + | - | + | - | + | - | 1 | 0 | 1 |
| Infectado | + | + | - | + | + | + | 1 | 0 | 1 |
| Infectado | - | + | - | + | + | + | 0 | 1 | 1 |
| Infectado | - | + | - | + | + | - | 0 | 1 | 1 |
| Infectado | + | + | - | - | - | + | 1 | 0 | 1 |
| Não infectado | - | - | + | - | - | - | 5 | 1 | 6 |
| Não infectado | - | - | - | + | - | - | 1 | 0 | 1 |
| Não infectado | + | - | - | - | + | + | 1 | 0 | 1 |
| Não infectado | + | - | - | - | - | - | 5 | 2 | 7 |
| Não infectado | - | + | - | - | + | + | 0 | 1 | 1 |
| Não infectado | - | + | - | - | - | - | 2 | 1 | 3 |
| Não infectado | - | - | - | - | + | + | 2 | 0 | 2 |
| Não infectado | - | - | - | - | + | - | 1 | 1 | 2 |
| Não infectado | - | - | - | - | - | + | 2 | 2 | 4 |
| Não infectado | - | - | - | - | - | - | 698 | 577 | 1.275 |
| Não infectado | - | - | - | - | - | N/A | 0 | 2 | 2 |
| Não infectado | - | - | - | - | - | = | 2 | 0 | 2 |
| Não infectado | - | - | - | - | N/A | - | 15 | 9 | 24 |
| Não infectado | - | - | - | - | N/A | N/A | 1 | 0 | 1 |
| Não infectado | - | N/A | - | - | - | - | 2 | 2 | 4 |
| Não infectado | - | N/A | - | - | N/A | - | 0 | 1 | 1 |
| Não infectado | - | = | - | - | - | - | 11 | 10 | 21 |
| Não infectado | - | = | - | - | - | N/A | 0 | 1 | 1 |
| Não infectado | = | - | - | - | - | - | 1 | 1 | 2 |
| Não infectado | - | - | - | N/A | - | - | 0 | 1 | 1 |
| Não infectado | - | - | N/A | - | - | - | 5 | 4 | 9 |
| Não infectado | - | - | = | - | - | - | 1 | 1 | 2 |
| Total | | | | | | | 810 | 640 | 1.450 |

**EF** = Esfregaço endocervical feminino; **UF** = Urina feminina; **PVS** = Esfregaço vaginal colhido por paciente assintomática; **CVS** = Esfregaço vaginal colhido pelo médico; "N/A" representa espécime não obtido ou disponível para teste. O símbolo de igual (=) representa teste dúbio ou repetido.

### Análise de *N. gonorrhoeae* por estado de infecção em pacientes do sexo feminino

*Tabela 11c: Resultados do estado de infecção de pacientes após estudo clínico de espécimes citológicos em base líquida PreservCyt para N. gonorrhoeae*

| Estado de infecção do paciente | Resultado de Esfregaço Endocervical | | Estado sintomático | |
|---|---|---|---|---|
| | AC2 | AGC | Sint. | Assint. |
| Infectado | + | + | 7 | 6 |
| Não-infectado | = | + | 0 | 1 |
| Não-infectado | - | + | 0 | 5 |
| Não-infectado | - | - | 352 | 1.276 |
| Total | | | 359 | 1.288 |

### Análise de *N. gonorrhoeae* por estado de infecção em pacientes do sexo masculino

*Tabela 12: Esfregaço da Uretra e Espécime de Urina*

| Estado de infecção do paciente | NAAT 1 | | Cultura | Ensaio APTIMA COMBO 2 | | Estado sintomático | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | UM | EM | EM | UM | EM | Sint. | Assint. |
| Infectado | N/A | + | + | + | + | 1 | 0 |
| Infectado | - | N/A | + | N/A | + | 0 | 1 |
| Infectado | - | N/A | + | + | + | 1 | 0 |
| Infectado | - | - | + | - | - | 1 | 0 |
| Infectado | - | + | + | + | + | 4 | 1 |
| Infectado | + | N/A | + | N/A | + | 0 | 1 |
| Infectado | + | N/A | + | + | N/A | 8 | 0 |
| Infectado | + | N/A | + | + | - | 1 | 0 |
| Infectado | + | N/A | + | + | + | 50 | 1 |
| Infectado | + | - | + | + | + | 4 | 1 |
| Infectado | + | + | N/A | + | + | 1 | 0 |
| Infectado | + | + | - | + | + | 11 | 1 |
| Infectado | + | + | + | - | - | 1 | 0 |
| Infectado | + | + | + | - | + | 3 | 0 |
| Infectado | + | + | + | + | N/A | 1 | 0 |
| Infectado | + | + | + | + | + | 229 | 9 |
| Não infectado | - | - | - | N/A | - | 0 | 1 |
| Não infectado | - | - | - | N/A | + | 0 | 1 |
| Não infectado | - | - | - | - | N/A | 17 | 9 |
| Não infectado | - | - | - | - | - | 411 | 349 |
| Não infectado | - | - | - | - | + | 5 | 10 |
| Não infectado | - | - | - | + | - | 1 | 1 |
| Não infectado | - | - | - | + | + | 0 | 1 |
| Total | | | | | | 750 | 387 |

**UM** = Urina masculina; **EM** = Esfregaço uretral masculino. N/A = Espécime não obtido ou disponível para teste.

## Distribuição RLU de Controlos APTIMA

A distribuição de RLU para o controlo positivo APTIMA, GC / controlo negativo, CT e o controlo positivo APTIMA, CT / controlo negativo, GC de todos os testes do ensaio APTIMA COMBO 2 executados durante os estudos clínicos dos espécimes é apresentada na Tabela 13.

*Tabela 13: Distribuição de RLU Total dos Controlos do Ensaio APTIMA COMBO 2*

| Controlo | Estatística | Total de RLU (x1.000) | | |
|---|---|---|---|---|
| | | Estudos Clínicos de Esfregaço Endocervical, Esfregaço da Uretra Masculina, e Espécime de Urina | Estudo Clínico de Espécimes de Esfregaço Vaginal | Estudo Clínico de Espécime citológico em base líquida PreservCyt |
| **Controlo Positivo, CT / Controlo Negativo, GC** | Máxima | 1.572 | 1.996 | 1.747 |
| | Percentil 75 | 1.160 | 1.279 | 1.264 |
| | Mediana | 1.063 | 1.135 | 1.165 |
| | Percentil 25 | 996 | 933 | 1.024 |
| | Mínima | 274 | 174 | 494 |
| **Controlo Positivo, GC / Controlo Negativo, CT** | Máxima | 1.359 | 1.420 | 1.438 |
| | Percentil 75 | 1.202 | 1.255 | 1.288 |
| | Mediana | 1.093 | 1.169 | 1.201 |
| | Percentil 25 | 989 | 1.084 | 1.099 |
| | Mínima | 167 | 249 | 166 |

## Estudo de Precisão

Testes de precisão foram feitos em três locais para obter medidas de repetibilidade e reprodutividade. Estudos de precisão foram conduzidos como parte do Estudo clínico de esfregaços Endocervicais, Esfregaços uretrais masculinos e espécimes de urina, assim como no Estudo Clínico de espécimes citológicos em base líquida PreservCyt. Para o primeiro estudo, cada local tinha três painéis idênticos de 13 amostras contendo de 0 a 500 fg de CT rRNA, de 0 a 25.000 fg de GC rRNA, ou combinações de CT e GC rRNA. Os testes foram feitos em três dias, usando um lote diferente de kit de ensaio por dia. As RLU totais e os dados estatísticos descritivos intrateste, entre testes e entre instituições são indicados na Tabela 14a.

Para o último estudo de precisão, a reprodutibilidade foi estabelecida com um painel de 12 membros gerado pela mistura de PreservCyt Solution com de 0 a 2.000 fg/ensaio de CT e de 0 a 5.000 fg/ensaio de GC rRNA e aliquotando 1,0 mL no tubo de colheita do Kit APTIMA de Transferência de Espécimes. Dois (2) operadores em cada um dos três locais fizeram uma execução por dia em três dias, totalizando três execuções válidas por operador. Os testes foram feitos utilizando um lote de kit de ensaio. Os resultados deste estudo de precisão são indicados na Tabela 14b.

Para ambos os estudos, a reprodutibilidade foi estabelecida misturando o meio de transporte apropriado (STM, Solução PreservCyt) com rRNA. A reprodutibilidade ao testar esfregaço, urina ou espcimes citológicos em base líquida PreservCyt contendo organismo-alvo não foi determinada.

*Tabela 14a: Meio de Transporte de Esfregaço*

| Membro do Painel | | N | Média de RLU (x1.000) | Intrateste | | Entre Testes | | Entre Locais | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | | SD (RLU) | CV (%) | SD (RLU) | CV (%) | SD (RLU) | CV (%) |
| High | CT Esfregaço | 54 | 1.055 | 76.588 | 7,3 | 83.711 | 7,9 | 150.332 | 14,2 |
| | Esfregaço Duplo* | 54 | 2.338 | 93.449 | 4,0 | 90.317 | 3,9 | 142.898 | 6,1 |
| | Urina Dupla* | 54 | 2.281 | 91.487 | 4,0 | 106.715 | 4,7 | 152.747 | 6,7 |
| | Esfregaço GC | 54 | 1.265 | 30.561 | 2,4 | 55.642 | 4,4 | 34.413 | 2,7 |
| Meio | CT Esfregaço | 54 | 1.001 | 69.831 | 7,0 | 77.701 | 7,8 | 159.774 | 16,0 |
| | Esfregaço Duplo* | 54 | 2.241 | 152.377 | 6,8 | 58.353 | 2,6 | 139.983 | 6,2 |
| | Esfregaço GC | 54 | 1.249 | 35.142 | 2,8 | 60.638 | 4,9 | 46.364 | 3,7 |
| Baixa | CT Esfregaço | 54 | 1.013 | 61.795 | 6,1 | 90.906 | 9,0 | 131.207 | 13,0 |
| | Esfregaço Duplo* | 54 | 2.085 | 286.034 | 13,7 | 161.764 | 7,8 | 58.837 | 2,8 |
| | Urina Dupla* | 54 | 2.201 | 95.705 | 4,3 | 118.760 | 5,4 | 106.802 | 4,9 |
| | Esfregaço GC | 54 | 1.177 | 42.478 | 3,6 | 69.821 | 5,9 | 29.836 | 2,5 |
| Negativo | Esfregaço | 54 | 7 | 1.301 | 18,3 | 2.311 | 32,5 | 1.901 | 26,8 |
| | Urina | 54 | 7 | 861 | 12,0 | 2.299 | 32,1 | 1.994 | 27,9 |

* Membros positivos duplos do painel continham CT e GC rRNA.

*Tabela 14b: Solução PreservCyt*

| Concentração (fg/ensaio) | | N | Concordância | Média RLU (x1.000) | Intrateste | | Entre Testes | | Entre Locais | | Entre Operadores | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| CT | GC | | | | DP (x1.000) | CV (%) | DP (x1.000) | CV (%) | DP (x1.000) | CV (%) | DP (x1.000) | CV (%) |
| 0 | 0 | 162 | 97,5% | 9,7 | 31,6 | N/A | 3,4 | N/A | 6,4 | N/A | 4,7 | N/A |
| 0 | 5.000 | 54 | 96,3% | 1.296 | 146 | 11,3 | 54,8 | 4,2 | 0,0 | 0,0 | 0,0 | 0,0 |
| 2.000 | 0 | 54 | 100% | 1.140 | 54,1 | 4,7 | 79,8 | 7,0 | 101 | 8,9 | 2,4 | 0,2 |
| 2.000 | 5.000 | 54 | 100% | 2.345 | 79,6 | 3,4 | 78,0 | 3,3 | 94,7 | 4,0 | 37,9 | 1,6 |
| 0 | 250 | 54 | 100% | 953 | 114 | 12,0 | 0,0 | 0,0 | 161 | 16,9 | 90,7 | 9,5 |
| 5 | 0 | 54 | 100% | 971 | 58,3 | 6,0 | 71,7 | 7,4 | 22,8 | 2,4 | 85,0 | 8,8 |
| 1.000 | 2.500 | 54 | 100% | 2.294 | 114 | 5,0 | 88,9 | 3,9 | 153 | 6,7 | 0,0 | 0,0 |
| 100 | 250 | 54 | 98,1% | 1.911 | 139 | 7,3 | 130 | 6,8 | 348 | 18,2 | 39,7 | 2,1 |
| 5 | 5.000 | 54 | 100% | 2.136 | 113 | 5,3 | 130 | 6,1 | 98,8 | 4,6 | 166 | 7,8 |
| 2.000 | 250 | 54 | 96,3% | 2.044 | 138 | 6,7 | 169 | 8,3 | 360 | 17,6 | 26,9 | 1,3 |

**RLU** - Unidades relativas de luz (Relative Light Units); **DP** = Desvio padrão; **CV** = coeficiente de variação; N/A representa os espécimes não aplicáveis para membros de painéis negativos.

Amostras com resultados discordantes e dúbios foram incluídas na análise de variabilidade de sinal.

Para valores CV e SD iguais a 0,0, a variabilidade devida a esta fonte é demasiado pequena em relação a outras fontes de variação.

# Desempenho analítico nos Sistemas DTS

Consulte *Desempenho analítico no Sistema TIGRIS DTS* após a secção *Concordância de espécimes clínicos no Sistema TIGRIS DTS* para obter o desempenho analítico específico do Sistema TIGRIS DTS.

Consulte *Desempenho analítico no Sistema PANTHER* para obter o desempenho analítico específico do Sistema PANTHER.

## Sensibilidade Analítica

A sensibilidade analítica para *Chlamydia trachomatis* (limites de detecção) foi determinada por comparação directa entre diluições de organismos CT em cultura celular e o ensaio. A proposta de sensibilidade analítica para o ensaio é uma Unidade de Formação de Inclusão (IFU) por ensaio (7,5 IFU/esfregaço, 5,0 IFU/mL de urina, 9,75 IFU/mL de espécimes citológicos em base líquida PreservCyt) para todos os 15 serovares CT (A, B, Ba, C, D, E, F, G, H, I, J, K, L1, L2 e L3). Contudo, diluições menores do que 1,0 IFU/ensaio de todos os serovares apresentaram resultados positivos no ensaio APTIMA COMBO 2.

A sensibilidade analítica de *Neisseria gonorrhoeae* foi determinada por comparação directa entre diluições de 57 isolados clínicos diferentes em cultura e o ensaio APTIMA COMBO 2 com esfregaços e espécimes de urina e 20 isolados clínicos com espécimes citológicos em base líquida PreservCyt. A proposta de sensibilidade analítica para o ensaio é 50 células/ensaio (362 células/esfregaço, 250 células/mL urina, 488 células/mL de espécimes citológicos em base líquida PreservCyt). Contudo, todas as estirpes foram positivas com menos de 50 células/ensaio.

## Especificidade Analítica

Um total de 154 culturas isoladas foram avaliadas utilizando o ensaio APTIMA COMBO 2. Estas culturas isoladas incluíram 86 organismos que podem ser isolados do tracto urogenital e 68 organismos adicionais que representam uma secção transversal filogenética de organismos. Os organismos testados incluíram bactérias, fungos, leveduras, parasitas e vírus. Todos os organismos, excepto *C. psittaci, C. pneumoniae* e vírus foram testados a $1,0 \times 10^6$ células/ensaio em esfregaços e em meio de transporte de urina. Os organismos Chlamydia e Neisseria foram testados no meio solução PreservCyt. *C. psittaci* e *C. pneumoniae* foram testados a $1,0 \times 10^5$ IFU/ensaio. Os virus foram testados da seguinte forma: (a) vírus herpes simplex I e II: $2,5 \times 10^4$ $TCID_{50}$/ensaio, (b) papilomavírus humano 16: $2,9 \times 10^6$ cópias de DNA/ensaio e (c) citomegalovírus: $4,8 \times 10^5$ células de cultura de células infectadas/ensaio. Apenas amostras CT e GC produziram resultados positivos no ensaio APTIMA COMBO 2. A lista dos microorganismos testados é indicada na Tabela 15.

*Tabela 15: Especificidade Analítica*

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

"(n)" representa o número de estirpes testadas.

Todos os organismos testados produziram um resultado negativo no ensaio APTIMA COMBO 2 com base no tipo de perfil cinético e RLU.

## Substâncias Interferentes

Foram introduzidas em esfregaços e espécimes citológicos em base líquida PreservCyt as seguintes substâncias interferentes: 10% sangue, geleia contraceptiva, espermicida, hidratante, anestésico hemorroidal, óleo de corpo, pó, creme antifúngico, lubrificantes vaginais, spray feminino e leucócitos (1,0 x $10^6$ células/mL). Foram introduzidas em espécimes de urina as seguintes substâncias interferentes: 30% de sangue, analitos de urina, proteínas, glucose, cetonas, bilirrubina, nitrato, urobilinogénio, pH 4 (ácido), pH 9 (alcalino), leucócitos (1,0 x $10^6$ células/mL), restos celulares, vitaminas, minerais, paracetamol, ácido acetilsalicílico e ibuprofeno. Todos foram testados para interferência de

ensaio potencial na ausência e na presença de CT e GT no estimado rRNA equivalente a 1,0 CT IFU/ensaio (5 fg/ensaio) e 50 GC células/ensaio (250 fg/ensaio). Os equivalentes rRNA foram calculados com base no tamanho do genoma e a taxa estimada média/célula DNA:RNA de cada organismo.

Nenhuma interferência foi observada com nenhuma das substâncias testadas. Não foram observados inibidores de amplificação no ensaio APTIMA COMBO 2.

## Recuperação

Adicionou-se *Escherichia coli e Gardnerella vaginalis* (2,4 x $10^5$ células/ensaio) *e* Lactobacillus acidophilus*, Gardnerella vaginalis, Bacteroides ureolyticus e Staphylococcus epidermidis* (1,0 x $10^8$ células/ensaio) às amostras contendo o rRNA equivalente a aproximadamente 1,0 CT IFU (5 fg) e 50 células GC (250 fg). Essas adições não interferem com a amplificação e detecção de rRNA CT ou GC com a utilização do ensaio APTIMA COMBO 2.

## Estudos de Estabilidade de Espécime

A. Espécimes de Esfregaço Endocervical

Os dados que justificam as condições recomendadas para transporte e armazenamento das amostras de esfregaço endocervical foram gerados a partir do conjunto de amostras negativas de esfregaços. Cinco amostras em conjunto foram misturados com CT e GC em concentrações finais de 10 IFU e 100 CFU por reacção, respectivamente. As amostras misturadas foram mantidas a -70 °C, -20 °C, 4 °C, e 30 °C. As amostras foram testadas em duplicata nos dias 0, 20, 35, 60, e 90. Todas as condições de teste foram positivas para CT e GC em todos os tempos e temperaturas.

B. Espécimes citológicos em base líquida PreservCyt

Os dados que justificam as condições recomendadas para transporte e armazenamento dos espécimes citológicos em base líquida PreservCyt foram gerados a partir de um conjunto de espécimes citológicos em base líquida PreservCyt negativos. Quatro amostras em conjunto foram misturados com CT e GC em concentrações finais de 10 IFU e 100 CFU por reacção, respectivamente. As amostras de espécimes citológicos em base líquida PreservCyt foram submetidas a 30 °C por 7 dias, e após isso, 1,0 mL da amostra foi adicionada a um Tubo APTIMA de Transferência. As amostras misturadas foram mantidas a 4 °C, 10 °C e 30 °C. As amostras armazenadas a 4 °C e 10 °C foram testados em duplicata nos dias 0, 6, 13, 26, 30 e 36. As amostras armazenadas a 30 °C foram testadas em duplicata nos dias 0, 5, 8, 14 e 17. Quatro conjuntos de amostras citológicas em base líquida PreservCyt misturadas foram adicionados a tubos de transferência APTIMA e colocados a 30 °C durante 14 dias antes de ser armazenados a -20 °C ou a -70 °C. As amostras a -20 °C e a -70 °C foram testadas em duplicata após 0, 30, 60, 90 e 106 dias de armazenamento. Todas as condições de teste foram positivas para CT e GC em todos os tempos e temperaturas.

C. Espécimes de Esfregaço Vaginal

Os dados que justificam as condições recomendadas para transporte e armazenamento das amostras de esfregaços vaginais foram gerados a partir do conjunto de amostras negativas de esfregaços. Quinze conjuntos de esfregaços vaginais foram misturados com CT e GC em concentrações finais de 1,0 IFU e 50 CFU por reacção, respectivamente. As amostras misturadas foram mantidas a -70 °C, -20 °C, 4 °C, e 30 °C. As amostras foram testadas em duplicata usando uma alíquota nos dias 0, 20, 36, 73, e 114. Todas as condições de teste foram positivas para CT e GC em todos os tempos e temperaturas.

D. Espécimes de urina

Os dados que justificam as condições recomendadas para transporte e armazenamento das amostras de urina foram gerados com dez amostras negativas de urina feminina e dez amostras de urina feminina. As amostras de urina foram misturadas com CT e GC em concentrações finais de 10 IFU e 100 CFU por reacção, respectivamente. Dois conjuntos das amostras de urina misturadas foram mantidos a 4 °C e 30 °C por 24 horas antes de serem adicionadas ao Meio de transporte de urina (UTM). Os dois conjuntos de amostras UTM foram então mantidos a 4 °C e 30 °C, e testados em triplicado nos dias 0, 1, 5, 20, e 35. Todas as amostras foram positivas para CT e GC quando as amostras de urina foram mantidas a 4 °C antes de adicionar o UTM. Quando as amostras de urina foram mantidas a 30 °C antes da adição de UTM, todas as amostras foram positivas para CT e 95% das amostras foram positivas para GC ao dia 35. Estas mesmas amostras foram testadas após 116 dias de armazenamento a -20 °C e -70 °C. Todas as amostras foram positivas para CT e GC sob ambas as condições de armazenamento.

E. Estudo Adicional de Estabilidade de Espécimes Congelado (a -20 °C)

Os dados que sustentam as condições recomendadas de armazenamento a -20 °C para esfregaços endocervicais, esfregaços uretrais, esfregaços vaginais, urina feminina, urina masculina e espécimes citológicos em base líquida PreservCyt foram gerados utilizando 90 espécimes para cada tipo com resultados negativos, em que 30 espécimes foram misturados com CT e GC a 1,0 IFU e 50 CFU por reacção, respectivamente; 30 espécimes foram misturados com CT e GC a 0,1 IFU e 5 CFU por reacção, respectivamente e 30 espécimes não foram misturados. Os espécimes foram armazenados a -20 °C e testados aos dias 0, 200 e 400. Todos os espécimes misturados atingiram o critério de aceitação de 95% de concordância com os resultados esperados.

# Concordância de espécimes clínicos no Sistema TIGRIS DTS

## Concordância do Sistema TIGRIS DTS

A concordância entre os resultados do ensaio APTIMA COMBO 2 gerados no Sistema TIGRIS DTS totalmente automatizado e nos Sistemas DTS semi-automatizados foi avaliada testando espécimes endocervicais, esfregaços uretrais masculinos, urina feminina e masculina, esfregaços vaginais e espécimes citológicos em base líquida PreservCyt. Todos os espécimes clínicos foram testados individualmente com o ensaio APTIMA COMBO 2 nos Sistema TIGRIS DTS e nos Sistemas DTS na Gen-Probe.

## Estudo de concordância de espécimes clínicos — esfregaços endocervicais, esfregaços uretrais masculinos e espécimes de urina de ambos os sexos

Pacientes masculinos e femininos que frequentavam clínicas de DST, atendimento de urgência, saúde pública, e planeamento familiar foram registados em sete locais clínicos geograficamente diversos com prevalência de baixa a alta para CT e GC. O estudo de concordância de espécimes clínicos avaliou a concordância entre os dois sistemas usando espécimes de esfregaço e de urina de 485 pacientes masculinos e 576 pacientes femininos. Dos 1.991 espécimes testados, uma pequena percentagem apresentou inicialmente resultados inválidos ou equívocos para CT ou GC no Sistema TIGRIS DTS (20, 1,0%) e nos Sistemas DTS (14, 0,7%). Após repetir o teste, dois (2) espécimes clínicos apresentaram resultados dúbios para GC no Sistema TIGRIS DTS, e não foram incluídos nos cálculos de equivalência. A percentagem de concordância geral e as percentagens de concordâncias positivas e negativas foram calculadas. Os espécimes com resultados discordantes entre os Sistemas DTS e o Sistema TIGRIS DTS foram testados em ensaios de amplificação TMA alternativos para CT e GC, que são testes de amplificação de cido nucleico (NAAT) que têm como alvo sequências de rRNA de CT ou GC diferentes das analisadas no ensaio APTIMA COMBO 2. Foi também realizada uma repetição do ensaio APTIMA COMBO 2 nos Sistemas DTS para os espécimes com resultados discordantes entre o Sistema TIGRIS DTS e os Sistemas DTS.

As Tabelas 16 e 17 mostram as concordâncias globais em percentagem para todos os resultados de testes emparelhados obtidos no Sistema TIGRIS DTS e nos Sistemas DTS em esfregaços e espécimes de urina, respectivamente. As concordâncias gerais foram de 98,3% para espécimes de esfregaço e 99,2% para espécimes de urina. Consulte as Tabelas 5a e 9a para obter as estimativas de desempenho do ensaio APTIMA COMBO 2 relativamente a esfregaços endocervicais, esfregaços uretrais masculinos e espécimes de urina de ambos os sexos testados nos Sistemas DTS. Estimativas de desempenho clínico para o Sistema TIGRIS DTS com espécimes de esfregaço endocervical, esfregaço de uretra masculina, e de urina feminina e masculina deverão ser similares, dadas as descobertas de concordância.

## Estudo de concordância de espécimes clínicos — esfregaços vaginais e espécimes citológicos em base líquida PreservCyt

Pacientes femininas frequentando clínicas de DST, saúde pública, e OB/GIN contribuíram com espécimes citológicos em base líquida PreservCyt. Os espécimes de esfregaço vaginal foram transferidos diretamente à Gen-Probe para testes, enquanto os espécimes citológicos em base líquida PreservCyt foram processados em dois laboratórios de citopatologia antes de serem transferidos. Na Gen-Probe, os esfregaços vaginais e os espécimes citológicos em base líquida PreservCyt foram primeiro rastreados primeiro com o ensaio APTIMA COMBO 2 nos Sistemas DTS. Os espécimes com resultados finais inválidos ou dúbios nos Sistemas

DTS não foram seleccionados para mais testes no Sistema TIGRIS DTS. Os espécimes positivos no ensaio APTIMA COMBO 2 e um subconjunto de espécimes negativos com o mesmo ensaio foram seleccionados para um teste de comparação no Sistema TIGRIS DTS. Cento e setenta (170) espécimes de esfregaço vaginal e 170 espécimes citológicos em base líquida PreservCyt de 181 pacientes femininas foram testados em ambos os sistemas. A maioria de espécimes (110 espécimes de esfregaço vaginal e 107 espécimes citológicos em base líquida PreservCyt) seleccionados para teste de comparação foram de mulheres sintomáticas. Foram iniciadas dezassete (17) listas de trabalho: 13 (76,5%) foram válidas e 4 (23,5%) foram invalidadas por o instrumento ter detectado um sinal de fundo elevado no luminómetro. O instrumento possuía encaixes de Detecção 1 e 2 frouxos, que podem ter permitido a entrada do ar nas linhas ou quantidades incorrectas de reagentes de detecção a serem injectados. Essas listas de trabalho foram válidas quando testadas novamente. Dos 340 espécimes testados, nenhum apresentava resultados de testes iniciais inválidos ou dúbios no Sistema TIGRIS DTS.

As Tabelas 18 e 19 mostram as concordâncias globais em percentagem para de detecção de CT e GC para todos os resultados de testes emparelhados obtidos no Sistema TIGRIS DTS e nos Sistemas DTS em esfregaços vaginais e espécimes citológicos em base líquida PreservCyt, respectivamente. As concordâncias gerais foram de 98,2% para espécimes de esfregaço vaginal e de 98,2% para espécimes citológicos em base líquida PreservCyt. Consulte as Tabelas 5b, 5c, 9b, e 9c para obter as estimativas de desempenho do ensaio APTIMA COMBO 2 relativamente a esfregaços vaginais e espécimes citológicos em base líquida PreservCyt testados nos Sistemas DTS. Estimativas de desempenho clínico para o Sistema TIGRIS DTS com espécimes de esfregaço vaginal e de espécimes citológicos em base líquida PreservCyt deverão ser similares, dadas as descobertas de concordância.

**Estudo de concordância do painel clínico de CT/GC — esfregaços endocervicais, esfregaços uretrais masculinos e espécimes de urina de ambos os sexos.**

O estudo de concordância de painel clínico CT/GC avaliou a equivalência entre os dois sistemas com a utilização de 13 painéis clínicos CT/GC preparados pela Gen-Probe e contendo entre 0 a 2.500 Unidades de Formação de Inclusão (IFU)/mL de CT e/ou entre 0 a 125.000 Unidades Formadoras de Colónias (CFU)/mL de GC. Os painéis clínicos de CT/GC foram criados a partir de esfregaços e espécimes de urina colhidos de 222 indivíduos do sexo masculino e 117 do sexo feminino a quem se determinou não estarem infectados com base em resultados negativos de esfregaços e espécimes de urina analisados pelo ensaio APTIMA COMBO 2 nos Sistemas DTS. Cada um dos 13 painéis CT/GC consistia de 5 replicados de cada tipo de espécime (esfregaço endocervical, esfregaço da uretra masculina, urina feminina e urina masculina) para um total de 20 replicados por painel.

A Tabela 20 mostra as concordâncias percentuais com os resultados de CT e GC esperados para o Sistema TIGRIS DTS e para os Sistemas DTS relativamente a cada um dos 13 painéis de CT/GC. As concentrações variaram entre 10 vezes abaixo e 1.000 vezes acima dos limites analíticos indicados para o ensaio APTIMA COMBO 2, que são de 1 IFU/ensaio para CT e 50 CFU/ensaio para GC. A Tabela 20 indica também a concordância percentual global (99,3%) entre os resultados do painel CT/GC no Sistema TIGRIS DTS e nos Sistemas DTS. As concordâncias positiva e negativa são indicadas nas Tabelas 21 e 22 para os resultados do painel de CT e GC, respectivamente. Para os painéis de esfregaço e urina, as concordâncias positivas foram de 100% e 96,2%, respectivamente, para CT, e ambas de 100% para GC. As concordâncias negativas de esfregaço e urina foram de 100% e 98,0%, respectivamente, para CT, e ambas de 100% para GC. Três de cinco replicados do painel de urina feminina, que estavam uma ordem de grandeza abaixo da sensibilidade analítica indicada para o ensaio APTIMA COMBO 2, que é de 1 IFU/ensaio para CT, foram

CT- no Sistema TIGRIS DTS. Um de cinco replicados do painel de urina feminina de um painel distinto foi CT- nos Sistemas DTS.

*Tabela 16: Estudo de concordância de espécimes clínicos: resultados para esfregaços endocervicais e uretrais masculinos*[1]

| Sistema TIGRIS DTS | Sistemas DTS | | | | Total |
|---|---|---|---|---|---|
| | CT+/GC+ | CT+/GC- | CT-/GC+ | CT-/GC- | |
| CT+/GC+ | **30** | 0 | 0 | 0 | 30 |
| CT+/GC- | 0 | **108** | 0 | 2[5] | 110 |
| CT-/GC+ | 1[2] | 0 | **67** | 0 | 68 |
| CT-/GC- | 0 | 12[3] | 2[4] | **796** | 810 |
| Total | 31 | 120 | 69 | 798 | 1.018 |
| Concordância percentual (IC de 95%) | 96,8% (83,3-99,9) | 90,0% (83,2-94,7) | 97,1% (89,9-99,6) | 99,7% (99,1-100) | N/A |
| Concordância percentual global (IC de 95%): 98,3% (97,3-99,0) | | | | | |

+ denota Positivo,- denota Negativo, n/a = não aplicável.

[1]Dados não mostrados: dois espécimes deram resultados equívocos para CT/GC em ambos os Sistema TIGRIS DTS e Sistemas DTS. Um espécime deu resultados CT-/GC- no Sistema TIGRIS DTS, mas resultados CT-/GC equívocos nos Sistemas DTS. Quando se voltou a testar com o ensaio APTIMA COMBO 2 nos Sistemas DTS, este espécime deu um resultado CT-/GC-. O espécime também apresentou resultado GC- no ensaio de amplificação alternativo TMA.

[2]1/1 foi CT+/GC+ quando submetido a novo teste nos Sistemas DTS e foi CT+ no ensaio de amplificação TMA alternativo.

[3]11/12 foram novamente testados. 11/11 foram CT-/GC- quando se voltaram a testar com o ensaio APTIMA COMBO 2 nos Sistemas DTS. 9/11 foram CT- quando submetidos a testes no ensaio de amplificação alternativo TMA e 2/11 foram CT+.

[4]2/2 foram CT-/GC- quando se voltaram a testar com o ensaio APTIMA COMBO 2 nos Sistemas DTS e foram GC- no ensaio de amplificação TMA alternativo.

[5]2/2 foram CT-/GC- quando se voltaram a testar com o ensaio APTIMA COMBO 2 nos Sistemas DTS e foram CT- no ensaio de amplificação TMA alternativo.

*Tabela 17: Estudo de concordância de espécimes clínicos: resultados para espécimes de urina feminina e masculina*

| Sistema TIGRIS DTS | Sistemas DTS | | | | Total |
|---|---|---|---|---|---|
| | CT+/GC+ | CT+/GC- | CT-/GC+ | CT-/GC- | |
| CT+/GC+ | **32** | 0 | 0 | 0 | 32 |
| CT+/GC- | 0 | **100** | 0 | 1[3] | 101 |
| CT-/GC+ | 0 | 0 | **52** | 0 | 52 |
| CT-/GC- | 0 | 8[1] | 1[2] | **776** | 785 |
| Total | 32 | 108 | 53 | 777 | 970 |
| Concordância percentual (IC de 95%) | 100% (89,1-100) | 92,6% (85,9-96,7) | 98,1% (89,9-100) | 99,9% (99,3-100) | N/A |
| Concordância percentual global (IC de 95%): 99,2% (98,1-99,5) | | | | | |

+ denota Positivo,- denota Negativo, N/A = não aplicável.

[1] 7/8 foram CT-/GC- quando se voltaram a testar com o ensaio APTIMA COMBO 2 nos Sistemas DTS e foram CT- no ensaio de amplificação TMA alternativo.

1/8 foi CT+/GC- quando se voltaram a testar com o ensaio APTIMA COMBO 2 nos Sistemas DTS e foi CT+ no ensaio de amplificação TMA alternativo.

[2] 1/1 foi CT-/GC- quando se voltaram a testar com o ensaio APTIMA COMBO 2 nos Sistemas DTS e foi GC- no ensaio de amplificação TMA alternativo.

[3] 1/1 foi CT-/GC- quando se voltaram a testar com o ensaio APTIMA COMBO 2 nos Sistemas DTS e foi CT+ no ensaio de amplificação TMA alternativo.

*Tabela 18: Estudo de concordância de espécimes clínicos: resultados de esfregaços vaginais*

| Sistema TIGRIS DTS | Sistemas DTS | | | | Total |
|---|---|---|---|---|---|
| | CT+/GC+ | CT+/GC- | CT-/GC+ | CT-/GC- | |
| CT+/GC+ | **26** | 0 | 0 | 0 | 26 |
| CT+/GC- | 0 | 44 | 0 | 2 | 46 |
| CT-/GC+ | 0 | 0 | **24** | 0 | 24 |
| CT-/GC- | 0 | 0 | 1 | 73 | 74 |
| Total | 26 | 44 | 25 | 75 | 170 |
| Concordância percentual (IC de 95%) | 100% (86,8-100) | 100% (92,0-100) | 96,0% (79,6-99,9) | 97,3% (90,7-99,7) | N/A |
| Concordância percentual global (IC de 95%): 98,2% (94,9-99,6) | | | | | |

+ denota Positivo, - denota Negativo, N/A = não aplicável.

*Tabela 19: Estudo de concordância de espécimes clínicos: resultados de espécimes citológicos em base líquida PreservCyt*

| Sistema TIGRIS DTS | Sistemas DTS | | | | Total |
|---|---|---|---|---|---|
| | CT+/GC+ | CT+/GC- | CT-/GC+ | CT-/GC- | |
| CT+/GC+ | **26** | 0 | 0 | 0 | 26 |
| CT+/GC- | 0 | **44** | 0 | 1 | 45 |
| CT-/GC+ | 0 | 0 | **24** | 0 | 24 |
| CT-/GC- | 0 | 1 | 1 | **73** | 75 |
| Total | 26 | 45 | 25 | 74 | 170 |
| Concordância percentual (IC de 95%) | 100% (86,8-100) | 97,8% (88,2-99,9) | 96,0% (79,6-99,9) | 98,6% (92,7-100) | N/A |
| Concordância percentual global (IC de 95%): 98,2% (94,9-99,6) | | | | | |

+ denota Positivo, - denota Negativo, N/A = não aplicável.

*Tabela 20: Estudo de Concordância de Painel Clínico CT/GC: A Concordância com Resultados Esperados de CT e GC para Painéis de Esfregaço Endocervical, Esfregaço da Uretra Masculina, e de Urina Feminina e Masculina*

| Membro do Painel CT/GC | Concentração do membro do painel[1] | | Réplicas | CT | | GC | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | CT IFU/mL | GC CFU/mL | | TIGRIS %Concd | DTS %Concd | TIGRIS %Concd | DTS %Concd |
| Baixa/Baixa | 2,5 | 125 | 20 | 100 | 100 | 100 | 100 |
| Baixa/Alta | 2,5 | 125.000 | 20 | 100 | 95[3] | 100 | 100 |
| Alta/Baixa | 2.500 | 125 | 20 | 100 | 100 | 100 | 100 |
| Alta/Alta | 2.500 | 125.000 | 20 | 100 | 100 | 100 | 100 |
| Demasiado Baixa/ Neg | 0,25[2] | 0 | 20 | 85[4] | 100 | 100 | 100 |
| Baixa/Neg | 2,5 | 0 | 20 | 100 | 100 | 100 | 100 |
| Média/Neg | 25 | 0 | 20 | 100 | 100 | 100 | 100 |
| Alta/Neg | 2.500 | 0 | 20 | 100 | 100 | 100 | 100 |
| Neg/Demasiado Baixa | 0 | 12,5 | 20 | 100 | 100 | 100 | 100 |
| Neg/Baixa | 0 | 125 | 20 | 100 | 100 | 100 | 100 |
| Neg/Média | 0 | 1.250 | 19 | 100 | 100 | 100 | 100 |
| Neg/Alta | 0 | 125.000 | 20 | 100 | 100 | 100 | 100 |
| Neg/Neg | 0 | 0 | 20 | 100 | 100 | 100 | 100 |
| Concordância percentual global entre TIGRIS e DTS (IC de 95%): 99,3% (98,3-99,8) | | | | | | | |

IFU = unidades formadoras de inclusões, CFU = unidades formadoras de colónias, TIGRIS%Concd = concordância entre Sistema TIGRIS DTS e os resultados esperados, DTS%Concd = concordância entre Sistemas DTS e resultados esperados.

[1]Um tubo de colheita contém aproximadamente 2,9 mL de meio de transporte para esfregaços e 4,0 mL de mistura meio de transporte/urina para espécimes de urina.

[2]A concentração de CT neste membro do painel clínico CT/GC está uma ordem de grandeza abaixo da sensibilidade analítica indicada para o ensaio APTIMA COMBO 2, que é de 1 IFU/ensaio (7,25 IFU/esfregaço, 5 IFU/mL de urina).

[3]Um de cinco replicados do painel de urina feminina foi CT- nos Sistemas DTS.

[4]Três de 5 replicados do painel de urina feminina foram CT- no Sistema TIGRIS DTS.

*Tabela 21: Estudo de concordância do painel clínico de CT/GC: Resultados de CT para esfregaços endocervicais, esfregaços uretrais masculinos e painéis de urina de ambos os sexos*

| Espécime | N | DTS+ TIGRIS+ N | DTS+ TIGRIS- N | DTS- TIGRIS+ N | DTS- TIGRIS- N | Concordância positiva (IC de 95%) | Concordância negativa (IC de 95%) |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Esfregaço | 129 | 80 | 0 | 0 | 49 | 100 (95,5-100) | 100 (92,7-100) |
| Urina | 130 | 76 | 3[1] | 1[2] | 50 | 96,2 (89,3-99,2) | 98,0 (89,6-100) |

+ denota Positivo,- denota Negativo, IC = intervalo de confiança.

[1] Três de cinco replicados do painel de urina feminina, que estavam uma ordem de grandeza abaixo da sensibilidade analítica indicada para o ensaio APTIMA COMBO 2, que é de 1 IFU/ensaio para CT, foram CT- no Sistema TIGRIS DTS.

[2] Um de cinco replicados do painel de urina feminina foi CT- nos Sistemas DTS.

*Tabela 22: Estudo de concordância do painel clínico de CT/GC: Resultados de GC para esfregaços endocervicais, esfregaços uretrais masculinos e painéis de urina de ambos os sexos*

| Espécime | N | DTS+ TIGRIS+ N | DTS+ TIGRIS- N | DTS- TIGRIS+ N | DTS- TIGRIS- N | Concordância positiva (IC de 95%) | Concordância negativa (IC de 95%) |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Esfregaço | 129 | 79 | 0 | 0 | 50 | 100 (95,4-100) | 100 (92,9-100) |
| Urina | 130 | 80 | 0 | 0 | 50 | 100 (95,5-100) | 100 (92,9-100) |

+ denota Positivo, - denota Negativo, IC = Intervalo de confiança, TIGRIS = Sistema TIGRIS DTS.

## Estudo de Precisão

A precisão do Sistema TIGRIS DTS (ou seja, sua reprodutibilidade) foi avaliada num local clínico externo e na Gen-Probe. A precisão do ensaio APTIMA COMBO 2 foi avaliada entre três Sistemas TIGRIS DTS, dois locais de estudo, dois lotes de kits de ensaio APTIMA COMBO 2 e quatro operadores. A Tabela 23 apresenta os dados de precisão de RLU em termos de média, desvio padrão, coeficiente de variação (CV) e concordância percentual com os resultados esperados para cálculos de variabilidade entre locais, entre operadores, entre lotes, entre testes e intrateste.

No local externo, dois operadores executaram três listas de trabalho (ou seja, testes) por lote de kit de ensaio APTIMA COMBO 2 num Sistema TIGRIS DTS, completando um total de 6 listas de trabalho cada. Na Gen-Probe, dois operadores executaram três listas de trabalho por lote de kit de ensaio APTIMA COMBO 2 em cada um de dois Sistemas TIGRIS DTS, completando um total de 12 listas de trabalho cada. Assim, um total de 36 listas de trabalho foi concluído de forma geral. Cada lista de trabalho foi composta de seis painéis de precisão idênticos com 12 membros, contendo entre 0 e 2.000 fg/ensaio de rRNA CT e/ou entre 0 e 2.433 fg/ensaio de rRNA GC. Cada lista de trabalho foi composta de seis painéis de precisão idênticos com 12 membros, contendo entre 0 e 2.000 fg/ensaio de rRNA CT e/ou entre 0 e 5.000 fg/ensaio de rRNA GC. Os membros do painel contendo CT ou GC foram divididos em categorias de concentração de CT baixa (5 ou 100 fg/ensaio), intermédia (1.000 fg/ensaio), ou elevada (≥ 2.000 fg/ensaio) e em categorias de concentração de GC baixa (≤ 250 fg/ensaio), intermédia (aprox. 2.400 fg/ensaio) ou elevada (5.000 fg/ensaio). A reprodutibilidade foi estabelecida ao misturar o meio de transporte do esfregaço com o rRNA. A reprodutibilidade ao testar os espécimes de esfregaços contendo o organismo alvo não foi determinada. A precisão foi calculada de acordo com as Orientações EP5-A do NCCLS (22).

*Tabela 23: Dados de Precisão do Sistema TIGRIS DTS*

| Conc. | | | Média de RLU | | Intrateste | | Entre Locais | | Entre Lotes | | Entre Operadores | | Entre Testes | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| CT | GC | N | (x1.000) | % Concd | DP (RLU x1.000) | CV (%) | DP (RLU x1.000) | CV (%) | DP (RLU x1.000) | CV (%) | DP (RLU x1.000) | CV (%) | DP (RLU x1.000) | CV (%) |
| Neg | Neg | 647 | 4 | 100 | 1,25 | 26,2 | 0,66 | 13,9 | 0,05 | 1,0 | 0,08 | 1,7 | 0,30 | 6,4 |
| Neg | High | 215 | 1.216 | 100 | 28,5 | 2,3 | 61,2 | 5,0 | 10,0 | 0,8 | 0 | 0 | 17,1 | 1,4 |
| High | Neg | 216 | 1.266 | 100 | 38,8 | 3,0 | 0 | 0 | 93,1 | 7,3 | 40,8 | 3,2 | 40,4 | 3,1 |
| High | High | 210 | 2.445 | 100 | 54,2 | 2,2 | 40,0 | 1,6 | 110,3 | 4,5 | 28,4 | 1,1 | 52,3 | 2,1 |
| Neg | Baixa[1] | 217 | 1.132 | 100 | 30,3 | 2,6 | 61,0 | 5,3 | 0 | 0,0 | 20,7 | 1,8 | 18,5 | 1,6 |
| Baixa[1] | Neg | 214 | 1.053 | 100 | 72,8 | 6,9 | 1,5 | 0,1 | 73,8 | 7,0 | 28,5 | 2,7 | 26,9 | 2,5 |
| Meio | Meio | 214 | 2.429 | 100 | 48,8 | 2,0 | 40,0 | 1,6 | 101,1 | 4,1 | 0 | 0 | 52,9 | 2,1 |
| Baixa[1] | Baixa[1] | 216 | 2.112 | 99,5 | 112,3 | 5,3 | 84,1 | 3,9 | 33,2 | 1,5 | 34,2 | 1,6 | 52,9 | 2,5 |
| Baixa[1] | High | 216 | 2.282 | 100 | 77,3 | 3,3 | 97,8 | 4,2 | 59,3 | 2,6 | 0 | 0 | 41,7 | 1,8 |
| High | Baixa[1] | 215 | 2.318 | 100 | 61,1 | 2,6 | 50,7 | 2,1 | 86,2 | 3,7 | 4,6 | 0,2 | 42,4 | 1,8 |

DP = desvio padrão, %CV = coeficiente de variação em percentagem, %Concd = concordância percentual, Conc. = concentração.

Nota: A variabilidade de alguns factores pode ser numericamente negativa, o que pode ocorrer se a variabilidade devida a esses factores for muito pequena. Quando isso ocorre, a variabilidade conforme medida com o desvio padrão e %CV é definida como 0. Consulte as Orientações EP5-A aprovadas pelo NCCLS (22).

[1]Os membros do painel de concentração mais baixa foram misturados às sensibilidades analíticas indicadas para o ensaio (5 fg CT rRNA/ensaio, 250 fg GC rRNA/ensaio ou ambas para membros do painel duplamente positivos). Para CT, o nível de alvo testado é o equivalente a aproximadamente 36 fg/esfregaço e 25 fg/mL urina. Relativamente a GC, o nível alvo testado é o equivalente a aproximadamente 1.800 fg/esfregaço e 1.250 fg/mL urina. Com base no tamanho do genoma e na razão DNA:RNA/célula estimada para cada organismo, 5 fg equivalem a 1 IFU de CT e 250 fg equivalem a 50 células de GC.

# Desempenho analítico no Sistema TIGRIS DTS

Consulte *Desempenho analítico no Sistema PANTHER* para obter o desempenho analítico específico do Sistema PANTHER.

## Estudo de Equivalência de Sensibilidade Analítica

Foram testadas diluições de três serovares de CT (E, F, G) associados a doenças urogenitais em três instrumentos de Sistemas TIGRIS DTS e, em paralelo, nos Sistemas DTS. Os serovares CT foram diluídos em meios de transporte de esfregaços e um conjunto de espécime de urina processada. As concentrações variam de 3 Unidades de Formação de Inclusão (IFU) por ensaio a 0,1 IFU por ensaio, que é uma ordem de grandeza abaixo da sensibilidade analítica proposta para o ensaio do IFU por ensaio (7,25 IFU/esfregaço, 5 IFU/mL de urina). A positividade percentual entre o Sistema TIGRIS DTS e os Sistemas DTS foi equivalente a uma confiança de 95% para todos os três serovares até ao limite de detecção analítica indicado. Diluições abaixo do nível também tiveram resultado positivo em ambas as plataformas. De maneira geral, demonstrou-se que a sensibilidade era comparável a um nível de detecção de um IFU por ensaio entre o Sistema TIGRIS DTS e os Sistemas DTS.

Um painel de sensibilidade num conjunto de espécime vaginal e um painel de sensibilidade em conjunto de espécimes citológicos em base líquida PreservCyt pós-processada foram preparados em CT 5 fg rRNA e testaram 60 replicados no Sistema TIGRIS DTS. A percentagem de positividade (IC de 95%) no Sistema TIGRIS DTS para esfregaços vaginais foi de 100% (95,1–100) e a de espécimes citológicos em base líquida PreservCyt pós-processados foi de 100% (95,1–100).

Foram testadas diluições de três isolados clínicos de GC em três instrumentos de Sistemas TIGRIS DTS e, em paralelo, nos Sistemas DTS. Os isolados GC foram diluídos em meios de transporte de esfregaços e um conjunto de espécime de urina processada. As concentrações variam de 150 células por ensaio a 5 células por ensaio, que é uma ordem de grandeza abaixo da proposta de sensibilidade analítica para o ensaio de 50 células/ensaio (362 células/esfregaço, 250 células/mL de urina). A positividade percentual entre o Sistema TIGRIS DTS e os Sistemas DTS foi equivalente a uma confiança de 95% para todos os três isolados até ao limite de detecção analítica indicado. Diluições abaixo do nível também tiveram resultado positivo em ambas as plataformas. De maneira geral, demonstrou-se que a sensibilidade era comparável a um nível de detecção de 50 células por ensaio entre o Sistema TIGRIS DTS e os Sistemas DTS.

Um painel de sensibilidade num conjunto de espécime vaginal e um painel de sensibilidade em conjunto de espécimes citológicos em base líquida PreservCyt pós-processada foram preparados em GC 250 fg rRNA e testaram 60 replicados no Sistema TIGRIS DTS. A percentagem de positividade (IC de 95%) no Sistema TIGRIS DTS para esfregaços vaginais foi de 100% (95,1–100) e a de espécimes citológicos em base líquida PreservCyt pós-processados foi de 100% (95,1–100).

## Estudo de painel clínico de CT/GC misturado com rRNA — esfregaços vaginais e espécimes citológicos em base líquida PreservCyt

O estudo clínico do painel de CT/GC misturado com rRNAavaliou a concordância entre os dois sistemas com a utilização de dois painéis clínicos misturados de CT/GC preparados pela Gen-Probe com 0 a 5.000 fg rRNA/ensaio de CT e/ou 0 a 250.000 fg rRNA/ensaio de GC. Os painéis clínicos de CT/GC foram criados a partir de esfregaços vaginais e espécimes citológicos em base líquida PreservCyt colhidos de 309 mulheres cujos

espécimes apresentavam resultados negativos no ensaio APTIMA COMBO 2 nos Sistemas DTS, quando testados na Gen-Probe. Os espécimes negativos foram agrupados por tipo de espécime, misturados ou não com rRNA CT e/ou GC, e aliquotados como replicados para cada membro do painel. Os replicados de cada um dos 13 membros do painel com diferentes níveis misturados de rRNA foram combinados para criar um painel clínico para cada tipo de espécime. Cada painel continha um total de 132 replicados.

Um replicado de esfregaço vaginal do membro do painel de concentração demasiado baixa de CT (0,05 fg rRNA/ensaio) apresentou um resultado dúbio de CT nos Sistemas DTS.

A Tabela 24 mostra as concordâncias percentuais para cada nível de rRNA nos esfregaços vaginais e nos espécimes citológicos em base líquida PreservCyt, respectivamente, com os resultados de CT e GC esperados para o Sistema TIGRIS DTS e para os Sistemas DTS. As concentrações abrangiam de 1 registo abaixo até 3 registos acima de 5 fg rRNA/ensaio para CT e 250 fg rRNA/ensaio para GC. A Tabela 24 indica também a concordância percentual global (99,2% para o painel de esfregaços vaginais e 100% para o painel de espécimes citológicos em base líquida PreservCyt).

*Tabela 24: Estudo de Concordância de Painel Clínico de CT/GC misturado com rRNA: Concordância com os Resultados Esperados de CT e GC para o Painel de Esfregaço Vaginal e Painel de espécimes citológicos em base líquida PreservCyt*

| Membro do Painel CT/GC | Concentração (fg rRNA/ensaio) | | Réplicas | Painel de Esfregaço Vaginal | | | | Painel de espécimes citológicos em base líquida PreservCyt | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | | CT | | GC | | CT | | GC | |
| | CT | GC | | TIGRIS %Concd | DTS %Concd | TIGRIS %Concd | DTS %Concd | TIGRIS %Concd | DTS %Concd | TIGRIS %Concd | DTS %Concd |
| Baixa/Baixa | 5 | 250 | 10 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 |
| Baixa/Alta | 5 | 250.000 | 10 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 |
| Alta/Baixa | 5.000 | 250 | 10 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 |
| Alta/Alta | 5.000 | 250.000 | 10 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 |
| Demasiado Baixa/Neg | 0,5 | 0 | 10 | 100 | 88,9[1] | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 |
| Baixa/Neg | 5 | 0 | 10 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 |
| Média/Neg | 50 | 0 | 10 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 |
| Alta/Neg | 5.000 | 0 | 10 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 |
| Neg/ Demasiado Baixa | 0 | 25 | 10 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 |
| Neg/Baixa | 0 | 250 | 10 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 |
| Neg/Média | 0 | 2.500 | 10 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 |
| Neg/Alta | 0 | 250.000 | 10 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 |
| Neg/Neg | 0 | 0 | 12 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 |
| | | | | Concordância percentual global entre TIGRIS e DTS (IC de 95%): 99,2% (95,8–100) | | | | Concordância percentual global entre TIGRIS e DTS (IC de 95%): 100% (97,2–100) | | | |

DTS%Concd = concordância entre Sistemas DTS e resultados esperados, TIGRIS%Concd = concordância entre Sistema TIGRIS DTS e os resultados esperados.

[1] 1/10 replicados apresentou resultados equívocos para CT nos Sistemas DTS e foi excluído desta análise. 8/9 apresentaram concordância com os resultados esperados. 1/9 apresentou resultado CT- nos Sistemas DTS. A concentração CT deste membro do painel é uma ordem de grandeza inferior a 5 fg rRNA/ensaio.

## Estudo de Equivalência de Especificidade Analítica

Para um ensaio de amplificação do ácido nucleico, a especificidade analítica a respeito dos organismos individuais é grandemente determinada mais pela química do ensaio (ex.: sequências oligonucletídeas) do que pela plataforma. Dado que os reagentes para o ensaio APTIMA COMBO 2 são idênticos entre o Sistema TIGRIS DTS e os Sistemas DTS, foram concebidas experiências de especificidade analítica no Sistema TIGRIS DTS dedicadas aos isolados de culturas mais complicados. Estes organismos incluíram aqueles conhecidos por efectuarem reacção cruzada em outros ensaios de amplificação. Foram seleccionados 24 isolados de culturas do painel de organismos da Tabela 15, incluindo 3 organismos mais intimamente relacionados com CT e 17 organismos que apresentam uma relação mais próxima com GC. Todos os organismos testados produziram resultados negativos no Sistema TIGRIS DTS.

## Estudos de Equivalência de Substâncias Interferentes

Sangue comummente encontrado em espécimes urogenitais pode interferir em alguns ensaios de amplificação. Sangue total foi usado para estabelecer o nível de interferência do sangue no Sistema TIGRIS DTS e a equivalência entre o Sistema TIGRIS DTS e os Sistemas DTS a respeito deste interferente potencial. Sangue fresco foi adicionado ao esfregaço clínico, esfregaço vaginal, espécimes citológicos em base líquida PreservCyt pós-processados, e conjuntos de espécimes de urina, e então testado para interferência potencial no ensaio na ausência e na presença de alvo CT e GC. O rRNA equivalente estimado de um CT IFU/ensaio (5 fg/ensaio) e 50 GC células/ensaio (250 fg/ensaio) foi usado, pois estes representam a sensibilidade analítica do ensaio. Os equivalentes rRNA foram calculados com base no tamanho do genoma e a taxa estimada média/célula DNA:RNA de cada organismo. Os espécimes foram testados em dois Sistemas TIGRIS DTS. Todas as amostras contendo ácido nucleico alvo resultaram positivas quando testadas a um nível de 10% (vol/vol) de sangue em espécimes de esfregaço, espécimes de esfregaço vaginal, espécimes citológicos em base líquida PreservCyt pós-processada, e 30% (vol/vol) de sangue em espécimes de urina. Todas as amostras que não continham alvo foram identificadas correctamente como negativas tanto para CT quanto para GC. Estes resultados foram idênticos àqueles demonstrados para os Sistemas DTS quando misturados com as mesmas quantidades de sangue.

O sangue adicionado ao esfregaço, esfregaço vaginal, espécimes citológicos em base líquida PreservCyt, e espécimes de urina a níveis demasiado maiores do que os esperados com colheita normal de espécimes não interferiu com resultados no Sistema TIGRIS DTS.

## Estudos de transmissão com o Sistema TIGRIS DTS

Para estabelecer que o Sistema TIGRIS DTS minimiza o risco de resultados positivos falsos causados por contaminação da transmissão, foi feito um estudo analítico de múltiplos dias utilizando painéis misturados em três Sistemas TIGRIS DTS. O estudo utilizou 20% de amostras GC de alvo alto contendo 1,0 x $10^9$ células/reacção, que foram aleatoriamente espaçadas entre 80% de amostras negativas contendo meio de transporte de esfregaço. Durante o estudo, 1.372 amostras de alvo alto e 5.516 amostras negativas foram testadas nos três Sistemas TIGRIS DTS. A média geral de transmissão, incluindo tanto positivos falsos como resultados dúbios, foi de 0,3% (18/5.491). Um total de 25 amostras negativas foi verificado como inválido e excluído do cálculo. Uma análise separada foi executada numa divisão da população do estudo composta das amostras negativas que imediatamente seguiram um alvo alto positivo. A média de transmissão para esta divisão da população, incluindo tanto falsos negativos como resultados dúbios, foi de 1,1% (12/1.097). Para falsos positivos nesta divisão, a média de transmissão variou de 0% a 1,1% nos três Sistemas TIGRIS DTS. Para dúbios nesta divisão, a média de transmissão variou de 0% a 0,9% nos três Sistemas TIGRIS DTS. Estes resultados demonstram que a contaminação de transmissões é minimizada no Sistema TIGRIS DTS.

# Desempenho analítico no Sistema PANTHER

## Estudo de concordância do painel clínico misturado

Espécimes de urina negativos individuais foram misturados com o serovar G de CT, GC ou com uma combinação de CT e GC para criar um painel de 120 positivos para CT, 120 positivos para GC e 120 membros do painel positivos duplos. Os membros do painel positivos para CT foram misturados com organismos a 0,25 IFU/mL, 2,5 IFU/mL ou 25 IFU/mL (0,5 fg/ensaio, 5 fg/ensaio ou 50 fg/ensaio). Os membros do painel positivos para GC foram misturados com organismos a 12,5 CFU/mL, 125 CFU/mL ou 1.250 CFU/mL (25 fg/ensaio, 250 fg/ensaio ou 2.500 fg/ensaio). Os positivos duplos foram misturados com organismos CT a 2,5 IFU/mL (5 fg/ensaio) e organismos GC a 2.500.000 CFU/mL (5.000.000 fg/ensaio) ou CT a 25 IFU/mL (50 fg/ensaio) e GC a 1.250 CFU/mL (2.500 fg/ensaio) ou CT a 25.000 IFU/mL (50.000 fg/ensaio) e GC a 125 CFU/mL (250 fg/ensaio) ou CT a 2,5 IFU/mL (5 fg/ensaio) e GC a 125 CFU/mL (250 fg/ensaio). Além disso, foram colhidos 120 espécimes de urina negativos para CT e GC. Os painéis positivos e negativos foram testados em três Sistemas PANTHER e em três Sistemas TIGRIS DTS. A concordância percentual positiva entre o Sistema PANTHER e o Sistema TIGRIS DTS foi de 100%, com um intervalo de confiança inferior a 95%, de 99,5 para CT e GC. A concordância percentual negativa entre o Sistema PANTHER e o Sistema TIGRIS DTS foi de 99,9%, com um intervalo de confiança inferior a 95%, de 99,5. Os resultados do estudo são apresentados na Tabela 25.

*Tabela 25: Estudo de concordância do painel clínico misturado: Concordância com os resultados esperados para CT e GC*

| Membro do Painel | Concentração (IFU ou CFU/mL) | | Concentração (fg/ensaio) | | Réplicas | CT | | GC | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | CT | GC | CT | GC | | TIGRIS %Concd | PANTHER %Concd | TIGRIS %Concd | PANTHER %Concd |
| **Painéis CT/GC[1,2]** | | | | | | | | | |
| Baixa/Baixa | 2,5 | 125 | 5 | 250 | 90 | 100 | 100 | 100 | 100 |
| Med/Med | 25 | 1.250 | 50 | 2.500 | 90 | 100 | 100 | 100 | 100 |
| Baixa/Alta | 2,5 | 2.500.000 | 5 | 5.00.000 | 90 | 100 | 100 | 100 | 100 |
| Alta/Baixa | 25.000 | 125 | 50.000 | 250 | 90 | 100 | 100 | 100 | 100 |
| **Painéis GC[2,3]** | | | | | | | | | |
| Neg/Demasiado Baixa | 0 | 12,5 | 0 | 25 | 117* | 100 | 100 | 100 | 100 |
| Neg/Baixa | 0 | 125 | 0 | 250 | 120 | 100 | 100 | 100 | 100 |
| Neg/Média | 0 | 1.250 | 0 | 2.500 | 120 | 100 | 99,2 | 100 | 100 |
| **Painéis CT[1,3]** | | | | | | | | | |
| Demasiado Baixa/ Neg | 0,25 | 0 | 0,5 | 0 | 120 | 100 | 100 | 100 | 100 |
| Baixa/Neg | 2,5 | 0 | 5 | 0 | 120 | 100 | 100 | 100 | 100 |
| Média/Neg | 25 | 0 | 50 | 0 | 120 | 100 | 100 | 100 | 100 |
| **Painéis negativos[3]** | | | | | | | | | |
| Neg/Neg | 0 | 0 | 0 | 0 | 360 | 100 | 100 | 99,7 | 99,7 |

*Um membro do painel foi incorrectamente preparado, tendo sido excluído da análise.

[1]Concordância percentual geral de positivos para CT entre Sistema TIGRIS DTS e Sistema PANTHER (IC de 95%): 100% (99,5–100).

[2]Concordância percentual geral de positivos para GC entre Sistema TIGRIS DTS e Sistema PANTHER (IC de 95%): 100% (99,5–100).

[3]Concordância percentual geral de negativos entre Sistema TIGRIS DTS e Sistema PANTHER (IC de 95%): 99,9% (99,5–100).

## Estudo de sensibilidade analítica

A sensibilidade analítica do ensaio APTIMA COMBO 2 foi testada utilizando três matrizes de amostras representativas. Estas foram urina processada com meio de transporte para urina (Urine Transport Medium, UTM), espécimes citológicos em base líquida PreservCyt diluída com meio de transporte para esfregaços (Swab Transport Medium, STM) e STM. Os rRNA de CT e GC foram misturados em conjuntos destas três matrizes nas seguintes concentrações, a concentrações equivalentes em RNA de 0,5 fg/ensaio, 5 fg/ensaio e 50 fg/ensaio (equivalentes em rRNA de 0,25 IFU/mL, 2,5 IFU/mL ou 25 IFU/mL) para CT ou 25 fg/ensaio, 250 fg/ensaio ou 2500 fg/ensaio para GC (equivalentes em rRNA de 12,5 CFU/mL, 125 CFU/mL ou 1.250 CFU/mL). Os equivalentes rRNA foram calculados com base no tamanho do genoma e a taxa estimada média/célula DNA:RNA de cada organismo. Estes painéis foram testados em três Sistemas PANTHER utilizando três lotes de reagentes em replicados de 96. A concordncia com os resultados esperados foi calculada. A concordância com os resultados esperados foi de 100% (IC de 95% 96,1–100%) para todos os painéis de urina, 100% (IC de 95% 96,0–100%) para todos os painéis de espécimes citológicos em base líquida PreservCyt e de 100% (Ic de 95% 96,1–100%) para todos os painéis de STM. A sensibilidade analítica do ensaio é de 2,5 IFU/mL para CT e 125 CFU/mL para GC.

## Estudo de reprodutibilidade

A precisão do ensaio APTIMA COMBO 2 foi avaliada entre três Sistemas PANTHER e três lotes de kits de ensaio APTIMA COMBO 2 durante um período de 24 dias. Os painéis foram efectuados misturando rRNA de CT e/ou GC em STM nas concentrações indicadas na Tabela 26. Os operadores realizaram dois testes por dia, analisando cada membro do painel em duplicado por teste. Foi calculada a concordância com o resultado esperado e a precisão foi estimada de acordo com as Orientações EP5-A2 do NCCLS (24). O número de replicados de cada painel foi de 96. A Tabela 26 apresenta os dados de precisão de RLU em termos de média, desvio padrão, coeficiente de variação (CV), concordância percentual com os resultados esperados e cálculos de variabilidade entre instrumentos, entre lotes, entre testes e intrateste, assim como a variabilidade total.

*Tabela 26: Precisão do Sistema PANTHER para o ensaio APTIMA COMBO 2*

| Matriz | CT (IFU/mL) | GC (CFU/mL) | N | Média de RLU (x1.000) | % Concd | Entre instrumentos | | Entre Lotes | | Entre Testes | | Intrateste | | Total | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | | | | DP (x1.000) | CV (%) | DP (x1.000) | CV (%) | DP (x1.000) | CV (%) | DP (x1.000) | CV (%) | DP (x1.000) | CV (%) |
| STM | 0 | 0 | 96 | 6 | 100 | 0,06 | 1 | 0,88 | 13,5 | 0 | 0 | 1,02 | 15,7 | 1,3 | 20,1 |
| | 0,25 | 0 | 95 | 1.226 | 100 | 70,03 | 5,7 | 20,03 | 1,6 | 8,43 | 0,7 | 47,05 | 3,8 | 87,1 | 7,1 |
| | 2,5 | 0 | 96 | 1.249 | 100 | 77,97 | 6,2 | 6,11 | 0,5 | 0 | 0 | 32,87 | 2,6 | 84,8 | 6,8 |
| | 25 | 0 | 95 | 1.268 | 100 | 72,85 | 5,7 | 15,3 | 1,2 | 0 | 0 | 39,58 | 3,1 | 84,3 | 6,6 |
| | 0 | 12,5 | 96 | 1.081 | 100 | 18,44 | 1,7 | 28,59 | 2,6 | 0 | 0 | 26,68 | 2,5 | 43,2 | 4 |
| | 0 | 125 | 96 | 1.266 | 100 | 29,81 | 2,4 | 0 | 0 | 8,86 | 0,7 | 27,58 | 2,2 | 41,6 | 3,3 |
| | 0 | 1.250 | 96 | 1.309 | 100 | 29,41 | 2,2 | 0 | 0 | 9,83 | 0,8 | 31,83 | 2,4 | 44,4 | 3,4 |
| | 2,5 | 125 | 96 | 2.456 | 100 | 86,58 | 3,5 | 0 | 0 | 0 | 0 | 52,99 | 2,2 | 101,5 | 4,1 |
| | 2,5 | 2.500 | 96 | 2.509 | 100 | 73,13 | 2,9 | 0 | 0 | 19,8 | 0,8 | 46,77 | 1,9 | 89 | 3,5 |
| | 1.000 | 2.500 | 96 | 2.496 | 100 | 31,72 | 1,3 | 6,14 | 0,2 | 0 | 0 | 193,66 | 7,8 | 196,3 | 7,9 |
| | 1.000 | 125 | 96 | 2.471 | 100 | 83,63 | 3,4 | 9,36 | 0,4 | 0 | 0 | 52,35 | 2,1 | 99,1 | 4 |
| Urina | 0 | 0 | 94 | 6 | 100 | 0,2 | 3,2 | 0,66 | 10,8 | 0,36 | 5,9 | 1 | 16,3 | 1,3 | 21,2 |
| | 0,25 | 0 | 95 | 863 | 100 | 70,73 | 8,2 | 165,65 | 19,2 | 47,97 | 5,6 | 132,27 | 15,3 | 228,6 | 26,5 |
| | 2,5 | 0 | 95 | 1.129 | 100 | 56,02 | 5 | 89,56 | 7,9 | 8,56 | 0,8 | 74,19 | 6,6 | 129,4 | 11,5 |
| | 25 | 0 | 96 | 1.246 | 100 | 60,45 | 4,9 | 13,97 | 1,1 | 13,36 | 1,1 | 43,03 | 3,5 | 76,7 | 6,2 |
| | 0 | 12,5 | 96 | 1.016 | 100 | 18,83 | 1,9 | 31,81 | 3,1 | 7,88 | 0,8 | 49,53 | 4,9 | 62,3 | 6,1 |
| | 0 | 125 | 96 | 1.209 | 100 | 49,32 | 4,1 | 23,5 | 1,9 | 1,68 | 0,1 | 40,28 | 3,3 | 67,9 | 5,6 |
| | 0 | 1.250 | 96 | 1.252 | 100 | 53,01 | 4,2 | 40,34 | 3,2 | 7,72 | 0,6 | 40,23 | 3,2 | 78,2 | 6,2 |
| | 2,5 | 125 | 95 | 2.290 | 100 | 73,92 | 3,2 | 40,88 | 1,8 | 10,43 | 0,5 | 56,12 | 2,5 | 101,9 | 4,4 |
| PreservCyt | 0 | 0 | 96 | 7 | 100 | 0 | 0 | 0,8 | 11,7 | 0 | 0 | 1,54 | 22,4 | 1,7 | 24,7 |
| | 0,25 | 0 | 96 | 1.113 | 100 | 92,29 | 8,3 | 30,08 | 2,7 | 0 | 0 | 63,57 | 5,7 | 116 | 10,4 |
| | 2,5 | 0 | 96 | 1.194 | 100 | 62,54 | 5,2 | 24,83 | 2,1 | 0 | 0 | 47,01 | 3,9 | 82,1 | 6,9 |
| | 25 | 0 | 95 | 1.222 | 100 | 65,14 | 5,3 | 26,36 | 2,2 | 14,67 | 1,2 | 34,97 | 2,9 | 79,8 | 6,5 |
| | 0 | 12,5 | 93 | 994 | 100 | 33,28 | 3,3 | 36,92 | 3,7 | 15,97 | 1,6 | 26,15 | 2,6 | 58,4 | 5,9 |
| | 0 | 125 | 95 | 1.189 | 100 | 40,1 | 3,4 | 4,45 | 0,4 | 10,87 | 0,9 | 21,44 | 1,8 | 47 | 4 |
| | 0 | 1.250 | 95 | 1.239 | 100 | 37,69 | 3 | 7,47 | 0,6 | 13,61 | 1,1 | 18,04 | 1,5 | 44,6 | 3,6 |
| | 2,5 | 125 | 95 | 2.333 | 100 | 99,68 | 4,3 | 35,27 | 1,5 | 12,61 | 0,5 | 48,86 | 2,1 | 117,2 | 5 |

**Nota:** A variabilidade de alguns factores pode ser numericamente negativa, o que pode ocorrer se a variabilidade devida a esses factores for muito pequena. Quando isto ocorre, DP=0 e CV=0%.

* Número total de replicados para cada painel = 96. Em testes seleccionados, não se voltou a testar replicados inválidos individuais.

## Especificidade Analítica

A especificidade analítica não foi testada no Sistema PANTHER. Consulte a secção *Desempenho analítico no Sistema TIGRIS DTS* para obter o *Estudo de Equivalência de Especificidade Analítica*.

## Estudos de Equivalência de Substâncias Interferentes

Sangue comummente encontrado em espécimes urogenitais pode interferir em alguns ensaios de amplificação. Foi utilizando sangue total para estabelecer o grau de interferência do sangue no Sistema PANTHER relativamente a este potencial interferente. Adicionou-se sangue fresco a conjuntos clínicos de esfregaços vaginais, espécimes citológicos em base líquida PreservCyt pós-processados ou espécimes de urina, que depois foram testados para detectar uma potencial interferência com o ensaio na presença e na ausência de alvos de CT e GC. Foram utilizados como concentrações alvo os equivalentes em rRNA de 1 CT IFU/ensaio (5 fg/ensaio) e 50 GC células/ensaio (250 fg/ensaio), pois estes representam a

sensibilidade analítica do ensaio. Os espécimes foram testados no Sistema PANTHER. Todas as amostras contendo ácidos nucleicos alvo foram positivas quando testadas a uma concentração de sangue de 10% (v/v) em esfregaços ou em espécimes citológicos em base líquida PreservCyt, ou de 30% (v/v) em espécimes de urina. Todas as amostras que não continham alvo foram identificadas correctamente como negativas tanto para CT quanto para GC. Estes resultados são idênticos aos demonstrados para o Sistema TIGRIS DTS quando misturados com quantidades de sangue semelhantes. O sangue adicionado a esfregaços, PreservCyt e espécimes de urina a concentrações muito superiores às que serão de esperar numa colheita normal de espécimes não interferiu com os resultados no Sistema PANTHER.

### Estudos de transmissão com o Sistema PANTHER

Para estabelecer que o Sistema PANTHER minimiza o risco de resultados positivos falsos causados por contaminação por transmissão, foi feito um estudo analítico de múltiplos testes utilizando painéis misturados em três Sistemas PANTHER. A transmissão foi avaliada utilizando aproximadamente 20% de amostras de GC de título elevado dispersas entre amostras negativas. Os testes incluíram agregados de amostras fortemente positivas com agregados de amostras negativas, assim como positivos fortes únicos dispersos segundo um padrão específico pelo teste. As amostras de título elevado foram preparadas utilizando rRNA de GC misturado em STM de forma a obter uma concentração final de 5 x $10^5$ fg rRNA/reacção (equivalente em rRNA de 2,5 x $10^5$ CFU/mL). As análises foram realizadas utilizando 5 testes em cada um dos três Sistemas PANTHER, num total de 2.936 amostras negativas. A taxa de transmissão global foi de 0%, com um intervalo de confiança de 95% de 0–0,1%. Quatro amostras negativas foram declaradas inválidas e excluídas dos cálculos.

## Bibliografia


1. **Beem, M. O., and E. M. Saxon**. 1977. Respiratory tract colonization and a distinctive pneumonia syndrome in infants infected with *Chlamydia trachomatis*. NEJM **296**:306-310.
2. **Buimer, M., G. J. J. Van Doornum, S. Ching, P. G. H. Peerbooms, P. K. Plier, D. Ram, and H. H. Lee**. 1996. Detection of *Chlamydia trachomatis* and *Neisseria gonorrhoeae* by Ligase chain reaction-based assays with clinical specimens from various sites: implications for diagnostic testing and screening. J. Clin. Microbiol. **34**:2395-2400.
3. **Cates, Jr., W., and J. N. Wasserheit**. 1991. Genital chlamydia infections: epidemiology and reproductive sequelae. Am. J. Obstet. Gynecol. **164**:1771-1781.
4. **Centers for Disease Control and Prevention.** 2002. Screening Tests to Detect *Chlamydia trachomatis* and *Neisseria gonorrhoeae* infections. United States Morbid. and Mortal. Weekly Rep. **51** (RR-15).
5. **Centers for Disease Control and Prevention.** 2011. *Sexually Transmitted Disease Surveillance 2010*. Atlanta, GA: U.S. Department of Health and Human Services. November.
6. **Chernesky, M. A., D. Jang, J. Sellors, K. Luinstra, S. Chong, S. Castriciano, and J. B. Mahony**. 1996. Urinary inhibitors of polymerase chain reaction and Ligase chain reaction and testing of multiple specimens may contribute to lower assay sensitivities for diagnosing *Chlamydia trachomatis* infected women. Mol. Cell. Probes. **11**:243-249.
7. **Ching, S., H. Lee, E. W. Hook, III, M. R. Jacobs, and J. Zenilman.** 1995. Ligase chain reaction for detection of *Neisseria gonorrhoeae* in urogenital swabs. J. Clin. Microbiol. **33**:3111-3114.
8. **Chong, S., D. Jang, X. Song, J. Mahony, A. Petrich, P. Barriga, and M. Chernesky.** 2003. Specimen processing and concentration of *Chlamydia trachomatis* added can influence false-negative rates in the LCx assay but not in the APTIMA COMBO 2 Assay when testing for inhibitors. J. Clin. Microbiol. **41**:778-782.
9. **Crotchfelt, K. A., B. Pare, C. Gaydos, and T. C. Quinn.** 1998. Detection of *Chlamydia trachomatis* by the Gen-Probe AMPLIFIED Chlamydia Trachomatis assay (AMP CT) in urine specimens from men and women and endocervical specimens from women. J. Clin. Microbiol. **36**:391-394.
10. **Farrel, D. J**. 1999. Evaluation of AMPLICOR *Neisseria gonorrhoeae* PCR using cppB nested PCR and 16S rRNA PCR. J. Clin. Microbiol. **37**:386-390.
11. **Frommell, G. T., R. Rothenberg, S. Wang, and K. McIntosh**. 1979. Chlamydial infection of mothers and their infants. Journal of Pediatrics **95**:28-32.
12. **Gaydos, C. A., T.C. Quinn, D. Willis, A. Weissfeld, E. W. Hook, D. H. Martin, D. V. Ferraro, and J. Schachter.** 2003. Performance of the APTIMA COMBO 2 Assay for detection of *Chlamydia trachomatis* and *Neisseria gonorrhoeae* in female urine and endocervical swab specimens. J. Clin. Microbiol. **41**:304-309.

13. **Goessens, W. H. F., J. W. Mouton, W. I. Van Der Meijden, S. Deelen, T. H. Van Rijsoort-Vos, N. L. Toom, H. Verbrugh, and R. P. Verkooyen.** 1997. Comparison of three commercially available amplification assays, AMP CT, LCx, and COBAS AMPLICOR, for detection of *Chlamydia trachomatis* in first-void urine. J. Clin. Microbiol. **35**:2628-2633.
14. **Holmes, K. K., G. W. Counts, and H. N. Beatz**. 1971. Disseminated Gonococcal infection. Ann. of Intern. Med. **74**:979-993.
15. **Holmes, K. K., H. H. Handsfield, S. P. Wang, B. B. Wentworth, M. Turck, J. B. Anderson, and E. R. Alexander**. 1975. Etiology of nongonococcal urethritis. NEJM **292**:1199-1205.
16. **Hook, E. W., III, and H. H. Handsfield.** 1999. Gonococcal infections in the adult. p. 458. *In* K. Holmes *et al.* (eds.) Sexually Transmitted Diseases. McGraw Hill, New York, NY.
17. **Jaschek, G., C. A. Gaydos, L. E. Welsh, and T. C. Quinn.** 1993. Direct detection of *Chlamydia trachomatis* in urine specimens from symptomatic and asymptomatic men by using a rapid polymerase chain reaction assay. J. Clin. Microbiol. **31**:1209-1212.
18. **Krauss, S. J., R. C. Geller, G. H. Perkins, and D. L. Rhoden.** 1976. Interference of *Neisseria gonorrhoeae* growth by other bacterial species. J. Clin. Microbiol. **4**:288-295.
19. **Mahony, J., S. Chong, D. Jang, K. Luinstra, M. Faught, D. Dalby, J. Sellors, and M. Chernesky**. 1998. Urine specimens from pregnant and nonpregnant women inhibitory to amplification of *Chlamydia trachomatis* nucleic acid by PCR, Ligase chain reaction, and transcription-mediated amplification: identification of urinary substances associated with inhibition and removal of inhibitory activity. J. Clin. Microbiol. **36**:3122-3126.
20. **Masi, A. T., and B. I. Eisenstein.** 1981. Disseminated Gonococcal Infections (DGI) and Gonococcal Arthritis (GCA): II Clinical Manifestations, Diagnosis, Complications, Treatment and Prevention. Semin. Arthritis Rheum. **10**:173.
21. **McCurdy, Brenda W.** 1997. Cumitech Guide on Verification and Validation of Procedures in the Microbiology Laboratory. February, 1997, American Society for Microbiology. ASM Press.
22. **National Committee for Clinical Laboratory Standards**. 1999. NCCLS EP5-A: Evaluation of Precision Performance of Clinical Chemistry Devices; Approved Guideline (Vol. 19, No. 2).
23. **National Committee for Clinical Laboratory Standards.** 2002. User Protocol for Evaluation of Qualitative Test Performance: Approved Guideline for additional Guidance on Appropriate Internal Quality Control Testing Practices.
24. **National Committee for Clinical Laboratory Standards**. 2004. NCCLS EP5-A2: Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods: Approved Guideline (2nd edition, Vol. 24, No. 25).
25. **Peterson E. M., V. Darrow, J. Blanding, S. Aarnaes, and L. M. de La Maza.** 1997. Reproducibility problems with the AMPLICOR PCR *Chlamydia trachomatis* test, J. Clin. Microbiol. **35**:957-959.
26. **Schachter, J.** 1985. Chlamydiae (Psittacosis-Lymphogranuloma Venereum-Trachoma group), p. 856-862. *In* E. H. Lennette, et al. (ed.), Manual of Clinical Microbiology, 4th ed. American Society for Microbiology, Washington, D.C.
27. **Schachter, J., and M. Grossman.** 1981. Chlamydial infections. Ann. Rev. Med. **32**:45-61.
28. **Schachter, J.** 1978. Medical progress: chlamydial infections (third of three parts). NEJM **298**:540-549.
29. **Schachter, J., E. C. Hill, E. B. King, V. R. Coleman, P. Jones, and K. F. Meyer.** 1975. Chlamydial infection in women with cervical dysplasia. Am. J. Obstet. Gynecol. **123**:753-757.
30. **Stary, A., E. Schuh, M. Kerschbaumer, B. Gotz, and H. Lee**. 1998. Performance of transcription-mediated amplification and Ligase chain reaction assays for detection of chlamydial infection in urogenital samples obtained by invasive and noninvasive methods. J. Clin. Microbiol. **36**:2666-2670.
31. **Toye, B., W. Woods, M. Bobrowska, and K. Ramotar.** 1998. Inhibition of PCR in genital and urine specimens submitted for *Chlamydia trachomatis* testing. J. Clin. Microbiol. **36**:2356-2358.
32. **Verkooyen, R. P., A. Luijendijk, W. M. Huisman, W. H. F. Goessens, J. A. J. W. Kluytmans, J. H. Rijsoort-Vos, and H. A. Verbrugh.** 1996. Detection of PCR inhibitors in cervical specimens by using the AMPLICOR *Chlamydia trachomatis* assay. J. Clin. Microbiol. **34**:3072-3074.
33. **Vincelette, J., J. Schirm, M. Bogard, A. Bourgault, D. Luijt, A. Bianchi, P. C. Van Voorst Vader, A. Butcher, and M. Rosenstraus.** 1999. Multicenter evaluation of the fully automated COBAS AMPLICOR PCR test for detection of *Chlamydia trachomatis* in urogenital specimens. J. Clin. Microbiol. **3**:74-80.
34. **Yuan, Y., Y-X. Zhang, N. G. Watkins, and H. D. Caldwell.** 1989. Nucleotide and deduced amino acid sequences for the four variable domains of the major outer membrane proteins of the 15 *Chlamydia trachomatis* serovars. Infect. Immun. **57**:1040-1049.

Gen-Probe Incorporated
San Diego, CA 92121 EUA
Informações para contacto nos EUA e a nível internacional
Assistência ao cliente: +1 858 410 8002
customerservice@gen-probe.com
Assistência técnica: +1 858 410 8511
technicalsupport@gen-probe.com
Número de telefone gratuito nos EUA e Canadá:
Assistência ao cliente: +1 800 523 5001
Assistência técnica: +1 888 484 4747
www.gen-probe.com

EMERGO EUROPE
Molenstraat 15
2513 BH, Haia
Países Baixos

GEN-PROBE, GEN-PROBE e desenho, APTIMA, APTIMA e desenho, APTIMA COMBO 2, DTS, LEADER, PACE, PANTHER, SB100, e TIGRIS são marcas comerciais da Gen-Probe Incorporated.

eppendorf (estilizado) e REPEATER são marcas comerciais da Eppendorf AG.

PRESERVCYT e THINPREP são marcas comerciais da Hologic, Inc.

TECAN e FREEDOM EVO são marcas comerciais da Tecan Group AG.

Qualquer outra marca que apareça neste documento pertence a seu respectivo proprietário.

© 2001-2013 Gen-Probe Incorporated

502183PT Rev. C

2013-04