

Xpert[®] HPV v2

REF GXHPV2-CE-10

Instruções de utilização

CE 2797 **IVD**

Declarações relativas a marcas registadas, patentes e direitos de autor

Cepheid[®], the Cepheid logo, GeneXpert[®], and Xpert[®] are trademarks of Cepheid, registered in the U.S. and other countries.

All other trademarks are the property of their respective owners.

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

© 2024 Cepheid.

Cepheid[®], o logótipo da Cepheid, GeneXpert[®], e Xpert[®] são marcas comerciais da Cepheid, registadas nos EUA e noutros países.

Todas as restantes marcas comerciais pertencem aos respetivos proprietários.

A AQUISIÇÃO DESTE PRODUTO ATRIBUI AO COMPRADOR O DIREITO NÃO TRANSFERÍVEL DE O UTILIZAR DE ACORDO COM ESTAS INSTRUÇÕES DE UTILIZAÇÃO. NENHUNS OUTROS DIREITOS SÃO ATRIBUÍDOS EXPRESSAMENTE, POR IMPLICAÇÃO OU POR PRECLUSÃO. ALÉM DISSO, NÃO SE CONFEREM NENHUNS DIREITOS DE REVENDA COM A AQUISIÇÃO DESTE PRODUTO.

© 2024 Cepheid.

Consulte uma descrição das alterações no Histórico de revisões.

Xpert[®] HPV v2

Apenas para utilização em diagnóstico *in vitro*.

1 Nome Proprietário

Xpert[®] HPV v2

2 Nome comum ou usual

Xpert HPV v2

3 Finalidade

3.1 Utilização Prevista

O teste Xpert[®] HPV v2, efetuado em sistemas GeneXpert[®], é um teste automático e qualitativo *in vitro* para a deteção da região E6/E7 do genoma do ADN viral proveniente do vírus do papiloma humano (HPV) de alto risco em amostras de doentes. O teste realiza a amplificação múltipla do ADN alvo por reação em cadeia da polimerase (PCR — Polymerase Chain Reaction) em tempo real de 14 serótipos de HPV de alto risco numa só análise. O Xpert HPV v2 identifica especificamente os serótipos HPV 16 e HPV 18/45 em dois canais de deteção e apresenta num resultado agrupado o relatório sobre 11 outros serótipos 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 análise citológica foram também validadas para utilização com o teste Xpert HPV v2.

- O teste Xpert HPV v2 pode ser utilizado com uma amostra de Papanicolau para avaliar a presença ou ausência dos genótipos 16 e 18/45 e de outros genótipos de HPV de alto risco em mulheres adultas que apresentem um risco acrescido de desenvolver cancro do colo do útero ou doença de alto grau.
- O teste Xpert HPV v2 pode ser utilizado como teste de rastreio primário de primeira linha para identificar mulheres adultas com risco acrescido de desenvolver cancro do colo do útero ou a presença de doença de alto grau.

Esta informação, em conjunto com a avaliação que o médico faz da história clínica da doente, outros fatores de risco e orientações profissionais, pode ser utilizada para orientar o controlo da doente.

3.2 Utilizador/ambiente previsto

O teste Xpert HPV v2 destina-se a ser efetuado por profissionais de saúde com formação na utilização do teste. Este teste destina-se a ser utilizado num ambiente laboratorial.

4 Resumo e explicação

A infeção persistente pelo 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 tem sido implicada em mais de 99% dos cancros do colo do útero, a nível mundial. Calcula-se que o HPV seja responsável por mais de 90% dos cancros do colo do útero.¹ O HPV é um pequeno vírus não encapsulado, com ADN de cadeia dupla e um genoma de cerca de 8000 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 respetivas 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 das 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”, exceto indicação em contrário.

5 Princípio do Procedimento

O teste Xpert HPV v2 é um teste automatizado para a deteção qualitativa e a diferenciação do ADN de HPV. O teste é realizado nos sistemas do instrumento GeneXpert® da Cepheid.

Os sistemas do instrumento GeneXpert automatizam e integram o processamento das amostras, a extração e amplificação de ácidos nucleicos e a deteção das sequências alvo em amostras clínicas utilizando a PCR em tempo real. Os sistemas são constituídos por um instrumento, um computador pessoal 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 de PCR e realizam os processos de extração de amostras e PCR. Dado que os cartuchos são independentes, a contaminação cruzada entre amostras é minimizada. Para obter uma descrição completa dos sistemas, consulte o *Manual do utilizador do sistema GeneXpert Dx* ou o *Manual do utilizador do sistema GeneXpert Infinity*.

O teste Xpert HPV v2 inclui reagentes para a deteção do HPV de alto risco. O teste Xpert HPV v2 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 v2. 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 detetam 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.

O teste Xpert HPV v2 contém primers e sondas para a deteção de genótipos específicos ou resultados combinados, como se segue: “SAC” para o controlo de adequação da amostra, HPV 16 para HPV 16, “HPV 18_45” para o resultado agrupado HPV 18/45, “P3” para o resultado agrupado de qualquer um dos serotipos de HPV 31, 33, 35 52, ou 58, “P4” para o resultado agrupado dos serotipos de HPV 51 ou 59, e “P5” para o resultado agrupado de qualquer um dos serótipos de HPV 39, 56, 66 ou 68.

6 Reagentes e Instrumentos

6.1 Materiais fornecidos

O kit do Xpert HPV v2 (GXHPV2-CE-10) contém reagentes suficientes para processar 10 amostras de controlo de qualidade e/ou amostras clínicas.

O kit contém o seguinte:

Cartuchos Xpert HPV v2		10
Componente/Reagente	Princípio ativo	Quantidade
Esferas (liofilizadas)	Taq ADN polimerase <50 U/esfera	2 por cartucho
	Primers e sondas <0,001%	
	dNTP <0,05%	
	Primers e sondas <0,001%	
	Estabilizador de proteínas <0,5% (origem bovina)	
Reagente	Agente quelante <0,05%	2 ml por cartucho
	Tampão Tris <0,5%	
	Detergente <0,2%	
	Sal 1 <0,3%	
	Sulfato de amónio <0,3%	
	Sal 2 <0,1%	

O kit contém os seguintes ingredientes:

Componentes do kit

Pipetas de transferência descartáveis de 1 ml

1 embalagem de 10 por kit

CD

1 por kit

- Ficheiros de definição do teste (Assay Definition Files, ADF)
- Instruções para importar o ADF para o software GeneXpert
- Instruções de utilização

Nota

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

Nota

O estabilizador de proteínas (origem bovina) presente nos grânulos deste produto foi produzido e fabricado exclusivamente a partir de plasma bovino proveniente dos Estados Unidos. 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 de origem animal.

6.2 Conservação e manuseamento

- Armazene os cartuchos do teste Xpert HPV v2 a 2 °C–28 °C até ao prazo de validade indicado no rótulo.
- Abra a tampa do cartucho apenas quando estiver tudo pronto para realizar o teste.

- Não utilize um cartucho com fuga.
- Não utilize um cartucho que tenha sido congelado previamente.
- Não utilize cartuchos com um prazo de validade expirado.

6.3 Materiais necessários, mas não fornecidos

- Amostras cervicais colhidas em PreservCyt com um dispositivo de escovilhão ou uma combinação de escova/espátula
- GeneXpert Dx System ou GeneXpert Infinity System (o número de catálogo varia consoante a configuração): Instrumento GeneXpert, computador com software proprietário GeneXpert versão 4.3 ou superior (sistemas GeneXpert Dx) ou Xpertise 6.1 ou superior (sistema GeneXpert Infinity), leitor de código de barras e manual do utilizador do sistema GeneXpert apropriado.
- Impressora (caso necessite de uma impressora, contacte a assistência técnica da Cepheid para tratar da aquisição de uma impressora recomendada.)
- Lixívia ou hipoclorito de sódio
- Etanol ou etanol desnaturado

7 Advertências e precauções

- Apenas para utilização em diagnóstico *in vitro*.
- Podem estar presentes microrganismos patogênicos 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. Estão disponíveis orientações para o manuseamento de amostras nos Centers for Disease Control and Prevention (Centros de Controlo e Prevenção de Doenças) dos EUA e no Clinical and Laboratory Standards Institute (Instituto de Normas Clínicas e Laboratoriais).^{6,7}
- Siga os procedimentos de segurança da sua instituição para trabalhar com produtos químicos e manusear amostras biológicas.
- Amostras biológicas, dispositivos de transferência e cartuchos usados devem ser considerados como potenciais transmissores de agentes infecciosos que exigem tomar as precauções habituais. Siga os procedimentos relativos a resíduos ambientais da sua instituição para realizar a eliminação correta de cartuchos usados e reagentes não usados. Estes materiais podem apresentar características de resíduos químicos perigosos que exigem procedimentos de eliminação nacionais ou regionais específicos. Se as regulamentações nacionais ou regionais não disponibilizarem uma indicação clara sobre a eliminação correta, as amostras biológicas e os cartuchos usados devem ser eliminados de acordo com as diretrizes relativas ao manuseamento e à eliminação de resíduos médicos da OMS (Organização Mundial da Saúde).
- 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.
- Não substitua os reagentes do Xpert HPV v2 por outros reagentes.
- Não abra a tampa do cartucho Xpert HPV v2, exceto ao adicionar a amostra.
- Não utilize um cartucho que tenha 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 ou no rótulo de código de barras do cartucho.
- Não utilize um cartucho que tenha um tubo de reação danificado.
- Cada cartucho de utilização única do Xpert HPV v2 é utilizado para processar apenas um teste. Não reutilize cartuchos processados.
- A pipeta descartável de utilização única é utilizada para transferir apenas uma amostra. Não reutilize pipetas descartáveis usadas.
- Não utilize um cartucho que tenha sido derrubado após a adição da amostra.
- Use batas de laboratório lavadas 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 ou hipoclorito de sódio na diluição 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.
- Devem ser aplicadas medidas de segurança no caso de salpicos que possam ocorrer durante a utilização de lixívia e são aconselhadas instalações adequadas para a lavagem dos olhos e da pele para tratar essas ocorrências.
- Para obter uma descrição completa do sistema de instrumento, consulte o Manual do utilizador do sistema GeneXpert Dx ou o Manual do utilizador do sistema GeneXpert Infinity.

8 Riscos químicos^{9,10}

Os ingredientes não são considerados perigosos no âmbito das diretivas ou regulamentos da UE relativos à classificação e rotulagem de substâncias ou misturas ou do Sistema Mundial Harmonizado de Classificação e Rotulagem de Produtos Químicos.

9 Colheita, transporte e conservação de amostras

- **Colheita de amostras**

As amostras cervicais colhidas em solução PreservCyt foram validadas para a utilização com o teste Xpert HPV v2. 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 cervicais tem de obedecer aos regulamentos locais, nacionais e internacionais para o transporte de agentes etiológicos.

- **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.

10 Procedimento

Importante Inicie o teste dentro de 30 minutos após a adição da amostra ao cartucho.

10.1 Preparar a amostra

Após a mistura da amostra cervical, pipete um mínimo de 1 ml de amostra diretamente para o cartucho de teste (consulte a secção 12.2).

- Misture a amostra cervical invertendo suavemente o frasco de amostra 8 a 10 vezes, ou agitando brevemente com um agitador vortex a meia velocidade continuamente durante 5 segundos.

10.2 Preparação do Cartucho

Importante Inicie o teste dentro de 30 minutos após a adição da amostra ao cartucho.

1. Use luvas de proteção descartáveis.
2. Inspeccione o cartucho do teste para verificar se existem danos. Não utilize se estiver danificado.
3. Rotule o cartucho com a identificação da amostra.
4. Abra a tampa do cartucho de teste.
5. Adicione a amostra ao cartucho.

Nota Não retire a fina película de plástico que protege o anel interior do cartucho.

- Se utilizar a pipeta de transferência incluída no kit (Figura 1), abra a tampa do frasco da amostra, desembulhe a pipeta de transferência, comprima o bolbo da pipeta de transferência, insira a pipeta no frasco e solte o bolbo para encher a pipeta de transferência até à linha de 1 ml (Figura 1). Assegure-se de que a pipeta está cheia e não contém bolhas de ar. Esvazie o conteúdo da pipeta na câmara da amostra do cartucho (Figura 2).

Importante Evite introduzir muco em excesso no cartucho.

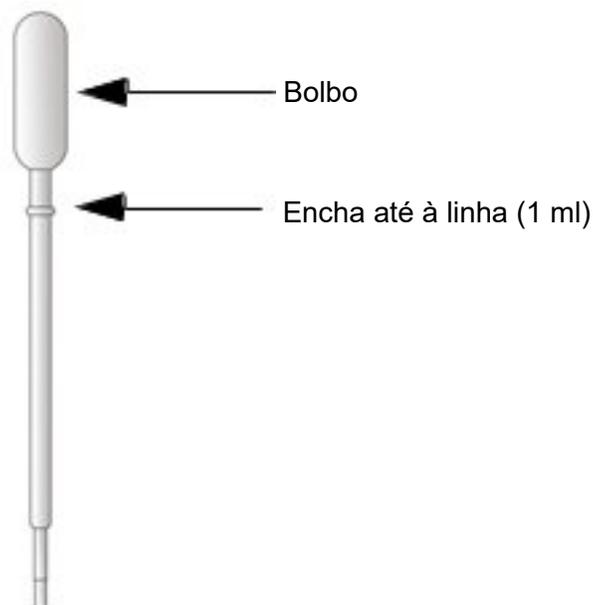


Figura 1. Pipeta de transferência e marca de enchimento



Figura 2. Cartucho Xpert HPV v2 (vista superior)

6. Feche a tampa do cartucho. Certifique-se de que a tampa fica bem fechada.

10.3 Importar os ficheiros de definição do teste

Importante

Antes de iniciar o teste, certifique-se de que os ficheiros de definição do teste (ADF) para o Xpert HPV v2 foram importados para o software.

O teste Xpert HPV 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 teste específico para o genótipo de HPV ou, se necessário, analisados como parte de um teste completo de alto risco e genótipo.

- Teste apenas de HPV de alto risco: Selecionar **Xpert HPV v2 HR** indica no relatório um resultado global positivo ou negativo quanto à presença de qualquer um dos 14 serótipos de HPV de alto risco que seja detetado.
- Teste de determinação do genótipo HPV 16, 18/45: Selecionar **Xpert HPV v2 16 18-45** indica um resultado positivo ou negativo para:
 - genótipo de HPV 16 e para
 - o genótipo de HPV 18 ou HPV 45.

Os resultados específicos dos dados de todos os outros serótipos de HPV não são recolhidos nem apresentados.

- Teste combinado de HPV de alto risco e genótipo de HPV: Selecionar **Xpert HPV v2 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 serótipos de alto risco, sob a forma de “Other HR HPV.” A mostra um exemplo. Apenas o resultado para o teste selecionado neste passo será recolhido quando o teste é iniciado. Os dados não recolhidos não são recuperáveis.

11 Execução do teste

- Para o GeneXpert Dx System, consulte Secção 11.1.
- Para o GeneXpert Infinity System, consulte Secção 11.2.

11.1 GeneXpert Dx System

11.1.1 Iniciar o teste

Antes de iniciar o teste, certifique-se de que:

- Importante**
- O sistema está a funcionar com a versão do software GeneXpert Dx correta mostrada na secção Materiais necessários mas não fornecidos.
 - O ficheiro de definição do teste correto foi importado para o software.

Esta secção indica as etapas básicas para a execução do teste. Para obter instruções detalhadas, consulte *GeneXpert Dx System Operator Manual*.

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

1. Ligue o GeneXpert Dx System e depois ligue o computador e inicie sessão. O software GeneXpert arranca automaticamente. Se não arrancar, faça duplo clique no ícone de atalho do software GeneXpert Dx no ambiente de trabalho do Windows®.
2. Inicie sessão com o seu nome de utilizador e palavra-passe.
3. Na janela do **sistema GeneXpert**, clique em **Criar teste (Create Test)**. É apresentada a janela **Criar teste (Create Test)**. Abre-se a caixa de diálogo **Ler código de barras da ID do doente (Scan Patient ID barcode)**.
4. Leia ou introduza a ID do doente (Patient ID). Se digitar a ID do doente (Patient ID), assegure-se de que digita a ID do doente correta.
A ID do doente (Patient ID) é associada aos resultados do teste e é apresentada na janela **Ver resultados (View Results)** e em todos os relatórios. Abre-se a caixa de diálogo **Ler código de barras da ID da amostra (Scan Sample ID barcode)**.
5. Leia ou introduza a ID da amostra (Sample ID). Se digitar a ID da amostra (Sample ID), assegure-se de que digita a ID da amostra correta.
A ID da amostra é associada aos resultados do teste e é apresentada na janela **Ver resultados (View Results)** e em todos os relatórios. Abre-se a caixa de diálogo **Ler código de barras do cartucho (Scan Cartridge Barcode)**.
6. Leia o código de barras do cartucho. Utilizando as informações do código de barras, o software preenche automaticamente as caixas para os seguintes campos: Selecionar teste (Select Assay), ID lote de reagente (Reagent Lot ID), N/S do cartucho (Cartridge SN) e Prazo de validade (Expiration Date).

Nota

Se o código de barras no cartucho não puder ser lido digitalmente, repita o teste com um novo cartucho. Se tiver lido o código de barras do cartucho no software e o ficheiro de definição do teste não estiver disponível, será apresentado um ecrã a indicar que o ficheiro de definição do teste não está carregado no sistema. Se este ecrã for apresentado, contacte a assistência técnica da Cepheid.

7. Faça clique em **Iniciar teste (Start Test)**. Introduza a sua palavra-passe na caixa de diálogo apresentada, caso seja necessário.
8. Abra a porta do módulo do instrumento com a luz verde a piscar e carregue o cartucho.
9. Feche a porta. O teste começa e a luz verde para de piscar.
Quando o teste termina, a luz desliga-se.
10. Aguarde até o sistema desbloquear a porta do módulo antes de a abrir e, em seguida, retire o cartucho.
11. Elimine os cartuchos usados no recipiente apropriado para resíduos de amostras, de acordo com as práticas padrão da sua instituição.

11.1.2 Visualização e impressão de resultados

Esta secção discrimina os passos básicos para a visualização e a impressão de resultados. Para obter instruções detalhadas sobre como ver e imprimir os resultados, consulte o *Manual do utilizador sistema GeneXpert Dx (GeneXpert Dx System Operator Manual)*.

1. Clique no ícone **Ver resultados (View Results)** para visualizar os resultados.
2. Após a conclusão do teste, clique no botão **Relatório (Report)** da janela **Ver resultados (View Results)** para visualizar e/ou gerar um relatório em ficheiro PDF.

11.2 GeneXpert Infinity System

11.2.1 Iniciar o teste

Antes de iniciar o teste, certifique-se de que:

Importante

- O sistema está a funcionar com a versão do software Xpertise correta mostrada na secção Materiais necessários mas não fornecidos.
- O ficheiro de definição do teste correto foi importado para o software.

Esta secção indica as etapas básicas para a execução do teste. Para obter instruções detalhadas, consulte *GeneXpert Infinity System Operator Manual*.

Nota

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

1. Ligue o instrumento. O software Xpertise arranca automaticamente. Se não arrancar, faça duplo clique no ícone de atalho do software Xpertise no ambiente de trabalho do Windows®.
2. Inicie sessão no computador e, em seguida, inicie sessão no software GeneXpert Xpertise, utilizando o seu nome de utilizador e palavra-passe.
3. Na **área de trabalho inicial do software Xpertise (Xpertise Software Home)**, clique em **Pedidos (Orders)** e, na área de trabalho de **Pedidos (Orders)**, clique em **Pedir teste (Order Test)**.
É apresentada a área de trabalho de **Pedir teste - ID do doente (Order Test - Patient ID)**.
4. Leia ou introduza a ID do doente (Patient ID). Se digitar a ID do doente (Patient ID), assegure-se de que digita a ID do doente correta.
A ID do doente (Patient ID) é associada aos resultados do teste e é apresentada na janela **Ver resultados (View Results)** e em todos os relatórios.
5. Introduza quaisquer informações adicionais exigidas pela sua instituição e clique no botão **CONTINUAR (CONTINUE)**.
É apresentada a área de trabalho **Pedir teste - ID da amostra (Order Test - Sample ID)**.
6. Leia ou introduza a ID da amostra (Sample ID). Se digitar a ID da amostra (Sample ID), assegure-se de que digita a ID da amostra correta.
A ID da amostra é associada aos resultados do teste e é apresentada na janela **Ver resultados (View Results)** e em todos os relatórios.

7. Clique no botão **CONTINUAR (CONTINUE)**.
A área de trabalho **Pedir teste - Teste (Order Test - Assay)** é apresentada.
8. Leia o código de barras do cartucho . Utilizando as informações do código de barras, o software preenche automaticamente as caixas para os seguintes campos: Selecionar teste (Select Assay), ID lote de reagente (Reagent Lot ID), N/S do cartucho (Cartridge SN) e Prazo de validade (Expiration Date).

Nota

Se o código de barras no cartucho não puder ser lido digitalmente, repita o teste com um novo cartucho. Se tiver lido o código de barras do cartucho no software e o ficheiro de definição do teste não estiver disponível, será apresentado um ecrã a indicar que o ficheiro de definição do teste não está carregado no sistema. Se este ecrã for apresentado, contacte a assistência técnica da Cepheid.

Depois de efetuar a leitura do cartucho, será apresentada a área de trabalho de **Pedir teste - Informação sobre o teste (Order Test - Test Information)**.

9. Verifique se as informações estão corretas e clique em **Submeter (Submit)**. Introduza a sua palavra-passe na caixa de diálogo apresentada, caso seja necessário.
10. Coloque o cartucho na correia transportadora.
O cartucho será carregado automaticamente, o teste será executado e o cartucho usado será colocado no recipiente para resíduos.

11.2.2 Visualização e impressão de resultados

Esta secção discrimina os passos básicos para a visualização e a impressão dos resultados. Para obter instruções detalhadas sobre como ver e imprimir os resultados, consulte o *GeneXpert Infinity System Operator Manual*.

1. Na **área de trabalho inicial do software Xpertise**, clique no ícone de **RESULTADOS (RESULTS)**. É apresentado o menu Resultados (Results).
2. No menu Resultados (Results), seleccione o botão **VER RESULTADOS (VIEW RESULTS)**. É apresentada a área de trabalho de **Ver resultados (View Results)**, mostrando os resultados do teste.
3. Clique no botão **RELATÓRIO (REPORT)** para visualizar e/ou gerar um relatório em ficheiro PDF.

12 Controlo de Qualidade

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 reação PCR, o instrumento GeneXpert mede o sinal de fluorescência das sondas para monitorizar a reidratação da esfera, o enchimento do tubo de reação, a integridade da sonda e a estabilidade do corante. PCC é aprovado se cumprir os critérios de aceitação validados.
- **Controlo de adequação da amostra (SAC):** Os reagentes do SAC detetam 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:** Os controlos externos podem ser utilizados de acordo com os organismos de acreditação locais, regionais ou nacionais, conforme aplicável.

13 Interpretação dos Resultados

Os resultados são 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 (Test Result) da janela Ver resultados (View Results). O teste Xpert HPV v2 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 ADF selecionado serão recolhidos quando o teste é iniciado.

Tabela 1. Resultados e interpretações do Xpert HPV v2

FICHEIRO DE DEFINIÇÃO DO ENSAIO	Resultado	Interpretação
Xpert HPV v2 HR	HR HPV POS	<p>O ADN do HPV de alto risco é detetado 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: APROVADO (PASS); todos os resultados de verificação da sonda são aprovados.
	HR HPV NEG	<p>O ADN de HPV de alto risco é inferior ao limite de deteção.</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: APROVADO (PASS); 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: APROVADO (PASS); todos os resultados de verificação da sonda são aprovados.
Xpert HPV v2 16_18-45 e Xpert HPV v2 HR 16 18-45	HPV 16 POS	<p>O ADN de HPV 16 é detetado 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: APROVADO (PASS); todos os resultados de verificação da sonda são aprovados.
	HPV 18_45 POS	<p>O ADN de HPV 18_45 é detetado 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: APROVADO (PASS); todos os resultados de verificação da sonda são aprovados.
Xpert HPV v2 16_18-45 e Xpert HPV v2 HR 16 18-45	HPV 16 NEG	<p>O ADN de HPV 16 é inferior ao limite de deteção.</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: APROVADO (PASS); 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: APROVADO (PASS); todos os resultados de verificação da sonda são aprovados.
	HPV 18_45 NEG	<p>O ADN de HPV 18-45 é inferior ao limite de deteção.</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: APROVADO (PASS); 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: APROVADO (PASS); todos os resultados de verificação da sonda são aprovados.

FICHEIRO DE DEFINIÇÃO DO ENSAIO	Resultado	Interpretação
Xpert HPV v2 HR 16 18-45	OUTROS HR HPV POS (OTHER HR HPV POS)	<p>Outro ADN de HPV de alto risco é detetado 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: APROVADO (PASS); todos os resultados de verificação da sonda são aprovados.
	OUTROS HR HPV NEG (OTHER HR HPV NEG)	<p>O ADN de outros HPV de alto risco é inferior ao limite de deteção.</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: APROVADO (PASS); 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: APROVADO (PASS); todos os resultados de verificação da sonda são aprovados.
Aplica-se a todos os ADFs	INVÁLIDO (INVALID)	<p>Não é possível determinar a presença ou ausência de ADN-alvo de HPV. Repita o teste de acordo com as instruções na Procedimento de repetição do teste.</p> <ul style="list-style-type: none"> SAC: FALHOU (FAIL); O Ct do SAC está fora do intervalo válido e/ou um endpoint (ponto final) de fluorescência é inferior ao limite definido. PCC: APROVADO (PASS); todos os resultados de verificação da sonda são aprovados.
	ERRO (ERROR)	<p>Não é possível determinar a presença ou ausência de ADN-alvo de HPV. Repita o teste de acordo com as instruções na Procedimento de repetição do teste.</p> <ul style="list-style-type: none"> SAC: SEM RESULTADO (NO RESULT) PCC: FALHOU (FAIL)*; um ou todos os resultados de verificação da sonda falharam. <p>* Se a verificação da sonda tiver sido 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>
	SEM RESULTADO (NO RESULT)	<p>Não é possível determinar a presença ou ausência de ADN-alvo de HPV. Repita o teste de acordo com as instruções na Procedimento de repetição do teste. SEM RESULTADO (NO RESULT) indica que foram recolhidos dados insuficientes. Por exemplo, o operador parou um teste que estava em curso ou a alimentação elétrica falhou.</p> <ul style="list-style-type: none"> HPV: SEM RESULTADO (NO RESULT) SAC: SEM RESULTADO (NO RESULT) PCC: NA (não aplicável)

14 Repetição de um teste

14.1 Motivos para repetir o teste

Se ocorrer algum dos resultados de teste seguintes, repita o teste de acordo com as instruções em Procedimento de repetição de teste.

- Um resultado **INVÁLIDO (INVALID)** indica uma ou mais das ocorrências a seguir:

- Os Ct do SAC não estão dentro do intervalo válido.
- A amostra não foi adequadamente processada, a PCR foi inibida ou a amostra era inadequada.
- Um resultado **ERRO (ERROR)** indica que o teste foi abortado. As possíveis causas incluem o enchimento inadequado do tubo de reação, a de um problema de integridade da sonda de reagentes, a ultrapassagem dos limites de pressão máxima ou a deteção de um erro de posicionamento da válvula.
- **SEM RESULTADO (NO RESULT)** indica que os dados recolhidos foram insuficientes. Por exemplo, o operador parou um teste que estava em curso ou a alimentação elétrica falhou.

14.2 Procedimento de repetição do teste

- Se o resultado de um teste for **INVÁLIDO (INVALID)**, **ERRO (ERROR)** ou **SEM RESULTADO (NO RESULT)**, utilize um novo cartucho para repetir o teste da amostra afetada. (Não reutilize o cartucho)
- Retire um novo cartucho do kit.
- Obter a amostra que sobrou.
- Avance para a Secção 10, Procedimento.
- Se o volume de amostra restante for insuficiente ou se a repetição do teste continuar a produzir um resultado **INVÁLIDO (INVALID)**, **ERRO (ERROR)** ou **SEM RESULTADO (NO RESULT)**, colha uma amostra nova e repita o teste com um cartucho novo.

15 Limitações

- Dado que a deteção do HPV depende do ADN presente na amostra, a fiabilidade dos resultados depende da colheita, manuseamento e conservação corretos da amostra.
- O teste Xpert HPV v2 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 deteção do teste.
- O teste Xpert HPV v2 foi validado utilizando apenas os procedimentos incluídos neste folheto informativo. Qualquer modificação destes procedimentos pode alterar o desempenho do teste.
- Pode observar-se interferência com o teste na presença de: sangue total ($\geq 0,25\%$ 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 teste Xpert HPV v2 fornece resultados qualitativos. Não pode ser estabelecida nenhuma correlação entre a magnitude do valor de Ct e o número de células numa amostra infetada.
- O desempenho do teste Xpert HPV v2 não foi avaliado em doentes com idade inferior a 18 anos.
- O desempenho do teste Xpert HPV v2 não foi avaliado em mulheres que realizaram histerectomia.
- O teste Xpert HPV v2 não foi validado para a utilização com amostras de esfregaço vaginal colhidas com zaragatoa por um médico ou pela doente.
- O teste Xpert HPV v2 não foi validado com doentes atualmente em tratamento com agentes antimicrobianos para infeções como clamídia ou gonorreia.
- Como no caso de muitos testes de diagnóstico, os resultados do teste Xpert HPV v2 devem ser interpretados em conjunto com outros dados clínicos e de laboratório ao dispor do médico.
- O desempenho do teste Xpert HPV v2 não foi avaliado em indivíduos vacinados contra o HPV.
- O teste Xpert HPV v2 não foi avaliado em casos de suspeita de abuso sexual.
- A prevalência da infeção por HPV numa população pode afetar o desempenho.
- Amostras que contenham menos de 1 ml de solução PreservCyt são consideradas inadequadas para o teste Xpert HPV v2.
- O desempenho do teste Xpert HPV v2 não foi avaliado em amostras cervicais pré-processadas para revisão citológica utilizando outros processadores além do ThinPrep 2000 Processor.
- Um resultado negativo no teste Xpert HPV v2 não exclui a possibilidade de anomalias citológicas ou de CIN2, CIN3 ou cancro futuros ou subjacentes.
- O teste Xpert HPV v2 deteta os genes E6/E7 do ADN viral dos serótipos de HPV de alto risco 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66 e 68. Este teste não deteta os genes E6/E7 do ADN de serótipos de HPV de baixo risco (p. ex.,

6, 11, 42, 43, 44) dado que não existe utilidade clínica na avaliação da presença de serótipos de HPV de baixo risco no contexto do rastreio do cancro do colo do útero.

- A deteção de ADN de HPV de alto risco depende do número de cópias presentes na amostra e pode ser afetada pelos métodos de colheita das amostras, por fatores relacionados com os doentes, pela fase da infeção e pela presença de substâncias interferentes.
- A utilização deste produto tem de estar limitada ao pessoal com formação na utilização do teste Xpert HPV v2.
- Podem ocorrer resultados positivos falsos ou negativos falsos com este teste.
- Mutações ou polimorfismos nas regiões de ligação do primer ou da sonda podem afetar a deteção dos serótipos de HPV alvo, originando resultados falsos negativos.

16 Desempenho Clínico

As características de desempenho clínico do teste Xpert HPV v2 foram avaliadas num estudo prospetivo, multicêntrico [sete locais nos EUA], em duas fases, que incluiu mulheres de todas as idades encaminhadas para avaliação colposcópica. A referenciação baseou-se num ou mais resultados anormais anteriores do teste de Papanicolau, num resultado anormal do teste de Papanicolau em combinação com um resultado positivo do teste de HPV de alto risco ou noutra 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 teste Xpert HPV v2 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 respetivos de IVD nos EUA. A Amostra A foi processada para revisão citológica, seguida de análise pelo teste Xpert HPV v2. A Amostra B foi reservada para a análise do HPV com os testes comparativos para os testes HPV e com o teste Xpert HPV v2. 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 biopsia e da curetagem endocervical ECC foi primeiro realizada localmente para fins de controlo convencional dos cuidados e da doente, 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 parâmetros de avaliação da doença \geq CIN2 e \geq CIN3 utilizando uma abordagem que utiliza a curva de característica do recetor operante (receiver operator 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 parâmetros de avaliação da doença \geq CIN2 e \geq CIN3 utilizando uma 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 teste Xpert HPV v2, 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 resumidos na Tabela 2.

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

	Teste Xpert HPV v2 (Amostra A) ^b	Teste Xpert HPV v2 (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%)

	Teste Xpert HPV v2 (Amostra A) ^b	Teste Xpert HPV v2 (Amostra B) ^c	Método de comparação 1 ^d	Método de comparação 2 ^e
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 exato 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 teste Xpert HPV v2, o método de comparação 1 e o método de comparação 2 no conjunto de dados da Fase II, relativamente a estados patológicos \geq CIN3, encontram-se resumidos na Tabela 3.

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

	Teste Xpert HPV v2 (Amostra A) ^b	Teste Xpert HPV v2 (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 exato 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.

Uma avaliação da concordância analítica no conjunto de dados da Fase II demonstrou uma concordância global entre o teste Xpert HPV v2 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 teste Xpert HPV v2 (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 teste Xpert HPV v2 (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 teste Xpert HPV v2 para as amostras do teste Papanicolau A e B, ordenadas por grupo etário das participantes, foi determinado para os 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 teste Xpert HPV v2 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)
≥ 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 teste Xpert HPV v2 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)
≥ 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 teste Xpert HPV v2 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 em três alíquotas para avaliação com o teste Xpert HPV v2 e com os métodos de comparação 1 e 2. A sequência de recolha de alíquotas para análise com o Xpert HPV v2 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 v2 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 respetivos 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 cutoff dos folhetos informativos dos EUA.

Uma análise dos dados do estudo demonstrou uma concordância substancial entre o teste Xpert HPV v2 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 teste Xpert HPV v2 e o método de comparação 1.

Tabela 6. Concordância entre o teste Xpert HPV v2 e o método de comparação 1

Comparação da concordância	n	Concordância positiva percentual	Concordância negativa percentual	Concordância global percentual	Valor de K
Global^a	3.418	90,43% (87,89% – 92,56%)	97,1% (96,4% – 97,7%)	95,8% (95,1% – 96,5%)	0,87 (0,85 – 0,89)
Idades 20–29	833	92,97% (89,4% – 95,42%)	94,9% (92,6% – 96,7%)	94,1% (92,2% – 95%)	0,88 (0,84 – 0,91)
Idades 30–60	2.585	87,8% (83,7% – 91,2%)	97,6% (96,9% – 98,2%)	96,4% (95,6% – 97,1%)	0,84 (0,81 – 0,87)
Citologia Normal	2.975	85,1% (81,0% – 88,6%)	97,14% (96,6% – 98,0%)	95,8% (95,1% – 96,6%)	0,81 (0,78 – 0,854)
Citologia > Normal	443	96,7% (93,9% – 98,4%)	91% (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 exato de Fisher.

Uma análise dos dados do estudo demonstra boa concordância entre o teste Xpert HPV v2 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 teste Xpert HPV v2 e o método de comparação 2.

Tabela 7. Concordância entre o teste Xpert HPV v2 e o método de comparação 2

Comparação da concordância	n	Concordância positiva percentual	Concordância negativa percentual	Concordância global percentual	Valor de K
Global^a	3.418	84,5% (81,8% – 87,34%)	96,5% (95,7% – 97,2%)	94,1% (93,0% – 94,7%)	0,82 (0,79 – 0,84)
Idades 20–29	833	94,2% (91,1% – 96,5%)	93,3% (90,7% – 95,3%)	93,6% (91,8% – 95,2%)	0,87 (0,83 – 0,90)
Idades 30–60	2.858	76% (71,2% – 80,3%)	97,2% (96,5% – 97,9%)	94,2% (93,3% – 95,1%)	0,75 (0,71 – 0,79)

Comparação da concordância	n	Concordância positiva percentual	Concordância negativa percentual	Concordância global percentual	Valor de K
Citologia normal	2.975	77,9% (73,3% – 82,2%)	96,6% (95,9% – 97,3%)	94,3% (93,4% – 95,1%)	0,74 (0,70 – 0,78)
Citologia > normal	443	92,5% (89,0% – 95,1%)	93,6% (87,8% – 97,2%)	92,8% (90,0% – 95,0%)	0,83 (0,77 – 0,89)

^a As estimativas pontuais são as indicadas. Os intervalos de confiança são IC de 95% obtidos pelo teste exato 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 noutras 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)	Teste Xpert HPV v2			Método de comparação 1			Método de comparação 2		
	Total	Pos	% Pos (IC de 95%)	Total	Pos	% Pos (IC de 95%)	Total	Pos	% Pos (IC de 95%)
Normal / NILM	2.975	374	12,6 (11,4-13,8)	2.975	362	12,2 (11,0-13,4)	2.975	367	12,3 (11,2-13,6)
Borderline / ASC-US	215	113	52,6 (45,7-59,4)	215	108	50,2 (43,4-57,1)	215	120	55,8 (48,9-62,6)
Discariose de baixo grau (ligeira)/LSIL^a	149	116	77,9 (70,3-84,2)	149	120	80,5 (73,3-86,6)	149	126	84,6 (77,7-90,0)
Discariose de alto grau	28	28	100,0 (87,7-100)	28	27	96,4 (81,7-99,9)	28	28	100,0 (87,7-100)
Discariose de alto grau (grave) / HSIL^b	35	35	100,0 (90,0-100)	35	34	97,1 (85,1-99,9)	35	35	100,0 (90,0-100)
Outra	16	10	62,5 (35,4-84,8)	16	10	62,5 (35,4-84,8)	16	9	56,3 (29,9-80,2)
Total	3.418	676	19,9 (18,5-21,2)	3.418	661	19,3 (18,0-20,7)	3.418	685	20,0 (18,7-21,4)

^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 teste Xpert HPV v2 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 Espostis [153/1170 (13,1%) e 25/1198 (2,1%), respetivamente].¹¹⁻¹³ O teste Xpert HPV v2 demonstra boa concordância com os métodos de comparação, independentemente do estado de pré-tratamento com AAG. Consulte Tabela 9 e Tabela 10.

Tabela 9. Concordância entre o teste Xpert HPV v2 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	245	94,3% (86,0% – 98,4%)	96,6% (92,7% – 98,7%)	95,9% (92,6% – 98,0%)	0,90 (0,84 – 0,96)
Não tratadas	3.173	89,8% (87,1% – 92,2%)	97,2% (96,5% – 97,8%)	95,8% (95,1% – 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 exato de Fisher.

Tabela 10. Concordância entre o teste Xpert HPV v2 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	245	87,3% (72,9% – 94,0%)	94,3% (89,7% – 97,2%)	92,2% (88,2% – 95,3%)	0,81 (0,73 – 0,89)
Não tratadas	3.173	84,4% (81,2% – 87,0%)	96,6% (95,9% – 97,3%)	94,3% (93,4% – 95,0%)	0,82 (0,79 – 0,84)

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

17 Desempenho Analítico

17.1 Limite de detecção

A sensibilidade analítica ou limite de detecção (LoD) do teste Xpert HPV v2 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 serótipos alvo de HPV de alto risco num fundo de ADN genómico feminino humano.

Linhas celulares positivas para HPV

O LoD para HPV 16, HPV 18, HPV 45 e HPV 68 foi calculado analisando réplicas de 20 num mínimo de seis concentrações de cada uma das linhas celulares utilizando um lote de kit do teste Xpert HPV v2. Os LoD foram calculados por análises proibit. Os alegados LoD foram verificados analisando pelo menos 20 réplicas diluídas até às concentrações estimadas como LoD utilizando três lotes de kits do teste Xpert HPV v2. Por definição, o LD alegado corresponde à concentração a que 95% de pelo menos 20 réplicas por lote de reagente são positivas (Tabela 11).

Plasmídeos de ADN de HPV

O LoD de 14 plasmídeos de ADN de HPV de alto risco foi confirmado com um mínimo de 60 réplicas entre dois operadores e três lotes. Os testes decorreram em dias diferentes. O nível (em cópias por reação 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

Serótipo de HPV	LoD calculado por Probit (células/ml)	IC de 95%	IC de 99,9%	Nível de concentração (células/ml)	Lote de reagente	Pos de 20 répl.	Ct médio (alvo)	DP do Ct (alvo)	Ct médio global (alvo)	DP do 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 do 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

18 Reprodutibilidade e precisão do teste

A precisão e a reprodutibilidade do teste Xpert HPV v2 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 serótipos 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 do teste Xpert HPV v2 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 teste, 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 serótipos, 51 para o canal HPV 51 e HPV 59, e 39 para o canal HPV 39 e outros serótipos. Consulte Tabela 13 e Tabela 14.

Tabela 13. Precisão e reprodutibilidade do Xpert HPV v2: Descrição do painel e concordância positiva ^{a, b}

Amostra (alvo e concentração relativa)	Canal de teste	Local 1		Local 2		Local 3		Concordância total
		Op1	Op2	Op1	Op2	Op1	Op2	
Amostra produzida (HPV 16 negativo alto)	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 positivo baixo)	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 positivo moderado)	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)

Amostra (alvo e concentração relativa)	Canal de teste	Local 1		Local 2		Local 3		Concordância total
		Op1	Op2	Op1	Op2	Op1	Op2	
	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)
Amostra produzida (HPV 18 negativo alto)	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 positivo baixo)	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 positivo moderado)	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)

Amostra (alvo e concentração relativa)	Canal de teste	Local 1		Local 2		Local 3		Concordância total
		Op1	Op2	Op1	Op2	Op1	Op2	
	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 negativo alto)	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)
Amostra produzida (HPV 68 positivo baixo)	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 positivo moderado)	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 (alvo e concentração relativa)	Canal de teste	Local 1		Local 2		Local 3		Concordância total
		Op1	Op2	Op1	Op2	Op1	Op2	
Amostra produzida (HPV 16/45/68 positivo baixo)	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 (Negativa)	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)
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 (alvo e concentração relativa)	Canal de teste	Local 1		Local 2		Local 3		Concordância total
		Op1	Op2	Op1	Op2	Op1	Op2	
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)
Amostra clínica agrupada (Negativa)	16	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (22/22)	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (142/142)

Amostra (alvo e concentração relativa)	Canal de teste	Local 1		Local 2		Local 3		Concordância total
		Op1	Op2	Op1	Op2	Op1	Op2	
	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 indeterminados: 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); CA [clínica agrupada] negativa(2).

Tabela 14. Reprodutibilidade do Xpert HPV v2: Variabilidade do Ct para os membros do painel^a

Amostra (alvo e concentração relativa)	Canal de teste (específico do analito)	n ^b	Ct médio	Entre locais		Entre operadores		Entre lotes		Intradia		Intra Teste		Total	
				DP	CV (%)	DP	CV (%)	DP	CV (%)	DP	CV (%)	DP	CV (%)	DP	CV (%)
Amostra produzida (HPV 16 negativo alto)	16 (16)	12	38,4	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
Amostra produzida (HPV 16 positivo baixo)	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 positivo moderado)	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 negativo alto)	18/45 (18)	22	39,2	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
Amostra produzida (HPV 18 positivo baixo)	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 positivo moderado)	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 negativo alto)	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 positivo baixo)	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 positivo moderado)	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 positivo baixo)	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 (Negativa)	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
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.

19 Especificidade analítica

Testou-se com o teste Xpert HPV v2 um painel de 47 microrganismos, incluindo bactérias, fungos e vírus habitualmente encontrados no aparelho urogenital feminino, assim como 12 tipos do vírus do papiloma humano fortemente relacionados. Todos os microrganismos 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 deteção. Os microrganismos e as concentrações testadas encontram-se listados na Tabela 15. A especificidade analítica foi de 100% e nenhum dos microrganismos interferiu com a deteção do HPV 16.

Tabela 15. Painel de especificidade analítica

Microrganismo	Concentração testada	Microrganismo	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 TCID50/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 1 (HSV-1)	1 x 10 ⁷ cópias/ml
<i>Escherichia coli</i>	1 x 10 ⁸ UFC/ml	Vírus herpes simplex 2 (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
<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.

20 Substâncias potencialmente interferentes

As substâncias endógenas e exógenas potencialmente interferentes que podem estar presentes em amostras cervicais foram avaliadas relativamente ao desempenho do teste Xpert HPV v2. 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 deteção. 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, exceto 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 potencialmente interferentes

Substância	Concentração
Sangue total	0,25% v/v
Muco	0,15% (v/v)
Leucócitos (PBMC)	1 x 10 ⁵ células/ml
Creme antiprurido 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

21 Contaminação por transferência (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 de amostras de pacientes afetadas 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 corretamente indicadas no relatório como positivas para HPV 16 e todas as 22 amostras negativas foram corretamente indicadas como negativas para HPV.

22 Resumo de segurança e desempenho

O resumo de segurança e desempenho para o teste Xpert HPV v2 está disponível em EUDAMED (<https://ec.europa.eu/tools/eudamed>).

23 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. Obtido a 4 de janeiro de 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. (Consultar a edição mais recente.)
7. CLSI Publication M29. Protection of laboratory workers from occupationally acquired infections; Approved Guideline. (Consultar a edição mais recente.)
8. International Air Transport Association. Dangerous Goods Regulations, 48th Edition. 2007.
9. REGULAMENTO (CE) N.º 1272/2008 DO PARLAMENTO EUROPEU E DO CONSELHO, de 16 de Dezembro de 2008, relativo à classificação, rotulagem e embalagem de substâncias e misturas, que altera e revoga a lista de recomendações de prudência, as Diretivas 67/548/CEE e 1999/45/CE, e altera o Regulamento (CE) n.º 1907/2006.
10. Occupational Safety and Health Standards, Hazard Communication, Toxic and Hazard Substances (March 26, 2012)(29 C.F.R., pt. 1910, subpt. Z.
11. Coleman DV, Chapman, PA. Preparatory techniques. In *Clinical Cytopathology*. London: Butterworths, 1989: 54.
12. Yam LT, Janckila AJ. A simple method of preparing smears from bloody effusions for cytodiagnosis. *Acta Cytol.* 1983; 27(2):114-118.
13. Bahr GF. Some considerations of basic cell chemistry. In *Compendium on Cytopreparative Techniques*. Tutorials of Cytology. 1974; 3rd Edition: 1.

24 Localizações da sede da Cepheid e operadores económicos

Sede empresarial

Cepheid
904 Caribbean Drive
Sunnyvale, CA 94089
USA

Telefone: + 1 408 541 4191
Fax: + 1 408 541 4192
www.cepheid.com

Sede europeia

Cepheid Europe SAS
Vira Solelh
81470 Maurens-Scopont
France

Telefone: + 33 563 825 300
Fax: + 33 563 825 301
www.cepheidinternational.com

Fabricante legal



Cepheid AB
Röntgenvägen 5
SE-171 54 Solna
Sweden

Representante autorizado



Cepheid Switzerland GmbH
Zürcherstrasse 66
Postfach 124, Thalwil
CH-8800
Switzerland

Importador



Cepheid Switzerland GmbH
Zürcherstrasse 66
Postfach 124, Thalwil
CH-8800
Switzerland

25 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 do software e, caso se aplique, número da etiqueta de serviço do computador

Os utilizadores devem comunicar incidentes graves com o teste à Cepheid e à autoridade competente do estado-membro onde o incidente grave aconteceu.

Assistência técnica nos Estados Unidos

Telefone: + 1 888 838 3222 E-mail: techsupport@cepheid.com

Assistência técnica em França

Telefone: + 33 563 825 319 E-mail: support@cepheideurope.com

As informações de contacto de todos os escritórios da assistência técnica da Cepheid estão disponíveis no nosso website: www.cepheid.com/en/support/contact-us.

26 Tabela de símbolos

Símbolo	Significado
	Referência
	Dispositivo médico para diagnóstico <i>in vitro</i>
	Não utilizar mais de uma vez
	Código do lote
	Consultar as instruções de utilização
	Cuidado
	Fabricante
	País de fabrico
	Conteúdo suficiente para <i>n</i> testes
	Controlo
	Data-limite de utilização
	Marcação CE – Conformidade Europeia
	Limite de temperatura
	Riscos biológicos
	Representante autorizado na Suíça
	Importador



27 Histórico de revisões

Versão inicial de 302-6157 Rev. A

Secção	Descrição da alteração
27	Lançamento do 302-6157 Rev. 2 aprovado pela BSI na produção Rev. A.