

Xpert® HPV

REF GXHPV-CE-10

Trademark, Patents and Copyright Statements

Cepheid[®], the Cepheid logo, GeneXpert[®] and Xpert[®] are trademarks of Cepheid.

Windows[®] is a trademark of Microsoft Corporation.

ThinPrep[®] and PreservCyt[®] are trademarks of Hologic, Inc.

The purchase of this product includes a limited, non-transferable license under U.S. Patents Nos. 6,787,338; 6,503,720 and 6,303,305, and claims 9, 10, 11, 56, 76, 80 and 107 of U.S. Patent No. 6,174,670, and corresponding claims in patents and patent applications outside the United States, owned by the University of Utah Research Foundation and licensed to Idaho Technology, Inc., to use only this amount of product and only in an instrument marketed, distributed, sold, leased or otherwise transferred using a Cepheid trademark. No right is conveyed, expressly, by implication or estoppel, under any other patent or patent claims owned by the University of Utah Research Foundation or Idaho Technology, Inc. Without limiting the foregoing, no right, title or license is herein granted with respect to the uses that are proprietary to Idaho Technology or the University of Utah Research Foundation of fluorescence double stranded nucleic acid binding dyes, specifically including but not limited to SYBR[®] Green I, LCGreen[®] I, or LCGreen[®] Plus.

THE PURCHASE OF THIS PRODUCT CONVEYS TO THE BUYER THE NON-TRANSFERABLE RIGHT TO USE IT IN ACCORDANCE WITH THIS PACKAGE INSERT. NO OTHER RIGHTS ARE CONVEYED EXPRESSLY, BY IMPLICATION OR BY ESTOPPEL. FURTHERMORE, NO RIGHTS FOR RESALE ARE CONFERRED WITH THE PURCHASE OF THIS PRODUCT.

Copyright © 2014 Cepheid. All rights reserved.



Cepheid AB
Röntgenvägen 5
SE-171 54 Solna
Sweden

Xpert® HPV

Apenas para utilização em diagnóstico *in vitro*.

1 Nome sujeito a direito de propriedade

Xpert® HPV

2 Nome comum ou habitual

Xpert HPV Assay

3 Utilização prevista

O Xpert HPV Assay é um teste qualitativo *in vitro* para a detecção da região E6/E7 do genoma do ADN viral proveniente de Vírus do Papiloma Humano (HPV – Human Papillomavirus) de alto risco em amostras de doentes. O teste realiza a amplificação múltipla do ADN alvo por reacção em cadeia da polimerase (PCR – Polymerase Chain Reaction) em tempo real de 14 serotipos de HPV de alto risco numa só análise. O Xpert HPV identifica especificamente os serotipos HPV 16 e HPV 18/45 em dois canais de detecção e apresenta num resultado agrupado o relatório sobre 11 outros serotipos de alto risco (31, 33, 35, 39, 51, 52, 56, 58, 59, 66 e 68). As amostras limitam-se a células cervicais colhidas em solução PreservCyt® (Hologic Corp.). As amostras cervicais colhidas em solução PreservCyt que foram pré-tratadas com ácido acético glacial (AAG) para lisar os eritrócitos em excesso para revisão citológica foram também validadas para utilização com o Xpert HPV Assay.

Indicações para o Xpert HPV Assay:

- O Xpert HPV Assay pode ser utilizado com amostras para teste de Papanicolaou (esfregaço) para avaliar a presença ou a ausência de serotipos de HPV de alto risco. Esta informação, em conjunto com a avaliação que o médico faz da história clínica da paciente, outros factores de risco e orientações profissionais, pode ser utilizada para orientar o controlo da paciente.
- O Xpert HPV Assay pode ser utilizado com amostras para teste de Papanicolaou (esfregaço) para avaliar a presença ou a ausência dos genótipos 16 e 18/45 do HPV. Esta informação, em conjunto com a avaliação que o médico faz da história clínica da paciente, outros factores de risco e orientações profissionais, pode ser utilizada para orientar o controlo da paciente.

4 Resumo e explicação

A infeção persistente pelo vírus do papiloma humano (HPV) de alto risco é a principal causa de cancro do colo do útero e é um precursor da neoplasia intra-epitelial cervical (CIN — cervical intraepithelial neoplasia). A presença de HPV foi implicada em mais de 99% dos cancros do colo do útero a nível mundial.¹ O HPV é um pequeno vírus não encapsulado, com ADN de cadeia dupla e um genoma de cerca de 8.000 nucleótidos. Existem mais de 150 serotipos diferentes de HPV e aproximadamente 40 serotipos de HPV distintos que podem infectar a mucosa anogenital humana.² Contudo, apenas um subconjunto de cerca de 14 destes serotipos é considerado de alto risco para o desenvolvimento de cancro do colo do útero e respectivas lesões precursoras. Dados recentes sugerem que os protocolos e testes para rastreio de ADN do HPV de alto risco, específicos para os serotipos, devem centrar-se nos serotipos de HPV 16, 18 e 45.³ A nível global, os serotipos de HPV 16, 18 e 45 foram encontrados em 75% de todos os carcinomas de células escamosas, tendo-se determinado que estavam associados a cerca de 80% de todos os cancros invasivos do colo uterino.^{4,5}

Nota Nesta publicação, “HPV” ou “HR HPV” significa “HPV de alto risco”, excepto indicação em contrário.

5 Princípio do procedimento

O Xpert HPV Assay é um teste automático para a detecção qualitativa e a diferenciação do ADN de HPV. O ensaio é realizado nos sistemas do instrumento GeneXpert da Cepheid.

Os sistemas do instrumento GeneXpert automatizam e integram o processamento das amostras, a lise celular, a purificação, a amplificação de ácidos nucleicos e a detecção da sequência-alvo em amostras simples ou complexas utilizando ensaios por transcriptase reversa (RT-PCR) e PCR em tempo real. Os sistemas são constituídos por um instrumento, um computador e software pré-instalado para execução de testes e visualização dos resultados. Os sistemas requerem a utilização de cartuchos GeneXpert descartáveis, de utilização única que contêm os reagentes para PCR, que alojam a amostra e onde decorrem os processos de PCR. Dado que os cartuchos são independentes, é minimizada a contaminação cruzada entre amostras. Para obter uma descrição completa dos sistemas, consulte o *Manual do Utilizador do GeneXpert Dx System* ou o *Manual do Utilizador do GeneXpert Infinity System*.


O Xpert HPV Assay inclui reagentes para a detecção de HPV de alto risco. O Xpert HPV Assay foi concebido para ser utilizado com amostras cervicais colhidas em PreservCyt com um dispositivo de escovilhão ou uma combinação de escova/espátula endocervical. Pode também utilizar-se amostras cervicais pré-tratadas com certos métodos que envolvem ácido acético glacial (AAG). As amostras cervicais colhidas em solução PreservCyt foram validadas para a utilização com o teste Xpert HPV. Siga as instruções do fabricante para a colheita de amostras cervicais.

Também estão incluídos no cartucho um controlo de adequação da amostra (SAC – Sample Adequacy Control) e um controlo de verificação da sonda (PCC – Probe Check Control). Os reagentes do SAC detectam a presença de uma única cópia do gene humano e verificam se a amostra contém um número adequado de células humanas para realizar uma avaliação qualitativa do estado em termos de HPV. O PCC verifica a reidratação dos reagentes, o enchimento do tubo de PCR no cartucho, a integridade da sonda e a estabilidade do corante.

Os seis canais de cor contêm iniciadores e sondas para a detecção de genótipos específicos ou resultados agrupados da seguinte forma: “SAC; Principal” para o controlo de adequação da amostra, “HPV 16; Principal” para HPV 16, “HPV 18_45; Principal” para o resultado agrupado HPV 18/45, “P3; Principal” para o resultado agrupado de qualquer um dos serotipos de HPV 31, 33, 35 52, ou 58, “P4; Principal” para o resultado agrupado dos serotipos de HPV 51 ou 59, e “P5; Principal” para o resultado agrupado de qualquer um dos serotipos de HPV 39, 56, 66 ou 68. Para ver um exemplo da legenda de um ensaio, consulte a Figura 5.

6 Reagentes e instrumentos

6.1 Materiais fornecidos

 O kit do Xpert HPV Assay (GXHPV-CE-10) contém reagentes suficientes para processar 10 amostras de controlo de qualidade e/ou amostras clínicas.

O kit contém o seguinte:

Cartuchos do Ensaio Xpert HPV com tubos de reacção integrados	10
• Esferas 1 e 2 (liofilizadas)	1 de cada por cartucho
• Reagente tampão	2,0 ml por cartucho
Pipetas de transferência (1 ml)	10
CD	1
• Ficheiros de definição do ensaio (ADF — assay definition files)	
• Instruções para importar o ADF para o software GeneXpert	
• Folheto informativo	

Nota As Fichas de Dados de Segurança (FDS) estão disponíveis em www.cepheid.com ou www.cepheidinternational.com, no separador SUPPORT (Apoio).

Nota A seroalbumina bovina (BSA — bovine serum albumin) presente nas esferas deste produto foi produzida a partir de plasma bovino proveniente exclusivamente dos EUA. O fabrico da BSA também se processou nos EUA. Os animais não foram alimentados com nenhuma proteína de ruminante ou outra proteína animal e foram aprovados nos testes ante- e post-mortem. Durante o processamento, não houve mistura do material com outros materiais animais.

6.2 Conservação e manuseamento



- Conserve os cartuchos e reagentes do Xpert HPV Assay entre 2 °C e 28 °C.
- Não abra um cartucho até que esteja pronto para testar. Utilize os cartuchos dentro de 30 minutos após a abertura da tampa do cartucho.



- Não utilize reagentes ou cartuchos que tenham ultrapassado o prazo de validade.
- Não utilize um cartucho com fuga.

6.3 Materiais necessários mas não fornecidos

- Amostras cervicais colhidas em PreservCyt com um dispositivo de escovilhão ou uma combinação de escova/espátula
- Instrumento GeneXpert Dx (o número de catálogo varia consoante a configuração): instrumento GeneXpert de seis cores, computador com software GeneXpert proprietário, versão 4.3 ou superior, e leitor de código de barras

Ou

Sistema GeneXpert Infinity com software Xpertise, versão 6.1 ou superior

- Manual do utilizador do sistema do instrumento GeneXpert (adequado)
- Impressora (Caso necessite de uma impressora, contacte a assistência técnica da Cepheid para tratar da aquisição de uma impressora recomendada.)

7 Advertências e precauções

7.1 Geral

- Apenas para utilização em diagnóstico *in vitro*.



- Podem estar presentes microrganismos patogénicos em amostras clínicas, incluindo vírus da hepatite e vírus da imunodeficiência humana (HIV). Trate todas as amostras biológicas, incluindo os cartuchos usados, como sendo capazes de transmitir agentes infecciosos. Dado que é frequentemente impossível saber quais as amostras biológicas que poderão ser infecciosas, todas devem ser tratadas aplicando as precauções padrão. Orientações para o manuseamento de amostras estão disponíveis nos Centers for Disease Control and Prevention e no Clinical and Laboratory Standards Institute (anteriormente National Committee for Clinical Laboratory Standards) dos EUA.^{6,7}
- Siga os procedimentos de segurança da sua instituição para trabalhar com produtos químicos e manusear amostras biológicas.
- Consulte os técnicos responsáveis pelos resíduos ambientais da sua instituição relativamente à eliminação correcta dos cartuchos usados. Verificar as regulamentações estaduais e locais, uma vez que estas poderão diferir das regulamentações federais de eliminação de resíduos. As instituições devem verificar os requisitos de eliminação de resíduos biológicos dos respectivos países.
- Recomenda-se o seguimento das boas práticas de laboratório e a troca de luvas entre o manuseamento de amostras de doentes diferentes para evitar a contaminação das amostras.

7.2 Colheita, transporte e conservação de amostras

Colheita de amostras

As amostras cervicais colhidas em solução PreservCyt foram validadas para a utilização com o Xpert HPV Assay. Siga as instruções do fabricante para a colheita de amostras cervicais.

Transporte de amostras



As amostras cervicais colhidas em solução PreservCyt podem ser transportadas entre 2 °C e 30 °C. O transporte de amostras de HPV tem de obedecer aos regulamentos locais, nacionais e internacionais para o transporte de agentes etiológicos.⁸

Conservação de amostras



As amostras cervicais colhidas em solução PreservCyt podem ser armazenadas entre 2 °C e 30 °C durante até seis meses após a data de colheita.

7.3 Ensaio/reagente

- Não substitua os reagentes do Xpert HPV Assay por outros reagentes.
- Não abra a tampa do cartucho do Xpert HPV Assay até estar pronto para adicionar uma amostra durante os testes.
- Não utilize um cartucho que tiver caído depois de o ter retirado da embalagem.
- Não agite o cartucho. Agitar ou deixar cair o cartucho depois da abertura do cartucho pode produzir resultados inválidos.
- Não coloque o rótulo de ID da amostra na tampa do cartucho ou no rótulo do código de barras.
- Não utilize um cartucho que tenha um tubo de reação danificado.
- ② • Cada cartucho de utilização única do Xpert HPV Assay é utilizado para processar apenas um teste. Não reutilize cartuchos processados.
- Use batas limpas e luvas. Troque de luvas entre o processamento de cada amostra.
- Na eventualidade da contaminação da área de trabalho ou do equipamento com amostras ou controlos, limpe bem a área contaminada com lixívia doméstica diluída de 1:10 e depois com uma solução de etanol a 70% ou de isopropanol a 70%. Limpe as superfícies de trabalho até secarem completamente antes de prosseguir.

8 Procedimento

Antes de iniciar estes procedimentos, certifique-se de que o instrumento GeneXpert contém módulos de seis cores com software GX Dx, versão 4.3 ou superior, ou com software Xpertise, versão 6.1 ou superior.

Importante **Inicie o teste nos 30 minutos seguintes à abertura da tampa do cartucho.**

8.1 Preparação do cartucho

Para adicionar a amostra ao cartucho do Xpert HPV Assay:

1. Obtenha os seguintes itens:
 - Cartucho do Xpert HPV Assay.
 - Pipeta de transferência (fornecida). A linha na pipeta indica um volume de enchimento de 1 ml.
 - Amostra de teste adequadamente colhida e rotulada.
- ⚠ 2. Inspeccione o cartucho do teste para verificar se existem danos. Não utilize se estiver danificado.
3. Abra a tampa do cartucho.
4. Misture suavemente a amostra invertendo o respectivo frasco oito a 10 vezes ou agitando continuamente no vórtex, a meia velocidade, durante 5 segundos.
5. Desembrulhe a pipeta de transferência.
6. Abra a tampa do frasco da amostra, comprima o bolbo da pipeta de transferência, introduza-a no frasco e solte o bolbo para encher a pipeta de transferência até à linha de 1 ml. Ver Figura 1. Assegure-se de que a pipeta está cheia e não contém bolhas de ar.

Importante **Evite introduzir muco em excesso no cartucho.**

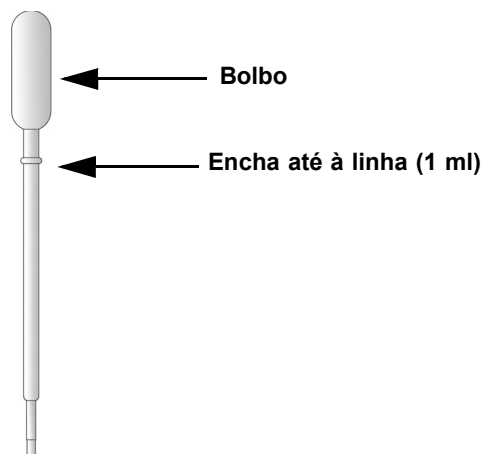


Figura 1. Pipeta de transferência e marca de enchimento

7. Esvazie o conteúdo da pipeta na câmara da amostra do cartucho. Ver Figura 2.

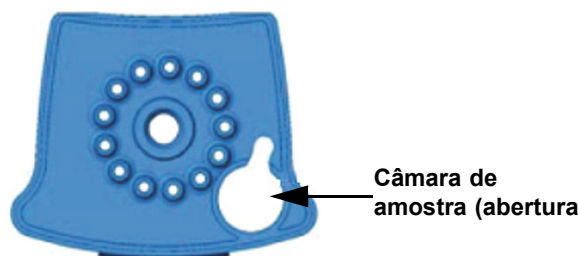


Figura 2. Vista de cima das câmaras do cartucho

8. Feche a tampa do cartucho.

8.2 Iniciar o teste

Importante

Antes de iniciar o teste, certifique-se de que os ficheiros de definição do Xpert HPV Assay (ADF) foram importados para o software. Esta secção discrimina os passos básicos para realizar o teste. Para obter instruções detalhadas, consulte o *Manual do utilizador do GeneXpert Dx System* ou o *Manual do utilizador do GeneXpert Infinity System*.

Nota Os passos a seguir poderão ser diferentes se o administrador do sistema tiver alterado o fluxo de trabalho predefinido do sistema.

Esta secção enumera os passos predefinidos para utilizar o GeneXpert System. Para obter instruções detalhadas, consulte o *Manual do utilizador do GeneXpert Dx System* ou o *Manual do utilizador do GeneXpert Infinity System*, dependendo do modelo que estiver a utilizar.

1. Ligue o sistema do instrumento GeneXpert:
 - Se estiver a utilizar o instrumento GeneXpert Dx, comece por ligar o instrumento e, de seguida, o computador. O software GeneXpert iniciará automaticamente ou pode ser necessário clicar duas vezes no ícone de atalho do software GeneXpert Dx no ambiente de trabalho do Windows®.
 - Ou
 - Caso utilize o instrumento GeneXpert Infinity, ligue a alimentação do instrumento. O software GeneXpert irá iniciar automaticamente ou pode ser necessário clicar duas vezes no ícone de atalho do software Xpertise no ambiente de trabalho do Windows.
2. Inicie sessão no software do sistema do instrumento GeneXpert utilizando o seu nome de utilizador e palavra-passe.
3. Na janela do GeneXpert System, clique em **Criar teste** (GeneXpert Dx) ou clique em **Orders (Encomendas)** e em **Order Test (Encomendar teste)** (Infinity). Aparece a janela Criar teste. Ver Figura 3.

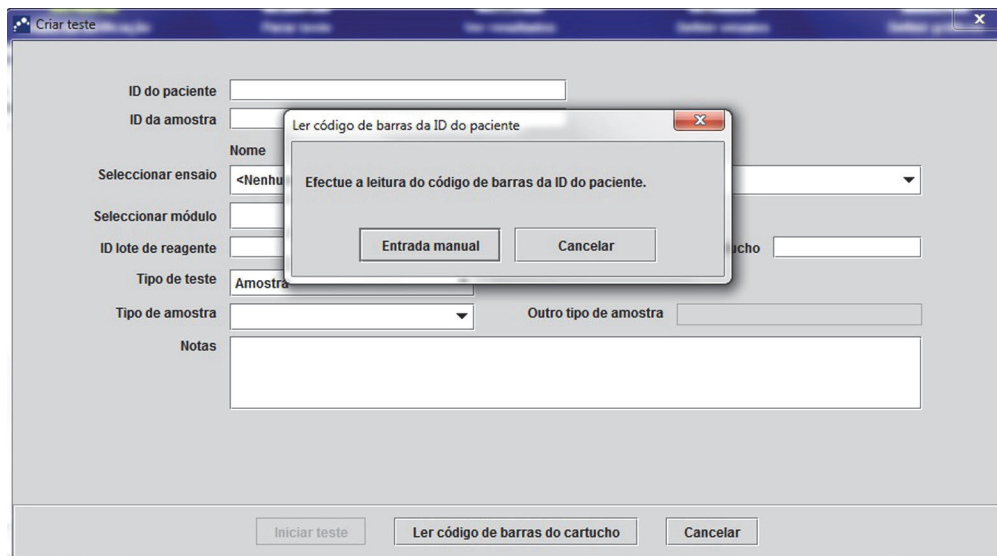


Figura 3. Janela Criar teste do GeneXpert Dx

4. Leia ou introduza a ID do paciente (opcional). Se digitar a ID do paciente, assegure-se de que digita a ID do paciente correcta. A ID do paciente é associada aos resultados do teste e é mostrada na janela Ver resultados.
5. Leia ou introduza a ID da amostra. Se introduzir a ID da amostra, assegure-se de que introduz a ID da amostra correcta. A ID da amostra é associada aos resultados do teste e é mostrada na janela Ver resultados e em todos os relatórios. Aparece a caixa de diálogo Ler código de barras do cartucho.
6. Realize a leitura do código de barras do cartucho Xpert HPV. Aparece a janela Criar teste. Utilizando a informação do código de barras, o software preenche automaticamente as caixas dos seguintes campos: Seleccionar ensaio, ID do lote de reagente, N.º de série do cartucho e Prazo de validade.

Nota

Se o código de barras no cartucho do Xpert HPV Assay não for lido, repita o teste com um novo cartucho seguindo o procedimento da Secção 13, Procedimento de repetição do teste.

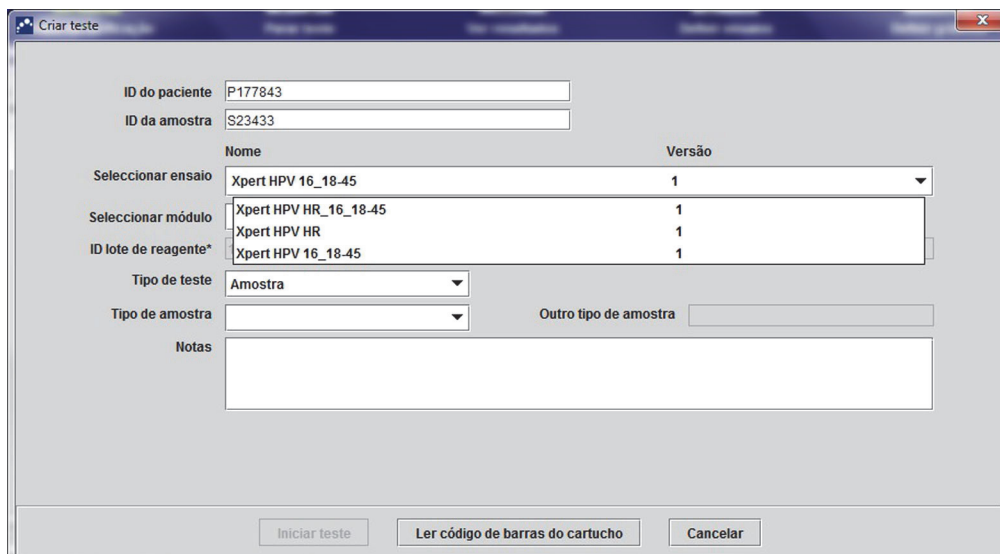


Figura 4. Janela Criar teste do GeneXpert Dx com menu pendente Seleccionar ensaio

7. No menu pendente **Seleccionar ensaio** (ver Figura 4), seleccione o ficheiro de definição do ensaio (ADF) correspondente ao teste de HPV pedido.

O Xpert HPV Assay pode ser configurado de modo a predefinir qualquer um dos três ADF, ao critério do laboratório. Os pedidos dos médicos para a determinação reflexa do genótipo de HPV 16 ou HPV 18/45 podem ser solicitados no ensaio específico para o genótipo de HPV ou, se necessário, analisados como parte de um ensaio completo de alto risco e genótipo.

- Teste apenas de HPV de alto risco: A selecção do ensaio **Xpert HPV HR** indica no relatório um resultado global positivo ou negativo quanto à presença de qualquer um dos 14 serotipos de HPV de alto risco que seja detectado. A Figura 5 apresenta um exemplo.
- Teste de determinação do genótipo HPV 16, 18/45: A selecção do ensaio **Xpert HPV 16_18-45** indica um resultado positivo ou negativo para:
 - genótipo de HPV 16 e para
 - genótipo de HPV 18 ou HPV 45.

Os resultados específicos dos dados de todos os outros serotipos de HPV não são recolhidos nem apresentados. A Figura 6 apresenta um exemplo.

- Teste combinado de HPV de alto risco e genótipo de HPV: A selecção do ensaio **Xpert HPV HR_16_18-45** indica no relatório um resultado positivo ou negativo para o genótipo de HPV 16, HPV 18/45, assim como para a presença de qualquer dos restantes 11 outros serotipos de alto risco, sob a forma de “Other HR HPV.” A Figura 7 apresenta um exemplo.

Nota

Apenas o resultado de teste para o ensaio seleccionado neste passo será recolhido quando o teste é iniciado. Os dados não recolhidos não são recuperáveis.

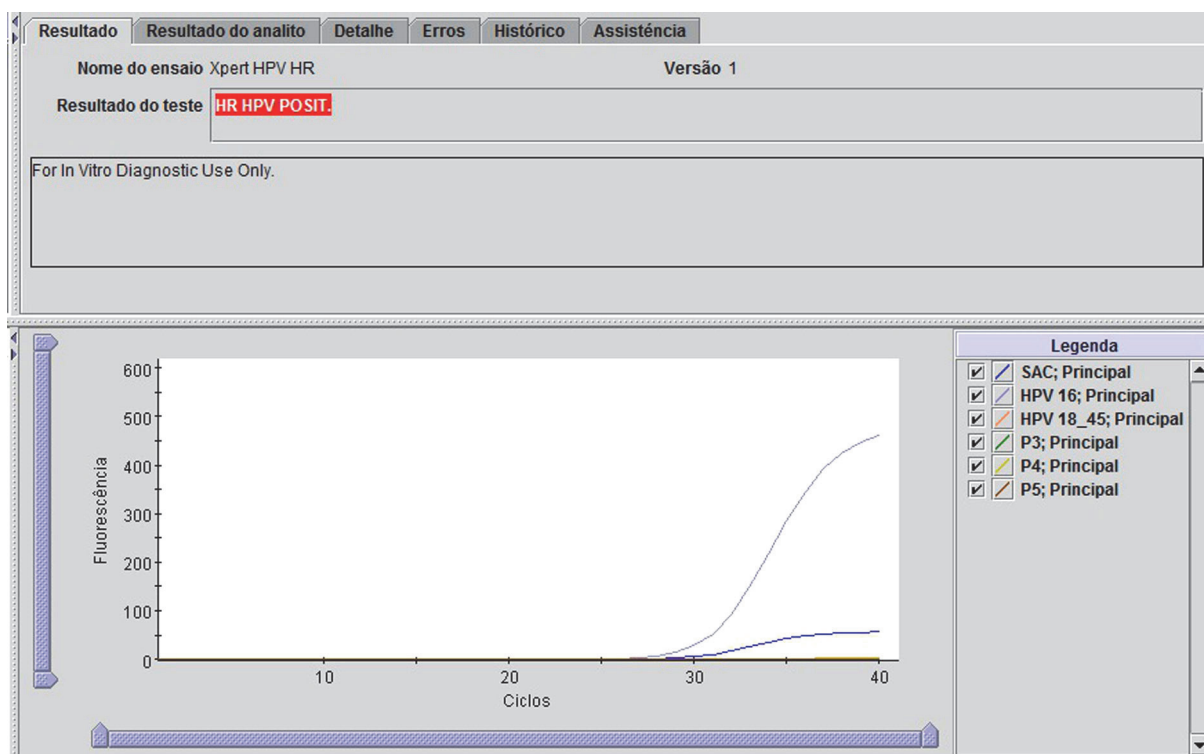


Figura 5. HPV HR POSIT.

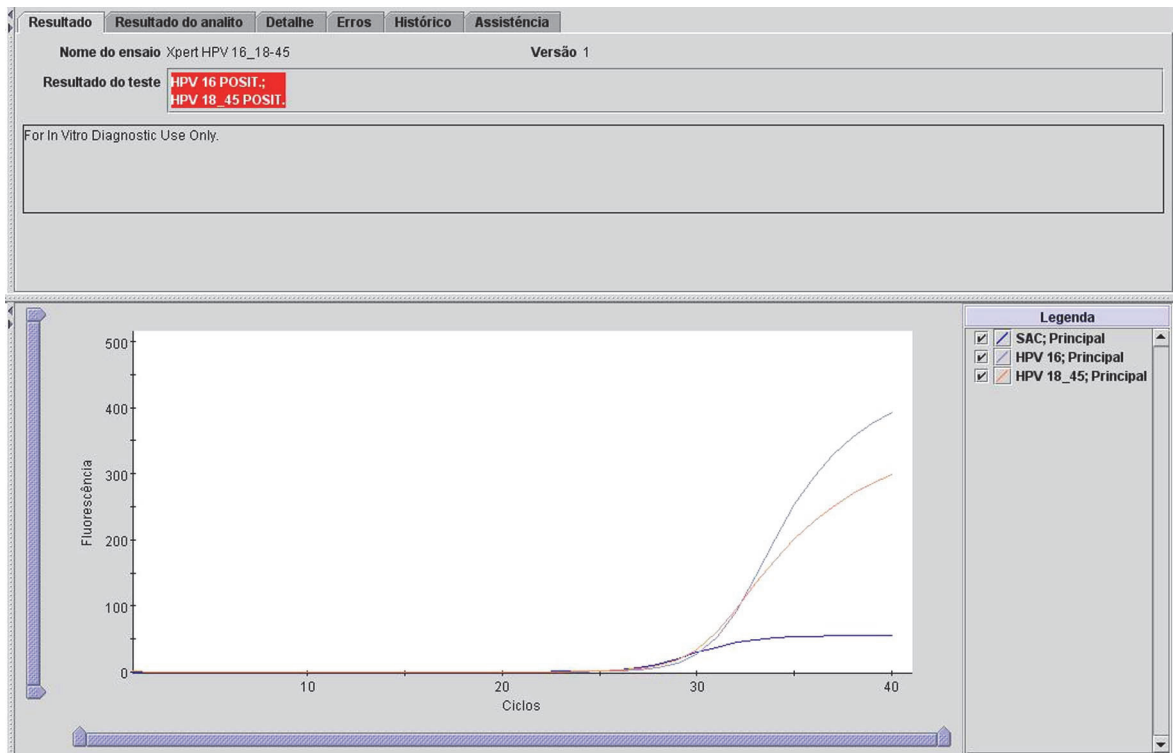


Figura 6. HPV 16_18-45 POSIT.

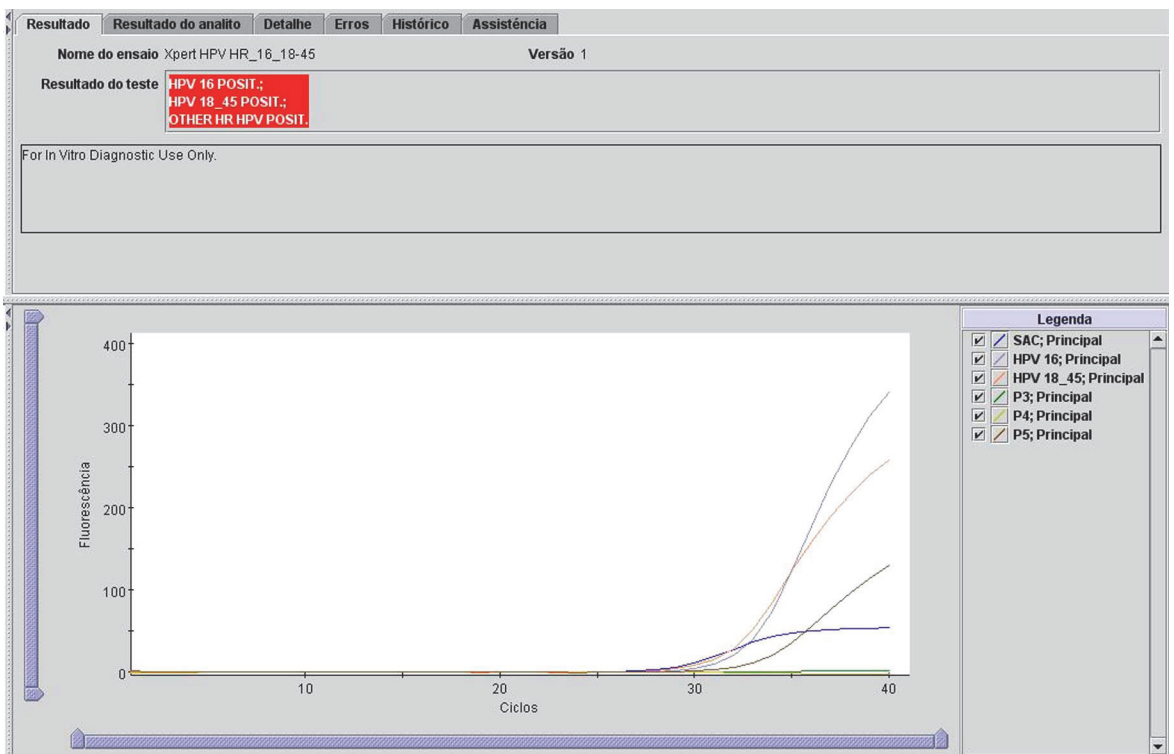


Figura 7. HPV HR_16_18-45 POSIT.

8. Clique em **Iniciar teste** (GeneXpert Dx) ou **Submit (Enviar)** (Infinity). Introduza a sua palavra-passe se lhe for solicitada.
9. Para o GeneXpert Infinity System: coloque o cartucho no tapete rolante. O cartucho será automaticamente carregado, o teste será executado e o cartucho usado será colocado no recipiente para resíduos.

Ou

Para o instrumento GeneXpert Dx:

- A. Abra a porta do módulo do instrumento com a luz verde a piscar e carregue o cartucho.
- B. Feche a porta. O teste inicia-se e a luz verde pára de piscar. Quando o teste termina, a luz desliga-se.
- C. Espere até que o sistema destranque o fecho da porta antes de abrir a porta do módulo e retirar o cartucho.
- D. Os cartuchos usados devem ser eliminados nos recipientes apropriados para resíduos de amostras, de acordo com as práticas padrão da sua instituição.

Nota O tempo para a obtenção de resultados é de aproximadamente 60 minutos.

9 Visualização e impressão de resultados

Para instruções detalhadas sobre a visualização e a impressão dos resultados, consulte o *Manual do utilizador do GeneXpert Dx System* ou o *Manual do utilizador do GeneXpert Infinity System*.

10 Controlo de qualidade

CONTROL

Cada teste inclui um controlo de verificação da sonda (PCC) e um controlo de adequação da amostra (SAC).

- **Controlo de verificação da sonda (PCC):** Antes do início da reacção PCR, o instrumento GeneXpert mede o sinal de fluorescência das sondas para monitorizar a reidratação da esfera, o enchimento do tubo de reacção, a integridade da sonda e a estabilidade do corante. O PCC é aprovado se cumprir os critérios de aceitação validados.
- **Controlo de adequação da amostra (SAC):** Os reagentes do SAC detectam a presença de uma única cópia do gene humano presente numa só cópia por célula e monitorizam a presença de ADN humano na amostra.
- **Controlos externos:** Podem ser utilizados controlos externos de acordo com organizações de acreditação locais, estatais e federais, consoante aplicáveis.

11 Interpretação dos resultados

Os resultados são automaticamente interpretados pelo sistema do instrumento GeneXpert através da medição de sinais fluorescentes e algoritmos de cálculo integrados, e são apresentados no separador Resultado do teste da janela Ver resultados. O Xpert HPV Assay apresenta os resultados do teste para os alvos de HPV consoante os resultados e as interpretações mostrados na Tabela 1.

Nota Apenas os resultados dos testes para o ensaio seleccionado neste passo serão recolhidos quando o teste é iniciado.

Tabela 1. Resultados e interpretações do Xpert HPV Assay

Resultado	Interpretação
HR HPV POSIT. Ver Figura 9.	<p>O ADN do HPV de alto risco é detectado como positivo.</p> <ul style="list-style-type: none"> • O ADN do HPV de alto risco alvo tem um Ct (limiar de ciclo) dentro do intervalo válido e um endpoint (ponto final) de fluorescência superior ao limite definido. • SAC: Não aplicável. O SAC é ignorado porque a amplificação do alvo de HPV pode interferir com este controlo. • PCC: PASSA; todos os resultados de verificação da sonda passam.
HPV 16 POSIT. Ver Figura 11, Figura 13 e Figura 16.	<p>O ADN de HPV 16 é detectado como positivo.</p> <ul style="list-style-type: none"> • O ADN do HPV 16 alvo tem um Ct dentro do intervalo válido e um endpoint (ponto final) de fluorescência superior ao limite definido. • SAC: Não aplicável. O SAC é ignorado porque a amplificação do alvo de HPV pode interferir com este controlo. • PCC: PASSA; todos os resultados de verificação da sonda passam.

Tabela 1. Resultados e interpretações do Xpert HPV Assay (Continuação)

Resultado	Interpretação
HPV 18_45 POSIT. Ver Figura 14 e Figura 16.	<p>O ADN de HPV 18_45 é detectado como positivo.</p> <ul style="list-style-type: none"> O ADN do HPV 18/45 alvo tem um Ct dentro do intervalo válido e um endpoint (ponto final) de fluorescência superior ao limite definido. SAC: Não aplicável. O SAC é ignorado porque a amplificação do alvo de HPV pode interferir com este controlo. PCC: PASSA; todos os resultados de verificação da sonda passam.
OTHER HR HPV POSIT. Ver Figura 15 e Figura 16.	<p>O ADN de outros HPV de alto risco é detectado como positivo.</p> <ul style="list-style-type: none"> O ADN de outros HPV de alto risco alvo tem um Ct dentro do intervalo válido e um endpoint (ponto final) de fluorescência superior ao limite definido. SAC: Não aplicável. O SAC é ignorado porque a amplificação do alvo de outros HPV de alto risco pode interferir com este controlo. PCC: PASSA; todos os resultados de verificação da sonda passam.
HR HPV NEGAT. Ver Figura 8.	<p>O ADN de HPV de alto risco é inferior ao limite de detecção.</p> <ul style="list-style-type: none"> O ADN do HPV de alto risco alvo tem um Ct fora do intervalo válido e/ou um endpoint (ponto final) de fluorescência inferior ao limite definido. SAC: PASSA; a amplificação por PCR do alvo do SAC apresenta um Ct dentro do intervalo válido e um endpoint (ponto final) de fluorescência superior ao limite definido. PCC: PASSA; todos os resultados de verificação da sonda passam.
HPV 16 NEGAT. Ver Figura 10, Figura 12, Figura 14 e Figura 15.	<p>O ADN de HPV 16 é inferior ao limite de detecção.</p> <ul style="list-style-type: none"> O ADN do HPV 16 alvo tem um Ct fora do intervalo válido e/ou um endpoint (ponto final) de fluorescência inferior ao limite definido. SAC: PASSA; a amplificação por PCR do alvo do SAC apresenta um Ct dentro do intervalo válido e um endpoint (ponto final) de fluorescência superior ao limite definido. PCC: PASSA; todos os resultados de verificação da sonda passam.
HPV 18_45 NEGAT. Ver Figura 10, Figura 11, Figura 12, Figura 13 e Figura 15.	<p>O ADN de HPV 18-45 é inferior ao limite de detecção.</p> <ul style="list-style-type: none"> O ADN do HPV 18/45 alvo tem um Ct fora do intervalo válido e/ou um endpoint (ponto final) de fluorescência inferior ao limite definido. SAC: PASSA; a amplificação por PCR do alvo do SAC apresenta um Ct dentro do intervalo válido e um endpoint (ponto final) de fluorescência superior ao limite definido. PCC: PASSA; todos os resultados de verificação da sonda passam.
OTHER HR HPV NEGAT. Ver Figura 12, Figura 13 e Figura 14.	<p>O ADN de outros HPV de alto risco é inferior ao limite de detecção.</p> <ul style="list-style-type: none"> O ADN de outros HPV de alto risco alvo tem um Ct fora do intervalo válido e/ou um endpoint (ponto final) de fluorescência inferior ao limite definido. SAC: PASSA; a amplificação por PCR do alvo do SAC apresenta um Ct dentro do intervalo válido e um endpoint (ponto final) de fluorescência superior ao limite definido. PCC: PASSA; todos os resultados de verificação da sonda passam.
INVÁLIDO Ver Figura 17.	<p>Não é possível determinar a presença ou ausência de ADN-alvo de HPV. Repita o teste de acordo com as instruções na Secção 13, Procedimento de repetição do teste.</p> <ul style="list-style-type: none"> SAC: FALHOU; O Ct do SAC está fora do intervalo válido e/ou um endpoint (ponto final) de fluorescência é inferior ao limite definido. PCC: PASSA; todos os resultados de verificação da sonda passam.
ERRO	<p>Não é possível determinar a presença ou ausência de ADN-alvo de HPV. Repita o teste de acordo com as instruções na Secção 13, Procedimento de repetição do teste.</p> <ul style="list-style-type: none"> SAC: SEM RESULTADO PCC: FALHOU*; um ou todos os resultados de verificação da sonda falharam. <p>* Se a verificação da sonda foi aprovada, o erro foi causado porque o limite máximo da pressão excedeu o intervalo aceitável ou porque houve falha de um componente do sistema.</p>

Tabela 1. Resultados e interpretações do Xpert HPV Assay (Continuação)

Resultado	Interpretação
SEM RESULTADO	<p>Não é possível determinar a presença ou ausência de ADN-alvo de HPV. Repita o teste de acordo com as instruções na Secção 13, Procedimento de repetição do teste. SEM RESULTADO indica que os dados colhidos foram insuficientes. Por exemplo, o operador parou um teste que estava em curso ou a alimentação eléctrica falhou.</p> <ul style="list-style-type: none"> • HPV: SEM RESULTADO • SAC: SEM RESULTADO • PCC: NA (não aplicável)

Nota Os ecrãs apresentados nesta secção reflectem os exemplos utilizando os três ensaios. A Figura 8 e a Figura 9 utilizam o Xpert HPV HR Assay, a Figura 10 e a Figura 11 o ensaio de determinação do genótipo Xpert HPV 16_18-45 e a Figura 12 à Figura 14 utilizam o ensaio Xpert HPV HR_16_18-45 do menu pendente. (Ver a Secção 8.2, Iniciar o teste E o menu pendente ilustrado na Figura 4).

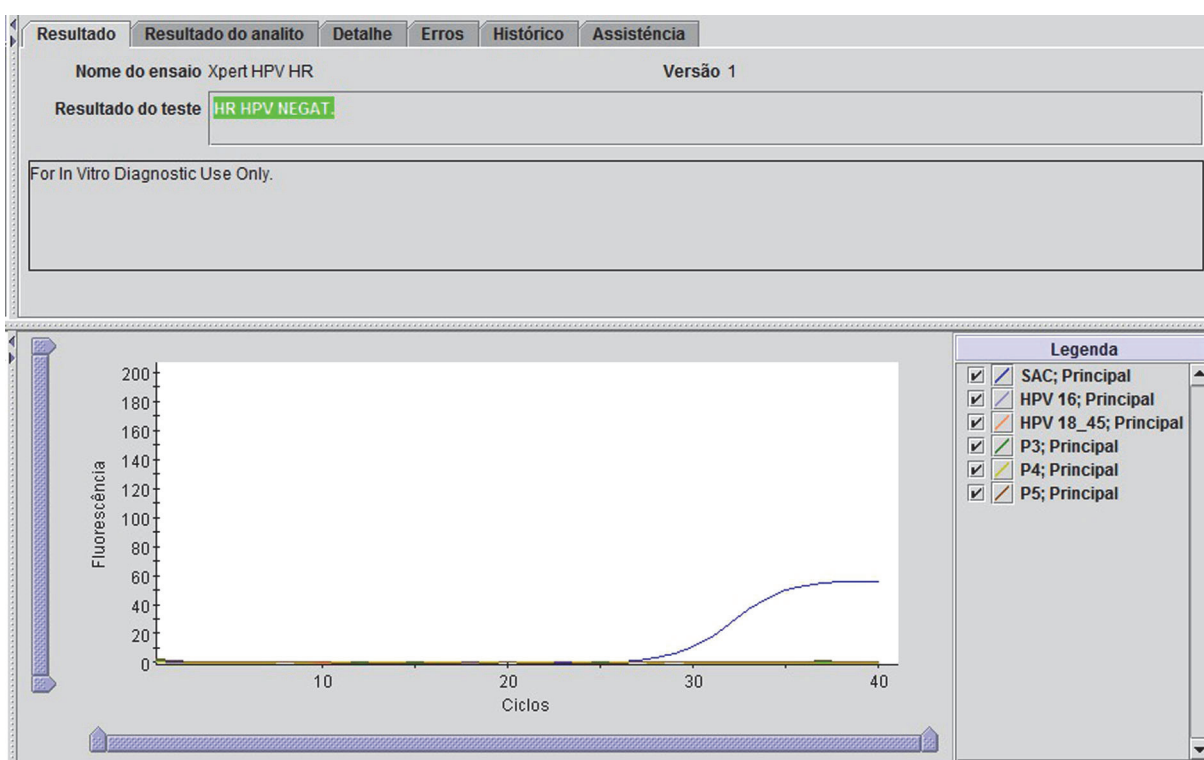


Figura 8. Negativo para HPV de alto risco (resultado com o Xpert HPV HR Assay)

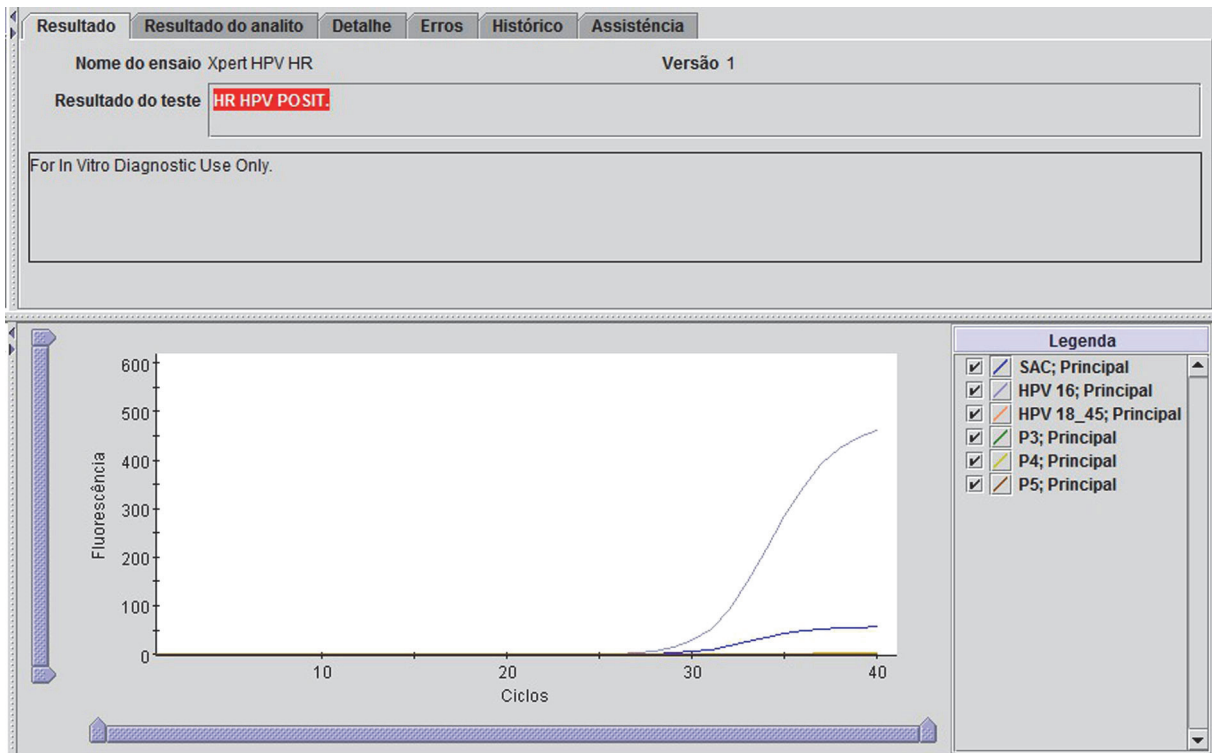


Figura 9. Positivo para HPV de alto risco (resultado com o Xpert HPV HR Assay)

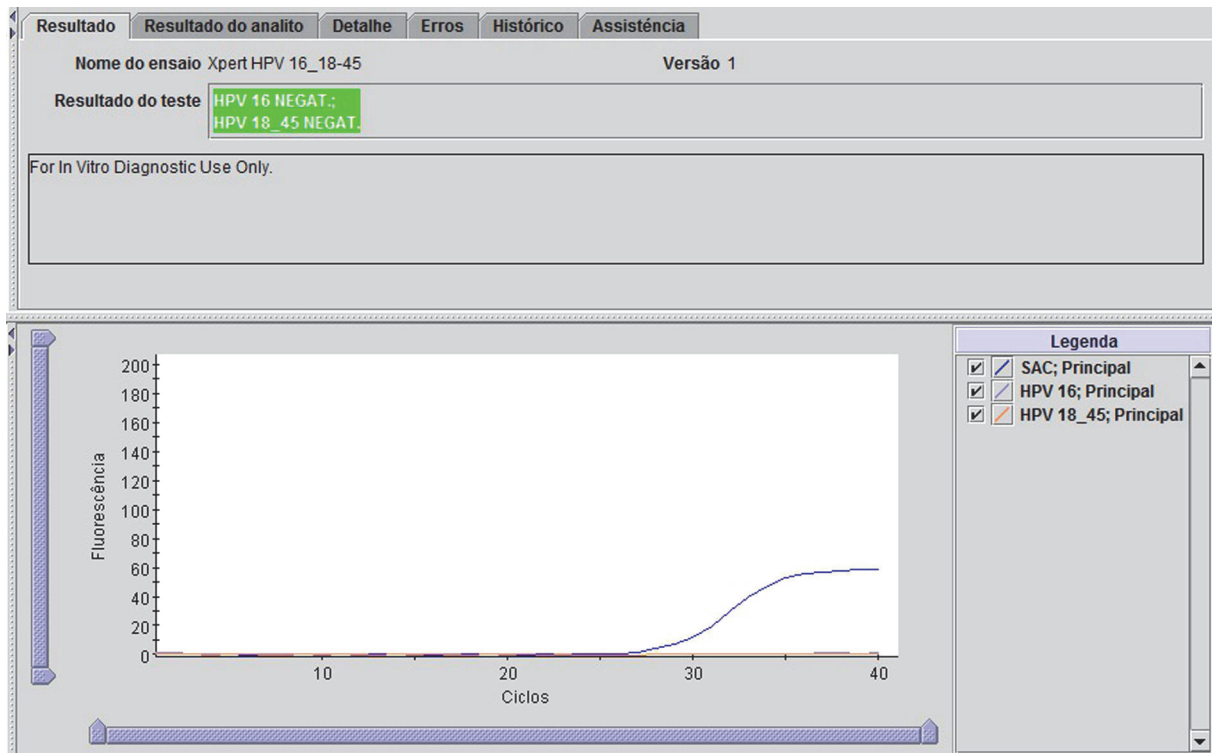


Figura 10. Negativo para HPV 16; Negativo para HPV 18-45 (resultado com o Xpert HPV 16_18-45 Assay)

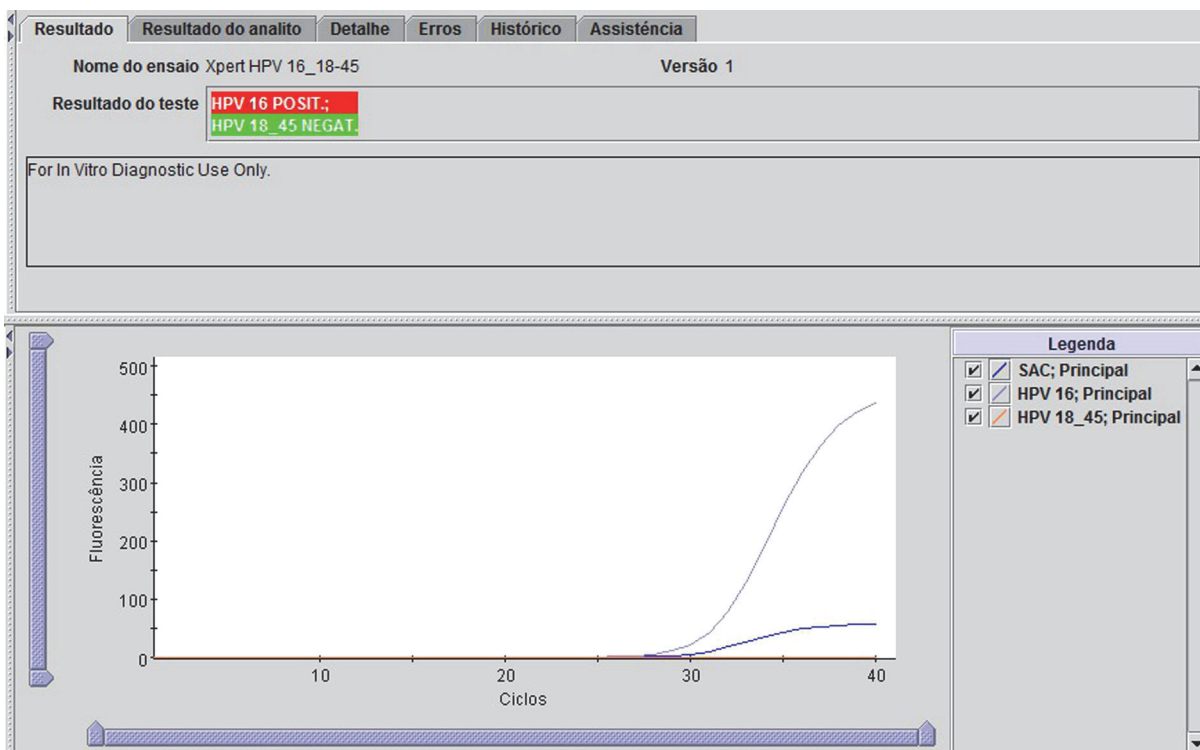


Figura 11. Positivo para HPV 16; Negativo para HPV 18-45 (resultado com o Xpert HPV 16_18-45 Assay)

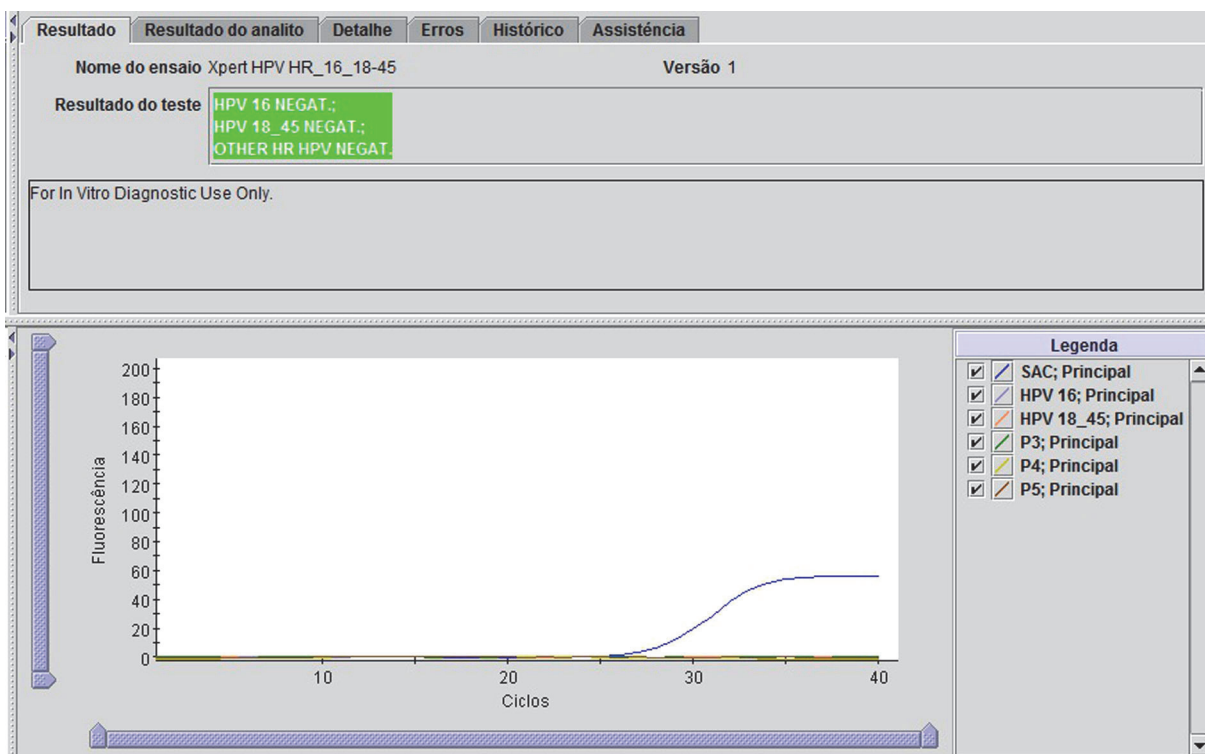


Figura 12. Negativo para HPV 16; Negativo para HPV 18-45; Negativo para Outros HPV de alto risco (resultado com o Xpert HPV HR_16_18-45 Assay)

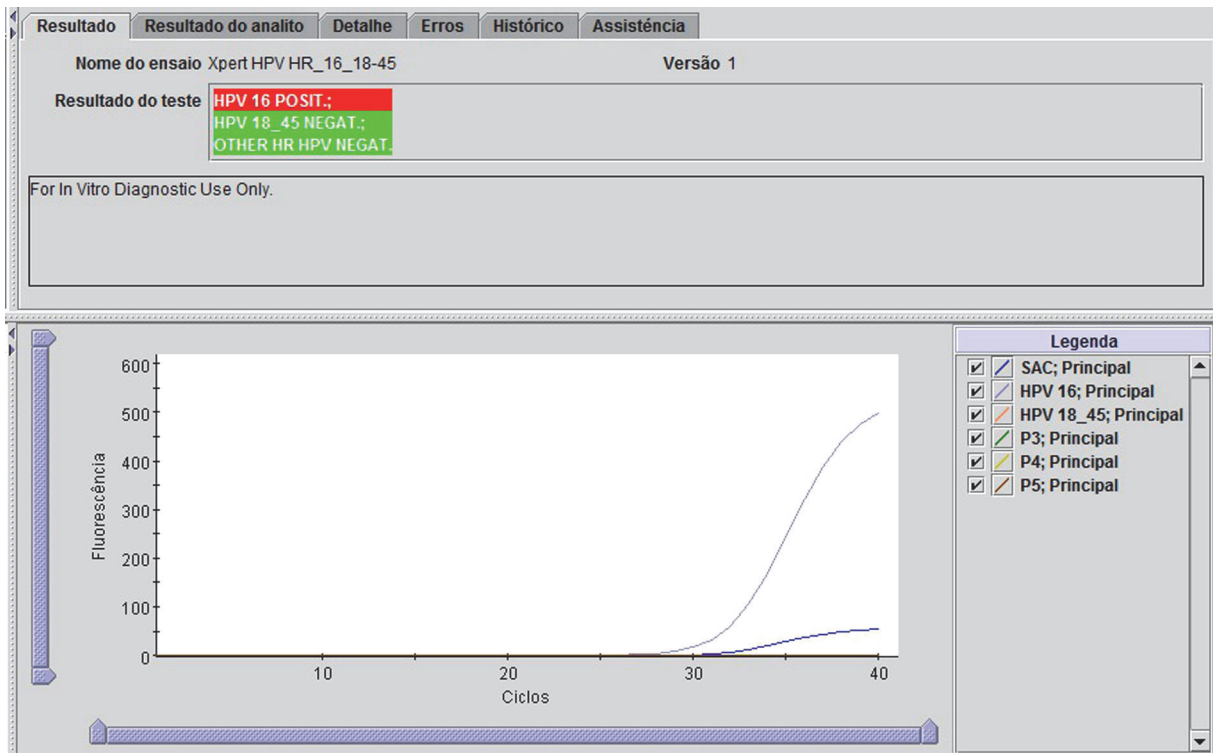


Figura 13. Positivo para HPV 16; Negativo para HPV 18-45; Negativo para Outros HPV de alto risco (resultado com o Xpert HPV HR_16_18-45 Assay)

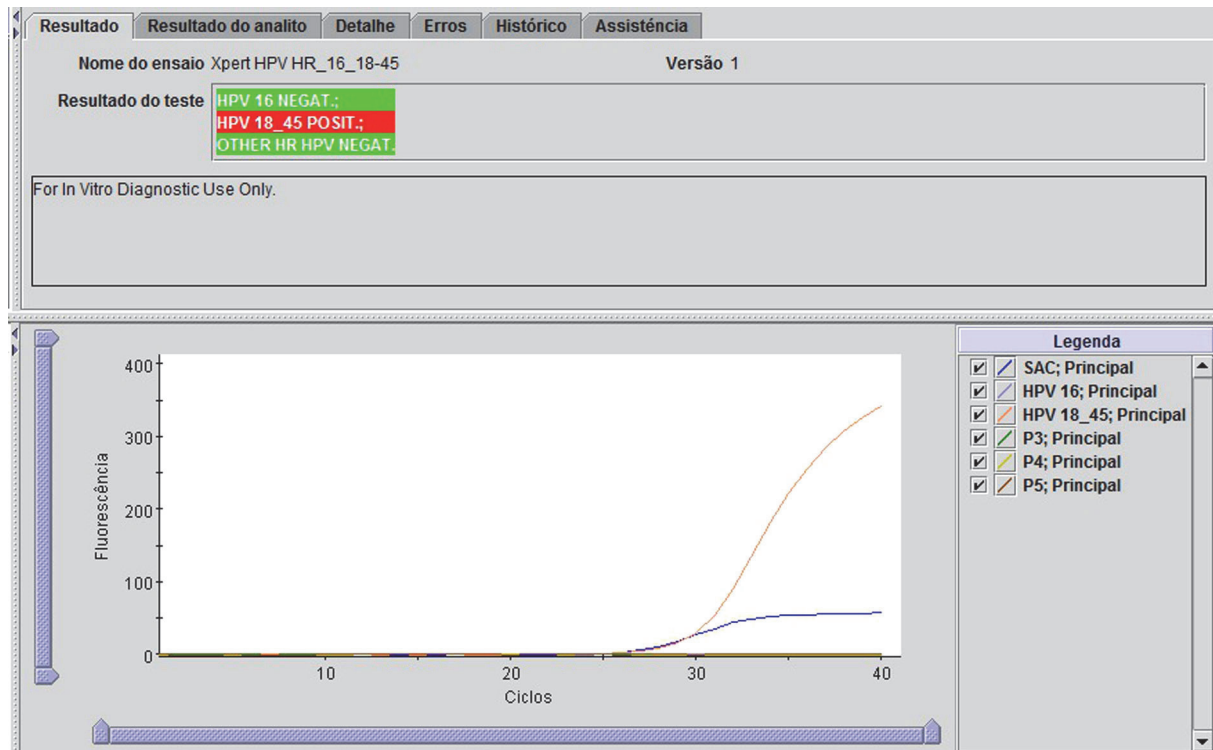


Figura 14. Negativo para HPV 16; Positivo para HPV 18-45; Negativo para Outros HPV de alto risco (resultado com o Xpert HPV HR_16_18-45 Assay)

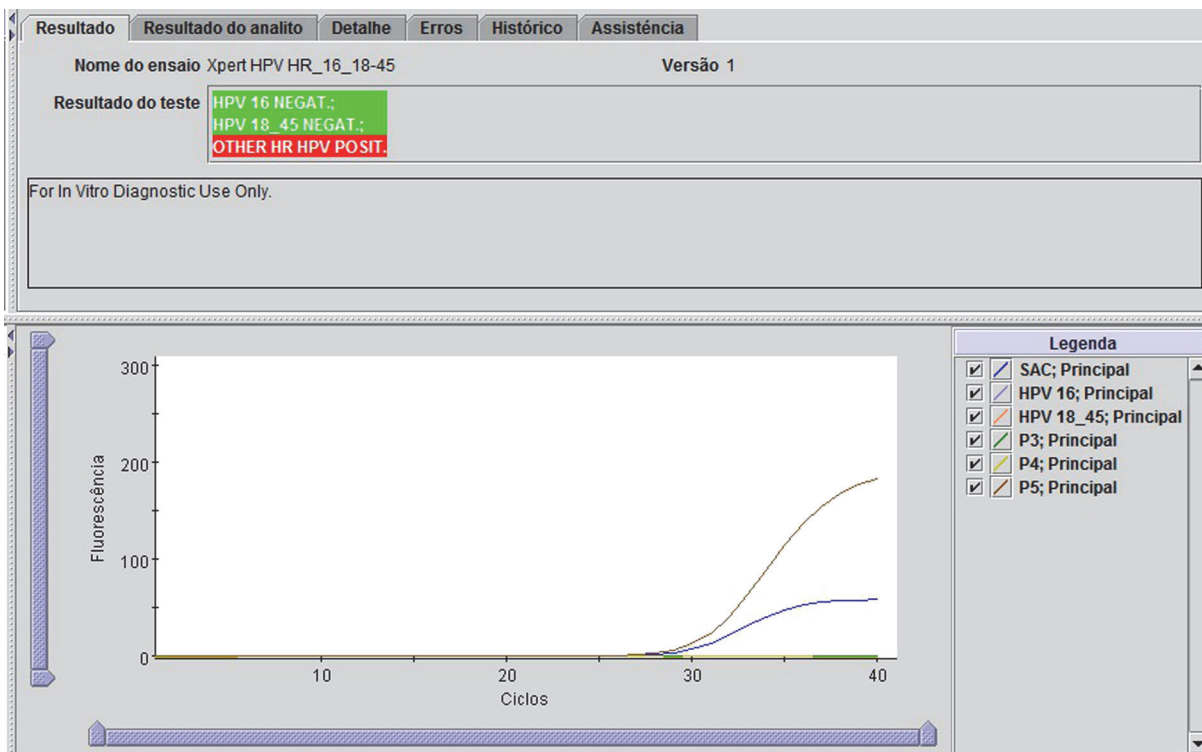


Figura 15. Negativo para HPV 16; Negativo para HPV 18-45; Positivo para Outros HPV de alto risco (resultado com o Xpert HPV HR_16_18-45 Assay)

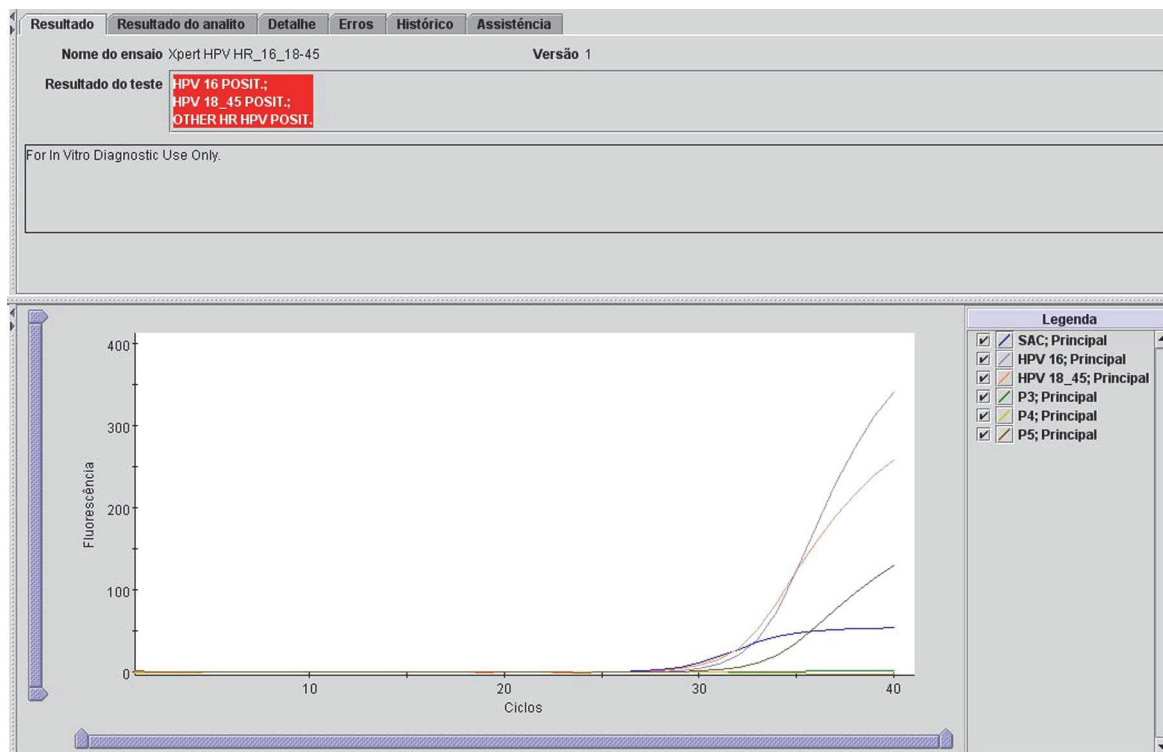


Figura 16. Positivo para HPV 16; Positivo para HPV 18-45; Positivo para Outros HPV de alto risco (resultado com o Xpert HPV HR_16_18-45 Assay)

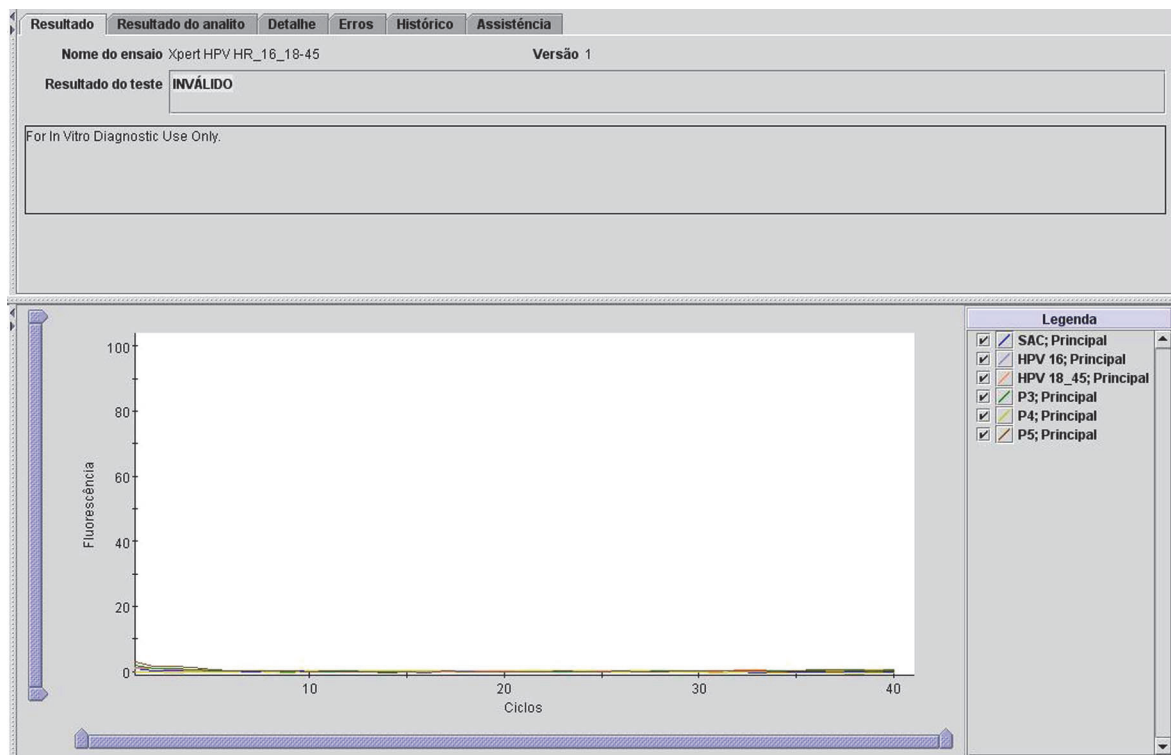


Figura 17. Inválido para HPV HR_16_18-45 (resultado com o Xpert HPV HR_16_18-45 Assay)

12 Motivos para repetir um ensaio

Se ocorrer algum dos resultados de teste seguintes, repita o teste de acordo com as instruções na Secção 13, Procedimento de repetição do teste.

- Um resultado **INVÁLIDO** indica que o SAC falhou, a amostra não foi devidamente processada, a PCR foi inibida ou a amostra não era a adequada.
- Um resultado **ERRO** indica que o teste foi abortado, possivelmente porque o tubo de reacção não foi adequadamente enchido, foi detectado um problema de integridade da sonda de reagentes, os limites de pressão foram excedidos, uma verificação da sonda falhou ou foi detectado um erro de posicionamento da válvula.
- **SEM RESULTADO** indica que os dados colhidos foram insuficientes. Por exemplo, o operador parou um teste que estava em curso ou a alimentação eléctrica falhou.

13 Procedimento de repetição do teste

- Repita o teste com um cartucho novo (não reutilize o cartucho). Ver Secção 8, Procedimento.
- Obtenha a amostra que sobrou.
- Se o volume de amostra restante for insuficiente ou se a repetição do teste continuar a produzir um resultado **INVÁLIDO**, **ERRO** ou **SEM RESULTADO**, colha uma amostra nova e repita o teste com um cartucho novo.

14 Limitações

- Dado que a detecção do HPV depende do ADN presente na amostra, a fiabilidade dos resultados depende da colheita, manuseamento e conservação correctos da amostra.
- O Xpert HPV Assay só foi validado com amostras cervicais colhidas em solução PreservCyt utilizando um dispositivo de escovilhão ou uma combinação de escova/espátula endocervical.
- Podem obter-se resultados de teste erróneos devido a colheita de amostras inadequada, erro técnico, confusão entre amostras ou porque o número de cópias de ADN de HPV é inferior ao limite de detecção do teste.
- O Xpert HPV Assay foi validado utilizando apenas os procedimentos detalhados neste folheto informativo. Qualquer modificação destes procedimentos pode alterar o desempenho do teste.
- Pode observar-se interferência com o ensaio na presença de: sangue inteiro ($\geq 0,25\%$ v/v), células mononucleares de sangue periférico (PBMC) ($\geq 1 \times 10^6$ células/ml), *Candida albicans* ($\geq 1 \times 10^8$ células/ml), creme anti-prurido Vagisil ($\geq 0,25\%$ p/v) ou gel hidratante Vagi Gard ($\geq 0,5\%$ p/v).
- A presença de cremes vaginais espessos ($> 0,25\%$ p/v) na amostra pode originar a interrupção do teste devido à pressão.
- Não foram determinados os efeitos de outras potenciais variáveis como corrimento vaginal, utilização de tampões, duche vaginal e variáveis de colheita de amostras.
- O Xpert HPV Assay fornece resultados qualitativos. Não pode ser estabelecida nenhuma correlação entre a magnitude do valor de Ct e o número de células numa amostra infectada.
- O desempenho do Xpert HPV Assay não foi avaliado em pacientes com idade inferior a 18 anos.
- O desempenho do Xpert HPV Assay não foi avaliado em mulheres que realizaram histerectomia.
- O Xpert HPV Assay não foi validado para a utilização com amostras de esfregaço vaginal colhidas com zaragatoa por um médico ou pela paciente.
- O Xpert HPV Assay não foi validado com pacientes actualmente em tratamento com agentes antimicrobianos para infecções como clamídia ou gonorreia.
- Como no caso de muitos testes de diagnóstico, os resultados do Xpert HPV Assay devem ser interpretados em conjunto com outros dados clínicos e de laboratório ao dispor do médico.
- O desempenho do Xpert HPV Assay não foi avaliado em indivíduos vacinados contra o HPV.
- O Xpert HPV Assay não foi avaliado em casos de suspeita de abuso sexual.
- A prevalência da infecção por HPV numa população pode afectar o desempenho.
- Amostras que contenham menos de 1 ml de solução PreservCyt são consideradas inadequadas para o Xpert HPV Assay.
- O desempenho do Xpert HPV Assay não foi avaliado em amostras cervicais pré-processadas para revisão citológica utilizando outros processadores além do ThinPrep 2000 Processor.
- Um resultado negativo no Xpert HPV Assay não exclui a possibilidade de anomalias citológicas ou de CIN2, CIN3 ou cancro futuros ou subjacentes.
- O Xpert HPV Assay detecta os genes E6/E7 do ADN viral dos serotipos de HPV de alto risco 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66 e 68. Este teste não detecta os genes E6/E7 do ADN de serotipos de HPV de baixo risco (p. ex., 6, 11, 42, 43, 44) dado que não existe utilidade clínica na avaliação da presença de serotipos de HPV de baixo risco no contexto do despiste do cancro do colo do útero.
- A detecção de ADN de HPV de alto risco depende do número de cópias presentes na amostra e pode ser afectada pelos métodos de colheita das amostras, por factores relacionados com os pacientes, pela fase da infecção e pela presença de substâncias interferentes.
- A utilização deste produto tem de estar limitada ao pessoal com formação na utilização do Xpert HPV Assay.
- Podem ocorrer resultados positivos falsos ou negativos falsos com este teste.
- Mutações ou polimorfismos nas regiões de ligação do iniciador ou da sonda podem afectar a detecção dos serotipos de HPV alvo, originando resultados falsos negativos.

15 Desempenho clínico

As características de desempenho clínico do Xpert HPV Assay foram avaliadas num estudo prospectivo e multicêntrico [sete instituições nos EUA] de duas fases, que incluiu mulheres de todas as idades encaminhadas para avaliação colposcópica com base em um ou mais resultados anormais prévios no teste Papanicolaou, um resultado anormal neste teste combinado com um resultado positivo num teste para HPV de alto risco ou outra suspeita clínica de cancro do colo do útero. Foram colhidas duas amostras em ThinPrep (Amostra A e Amostra B) de cada participante no momento da colposcopia, de modo a suportar a revisão citológica e um teste de comparação entre o Xpert HPV Assay e dois testes de HPV de alto risco aprovados pela FDA. As análises realizadas com estes métodos de comparação foram realizadas segundo os folhetos informativos respectivos de IVD nos EUA. A Amostra A foi processada para revisão citológica, seguida de análise pelo Xpert HPV Assay. A Amostra B foi reservada para a análise do HPV com os testes comparativos para o HPV e com o Xpert HPV Assay. Ambas as amostras foram colhidas mediante uma combinação de escova/espátula cervical, de acordo com o folheto informativo do ThinPrep. Foram colhidas pelo menos duas biopsias por “punch” de cada participante, assim como uma curetagem endocervical (endocervical curettage – ECC) para avaliações colposcópicas insatisfatórias com má visualização da junção escamocolumnar. A revisão anatomopatológica das amostras da biópsia e da curetagem endocervical ECC foi primeiro realizada localmente para fins de controlo convencional dos cuidados e da paciente, sendo depois analisada retrospectivamente, com ocultação, por um painel de três peritos em anatomia patológica para determinar um consenso final quanto ao estado da doença cervical. A Fase I do recrutamento incluiu 144 participantes (intervalo de idades: 20–70 anos) com 31 casos \geq CIN2. Os dados da Fase I foram utilizados para calcular um conjunto de valores de “cutoff” clínicos para o ensaio relativamente aos critérios de avaliação de doenças \geq CIN2 e \geq CIN3 utilizando uma abordagem que utiliza a curva da característica de operação do receptor (receiver operating characteristic - ROC). A Fase II do recrutamento incluiu 564 participantes (intervalo de idades: 18–75 anos) com 111 casos \geq CIN2. Os dados da Fase II foram utilizados para refinar os valores de “cutoff” clínicos relativamente aos critérios de avaliação de doenças \geq CIN2 e \geq CIN3 utilizando a curva ROC. Retrospectivamente, realizou-se uma análise de homogeneidade para confirmar a agrupabilidade dos resultados das Fases I e II; os resultados são agrupáveis entre as várias populações e parâmetros das amostras.

A sensibilidade e a especificidade clínicas do Xpert HPV Assay, o método de comparação 1 e o método de comparação 2 no conjunto de dados da Fase II, relativamente a estados patológicos \geq CIN2, encontram-se indicados na Tabela 2.

Tabela 2. Desempenho clínico relativamente a estados patológicos \geq CIN2^a

	Xpert HPV Assay (Amostra A) ^b	Xpert HPV Assay (Amostra B) ^c	Método de comparação 1 ^d	Método de comparação 2 ^e
Sensibilidade	(99/109) 90,8% (83,8 – 95,5%)	(100/110) 90,9% (83,9 – 95,6%)	(103/111) 92,8% (86,3 – 96,8%)	(96/111) 86,5% (78,7 – 92,2%)
Especificidade	(182/429) 42,4% (37,7 – 47,3%)	(194/446) 43,5% (38,8 – 48,2%)	(178/453) 39,3% (34,8 – 44,0%)	(212/451) 47,0% (42,3 – 51,7%)
Valor preditivo positivo	(99/346) 28,6% (23,8 – 33,7%)	(100/352) 28,4% (23,8 – 33,4%)	(103/378) 27,2% (22,8 – 32,0%)	(96/335) 28,7% (23,9 – 33,8%)
Valor preditivo negativo	(182/192) 94,8% (90,6 – 97,5%)	(194/204) 95,1% (91,2 – 97,6%)	(178/186) 95,7% (91,7 – 98,1%)	(212/227) 93,4% (89,3 – 96,3%)

- a. As estimativas pontuais são as indicadas. Os intervalos de confiança são IC de 95% obtidos pelo teste exacto de Fisher.
b. n = 538. Nove amostras de QNS para teste com Xpert; 17 amostras indeterminadas após teste inicial e repetição.
c. n = 556. Oito amostras indeterminadas após teste inicial e repetição.
d. n = 564.
e. n = 562. Duas amostras indeterminadas após teste inicial e repetição.

A sensibilidade e a especificidade clínicas do Xpert HPV Assay, do método de comparação 1 e do método de comparação 2 no conjunto de dados da Fase II, relativamente a estados patológicos \geq CIN3, encontram-se indicadas na Tabela 3.

Tabela 3. Desempenho clínico relativamente a estados patológicos \geq CIN3^a

	Xpert HPV Assay (Amostra A) ^b	Xpert HPV Assay (Amostra B) ^c	Método de comparação 1 ^d	Método de comparação 2 ^e
Sensibilidade	(68/72) 94,4% (86,4 – 98,5%)	(69/73) 94,5% (86,6 – 98,5%)	(71/74) 95,9% (88,6 – 99,2%)	(64/74) 86,5% (76,5 – 93,3%)
Especificidade	(187/465) 40,2% (35,7 – 44,8%)	(199/482) 41,3% (39,6 – 45,8%)	(182/489) 37,2% (32,9 – 41,7%)	(216/487) 44,4% (39,9 – 48,9%)
Valor preditivo positivo	(68/346) 19,7% (15,6 – 24,2%)	(69/352) 19,6% (15,6 – 24,1%)	(71/378) 18,8% (15,0 – 23,1%)	(64/335) 19,1% (15,0 – 23,7%)
Valor preditivo negativo	(187/191) 97,9% (94,7 – 99,4%)	(199/203) 98,0% (95,0 – 99,5%)	(182/185) 98,4% (95,3 – 99,7%)	(216/226) 95,6% (92,0 – 97,9%)

- a. As estimativas pontuais são as indicadas. Os intervalos de confiança são IC de 95% obtidos pelo teste exacto de Fisher.
b. n = 537. Nove amostras de QNS para teste com Xpert; 17 amostras indeterminadas após teste inicial e repetição; uma amostra não obteve consenso quanto a ser CIN2 ou CIN3.
c. n = 555. Oito amostras indeterminadas após teste inicial e repetição; uma amostra não obteve consenso quanto a ser CIN2 ou CIN3.
d. n = 563. Uma amostra não obteve consenso quanto a ser CIN2 ou CIN3.
e. n = 561. Duas amostras indeterminadas após teste inicial e repetição; uma amostra não obteve consenso quanto a ser CIN2 ou CIN3.

A avaliação da concordância analítica no conjunto de dados da Fase II demonstrou uma concordância global entre o Xpert HPV Assay e ele próprio (Amostra A vs. Amostra B; n = 533 comparações emparelhadas) de 94,6% (IC 95% 92,3 - 96,3; valor de K de 0,88). A concordância global entre o Xpert HPV Assay (Amostra B) e o método de comparação 1 (n = 556 comparações emparelhadas) foi de 92,4% (IC 95% CI 89,9 – 94,5; valor de K de 0,83). A concordância global entre o Xpert HPV Assay (Amostra B) e o método de comparação 2 (n = 554 comparações emparelhadas) foi de 87,4% (IC 95% CI 84,3 – 90,0; valor de K de 0,73).

O desempenho clínico do Xpert HPV Assay para as amostras do teste Papanicolaou A e B, ordenadas por grupo etário das participantes, foi determinado para estados patológicos \geq CIN2 e \geq CIN3. O desempenho clínico relativamente a doença \geq CIN2 é apresentado na Tabela 4 e o desempenho clínico relativamente a doença \geq CIN3 é apresentado na Tabela 5.

Tabela 4. Desempenho do Xpert HPV Assay vs. doença \geq CIN2, por grupo etário

Grupo etário	Pap A		Pap B	
	Sensibilidade (IC de 95%)	Especificidade (IC de 95%)	Sensibilidade (IC de 95%)	Especificidade (IC de 95%)
20–29	95,7% (85,5 – 99,5)	25,8% (19,1 – 33,4)	95,7% (85,5 – 99,5)	32,1% (24,9 – 39,9)
30–39	91,7% (77,5 – 98,2)	46,4% (38,3 – 54,6)	94,6% (81,8 – 99,3)	44,3% (36,4 – 52,4)
40–49	88,9% (65,3 – 98,6)	44,8% (32,6 – 57,4)	88,9% (65,3 – 98,6)	45,8% (34,0 – 58,0)
50–59	71,4% (29,0 – 96,3)	62,8% (46,7 – 77,0)	71,4% (29,0 – 96,3)	64,4% (48,8 – 78,1)
\geq 60	100% (2,5 – 100)	33,3% (9,9 – 65,1)	100% (2,5 – 100)	30,8% (9,1 – 61,4)

Tabela 5. Desempenho do Xpert HPV Assay vs. doença \geq CIN3, por grupo etário

Grupo etário	Pap A		Pap B	
	Sensibilidade (IC de 95%)	Especificidade (IC de 95%)	Sensibilidade (IC de 95%)	Especificidade (IC de 95%)
20–29	96,7% (82,8 – 99,9)	23,8% (17,7 – 30,9)	100% (88,4 – 100)	30,1% (23,4 – 37,5)
30–39	90,9% (70,8 – 98,9)	43,1% (35,5 – 51,0)	91,3% (72,0 – 98,9)	40,7% (33,3 – 48,4)
40–49	92,9% (66,1 – 99,8)	43,7% (31,9 – 56,0)	92,9% (66,1 – 99,8)	44,7% (33,3 – 56,6)
50–59	100% (39,8 – 100)	62,2% (46,5 – 76,2)	100% (39,8 – 100)	63,8% (48,5 – 77,3)
\geq 60	100% (2,5 – 100)	33,3% (9,9 – 65,1)	100% (2,5 – 100)	30,8% (9,1 – 61,4)

Foi realizado um segundo estudo clínico para avaliar o desempenho do Xpert HPV Assay em populações mais semelhantes às populações alvo onde são organizados programas de rastreio do cancro do colo do útero. Tratou-se de um estudo multicêntrico de comparação de métodos, baseado em amostras residuais colhidas em PreservCyt obtidas de mulheres entre os 20 e os 60 anos que participaram em programas de rastreio do cancro do colo do útero organizados no Reino Unido. Com raras exceções, todas as amostras obtidas neste estudo foram colhidas com um dispositivo de escovilhão, tal como indicado no folheto informativo do ThinPrep. Os mesmos dois métodos de comparação foram incluídos neste estudo, tendo o método de comparação 1 sido o principal e o método de comparação 2 o secundário. A dimensão das amostras para o estudo foi calculada para dois grupos etários (mulheres dos 20 aos 29 e mulheres dos 30 aos 60), que apoiariam a avaliação de concordância (com IC de 95%) e o cálculo de um valor de K (com IC de 95%) relativamente a cada método de comparação.

Neste estudo, as amostras residuais com resultados de avaliação citológica foram divididas em três alíquotas para avaliação com o Xpert HPV Assay e com os métodos de comparação 1 e 2. A sequência de recolha de alíquotas para análise com o Xpert HPV e com o método de comparação 1 foi aleatória, de maneira a que ~50% das primeiras alíquotas fossem utilizadas para a análise do Xpert HPV e 50% das primeiras alíquotas fossem utilizadas para o método de comparação 1. A terceira alíquota foi sempre reservada para análise com o método de comparação 2. Independentemente da sequência das alíquotas, o frasco de amostra de origem foi misturado antes da colheita de cada alíquota para assegurar a homogeneidade da amostra. A análise com os métodos de comparação realizou-se segundo os respectivos folhetos informativos europeus (CE-IVD) que, em termos de procedimento, eram idênticos aos folhetos informativos dos EUA (US-IVD); a análise dos resultados utiliza os parâmetros de corte provenientes dos folhetos informativos US-IVD.

A análise dos dados do estudo demonstrou uma concordância substancial entre o Xpert HPV Assay e o método de comparação 1. Esta concordância é independente da categoria etária das participantes (idades 20–29 e idades 30–60) e do estado da citologia [normal (NILM, Negativa para lesão intra-epitelial ou malignidade) e pior do que o normal (pior do que NILM)]. A Tabela 6 resume a concordância entre o Xpert HPV Assay e o método de comparação 1.

Tabela 6. Concordância entre o Xpert HPV Assay e o método de comparação 1

Comparação da concordância	n	Concordância positiva percentual	Concordância negativa percentual	Concordância global percentual	Valor de K
Global^a	3438	90,4% (87,9 – 92,6%)	97,1% (96,4 – 97,7%)	95,8% (95,1 – 96,5%)	0,87 (0,85 – 0,89)
Idades 20–29	829	92,9% (89,7 – 95,4%)	94,9% (92,5 – 96,7%)	94,1% (92,3 – 95,6%)	0,88 (0,84 – 0,91)
Idades 30–60	2609	87,8% (83,8 – 91,2%)	97,6% (96,9 – 98,2%)	96,4% (95,6 – 97,0%)	0,84 (0,81 – 0,87)
Citologia Normal	2798	85,3% (81,0 – 88,9%)	97,4% (96,6 – 98,0%)	95,9% (95,1 – 96,6%)	0,81 (0,78 – 0,84)
Citologia > Normal	441	96,7% (93,9 – 98,4%)	90,8% (84,9 – 95,0%)	94,8% (92,3 – 96,7%)	0,88 (0,83 – 0,93)

a. As estimativas pontuais são as indicadas. Os intervalos de confiança são IC de 95% obtidos pelo teste exacto de Fisher.

A análise dos dados do estudo demonstra boa concordância entre o Xpert HPV Assay e o método de comparação 2. Esta concordância é independente da categoria etária das participantes (idades 20–29 e idades 30–60) e do estado da citologia [normal (NILM) e pior do que o normal (pior do que NILM)]. A Tabela 7 resume a concordância entre o Xpert HPV Assay e o método de comparação 2.

Tabela 7. Concordância entre o Xpert HPV Assay e o método de comparação 2

Comparação da concordância	n	Concordância positiva percentual	Concordância negativa percentual	Concordância global percentual	Valor de K
Global^a	3313	84,5% (81,5 – 87,1%)	96,3% (95,5 – 97,0%)	93,9% (93,0 – 94,7%)	0,81 (0,79 – 0,84)
Idades 20–29	835	94,2% (91,1 – 96,5%)	93,1% (90,5 – 95,1%)	93,5% (91,6 – 95,1%)	0,87 (0,83 – 0,90)
Idades 30–60	2478	75,5% (70,7 – 79,9%)	97,1% (96,3 – 97,8%)	94,0% (93,0 – 94,9%)	0,75 (0,71 – 0,79)
Citologia normal	2798	76,9% (72,3 – 82,2%)	96,5% (95,5 – 97,2%)	94,0% (93,0 – 95,0%)	0,73 (0,69 – 0,77)
Citologia > normal	441	92,5% (89,0 – 95,1%)	93,5% (87,6 – 97,2%)	92,7% (89,9 – 95,0%)	0,83 (0,77 – 0,88)

a. As estimativas pontuais são as indicadas. Os intervalos de confiança são IC de 95% obtidos pelo teste exacto de Fisher.

Como medida adicional da concordância analítica, avaliou-se neste estudo a taxa de positividade para HPV segundo o estado citológico. Em amostras de dimensão semelhante provenientes das amostras avaliadas por cada método, as taxas de positividade para HPV apresentadas pelos três métodos de HPV são semelhantes e estão geralmente em concordância com as taxas de positividade para HPV referenciadas noutra populações com baixa prevalência da patologia (p. ex., no ALTS Study). A Tabela 8 apresenta as taxas de positividade para HPV medidas por cada método de acordo com o estado citológico.

Tabela 8. Positividade para HPV por método e estado citológico

Categoria (Reino Unido/EUA)	Xpert HPV Assay			Método de comparação 1			Método de comparação 2		
	Total	Pos	% Pos	Total	Pos	% Pos	Total	Pos	% Pos
Normal/NILM	3003	383	12,8	2968	363	12,2	2882	366	12,7
“Borderline”/ASC-US	219	113	51,6	218	110	50,5	221	123	55,7
Discariose de baixo grau (ligeira)/LSIL ^a	151	118	78,1	151	121	80,1	152	129	84,9
Discariose de alto grau (moderada)/HSIL ^b	30	30	100,0	29	28	96,6	31	31	100,0
Discariose de alto grau (grave)/HSIL	36	36	100,0	36	35	97,2	36	36	100,0
Outro	17	11	64,7	17	11	64,7	17	10	58,8
Total	3456	691	20,0	3419	668	19,5	3339	695	20,8

a. Lesão intraepitelial escamosa de baixo grau.

b. Lesão intraepitelial escamosa de alto grau.

Um subconjunto [249/3538 (7,8%)] das amostras incluídas neste estudo foi pré-tratado com ácido acético glacial (AAG) antes da avaliação de HPV com o Xpert HPV Assay e com os métodos de comparação. Uma instituição utilizou uma versão modificada de uma metodologia disponível no mercado [71/1169 (6,1%); CytoLyt, Hologic, Crawley, Reino Unido, UE), enquanto outras duas instituições recorreram a procedimentos desenvolvidos no laboratório com base no método de Espositis [153/1170 (13,1%) e 25/1198 (2,1%), respectivamente].⁹⁻¹¹ O Xpert HPV Assay demonstra boa concordância com os métodos de comparação independentemente do pré-tratamento com AAG. Ver Tabela 9 e Tabela 10.

Tabela 9. Concordância entre o Xpert HPV Assay e o método de comparação 1 em amostras pré-tratadas com AAG^a

Comparação da concordância	n	Concordância positiva percentual	Concordância negativa percentual	Concordância global percentual	Valor de K
Pré-tratadas com AAG	243	94,2% (85,8 – 98,4%)	96,6% (92,6 – 98,7%)	95,9% (92,6 – 98,0%)	0,90 (0,84 – 0,96)
Não tratadas	3180	89,7% (87,0 – 92,0%)	97,2% (96,5 – 97,8%)	95,8% (95,0 – 96,5%)	0,86 (0,84 – 0,89)

a. As estimativas pontuais são as indicadas. Os intervalos de confiança são IC de 95% obtidos pelo teste exacto de Fisher.

Tabela 10. Concordância entre o Xpert HPV Assay e o método de comparação 2 em amostras pré-tratadas com AAG^a

Comparação da concordância	n	Concordância positiva percentual	Concordância negativa percentual	Concordância global percentual	Valor de K
Pré-tratadas com AAG	246	87,7% (97,9 – 94,2%)	94,2% (89,6 – 97,2%)	92,3% (88,2 – 95,3%)	0,82 (0,74 – 0,90)
Não tratadas	3067	84,1% (81,0 – 86,9%)	96,5% (95,7 – 97,2%)	94,0% (93,1 – 94,8%)	0,81 (0,78 – 0,84)

a. As estimativas pontuais são as indicadas. Os intervalos de confiança são IC de 95% obtidos pelo teste exacto de Fisher.

16 Limite de detecção

A sensibilidade analítica ou limite de detecção (LD) do Xpert HPV Assay foi avaliada utilizando:

1. linhas celulares positivas para HPV: HPV 16 (SiHa), HPV 18 (HeLa S3), HPV 45 (MS751) e HPV 68 (ME180) em solução PreservCyt contendo em fundo uma linha celular negativa para HPV (C33A) e
2. plasmídeos de ADN dos 14 serotipos alvo de HPV de alto risco num fundo de ADN genómico feminino humano.

16.1 Linhas celulares positivas para HPV

O LD para HPV16, HPV18, HPV45 e HPV68 foi calculado analisando réplicas de 20 num mínimo de seis concentrações de cada uma das linhas celulares utilizando um lote de reagente do Xpert HPV Assay. Os LD foram calculados por análises proibit. Os alegados LD foram confirmados analisando pelo menos 20 réplicas diluídas até às concentrações estimadas como LD utilizando três lotes de reagentes do Xpert HPV Assay. Por definição, o LD alegado corresponde à concentração a que 95% de pelo menos 20 réplicas por lote de reagente são positivas (Tabela 11).

16.2 Plasmídeos de ADN de HPV

O LD de 14 plasmídeos de ADN de HPV de alto risco foi confirmado com um mínimo de 60 réplicas entre dois operadores e três lotes de reagente. Os testes decorreram em dias diferentes. O nível (em cópias por reacção de PCR) a que a taxa global de positivos verdadeiros é estatisticamente superior a 95%, agrupados a partir de três lotes de reagentes, foi determinado para cada um dos plasmídeos de ADN de HPV (Tabela 12).

Tabela 11. Limite de detecção: Linhas celulares positivas para HPV

Serotipo de HPV	Cálc. LD por probit (células/ml)	IC de 95%	IC de 99,9%	Nível de confiança (células/ml)	Lote de reagente	Pos de 20 rép.	Méd. Ct (alvo)	DP Ct (alvo)	Méd. Ct global (alvo)	DP Ct global (alvo)	% Pos	% pos. global
16	71	55 – 87	52 – 127	122	Lote 1	19	35,6	1,0	35,3	1,2	95	95,0
					Lote 2	19	35,0	1,4			95	
					Lote 3	19	35,4	1,2			95	
18	46	35 – 56	33 – 90	53	Lote 1	20	36,0	1,2	35,6	1,1	100	96,7
					Lote 2	19	35,3	0,9			95	
					Lote 3	19	35,6	1,1			95	
45	180	150 – 211	142 – 266	173	Lote 1	19	37,0	1,2	37,1	1,1	95	96,7
					Lote 2	20	37,0	1,2			100	
					Lote 3	19	37,4	0,9			95	
68	267	231 – 304	221 – 366	366	Lote 1	20	35,9	0,6	36,0	0,6	100	96,7
					Lote 2	19	35,9	0,7			95	
					Lote 3	20	36,2	0,5			100	

Tabela 12. Limite de detecção: Plasmídeos de ADN de HPV

Alvo	Nível de cópias testado	Contagem de amostras	FN	% Pos	IC de 95% unilateral inferior	Grande méd. Ct	DP Ct
HPV 35	15	60	0	100	95,1%	33,9	0,426
HPV 39	20	60	0	100	95,1%	36,5	0,352
HPV 45	10	100	0	100	97,0%	35,6	0,533
HPV 51	10	100	0	100	97,0%	35,1	0,587
HPV 52	15	60	0	100	95,1%	34,7	0,543
HPV 56	15	101	0	100	97,1%	36,6	0,525
HPV 58	20	60	0	100	95,1%	33,7	0,412
HPV 59	10	100	0	100	97,0%	35,1	0,618
HPV 66	30	60	0	100	95,1%	36,6	0,33
HPV 68	15	100	0	100	97,0%	36,9	0,445
HPV 16	10	100	0	100	97,0%	35,1	0,559
HPV 18	10	141	1	99,3	96,7%	35,9	0,585
HPV 31	10	100	0	100	97,0%	34,2	0,529
HPV 33	10	100	0	100	97,0%	35,0	0,642

17 Reprodutibilidade e precisão do ensaio

A precisão e a reprodutibilidade do Xpert HPV Assay foram avaliadas num estudo multicêntrico com a duração de 12 dias, em que dois operadores em cada uma de três instituições testaram com ocultação um painel de precisão de 16 membros duas vezes ao dia. Este painel foi constituído por amostras produzidas (células de cultura contendo diferentes serotipos de HPV num fundo de células de cultura que não continham HPV) e amostras clínicas agrupadas em PreservCyt. Cada instituição utilizou uma configuração diferente do sistema GeneXpert (uma instituição utilizou apenas GX IV, uma instituição utilizou um GX XVI e uma instituição utilizou um Infinity 80). Utilizaram-se três lotes de Xpert HPV Assay para cada período de quatro dias de testes do estudo. No fim do estudo, cada membro do painel de precisão tinha sido avaliado 144 vezes. Os dados são resumidos por canal de ensaio, representado por 16 para o canal HPV 16, 18/45 para o canal HPV 18 e HPV 45, 31 para o canal HPV 31 e outros serotipos, 51 para o canal HPV 51 e HPV 59, e 39 para o canal HPV 39 e outros serotipos. Ver Tabela 13 e Tabela 14.

**Tabela 13. Reprodutibilidade e precisão do Xpert HPV Assay:
Descrição do painel e concordância positiva ^{a, b}**

Amostra (alvo e concentração relativa)	Canal de ensaio	Local 1		Local 2		Local 3		Concordância total
		Op1	Op2	Op1	Op2	Op1	Op2	
Amostra produzida (HPV 16 Alto Negativo)	16	83,3% (20/24)	91,7% (22/24)	87,5% (21/24)	82,6% (19/23)	100% (23/23)	83,3% (20/24)	88,0% (125/142)
	18/45	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (23/23)	100% (23/23)	100% (24/24)	100% (142/142)
	31	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (23/23)	100% (23/23)	100% (24/24)	100% (142/142)
	51	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (23/23)	100% (23/23)	100% (24/24)	100% (142/142)
	39	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (23/23)	100% (23/23)	100% (24/24)	100% (142/142)
Amostra produzida (HPV 16 Baixo Positivo)	16	87,5% (21/24)	95,7% (22/23)	95,8% (23/24)	100% (23/23)	95,8% (23/24)	95,8% (23/24)	95,1% (135/142)
	18/45	100% (24/24)	100% (23/23)	100% (24/24)	100% (23/23)	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (142/142)
	31	100% (24/24)	100% (23/23)	100% (24/24)	100% (23/23)	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (142/142)
	51	100% (24/24)	100% (23/23)	100% (24/24)	100% (23/23)	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (142/142)
	39	100% (24/24)	100% (23/23)	100% (24/24)	100% (23/23)	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (142/142)
Amostra produzida (HPV 16 Moderado Positivo)	16	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (21/21)	95,8% (23/24)	100% (24/24)	99,3% (140/141)
	18/45	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (21/21)	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (141/141)
	31	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (21/21)	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (141/141)
	51	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (21/21)	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (141/141)
	39	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (21/21)	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (141/141)

**Tabela 13. Reprodutibilidade e precisão do Xpert HPV Assay:
Descrição do painel e concordância positiva (Continuação)^{a, b}**

Amostra (alvo e concentração relativa)	Canal de ensaio	Local 1		Local 2		Local 3		Concordância total
		Op1	Op2	Op1	Op2	Op1	Op2	
Amostra produzida (HPV 18 Alto Negativo)	16	100% (24/24)	100% (22/22)	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (142/142)
	18/45	83,3% (20/24)	86,4% (19/22)	79,2% (19/24)	87,5% (21/24)	95,8% (23/24)	91,7% (22/24)	87,3% (124/142)
	31	100% (24/24)	100% (22/22)	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (142/142)
	51	100% (24/24)	100% (22/22)	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (142/142)
	39	100% (24/24)	100% (22/22)	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (142/142)
Amostra produzida (HPV 18 Baixo Positivo)	16	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (144/144)
	18/45	100% (24/24)	100% (24/24)	91,7% (22/24)	95,8% (23/24)	91,7% (22/24)	100% (24/24)	96,5% (139/144)
	31	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (144/144)
	51	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (144/144)
	39	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (144/144)
Amostra produzida (HPV 18 Moderado Positivo)	16	100% (24/24)	100% (23/23)	100% (23/23)	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (23/23)	100% (141/141)
	18/45	100% (24/24)	100% (23/23)	100% (23/23)	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (23/23)	100% (141/141)
	31	100% (24/24)	100% (23/23)	100% (23/23)	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (23/23)	100% (141/141)
	51	100% (24/24)	100% (23/23)	100% (23/23)	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (23/23)	100% (141/141)
	39	100% (24/24)	100% (23/23)	100% (23/23)	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (23/23)	100% (141/141)
Amostra produzida (HPV 68 Alto Negativo)	16	100% (22/22)	100% (22/22)	100% (24/24)	100% (23/23)	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (139/139)
	18/45	100% (22/22)	100% (22/22)	100% (24/24)	100% (23/23)	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (139/139)
	31	100% (22/22)	100% (22/22)	100% (24/24)	100% (23/23)	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (139/139)
	51	100% (22/22)	100% (22/22)	100% (24/24)	100% (23/23)	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (139/139)
	39	90,9% (20/22)	95,5% (21/22)	100% (24/24)	91,3% (21/23)	91,7 (22/24)	91,7 (22/24)	93,5% (130/139)

**Tabela 13. Reprodutibilidade e precisão do Xpert HPV Assay:
Descrição do painel e concordância positiva (Continuação)^{a, b}**

Amostra (alvo e concentração relativa)	Canal de ensaio	Local 1		Local 2		Local 3		Concordância total
		Op1	Op2	Op1	Op2	Op1	Op2	
Amostra produzida (HPV 68 Baixo Positivo)	16	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (23/23)	100% (23/23)	100% (23/23)	100% (24/24)	100% (141/141)
	18/45	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (23/23)	100% (23/23)	100% (23/23)	100% (24/24)	100% (141/141)
	31	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (23/23)	100% (23/23)	100% (23/23)	100% (24/24)	100% (141/141)
	51	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (23/23)	100% (23/23)	100% (23/23)	100% (24/24)	100% (141/141)
	39	95,8% (23/24)	95,8% (23/24)	100% (23/23)	87,0% (20/23)	100% (23/23)	100% (24/24)	96,5% (136/141)
Amostra produzida (HPV 68 Moderado Positivo)	16	100% (22/22)	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (142/142)
	18/45	100% (22/22)	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (142/142)
	31	100% (22/22)	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (142/142)
	51	100% (22/22)	100% (24/24)	100% (24/24)	95,8% (23/24)	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (142/142)
	39	100% (22/22)	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (24/24)	95,8% (23/24)	99,3% (141/142)
Amostra produzida (HPV 16/45/68 Baixo Positivo)	16	100% (24/24)	100% (23/23)	95,8% (23/24)	95,8% (23/24)	95,7% (22/23)	100% (24/24)	97,9% (139/142)
	18/45	87,5% (21/24)	95,7% (22/23)	79,2% (19/24)	87,5% (21/24)	95,7% (22/23)	95,8% (23/24)	90,1% (128/142)
	31	100% (24/24)	100% (23/23)	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (23/23)	100% (24/24)	100% (142/142)
	51	100% (24/24)	100% (23/23)	100% (24/24)	95,8% (23/24)	100% (23/23)	100% (24/24)	99,3% (141/142)
	39	91,7% (22/24)	95,7% (22/23)	91,7% (22/24)	91,7% (22/24)	95,7% (22/23)	95,8% (23/24)	93,7% (133/142)
Amostra produzida (Negativo)	16	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (22/22)	100% (24/24)	100% (23/23)	100% (23/23)	100% (140/140)
	18/45	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (22/22)	100% (24/24)	100% (23/23)	100% (23/23)	100% (140/140)
	31	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (22/22)	100% (24/24)	100% (23/23)	100% (23/23)	100% (140/140)
	51	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (22/22)	100% (24/24)	100% (23/23)	100% (23/23)	100% (140/140)
	39	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (22/22)	100% (24/24)	100% (23/23)	100% (23/23)	100% (140/140)

**Tabela 13. Reprodutibilidade e precisão do Xpert HPV Assay:
Descrição do painel e concordância positiva (Continuação)^{a, b}**

Amostra (alvo e concentração relativa)	Canal de ensaio	Local 1		Local 2		Local 3		Concordância total
		Op1	Op2	Op1	Op2	Op1	Op2	
Amostra clínica agrupada (HPV 16, HPV 31)	16	50,0% (12/24)	20,8% (5/24)	33,3% (8/24)	18,2% (4/22)	8,3% (2/24)	20,8% (5/24)	25,4% (36/142)
	18/45	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (22/22)	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (142/142)
	31	20,8% (5/24)	41,7% (10/24)	37,5% (9/24)	50,0% (11/22)	20,8% (5/24)	33,3% (8/24)	33,8% (48/142)
	51	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (22/22)	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (142/142)
	39	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (22/22)	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (142/142)
Amostra clínica agrupada (HPV 18, HPV 39)	16	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (144/144)
	18/45	16,7% (4/24)	20,8% (5/24)	41,7% (10/24)	25,0% (6/24)	12,5% (3/24)	20,8% (5/24)	22,9% (33/144)
	31	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (144/144)
	51	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (144/144)
	39	4,2% (1/24)	4,2% (1/24)	0% (0/24)	8,3% (2/24)	0% (0/24)	0% (0/24)	2,8% (4/144)
Amostra clínica agrupada (HPV 42, HPV 51, HPV 59)	16	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (23/23)	95,8% (23/24)	100% (24/24)	99,3% (142/143)
	18/45	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (23/23)	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (143/143)
	31	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (23/23)	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (143/143)
	51	25,0% (6/24)	33,3% (8/24)	29,2% (7/24)	34,8% (8/23)	12,5% (3/24)	16,7% (4/24)	25,2% (36/143)
	39	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (23/23)	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (143/143)
Amostra clínica agrupada (HPV 52)	16	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (23/23)	100% (23/23)	100% (142/142)
	18/45	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (23/23)	100% (23/23)	100% (142/142)
	31	20,8% (5/24)	41,7% (10/24)	33,3% (8/24)	41,7% (10/24)	8,7% (2/23)	30,4% (7/23)	29,6% (42/142)
	51	95,8% (23/24)	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (23/23)	100% (23/23)	100% (142/142)
	39	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (23/23)	100% (23/23)	100% (142/142)

**Tabela 13. Reprodutibilidade e precisão do Xpert HPV Assay:
Descrição do painel e concordância positiva (Continuação)^{a, b}**

Amostra (alvo e concentração relativa)	Canal de ensaio	Local 1		Local 2		Local 3		Concordância total
		Op1	Op2	Op1	Op2	Op1	Op2	
Amostra clínica agrupada (Negativo)	16	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (22/22)	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (142/142)
	18/45	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (22/22)	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (142/142)
	31	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (22/22)	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (142/142)
	51	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (22/22)	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (142/142)
	39	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (22/22)	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (142/142)

- a. A concordância relativamente a amostras negativas e negativas altas é apresentada em % de negativas; a concordância relativamente a amostras positivas baixas e moderadas é apresentada em % de positivas.
- b. O estudo incluiu um total de 34 amostras indeterminadas: HPV 16 negat. alta(2); HPV 16 posit. baixa(2); HPV 18 posit. mod.(3); HPV 18 negat. alta(3); HPV 18 posit. mod.(3); HPV 68 negat. alta(5); HPV 68 posit. baixa(3); HPV 68 posit. mod.(2); HPV 16, 45, 68(2); AP [amostra produzida] negativa(4); HPV 16, 31(2); HPV 42, 51, 59(1); HPV 52(2); ACA [amostra clínica agrupada] negativa(2).

**Tabela 14. Reprodutibilidade do Xpert HPV Assay:
Variabilidade do Ct para os membros do painel^a**

Amostra(alvo e concentração relativa)	Canal de ensaio (analito específico)	n ^b	Ct médio	Entre instituições		Entre operadores		Entre lotes		Entre dias		Dentro do ensaio		Total	
				DP	CV (%)	DP	CV (%)	DP	CV (%)	DP	CV (%)	DP	CV (%)	DP	CV (%)
Amostra produzida (HPV 16 Alto Negativo)	16 (16)	12	38,4	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
Amostra produzida (HPV 16 Baixo Positivo)	16 (16)	135	35,4	0	0	0,605	1,7	0,425	1,2	0	0	1,003	2,8	1,246	3,5
Amostra produzida (HPV 16 Moderado Positivo)	16 (16)	140	34,0	0	0	0,288	0,8	0,211	0,6	0	0	0,972	2,9	1,036	3,0
Amostra produzida (HPV 18 Alto Negativo)	18/45 (18)	22	39,2	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
Amostra produzida (HPV 18 Baixo Positivo)	18/45 (18)	139	35,9	0	0	0,408	1,1	0,414	1,2	0	0	1,149	3,2	1,287	3,6
Amostra produzida (HPV 18 Moderado Positivo)	18/45 (18)	140	34,1	0	0	0	0	0,430	1,3	0,170	0,5	1,049	3,1	1,146	3,4
Amostra produzida (HPV 68 Alto Negativo)	39 (68)	116	39,5	0	0	0,811	2,1	0,296	0,7	0	0	1,025	2,6	1,340	3,4
Amostra produzida (HPV 68 Baixo Positivo)	39 (68)	141	36,2	0,055	0,2	0,362	1,0	0,099	0,3	0,265	0,7	0,703	1,9	0,843	2,3
Amostra produzida (HPV 68 Moderado Positivo)	39 (68)	142	34,7	0	0	0,060	0,2	0,196	0,6	0	0	0,789	2,3	0,815	2,3
Amostra produzida (HPV 16/45/68 Baixo Positivo)	16 (16)	140	35,4	0,042	0,1	0,497	1,4	0,124	0,4	0	0	1,171	3,3	1,278	3,6
	18/45 (45)	133	37,2	0	0	0	0	0,454	1,2	0	0	1,586	4,3	1,649	4,4
	39 (68)	141	36,4	0,056	0,2	0	0	0	0	0,280	0,8	0,876	2,4	0,922	2,5
Amostra produzida (Negativo (HMBS))	Negativo (HMBS)	140	28,9	0,126	0,4	0,323	1,1	0,115	0,4	0	0	0,714	2,5	0,802	2,8

**Tabela 14. Reprodutibilidade do Xpert HPV Assay:
Variabilidade do Ct para os membros do painel^a (Continuação)**

Amostra(alvo e concentração relativa)	Canal de ensaio (analito específico)	n ^b	Ct médio	Entre instituições		Entre operadores		Entre lotes		Entre dias		Dentro do ensaio		Total	
				DP	CV (%)	DP	CV (%)	DP	CV (%)	DP	CV (%)	DP	CV (%)	DP	CV (%)
Amostra clínica agrupada (HPV 16, HPV 31)	16 (16)	41	37,5	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
	31 (31)	97	38,2	0	0	0	0	0,356	0,9	0,453	1,2	1,411	3,7	1,524	4,0
Amostra clínica agrupada (HPV 18, HPV 39)	18 (16)	47	39,7	0,643	1,6	0	0	0	0	1,148	2,9	1,388	3,5	1,913	4,8
	39 (39)	61	39,8	0	0	0,741	1,9	0	0	0	0	1,197	3,0	1,408	3,5
Amostra clínica agrupada (HPV 42, HPV 51, HPV 59)	ND (42)	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
	51 (51)	92	38,9	0,452	1,2	0	0	0	0	0,088	0,2	1,348	3,5	1,424	3,7
	59 (59)	0	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
Amostra clínica agrupada (HPV 52)	31 (52)	82	38,2	0,307	0,8	0	0	0	0	0	0	2,738	7,2	2,756	7,2
Amostra clínica agrupada (Negativa)	Negativo (HMBS)	142	33,3	0,132	0,4	0	0	0,559	1,7	0	0	0,876	2,6	1,047	3,1

a. NA indica dados contínuos insuficientes para realizar uma análise ANOVA.

b. Resultados com valores do Ct diferentes de zero em 144.

18 Especificidade analítica

Testou-se com o Xpert HPV Assay um painel de 47 organismos, incluindo bactérias, fungos e vírus habitualmente encontrados no aparelho urogenital feminino, assim como 12 serotipos do Vírus do Papiloma Humano fortemente relacionados. Todos os organismos foram adicionados a células negativas para HPV (C33A) em solução PreservCyt e a células negativas para HPV com adição de células positivas para HPV 16 (SiHa) em três vezes o limite de detecção. Os organismos e as concentrações testadas encontram-se na Tabela 15. A especificidade analítica foi de 100% e nenhum dos organismos interferiu com a detecção do HPV 16.

Tabela 15. Painel de especificidade analítica

Organismo	Concentração testada	Organismo	Concentração testada
<i>Bacteriodes fragilis</i>	1 x 10 ⁸ UFC/ml	<i>Streptococcus agalactiae</i>	1 x 10 ⁸ UFC/ml
<i>Bifidobacterium adolescentis</i>	1 x 10 ⁸ UFC/ml	<i>Streptococcus pyogenes</i>	3 x 10 ⁶ UFC/ml
<i>Bifidobacterium breve</i>	1 x 10 ⁸ UFC/ml	<i>Trichomonas vaginalis</i>	1 x 10 ⁶ UFC/ml
<i>Candida albicans</i>	4 x 10 ⁶ células/ml	Adenovírus	1 x 10 ⁶ TCID ₅₀ /ml
<i>Candida glabrata</i>	1 x 10 ⁸ células/ml	Citomegalovírus (CMV)	1 x 10 ⁷ cópias/ml
<i>Chlamydia trachomatis</i>	1 x 10 ⁸ CE ^a /ml	Vírus de Epstein-Barr (EBV)	1 x 10 ⁷ cópias/ml
<i>Clostridium perfringens</i>	3 x 10 ⁷ UFC/ml	Vírus da Hepatite B (HBV)	3,6 x 10 ⁶ UI/ml
<i>Corynebacterium xerosis</i>	1 x 10 ⁷ células/ml	Vírus da Hepatite C (HCV)	7,62 x 10 ² UI/ml
<i>Enterobacter cloacae</i>	1 x 10 ⁸ UFC/ml	Vírus da imunodeficiência humana 1 (HIV-1)	1 x 10 ⁶ cópias/ml
<i>Enterococcus faecalis</i>	1 x 10 ⁸ UFC/ml	Vírus herpes simplex (HSV-1)	1 x 10 ⁷ cópias/ml
<i>Escherichia coli</i>	1 x 10 ⁸ UFC/ml	Vírus herpes simplex (HSV-2)	1 x 10 ⁷ cópias/ml
<i>Fusobacterium nucleatum</i>	8,7 x 10 ⁷ UFC/ml	Vírus do papiloma humano (HPV) 6	1,25 x 10 ⁷ cópias/ml

Tabela 15. Painel de especificidade analítica (Continuação)

Organismo	Concentração testada	Organismo	Concentração testada
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	1 x 10 ⁸ UFC/ml	HPV 11	1,25 x 10 ⁷ cópias/ml
<i>Lactobacillus acidophilus</i>	1 x 10 ⁷ células/ml	HPV 26	1,25 x 10 ⁷ cópias/ml
<i>Lactobacillus crispatus</i>	1 x 10 ⁷ células/ml	HPV 30	1,25 x 10 ⁷ cópias/ml
<i>Lactobacillus delbrueckii</i>	1 x 10 ⁷ células/ml	HPV 34	1,25 x 10 ⁷ cópias/ml
<i>Lactobacillus jensenii</i>	3 x 10 ⁷ UFC/ml	HPV 53	1,25 x 10 ⁷ cópias/ml
<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	1 x 10 ⁸ UFC/ml	HPV 67	1,25 x 10 ⁷ cópias/ml
<i>Peptostreptococcus anaerobius</i>	1 x 10 ⁸ UFC/ml	HPV 69	1,25 x 10 ⁷ cópias/ml
<i>Proteus mirabilis</i>	1 x 10 ⁸ UFC/ml	HPV 70	1,25 x 10 ⁷ cópias/ml
<i>Proteus vulgaris</i>	1 x 10 ⁸ UFC/ml	HPV 73	1,25 x 10 ⁷ cópias/ml
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	1 x 10 ⁸ UFC/ml	HPV 82	1,25 x 10 ⁷ cópias/ml
<i>Staphylococcus aureus</i>	1 x 10 ⁸ UFC/ml	HPV 85	1,25 x 10 ⁷ cópias/ml
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	3 x 10 ⁶ UFC/ml		

a. Corpos elementares.

19 Substâncias que interferem

As substâncias endógenas e exógenas potencialmente interferentes que podem estar presentes em amostras cervicais foram avaliadas relativamente ao desempenho do Xpert HPV Assay. As substâncias foram individualmente diluídas em células negativas para HPV com adição de células positivas para HPV 16 (SiHa) a três vezes o limite de detecção. As substâncias e as concentrações testadas encontram-se na Tabela 16. Verificou-se interferência com sangue total (0,25% v/v) na amostra de teste, mas não com qualquer outra das substâncias endógenas nas concentrações testadas indicadas. Não se observou interferência com qualquer das substâncias exógenas nas concentrações de teste indicadas, excepto com o creme anti-prurido Vagisil (0,25% p/v) e com o gel hidratante Vagi Gard (0,5% p/v). Os cremes espessos podem originar a interrupção do teste devido à pressão a concentrações superiores a 0,25% p/v na amostra testada.

Tabela 16. Substâncias que podem interferir

Substância	Concentração
Sangue total	0,25% v/v
Muco	0,15% v/v
Leucócitos (PBMC)	1 x 10 ⁵ células/ml
Creme anti-prurido Vasigil	0,25% p/v
Creme vaginal de clotrimazol	0,25% p/v
Creme hemorroidal Preparation H	0,25% p/v
Miconazol 3	0,25% p/v
Monistat 1	0,25% p/v
Creme para herpes labial Zovirax	0,25% p/v
Hidratante Vagisil	10% p/v
Gel hidratante Vagi Gard	0,5% p/v
Lubrificante pessoal KY Jelly	10% p/v
Duche Yeast Gard	10% v/v
Espuma contraceptiva vaginal Delfen	10% p/v
Duche medicamentoso de iodopovidona VH Essentials	10% v/v
Supositórios desodorizantes femininos Norforms	10% p/v

20 Contaminação cruzada (carry-over)

Foi realizado um estudo para demonstrar que os cartuchos GeneXpert independentes, de utilização única, impedem a contaminação por transferência (carry-over) para amostras negativas processadas no mesmo módulo GeneXpert após amostras positivas muito elevadas. O estudo consistiu numa amostra negativa processada no mesmo módulo GeneXpert imediatamente após uma amostra positiva muito alta de HPV 16 (suficientemente elevada para exceder 95% dos resultados obtidos das amostras de pacientes afectadas na população a quem se destina o teste). Este esquema de teste foi repetido 20 vezes em dois módulos GeneXpert, perfazendo um total de 42 processamentos, resultando em 20 amostras positivas e 22 negativas. Todas as 20 amostras positivas foram correctamente indicadas no relatório como positivas para HPV 16 e todas as 22 amostras negativas foram correctamente indicadas como negativas para HPV.

21 Referências

1. Walboomers JM, Jacobs MV, Manos MM, et al. Human papillomavirus is a necessary cause of invasive cervical cancer worldwide. *J Pathol.*1999; 189(1):12-19.
2. Division of STD Prevention (1999). Prevention of genital HPV infection and sequelae: report of an external consultants' meeting. Atlanta, GA: Centers for Disease Control and Prevention. Retrieved January 4, 2012.
3. Kjaer SK, van den Brule AJC, Paull G, et al. Type specific persistence of high risk human papillomavirus (HPV) as indicator of high grade cervical squamous intraepithelial lesions in young women: population based prospective follow up study. *BMJ.*2002; 325(7364): 572-579.
4. De Sanjose S, Quint WG, Alemany L, et al. 2010. Human papillomavirus genotype attribution in invasive cervical cancer: a retrospective cross-sectional worldwide study. *The Lancet.* 2010; 11(11): doi:10.1016/S1470-2045(10)70230-8.
5. Li N, Franceschi S, Howell-Jones R, Snijders PJF, Clifford GM. Human papillomavirus type distribution in 30,848 invasive cervical cancers worldwide: Variation by geographical region, histological type and year of publication. *Int J Cancer.* 2011;128: 927-935. doi:10.1002/ijc.25396.
6. Centers for Disease Control and Prevention. Biosafety in microbiological and biomedical laboratories. (Refer to latest edition.)
7. CLSI Publication M29. Protection of laboratory workers from occupationally acquired infections; Approved Guideline. (Refer to latest edition.)
8. International Air Transport Association. Dangerous Goods Regulations, 48th Edition. 2007.
9. Coleman DV, Chapman, PA. Preparatory techniques. In *Clinical Cytopathology*. London: Butterworths, 1989: 54.
10. Yam LT, Janckila AJ. A simple method of preparing smears from bloody effusions for cytodiagnosis. *Acta Cytol.* 1983; 27(2):114-118.
11. Bahr GF. Some considerations of basic cell chemistry. In *Compendium on Cytopreparative Techniques*. *Tutorials of Cytology.* 1974; 3rd Edition: 1.

22 Locais das sedes da Cepheid

Sede corporativa	Sede europeia
Cepheid 904 Caribbean Drive Sunnyvale, CA 94089-1189 EUA	Cepheid Europe SAS Vira Solelh 81470 Maurens-Scopont França
Telefone: +1 408.541.4191	Telefone: +33 563 825 300
Fax: +1 408.541.4192	Fax: +33 563 825 301
www.cepheid.com	www.cepheidinternational.com

23 Assistência Técnica















Antes de contactar a Assistência Técnica da Cepheid, reúna as seguintes informações:

- Nome do produto
- Número de lote
- Número de série do instrumento
- Mensagens de erro (se houver alguma)
- Versão de software e, caso se aplique, número de Service Tag (etiqueta de serviço) do Computador

Região	Telefone	E-mail:
EUA	+1 888.838.3222	TechSupport@cepheid.com
França	+33 563 825 319	Support@cepheideurope.com
Alemanha	+49 69 710 480 480	Support@cepheideurope.com
Reino Unido	+44 3303 332 533	Support@cepheideurope.com
África do Sul	+27 87 808 1600	Support@cepheideurope.com
Outros países da Europa, do Médio Oriente e de África	+33 563 825 319	Support@cepheideurope.com
Austrália, Nova Zelândia	+61 1800 107 884	Support@cepheideurope.com
Outros países não indicados acima	+1 408.400.8495	TechSupport@cepheid.com

As informações de contacto dos outros escritórios da Cepheid estão disponíveis no nosso sítio Web em www.cepheid.com ou www.cepheidinternational.com, no separador SUPPORT (Apoio). Seleccione a opção Contact Us (Contacte-nos).

24 Tabela de símbolos

Símbolo	Significado
	Número de catálogo
	Dispositivo médico para diagnóstico <i>in vitro</i>
	Não reutilizar
	Código do lote
	Consulte as instruções de utilização
	Cuidado
	Fabricante
	Contém suficiente para <n> testes
	Controlo
	Prazo de validade
	Marca CE – Conformidade Europeia
	Limites de temperatura
	Riscos biológicos
	Advertência



Cepheid AB
 Röntgenvägen 5
 SE-171 54 Solna
 Suécia



