

Aptima Mycoplasma genitalium Assay

Para fins de diagnóstico *in vitro*.

Informações gerais	2
Utilização prevista	2
Resumo e explicação do teste	2
Princípios do procedimento	3
Advertências e precauções	4
Relacionadas com o laboratório	4
Relacionadas com os espécimes	5
Relacionadas com o ensaio	5
Requisitos de conservação e manuseamento dos reagentes	6
Colheita e conservação de espécimes	7
Transporte de espécimes	8
Panther System	9
Reagentes e materiais	9
Materiais necessários, mas disponíveis separadamente	10
Materiais opcionais	11
Procedimento de teste no Panther System	12
Notas sobre o procedimento	15
Controlo de qualidade	16
Calibração do ensaio	16
Controlo interno	16
Interpretação dos resultados	17
Resultados do controlo de qualidade e aceitabilidade	17
Limitações	19
Desempenho do ensaio no Panther System	20
Desempenho em espécimes clínicos e amostras positivas artificiais	20
Reprodutibilidade do ensaio	20
Sensibilidade analítica	21
Reatividade cruzada na presença de micro-organismos	21
Interferência	22
Bibliografia	23

Informações gerais

Utilização prevista

O Aptima Mycoplasma genitalium Assay é um teste de amplificação de ácidos nucleicos (NAAT) *in vitro* para a detecção qualitativa do RNA ribossômico (rRNA) da *Mycoplasma genitalium* no Panther System totalmente automatizado. É indicado para utilização como um auxiliar no diagnóstico de infecções urinárias por *M. genitalium* em pacientes masculinos e femininos.

O ensaio pode ser usado para testar: espécimes de esfregaço vaginal colhidos pelo médico ou pelo paciente, espécimes de esfregaço endocervical colhidos pelo médico, espécimes cervicais colhidos pelo médico em solução PreservCyt™, espécimes da primeira urina da manhã masculinos e femininos colhidos pelo paciente, espécimes de esfregaço uretral masculino colhidos pelo médico e espécimes de esfregaço do meato urinário colhidos pelo paciente.

Resumo e explicação do teste

A *M. genitalium* é uma bactéria gram-negativa sexualmente transmissível que pertence à classe das *Mollicutes*. A *M. genitalium* possui uma membrana celular mas não tem parede celular e vive nas células epiteliais dos tratos urinário e genital masculino e feminino.

Em populações de menor risco, foi relatada uma prevalência de *M. genitalium* de aproximadamente 1% a 3%, tanto em indivíduos do sexo masculino como do sexo feminino (1, 2, 3, 4). Em populações de maior risco, foi relatada uma prevalência de 10% a 41% em indivíduos do sexo masculino e de 7,3% a 14% em indivíduos do sexo feminino (3, 5, 6, 7). A prevalência de *M. genitalium* em populações de maior risco ultrapassa muitas vezes a prevalência de *Neisseria gonorrhoeae*, sendo semelhante à prevalência de *Chlamydia trachomatis* (8, 9, 10, 11, 12).

Em diversos estudos publicados, ficou demonstrado que a infecção por *M. genitalium* está fortemente associada à uretrite não gonocócica (NGU) nos indivíduos do sexo masculino (13). Nos sujeitos avaliados, foi detectada *M. genitalium* em 15% a 25% dos homens com NGU sintomática e em > 30% dos homens com NGU não causada por clamídia. Nas mulheres, diversos estudos relataram a associação de *M. genitalium* à cervicite ($P \leq ,03$; 8, 12, 14). Uma meta-análise recente demonstrou igualmente que a infecção por *M. genitalium* está associada a um risco duplamente superior de ocorrência de cervicite, doença inflamatória pélvica, parto prematuro, aborto espontâneo e infertilidade (15).

As infecções por *M. genitalium* passam muitas vezes despercebidas e os indivíduos infetados são assintomáticos ou apresentam sintomas semelhantes aos sintomas associados a outras infecções bacterianas do trato urogenital. Numa avaliação efetuada a homens assistidos numa clínica de DST na Suécia, 61% (17/28) dos homens com infecções por *M. genitalium* eram sintomáticos; 93% (26/28) apresentavam sinais de uretrite (14). Nas mulheres, a infecção por *M. genitalium* é frequentemente assintomática. Numa avaliação efetuada a mulheres assistidas numa clínica de DST na Suécia, 77% (17/22) das mulheres com infecções por *M. genitalium* eram assintomáticas, apesar de muitas apresentarem sinais clínicos da infecção; 50% (11/22) apresentavam sinais de uretrite e/ou cervicite: 2 apresentavam apenas sinais de uretrite, 6 apresentavam apenas sinais de cervicite e 3 apresentavam sinais de uretrite e de cervicite (16).

Em pacientes com sinais ou sintomas relevantes, as recomendações atuais de tratamento focam-se nas infecções por clamídia, gonorreia ou tricomonas. No entanto, a terapia antimicrobiana ideal para a uretrite e a cervicite associadas a bactérias é específica de cada organismo e os regimes terapêuticos eficazes contra estes organismos perdem eficácia no tratamento de infecções por *M. genitalium*.

Como a *M. genitalium* é exigente e de cultivo difícil, o Centro de Controlo e Prevenção de Doenças dos Estados Unidos recomenda o uso de NAATs para detetar a *M. genitalium* (17). O Aptima Mycoplasma genitalium Assay é um NAAT que utiliza as tecnologias de captura do alvo, de amplificação mediada por transcrição (TMA) e de ensaio de proteção da hibridação (HPA) para detetar 16s rRNA de *M. genitalium*.

Princípios do procedimento

O Aptima Mycoplasma genitalium Assay envolve três passos principais que decorrem todos num único tubo do Panther System: captura do alvo, amplificação mediada por transcrição (TMA) e ensaio de proteção da hibridação (HPA). O ensaio incorpora um controlo interno (IC) para monitorizar a captura, a amplificação e a deteção de ácidos nucleicos, bem como erros do operador ou do instrumento.

Um espécime é colhido e transferido para um tubo de transporte de espécimes adequado. A solução de transporte do tubo liberta o rRNA alvo e impede a respetiva degradação durante o armazenamento. Quando o Aptima Mycoplasma genitalium Assay se realiza no laboratório, o rRNA alvo, se presente, é isolado pelo uso de um oligómero de captura específico e de micropartículas magnéticas num método designado por captura do alvo. O oligómero de captura contém uma sequência complementar a uma região específica da molécula alvo, bem como uma cadeia de resíduos de desoxiadenosina. Durante o passo de hibridação, a região específica da sequência do oligómero de captura liga-se a uma região específica da molécula alvo. O complexo do oligómero de captura: alvo é então capturado e retirado da solução reduzindo a temperatura da reação para a temperatura ambiente. Esta redução da temperatura permite que a hibridação ocorra entre a região da desoxiadenosina no oligómero de captura e as moléculas de polidesoxitimidina que estão ligadas de forma covalente às partículas magnéticas. As micropartículas, incluindo a molécula alvo capturada ligada às mesmas, são arrastadas para a secção lateral do tubo de reação por ímanes e o sobrenadante é aspirado. As partículas são lavadas para remover a matriz de espécime residual que possa conter inibidores da amplificação. Concluídos os passos de captura do alvo, o rRNA está pronto para a amplificação.

Os ensaios de amplificação do alvo baseiam-se na capacidade que os "primers" oligonucleótidos complementares têm de se hibridar especificamente e de permitir a amplificação enzimática das cadeias do ácido nucleico alvo. A reação TMA Hologic amplifica uma região específica da pequena subunidade dos ribossomas da *M. genitalium* através de intermediários de DNA e RNA e gera moléculas do produto da amplificação do RNA. A deteção das sequências do produto da amplificação do rRNA é alcançada com a hibridação do ácido nucleico. Uma sonda de DNA quimioluminescente de cadeia simples, complementar a uma região do produto da amplificação alvo, é marcada com uma molécula de éster de acridina. A sonda de DNA marcada combina com o produto da amplificação para formar híbridos de RNA:DNA estáveis. O reagente de seleção faz a distinção entre a sonda hibridada e a sonda não hibridada, e elimina a geração do sinal da sonda não hibridada. Durante o passo de deteção, a luz emitida pelos híbridos de RNA:DNA marcados é medida como sinais de fótons num luminómetro e indicada em unidades de luz relativas (RLU).

Advertências e precauções

- A. Para fins de diagnóstico *in vitro*.
- B. Para reduzir o risco de resultados inválidos, leia atentamente todo o folheto informativo e o *Manual de instruções do Panther System* antes de executar este ensaio.
- C. Este procedimento só deve ser executado por pessoal com a devida qualificação na utilização do Aptima Mycoplasma genitalium Assay e no manuseamento de materiais potencialmente infecciosos. Se ocorrer um derrame, desinfete imediatamente seguindo os procedimentos adequados do local.
- D. **Advertência: Irritantes e Corrosivos:** Evite o contacto do Auto Detect 1 e do Auto Detect 2 com a pele, olhos e membranas mucosas. Se estes fluidos entrarem em contacto com a pele ou os olhos, lave com água. Se estes fluidos se derramarem, dilua o derramamento com água antes de secar com um pano. Consulte as Fichas de Dados de Segurança adequadas para obter informações adicionais.
- E. Para obter advertências e precauções específicas adicionais, consulte o *Manual de instruções do Panther System*.

Relacionadas com o laboratório

- F. Utilize apenas os artigos de laboratório descartáveis que sejam fornecidos ou especificados.
- G. Tome todas as precauções laboratoriais de rotina. Não pipete com a boca. Não coma, não beba, nem fume nas áreas de trabalho designadas. Use luvas sem pó descartáveis, proteção ocular e batas de laboratório quando manusear espécimes e reagentes de um kit. Lave bem as mãos depois de manusear os espécimes e os reagentes do kit.
Nota: como em qualquer sistema de reagentes, o excesso de pó em algumas luvas pode causar a contaminação de tubos abertos. Recomenda-se a utilização de luvas sem pó.
- H. As superfícies de trabalho, as pipetas e outro equipamento devem ser regularmente descontaminados com solução de hipoclorito de sódio de 2,5% a 3,5% (0,35 M a 0,5 M). Limpe e desinfete minuciosamente todas as superfícies de trabalho.
- I. Elimine todos os materiais que tenham estado em contacto com os espécimes e com os reagentes, de acordo com os regulamentos nacionais, internacionais e regionais aplicáveis.
- J. As boas práticas padrão para os laboratórios moleculares incluem a monitorização ambiental. Para monitorizar o ambiente de um laboratório, sugere-se o seguinte procedimento:
 - a. Para cada área a testar, obtenha um Kit Unissexo Aptima de Colheita de Espécimes de Esfregaço para espécimes de esfregaço endocervical e da uretra masculina.
 - b. Identifique adequadamente cada tubo.
 - c. Retire a zaragatoa de colheita de espécimes (zaragatoa de haste azul com impressão verde) da embalagem.
 - d. Para colher amostras de superfície, humedeça ligeiramente a zaragatoa de colheita do espécime em água sem nuclease.
 - e. Colha a amostra da superfície relevante movimentando a zaragatoa verticalmente, de cima para baixo. Rode a zaragatoa cerca de meia volta enquanto colhe a amostra do local.
 - f. Insira imediatamente a zaragatoa com a amostra no tubo de transporte.

- g. De forma cuidadosa, quebre a haste da zaragatoa na linha marcada; seja cuidadoso para evitar salpicar o conteúdo.
- h. Coloque a tampa do tubo de transporte de zaragatoas e aperte bem.
- i. Repita os passos para as restantes amostras em zaragatoa.
- j. Teste a(s) zaragatoa(s) com um ensaio molecular.

Relacionadas com os espécimes

- K. Os prazos de validade dos kits de transferência de espécimes são relativos à colheita/ transferência de espécimes e não aos testes dos espécimes. Os espécimes colhidos/ transferidos em qualquer data anterior a esses prazos de validade são válidos para serem testados, desde que tenham sido transportados e armazenados de acordo com o folheto informativo, mesmo que o prazo de validade do tubo de transferência tenha sido ultrapassado.
- L. Os espécimes podem ser infecciosos. Utilize as Precauções universais quando executar este ensaio. Estabeleça métodos de manuseamento e de eliminação adequados, de acordo com os regulamentos nacionais, internacionais e regionais aplicáveis.
- M. Mantenha condições de conservação adequadas durante o transporte de espécimes para garantir a integridade do espécime. A estabilidade do espécime em condições de transporte além das recomendadas não foi avaliada.
- N. Evite a contaminação cruzada durante os passos de manuseamento dos espécimes. Os espécimes podem conter níveis de organismos extremamente elevados. Certifique-se de que os recipientes de espécimes não entram em contacto uns com os outros e deite fora os materiais usados sem passá-los por cima de recipientes abertos. Mude de luvas se estas entrarem em contacto com um espécime.
- O. Após a perfuração, e sob determinadas condições, o líquido pode vazar das tampas dos tubos de transferência Aptima. Consulte o *Procedimento de teste no Panther System* para obter mais informações.
- P. Depois de adicionar urina ao tubo de transporte de urina, o nível do líquido deve situar-se entre as duas linhas pretas indicadoras no rótulo do tubo. Se tal não suceder, rejeite o espécime.
- Q. Se o laboratório receber um tubo de transporte de espécimes de esfregaço sem o esfregaço, com dois esfregaços, com um esfregaço de limpeza ou com um esfregaço não fornecido pela Hologic, o espécime deve ser rejeitado.

Relacionadas com o ensaio

- R. Não utilize os kits de reagentes ou de calibradores após o prazo de validade.
- S. Feche e guarde os reagentes nas temperaturas especificadas. O desempenho do ensaio pode ser afetado pela utilização de reagentes conservados de forma incorreta. Consulte as secções *Requisitos de conservação e manuseamento dos reagentes* e *Procedimento de teste no Panther System* para obter mais informações.
- T. Não combine quaisquer reagentes ou fluidos do ensaio sem instruções específicas para tal. Não adicione reagentes ou fluidos. O Panther System verifica os níveis dos reagentes.
- U. Evite a contaminação microbiana ou com ribonuclease dos reagentes.
- V. Não troque, misture, nem combine reagentes de kits de ensaio com números de lote diferentes. Os calibradores não são específicos de cada lote e os fluidos do ensaio podem ser provenientes de diferentes números de lote.

Requisitos de conservação e manuseamento dos reagentes

Nota: para obter informações sobre as declarações de perigo e de precaução que possam estar associadas a estes reagentes, consulte a Biblioteca de fichas de dados de segurança (Safety Data Sheet Library) em www.hologic.com/sds.

- A. A tabela seguinte mostra as condições de conservação e de estabilidade dos reagentes e dos calibradores.

Reagente	Conservação de produtos por abrir	Kit aberto (reconstituído)	
		Conservação	Estabilidade
Reagente de amplificação	2 °C a 8 °C		
Reagente enzimático	2 °C a 8 °C		
Reagente de sonda	2 °C a 8 °C		
Reagente do controlo interno	2 °C a 8 °C		
Solução de reconstituição da amplificação	15 °C a 30 °C	2 °C a 8 °C	30 dias
Solução de reconstituição enzimática	15 °C a 30 °C	2 °C a 8 °C	30 dias
Solução de reconstituição de sonda	15 °C a 30 °C	2 °C a 8 °C	30 dias
Reagente de captura do alvo	15 °C a 30 °C	15 °C a 30 °C	30 dias
Reagente de seleção	2 °C a 30 °C	2 °C a 30 °C	30 dias
Calibrador negativo	2 °C a 8 °C		Frasco descartável
Calibrador positivo	2 °C a 8 °C		Frasco descartável

- B. Se o reagente de seleção estiver armazenado num local refrigerado, deixe-o atingir a temperatura ambiente antes de o inserir Panther System.
- C. Deite fora quaisquer reagentes reconstituídos e o reagente de captura do alvo de trabalho (working Target Capture Reagent, wTCR) não usados após 30 dias ou após a data de validade do lote mestre, conforme o que ocorrer primeiro.
- D. Os calibradores por abrir permanecem estáveis até à data indicada nos frascos.
- E. A estabilidade dos reagentes reconstituídos conservados dentro do Panther System é de 156 horas. O Panther System regista cada uma das vezes que os reagentes são carregados.
- F. Evite a contaminação cruzada durante o manuseamento e o armazenamento dos reagentes. Tape todos os reagentes reconstituídos com novas tampas de reagente antes de os armazenar.
- G. O reagente de sonda e o reagente de sonda reconstituído são fotossensíveis. Durante o armazenamento, proteja-os da luz.
- H. Não congele os reagentes.

Colheita e conservação de espécimes

Nota: manuseie todos os espécimes como se contivessem agentes potencialmente infecciosos. Use as Precauções universais.

Nota: tenha cuidado para evitar a contaminação cruzada durante os passos de manuseamento das amostras. Por exemplo, descarte o material usado sem passar por cima de tubos abertos.

O Aptima Mycoplasma genitalium Assay permite testar espécimes de esfregaço vaginal colhidos pelo médico ou pelo paciente, espécimes de esfregaço endocervical colhidos pelo médico, espécimes cervicais colhidos pelo médico em solução PreservCyt™, espécimes da primeira urina da manhã masculinos e femininos colhidos pelo paciente, espécimes de esfregaço uretral masculino colhidos pelo médico e espécimes de esfregaço do meato urinário colhidos pelo paciente. O desempenho do ensaio não foi avaliada noutros espécimes além dos colhidos com os seguintes kits de colheita de espécimes:

- Kit Unissexo Aptima de Colheita de Espécimes de Esfregaço para espécimes de esfregaço endocervical e da uretra masculina
- Kit de colheita de urina Aptima para espécimes de urina masculina e feminina
- Kit de colheita de espécimes de esfregaço vaginal Aptima
- Kit de colheita de espécimes de esfregaço multi-teste Aptima para espécimes de esfregaço vaginal e espécimes de esfregaço do meato urinário
- Kit de transferência de espécimes Aptima (para utilização com amostras ginecológicas colhidas em solução PreservCyt)

A. Colheita de espécimes

Consulte o folheto informativo do kit de colheita de espécimes adequado para obter instruções de colheita específicas.

B. Transporte e armazenamento de espécimes antes do teste:

1. Espécimes de esfregaço

- a. Após a colheita, os espécimes de esfregaço em tubos de transporte podem ser armazenados a 2 °C a 30 °C até um máximo de 60 dias.
- b. Se for necessário um armazenamento mais prolongado, os espécimes de esfregaço em tubos de transporte podem ser armazenados a uma temperatura de -20 °C ou -70 °C até um máximo de 90 dias adicionais.

2. Espécimes de urina

- a. Antes de testar os espécimes de urina, é necessário transferir a urina para um tubo de transporte de urina Aptima de acordo com as instruções incluídas no folheto informativo do kit de colheita de urina.
- b. Após a colheita, os espécimes de urina no recipiente de colheita principal podem ser armazenadas a uma temperatura de 2 °C a 30 °C durante um máximo de 24 horas, antes da urina ser transferida para o tubo de transporte.
- c. A urina processada no tubo de transporte pode ser armazenada a uma temperatura de 2 °C a 30 °C até um máximo de 30 dias (após a transferência).
- d. Se for necessário um armazenamento mais prolongado, a urina processada no tubo de transporte pode ser armazenada a uma temperatura de -20 °C ou -70 °C até um máximo de 90 dias adicionais (após a transferência).

3. Espécimes colhidos em solução PreservCyt
 - a. Antes de ser possível testar os espécimes ginecológicos colhidos em solução PreservCyt, o volume deve ser transferido para um tubo de transferência de espécimes Aptima, de acordo com as instruções incluídas no folheto informativo do kit de transferência de espécimes Aptima.
 - b. Após a colheita, os espécimes ginecológicos no frasco da solução PreservCyt podem ser armazenados a uma temperatura de 2 °C a 30 °C até um máximo de 30 dias antes do volume ser transferido para o tubo de transferência de espécimes Aptima.
 - c. Os espécimes ginecológicos processados nos tubos de transferência podem ser armazenados a uma temperatura de 2 °C a 30 °C até um máximo de 60 dias (após a transferência).
 - d. Se for necessário um armazenamento mais prolongado, os espécimes ginecológicos processados no tubo de transferência podem ser armazenados a uma temperatura de -20 °C ou -70 °C até um máximo de 90 dias adicionais (após a transferência).
- C. Armazenamento de espécimes após o teste:
 1. Os espécimes testados devem ser armazenados em posição vertical num suporte.
 2. Os tubos de transporte de espécimes devem ser cobertos com uma película de plástico nova e limpa ou com folha de alumínio.
 3. Se as amostras testadas tiverem de ser expedidas, retire a tampa perfurável e coloque novas tampas não perfuráveis nos tubos de transporte de espécimes. Se os espécimes tiverem de ser expedidos para serem testados noutra local, mantenha as temperaturas recomendadas. Antes de tirar as tampas, centrifugue os tubos de transporte de espécimes durante 5 minutos a uma Força Centrífuga Relativa (RCF) de 420 para levar todo o líquido ao fundo do tubo. **Evite salpicos e contaminação cruzada.**

Transporte de espécimes

Mantenha as condições de conservação de amostras descritas na secção *Colheita e conservação de espécimes*.

Nota: os espécimes devem ser transportados de acordo com os regulamentos de transporte nacionais, internacionais e regionais em vigor.

Panther System

Os reagentes do Aptima Mycoplasma genitalium Assay para o Panther System são indicados abaixo. Os símbolos de identificação do reagente também estão indicados junto ao nome do reagente.

Reagentes e materiais

Nota: para obter informações sobre quaisquer declarações de perigo e de precaução que possam estar associadas a estes reagentes, consulte a Biblioteca de fichas de dados de segurança (Safety Data Sheet Library) em www.hologic.com/sds.

Kit do Aptima Mycoplasma genitalium Assay

100 testes (2 caixas) (Código de produto PRD-03374)*

100 testes (2 caixas e 1 kit de calibradores) (Código de produto PRD-03919)

Caixa refrigerada Aptima Mycoplasma genitalium (conservar a uma temperatura de 2 °C a 8 °C após a receção)

Símbolo	Componente	Quantidade
A	Reagente de amplificação Aptima Mycoplasma genitalium <i>Ácidos nucleicos não infecciosos liofilizados em solução tamponada com < 5% de agente de volume.</i>	1 frasco
E	Reagente enzimático Aptima Mycoplasma genitalium <i>Transcriptase reversa e RNA polimerase liofilizadas em solução tamponada com HEPES contendo < 10% de reagente de volume.</i>	1 frasco
P	Reagente de sonda Aptima Mycoplasma genitalium <i>Sondas de DNA quimioluminescentes liofilizadas em solução tamponada com succinato contendo < 5% de detergente.</i>	1 frasco
IC	Controlo interno Aptima Mycoplasma genitalium <i>Transcrito de RNA não infeccioso em solução tamponada com < 5% de detergente.</i>	1 frasco

Caixa de temperatura ambiente Aptima Mycoplasma genitalium (conservar a uma temperatura de 15 °C a 30 °C após a receção)

Símbolo	Componente	Quantidade
AR	Solução de reconstituição da amplificação Aptima Mycoplasma genitalium <i>Solução aquosa com conservantes.</i>	1 frasco
ER	Solução de reconstituição enzimática Aptima Mycoplasma genitalium <i>Solução tamponada com HEPES com um agente tensioativo e glicerol.</i>	1 frasco

* Os kits do calibrador são vendidos em separado. Consulte o código de produto individual das caixas abaixo.

Caixa de temperatura ambiente Aptima Mycoplasma genitalium
(conservar a uma temperatura de 15 °C a 30 °C após a receção) (continuação)

PR	Solução de reconstituição de sonda Aptima Mycoplasma genitalium <i>Solução tamponada com succinato contendo < 5% de detergente.</i>	1 frasco
Símbolo	Componente	Quantidade
S	Reagente de seleção Aptima Mycoplasma genitalium <i>Solução tamponada com borato a 600 mM e com surfactante.</i>	1 frasco
TCR	Reagente de captura do alvo Aptima Mycoplasma genitalium <i>Solução tamponada com oligómeros de captura e partículas magnéticas.</i>	1 frasco
	Aros de reconstituição	3
	Ficha de Códigos de Barras do Lote Mestre	1 folha

Kit de calibradores do Aptima Mycoplasma genitalium (PRD-03393)
(conservar a uma temperatura de 2 °C a 8 °C após a receção)

Símbolo	Componente	Quantidade
NCAL	Calibrador negativo do Aptima Mycoplasma genitalium <i>Solução tamponada com < 5% de detergente.</i>	5 frascos
PCAL	Calibrador positivo do Aptima Mycoplasma genitalium <i>Transcrito de RNA in vitro não infeccioso de Mycoplasma genitalium em solução tamponada com < 5% de detergente.</i>	5 frascos

Materiais necessários, mas disponíveis separadamente

Nota: os materiais disponíveis na Hologic têm a indicação dos códigos de produto, a menos que o contrário seja especificado.

	Código de produto
Panther System	303095
Kit de fluidos do ensaio Aptima <i>contém solução de lavagem Aptima, tampão para o fluido de desativação Aptima e reagente de óleo Aptima</i>	303014 (1000 testes)
Kit Auto Detect Aptima	303013 (1000 testes)
Unidades Multitubos (MTUs)	104772-02
Kit de sacos de resíduos Panther	902731
Tampa do recipiente de resíduos Panther	504405
Ou Kit de execução do Panther System <i>contém MTUs, sacos de resíduos, tampas de recipientes de resíduos, fluidos de ensaio e reagentes Auto Detect</i>	303096 (5000 testes)
Pontas, condutoras de 1000 µl, deteção de líquido	10612513 (Tecan)
Kit de calibradores do Aptima Mycoplasma genitalium	PRD-03393

Kit de transferência de espécimes Aptima <i>para utilização com espécimes em solução PreservCyt™</i>	301154C
Kit de colheita de espécimes de esfregaço vaginal Aptima	301162
Kit de colheita de espécimes de esfregaço multi-teste Aptima	PRD-03546
Kit unissexo Aptima de colheita de espécimes de esfregaço para espécimes de esfregaço endocervical e da uretra masculina	301041
Kit de colheita de espécimes de urina Aptima	301040
Ou Tubos de transporte de espécimes de urina Aptima	105575
Lixívia, solução de hipoclorito de sódio de 5% a 7% (0,7 M a 1,0 M)	—
Luvas sem pó, descartáveis	—
Tampas perfuráveis Aptima	105668
Tampas de substituição para reagentes, para kits de 100 testes <i>Soluções de amplificação, enzimática e de reconstituição do reagente de sonda TCR e reagente de seleção</i>	— CL0041 (100 tampas) 501604 (100 tampas)
Coberturas de bancada laboratorial com forro de plástico	—
Centrífuga	—

Materiais opcionais

	Código de produto
Reforço de lixívia Hologic para limpeza <i>para a limpeza de rotina de superfícies e equipamentos</i>	302101
Tampas não perfuráveis de substituição	103036A

Procedimento de teste no Panther System

Nota: consulte o Manual de instruções do Panther System para obter mais informações sobre os procedimentos do Panther System.

A. Preparação da área de trabalho

1. Limpe as superfícies de trabalho onde serão preparados os reagentes. Limpe as superfícies de trabalho com 2,5% a 3,5% (0,35 M a 0,5 M) de solução de hipoclorito de sódio. Deixe a solução de hipoclorito de sódio entrar em contacto com as superfícies durante, pelo menos, 1 minuto e depois enxagúe com água desionizada (DI). Não deixe secar a solução de hipoclorito de sódio. Cubra a superfície da bancada com capas limpas e absorventes para bancadas de laboratórios com forro de plástico.
2. Limpe uma superfície de trabalho separada onde as amostras serão preparadas. Siga o procedimento supramencionado (passo A.1).

B. Reconstituição/preparação dos reagentes de um novo kit

Nota: a reconstituição dos reagentes deve ser realizada antes de iniciar qualquer trabalho no Panther System.

1. Para reconstituir os reagentes de amplificação, enzimático e de sonda, combine os frascos de reagente liofilizado com a solução de reconstituição adequada. Se estiverem refrigeradas, deixe que as soluções de reconstituição atinjam a temperatura ambiente antes de utilizá-las.
 - a. Remova os reagentes liofilizados (2 °C a 8 °C) e as respectivas soluções de reconstituição (15 °C a 30 °C) da conservação.
 - b. Antes de fixar o aro de reconstituição, certifique-se de que a solução de reconstituição e o reagente liofilizado possuem rótulos com cores idênticas.
 - c. Verifique os números do lote na Ficha de Códigos de Barras do Lote Mestre para garantir que estão emparelhados os reagentes adequados.
 - d. Abra o frasco de reagente liofilizado removendo o selo metálico e a rolha de borracha. Insira com firmeza a extremidade ranhurada do aro de reconstituição (preto) no frasco (Figura 1, passo 1).
 - e. Abra o frasco da solução de reconstituição correspondente e coloque a tampa numa superfície de trabalho limpa e coberta.
 - f. Coloque o frasco da solução de reconstituição numa superfície estável (por exemplo, a bancada). Em seguida, inverta o frasco de reagente liofilizado sobre o frasco da solução de reconstituição e fixe firmemente o aro ao frasco da solução de reconstituição (Figura 1, passo 2).
 - g. Inverta lentamente os frascos montados (frasco ligado ao frasco de solução) para permitir que a solução drene para o frasco de vidro (Figura 1, passo 3).
 - h. Pegue nos frascos montados e agite cuidadosamente. Evite formar espuma ao agitar o frasco (Figura 1, passo 4).
 - i. Aguarde até que o reagente liofilizado entre na solução. Depois do reagente liofilizado se juntar à solução, agite suavemente para misturar e, em seguida, inverta novamente os frascos montados, inclinando-os num ângulo de 45° para evitar a formação de espuma (Figura 1, passo 5). Incline lentamente os frascos montados outra vez para permitir que toda a solução seja novamente drenada para dentro do frasco da solução de reconstituição.

- j. Remova cuidadosamente o aro de reconstituição e o frasco de vidro (Figura 1, passo 6).
- k. Volte a colocar a tampa do frasco. Grave as iniciais do operador e a data de reconstituição na etiqueta (Figura 1, passo 7).
- l. Elimine o aro de reconstituição e o frasco de vidro (Figura 1, passo 8).

Advertência: evite formar espuma ao reconstituir os reagentes. A espuma compromete o sensor de nível do Panther System.

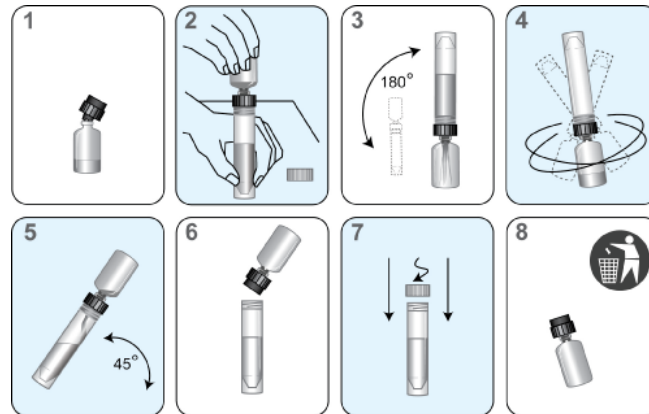


Figura 1. Processo de reconstituição de reagentes

2. Para preparar o wTCR, proceda da seguinte forma:
 - a. Remova os frascos adequados de TCR (15 °C a 30 °C) e de reagente do controlo interno (2 °C a 8 °C) da conservação.
 - b. Verifique os números de lote no frasco de TCR e no frasco de Reagente do controlo interno para se certificar de que correspondem ao número de lote da ficha de códigos de barras do lote mestre.
 - c. Abra o frasco de TCR e coloque a tampa numa superfície de trabalho limpa e coberta.
 - d. Abra o frasco de reagente do controlo interno e deite o conteúdo completo no frasco de TCR. Uma pequena quantidade de líquido poderá permanecer no frasco do controlo interno.
 - e. Feche o frasco de TCR e agite suavemente a solução para misturar o conteúdo. Evite formar espuma durante este passo.
 - f. Registe as iniciais do operador e a data atual na etiqueta.
 - g. Elimine o frasco de reagente do controlo interno e a respetiva tampa.
3. Prepare o reagente de seleção
 - a. Remova o reagente de seleção da conservação (2 °C a 30 °C). Verifique o número de lote no frasco de reagente de seleção para se certificar de que corresponde ao número de lote da ficha de códigos de barras do lote mestre.
 - b. Se o reagente de seleção estiver armazenado num local refrigerado, deixe-o atingir a temperatura ambiente antes de o inserir Panther System.
 - c. Registe as iniciais do operador e a data atual na etiqueta.

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

C. Preparação de reagentes para reagentes previamente reconstituídos

1. Remova os reagentes previamente preparados da conservação (2 °C a 8 °C). Os reagentes de amplificação, enzimático e de sonda previamente reconstituídos devem atingir a temperatura ambiente (15 °C a 30 °C) antes do início do ensaio.
2. Se o reagente de sonda reconstituído contiver um precipitado à temperatura ambiente (15 °C a 30 °C), aqueça o frasco tapado a uma temperatura não superior a 62 °C durante 1 a 2 minutos. Após este passo de aquecimento, o reagente de sonda pode ser utilizado mesmo que contenha resíduos de precipitado. Misture o reagente de sonda por inversão. Evite formar espuma durante a inversão dos reagentes.
3. Inverta os reagentes de amplificação, enzimático e de sonda para os misturar bem antes de os colocar no sistema. Evite formar espuma excessiva durante a inversão dos reagentes.
4. Não ateste frascos de reagente. O Panther System reconhece e rejeita os frascos que tenham sido atestados.

D. Preparação do calibrador

Remova os calibradores da conservação (2 °C a 8 °C) e deixe-os atingir uma temperatura de 15 °C a 30 °C antes de efetuar o processamento.

E. Manuseamento de espécimes

1. Deixe os espécimes atingir uma temperatura de 15 °C a 30 °C antes do processamento.
2. **Não coloque os espécimes no vortex.**
3. Confirme visualmente se cada tubo de espécime cumpre um dos seguintes critérios:
 - a. Presença de uma única zaragatoa de colheita azul Aptima num tubo de transporte de espécimes de esfregaço unissexo.
 - b. Presença de uma única zaragatoa de colheita cor de rosa Aptima num tubo de transporte de espécimes de esfregaço multi-teste ou vaginal.
 - c. Um volume final de urina entre as linhas de enchimento pretas dos tubos de transporte de espécimes de urina.
 - d. Ausência de uma zaragatoa ou de um dispositivo de colheita no tubo de transporte de espécimes Aptima para espécimes em solução PreservCyt™.
 - e. Se o espécime não cumprir os critérios, deverá ser rejeitado.
4. Inspeccione os tubos de espécimes antes de os carregar no suporte de amostras:
 - a. Se um tubo de espécime tiver bolhas no espaço entre o líquido e a tampa, centrifugue o tubo durante 5 minutos a uma RCF de 420 para eliminar as bolhas.
 - b. Se um tubo de espécime tiver um volume inferior ao normalmente observado quando se seguem as instruções de colheita, centrifugue o tubo durante 5 minutos a uma RCF de 420 para garantir que o líquido não está retido na tampa.
 - c. Se um tubo de espécimes de urina contiver um precipitado, aqueça o espécime a 37 °C durante 5 minutos.

Nota: se os Passos 4a-4c não forem cumpridos, poderá resultar numa descarga de líquido a partir da tampa do tubo de espécime.

Nota: é possível testar um máximo de 3 alíquotas distintas de cada tubo de espécime. A tentativa de pipetar mais do que 3 alíquotas do tubo de espécime pode dar origem a erros de processamento.

F. Preparação do sistema

1. Configure o sistema de acordo com as instruções do *Manual de instruções do Panther System* e das *Notas sobre o procedimento*.
2. Carregue as amostras no suporte de amostras.
3. Quando carregar todas as amostras, fixe o retentor de amostras no suporte de amostras e insira as amostras na zona de amostras.
4. Repita os passos 2 a 3 para o suporte de amostras seguinte.

Notas sobre o procedimento

A. Calibradores

1. Os tubos do calibrador positivo Aptima para a *Mycoplasma genitalium* e do calibrador negativo Aptima para a *Mycoplasma genitalium* podem ser carregados em qualquer posição do suporte ou em qualquer corredor da zona de amostras do Panther System. A pipetagem de espécimes começa quando se verificar uma das duas condições seguintes:
 - a. Um par de calibradores está a ser processado pelo sistema.
 - b. São registados resultados válidos para os calibradores no sistema.
2. Depois dos tubos dos calibradores serem pipetados e estarem a ser processados pelo kit de reagente do Aptima Mycoplasma genitalium Assay, os espécimes podem ser testados com o kit reconstituído associado até um máximo de 48 horas, **a menos que:**
 - a. Os resultados dos calibradores sejam inválidos.
 - b. O respetivo kit de reagente do ensaio seja removido do sistema.
 - c. O respetivo kit de reagente do ensaio tenha ultrapassado os limites de estabilidade.
3. Cada tubo do calibrador só pode ser utilizado uma única vez. As tentativas para usar o tubo mais do que uma vez podem dar origem a erros de processamento.

Controlo de qualidade

Um resultado de uma execução ou espécime pode ser invalidado por um operador se tiverem sido observadas dificuldades técnicas, do operador ou do instrumento, durante a execução do ensaio e se estas estiverem documentadas.

Todos os resultados invalidados pelo instrumento ou pelo operador devem ser novamente testados.

Calibração do ensaio

Para gerar resultados válidos, é necessário concluir uma calibração do ensaio. Um calibrador positivo e um calibrador negativo são executados em duplicado sempre que um kit de reagente é carregado no Panther System. O manual do Panther System indica uma estabilidade de 24 horas do calibrador; no entanto, a calibração do Aptima Mycoplasma genitalium Assay é válida durante um máximo de 48 horas. O software do Panther System alerta o operador sempre que for necessário utilizar um novo conjunto de calibrador.

Durante o processamento, os critérios de aceitação do calibrador são automaticamente verificados pelo software do Panther System. Se duas réplicas do calibrador positivo ou do calibrador negativo forem inválidas, o software invalida automaticamente a execução. As amostras de uma execução invalidada devem ser novamente testadas com um conjunto de calibradores recém-preparados.

Nota: para obter assistência relativa a calibradores com indicação de erro "fora do intervalo", contacte o Suporte Técnico da Hologic.

Controlo interno

Cada amostra contém um controlo interno (internal control, IC). Durante o processamento, os critérios de aceitação do IC são automaticamente verificados pelo software do Panther System. Se um resultado de IC for inválido, o resultado da amostra é invalidado. É necessário testar novamente cada amostra com um resultado de IC inválido.

O software do Panther System foi concebido para verificar com precisão os processos, quando os procedimentos são efetuados de acordo com as instruções fornecidas neste folheto informativo e no *Manual de Instruções do Panther System*.

Interpretação dos resultados

Os resultados do teste de ensaio são automaticamente interpretados pelo software Aptima Mycoplasma genitalium Assay do Panther System. O resultado de um teste pode ser negativo, positivo ou inválido, conforme determinado pelo controlo interno (IC), pela unidade de luz relativa (RLU) e pela relação de sinal para "cutoff" (S/CO) do analisado no passo de deteção (ver abaixo). O resultado de um teste pode ser inválido devido a valores da RLU fora dos intervalos normais previstos. Os resultados inválidos do teste inicial devem ser testados novamente. Comunique o primeiro resultado válido.

Tabela 1: Interpretação de resultados

Resultado do ensaio	Critérios
Negativo	S/CO do analisado < 1,0 IC ≥ "Cutoff" IC IC ≤ 1.200.000 RLU
Positivo	S/CO do analisado ≥ 1,0 IC ≤ 1.200.000 RLU Analisado ≤ 3.000.000 RLU
Inválido	S/CO do analisado < 1,0 e IC < "Cutoff" IC Ou IC > 1.200.000 RLU Ou Analisado > 3.000.000 RLU

Resultados do controlo de qualidade e aceitabilidade

Critérios de validade da execução

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

- Se ambas as réplicas do calibrador negativo forem inválidas.
- Se ambas as réplicas do calibrador positivo forem inválidas.

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

Uma execução inválida deve ser repetida. As execuções abortadas devem ser repetidas.

Critérios de aceitação do calibrador

Os calibradores do Aptima Mycoplasma genitalium devem produzir os seguintes resultados de teste:

Tabela 2: Critérios de aceitação

Calibrador	RLU	Resultado do <i>M. genitalium</i>
Analisado do calibrador negativo	≥ 0 e ≤ 40.000	Válido
IC do calibrador negativo	≥ 120.000 e ≤ 425.000	Válido
Analisado do calibrador positivo	≥ 650.000 e $\leq 2.700.000$	Válido
IC do calibrador positivo	≥ 0 e ≤ 800.000	Válido

Cálculo do "cutoff" IC

O "cutoff" IC é determinado a partir do sinal do IC proveniente de réplicas válidas do calibrador negativo.

$$\text{"Cutoff" IC} = 0,5 \times [\text{RLU média do IC das réplicas válidas do calibrador negativo}]$$

Cálculo do "cutoff" do analisado

O "cutoff" do analisado é determinado a partir do sinal da RLU proveniente de réplicas válidas do calibrador negativo e de réplicas válidas do calibrador positivo.

$$\text{"Cutoff" do analisado} = [1 * \text{RLU média do analisado de réplicas válidas do calibrador negativo}] + [0,035 * \text{RLU média do analisado de réplicas válidas do calibrador positivo}]$$

Cálculo do sinal para "cutoff" (S/CO) do analisado

O S/CO do analisado é determinado a partir da RLU do analisado da amostra de teste e do "cutoff" do analisado para execução.

$$\text{S/CO do analisado} = \text{RLU do analisado da amostra de teste} \div \text{"cutoff" do analisado}$$

Limitações

- A. A utilização deste ensaio está limitada a pessoal que tenha recebido formação relativa ao procedimento. O não cumprimento das instruções fornecidas neste folheto pode levar a resultados erróneos.
- B. Os efeitos da utilização de um tampão, dos banhos de chuveiro e das variáveis de colheita de espécimes não foram avaliados quanto ao seu impacto na deteção de *M. genitalium*.
- C. A amostragem de espécimes de urina, esfregaços vaginais e espécimes citológicos em solução PreservCyt™ não foi concebida para substituir os exames ao colo do útero e a colheita de espécimes endocervicais para o diagnóstico de infeções urogenitais femininas. Os pacientes podem ter cervicite, uretrite, infeções do trato urinário ou infeções vaginais devido a outras causas ou a infeções simultâneas com outros agentes.
- D. Este ensaio foi testado utilizando apenas os tipos de espécime indicados. O desempenho com outros tipos de espécime não foi avaliado.
- E. A fiabilidade dos resultados depende da colheita, transporte, conservação e processamento de espécimes adequados. Como o sistema de transporte utilizado para este ensaio não permite a avaliação microscópica de adequação do espécime, a formação dos médicos em técnicas adequadas de colheita de espécimes é necessária. Consulte *Colheita e conservação de espécimes* para obter instruções. Para obter informações detalhadas, consulte as instruções de utilização adequadas.
- F. O fracasso ou o sucesso terapêutico não podem ser determinados com o Aptima Mycoplasma genitalium Assay pois os ácidos nucleicos podem persistir após uma terapêutica antimicrobiana adequada.
- G. Os resultados do Aptima Mycoplasma genitalium Assay devem ser interpretados em conjunto com outros dados clínicos de que o médico disponha.
- H. Um resultado negativo não impede uma possível infeção porque os resultados dependem da colheita adequada de espécimes. Os resultados do teste podem ser afetados por uma colheita inadequada de espécimes, um erro técnico, uma mistura de espécimes ou por níveis alvo inferiores ao limite de deteção do ensaio.
- I. O Aptima Mycoplasma genitalium Assay fornece resultados qualitativos. Por isso, não se pode fazer uma correlação entre a magnitude de um sinal positivo de ensaio e a quantidade de organismos num espécime.
- J. O desempenho dos diversos tipos de espécime feminino não foi determinado em mulheres grávidas.
- K. O desempenho do ensaio não foi avaliado em mulheres com idade inferior a 19 anos.
- L. Se um espécime tiver uma pequena quantidade de organismos de *M. genitalium*, pode ocorrer uma distribuição desigual desses organismos, a qual pode afetar a capacidade de deteção do rRNA de *M. genitalium* no material colhido. Se os resultados negativos obtidos com um espécime não corresponderem à impressão clínica, pode ser necessário utilizar um novo espécime.
- M. Os clientes devem validar um processo de transferência LIS de forma independente.
- N. O desempenho dos espécimes ginecológicos colhidos num frasco de solução PreservCyt e processados com os sistemas ThinPrep™ não foi determinado no Aptima Mycoplasma genitalium Assay.

Desempenho do ensaio no Panther System

Desempenho em espécimes clínicos e amostras positivas artificiais

O desempenho do Aptima Mycoplasma genitalium Assay foi comparado com um alvo alternativo de ensaio TMA de *M. genitalium*. Colheu-se um total de 1422 amostras de sujeitos da Europa, Canadá e Estados Unidos com recurso a kits de colheita de espécimes Aptima. Foram testados in situ, com ambos os ensaios, esfregaços vaginais colhidos pelo médico e pelas pacientes (n=173), esfregaços endocervicais (n=177), amostras citológicas em solução PreservCyt™ (n=352), esfregaços de urina feminina (n=302), urina masculina (n=133) e da uretra masculina (n=136), e esfregaços do meato urinário colhidos pelos pacientes (n=149). Além disso, foram incluídas no estudo amostras clínicas artificiais de cada tipo de amostra, exceto de urina masculina, enriquecidas com lisado de células inteiras de *M. genitalium*. A concentração de *M. genitalium* das amostras enriquecidas foi de 0,1 CFU/ml (0,025 CFU/reacção), representando meio log abaixo da concentração mínima possível de *M. genitalium* numa amostra clínica. Calcularam-se as concordâncias positiva e negativa para cada tipo de amostra, combinando espécimes clínicos e amostras artificiais, as quais são apresentadas na Tabela 3.

Tabela 3: Concordância positiva e negativa do Aptima Mycoplasma genitalium Assay (AMG) comparado com um ensaio TMA de *M. genitalium* alvo alternativo (ALT TMA)

Tipo de espécime	N	AMG +	AMG +	AMG -	AMG -	Concordância positiva	Concordância negativa	Concordância global
		ALT TMA +	ALT TMA -	ALT TMA +	ALT TMA -	(IC de 95%)	(IC de 95%)	(IC de 95%)
Esfregaço do meato urinário	149*	64	2	0	83	100,0% (94,3-100%)	97,6% (91,4-99,4%)	98,7% (95,2-99,6%)
Urina masculina	133	45	1	0	87	100,0% (92,1-100%)	98,9% (93,8-99,8%)	99,2% (95,9-99,9%)
Esfregaço da uretra masculina	136*	39	0	0	97	100,0% (91,0-100%)	100% (96,2-100%)	100% (97,3-100%)
Urina feminina	302*	59	0	0	243	100,0% (93,9-100%)	100,0% (98,4-100%)	100% (98,7-100%)
Amostra citológica em solução PreservCyt	352*	59	1	0	292	100,0% (93,9-100%)	99,7% (98,1-99,9%)	99,7% (98,4-100%)
Esfregaço vaginal	173*	69	2	0	102	100,0% (94,7-100%)	98,1% (93,3-99,5%)	98,8% (95,9-99,7%)
Esfregaço endocervical	177*	64	0	0	113	100% (94,3-100%)	100% (96,7-100%)	100% (97,9-100%)

* Número de amostras enriquecidas: esfregaços do meato urinário = 49; esfregaços da uretra = 25; espécimes de urina feminina = 49; amostras em PreservCyt = 52; esfregaços vaginais = 46; esfregaços endocervicais = 50.

Reprodutibilidade do ensaio

A reprodutibilidade do Aptima Mycoplasma genitalium Assay foi avaliada com o Panther System. Realizaram-se testes ao longo de três dias com dois lotes de reagentes do ensaio, três operadores e três Panther Systems. Os painéis de reprodutibilidade foram criados enriquecendo meios de transporte de espécimes (STM) com a quantidade adequada de transcrito de RNA de *M. genitalium*. As concentrações finais de RNA de *M. genitalium* situaram-se entre 0 e 100 cópias/ml. A Tabela 4 apresenta, para cada membro do painel, os dados S/CO em termos de média, desvio padrão (DP) e coeficiente de variação (CV) entre operadores, entre instrumentos, entre dias, entre lotes, entre execuções e os dados globais (totais). A Tabela 5 apresenta a positividade e a percentagem de concordância dos painéis.

No estudo não existiram resultados falso negativos e ocorreu apenas um resultado falso positivo. As amostras com resultados válidos foram incluídas nas análises.

Tabela 4: Estudo de reprodutibilidade: reprodutibilidade do Aptima Mycoplasma genitalium Assay por painel

Painel	N	S/CO média	Entre operadores		Entre instrumentos		Entre dias		Entre lotes		Entre execuções		Intra-execuções		Total	
			DP	CV (%)	DP	CV (%)	DP	CV (%)	DP	CV (%)	DP	CV (%)	DP	CV (%)	DP	CV (%)
Painel negativo	1438	0,01	0	0	0	0	0	0	0,00	31,13	0	0	0,36	3699	0,36	3699
Painel positivo	1434	25,73	0,22	0,85	0,30	1,16	0	0	0,12	0,45	0,80	3,11	1,23	4,79	1,52	5,90

N = número; DP = desvio padrão; CV = coeficiente de variação; S/CO = relação de sinal para "cutoff".

Nota: a variabilidade de alguns fatores pode ser numericamente negativa, o que pode ocorrer se a variabilidade devido a esses fatores for muito pequena. Quando tal ocorre, DP = 0 e CV = 0%.

Tabela 5: Percentagem de concordância na descrição dos painéis do Aptima Mycoplasma genitalium Assay

Descrição	N válido	% positivo	% concordância
Painel negativo	1438	0,07% (0,01-0,39)	99,93% (99,61-99,99)
Painel positivo	1434	100% (99,73-100)	100% (99,73-100)

Sensibilidade analítica

Painéis de sensibilidade com 0,01 CFU/ml em STM foram preparados com lisado de *M. genitalium*. Os testes demonstraram uma positividade de 100% em 0,01 CFU/ml.

Reatividade cruzada na presença de micro-organismos

Especificidade

A especificidade do Aptima Mycoplasma genitalium Assay foi avaliada através da análise de diversos micro-organismos, incluindo a flora comum do trato genitourinário, organismos oportunistas e organismos estreitamente relacionados. Os testes foram realizados em STM com 20 réplicas de cada isolado. A lista de organismos e concentrações testados é fornecida na Tabela 6. Não se observou qualquer reatividade cruzada no Aptima Mycoplasma genitalium Assay em qualquer um dos organismos testados.

Sensibilidade

A sensibilidade do Aptima Mycoplasma genitalium Assay foi avaliada através da análise dos mesmos organismos (Tabela 6) em STM enriquecido com lisado de *M. genitalium* para uma concentração final de 0,25 CFU/ml (20 réplicas de cada isolado). Não se observou qualquer interferência na presença de micro-organismos.

Tabela 6: Micro-organismos testados com o Aptima Mycoplasma genitalium Assay no Panther System

Micro-organismo	Concentração	Micro-organismo	Concentração
<i>Acinetobacter lwoffii</i>	1x10 ⁶ CFU/ml	Vírus do papiloma humano tipo 16 (células SiHa)	1x10 ⁴ células/ml
<i>Actinomyces israelii</i>	1x10 ⁶ CFU/ml	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	1x10 ⁶ CFU/ml
<i>Alcaligenes faecalis</i>	1x10 ⁶ CFU/ml	<i>Lactobacillus acidophilus</i>	1x10 ⁶ CFU/ml
<i>Atopobium vaginae</i>	1x10 ⁶ CFU/ml	<i>Lactobacillus crispatus</i>	1x10 ⁶ CFU/ml
<i>Bacteroides fragilis</i>	1x10 ⁶ CFU/ml	<i>Leptotrichia buccalis</i>	1x10 ⁶ CFU/ml
<i>Bifidobacterium adolescentis</i>	1x10 ⁶ CFU/ml	<i>Listeria monocytogenes</i>	1x10 ⁶ CFU/ml
<i>Campylobacter jejuni</i>	1x10 ⁶ CFU/ml	<i>Mobiluncus curtisii</i>	1x10 ⁶ CFU/ml
<i>Candida albicans</i>	1x10 ⁶ CFU/ml	<i>Mycoplasma hominis</i>	1x10 ⁶ CFU/ml
<i>Chlamydia trachomatis</i>	1x10 ⁶ CFU/ml	<i>Mycoplasma pneumoniae</i>	250 CFU/ml
<i>Clostridium difficile</i>	1x10 ⁶ CFU/ml	<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	1x10 ⁶ CFU/ml
<i>Corynebacterium genitalium</i>	1x10 ⁶ CFU/ml	<i>Peptostreptococcus magnus</i>	1x10 ⁶ CFU/ml
<i>Cryptococcus neoformans</i>	1x10 ⁶ CFU/ml	<i>Prevotella bivia</i>	1x10 ⁶ CFU/ml
Citomegalovírus	1x10 ⁵ TCID 50/ml	<i>Propionibacterium acnes</i>	1x10 ⁶ células/ml
<i>Enterobacter cloacae</i>	1x10 ⁶ CFU/ml	<i>Proteus vulgaris</i>	1x10 ⁶ CFU/ml
<i>Enterococcus faecalis</i>	1x10 ⁶ CFU/ml	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	1x10 ⁶ CFU/ml
<i>Escherichia coli</i>	1x10 ⁶ CFU/ml	<i>Staphylococcus aureus</i>	1x10 ⁶ CFU/ml
<i>Fusobacterium nucleatum</i>	1x10 ⁶ CFU/ml	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	1x10 ⁶ CFU/ml
<i>Gardnerella vaginalis</i>	1x10 ⁶ CFU/ml	<i>Streptococcus agalactiae</i>	1x10 ⁶ CFU/ml
<i>Haemophilus ducreyi</i>	1x10 ⁶ CFU/ml	<i>Streptococcus pyogenes</i>	1x10 ⁶ CFU/ml
Vírus herpes simplex tipo 1	2,5x10 ⁶ TCID 50/ml	<i>Trichomonas vaginalis</i>	1x10 ⁶ CFU/ml
Vírus herpes simplex tipo 2	2,5x10 ⁶ TCID 50/ml	<i>Ureaplasma parvum</i>	1x10 ⁶ CFU/ml
HIV-1	1x10 ⁶ cópias/ml	<i>Ureaplasma urealyticum</i>	1x10 ⁶ células/ml

Interferência

As substâncias endógenas e exógenas seguintes foram adicionadas individualmente ao STM para se obter uma concentração final de 1% (v/v ou p/v): lubrificantes pessoais, desodorizantes pessoais, espermicidas e antifúngicos, 0,3% de muco gástrico porcino e 5% de sangue total.

Para testar os efeitos dos metabolitos da urina diluiu-se Controlo anormalmente alto com análise urinária do urobilinogénio KOVA-Trol I em meio de transporte de urina (UTM) em vez de urina. Este material de controlo para análise urinária à base de urina humana contém substâncias potencialmente interferentes tais como proteínas (albumina), bilirrubina, glucose, cetonas, eritrócitos, nitritos, urobilinogénio e leucócitos. O ácido acético glacial foi testado adicionando-o a PreservCyt™-STM (concentração final de 1%).

Não se observou qualquer interferência com nenhuma das substâncias testadas no Aptima Mycoplasma genitalium Assay, após a adição de lisado de células inteiras de *M. genitalium* para se obter uma concentração final de 0,25 CFU/ml.

Bibliografia

1. **Andersen, B., I. Sokolowski, L. Østergaard, J. K., Møller, F. Olesen, and J. S. Jensen.** 2007. *Mycoplasma genitalium*: prevalence and behavioural risk factors in the general population. *Sex. Transm. Infect.* **83**:237-241. doi:10.1136/sti.2006.022970.
2. **Manhart, L. E., K. K. Holmes, J. P. Hughes, L. S. Houston, and P. A. Totten.** 2007. *Mycoplasma genitalium* among young adults in the United States: an emerging sexually transmitted infection. *Am. J. Public Health.* **97**:1118-1125.
3. **McGowin, C. L., and C. Anderson-Smits.** 2011. *Mycoplasma genitalium*: an emerging cause of sexually transmitted disease in women. *PLoS Pathogens.* **7**:e1001324. doi:10.1371/journal.ppat.1001324.
4. **Oakeshott, P., A. Aghaizu, P. Hay, F. Reid, S. Kerry, H. Atherton, I. Simms, D. Taylor-Robinson, B. Dohn, and J. S. Jensen.** 2010. Is *Mycoplasma genitalium* in women the "new chlamydia?" A community-based prospective cohort study. *Clin. Infect. Dis.* **51**:1160-1166. doi:10.1086/656739.
5. **Hilton, J., S. Azariah, and M. Reid.** 2010. A case-control study of men with non-gonococcal urethritis at Auckland Sexual Health Service: rates of detection of *Mycoplasma genitalium*. *Sex Health.* **7**:77-81. doi:10.1071/SH09092.
6. **Wikstrøm, A., and J. S. Jensen.** 2006. *Mycoplasma genitalium*: a common cause of persistent urethritis among men treated with doxycycline. *Sex. Transm. Infect.* **82**:276-279. doi:10.1136/sti.2005.018598.
7. **Wroblewski, J. K. H., L. E. Manhart, K. A. Dickey, M. K. Hudspeth, and P. A. Totten.** 2006. Comparison of transcription-mediated amplification and PCR assay results for various genital specimen types for detection of *Mycoplasma genitalium*. *J. Clin. Microbiol.* **44**:3306-3312. doi:10.1128/JCM.00553-06.
8. **Gaydos, C., N. E. Maldeis, A. Hardick, J. Hardick, and T. C. Quinn.** 2009a. *Mycoplasma genitalium* as a contributor to the multiple etiologies of cervicitis in women attending sexually transmitted disease clinics. *Sex. Transm. Dis.* **36**:598-606. doi:10.1097/OLQ.0b013e3181b01948.
9. **Gaydos, C., N. E. Maldeis, A. Hardick, J. Hardick, and T. C. Quinn.** 2009b. *Mycoplasma genitalium* compared to chlamydia, gonorrhoea and trichomonas as an aetiological agent of urethritis in men attending STD clinics. *Sex. Transm. Infect.* **85**:438-440. doi:10.1136/sti.2004.2008.035477.
10. **Hancock, E. B., L. E. Manhart, S. J. Nelson, R. Kerani, J. K. H. Wroblewski, and P. A. Totten.** 2010. Comprehensive assessment of sociodemographic and behavioral risk factors for *Mycoplasma genitalium* infection in women. *Sex. Transm. Dis.* **37**:777-783. doi:10.1097/OLQ.0b013e3181e8087e.
11. **Huppert, J. S., J. E. Mortensen, J. L. Reed, J. A. Kahn, K. D. Rich, and M. M. Hobbs.** 2008. *Mycoplasma genitalium* detected by transcription-mediated amplification is associated with Chlamydia trachomatis in adolescent women. *Sex Transm Dis.* **35**:250-254. doi:10.1097/OLQ.0b013e31815abac6.
12. **Mobley, V. L., M. M. Hobbs, K. Lau, B. S. Weinbaum, D. K. Getman, and A. C. Seña.** 2012. *Mycoplasma genitalium* infection in women attending a sexually transmitted infection clinic: diagnostic specimen type, coinfections, and predictors. *Sex. Transm. Dis.* **39**:706-709. doi:10.1097/OLQ.0b013e318255de03.
13. **Taylor-Robinson, D., and J. S. Jensen.** 2011. *Mycoplasma genitalium*: from chrysalis to multicolored butterfly. *Clin. Microbiol. Rev.* **24**:498-514.
14. **Anagrus, C., B. Loré, and J. S. Jensen.** 2005. *Mycoplasma genitalium*: prevalence, clinical significance, and transmission. *Sex. Transm. Infect.* **81**:458-462. doi:10.1136/sti.2004.012062.
15. **Lis, R., A. Rowhani-Rahbar, and L. E. Manhart.** 2015. *Mycoplasma genitalium* infection and female reproductive tract disease: a meta-analysis. *Clin. Infect. Dis.* **61**:418-426. doi:10.1093/cid/civ312.
16. **Falk, L., H. Fredlund, and J. S. Jensen.** 2005. Signs and symptoms of urethritis and cervicitis among women with or without *Mycoplasma genitalium* or *Chlamydia trachomatis* infection. *Sex. Transm. Infect.* **81**:73-78. doi:10.1136/sti.2004.010439.
17. **CDC.** 2014. Orientações de tratamento de doenças sexualmente transmissíveis, 2014. <http://www.cdc.gov/std/treatment/2014/2014-std-guidelines-peer-reviewers-08-20-2014.pdf>. Lançadas a 20 de Agosto de 2014.



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



Emergo Europe
Prinsessegracht 20
2514 AP The Hague
The Netherlands

Apoio ao cliente: +1 844 Hologic (+1 844 465 6442)
customersupport@hologic.com

Suporte técnico: +1 888 484 4747
molecularsupport@hologic.com

Para mais informações de contacto, visite www.hologic.com.

Hologic, Aptima, Panther, PreservCyt, ThinPrep e logótipos associados são marcas comerciais e/ou marcas registadas da Hologic, Inc. e/ou respetivas subsidiárias nos Estados Unidos e/ou em outros países. As restantes marcas comerciais, marcas registadas e designações comerciais que possam aparecer neste folheto informativo pertencem aos respetivos proprietários.

KOVA-TROL é uma marca comercial da Hycor Biomedical, Inc.

©2016-2017 Hologic, Inc. Todos os direitos reservados.

AW-14170-601 Rev. 005
2017-05