

Cervista™ HPV HR

Cervista® HPV HR

REF 92-011, PRD-01560

APLICAÇÃO

O teste Cervista® HPV HR destina-se a duas aplicações:

- 1) Em combinação com o rastreio citológico cervical para mulheres com idade igual ou superior a 30 anos para orientação do tratamento a administrar à paciente.
- 2) Para efectuar a triagem de pacientes com resultados de testes de Papanicolau de células escamosas atípicas de significado indeterminado (ASC-US) para determinar a necessidade de recurso a colposcopia.

IVD

92-011-



-30 °C  -15 °C

PRD-01560-



EC REP

Hologic UK Ltd.
Link 10, Napier Way,
Crawley, West Sussex
RH10 9RA UK
+44 (0) 1293 522080

Não armazene num congelador com a função “frost-free”.

Proteja da luz.

APENAS PARA EXPORTAÇÃO. NÃO SE DESTINA A SER COMERCIALIZADO NOS ESTADOS UNIDOS DA AMÉRICA OU NO CANADÁ.

ÍNDICE

ABREVIATURAS UTILIZADAS
SÍMBOLOS HARMONIZADOS UTILIZADOS
RESUMO E EXPLICAÇÃO DO TESTE
PRINCÍPIOS DO PROCEDIMENTO
REAGENTES FORNECIDOS
ADVERTÊNCIAS E PRECAUÇÕES
REQUISITOS DE ARMAZENAMENTO E DE MANUSEAMENTO
REAGENTES E MATERIAIS ADICIONAIS
MATERIAIS NECESSÁRIOS MAS NÃO FORNECIDOS

COLHEITA DE AMOSTRAS, EXTRACÇÃO DE ADN E CONSERVAÇÃO PARA ANÁLISE
PROCEDIMENTO DE TESTE
NOTAS SOBRE O PROCEDIMENTO
INTERPRETAÇÃO DOS RESULTADOS
CONTROLO DE QUALIDADE
LIMITAÇÕES
PARTICULARIDADES DO DESEMPENHO
BIBLIOGRAFIA
GUIA DE DETECÇÃO E RESOLUÇÃO DE PROBLEMAS

ABREVIATURAS UTILIZADAS

ASC-US:	Células escamosas atípicas de significado indeterminado
CIN:	Neoplasia intra-epitelial cervical
ADN:	Ácido desoxirribonucleico
FAM:	Corante de carboxifluoresceína
FRET:	Transferência de energia de ressonância por fluorescência
FOZ:	<i>Fold-over-zero</i> (amostra ou sinal de controlo dividido pelo sinal <i>No Target Control</i>)
ADNg:	ADN genómico
HIST2H2BE:	Gene de histona 2 humano, gene H2be
HPV:	Papilomavírus humano
HR:	Alto risco
Máx:	Máximo
Mín:	Mínimo
MTA:	Automatização de débito médio
NTC:	<i>No Target Control</i>
Oligo:	Oligonucleótido
Pap:	Teste citológico cervical de Papanicolau
Red:	Corante vermelho Redmond
RFU:	Unidade de fluorescência relativa

RESUMO E EXPLICAÇÃO DO TESTE

Todos os anos, prevêem-se nos EUA aproximadamente 11 000 casos novos de cancro cervical invasivo e mais de 3500 mortes.¹ Para a fase mais incipiente de cancro cervical, a taxa de sobrevivência relativa de 5 anos é de 92% e, para todos os estádios do cancro cervical, a taxa de sobrevivência relativa de 5 anos é de cerca de 72%.¹ O cancro cervical resulta de uma infecção persistente pelo papilomavírus humano (HPV).² Demonstrou-se que o cancro cervical é altamente susceptível de ser evitado quando são utilizados programas de rastreio do HPV e citológicos para facilitar a detecção e tratamento de lesões pré-cancerosas.

A literatura documenta mais de 100 tipos de HPV, dos quais aproximadamente 40 infectam a área anogenital e são sexualmente transmissíveis. Dos tipos de HPV sexualmente transmissíveis, 14 genótipos oncogénicos (HPV16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66 e 68), referidos como tipos de alto risco (HR – High-Risk), são actualmente reconhecidos como a causa de praticamente todos os cancros cervicais.^{1,2} A presença de ADN de HPV de alto risco, em conjunto com um resultado citológico equívoco ou ambíguo (ASC-US) coloca uma mulher em risco acrescido de sofrer de neoplasia intra-epitelial cervical subjacente 2 ou 3 (CIN 2 ou CIN 3).^{4,6,7} A CIN 3, embora ocorra em aproximadamente apenas 5% dos casos de ASC-US,⁵ é um precursor imediato do cancro cervical e, consequentemente, a respectiva detecção é muito importante para determinar o tratamento da paciente.² Por isso, a identificação das mulheres que apresentam uma citologia ASC-US em conjunto com uma infecção por HPV de alto risco é uma ajuda valiosa para que os médicos decidam quem deverá ser monitorizado ou tratado de forma mais agressiva.^{2,4,8,9}

Desde o início de 2002, vários grupos de profissionais de saúde dos EUA publicaram directrizes para o tratamento de pacientes, nas quais é recomendada a forma como deve ser realizado o rastreio de cancro cervical nas mulheres de acordo com a idade, a presença de anomalias citológicas numa amostra de teste de Papanicolau e outros factores.^{6,10,11} Estas directrizes para o tratamento de pacientes recomendam que seja testada a presença de tipos de HPV de alto risco como ferramenta de rastreio regular, em conjunto com a citologia, em casos específicos. As principais recomendações das directrizes de prática profissional mais recentes, as *2006 Consensus Guidelines for the Management of Women with Abnormal Cervical Cancer Screening Tests* (Directrizes consensuais de 2006 para o tratamento de mulheres com testes de rastreio de cancro cervical anómalos), incluem: 1) o rastreio de mulheres com idade igual ou superior a 30 anos, em conjunto com a citologia ou com outros métodos de rastreio; e 2) o tratamento de mulheres com idade superior a 20 anos com ASC-US.^{3,11} Em todos os casos, as decisões de tratamento de pacientes reflectem o historial citológico geral das pacientes e outros factores de risco aliados à presença ou ausência de tipos de HPV de alto risco.^{6,8,11}

PRINCÍPIOS DO PROCEDIMENTO

O Cervista[®] HPV HR é um teste de diagnóstico *in vitro* qualitativo para a detecção de ADN dos 14 tipos de HPV de alto risco, nomeadamente, os tipos 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66 e 68.

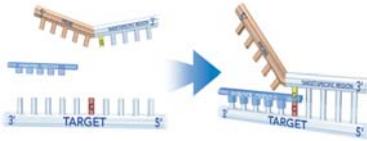
O teste Cervista[®] HPV HR utiliza químicos Invader[®], um método de amplificação de sinal para a detecção de sequências de ácidos nucleicos específicas. Este método utiliza dois tipos de reacções isotérmicas: uma reacção primária que ocorre na sequência de ADN alvo e uma reacção secundária que produz um sinal fluorescente (consulte a Figura 1). Na reacção primária, dois tipos de oligonucleótidos específicos da sequência (ou seja, um oligonucleótido sonda e um oligonucleótido Invader[®]) ligam-se à sequência de ADN alvo. Quando estes oligonucleótidos se sobrepõem por, pelo menos, um par base na sequência alvo, forma-se uma estrutura invasiva que age como um substrato para a enzima Cleavase[®]. A enzima cliva a porção 5'(flap) da sonda na posição da sobreposição.

As sondas estão presentes num grande excesso molar e activam e desactivam o ciclo da sequência alvo rapidamente de modo a gerar muitos flaps 5' clivados por cada sequência alvo. Em seguida, os flaps clivados ligam-se a um oligonucleótido de transferência de energia de ressonância por fluorescência (FRET) com estrutura hairpin universal, criando outra estrutura invasiva que a enzima Cleavase[®] reconhece como um substrato. A enzima cliva os oligonucleótidos FRET entre o fluoróforo e a molécula de extinção e produz um sinal de fluorescência à medida que os flaps clivados activam e desactivam o ciclo. Por cada cópia do alvo, as reacções primária e secundária combinadas resultam numa amplificação de sinal replicada de $10^6 - 10^7$ por hora¹². As sequências de flaps e os oligonucleótidos FRET são universais, uma vez que não são complementares à sequência alvo.

Os reagentes para este ensaio são fornecidos como três misturas de oligonucleótidos, que detectam os 14 tipos de HPV agrupados de acordo com a relação filogenética, ou seja, tipos de vírus com sequências de ADN semelhantes. Os oligonucleótidos que se ligam ao gene de histona 2 humano (H2be, HIST2H2BE) também estão presentes nestas três misturas de oligonucleótidos. O HIST2H2BE funciona como um controlo interno ao produzir um sinal semi-quantitativo a partir do ADN genómico presente na amostra. O formato do teste Cervista[®] HPV HR permite a detecção simultânea de sequências de ADN de HPV e de HIST2H2BE num único poço ao utilizar duas sequências de flaps 5' diferentes nas sondas, bem como dois oligonucleótidos FRET diferentes, cada qual com um fluoróforo espectralmente distinto (FAM e Red). Os flaps 5' libertados foram concebidos para se ligarem apenas aos oligonucleótidos FRET respectivos, de modo a gerar um sinal específico do alvo (consulte a Figura 1).

Um resultado positivo indica que pelo menos um dos 14 tipos de alto risco está presente na amostra de ADN. Este resultado é representado por um sinal fluorescente FAM acima de um valor de corte derivado empiricamente. Para cada reacção, um resultado negativo é representado por um sinal fluorescente FAM abaixo de um valor de corte derivado empiricamente. Para determinar a quantidade relativa de ADN da amostra em cada reacção, o HIST2H2BE humano é medido por um sinal fluorescente Red acima de um valor de corte derivado empiricamente em cada reacção. A medição deste alvo funciona como um mecanismo de controlo de qualidade para confirmar que um resultado negativo não se deve a uma amostra insuficiente.

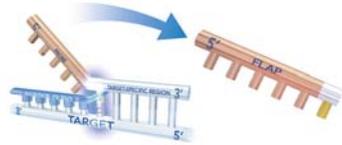
1a. Os oligonucleótidos HPV formam uma estrutura invasiva no ADN de HPV



1b. Os oligonucleótidos HIST2H2BE formam uma estrutura invasiva no ADN genómico



2. A enzima Cleavase® reconhece a estrutura e cliva os oligonucleótidos sonda



3a. Os flaps de oligonucleótidos sonda de HPV formam uma estrutura invasiva nos oligonucleótidos FRET FAM



3b. Os flaps de oligonucleótidos HIST2H2BE formam uma estrutura invasiva nos oligonucleótidos FRET Red



4. A enzima Cleavase® reconhece a estrutura e liberta fluoróforos dos oligonucleótidos FRET, criando um sinal de fluorescência.

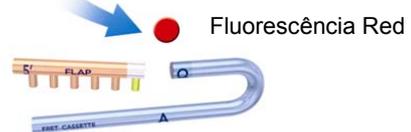
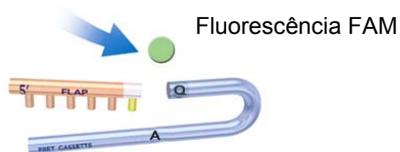


Figura 1: Representação gráfica dos químicos Invader® no teste Cervista® HPV HR

REAGENTES FORNECIDOS

Tabela 1: Conteúdo do teste Cervista® HPV HR

Reagente	Abreviatura das etiquetas dos frascos	Quantidade do frasco e volume do reagente (REF 92-011)	Quantidade do frasco e volume do reagente (REF PRD-01560)	Descrição do componente
HPV Oligo Mix 1	O1 (tampa e risca azul)	1 x 1400 µL	8 x 1400 µL	Oligonucleótidos com afinidade com os tipos de HPV 51, 56 e 66 suspensos em água e tampão MOPS (pH 7,5)
HPV Oligo Mix 2	O2 (tampa e risca amarela)	1 x 1400 µL	8 x 1400 µL	Oligonucleótidos com afinidade com os tipos de HPV 18, 39, 45, 59 e 68 suspensos em água e tampão MOPS (pH 7,5)
HPV Oligo Mix 3	O3 (tampa e risca laranja)	1 x 1400 µL	8 x 1400 µL	Oligonucleótidos com afinidade com os tipos de HPV 16, 31, 33, 35, 52 e 58 suspensos em água e tampão MOPS (pH 7,5)
Cleavase® Enzyme Solution	E (tampa e risca púrpura)	1 x 1100 µL	8 x 970 µL	Enzima Cleavase® suspensa em 140 mM de MgCl ₂ , 10 mM de Tris (pH 8,0), 25 mM de KCl, 0,25% de Tween 20, 0,25% de Nonidet P40, 25% de glicerina e 0,05 mg/mL de BSA
Controlo de HPV 1	C1 (tampa transparente e risca preta)	1 x 350 µL	8 x 350 µL	1000 cópias/µL clonados de ADN de HPV tipo 51 e 3000 cópias/µL clonados de ADN de HIST2H2BE em tRNA de leveduras e 10 mM de Tris, 0,1 mM de tampão EDTA
Controlo de HPV 2	C2 (tampa transparente e risca preta)	1 x 350 µL	8 x 350 µL	1000 cópias/µL clonados de ADN de HPV tipo 18 e 3000 cópias/µL clonados de ADN de HIST2H2BE em tRNA de leveduras e 10 mM de Tris, 0,1 mM de tampão EDTA
Controlo de HPV 3	C3 (tampa transparente e risca preta)	1 x 350 µL	8 x 350 µL	1000 cópias/µL clonados de ADN de HPV tipo 16 e 3000 cópias/µL clonados de ADN de HIST2H2BE em tRNA de leveduras e 10 mM de Tris, 0,1 mM de tampão EDTA
No Target Control	NTC (tampa transparente e risca preta)	1 x 350 µL	8 x 350 µL	tRNA de leveduras e 10 mM de Tris, 0,1 mM de tampão EDTA

ADVERTÊNCIAS E PRECAUÇÕES

1. Para utilização em diagnóstico *in vitro*.
2. Devem ser tomadas precauções de segurança universais para o manuseio de quaisquer tecidos ou fluidos humanos. As amostras devem ser eliminadas de acordo com os requisitos locais.
3. Não junte na mesma amostra reagentes de lotes diferentes ou de frascos diferentes do mesmo lote.
4. Não utilize reagentes depois de terminar o prazo de validade.
5. Os componentes do produto (resíduos do produto, embalagens) podem ser considerados resíduos laboratoriais. Elimine os reagentes não utilizados e resíduos de acordo com a legislação local e nacional.

REQUISITOS DE CONSERVAÇÃO E DE MANUSEAMENTO

- Conserve todos os reagentes entre -30 °C e -15 °C.
- Não utilize reagentes após o prazo de validade indicado no exterior da embalagem.
- Não conserve num congelador com a função “frost-free”.
- Proteja da luz.
- Antes de utilizar, retire os reagentes do congelador e deixe-os descongelar durante, pelo menos, 30 minutos à temperatura ambiente ou até a inspecção visual indicar que não está presente qualquer material congelado.
- Agite os reagentes antes de cada utilização.
- A Hologic recomenda um máximo de seis (6) ciclos de congelamento-descongelamento para todos os reagentes de teste Cervista® HPV HR.
- Prepare as misturas de reacção antes de cada utilização. A mistura de reacção preparada deverá ser utilizada no prazo de 30 minutos.

REAGENTES E MATERIAIS ADICIONAIS

O software Invader Call Reporter® é um componente necessário para este teste de IVD. Este software é fornecido pela primeira vez com a encomenda inicial do teste Cervista® HPV HR e, posteriormente, quando forem lançadas actualizações do software. Contacte o representante local caso necessite de cópias adicionais.

O Genfind® DNA Extraction Kit (Kit de extracção de ADN) é um acessório do teste Cervista® HPV HR. Contacte o representante local para encomendar o Genfind® DNA Extraction Kit (REF 95-449)

MATERIAIS NECESSÁRIOS MAS NÃO FORNECIDOS

Consumíveis

- Pontas de pipetas, com barreira de filtro e sem nuclease
- Placas de polipropileno com 96 poços
- Seladores de placas transparentes
- Óleo mineral, grau de biologia molecular
- Tubos de polipropileno esterilizados de 2,0 mL e tampas de rosca

Equipamento

- Sistema Cervista® MTA para utilizadores do modo automático
- Pipetas
- Vortex
- Leitor de placas de fluorescência Tecan® Infinite™ F200, Tecan® GENios™ ou BioTek® FLx800™
- PC de secretária equipado com o sistema operativo Microsoft® Windows® XP e o software Microsoft® Excel e Adobe® Reader®.
- Termociclador ou forno capaz de manter as temperaturas de reacção apropriadas

COLHEITA DE AMOSTRAS, EXTRACÇÃO DE ADN E CONSERVAÇÃO PARA ANÁLISE

As amostras cervicais que podem ser testadas com o teste Cervista® HPV HR incluem as seguintes:

- Amostras colhidas em solução PreservCyt®, o sistema de preservação de testes de Papanicolaou ThinPrep®, utilizando um dispositivo de colheita aprovado.
- Amostras colhidas em líquido conservante SurePath™, utilizando um dispositivo de colheita aprovado.

As amostras cervicais em solução PreservCyt® podem ser conservadas à temperatura ambiente (20 – 30 °C) até 24 semanas antes de efectuar o teste.

As amostras cervicais podem ser conservadas à temperatura ambiente (20 – 30 °C) em líquido conservante SurePath™ até 6 semanas antes de efectuar o teste.

O Genfind® DNA Extraction Kit (REF 95-449) foi validado para utilização com o teste Cervista® HPV HR. O procedimento recomendado para a extracção de ADN a partir das amostras cervicais em solução PreservCyt® ou em líquido conservante SurePath™ está incluído nas instruções de utilização do Genfind® DNA Extraction Kit.

Os laboratórios que efectuem o teste Cervista® HPV HR com qualquer outro método de extracção que não o fornecido no Genfind® DNA Extraction Kit validado são responsáveis pela sua própria validação desse método.

As amostras de ADN podem ser conservadas entre 2 e 8 °C até quatro semanas. Para períodos de conservação superiores a quatro semanas, coloque as amostras num congelador entre -30 °C e -15 °C.

PROCEDIMENTO DE TESTE PARA O SISTEMA CERVISTA® MTA

Consulte o Manual do Operador do Cervista® MTA (Referência: MAN-02378-002) para obter as instruções de utilização do sistema automatizado para efectuar o teste Cervista® HPV HR.

PROCEDIMENTO DE TESTE MANUAL PARA O CERVISTA® HPV HR

Procedimento de reacção

1. Adicione 10 µL de cada controlo e ADN de amostra a três poços de uma placa com 96 poços, conforme indicado no esquema da placa de teste (consulte a Figura 2).

	Mistura 1	Mistura 2	Mistura 3	Mistura 1	Mistura 2	Mistura 3	Mistura 1	Mistura 2	Mistura 3	Mistura 1	Mistura 2	Mistura 3
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	C1	C1	C1	S5	S5	S5	S13	S13	S13	S21	S21	S21
B	C2	C2	C2	S6	S6	S6	S14	S14	S14	S22	S22	S22
C	C3	C3	C3	S7	S7	S7	S15	S15	S15	S23	S23	S23
D	NTC	NTC	NTC	S8	S8	S8	S16	S16	S16	S24	S24	S24
E	S1	S1	S1	S9	S9	S9	S17	S17	S17	S25	S25	S25
F	S2	S2	S2	S10	S10	S10	S18	S18	S18	S26	S26	S26
G	S3	S3	S3	S11	S11	S11	S19	S19	S19	S27	S27	S27
H	S4	S4	S4	S12	S12	S12	S20	S20	S20	S28	S28	S28

Figura 2: Esquema da placa de teste Cervista® HPV HR.

2. Na parte superior de cada poço, coloque 20 µL de óleo mineral e fita para selar placas, de modo a minimizar a evaporação.
3. Incube as amostras a 95 °C durante 5 minutos num termociclador.
4. Misture os reagentes e misturas de reacção completa e consistentemente antes de utilizar.
5. Prepare as misturas de reacção conforme indicado na folha de Preparação de mistura (impressa através do software Invader Call Reporter®) ou de acordo com os cálculos da Tabela 2. Prepare uma mistura de reacção para cada uma das três misturas de oligonucleótidos de HPV.

Tabela 2. Instruções de preparação de mistura de reacção

Componente	$\mu\text{L}/\text{Poço}$	Número de reacções (amostras e controlos (k))	25% de excesso	Volume total
HPV Oligo Mix 1, 2 ou 3	8 μL	k	1,25	$=8k(1,25)$
Cleavase [®] Enzyme Solution	2 μL	k	1,25	$=2k(1,25)$
Volume total da mistura	10 μL	k	1,25	$=10k(1,25) \mu\text{L}$

6. Diminua a temperatura do termociclador para 63 °C.
7. Adicione 10 μL da mistura de reacção apropriada a cada poço contendo um controlo ou amostra (consulte a Figura 2), tendo o cuidado de pipetar abaixo do óleo mineral.
8. Incube a placa a 63 °C durante 4 horas.

Recolha de dados

1. Deixe sempre a placa atingir a temperatura ambiente antes da leitura. Se não for possível ler a placa imediatamente, conserve-a a 2-8 °C (recomenda-se a leitura da placa no prazo de 24 horas após a conclusão do teste).
2. Coloque a placa com 96 poços (o poço A1 deve estar no canto superior esquerdo) no suporte para placas do leitor de placas de fluorescência. Retire a fita para selar placas.
3. Defina o tipo de placa para configurar as coordenadas e a altura da sonda para o tipo de placa específico. Guarde as definições.
4. Leia a placa completamente. São necessárias duas leituras distintas: FAM (Excitação = 485 nm, Emissão = 530 nm) e Red (Excitação = 560 nm, Emissão = 612 nm). Para detectar o sinal de HPV, o instrumento deverá estar definido para detectar o corante FAM em primeiro lugar. Para detectar o ADN genómico de amostra, o instrumento deverá estar definido para detectar o corante Red.
5. Ajuste o ganho do leitor de placas de fluorescência de modo a estar no intervalo dinâmico linear do leitor, de acordo com as instruções do fabricante. O ganho deverá ser definido de modo a que o *No Target Control* (NTC) apresente valores dentro do intervalo de fundo do leitor, com um valor mínimo de RFU de 600. Os valores de NTC não têm de ser idênticos para as leituras de FAM e de Red.

NOTAS SOBRE O PROCEDIMENTO E PRECAUÇÕES

1. Os laboratórios deverão seguir boas práticas e estar em conformidade com todos os requisitos da legislação local e nacional aplicáveis.
2. Misture as amostras, reagentes e misturas de reacção completa e consistentemente.
3. Utilize pontas de pipetas com barreira para aerossóis descartáveis, esterilizadas e sem nuclease em cada adição e transferência para evitar a contaminação cruzada.
4. Utilize tubos de polipropileno descartáveis e sem nuclease para preparar as misturas de reacção.
5. Verifique se o tipo de placa com 96 poços é compatível com o termociclador e leitor de placas de fluorescência específicos a utilizar antes de iniciar o teste.*
6. Utilize apenas equipamentos calibrados.
7. Os controlos devem ser adicionados nas posições designadas no esquema da placa de teste apresentado na Figura 2 de modo a que o software Invader Call Reporter[®] funcione correctamente.

8. Utilize óleo mineral novo em cada preparação de reacção (não transfira estes reagentes de volta para o recipiente original depois de terem sido distribuídos).
9. Consulte o esquema da placa de teste para garantir que a mistura correcta é adicionada à coluna apropriada.*
10. Coloque sempre a ponta da pipeta perto do fundo do poço para garantir que a mistura de reacção é adicionada abaixo do óleo mineral. Misture enchendo e esvaziando cuidadosamente a ponta da pipeta 3 a 5 vezes.*

*As notas sobre o procedimento 5, 9 e 10 não se aplicam ao Sistema Cervista® MTA.

INTERPRETAÇÃO DOS RESULTADOS

Um valor de sinal para ruído (comparação entre o sinal de amostra medido e o sinal de um poço de reacção *No Target Control*) é gerado para cada uma das três reacções. Este valor de sinal para ruído é referido como FOZ (*Fold-Over-Zero*). Um resultado final positivo, negativo ou indeterminado para qualquer amostra em particular é gerado com base na análise dos três poços de reacção diferentes.

A proporção entre os valores de FOZ de HPV gerados pelas três misturas de reacção determina se uma amostra é positiva ou não. A proporção FOZ de HPV é calculada ao dividir o valor de FOZ de HPV mais elevado de qualquer das três misturas de reacção pelo valor de FOZ de HPV mais baixo das três. Quando um valor de FOZ é inferior a 1, é arredondado para 1 para o cálculo da proporção. Se a proporção de FOZ de HPV for igual ou superior a 1,525, a amostra é HPV positiva. Contudo, num subconjunto de infecções mistas, os três poços de reacção poderão gerar um sinal bastante superior ao fundo. Em alguns casos, estas infecções mistas poderão gerar sinais positivos de intensidade semelhante nos três poços de reacção e, por conseguinte, uma proporção de FOZ de HPV inferior a 1,525. Para evitar a hipótese de um falso negativo devido ao cenário triplamente positivo descrito acima, é aplicado um segundo cálculo do modo seguinte: quando a proporção de FOZ é inferior a 1,525, mas os três valores de FOZ de reacção individual são iguais ou superiores a um segundo valor de corte de 1,93, a amostra é HPV positiva.

É gerado um resultado indeterminado em três cenários diferentes: 1) quando a % de CV entre os valores de FOZ de ADN_g é $\geq 25,0\%$ (% de CV elevada), 2) quando os três valores de FOZ de HPV são $< 0,7$ (FOZ de HPV baixa) e 3) quando a FOZ de ADN_g de uma amostra negativa é $< 1,5$ (ADN_g baixo).

A Figura 3 apresenta um resumo dos critérios dos resultados da amostra descritos acima.

Terminologia

FOZ de HPV: Para cada HPV Oligo Mix, o sinal de FAM da amostra a dividir pelo sinal de FAM do *No Target Control*.

Proporção de FOZ de HPV: O valor de FOZ de HPV mais elevado das três misturas de oligonucleótidos de HPV a dividir pelo valor de FOZ de HPV mais baixo das três misturas de oligonucleótidos de HPV (normalizado para 1,0 se o valor de FOZ for inferior a 1,0).

Média de FOZ de ADN_g: O valor médio determinado a partir dos três valores de FOZ de ADN genómico obtidos de cada uma das três misturas de reacção, calculado ao dividir o sinal de Red da amostra pelo sinal de Red do *No Target Control*.

% de CV de FOZ de ADN_g: % de coeficiente de variação para os valores de FOZ de ADN_g gerados pelas três misturas de oligonucleótidos de HPV.

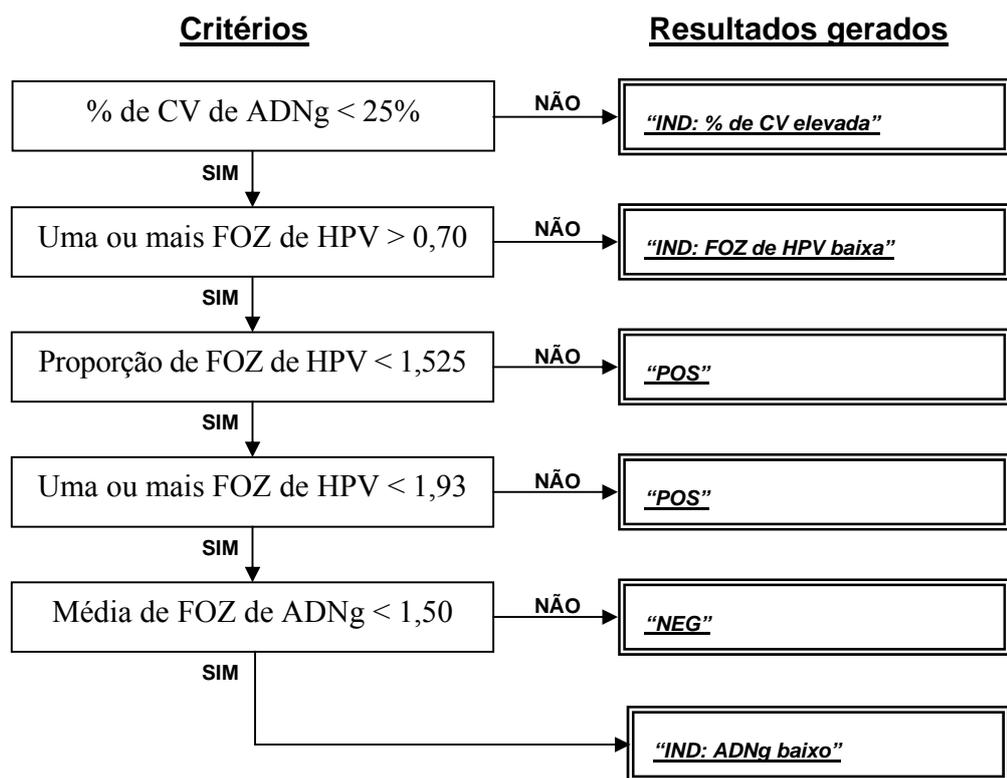


Figura 3: Critérios dos resultados da amostra por ordem decendente

CONTROLO DE QUALIDADE

Controlo negativo

1. O *No Target Control* deve apresentar os resultados apropriados para que as amostras da placa correspondente sejam válidas. Se não cumprir estes critérios, as amostras e controlos dessa placa serão inválidos e deverão ser repetidos (consulte a Tabela 3).
2. O sinal mínimo para cada uma das três misturas deverá ser igual ou superior a 600 RFU (≥ 600).
3. A % de CV do sinal médio de HPV das três misturas deverá ser inferior a 25,0% ($< 25,0\%$), caso contrário, as amostras e controlos dessa placa serão inválidos e deverão ser repetidos (consulte a Tabela 3).
4. A % de CV do sinal médio de ADNg das três misturas deverá ser inferior a 25,0% ($< 25,0\%$).

Tabela 3: Critérios de *No Target Control*

Resultado	Sinal de HPV mín.	Sinal de ADNg máx.	% de CV máx. (HPV e ADNg)
Válido	600	600	24,9%

Controlos de HPV

1. Os controlos de HPV (Controlos de HPV 1-3) devem apresentar os resultados apropriados para que o teste seja válido. Se os controlos não cumprirem estes critérios, as amostras dessa placa também serão inválidas e deverão ser repetidas (consulte a Tabela 4).

2. A proporção de FOZ de HPV é determinada ao dividir o valor de FOZ de HPV mais elevado das três misturas de reacção pelo valor de FOZ de HPV mais baixo das três (normalizado para 1,0 se for inferior a 1,0). O Controlo de HPV 1 deverá apresentar um valor de FOZ de HPV positivo ($\geq 1,525$) apenas para HPV Oligo Mix 1, o Controlo de HPV 2 deverá apresentar um valor de FOZ de HPV positivo ($\geq 1,525$) apenas para HPV Oligo Mix 2 e o Controlo de HPV 3 deverá apresentar um valor de FOZ de HPV positivo ($\geq 1,525$) apenas para HPV Oligo Mix 3.
3. O valor médio de FOZ de ADN_g das três misturas deverá ser igual ou superior a 1,50 ($\geq 1,50$), caso contrário, o controlo será inválido para ADN_g baixo.
4. A % de CV do valor médio de FOZ de ADN_g das três misturas deverá ser inferior a 25,0% ($< 25,0\%$).

Tabela 4: Critérios dos controlos e amostras de HPV

Controlo	Resultado	Proporção de FOZ de HPV	Mistura de FOZ positiva	FOZ de ADN _g média	% de CV de FOZ de ADN _g
Controlo de HPV 1	Controlo válido	$\geq 1,525$	Mistura 1 apenas	$\geq 1,50$	$< 25,0\%$
Controlo de HPV 2	Controlo válido	$\geq 1,525$	Mistura 2 apenas	$\geq 1,50$	$< 25,0\%$
Controlo de HPV 3	Controlo válido	$\geq 1,525$	Mistura 3 apenas	$\geq 1,50$	$< 25,0\%$

Verificação do teste

1. Os resultados das amostras são válidos quando ambos os controlos positivos e negativos apresentam resultados correctos. Se o *No Target Control* (controlo negativo) for inválido e/ou se qualquer resultado de controlo(s) positivo(s) for inválido, todos os resultados das amostras dessa placa serão inválidos e deverão ser repetidos. Consulte as secções de Detecção e resolução de problemas das instruções de utilização e do manual do utilizador do software Invader Call Reporter[®]. Consulte a secção de Resolução de problemas no Manual do Operador do Cervista[®] MTA (Número de peça: MAN-02378-002) para o Sistema Cervista[®] MTA.
2. Todos os requisitos de controlo de qualidade deverão ser efectuados em conformidade com a legislação local e nacional e com os requisitos de acreditação.

LIMITAÇÕES

1. O teste Cervista[®] HPV HR detecta ADN dos tipos HPV de alto risco 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66 e 68. Este teste não detecta o ADN dos tipos de HPV de baixo risco (por exemplo, 6, 11, 42, 43, 44).
2. O teste Cervista[®] HPV HR apresenta a reactividade cruzada de dois tipos de HPV de risco desconhecido. Observou-se um resultado HPV positivo em 5000 cópias/reacção de HPV tipo 67 e 50 000 cópias/reacção de HPV tipo 70.
3. Um resultado negativo não exclui a possibilidade de infecção por HPV, uma vez que níveis de infecção muito baixos ou um erro no processamento das amostras poderá causar um resultado falso negativo.
4. O teste foi validado para ser utilizado apenas com amostras citológicas cervicais colhidas em solução PreservCyt[®] ou em líquido conservante SurePath[™].
5. O desempenho do teste Cervista[®] HPV HR foi determinado utilizando ADN extraído com o Genfind[®] DNA Extraction Kit.

6. Observou-se interferência em amostras cervicais colhidas em solução PreservCyt® contaminadas com elevados níveis (2%) de geleia contraceptiva e/ou de cremes anti-fúngicos quando o ADN foi isolado com o Genfind® DNA Extraction Kit. Poderão ser obtidos resultados falsos negativos mediante estas condições.
7. Observou-se interferência em amostras cervicais colhidas em líquido conservante SurePath™ contaminado com níveis de 0,5% de geleia contraceptiva e/ou de cremes anti-fúngicos e com níveis de 0,5% de lubrificante pessoal ASTROGLIDE® quando o ADN foi isolado com o Genfind® DNA Extraction Kit. Poderão ser obtidos resultados falsos negativos mediante estas condições. A potencial interferência do lubrificante pessoal ASTROGLIDE® não foi testada em amostras cervicais colhidas em solução PreservCyt®.

PARTICULARIDADES DO DESEMPENHO

Desempenho do estudo clínico

Foi efectuado um estudo clínico multicêntrico, transversal e prospectivo para avaliar o desempenho do teste Cervista® HPV HR para a detecção do papilomavírus humano e de neoplasia intra-epitelial cervical de grau 2 ou superior (CIN2+) em amostras citológicas líquidas. Foram colhidas amostras citológicas ThinPrep® residuais de 3540 mulheres submetidas a um rastreio de cancro cervical de rotina. Este estudo incluiu 2026 mulheres com idade igual ou superior a 30 anos com resultados citológicos normais (WNL) e 1514 mulheres com idade igual ou superior a 18 anos com resultados ASC-US. As amostras citológicas foram colhidas em 89 locais clínicos distribuídos pelos Estados Unidos. O ADN foi extraído das amostras cervicais ThinPrep® residuais, que sobraram após a conclusão dos procedimentos de rastreio de cancro cervical de rotina. O ADN foi posteriormente testado utilizando o teste Cervista® HPV HR.

A medição do desempenho analítico do teste foi comparada com os resultados de PCR/Sequenciação. Foram utilizadas amostras de ADN residuais de pacientes com ASC-US e WNL para amplificação de PCR e sequenciação. As amostras de ADN foram amplificadas utilizando primers consensuais para o gene de HPV L1. Também foi amplificada uma porção do gene da beta-globina humana como controlo interno. Foram utilizados produtos de amplificação purificados como modelos em várias reacções de sequenciação para 14 tipos de HPV de alto risco: 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66 e 68. Os dados de sequenciação foram analisados utilizando vários softwares de alinhamento de sequências.

Uma comparação entre o teste Cervista® HPV HR e o método de PCR/Sequenciação em pacientes com ASC-US e WNL resultou numa concordância global de 86,1% entre os dois métodos (IC de 95% = 84,9 – 87,3%). A percentagem de concordância positiva entre os dois métodos foi de 91,8 (89,7 – 93,6%) e a percentagem de concordância negativa foi de 84,2% (IC de 95% = 82,7 – 85,7).

A medição do desempenho clínico do teste Cervista® HPV HR foi comparada com os resultados de colposcopia e histologia. As amostras de biopsia foram colhidas em mulheres com citologia ASC-US conforme garantido pelas directrizes de cuidados de saúde de cada local clínico participante. Os resultados histológicos consensuais fornecidos por um grupo de análise central serviram como “padrão dourado” para determinar a presença ou ausência de doença. À falta de dados histológicos, a falta de lesões cervicais colposcopicamente visíveis e de biopsia equivaleram à ausência de doença.

Existiam 1347 pacientes com ASC-US com estado de doença (histologia central ou colposcopia negativa) e resultados do teste Cervista® HPV HR conhecidos. As Tabelas 5 e 6 apresentam uma comparação entre os resultados do teste Cervista® HPV HR com a Colposcopia/Histologia central.

Tabela 5: Resultados do teste Cervista® HPV HR versus Colposcopia/Histologia consensual (CIN2+) em mulheres com citologia ASC-US

Cervista® HPV HR	Colposcopia/ Histologia		
	Positivo ^b	Negativo ^c	Total
Positivo	64	705	769
Negativo ^a	5	573	578
Total	69	1278	1347

^a Inclui resultados indeterminados

^b Histologia CIN2+

^c Sem CIN ou CIN1 por Histologia central ou Colposcopia sem Histologia central

Tabela 6: Resultados do teste Cervista® HPV HR versus Colposcopia/Histologia consensual (CIN3+) em mulheres com citologia ASC-US

Cervista® HPV HR	Colposcopia/ Histologia		
	Positivo ^b	Negativo ^c	Total
Positivo	22	705	727
Negativo ^a	0	573	573
Total	22	1278	1300

^a Inclui resultados indeterminados

^b CIN3+ incluindo um adenocarcinoma *in situ*

^c Sem CIN, CIN1 ou CIN2 por Histologia central ou Colposcopia sem Histologia central

Nas mulheres com citologia ASC-US, a sensibilidade clínica do teste para CIN2+ foi de 92,8% (IC de 95% = 83,9% – 97,6%) e o valor estimado negativo foi de 99,1% (IC de 95% = 98,0 – 99,7). A sensibilidade clínica e os valores estimados negativos do teste para CIN 3 são ambos de 100% (IC de 95% = 84,6% -100% e 99,4% – 100%).

Existe uma série de variáveis-chave que influenciam as particularidades do desempenho de qualquer teste de HPV num estudo clínico. Estas incluem e limitam-se às técnicas de colheita de amostras cervicais, à qualidade dos resultados citológicos, à idade da população testada, à prevalência de doença, aos métodos de diagnóstico de doença e aos métodos de interpretação histológica. Dado o número de variáveis presentes durante os testes de HPV de rotina em vários locais clínicos, nota-se que muitos dos resultados obtidos a partir do estudo HOLOGIC são semelhantes aos observados mediante as condições de estudo controladas, descritas no ASC-US/LSIL Triage Study (ALTS).^{7,4} A Tabela 7 apresenta uma comparação entre a concepção do estudo, a prevalência de doença e as particularidades de desempenho clínico dos estudos HOLOGIC e ALTS. A diferença das taxas de CIN2+ observada entre os dois estudos poderá reflectir as diferenças de população, bem como as diferenças do diagnóstico de doença.

Tabela 7: Comparação entre o estudo clínico HOLOGIC e ALTS^{7,4}

Critério	ALTS	HOLOGIC
Número de locais de inscrição/estados	4 / 4	89 / 22
Idade média das pacientes	29	33
Pacientes com colposcopia concluída	1149 ^a	1347 ^b
Pacientes sem lesões; sem biopsia efectuada (%)	25%	28%
Pacientes sem lesões patológicas observadas na biopsia (%)	49%	53%
Pacientes com CIN1 (%)	15%	14%
Pacientes com CIN2+ (%)	11%	5%
Taxa de detecção de CIN2+	96%	93%
Taxa de detecção de CIN3+	96%	100%
Valor estimado negativo para CIN2+	98,9%	99,1%
Valor estimado negativo para CIN3+	99,5%	100,0%
Taxa de referência de colposcopia	57%	57% ^c
Concordância de PCR	82,7%	86,1%

^a Braço de colposcopia imediata do ALTS

^b Número de pacientes com estado de doença e resultados do teste Cervista® HPV HR conhecidos

^c A taxa de referência para mulheres com idade igual ou superior a 30 anos foi de 43%

Sensibilidade analítica

O ADN plasmídeo do HPV, representando os 14 tipos de HPV detectados pelo teste Cervista® HPV HR, foi testado para determinar a sensibilidade analítica individual de cada tipo específico. Os valores do Limite de Detecção Individual (LoD) foram calculados para os 14 tipos de HPV (16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66, 68) como função de uma medição do Limite de Branco (LoB) e da variação da população (DP_s) de várias concentrações do alvo de HPV específico (directriz EP17-A Vol. 24 N.º 34 do CLSI/NCCLS). Foram utilizadas nove amostras de ADN isoladas das amostras cervicais caracterizadas como HPV negativas para determinar o valor do LoB (Proporção FOZ de FAM = 1,20). Cada ADN plasmídeo de HPV foi testado em concentrações de 7500, 5000, 2500 e 1250 cópias por reacção, cada uma num fundo de três concentrações de ADN genómico isoladas a partir de uma linha celular HPV negativa (10 ng, 100 ng e 1 µg por reacção). Todas as amostras positivas e negativas foram testadas em replicados de oito.

O Limite de Detecção para cada tipo de HPV é referido na Tabela 8. Os limites são descritos em termos da Proporção FOZ de FAM e como um intervalo de número de cópias.

Tabela 8: Resumo da sensibilidade analítica do teste Cervista® HPV HR

Tipo de ADN de HPV	LoD (Número de cópias/Reacção)	LoD (Proporção de FOZ de FAM)	DP_s
16	1250-2500	1,34	0,08
18	1250-2500	1,34	0,08
31	1250-2500	1,30	0,06
33	2500-5000	1,31	0,07
35	5000-7500	1,34	0,09
39	2500-5000	1,30	0,06
45	1250-2500	1,31	0,06
51	2500-5000	1,35	0,09
52	1250-2500	1,28	0,04
56	1250-2500	1,37	0,10
58	2500-5000	1,35	0,09
59	2500-5000	1,35	0,09
66	2500-5000	1,30	0,06
68	2500-5000	1,30	0,06
Média		1,324	0,074

Precisão e especificidade comparadas com um método de PCR/sequenciação de ADN

Foi efectuado um estudo concebido para avaliar a capacidade do teste Cervista® HPV HR para detectar ADN de HPV de alto risco em amostras clínicas. As amostras foram caracterizadas seguindo um método de genotipagem de HPV utilizado em investigação que utilizou a amplificação de PCR degenerada, seguida por sequenciação de HPV específica de cada tipo. O método de PCR/sequenciação foi utilizado como único determinante da presença de ADN de HPV.

O estudo incluiu 192 amostras conservadas em solução PreservCyt®, das quais 189 obtiveram resultados de sequenciação nítidos. Destas 189 amostras, duas foram indeterminadas pelo teste Cervista® HPV HR. Os resultados indeterminados não foram incluídos na análise comparativa do teste Cervista® HPV HR e dos métodos de PCR/sequenciação.

A proporção de resultados negativos de PCR/sequenciação dados como positivos pelo teste Cervista® HPV HR foi de 5/187. Inversamente, a proporção de resultados positivos de PCR/sequenciação dados como negativos pelo teste Cervista® HPV HR foi de 11/187 (consulte a Tabela 9).

Analisado deste modo, observou-se uma concordância global de 91,4% (171/187; IC de 95% = 86,5-95,0) entre os métodos, com uma concordância positiva e negativa de 89,8% e 93,7%, respectivamente (IC de 95% = 82,5-94,8 e 85,8-97,9).

Tabela 9: Detecção de ADN de HPV comparando o teste Cervista® HPV HR e PCR com sequenciação específica do tipo

		PCR/Sequenciação		
		Negativo	Positivo	Total
Teste Cervista® HPV HR	Negativo	74	11	85
	Positivo	5	97	102
	Total	79	108	187

Reprodutibilidade

Neste estudo de investigação, a reprodutibilidade global do teste Cervista® HPV HR foi avaliada em três locais utilizando um grupo de células de cultura de HPV positivas e negativas e de amostras cervicais de HPV positivas e negativas. O ADN foi extraído de 2 mL de amostra cervical ou de células de cultura suspensas em solução PreservCyt®. O ADN foi extraído utilizando o Genfind® DNA Extraction Kit. Foram testadas dezasseis amostras em três locais durante cinco dias não consecutivos no espaço de duas semanas. Foram utilizados dois lotes de kits Cervista® HPV HR e três lotes de Genfind® DNA Extraction Kits para o estudo.

A concordância por dia/local foi avaliada ao calcular a percentagem de concordância entre sequências para os três pares possíveis em cada um dos dias/locais. A percentagem de concordância média e o intervalo de confiança exacto unilateral de 95% são apresentados em primeiro lugar para cada local (reprodutibilidade intra-local) e depois nos três locais (reprodutibilidade inter-local).

A concordância por dia/local foi avaliada ao calcular a % de concordância entre sequências para quaisquer duas sequências efectuadas em dois dias diferentes num local para todos os pares possíveis. A percentagem de concordância média e o intervalo de confiança exacto unilateral de 95% são apresentados em primeiro lugar para cada local (reprodutibilidade intra-local, inter-sequência) e depois nos três locais (reprodutibilidade inter-local, inter-sequência).

A concordância entre locais foi avaliada ao calcular a percentagem de concordância entre sequências para quaisquer duas sequências efectuadas por dois locais diferentes para todos os pares possíveis [n=3 (locais 1 e 2, locais 1 e 3, locais 2 e 3)]. A percentagem de concordância média e o intervalo de confiança unilateral de 95% são apresentados nas Tabelas 10 e 11.

Tabela 10: Percentagem de concordância entre dias (intra-local) da análise molecular de HPV HR

Local	Número de comparações	Número de concordâncias	Percentagem de concordância	Limite inferior da confiança unilateral de 95%
Local 1	200	200	100,0%	96,3%
Local 2	200	193	96,5%	90,8%
Local 3	200	200	100,0%	96,3%
Nos 3 locais	600	593	98,8%	96,9%

Tabela 11: Percentagem de concordância entre locais da análise molecular de HPV HR

Locais	Número de comparações	Número de concordâncias	Percentagem de concordância	Limite inferior da confiança unilateral de 95%
Local 1 vs. Local 2	500	490	98,0%	96,6%
Local 1 vs. Local 3	500	500	100,0%	99,4%
Local 2 vs. Local 3	500	490	98,0%	96,6%
Todos os pares de locais	1500	1480	98,7%	97,9%

Substâncias intervenientes

Foram testadas quatro amostras cervicais (uma HPV negativa, três HPV positivas) e três amostras de linhas celulares (uma HPV negativa, duas HPV positivas) com substâncias adicionadas que pudessem estar presentes na amostra cervical. As substâncias adicionadas às amostras incluíram solução PreservCyt[®], dois tipos de lavagens vaginais, geleia contraceptiva, dois tipos de cremes anti-fúngicos e amostras clínicas negativas que continham visualmente sangue e muco. A solução PreservCyt[®], a lavagem, a geleia contraceptiva e os cremes anti-fúngicos foram adicionados a dois níveis, 0,5% e 2%. Estes níveis foram escolhidos de modo a representar situações extremas que pudessem ocorrer durante a colheita de amostras se o colo do útero não estivesse desobstruído antes de obter a amostra. O ADN foi isolado de amostras puras e impuras utilizando o Genfind[®] DNA Extraction Kit e foi testado com o teste Cervista[®] HPV HR para avaliar a interferência provocada pelas substâncias introduzidas.

A geleia contraceptiva e os cremes anti-fúngicos contendo clotrimazol ou miconazol a uma concentração da amostra de 2% apresentaram resultados indeterminados e falsos. Durante a extracção de ADN, a geleia contraceptiva interferiu com a separação de esferas magnéticas no tampão de 10 mM de Tris, provocando uma recuperação do ADN baixa e uma amostra de ADN insuficiente para testes. Esta interferência foi visualmente detectável.

Os níveis das substâncias referidas necessários para provocar a falha do teste são anormalmente elevados e não deverão ser encontrados em amostras clínicas reais se os médicos seguirem o procedimento correcto para colheita de amostras de Papanicolau ao desobstruir o colo do útero antes de obter a amostra de células para análise de Papanicolau.

O teste Cervista[®] HPV HR também foi testado com componentes que possam ser transferidos inadvertidamente durante a extracção de amostras utilizando o Genfind[®] DNA Extraction Kit. O ADN contendo três níveis (0,5% e 10%) cada de álcool etílico a 70% ou esferas magnéticas Genfind[®] foi testado para avaliar a interferência provocada pelas substâncias introduzidas. Observou-se interferência quando 10% do volume da amostra de ADN continha álcool etílico a 70% ou esferas magnéticas.

Reactividade cruzada

Foi testado um grupo de bactérias, fungos e vírus frequentemente encontrados no tracto anogenital feminino, bem como vários tipos de papilomavírus humanos clonados de risco baixo ou indeterminado com o teste Cervista[®] HPV HR para avaliar a reactividade cruzada potencial (consulte as Tabelas 12-14).

Tabela 12: Os organismos indicados abaixo foram adicionados à solução PreservCyt® em concentrações de aproximadamente 1×10^5 cfu/mL e 1×10^7 cfu/mL. O ADN destes organismos e uma linha celular negativa (Jurkat, 1×10^5 células/mL) foram extraídos utilizando o Genfind® DNA Extraction Kit. Todas as amostras apresentaram resultados negativos com o teste Cervista® HPV HR.

<i>Candida albicans</i>	<i>Proteus vulgaris</i>
<i>Corynebacterium pseudodiphtheriticum</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>
<i>Enterococcus faecalis</i>	<i>Staphylococcus epidermidis</i>
<i>Escherichia coli</i>	<i>Streptococcus mitis</i>
<i>Lactobacillus acidophilus</i>	<i>Streptococcus pyogenes</i>

Tabela 13: O ADN purificado obtido dos organismos indicados abaixo foi testado em concentrações de 1×10^5 cópias/reacção e de 1×10^7 cópias/reacção utilizando o teste Cervista® HPV HR. Todas as amostras apresentaram resultados negativos.

Vírus do herpes simples, tipo 1 (HSV-1)	<i>Chlamydia trachomatis</i>
Vírus do herpes simples, tipo 2 (HSV-2)	<i>Neisseria gonorrhoeae</i>
Vírus da imunodeficiência humana, tipo 1 (VIH-1, regiões pol e env)	<i>Neisseria meningitides</i>
	<i>Mycoplasma hominis</i>

Tabela 14: O ADN clonado purificado ou as amostras de produtos de amplificação de PCR para os tipos de HPV seguintes foram testados em concentrações de 1×10^5 cópias/reacção e de 1×10^7 cópias/reacção, excepto indicação contrária, utilizando o teste Cervista® HPV HR. Todas as amostras apresentaram resultados negativos.

Papilomavírus humano, tipo 1a	Papilomavírus humano, tipo 44
Papilomavírus humano, tipo 6	Papilomavírus humano, tipo 53
Papilomavírus humano, tipo 11	Papilomavírus humano, tipo 67*
Papilomavírus humano, tipo 42	Papilomavírus humano, tipo 70*
Papilomavírus humano, tipo 43	Gene de controlo interno humano

*Os papilomavírus humanos dos tipos 67 e 70 apresentaram resultados positivos com o teste Cervista® HPV HR a 1×10^5 e 1×10^7 cópias/reacção. Mediante a titulação adicional destas amostras, foram obtidos resultados negativos com o teste Cervista® HPV HR a 1×10^3 e 1×10^4 cópias/reacção.

Além disso, o ADN extraído de um grupo de doze amostras cervicais conservadas em solução PreservCyt® e anteriormente confirmadas como contendo tipos de HPV de risco baixo ou indeterminado (HPV de tipo 6, 42, 43, 44, 53 ou 70) por PCR/sequenciação também foi testado e apresentou resultados negativos com o teste Cervista® HPV HR.

Precisão

A repetibilidade e precisão intra-laboratorial do teste Cervista® HPV HR foram demonstradas num estudo de 21 dias com três operadores alternados, em que cada um efectuou duas sequências por dia com conjuntos de equipamento atribuídos individualmente. Cada sequência consistiu em quatro placas. Foram utilizados diferentes esquemas de placas para as sequências de cada dia.

Cada sequência consistiu em amostras de ADN genómico isoladas de duas linhas celulares HPV positivas (SiHa – tipo 16 e HeLa – tipo 18), uma linha celular HPV negativa (Jurkat) e amostras artificiais contendo ADN plasmídeo de HPV16, HPV18, HPV31, HPV33, HPV35, HPV39, HPV45, HPV51, HPV52, HPV56, HPV58, HPV59, HPV66 ou HPV68 e ADN Jurkat. Cada amostra foi testada em duplicado em três concentrações.

A 2500 cópias/reacção, as amostras de ADN plasmídeo apresentaram 57,4% (675/1176) de resultados positivos. A 5000 cópias/reacção, as amostras de ADN plasmídeo apresentaram 97,2% (1143/1176) de resultados positivos. A 10 000 cópias/reacção, as amostras de ADN plasmídeo apresentaram 100,0% (1176/1176) de resultados positivos (consulte a Tabela 15).

Tabela 15: Resumo dos valores positivos e negativos para cada condição de amostra testada.

Alvo	Cópias/Reacção ^a ou Células/mL extraídas ^b	N	HPV Positivo n (%)	HPV Negativo n (%)
HPV 16	2500 ^a	84	82 (98%)	2 (2%)
	5000 ^a	84	84 (100%)	0 (0%)
	10 000 ^a	84	84 (100%)	0 (0%)
HPV 18	2500 ^a	84	64 (76%)	20 (24%)
	5000 ^a	84	84 (100%)	0 (0%)
	10 000 ^a	84	84 (100%)	0 (0%)
HPV 31	2500 ^a	84	58 (69%)	26 (31%)
	5000 ^a	84	84 (100%)	0 (0%)
	10 000 ^a	84	84 (100%)	0 (0%)
HPV 33	2500 ^a	84	13 (15%)	71 (84%)
	5000 ^a	84	81 (96%)	3 (4%)
	10 000 ^a	84	84 (100%)	0 (0%)
HPV 35	2500 ^a	84	1 (1%)	83 (99%)
	5000 ^a	84	60 (71%)	24 (29%)
	10 000 ^a	84	84 (100%)	0 (0%)
HPV 39	2500 ^a	84	52 (62%)	32 (38%)
	5000 ^a	84	84 (100%)	0 (0%)
	10 000 ^a	84	84 (100%)	0 (0%)
HPV 45	2500 ^a	84	84 (100%)	0 (0%)
	5000 ^a	84	84 (100%)	0 (0%)
	10 000 ^a	84	84 (100%)	0 (0%)
HPV 51	2500 ^a	84	77 (92%)	7 (8%)
	5000 ^a	84	84 (100%)	0 (0%)
	10 000 ^a	84	84 (100%)	0 (0%)
HPV 52	2500 ^a	84	21 (25%)	63 (75%)
	5000 ^a	84	84 (100%)	0 (0%)
	10 000 ^a	84	84 (100%)	0 (0%)
HPV 56	2500 ^a	84	64 (76%)	20 (24%)
	5000 ^a	84	83 (99%)	1 (1%)
	10 000 ^a	84	84 (100%)	0 (0%)
HPV 58	2500 ^a	84	60 (71%)	24 (29%)
	5000 ^a	84	84 (100%)	0 (0%)
	10 000 ^a	84	84 (100%)	0 (0%)
HPV 59	2500 ^a	84	16 (19%)	68 (81%)
	5000 ^a	84	79 (94%)	5 (6%)

Alvo	Cópias/Reacção ^a ou Células/mL extraídas ^b	N	HPV Positivo n (%)	HPV Negativo n (%)
	10 000 ^a	84	84 (100%)	0 (0%)
HPV 66	2500 ^a	84	40 (48%)	44 (52%)
	5000 ^a	84	84 (100%)	0 (0%)
	10 000 ^a	84	84 (100%)	0 (0%)
HPV 68	2500 ^a	84	43 (51%)	41 (49%)
	5000 ^a	84	84 (100%)	0 (0%)
	10 000 ^a	84	84 (100%)	0 (0%)
SiHa/Jurkat	2500 SiHa / 97 500 Jurkat ^b	84	0 (0%)	84 (100%)
	5000 SiHa / 95000 Jurkat ^b	84	15 (18%)	69 (82%)
	20 000 SiHa / 80 000 Jurkat ^b	84	84 (100%)	0 (0%)
HeLa/Jurkat	1250 HeLa / 98 750 Jurkat ^b	84	65 (77%)	19 (23%)
	2500 HeLa / 97 500 Jurkat ^b	84	84 (100%)	0 (0%)
	10 000 HeLa / 90 000 Jurkat ^b	84	84 (100%)	0 (0%)
Jurkat	10 000 ^b	84	2 (2%)	82 (98%)
	20 000 ^b	84	0 (0%)	84 (100%)
	100 000 ^b	84	0 (0%)	84 (100%)

Desempenho do teste Cervista[®] HPV HR em amostras colhidas em líquido conservante SurePath[™] em comparação com amostras colhidas em solução PreservCyt[®]

Foi incluído um total de 418 participantes num estudo de co-colheita para obter pares de amostras cervicais colhidas em líquido conservante SurePath[™] e em solução PreservCyt[®] de cada participante. Cada par de amostras foi testado com o teste Cervista[®] HPV HR. Observou-se uma percentagem de concordância total de 92% para os resultados obtidos para amostras colhidas no líquido conservante SurePath[™] em comparação com os resultados obtidos para amostras colhidas em solução PreservCyt[®].

Tabela 16: Resumo dos resultados do teste Cervista[®] HPV HR a partir de amostras cervicais co-colhidas em líquido conservante SurePath[™] e em solução PreservCyt[®]

	Resultados das amostras em SurePath [™]	Resultados das amostras em PreservCyt [®]
Total	418	418
% de positivos	29,4%	29,2%
% de negativos	69,9%	70,6%
% de indeterminados	0,7%	0,2%

Bibliografia

1. Website do National Cancer Institute: www.cancer.gov (2008).
2. Meijer CJ, Snijders PJ, and Castle PE. 2006. Clinical utility of HPV genotyping. *Gynecol Oncol* 103: 12-17.
3. Wright TC, Jr., Massad LS, Dunton CJ, Spitzer M, Wilkinson EJ, and Solomon D. 2007. 2006 consensus guidelines for the management of women with abnormal cervical cancer screening tests. *Am J Obstet Gynecol* 197(4): 346-55.
4. Sherman ME, Schiffman M, and Cox TJ. 2002. Effects of age and human papilloma viral load on colposcopy triage: data from the randomized Atypical Squamous Cells of Undetermined

Significance/Low-grade Squamous Intraepithelial Lesion Triage Study (ALTS). *Jour Nat Can Inst* 94(2): 102-107.

5. Davey DD, Neal MH, Wilbur DC, Colgan TJ, Styer PE, and Mody DR. 2004. Bethesda 2001 implementation and reporting rates: 2003 practices of participants in the college of American Pathologists Interlaboratory Comparison Program in Cervicovaginal Cytology. *Arch Path Lab Med* 128: 1224-1229.
6. Wright TC, Jr., Cox JT, Massad LS, Twiggs LB, Wilkinson EJ. 2001 Consensus Guidelines for the management of women with cervical cytological abnormalities. *JAMA* 2002; 287: 2120-2129.
7. Solomon D, Schiffman M, and Tarone R. 2001. Comparison of three management strategies for patients with atypical squamous cells of undetermined significance: baseline results from a randomized trial. *Jour Nat Can Inst*; 93(4): 293-299.
8. Mayrand MH, E Duarte-Franco, I Rodrigues, SD Walter, J Hanley. 2007. A Ferenczy, S Ratnam, F Coutlée, EL Franco. Human Papillomavirus DNA versus Papanicolaou Screening Tests for Cervical Cancer. *N Engl J Med* 357(16): 1579-1588.
9. Wheeler CM, WC Hunt, M Schiffman, PE Castle. 2006. Human papillomavirus genotypes and the cumulative 2-Year risk of cervical cancer. *J Infect Dis* 194: 1291-1299.
10. Saslow D, Runowicz CD, Solomon D, Moscicki A-B, Smith RA, Eyre HJ, Cohen C. American Cancer Society guideline for the early detection of cervical neoplasia and cancer. *CA Can Jour Clin* 2002; 53: 342-362.
11. Wright TC Jr, Schiffman M, Solomon D, Cox JT, Garcia F, Goldie S, Hatch K, Noller KL, Roach N, Runowicz C, Saslow D. 2004. Interim guidance for the use of human papillomavirus DNA testing as an adjunct to cervical cytology for screening. *Obstet Gynecol* 103: 304-309.
12. Hall JG, Eis PS, Law SM, Reynaldo LP, Prudent JR, Marshall DJ, Allawi HT, Mast AL, Dahlberg JE, Kwiatkowski RW, de Arruda M, Neri BP, and Lyamichev VI. 2000. Sensitive detection of DNA polymorphisms by the serial invasive signal amplification reaction. *PNAS* 97(15): 8272-8277.

GUIA DE DETECÇÃO E RESOLUÇÃO DE PROBLEMAS: PROCEDIMENTO DE TESTE MANUAL PARA O CERVISTA® HPV HR

Tabela 17: Guia de detecção e resolução de problemas

Problema	Causa potencial	Possível solução
Volume insuficiente para misturas de reacção	O número de amostras introduzido no separador “Assay Selection” (Seleção de ensaio) do software é inferior ao número de amostras adicionadas à placa.	Recalcule manualmente a quantidade exigida de mistura de reacção necessária para concluir toda a placa.
		Recrie as impressões do software utilizando o número correcto de amostras.
	Excesso de volume de mistura de reacção adicionado à microplaca com 96 poços.	Verifique se foram adicionados volumes de mistura de reacção correctos em cada poço.
		Verifique se a informação relativa à calibração no equipamento está actualizada.
<p><i>No Target Control</i> apresenta os seguintes resultados:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Increase gain for scan 1 (Aumentar ganho para leitura 1) • Increase gain for scan 2 (Aumentar ganho para leitura 2) • Increase gain for both scans (Aumentar ganho para ambas as leituras) 	As definições de ganho do leitor da microplaca de fluorescência estão demasiado baixas, resultando em valores de sinal fluorescente em bruto abaixo dos requisitos mínimos.	Aumente as definições de ganho do fluorómetro para a(s) leitura(s) designada(s) para que <i>No Target Control</i> produza um sinal mínimo de 600 RFU e leia novamente a placa.

<p>Ocorrência de erros durante a importação de dados: “Check FAM & Red gain settings and read the whole plate again. (Partial plate reads are not allowed.)” (Verifique as definições de ganho FAM e Red e leia novamente a placa. As leituras parciais da placa não são permitidas.) “Check FAM gain setting and read the whole plate again. (Partial plate reads are not allowed.)” (Verifique a definição de ganho FAM e leia novamente a placa. As leituras parciais da placa não são permitidas.) “Check Red gain setting and read the whole plate again. (Partial plate reads are not allowed.)” (Verifique a definição de ganho Red e leia novamente a placa. As leituras parciais da placa não são permitidas.)</p>	<p>Questões relacionadas com o fluorómetro</p>	<p>Consulte o Guia de detecção e resolução de problemas do Manual do utilizador do software Invader Call Reporter® para questões relacionadas com o fluorómetro que possam contribuir para este erro.</p>
	<p>O período de incubação foi superior ao período tempo especificamente recomendado.</p>	<p>Confirme se a incubação foi efectuada relativamente ao período de tempo especificado e à temperatura especificada.</p>
<p><i>No Target Control</i> apresenta os seguintes resultados: % de CV elevada (NTC de HPV) % de CV elevada (NTC de ADNg)</p>	<p>Mistura de reagentes insuficiente ou inconsistente.</p>	<ul style="list-style-type: none"> • Certifique-se de que todas as amostras, reagentes e misturas de reacção são completamente misturados. • Quando adicionar mistura de reacção a cada poço, coloque as pontas no fundo do poço (abaixo do óleo mineral) e pipete lentamente para cima e para baixo 3-4 vezes. • Verifique se todo o líquido é expelido da ponta da pipeta durante as adições. • Verifique se foi adicionado o reagente correcto a cada poço. • Verifique se foram adicionados os volumes de reagente correctos a cada poço.
	<p>Preparação incorrecta de misturas de reacção.</p>	

	<p>Adição inconsistente do <i>No Target Control</i> ou da mistura de reacção na microplaca.</p>	<ul style="list-style-type: none"> • Verifique se a informação relativa à calibração no equipamento está actualizada. • Inspeccione visualmente a placa para observar a consistência dos volumes entre os poços.
	<p>Suspeita de contaminação durante a adição de amostra ou da preparação da mistura de reacção</p>	<ul style="list-style-type: none"> • Utilize pontas com barreira para aerossóis sem nuclease e tubos esterilizados para preparar as misturas de reacção. • Utilize luvas quando preparar o teste. • Certifique-se de que as pontas das pipetas apenas entram em contacto com a solução a distribuir. • Não toque nas pontas das pipetas com as mãos. • Limpe as superfícies laboratoriais utilizando materiais adequados
	<p>Evaporação da amostra</p>	<p>Verifique a adição de óleo mineral a cada poço.</p>
	<p>Bolhas nos poços da placa de reacção</p>	<p>Se possível, faça girar as placas para baixo antes da leitura de fluorescência.</p>
	<p>As misturas de reacção preparadas não foram utilizadas dentro do período de tempo recomendado.</p>	<p>Utilize as misturas de reacção no prazo de 30 minutos após a preparação.</p>

O controlo(s) apresenta(m) o resultado "Invalid Control" ("Controlo inválido").	Mistura de controlos insuficiente ou inconsistente	<ul style="list-style-type: none"> • Certifique-se de que todos os controlos e reagentes são completa e consistentemente misturados. • Quando adicionar mistura de reacção a cada poço, coloque as pontas no fundo do poço (abaixo do óleo mineral) e pipete lentamente para cima e para baixo 3-4 vezes. • Certifique-se de que todo o líquido é expelido da ponta da pipeta durante as adições.
	Adição inconsistente de mistura de reacção	<ul style="list-style-type: none"> • Verifique se foi adicionado o controlo correcto a cada poço.
	Mistura de controlo insuficiente ou inconsistente	<ul style="list-style-type: none"> • Verifique se foi adicionado o volume de controlo correcto a cada poço. • Verifique a informação relativa à calibração no equipamento. • Inspeccione visualmente a placa para observar a consistência dos volumes entre os poços.
	O controlo (ou controlos) correcto não foi adicionado à placa ou não foi adicionado à posição correcta da placa	Verifique se foram adicionados os controlos correctos às posições correctas da placa.
	O período de incubação foi inferior ou superior ao tempo especificamente recomendado	Confirme se a incubação foi efectuada relativamente ao período de tempo especificado e à temperatura especificada.
	Suspeita de contaminação durante a adição de amostra.	Utilize pontas com barreira para aerossóis sem nuclease e tubos esterilizados durante a preparação.
		Utilize luvas quando preparar o teste.
		Certifique-se de que as pontas das pipetas apenas entram em contacto com a solução a distribuir.
Não toque nas pontas das pipetas com as mãos.		
	Limpe as superfícies laboratoriais utilizando materiais adequados.	
Evaporação da amostra	Verifique a adição de óleo mineral a cada poço.	
Orientação imprópria da placa	Ao ler a placa, oriente-a de forma a que o poço A-1 se encontre no canto superior esquerdo.	

	Bolhas nos poços da placa de reacção	Se possível, faça girar as placas para baixo antes da leitura de fluorescência.
	As misturas de reacção preparadas não foram utilizadas dentro do período de tempo recomendado.	Utilize as misturas de reacção no prazo de 30 minutos após a preparação.
A amostra apresenta o resultado "IND: High %CV" ("IND: % de CV elevada").	Mistura de amostras insuficiente ou inconsistente	<ul style="list-style-type: none"> • Certifique-se de que todas as amostras e reagentes são completamente misturados. • Quando adicionar mistura de reacção a cada poço, coloque as pontas no fundo do poço (abaixo do óleo mineral) e pipete lentamente para cima e para baixo 3-4 vezes. • Verifique se todo o líquido é expelido da ponta da pipeta durante as adições. • Verifique se foi adicionada a amostra correcta a cada poço. • Verifique se foi adicionado o volume de amostra correcto a cada poço. • Verifique se a informação relativa à calibração no equipamento está actualizada. • Inspeccione visualmente a placa para observar a consistência dos volumes entre os poços.
	Adição inconsistente de mistura de reacção	
	Adição inconsistente de amostra	
	Suspeita de contaminação durante a adição de amostra.	Utilize pontas com barreira para aerossóis sem nuclease e tubos esterilizados durante a preparação.
		Utilize luvas quando preparar o teste.
		Certifique-se de que as pontas das pipetas apenas entram em contacto com a solução a distribuir.
		Não toque nas pontas das pipetas com as mãos.
	Limpe as superfícies laboratoriais utilizando materiais adequados.	
	Evaporação da amostra	Verifique a adição de óleo mineral a cada poço.
Bolhas nos poços de reacção	Se possível, faça girar as placas para baixo antes da leitura de fluorescência.	
As misturas de reacção preparadas não foram utilizadas dentro do período de tempo recomendado.	Utilize as misturas de reacção no prazo de 30 minutos após a preparação.	

A amostra apresenta o resultado “IND: Low gDNA” (“IND: ADNg baixo”).	Número insuficiente de células na amostra.	<ul style="list-style-type: none"> • Misture a amostra e repita a extracção de ADN. • Verifique se foi adicionado o volume de amostra correcto a cada poço. • Verifique se foi seguido o procedimento adequado para a extracção de ADN.
	Suspeita de erro durante a extracção de ADN.	
	Quantidade insuficiente de ADN utilizada na análise.	
	Inibição da amostra de ADN	<p>Repita a extracção de ADN da amostra.</p> <p>Consulte a secção Particularidades do desempenho (Substâncias intervenientes) das instruções de utilização.</p>
	A(s) amostra(s) de ADN pode(m) não ter sido completamente desnaturada(s).	Verifique se a amostra foi desnaturada à temperatura correcta e durante a quantidade de tempo adequada.
A amostra apresenta o resultado “IND: Low HPV FOZ” (“IND: FOZ de HPV baixo”).	Suspeita de erro durante a extracção de ADN	<ul style="list-style-type: none"> • Repita a extracção de ADN da amostra. • Verifique se foi seguido o procedimento adequado para a extracção de ADN. • Consulte a secção Particularidades do desempenho (Substâncias intervenientes) das instruções de utilização.
	Inibição da amostra de ADN	
Volume insuficiente de ADN da amostra.	Volume de eluição insuficiente durante a extracção de ADN	Repita a extracção de ADN da amostra.
		Verifique se foi seguido o procedimento adequado para a extracção de ADN.
Número elevado de amostras de ADN com valores FOZ de FAM positivos nas três misturas de reacção.	Suspeita de erro durante a extracção de ADN	<ul style="list-style-type: none"> • Repita a extracção de ADN da amostra. • Verifique se foi seguido o procedimento adequado para a extracção de ADN.
	Suspeita de contaminação do reagente de extracção de ADN	

RESOLUÇÃO DE PROBLEMAS PARA O SISTEMA CERVISTA® MTA

Consulte a secção de Resolução de problemas do Manual do Operador do Cervista® MTA (Referência: MAN-02378-002) para os sistemas Cervista® MTA.

Informações para contacto:



Fabricante:

Hologic, Inc.,
502 S. Rosa Road,
Madison, WI, 53719 EUA.
Telefone: +1 608.273.8933
Website: www.hologic.com

Assistência técnica:

As indicações de acesso para a Assistência técnica fora dos EUA serão fornecidas pelo seu representante local.

Distribuidores:

Contacte a Hologic para obter uma lista de fornecedores e distribuidores internacionais.
Telefone: +1 608.273.8933
Website: www.Hologic.com



Representante autorizado para a Comunidade Europeia:

Hologic UK Ltd.
Link 10, Napier Way
Crawley, West Sussex
RH10 9RA UK
+44 (0) 1293 522 080

AVISO AO DESTINATÁRIO ACERCA DA LICENÇA LIMITADA

A recepção deste produto da Hologic ou seu distribuidor autorizado inclui uma licença limitada, não exclusiva, não transferível ao abrigo de alguns direitos de propriedade intelectual detidos pela Hologic. Esta licença destina-se exclusivamente à finalidade de utilização do Produto nos métodos aos quais se destinam. Esta licença limitada não inclui a licença de utilização do Produto para investigação ou desenvolvimento de novos produtos, fabrico de produtos, engenharia inversa a esta tecnologia, melhoramentos à tecnologia do Produto ou qualquer outro objectivo comercial. O cliente não está autorizado a transferir este Produto para qualquer terceiro para qualquer objectivo sem a autorização expressa por escrito da Hologic. Excepto se for especificado o contrário neste parágrafo, não é concedida qualquer outra licença, expressa, implícita ou por preclusão.

Para informações relativas à disponibilidade de licenças adicionais para praticar as metodologias patenteadas, contacte:

Legal Department, Hologic, Inc., 502 South Rosa Rd., Madison, WI, 53719, +1 (608) 273-8933.

O teste Cervista[®] HPV HR utiliza químicos Invader[®] exclusivos e componentes específicos coberto pelos: N.ºs de patentes nos EUA 5,614,402; 5,795,763; 5,846,717; 5,985,557; 5,994,069; 6,001,567; 6,090,543; 6,090,606; 6,348,314; 6,458,535; 6,555,357; 6,562,611; 6,635,463; 6,673,616; 6,759,226; 6,872,816; 6,875,572; 6,913,881; 7,060,436; 7,067,643; 7,087,381; N.ºs de patentes no Canadá 2,163,015; 2,203,627; N.ºs de patentes na Austrália 694,736; 731,062; 737,449; 738,849; 744,369; 779,443; 781,188; N.ºs de patentes no Japão 3,665,648; N.ºs de patentes na Europa 711,361. Todas as patentes nos EUA e estrangeiras que tenham ou possam vir a ser emitidas; e todos os pedidos de patentes nos EUA e estrangeiro a emitir posteriormente cujo assunto, no todo ou em parte, tenha direito ao benefício da(s) data(s) de entrega de qualquer uma das patentes anteriores/pedidos de patentes indicados neste folheto.

GARANTIA LIMITADA DO PRODUTO

GARANTIAS. É dada garantia ao Cliente original que o Equipamento, Materiais e Software apresentam um desempenho substancialmente de acordo com as Especificações do Produto publicadas durante um (1) ano a partir da data de Instalação (se aplicável) ou a partir da data de Entrega, dependendo daquilo que ocorrer primeiro. Os acessórios e opções pós-venda possuem uma garantia de seis (6) meses e os tubos de raios-X possuem uma garantia numa base proporcional de cálculo linear conforme referido na Especificação do Produto aplicável (“Período de Garantia”). As peças de substituição possuem garantia para o resto do Período de Garantia ou de noventa (90) dias a partir da Entrega, consoante o que for mais longo. Os Materiais Consumíveis são garantidos como estando em conformidade com as especificações publicadas durante um período que termina no final do prazo de validade apresentado nas embalagens respectivas. Garante-se que os serviços serão fornecidos de forma profissional. A Hologic não garante que a utilização dos Produtos seja ininterrupta ou isenta de erros ou que os Produtos funcionem com produtos de terceiros não autorizados pela Hologic. A TOTALIDADE DA RESPONSABILIDADE DE GARANTIA DA HOLOGIC É EXPRESSAMENTE LIMITADA À REPARAÇÃO OU SUBSTITUIÇÃO (AO CRITÉRIO DA HOLOGIC E NA FORMA ORIGINALMENTE ENVIADA) DO PRODUTO OU CORRECÇÃO DE ASSISTÊNCIA SUJEITO A QUALQUER REIVINDICAÇÃO OU, AO CRITÉRIO DA HOLOGIC, REEMBOLSO OU CRÉDITO JUNTO DO CLIENTE DE UM MONTANTE IGUAL AO PREÇO, TAXA OU COBRANÇA DA HOLOGIC. AS GARANTIAS EM QUESTÃO SUBSTITUEM QUAISQUER OUTRAS GARANTIAS E EXCLUEM TODAS AS OUTRAS GARANTIAS NÃO AQUI EXPRESSAMENTE DEFIINDAS, SEJAM ELAS EXPRESSAS OU IMPLÍCITAS OU POR APLICAÇÃO DA LEI OU OUTROS, INCLUINDO, EMBORA SEM CARÁCTER LIMITATIVO, QUAISQUER GARANTIAS IMPLÍCITAS DE COMERCIALIZAÇÃO OU ADEQUAÇÃO PARA UMA FINALIDADE PARTICULAR. ESTA GARANTIA LIMITADA É CONCEDIDA SOMENTE AO CLIENTE ORIGINAL E NÃO É CONCEDIDA, NEM PODE SER TRANSMITIDA A QUALQUER TERCEIRO INCLUINDO, SEM LIMITAÇÃO, OS CLIENTES DO CLIENTE. ESTA GARANTIA É NULA APÓS TRANSFERÊNCIA DO PRODUTO PELO CLIENTE A QUALQUER ENTIDADE QUE TENHA MENOS DE CINQUENTA (50) POR CENTO DE PROPRIEDADE DO PRODUTO. ALGUNS ESTADOS NÃO PERMITEM A EXCLUSÃO OU LIMITAÇÃO DE GARANTIAS IMPLÍCITAS, PELO QUE AS EXCLUSÕES ACIMA PODEM NÃO SE APLICAR AO SEU CASO. TAMBÉM PODERÁ TER OUTROS DIREITOS, QUE VARIAM DE ESTADO PARA ESTADO. Estas garantias não se aplicam a qualquer item que seja: (a) reparado, movido ou alterado por técnicos que não técnicos de assistência autorizados pela Hologic; (b) sujeito a abuso físico (incluindo corrente térmica ou eléctrica), esforço ou uso inadequado; (c) armazenado, objecto de manutenção ou operação de qualquer forma inconsistente com as especificações ou instruções da Hologic aplicáveis; ou (d) designado como fornecido sujeito a uma garantia não emitida pela Hologic ou numa base de “pré-lançamento” ou “conforme está”.

REIVINDICAÇÕES E SOLUÇÕES DA GARANTIA. No caso de qualquer reivindicação da garantia, a Hologic irá substituir por itens novos ou reparados qualquer parte do Equipamento, componente ou consumível que viole a garantia e irá envidar esforços razoáveis para reparar de imediato ou disponibilizar uma alternativa para qualquer defeito ou falha do software que impeça o funcionamento em conformidade substancial com as especificações funcionais. Em alternativa, a Hologic pode optar por reembolsar ou creditar ao Cliente um montante igual ao preço de compra do Equipamento defeituoso, componente, Software, consumível ou Serviço. Os itens substituídos serão propriedade da Hologic. Todas as reivindicações serão iniciadas mediante contacto com a Hologic dentro do período de garantia aplicável e trinta (30) dias depois da detecção da violação ou não conformidade. A Hologic deve ter um acesso razoável e a oportunidade de inspecionar todos os materiais associados. Caso a Hologic e o Cliente não consigam resolver qualquer reivindicação e o Cliente não tiver notificado a Hologic no prazo de um (1) ano depois de surgir a reivindicação, o Cliente será impedido de instituir alguma acção legal posteriormente. Estas soluções constituem a responsabilidade exclusiva da Hologic e a solução exclusiva do Cliente por uma violação da garantia e substituem qualquer outra solução, de lei ou capital.

LIMITAÇÃO DA RESPONSABILIDADE. A HOLOGIC NÃO SERÁ RESPONSÁVEL POR QUALQUER PERDA ESPECIAL, INCIDENTAL, PUNITIVA, EXEMPLAR OU CONSEQUENTE, DANOS OU DESPESAS (INCLUINDO MAS NÃO LIMITADAS A PERDA DE LUCROS, DADOS OU USO), RESULTANTES DIRECTA OU INDIRECTAMENTE DA VENDA, MANIPULAÇÃO, ASSISTÊNCIA OU USO DO PRODUTO ENCOMENDADO OU FORNECIDO OU DE QUALQUER CAUSA RELACIONADA COM O EXPOSTO, EXCEPTO NOS CASOS EXPRESSAMENTE ACORDADOS POR ESCRITO PELAS PARTES. EXCEPTO NOS CASOS DE LESÃO PESSOAL OU MORTE NA EXTENSÃO QUE SEJA CONSEQUÊNCIA DE OMISSÕES OU ACTOS NEGLIGENTES OU MAL-INTENCIONADOS DA HOLOGIC, EM NENHUMA CIRCUNSTÂNCIA SERÁ A HOLOGIC RESPONSÁVEL, AO ABRIGO DE QUALQUER TEORIA LEGAL OU POR QUALQUER CAUSA, QUER COM BASE EM GARANTIA, CONTRATO, DELITO, NEGLIGÊNCIA OU OUTRA TEORIA, MESMO QUE TENHA SIDO AVISADA DA SUA POSSIBILIDADE, POR QUALQUER MONTANTE ACIMA DO PREÇO, TAXA OU CUSTO RECEBIDOS PELA HOLOGIC.

Hologic®, Cervista®, Cleavase®, Invader®, Invader Call Reporter®, PreservCyt®, e ThinPrep® são marcas comerciais registadas da Hologic Inc. Todas as outras marcas comerciais/marcas comerciais registadas referidas neste produto são propriedade das respectivas empresas.

Alguns componentes da análise de ácido nucleico, tais como métodos específicos e composições para a manipulação e visualização de ácidos nucleicos para análise, podem estar cobertos por uma ou mais patentes propriedade de terceiros. Da mesma forma, os ácidos nucleicos que contenham sequências nucleótidas específicas podem estar patenteados. Fazer, utilizar ou vender tais componentes ou ácidos nucleicos pode exigir uma ou mais licenças. Nada neste documento deve ser assumido como autorização ou licença implícita para fazer, utilizar ou vender componentes ou ácidos nucleicos assim cobertos por tais patentes.

©2011 Hologic, Inc.

Referência 15-3053-601, Revisão 103

HOLOGIC®