

cobas [®] 4800 System Sample Preparation Kit	c4800 SMPL PREP	960 Teste 240 Tests	P/N: 05235804190 P/N: 05235782190
cobas [®] 4800 HPV Amplification/Detection Kit	c4800 HPV AMP/DET	960 Tests 240 Tests	P/N: 05235910190 P/N: 05235901190
cobas [®] 4800 HPV Controls Kit	c4800 HPV CTLS	10 Sets	P/N: 05235855190
cobas [®] 4800 System Liquid Cytology Preparation Kit	c4800 LIQ CYT	960 Tests 240 Tests	P/N: 05235839190 P/N: 05235812190
cobas [®] 4800 System Wash Buffer Kit	c4800 WB	960 Tests 240 Tests	P/N: 05235871190 P/N: 05235863190

AVISO: A aquisição deste produto permite ao comprador utilizá-lo para amplificação e detecção de sequências de ácidos nucleicos por reacção de polimerização em cadeia (PCR) e procedimentos relacionados para diagnósticos *in vitro* no ser humano. Não se concede por este meio nenhuma patente geral nem outra licença de qualquer tipo, salvo este específico direito de utilização decorrente da compra.

UTILIZAÇÃO PRETENDIDA

O Teste **cobas[®] 4800 Human Papillomavirus (HPV)** é um teste qualitativo *in vitro* para a detecção do Vírus do papiloma humano em amostras de doentes. O teste utiliza a amplificação do ADN alvo através de Reacção de Polimerização em Cadeia (PCR) e a hibridização de ácidos nucleicos para a detecção de 14 tipos de HPV de alto risco (HR) numa única análise. O teste identifica especificamente os tipos HPV 16 e HPV 18 enquanto detecta simultaneamente os outros tipos de alto risco (31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66 e 68) a níveis de infecção clinicamente relevantes. As amostras estão limitadas a células cervicais colhidas em Roche Cell Collection Medium (Roche Molecular Systems, Inc), em Solução PreservCyt[®] (Hologic Corp.) e em Fluido Conservante SurePath[™] (BD Diagnostics-TriPath).

As indicações para a utilização do Teste **cobas[®] 4800 HPV** são as seguintes:

- O Teste **cobas[®] 4800 HPV** está indicado para ser utilizado no rastreio de doentes com resultados de citologia cervical de ASC-US (Células escamosas atípicas de significado indeterminado), para determinar a necessidade de recomendar colposcopia.
- O Teste **cobas[®] 4800 HPV** está indicado para ser utilizado no rastreio de doentes com resultados de citologia cervical de ASC-US, para avaliar a presença ou ausência dos genótipos 16 e 18 do HPV de alto risco.
- O Teste **cobas[®] 4800 HPV** está indicado para ser utilizado como complemento da citologia cervical, para avaliar a presença ou ausência de tipos de HPV de alto risco.
- O Teste **cobas[®] 4800 HPV** está indicado para ser utilizado como complemento da citologia cervical, para avaliar a presença ou ausência dos genótipos 16 e 18 do HPV.
- O Teste **cobas[®] 4800 HPV** está indicado para ser utilizado como um teste de rastreio primário de primeira linha, para identificar mulheres com um aumento de risco de desenvolvimento de cancro cervical ou a presença de doença de alto grau.
- O Teste **cobas[®] 4800 HPV** está indicado para ser utilizado como um teste de rastreio primário de primeira linha, para avaliar a presença ou ausência dos genótipos 16 e 18 do HPV.

O teste **cobas[®] 4800 HPV** também pode ser usado com amostras vaginais colhidas pela própria mulher, conforme instrução de prestadores de cuidados de saúde, em Roche Cell Collection Medium ou Solução PreservCyt[®].

Os resultados do Teste **cobas[®] HPV**, juntamente com a avaliação do médico relativamente ao histórico de citologia, outros factores de risco e directrizes profissionais, podem ser utilizados para conduzir a gestão do doente. Os resultados do Teste **cobas[®] HPV** não se destinam a evitar que mulheres prossigam com colposcopia.

RESUMO E EXPLICAÇÃO DO TESTE

A infecção persistente pelo vírus do papiloma humano (HPV) é a causa de cancro cervical e da neoplasia intraepitelial cervical (CIN)¹⁻³. A presença de HPV tem estado implicada em mais de 99% dos cancros cervicais, em todo o mundo³. O HPV é um vírus pequeno, não envelopado, de ADN de dupla cadeia, com um genoma de aproximadamente 8000 nucleótidos. Existem mais de 118 tipos diferentes de HPV^{4,5} e aproximadamente 40 diferentes HPV que podem infectar a mucosa anogenital de humanos^{6,7}. No entanto, apenas um subconjunto de 13 a 18 destes tipos é considerado de alto risco para o desenvolvimento de cancro cervical e respectivas lesões precursoras^{3,8-13}. Numa análise de dados de um estudo caso-controlo multicêntrico da IARC (Agência Internacional de Pesquisa do Cancro), o OR (rácio das chances) combinado para o cancro cervical de células escamosas com infecção pelo HPV era de 158,2 quando a análise estava restringida a estudos utilizando técnicas de detecção do HPV bem validadas¹². Neste estudo, os rácios das chances para cancro cervical variavam entre 109 e 276 nos estudos de diferentes partes do mundo¹².

Embora a infecção persistente com HPV de alto risco (HR) seja uma causa necessária do cancro cervical e respectivas lesões precursoras, uma percentagem muito pequena de infecções evoluem para esses estados patológicos. A infecção pelo HPV transmitida sexualmente é extremamente comum, com estimativas que vão até 75% de todas as mulheres que tenham experimentado alguma vez exposição ao HPV¹⁴. No entanto, mais de 90% de mulheres infectadas montará uma resposta imunitária eficaz e erradicará a infecção em 6 a 24 meses, sem consequências de saúde de longo prazo¹⁵⁻²⁰. Uma infecção com qualquer tipo de HPV pode produzir neoplasia intraepitelial cervical (CIN), embora esta seja também geralmente resolvida assim que a infecção por HPV tenha sido erradicada²¹.

Em países desenvolvidos, com programas de rastreio do cancro cervical, o teste de Papanicolaou tem sido utilizado desde meados da década de 50, como o principal instrumento para a detecção dos primeiros precursores do cancro cervical. Embora tenha reduzido drasticamente as taxas de mortalidade devidas ao cancro cervical naqueles países, o teste de Papanicolaou requer interpretação por citopatologistas experientes e é um teste relativamente impreciso, com um elevado índice de falsos negativos. As anomalias citológicas observadas no teste de Papanicolaou são principalmente devidas a infecção pelo HPV; contudo, diversas variações inflamatórias ou relacionadas com a colheita de amostras podem originar

resultados falsos positivos pelo teste de Papanicolaou. A triagem de um esfregaço de Papanicolaou anormal envolve repetição de teste, colposcopia e biópsia. Uma lesão de alto grau histologicamente confirmada deve ser cirurgicamente removida, a fim de impedir o desenvolvimento de cancro cervical invasivo.

O vírus do papiloma é extremamente difícil de cultivar *in vitro*, e nem todos os doentes infectados pelo HPV têm uma resposta demonstrável com anticorpos. O teste de ácido nucleico (ADN) por PCR é um método não invasivo para determinação da presença de uma infecção cervical pelo HPV. A implementação de testes de ADN do HPV aumentou a eficácia dos programas de rastreio do cancro cervical, detectando mais cedo lesões de alto risco em mulheres com 30 anos ou mais com citologia NILM, e reduzindo a necessidade de coloscopias e tratamentos desnecessários em doentes com 21 anos ou mais com citologia ASC-US. Além disso, a sensibilidade superior dos testes de HPV sobre esfregaços de Papanicolaou para a detecção de doença de alto grau num rastreio populacional, foi bem documentada^{22,23}. Com a sensibilidade superior estabelecida, os testes de ADN do HPV como testes de rastreio primário de primeira linha foram propostos e adoptados em alguns programas de rastreio.

PRINCÍPIOS DO PROCEDIMENTO

O Teste **cobas**[®] 4800 HPV baseia-se em dois processos principais: (1) preparação automática de amostras para extrair simultaneamente ADN celular e HPV; (2) amplificação por PCR²⁴ de sequências do ADN alvo, usando pares de iniciadores complementares específicos para o HPV e a β -globina, e detecção em tempo real das sondas de detecção oligonucleotídicas específicas para o HPV e a β -globina marcadas com corante fluorescente e clivadas. A extração, amplificação e detecção simultâneas da β -globina no Teste **cobas**[®] 4800 HPV monitoriza o processo inteiro do teste.

O reagente de Mistura Principal do Teste **cobas**[®] 4800 HPV contém pares de iniciadores e sondas específicos para o ADN dos 14 tipos de HPV de alto risco e da β -globina. A detecção de ADN amplificado (amplicon) é realizada durante o ciclo térmico utilizando sondas oligonucleotídicas marcadas com quatro corantes fluorescentes diferentes. Os sinais amplificados de 12 tipos de HPV de alto risco (31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66 e 68), são detectados utilizando o mesmo corante fluorescente, enquanto que os sinais do HPV16, do HPV18 e da β -globina são cada um detectados com o seu próprio corante fluorescente específico.

Preparação de Amostras

A preparação de amostras para o Teste **cobas**[®] 4800 HPV é automatizada com a utilização do equipamento **cobas**[®] x 480. As amostras cervicais colhidas em Roche Cell Collection Medium, em Solução PreservCyt[®] ou em Fluido Conservante SurePath[™] são digeridas em condições de desnaturação a temperaturas elevadas e posteriormente lisadas na presença de reagente caotrópico. Os ácidos nucleicos HPV libertados, juntamente com o ADN da β -globina a servir como controlo do processo, são purificados através da absorção das partículas de vidro magnéticas, lavados e finalmente separados destas partículas, tornando-os prontos para amplificação e detecção por PCR.

Amplificação por PCR

Seleção do alvo

O Teste **cobas**[®] 4800 HPV utiliza iniciadores para definir uma sequência de aproximadamente 200 nucleótidos dentro da região polimórfica de L1 do genoma do HPV. Um grupo de iniciadores para HPV presente na Mistura Principal é concebido para amplificar o ADN de 14 tipos de alto risco do HPV (16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66 e 68)^{3,8-13,25}. Sondas oligonucleotídicas fluorescentes ligam-se a regiões polimórficas dentro da sequência definida por esses iniciadores.

Um par de iniciadores e sonda adicionais visa o gene da β -globina humana (amplicon 330 bp) para proporcionar um controlo do processo.

Amplificação do Alvo

A Polimerase do ADN EagleZ05²⁶, uma versão quimicamente modificada da polimerase do ADN Z05 da *Thermus species*²⁷, é utilizada para amplificação "hot start" do ADN alvo do HPV e do controlo da β -globina. Em primeiro lugar, a mistura de reacção de PCR é aquecida para activar a polimerase do ADN EagleZ05, para desnaturar o ADN viral e o ADN genómico e para expor as sequências alvo do iniciador. À medida que a mistura arrefece, os iniciadores a jusante e a montante ligam-se às sequências do ADN alvo. A polimerase do ADN EagleZ05, na presença de iões metálicos bivalentes e dNTPs em excesso, alonga o(s) iniciador(es) e tem lugar a síntese de uma segunda cadeia de ADN. Isto completa o primeiro ciclo de PCR, dando origem a uma cópia de ADN de dupla cadeia da região alvo do genoma do HPV e do gene da β -globina. A polimerase de ADN alonga os iniciadores ligados ao longo dos modelos alvo para produzir uma molécula de ADN do HPV alvo, de dupla cadeia, de cerca de 200 pares de base ou uma molécula de ADN da β -globina, de 330 pares de base, denominada "amplicon". Este processo é repetido durante um determinado número de ciclos, cada um duplicando eficazmente a quantidade de ADN amplicon. A amplificação ocorre apenas na região do genoma do HPV e/ou do gene da β -globina que se encontra entre o par de iniciadores adequado. Não se amplifica todo o genoma.

Detecção Automática em Tempo Real

O Teste **cobas**[®] 4800 HPV utiliza tecnologia de PCR em tempo real^{29,30}. Cada sonda oligonucleotídica da reacção está marcada com um corante fluorescente, que actua como um sinalizador, e com um supressor que extingue as emissões fluorescentes do corante de uma sonda intacta. À medida que a amplificação progride, as sondas que são complementares do amplicon ligam-se a sequências de ADN de cadeia simples específicas e são clivadas pela actividade da nuclease 5' a 3' da polimerase do ADN EagleZ05. Assim que o corante de sinalização é separado do supressor por esta actividade da nuclease, emite fluorescência de um comprimento de onda característico quando excitado pelo espectro de luz adequado. Este comprimento de onda característico da cada corante permite que o amplicon HPV16, o amplicon HPV18, outros amplicons de alto risco (31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66 e 68) e o controlo da β -globina sejam medidos independentemente, porque as sondas específicas para estas sequências estão marcadas com corantes diferentes.

Amplificação Selectiva

No Teste **cobas**[®] 4800 HPV a amplificação selectiva do ácido nucleico alvo a partir da amostra clínica é conseguida com a utilização da enzima AmpErase (uracil-N-glicosilase) e de trifosfato de deoxiuridina (dUTP). A enzima AmpErase reconhece e catalisa a destruição de cadeias de ADN que contêm deoxiuridina²⁸, mas não de cadeias de ADN que contêm deoxitimidina. A deoxiuridina não se encontra no ADN natural, mas está sempre presente no amplicon, devido ao uso de trifosfato de deoxiuridina em vez de trifosfato de timidina como um dos dNTPs no reagente de Mistura Principal; por conseguinte, somente o amplicon contém deoxiuridina. A deoxiuridina torna o amplicon contaminante susceptível à destruição pela enzima AmpErase antes da amplificação do ADN alvo. A enzima AmpErase, que está incluída no reagente de Mistura Principal, catalisa a clivagem de ADN contendo deoxiuridina em resíduos de deoxiuridina, ao abrir a cadeia de deoxiribose na posição C1. Quando aquecida no primeiro passo do ciclo térmico, a cadeia de ADN do amplicon quebra-se na posição da deoxiuridina, tornando assim o ADN não amplificável. A enzima AmpErase é inactiva a temperaturas acima dos 55°C, ou seja, durante os passos do ciclo térmico, pelo que não destrói o amplicon alvo. Foi demonstrado que a enzima AmpErase no Teste **cobas**[®] 4800 HPV inactiva pelo menos 10³ cópias de amplicon de HPV contendo deoxiuridina por PCR.

REAGENTES

cobas® 4800 System Sample Preparation Kit (Kit de Preparação de Amostras do cobas® 4800 System) (c4800 SMPL PREP) 240 testes (P/N: 05235782190)			
Componentes do kit	Ingredientes dos reagentes	Quantidade por kit	Símbolo e advertência de segurança ^a
MGP (Partículas Magnéticas de Vidro do cobas® 4800 System)	Partículas magnéticas de vidro 93% de isopropanol ^b	10 x 4,5 ml	 <p>PERIGO</p> <p>H225: Líquido e vapor facilmente inflamáveis. H319: Provoca irritação ocular grave. H336: Pode provocar sonolência ou vertigens. P210: Manter afastado do calor, superfícies quentes, faísca, chama aberta e outras fontes de ignição. Não fumar. P233: Manter o recipiente bem fechado. P261: Evitar respirar as poeiras/fumos/gases/névoas/vapores/aerossóis. P280: Usar luvas de proteção/proteção ocular/proteção facial. P303 + P361 + P353: SE ENTRAR EM CONTACTO COM A PELE (ou o cabelo): retirar imediatamente toda a roupa contaminada. Enxaguar a pele com água ou tomar um duche. P370 + P378: Em caso de incêndio: para extinguir, utilizar areia seca, pó químico ou espuma resistente a álcool. 67-63-0 Propano-2-ol</p>
EB (Tampão de Eluição do cobas® 4800 System)	Tampão Tris 0,09% de azida sódica	10 x 18 ml	N/A

^a A rotulagem de segurança do produto baseia-se essencialmente na diretiva GHS da UE

^b Substância perigosa

cobas® 4800 System Sample Preparation Kit (Kit de Preparação de Amostras do cobas® 4800 System) (c4800 SMPL PREP) 960 testes (P/N: 05235804190)			
Componentes do kit	Ingredientes dos reagentes	Quantidade por kit	Símbolo e advertência de segurança ^a
MGP (Partículas Magnéticas de Vidro do cobas® 4800 System)	Partículas magnéticas de vidro 93% de isopropanol ^b	10 x 13,5 ml	 <p>PERIGO</p> <p>H225: Líquido e vapor facilmente inflamáveis. H319: Provoca irritação ocular grave. H336: Pode provocar sonolência ou vertigens. P210: Manter afastado do calor, superfícies quentes, faísca, chama aberta e outras fontes de ignição. Não fumar. P233: Manter o recipiente bem fechado. P261: Evitar respirar as poeiras/fumos/gases/névoas/vapores/aerossóis. P280: Usar luvas de proteção/vestuário de proteção/proteção ocular/proteção facial. P303 + P361 + P353: SE ENTRAR EM CONTACTO COM A PELE (ou o cabelo): retirar imediatamente toda a roupa contaminada. Enxaguar a pele com água. P370 + P378: Em caso de incêndio: para extinguir, utilizar areia seca, pó químico ou espuma resistente a álcool. 67-63-0 Propano-2-ol</p>
EB (Tampão de Eluição do cobas® 4800 System)	Tampão Tris 0,09% de azida sódica	10 x 18 ml	N/A

^a A rotulagem de segurança do produto baseia-se essencialmente na diretiva GHS da UE

^b Substância perigosa

cobas® 4800 System Wash Buffer Kit (Kit de Tampão de Lavagem do cobas® 4800 System) (c4800 WB) 240 testes (P/N: 05235863190)			
Componentes do kit	Ingredientes dos reagentes	Quantidade por kit	Símbolo e advertência de segurança
WB (Tampão de Lavagem do cobas® 4800 System)	Citrato de sódio desidratado 0,05% de N-Metilisotiazolona-HCl	10 × 55 ml	N/A
cobas® 4800 System Wash Buffer Kit (Kit de Tampão de Lavagem do cobas® 4800 System) (c4800 WB) 960 testes (P/N: 05235871190)			
Componentes do kit	Ingredientes dos reagentes	Quantidade por kit	Símbolo e advertência de segurança
WB (Tampão de Lavagem do cobas® 4800 System)	Citrato de sódio desidratado 0,05% de N-Metilisotiazolona-HCl	10 × 200 ml	N/A
cobas® 4800 System Liquid Cytology Preparation Kit (Kit de Preparação de Citologia Líquida do cobas® 4800 System) (c4800 LIQ CYT) 240 testes (P/N: 05235812190)			
Componentes do kit	Ingredientes dos reagentes	Quantidade por kit	Símbolo e advertência de segurança ^a
PK (Protease K cobas® 4800)	Tampão Tris < 0,05% de EDTA Cloreto de cálcio Acetato de cálcio Glicerol < 2% de proteinase K ^b	10 × 0,9 ml	 PERIGO H317: Pode provocar uma reação alérgica cutânea. H334: Quando inalado, pode provocar sintomas de alergia ou de asma ou dificuldades respiratórias. P261: Evitar respirar as poeiras/fumos/gases/névoas/vapores/aerossóis. P280: Usar luvas de proteção. P284: Usar proteção respiratória. P304 + P340: EM CASO DE INALAÇÃO: retirar a pessoa para uma zona ao ar livre e mantê-la numa posição que não dificulte a respiração. P333 + P313: Em caso de irritação ou erupção cutânea: consulte um médico. P342 + P311: Em caso de sintomas respiratórios: contacte um CENTRO DE INFORMAÇÃO ANTIVENENOS/médico. 39450-01-6 Proteinase, Tritirachium album serine
SDS (Reagente SDS do cobas® 4800 System)	Tampão Tris 0,2% SDS 0,09% de azida sódica	10 × 3 ml	N/A
LYS (Tampão de Lise do cobas® 4800 System)	Tampão Tris 37% (p/p) de HCl de guanidina ^b < 5% de Polidocanol ^b	10 × 10 ml	 PERIGO H302: Nocivo por ingestão. H315: Causa irritação na pele. H318: Provoca lesões oculares graves. P264: Lavar a pele cuidadosamente após o manuseamento. P270: Não comer, beber ou fumar durante a utilização deste produto. P280: Usar luvas de proteção/proteção ocular/proteção facial. P301 + P312 + P330: SE INGERIDO: caso sinta indisposição, contacte um CENTRO DE INFORMAÇÃO ANTIVENENOS/médico. Enxaguar a boca. P305 + P351 + P338 + P310: SE ENTRAR EM CONTACTO COM OS OLHOS: enxaguar cuidadosamente com água durante vários minutos. Se usar lentes de contacto, retire-as, se tal lhe for possível. Continue a enxaguar. Contacte imediatamente um CENTRO DE INFORMAÇÃO ANTIVENENOS/médico. P501: Eliminar o conteúdo/recipiente numa instalação de eliminação de resíduos aprovada. 50-01-1 Cloreto de guanidina 9002-92-0 Polidocanol

^a A rotulagem de segurança do produto baseia-se essencialmente na diretiva GHS da UE

^b Substância perigosa

cobas® 4800 System Liquid Cytology Preparation Kit (Kit de Preparação de Citologia Líquida do cobas® 4800 System)**(c4800 LIQ CYT)****960 testes (P/N: 05235839190)**

Componentes do kit	Ingredientes dos reagentes	Quantidade por kit	Símbolo e advertência de segurança^a
PK (Protease K cobas® 4800)	Tampão Tris < 0,05% de EDTA Cloreto de cálcio Acetato de cálcio Glicerol < 2% de proteinase K ^b	20 x 1,2 ml	 PERIGO H317: Pode provocar uma reação alérgica cutânea. H334: Quando inalado, pode provocar sintomas de alergia ou de asma ou dificuldades respiratórias. P261: Evitar respirar as poeiras/fumos/gases/névoas/vapores/aerossóis. P280: Usar luvas de proteção. P284: Usar proteção respiratória. P304 + P340: EM CASO DE INALAÇÃO: retirar a pessoa para uma zona ao ar livre e mantê-la numa posição que não dificulte a respiração. P333 + P313: Em caso de irritação ou erupção cutânea: consulte um médico. P342 + P311: Em caso de sintomas respiratórios: contacte um CENTRO DE INFORMAÇÃO ANTIVENENOS/médico. 39450-01-6 Proteinase, Tritirachium album serine
SDS (Reagente SDS do cobas® 4800 System)	Tampão Tris 0,2% SDS 0,09% de azida sódica	10 x 9 ml	N/A
LYS (Tampão de Lise do cobas® 4800 System)	Tampão Tris 37% (p/p) de HCl de guanidina ^b < 5% de Polidocanol ^b	10 x 36 ml	 PERIGO H302: Nocivo por ingestão. H315: Causa irritação na pele. H318: Provoca lesões oculares graves. P264: Lavar a pele cuidadosamente após o manuseamento. P270: Não comer, beber ou fumar durante a utilização deste produto. P280: Usar luvas de proteção/proteção ocular/proteção facial. P301 + P312 + P330: SE INGERIDO: caso sinta indisposição, contacte um CENTRO DE INFORMAÇÃO ANTIVENENOS/médico. Enxaguar a boca. P305 + P351 + P338 + P310: SE ENTRAR EM CONTACTO COM OS OLHOS: enxaguar cuidadosamente com água durante vários minutos. Se usar lentes de contacto, retire-as, se tal lhe for possível. Continue a enxaguar. Contacte imediatamente um CENTRO DE INFORMAÇÃO ANTIVENENOS/médico. P501: Eliminar o conteúdo/recipiente numa instalação de eliminação de resíduos aprovada. 50-01-1 cloreto de guanidina 9002-92-0 polidocanol

^a A rotulagem de segurança do produto baseia-se essencialmente na diretiva GHS da UE^b Substância perigosa

cobas® 4800 HPV Amplification/Detection Kit (Kit de Amplificação/Deteção cobas® 4800 HPV) (c4800 HPV AMP/DET) 240 testes (P/N: 05235901190)			
Componentes do kit	Ingredientes dos reagentes	Quantidade por kit	Símbolo e advertência de segurança
HPV MMX (Mistura Principal do cobas® 4800 HPV)	Tampão de tricina Acetato de potássio Hidróxido de potássio Glicerol < 0,13% de dATP, dCTP, dGTP, dUTP < 0,01% de primers do HPV a jusante e a montante < 0,01% de primers de β-globina a jusante e a montante < 0,01% de sondas de HPV de marcação fluorescente < 0,01% de sondas de β-globina de marcação fluorescente < 0,10% de polimerase do ADN EagleZ05 (de origem microbiana) < 0,10% de enzima de AmpErase (uracil-N-glicosilase) (de origem microbiana) 0,09% de azida sódica	10 × 0,5 ml	N/A
HPV Mg/Mn (Solução de Mg/Mn do cobas® 4800 HPV)	Acetato de magnésio Acetato de manganês < 0,02% de ácido acético glacial 0,09% de azida sódica	10 × 1,0 ml	N/A

cobas® 4800 HPV Amplification/Detection Kit (Kit de Amplificação/Deteção cobas® 4800 HPV) (c4800 HPV AMP/DET) 960 testes (P/N: 05235910190)			
Componentes do kit	Ingredientes dos reagentes	Quantidade por kit	Símbolo e advertência de segurança
HPV MMX (Mistura Principal do cobas® 4800 HPV)	Tampão de tricina Acetato de potássio Hidróxido de potássio Glicerol < 0,13% de dATP, dCTP, dGTP, dUTP < 0,01% de primers do HPV a jusante e a montante < 0,01% de primers de β-globina a jusante e a montante < 0,01% de sondas de HPV de marcação fluorescente < 0,01% de sondas de β-globina de marcação fluorescente < 0,10% de polimerase do ADN EagleZ05 (de origem microbiana) < 0,10% de enzima de AmpErase (uracil-N-glicosilase) (de origem microbiana) 0,09% de azida sódica	20 × 1,0 ml	N/A
HPV Mg/Mn (Solução de Mg/Mn do cobas® 4800 HPV)	Acetato de magnésio Acetato de manganês < 0,02% de ácido acético glacial 0,09% de azida sódica	10 × 1,0 ml	N/A

cobas® 4800 HPV Controls Kit (Kit de Controlos do cobas® 4800 HPV) (c4800 HPV CTLs) 10 conjuntos (P/N: 05235855190)			
Componentes do kit	Ingredientes dos reagentes	Quantidade por kit	Símbolo e advertência de segurança
HPV (+) C (Controlo Positivo do cobas® 4800 HPV)	Tampão Tris EDTA 0,05% de azida sódica < 0,00001% de ARN de Poli rA (sintético) < 0,00001% de ADN de plasmídeo não infeccioso (de origem microbiana) contendo as sequências 16, 18, 39 do HPV < 0,00001% de ADN de plasmídeo não infeccioso (de origem microbiana) contendo sequências de β-globina humano	10 × 0,5 ml	N/A
(-)C (Controlo negativo do cobas® 4800 System)	Tampão Tris EDTA 0,05% de azida sódica < 0,00001% de ARN de Poli rA (sintético)	10 × 0,5 ml	N/A

NOTA: A rotulagem relativa à segurança de produtos baseia-se essencialmente na directiva GHS da UE.

ADVERTÊNCIAS E PRECAUÇÕES

A. PARA UTILIZAÇÃO EM DIAGNÓSTICO *IN VITRO*.

- B. Amostras vaginais colhidas pela própria mulher têm de ser suspensas em Roche Cell Collection Medium ou Solução PreservCyt® depois de a amostra ter sido colhida.
- C. Podem ocorrer resultados negativos falsos ou inválidos com amostras colhidas pela própria mulher, se as amostras não forem suspensas em meio após a colheita.
- D. Não efectuar pipetagem com a boca.
- E. Não comer, beber ou fumar em áreas de trabalho laboratorial. Usar luvas protectoras descartáveis, batas de laboratório e protecção para os olhos quando manusear amostras e reagentes do kit. Lavar cuidadosamente as mãos após manusear amostras e reagentes do teste.
- F. Evitar a contaminação microbiana e de ADN dos reagentes.
- G. Eliminar os reagentes não utilizados e os desperdícios em conformidade com as regulamentações nacionais e locais.
- H. Não utilizar reagentes fora dos prazos de validade.
- I. Não misturar reagentes.
- J. Encontram-se disponíveis Folhas de Dados de Segurança dos Materiais (MSDS, Material Safety Data Sheets), que podem ser solicitadas ao seu representante local da Roche.
- K. Para evitar contaminação, devem ser usadas luvas que devem ser trocadas entre o manuseamento de amostras e de reagentes do **cobas® 4800**.
- L. As amostras deverão ser manuseadas como se fossem infecciosas, utilizando procedimentos de laboratório seguros, tais como os descritos em *Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories*³¹ e no Documento M29-A3³² do CLSI.
- M. O **LYS** contém hidrócloro de guanidina. **Não permita o contacto directo entre o hidrócloro de guanidina e o hipoclorito de sódio (lixívia) ou outros reagentes altamente reactivos tais como ácidos ou bases. Essas misturas podem libertar gases nocivos.** Caso ocorra derramamento de líquido que contenha hidrócloro de guanidina, limpar com detergente laboratorial adequado e água. Se ocorrer um derramamento com agentes potencialmente infecciosos, limpar **PRIMEIRO** a área afectada com detergente laboratorial e água e em seguida com hipoclorito de sódio a 0,5%.
- N. O **MGP** contém isopropanol e é facilmente inflamável. Manter afastado de chamas e ambientes propícios à produção de faíscas.
- O. **EB, SDS, HPV MMX, HPV Mg/Mn, (-) C e HPV (+) C** contém azida sódica. A azida sódica pode reagir com tubagens de chumbo e de cobre, produzindo azidas metálicas altamente explosivas. Se eliminar soluções que contêm azida sódica através dos lavatórios do laboratório, verta nos canos uma grande quantidade de água fria para impedir a acumulação de azidas.
- P. Ao manusear quaisquer reagentes, usar sempre protecção para os olhos, batas de laboratório e luvas descartáveis. Evitar o contacto destes materiais com a pele, olhos ou membranas mucosas. Se ocorrer contacto, lavar imediatamente com água em abundância. Caso não seja efectuado tratamento, podem surgir queimaduras. Se ocorrer derrame, diluir com água antes de secar.
- Q. Todos os itens descartáveis são para uma única utilização. Não reutilizar.
- R. Não utilizar solução de hipoclorito de sódio (lixívia) para a limpeza do equipamento **cobas® x 480** ou do **cobas® z 480 analyzer**. Limpe o **cobas® x 480 instrument** ou o **cobas® z 480 analyzer** de acordo com os procedimentos descritos na Assistência ao utilizador do **cobas® 4800 System**.
- S. Para outras advertências, precauções e procedimentos para reduzir o risco de contaminação no **cobas® x 480 instrument** ou no **cobas® z 480 analyzer**, consulte a Assistência ao utilizador do **cobas® 4800 System**.
- T. Não use reagentes ou recipientes que estejam visivelmente danificados ou apresentem sinais de fugas.
- U. Informe as autoridades competentes locais sobre qualquer incidente grave que possa ocorrer ao utilizar este ensaio.

REQUISITOS DE ARMAZENAMENTO E MANUSEAMENTO

- A. **Não congelar os reagentes.**
- B. Armazene os **MGP, EB, PK, SDS, LYS, HPV MMX, HPV Mg/Mn, HPV (+) C e (-) C** entre 2 e 8 °C. Estes reagentes mantêm-se estáveis até ao fim do prazo de validade indicado.
- C. Armazene o **WB** entre 15 e 25 °C. Este reagente permanece estável até ao fim do prazo de validade indicado.

MATERIAIS FORNECIDOS

A. cobas® 4800 System Sample Preparation Kit Kit de Preparação de Amostras do Sistema cobas® 4800 (P/N: 05235782190) MGP (Partículas Magnéticas de Vidro do Sistema cobas® 4800) EB (Tampão de Eluição do Sistema cobas® 4800)	c4800 SMPL PREP	240 testes
B. cobas® 4800 System Sample Preparation Kit Kit de Preparação de Amostras do Sistema cobas® 4800 (P/N: 05235804190) MGP (Partículas Magnéticas de Vidro do Sistema cobas® 4800) EB (Tampão de Eluição do Sistema cobas® 4800)	c4800 SMPL PREP	960 testes
C. cobas® 4800 System Wash Buffer Kit Kit de Tampão de Lavagem do Sistema cobas® 4800 (P/N: 05235863190) WB (Tampão de Lavagem do Sistema cobas® 4800)	c4800 WB	240 testes
D. cobas® 4800 System Wash Buffer Kit Kit de Tampão de Lavagem do Sistema cobas® 4800 (P/N: 05235871190) WB (Tampão de Lavagem do Sistema cobas® 4800)	c4800 WB	960 testes
E. cobas® 4800 HPV Amplification/Detection Kit Kit de Amplificação/Deteção cobas® 4800 HPV (P/N: 05235901190) HPV MMX (Mistura Principal cobas® 4800 HPV) HPV Mg/Mn (Solução de Mg/Mn cobas® 4800 HPV)	c4800 HPV AMP/DET	240 testes
F. cobas® 4800 HPV Amplification/Detection Kit Kit de Amplificação/Deteção cobas® 4800 HPV (P/N: 05235910190) HPV MMX (Mistura Principal cobas® 4800 HPV) HPV Mg/Mn (Solução de Mg/Mn cobas® 4800 HPV)	c4800 HPV AMP/DET	960 testes
G. cobas® 4800 System Liquid Cytology Preparation Kit Kit de Preparação de Citologia Líquida do Sistema cobas® 4800 (P/N: 05235812190) PK (Proteinase K cobas® 4800) SDS (Reagente SDS do Sistema cobas® 4800) LYS (Tampão de Lise do Sistema cobas® 4800)	c4800 LIQ CYT	240 testes

H. cobas® 4800 System Liquid Cytology Preparation Kit

Kit de Citologia Líquida do Sistema **cobas®** 4800
(P/N: 05235839190)

c4800 LIQ CYT**960 testes****PK**

(Proteinase K **cobas®** 4800)

SDS

(Reagente SDS do Sistema **cobas®** 4800)

LYS

(Tampão de Lise do Sistema **cobas®** 4800)

I. cobas® 4800 HPV Controls Kit

Kit de Controlos **cobas®** 4800 HPV
(P/N: 05235855190)

c4800 HPV CTLs**10 conjuntos****HPV (+) C**

(Controlo Positivo **cobas®** 4800 HPV)

(-) C

(Controlo Negativo do Sistema **cobas®** 4800)

MATERIAIS NECESSÁRIOS MAS NÃO FORNECIDOS**Manuseamento de Amostras e Reagentes**

- Roche Cell Collection Medium (Roche P/N 07994745190, opcional)
- Tampas de substituição do Roche Cell Collection Medium (Roche P/N 08037230190, opcional)
- Escova para colheita cervical (Roche P/N 08399832190, opcional)
- Escova para colheita cervical, esterilizada (Roche P/N 08779040190, opcional)
- Copan FLOQSwab® para autocolheita vaginal, 552C.80 (Roche P/N 09032932190)
- Rovers Evalyn® Brush (Roche P/N 09032959190)
- Instruções de suspensão de amostras para Copan FLOQSwabs® para autocolheita vaginal, 552C.80 (Roche P/N 09652671001)
- Instruções de suspensão de amostra para a escova Rovers Evalyn® Brush (Roche P/N 09907238001)
- Pontas CO-RE, 1000 µl, rack de 96 (P/N Roche 04639642001 ou P/N Hamilton 235905)
- Reservatório de Reagente de 50 ml (P/N Roche 05232732001)
- Reservatório de Reagente de 200 ml (P/N Roche 05232759001)
- Para o HPV ASAP v2.0.1, utilize a Placa de Extração (poços fundos) de 1,6 ml do Sistema **cobas®** 4800 (Roche P/N 05232716001)
- Para o HPV ASAP v2.1, utilize a Placa de Extração (poços fundos) de 2,0 ml do Sistema **cobas®** 4800 (Roche P/N 06884008001)
- Placa AD (microplaca) de 0,3 ml e Película de Selagem do Sistema **cobas®** 4800 (P/N Roche 05232724001)
- Saco de desperdícios sólidos [P/N Roche 05530873001 (pequeno) ou 04691989001 (grande)]
- Manga de Plástico Hamilton STAR (P/N Roche 04639669001)
- Tubos de base redonda de 13 ml (Roche P/N 07958048190) para utilização como tubos de amostra secundários
- Tampas, cor neutra (Roche P/N 07958056190; para tapar os tubos de base redonda de 13 ml após execução de amostras)
- Luvas descartáveis, sem pó

Equipamentos e Software

- **cobas® x** 480 instrument
- **cobas® z** 480 analyzer
- Unidade de Controlo do Sistema **cobas®** 4800 com Software do Sistema versão 2.2 ou superior
- Software do Sistema **cobas®** 4800 **cobas®** HPV AP, versão 2.0 ou superior

Materiais e equipamentos opcionais

- **cobas®** Sample Prep Buffer (Roche P/N 06526985190; detergente com tampão Tris)*
- Pipetas: com capacidade de 1000 µl
- Pontas isentas de DNase com barreira para aerossóis: com capacidade de 1000 µl
- Centrífuga equipada com um rotor de cestos oscilantes com um mínimo de 1500 RCF
- Placa magnética autónoma (P/N Roche 05440777001)
- Misturador de agitação forte (tubo individual)
- Misturador de agitação forte de vários tubos [por ex. VWR P/N 58816-116]
- Etiquetas de códigos de barras resistentes ao calor (RACO Industries; N.º Ref. RAC-225075-9501)
- Termómetro -20/150°C (VWR, N.º Ref. 89095-600) ou equivalente
- Bloco de aquecimento digital 120 V (VWR, N.º Ref. 75838-294) ou equivalente
- Módulo de bloco de aquecimento com 12 orifícios de 16 mm (VWR, N.º Ref. 13259-162) ou equivalente

* Um frasco aberto de **cobas®** Sample Prep Buffer (CSPB) poderá ser armazenado à temperatura ambiente (entre 15 e 30 °C) durante um máximo de 21 dias e até 4 utilizações separadas de tratamento pré-analítico de amostras em SurePath™.

COLHEITA, TRANSPORTE E ARMAZENAMENTO DE AMOSTRAS

NOTA: *Manusear todas as amostras tendo em conta a possibilidade de transmitirem agentes infecciosos.*

A. Colheita da amostra

As amostras cervicais colhidas em Roche Cell Collection Medium, em Solução PreservCyt® e em Fluido Conservante SurePath™ foram validadas para utilização com o teste **cobas**® 4800 HPV.

Amostras vaginais colhidas com FLOQSwab® para autocolheita vaginal e suspensas em Roche Cell Collection Medium e Solução PreservCyt® foram validadas para utilização com o teste **cobas**® 4800 HPV.

Foram validadas para utilização com o teste **cobas**® 4800 HPV, amostras vaginais colhidas com a escova Evalyn® e suspensas em Roche Cell Collection Medium e em Solução PreservCyt®.

Siga as instruções do fabricante para a colheita de amostras.

B. Transporte da amostra

As amostras colhidas em Roche Cell Collection Medium, em Solução PreservCyt® e em Fluido Conservante SurePath™ podem ser transportadas entre 2 e 30 °C. O transporte de amostras de HPV deve obedecer às regulamentações nacionais, federais, estaduais e locais relativas ao transporte de agentes etiológicos³³.

C. Armazenamento de amostras

As amostras colhidas em Roche Cell Collection Medium e em Solução PreservCyt® podem ser armazenadas a uma temperatura entre 2 e 30 °C até 6 meses após a data da colheita. As amostras cervicais colhidas em Fluido Conservante SurePath™ podem ser armazenadas a temperaturas entre 2 e 8 °C durante um máximo de 6 meses ou entre 15 e 30 °C durante um máximo de 6 semanas após a data da colheita, desde que as ligações cruzadas induzidas pela matriz do Fluido Conservante SurePath™ sejam invertidas através de tratamento com **cobas**® Sample Prep Buffer antes dos testes de HPV.

INSTRUÇÕES DE UTILIZAÇÃO

Instruções de suspensão de amostras de

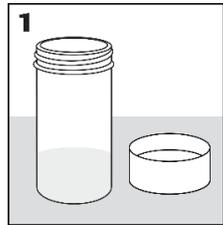
Copan FLOQSwabs® para autocolheita vaginal (552C.80)

Instruções de manuseamento de amostras auto-colhidas utilizando zaragatoas Copan FLOQSwabs® de auto-coleta de amostras vaginais (552C.80) para testes com o **cobas**® 4800 HPV Test ou o **cobas**® HPV.

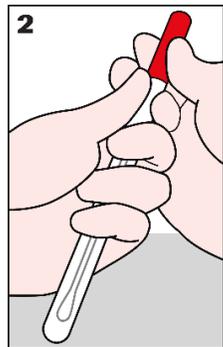
A amostra auto-colhida deve ser colocada num meio líquido depois da colheita da amostra.

- **Antes de iniciar a suspensão da amostra, leia integralmente as instruções.**
- Para a colheita de amostra, siga as instruções de utilização do fabricante do dispositivo de colheita.
- Uma vez colhida a amostra, continue com as seguintes instruções para preservar a amostra:

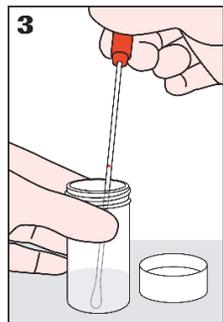
Manuseie com cuidado a amostra colhida.



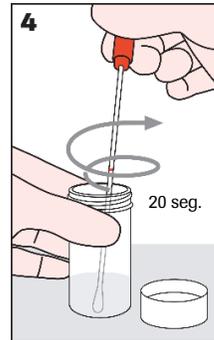
1. Retire **cuidadosamente** a tampa do frasco que contém o meio líquido e coloque-o numa superfície plana e estável.



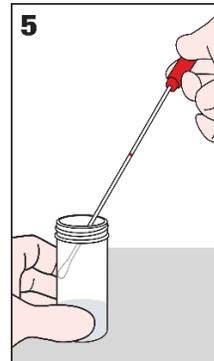
2. **Puxe lentamente** para fora a tampa da FLOQSwab para retirar a zaragatoa do tubo. **Ao retirar a FLOQSwab, tente tocar o mínimo possível nas paredes do tubo.**



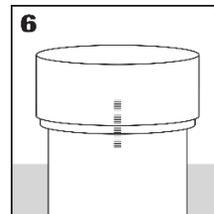
3. **Segure** o frasco com uma mão e, em seguida, com a outra mão, coloque a ponta da FLOQSwab no frasco até que a **ponta da FLOQSwab esteja totalmente imersa no meio e a tocar no fundo** do frasco.



4. Enquanto segura o frasco, **gire a FLOQSwab ao longo da parede interna do frasco durante 20 segundos, assegurando-se de que a zaragatoa se mantém imersa no meio.** Tenha cuidado para não salpicar.



5. Puxe cuidadosamente a FLOQSwab para cima ao longo da parede interna do frasco até que a ponta deixe de estar imersa no meio. **Pressione a ponta contra a parede interna do frasco para drenar o fluido** da zaragatoa. Coloque a FLOQSwab no tubo e deite-o fora.



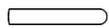
6. **Coloque novamente a tampa** do frasco e, para evitar fugas, aperte até que **que a linha na tampa e a linha no frasco se encontrem ou se sobreponham ligeiramente.** Armazene na vertical.

7. A amostra pode agora ser processada com o **cobas**® 4800 HPV Test ou o **cobas**® HPV.

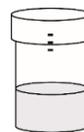
Glossário



FLOQSwab/zaragatoa: o dispositivo de auto-coleta utilizado para colher amostras.



Tubo: um recipiente protetor dentro do qual o dispositivo de auto-colheita terá sido fornecido e que pode ser utilizado para armazenar temporariamente o dispositivo de colheita depois da amostra ter sido colhida.



Frasco: um recipiente que contém 20 ml de solução transparente. A amostra colhida terá de ser transferida para este recipiente que será depois enviado para o laboratório para processamento.

Meio: é o nome que se dá ao líquido que se encontra no frasco.

Instruções de suspensão de amostras de

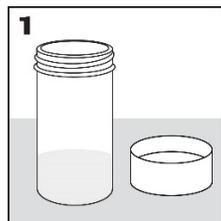
Escova Rovers Evalyn®

Instruções de manuseamento de amostra colhida pelo próprio paciente utilizando a escova Rovers Evalyn® para testes com o **cobas®** 4800 HPV Test ou o **cobas®** HPV.

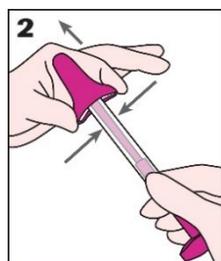
A amostra auto-colhida deve ser colocada num meio líquido depois da colheita da amostra.

- **Antes de iniciar a suspensão da amostra, leia integralmente as instruções.**
- Para a colheita de amostra, siga as instruções de utilização do fabricante do dispositivo de colheita.
- Uma vez colhida a amostra, continue com as seguintes instruções para preservar a amostra:

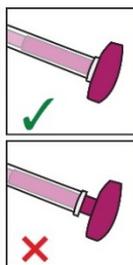
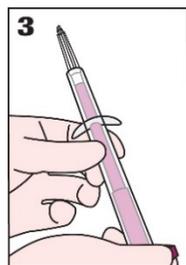
Manuseie com cuidado a amostra colhida.



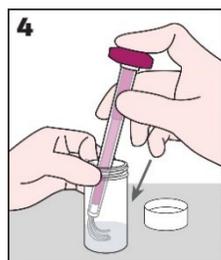
1. Retire **cuidadosamente** a tampa do frasco que contém o meio líquido e coloque-o numa superfície plana e estável.



2. Retire a tampa cor-de-rosa da escova Evalyn **tendo cuidado para não tocar na extremidade exposta.**



3. Pressione o êmbolo rosa para baixo até dar um estalido que significa que está na posição correta para expor a escova branca. **Tome precauções para evitar que a escova exposta toque em qualquer coisa** (por ex., dedos, superfícies).



4. **Segure** o frasco com uma mão e, com a outra mão, coloque a escova branca no frasco de forma que as **cerdas fiquem totalmente imersas no meio e as abas tenham passado a abertura do frasco.**



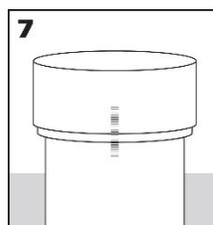
Repita 10 vezes



5. Continuando a segurar no frasco, mergulhe vigorosamente a escova, **atirando a escova branca contra a parede inferior e interior do frasco 10 vezes para maximizar a libertação da amostra.** Tenha cuidado para não salpicar.



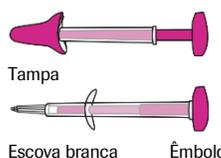
6. Retire a escova branca puxando cuidadosamente a escova ao longo da parede interna do frasco primário, até que a escova deixe de estar submersa no meio. **Mantenha a escova pressionada contra a parede interna do frasco para drenar o fluido todo da escova.** Coloque a escova Evalyn de novo dentro da embalagem e elimine-a.



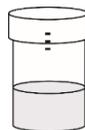
7. **Coloque novamente a tampa** do frasco e, para evitar fugas, aperte até que **que a linha na tampa e a linha no frasco se encontrem ou se sobreponham ligeiramente.** Armazene na vertical.

8. A amostra pode agora ser processada com o **cobas®** 4800 HPV Test ou o **cobas®** HPV.

Glossário



Escova Evalyn: o dispositivo de auto colheita utilizado para colher amostras.



Frasco: um recipiente que contém 20 ml de solução transparente. A amostra colhida terá de ser transferida para este recipiente que será depois enviado para o laboratório para processamento.

Meio: é o nome que se dá ao líquido que se encontra no frasco.

NOTA: Todos os reagentes excepto o HPV MMX e o HPV Mg/Mn devem estar à temperatura ambiente antes de serem carregados no equipamento cobas® x 480. O HPV MMX e o HPV Mg/Mn podem ser tirados directamente do armazenamento entre 2 e 8°C, porque na altura que forem usados no processo a bordo do equipamento cobas® x 480, irão estar equilibrados para a temperatura ambiente.

NOTA: As amostras em Roche Cell Collection Medium, Solução PreservCyt® e Fluido Conservante SurePath™ devem estar à temperatura ambiente antes do carregamento no cobas® x 480 instrument.

NOTA: Para instruções de operação detalhadas, consulte a Assistência ao utilizador do cobas® 4800 System.

Tamanho da corrida:

O sistema cobas® 4800 foi concebido para suportar o Teste cobas® 4800 HPV com tamanhos de corridas de 1 a 94 amostras mais controlos (até 96 ensaios por corrida). Cada Kit de Preparação de Amostras do Sistema cobas® 4800, Kit de Preparação de Citologia Líquida do Sistema cobas® 4800 e Kit de Tampão de Lavagem do Sistema cobas® 4800 contém reagentes suficientes para 10 corridas de 24 testes (240 testes por kit) ou 96 testes (960 testes por kit). Cada Kit de Amplificação/Deteção cobas® 4800 HPV contém reagentes suficientes para 10 corridas de 24 testes (240 testes por kit) ou 96 testes (960 testes por kit); podem ser utilizados vários kits de 240 testes para otimizar a utilização de reagente para 48 ou 72 testes. O Kit de Controlos cobas® 4800 HPV contém reagentes suficientes para um total de 10 corridas (10 conjuntos por kit). O tamanho de corrida mínimo no sistema cobas® 4800 é 1 amostra mais controlos. Para executar cada corrida de testes, é necessário uma réplica do Controlo Negativo do Sistema cobas® 4800 [(-) C] e uma réplica do Controlo Positivo cobas® 4800 HPV [HPV (+) C] (consultar a secção "Controlo de Qualidade").

Fluxo do trabalho:

NOTA: Embora não tenha uma utilização ideal de reagentes, pode ser utilizado um Kit de Preparação de Amostras do Sistema de 960 testes para uma corrida de 24 amostras e um Kit de Amplificação/Deteção HPV de 960 testes para uma corrida de 24, 48 ou 72 amostras.

O Teste cobas® 4800 HPV pode ser executado utilizando qualquer um de dois fluxos de trabalho diferentes, referidos como "Full workflow" (fluxo de trabalho Completo) ou "Recovery Workflow" (fluxo de trabalho de Recuperação) no software do cobas® 4800.

HPV Full Workflow:

O "HPV Full Workflow" (Fluxo de trabalho Completo do HPV) consiste na preparação da amostra no equipamento cobas® x 480, seguida de amplificação/deteção no cobas® z 480 analyzer. O tamanho da corrida pode ser um formato de 24 testes (de 1 a 22 amostras mais 2 controlos) ou um formato de 96 testes (de 1 a 94 amostras mais 2 controlos). Para mais detalhes, consulte a secção "Executar um Full Workflow" mais adiante e a Assistência ao utilizador do cobas® 4800 System.

HPV Recovery Workflow:

O "HPV Recovery Workflow" (Fluxo de trabalho de Recuperação do HPV) consiste na configuração manual da placa PCR utilizando eluato da placa de poços fundos processada, seguida de amplificação/deteção no cobas® z 480 analyzer. Para mais detalhes, consulte a secção "Executar um Recovery Workflow" mais adiante e a Assistência ao utilizador do cobas® 4800 System.

Amostras:

Utilizando o cobas® 4800 HPV Test podem ser testados os seguintes tipos de amostras:

- amostras cervicais em Roche Cell Collection Medium
- amostras cervicais em Solução PreservCyt®
- amostras cervicais em Fluido conservante SurePath™ (consulte a secção "Tratamento de amostras primárias em Surepath™")
- amostras vaginais colhidas pela própria mulher utilizando a zaragatoa FLOQSwab® 552C.80 e suspensas em Roche Cell Collection Medium
- amostras vaginais colhidas pela própria mulher utilizando a zaragatoa FLOQSwab® 552C.80 e suspensas em Solução PreservCyt®
- amostras vaginais colhidas pela própria mulher utilizando a escova Evalyn® e suspensas em Roche Cell Collection Medium
- amostras vaginais colhidas pela própria mulher utilizando a escova Evalyn® e suspensas em Solução PreservCyt®

As amostras em Roche Cell Collection Medium e em Solução PreservCyt® podem ser processadas no cobas® x 480 instrument, directamente a partir dos respetivos tubos primários com um código de barras adequado ou a partir de um tubo secundário de 13 ml de base redonda com código de barras adequado. As amostras em SurePath™ devem ser transferidas para um tubo secundário de 13 ml de base redonda com código de barras adequado para tratamento de amostra (consulte a secção Tratamento de amostras primárias em SurePath™) e processamento no cobas® x 480 instrument. Consulte a Assistência ao utilizador do cobas® 4800 System para os procedimentos de colocação apropriada de códigos de barras e para a lista de códigos de barras que são aceites pelo cobas® 4800 System.

NOTA: As amostras de SurePath™ têm de ser tratadas com cobas® Sample Prep Buffer inverter as ligações cruzadas induzidas pela matriz, antes de efectuar testes de HPV no sistema cobas® 4800.

Tratamento de amostras primárias em SurePath™ com Tampão de Preparação de Amostras cobas® para inverter as ligações cruzadas induzidas pela matriz

NOTA: São necessários códigos de barras resistentes ao calor para os tubos utilizados para inverter as ligações cruzadas induzidas pela matriz (consulte a secção Materiais e equipamentos opcionais).

NOTA: Recomenda-se que os passos B, C, G e H indicados a seguir sejam efectuados num resguardo de protecção biológica para minimizar uma possível contaminação cruzada.

A. Por cada amostra em SurePath™ a testar, coloque 0,5 ml de Tampão de Preparação de Amostras cobas® num tubo de 13 ml de base redonda com código de barras.

Um frasco aberto de cobas® Sample Prep Buffer (CSPB) poderá ser armazenado à temperatura ambiente (entre 15 e 30 °C) durante um máximo de 21 dias e até 4 utilizações separadas de tratamento pré-analítico de amostras em SurePath™.

B. Misture com agitação forte as amostras em SurePath™ durante 10 segundos antes da transferência. Transfira 0,5 ml de cada amostra em SurePath™ para um tubo de 13 ml de base redonda preparado no passo A. Volte a colocar a tampa em cada tubo antes de passar ao seguinte. Troque sempre as pontas de pipeta para cada amostra.

- C. Misture com agitação forte cada tubo durante 1 segundo.
- D. Transfira os tubos para a unidade de aquecimento regulada para 120 °C (consulte a secção Materiais e equipamentos opcionais). Podem ser processados até 48 tubos por corrida.
- E. Aqueça durante 20 minutos.
- F. Depois de aquecidos, retire os tubos para uma rack de colheita e arrefeça à temperatura ambiente durante 10 minutos.
- G. Misture com agitação forte cada tubo durante 5 segundos.
- H. Transfira os tubos para racks de amostras **cobas**[®] 4800 de 24 posições, elimine as tampas e processe no Sistema **cobas**[®] 4800 para testes de HPV.

As amostras em SurePath™ tratadas com Tampão de Preparação de Amostras **cobas**[®] podem ser armazenadas para futuros testes de HPV se, por exemplo, for necessário primeiro uma avaliação citológica. Deverá ser seguido o seguinte procedimento:

- A. Siga o procedimento anterior até ao passo G.
- B. Armazene os tubos com amostras em SurePath™ tratadas com Tampão de Preparação de Amostras **cobas**[®] a uma temperatura entre 2 e 30°C durante um máximo de 4 semanas antes dos testes de HPV no Sistema **cobas**[®] 4800.

NOTA: O volume mínimo dos tubos primários de Roche Cell Collection Medium e Solução PreservCyt[®] é de 3,0 ml. Ao utilizar tubos secundários de 13 ml de base redonda, encha até um volume mínimo de 1,0 ml e um volume máximo de 10 ml.

NOTA: Utilize apenas Roche Cell Collection Medium, Solução PreservCyt[®] e Fluido Conservante SurePath™ para colher amostras cervicais para o teste cobas[®] 4800 HPV. O teste cobas[®] 4800 HPV não foi validado com outros tipos de meios. A utilização do teste cobas[®] 4800 HPV com outros tipos de meios poderá originar resultados falsos negativos, falsos positivos e/ou inválidos.

NOTA: Para evitar a contaminação cruzada de amostras processadas, devem ser utilizadas tampas de frascos novas (consulte a secção Materiais necessários mas não fornecidos) para voltar a tapar os tubos de amostras após o processamento. Voltar a tapar firmemente. Os frascos devem ser armazenados e transportados na vertical.

NOTA: Poderá ser necessário colocar as amostras em alíquotas em tubos de 13 ml de base redonda com códigos de barras para processamento no equipamento cobas[®] x 480. Utilize pipetas com pontas com barreira para aerossóis ou de deslocamento positivo para manusear amostras. Para evitar contaminação cruzada de amostras processadas, para tapar esses tubos com as amostras após o processamento, deverão ser utilizadas outras tampas de cor alternativa (neutra; consultar a secção MATERIAIS NECESSÁRIOS MAS NÃO FORNECIDOS).

NOTA: Proceda com cuidado quando transferir amostras de tubos primários para tubos secundários de 13 ml de base redonda. Antes da transferência misture com agitação forte as amostras dos tubos primários. Substitua as pontas de pipeta depois de cada amostra.

NOTA: Não processe amostras que tenham aparência sangrenta ou tenham uma cor castanha escura.

Uma única corrida pode ter qualquer combinação de amostras (Roche Cell Collection Medium, Solução PreservCyt[®] e/ou Fluido Conservante SurePath™ e cada amostra pode ser testada com os sub-testes HPV High Risk ou HPV High Risk Plus Genotyping.

Fluxos de Trabalho

Executar um Full Workflow:

- A. O Teste **cobas**[®] 4800 HPV pode ser utilizado para 1 a 94 amostras mais um controlo negativo do sistema **cobas**[®] 4800 e um controlo positivo **cobas**[®] 4800 HPV.
- B. Efetue o arranque do sistema e os procedimentos de manutenção, seguindo as instruções da Assistência ao utilizador do **cobas**[®] 4800 System.
- C. Clique no botão “New run” para iniciar uma nova corrida.
- D. Na janela “Selection test”, seleccione o tipo de fluxo de trabalho “Full” e em seguida seleccione o teste “HPV”.
- E. Introduza um nome para a corrida, ou mantenha o nome de corrida predefinido e, em seguida, clique em “OK” para continuar.
- F. Siga as indicações do assistente do software para carregar amostras.

NOTA: As amostras podem ser carregadas em qualquer ordem em tubos primários ou secundários com códigos de barras.

NOTA: Se tubos primários de amostras em Roche Cell Collection Medium e Solução PreservCyt[®] forem utilizados para processamento, agite antes do carregamento.

- G. Seleccione um tipo de amostra para cada amostra.
 - Seleccione “PC” para pedir amostras em Roche Cell Collection Medium ou Solução PreservCyt[®].
 - Escolha “SP” para pedir amostras em Fluido Conservante SurePath™.

NOTA: os pedidos de teste podem ser anotados para identificar amostras colhidas pela própria mulher usando o software do equipamento e os utilizadores são encorajados a procederem desse modo. Para instruções de anotação, consulte a Assistência ao utilizador do cobas[®] 4800 System.

- H. Seleccione um Resultado de Pedido para cada amostra.
 - Escolha o resultado pedido “HPV High Risk Panel” para apresentar resultados de testes de qualquer um ou qualquer combinação dos tipos de HPV de alto risco: 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66, 68.
 - Escolha o resultado pedido “HPV High Risk Panel Plus Genotyping” para apresentar resultados de testes de qualquer um ou qualquer combinação dos tipos de HPV de alto risco: 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66, 68 e apresentar separadamente resultados de testes de HPV de alto risco, HPV Tipo 16 e HPV Tipo 18.
- I. Siga as indicações do assistente do software para carregar todos os consumíveis.
- J. Siga as indicações do assistente do software para carregar todos os reagentes.

NOTA: Os controlos [HPV (+) C e (-) C] não são carregados juntamente com as amostras. São carregados no suporte de reagentes durante o carregamento de reagentes. Duas posições (A1 e B1) em cada Placa de extracção e Microplaca estão respectivamente reservadas para os controlos HPV (+) e (-).

NOTA: O sistema cobas® 4800 dispõe de um relógio interno para monitorizar o espaço de tempo que os reagentes estão a bordo do equipamento. Uma vez lido o WB, dispõe de 1 hora para concluir o processo de carregamento e clicar no botão "Start". Aparece um temporizador de contagem decrescente no separador "Workplace". O sistema não permite que a corrida se inicie se tiver expirado o tempo a bordo do equipamento.

NOTA: Para garantir a precisão da transferência do MGP, agite vigorosamente o frasco de MGP antes de o dispensar no reservatório de reagente.

K. Carregue os reagentes de preparação de amostras (WB, MGP, EB, SDS e LYS) nos reservatórios de reagentes com códigos de barras, utilizando o método "ler-ler-verter-colocar":

- Faça a leitura do código de barras do frasco de reagente
- Faça a leitura do código de barras do reservatório de reagente
- Verta o reagente no reservatório
- Coloque o reservatório de reagente cheio no suporte de reagentes na posição designada

L. Os reservatórios de reagentes estão disponíveis em dois tamanhos: 200 ml e 50 ml. Siga as indicações do assistente do software para seleccionar os tamanhos apropriados do reservatório de reagente. Os códigos de barras dos reservatórios de reagentes devem estar virados para a direita do suporte.

NOTA: Os reagentes de amplificação/deteção (HPV MMX e HPV Mg/Mn), os controlos [HPV (+) C e (-) C] e o PK são carregados directamente no suporte de reagentes e lidos automaticamente pelo equipamento cobas® x 480.

NOTA: Todos os reagentes e reservatórios de reagentes têm códigos de barras e foram concebidos para serem utilizados uma só vez. O software cobas® 4800 detecta a utilização dos reagentes e dos reservatórios de reagentes e rejeita os reagentes ou reservatórios de reagentes utilizados anteriormente. O software também verifica se estão carregados reagentes suficientes no equipamento.

NOTA: O Software cobas® 4800 Software detecta o prazo de validade de todos os reagentes. Os reagentes que tiverem ultrapassado o respectivo prazo de validade não serão aceites para utilização no Sistema cobas® 4800.

M. Inicie a preparação de amostras clicando em "Start Run".

N. Depois de concluída com êxito a preparação de amostras, clique em "Unload" para descarregar o suporte de placas.

** O estado da preparação de amostra pode ser verificado nesta altura, antes de clicar em "Unload". Consulte a Assistência ao utilizador do cobas® 4800 System.

O. Siga as instruções da Assistência ao utilizador do cobas® 4800 System para selar a microplaca, transportar a placa para o cobas® z 480 analyzer e iniciar a corrida de amplificação e deteção.

NOTA: O sistema cobas® 4800 dispõe de um relógio interno para monitorizar o intervalo de tempo após a adição da mistura principal de trabalho às amostras preparadas. A amplificação e deteção deverá ser iniciada o mais cedo possível, mas nunca depois de 90 minutos após o final da corrida no equipamento cobas® x 480. Aparece um temporizador de contagem decrescente no separador "Workplace".

P. Quando estiver concluída a corrida de amplificação e deteção, descarregue a microplaca do cobas® z 480 analyzer.

Q. Para conferir e aceitar resultados, siga as instruções da Assistência ao utilizador do cobas® 4800 System.

Executar um Recovery Workflow:

NOTA: O "Recovery Workflow" (fluxo de trabalho de Recuperação) está disponível como uma opção de recuperação no caso de um "Full Workflow" (fluxo de trabalho Completo) não poder ser efectuado devido a circunstâncias alheias ao controlo do utilizador (por ex., quebra de corrente eléctrica durante a corrida de amplificação/deteção).

NOTA: Apenas as amostras processadas com êxito no equipamento cobas® x 480 podem ser amplificadas/detectadas utilizando a corrida Recovery. A vigilância do sistema a reagentes e consumíveis é limitada durante a corrida Recovery. Quando utilizar o Recovery workflow, não é fornecida qualquer localização de posição de amostra – o utilizador final tem de se certificar de que a posição actual de uma amostra na microplaca corresponde à posição designada no ficheiro de pedido de trabalho Recovery Plate Layout Report Work Order. Proceda com extrema precaução enquanto preparar a microplaca para garantir uma configuração adequada da PCR e evitar contaminação.

NOTA: As amostras processadas no equipamento cobas® x 480 têm uma estabilidade limitada. Devem ser amplificadas/detectadas utilizando o Recovery workflow em menos de 24 horas se armazenadas a temperatura entre 2 °C e 30 °C.

A. Clique no botão "New run" para iniciar uma corrida Recovery.

B. Na janela "Test Selection", seleccione "Recovery" e em seguida seleccione o tipo de teste "HPV".

C. Introduza um nome para a corrida, ou mantenha o nome de corrida predefinido e, em seguida, clique em "OK" para continuar.

D. Seleccione uma corrida a recuperar.

E. Se estiver a utilizar o HPV ASAP v2.1, efectue a leitura da ID de DWP original do full workflow.

F. Introduza a ID da nova microplaca.

G. Introduza as IDs de Mistura Principal e lões metálicos de todos os frascos de reagente de amplificação/deteção do kit.

H. Prepare a Mistura Principal de Trabalho cobas® 4800 HPV:

1. Para um kit de 240 testes, adicione 240 µl de HPV Mg/Mn a um frasco de HPV MMX (frasco de 0,5 ml do kit de 240 testes).
2. Para um kit de 960 testes, adicione 450 µl de HPV Mg/Mn a cada um de dois frascos de HPV MMX (frascos de 1,0 ml do kit de 960 testes).

NOTA: A corrida Recovery deve ser iniciada no prazo de 90 minutos após a adição de HPV Mg/Mn à HPV MMX. No Recovery Workflow, o sistema não monitoriza o espaço de tempo após a adição das amostras preparadas à mistura principal de trabalho. O utilizador final tem de se assegurar de que a amplificação e deteção se inicia dentro do tempo designado.

- I. Misture muito bem a mistura principal de trabalho, invertendo cuidadosamente o(s) frasco(s). Não misture a Mistura Principal de Trabalho com agitação forte.
- J. Transfira 25 µl de Mistura Principal de Trabalho para os poços necessários da microplaca.
- K. Coloque a Placa de Extração da partida a ser repetida na placa magnética autónoma.
- L. Transfira manualmente 25 µl de eluato dos poços da Placa de Extração para os poços correspondentes da microplaca. Certifique-se de que as posições dos poços são mantidas (por ex., o eluato do poço A1 da Placa de Extração é transferido para A1 na microplaca). Certifique-se de que nenhum MGP é arrastado para a microplaca.
- M. Para selar a microplaca, siga as instruções da Assistência ao utilizador do **cobas**[®] 4800 System.
- N. Centrifugue a microplaca utilizando um rotor de cestos oscilantes durante pelo menos 5 segundos a 1500 RCF.
- O. Transporte a placa para o **cobas**[®] z 480 analyzer e inicie a corrida de amplificação e deteção.
- P. Quando estiver concluída a corrida de amplificação e deteção, descarregue a microplaca do **cobas**[®] z 480 analyzer.
- Q. Para conferir e aceitar resultados, siga as instruções da Assistência ao utilizador do **cobas**[®] 4800 System.

Interpretação dos Resultados

NOTA: A validação de todos os ensaios e corridas é efectuada pelo software cobas[®] 4800.

NOTA: Uma corrida válida poderá incluir resultados de amostras válidos e inválidos.

Para uma corrida válida, os resultados de amostra são interpretados conforme indicado nas tabelas 1 e 2:

Tabela 1
Interpretação de resultados do Teste cobas[®] 4800 HPV para a presença de ADN de HPV

Teste cobas[®] 4800 HPV	Relatório e Interpretação de Resultados
Resultado Pedido "HPV High Risk Panel":	
POS HR HPV	Positivo para HPV de Alto Risco A amostra é positiva para o ADN de qualquer um dos seguintes tipos de HPV de alto risco, ou qualquer combinação dos mesmos: 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66, 68.
NEG HR HPV	Negativo para HPV de Alto Risco* Não foi detectado ADN dos tipos de HPV 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66 e 68 ou está abaixo do limite predefinido.
Invalid HR HPV	HPV de Alto Risco Inválido Os resultados do HPV de Alto Risco são inválidos. Para amostras em PreservCyt [®] , a amostra original não deverá ser novamente testada mais de duas vezes para se obterem resultados válidos. Se os resultados ainda forem inválidos, deverá ser obtida uma nova amostra. Para amostras em SurePath [™] , a amostra original deve ser novamente testada se ainda houver volume suficiente. Se os resultados ainda forem inválidos, deverá ser obtida uma nova amostra.
Failed	Nenhum resultado para a amostra Para instruções sobre como analisar alarmes de corridas e as ações recomendadas, consulte a Assistência ao utilizador do cobas [®] 4800 System. A amostra original deverá ser novamente testada para obter um resultado válido.

Teste cobas® 4800 HPV	Relatório e Interpretação de Resultados
Resultado Pedido “HPV High Risk Panel Plus Genotyping”:	
POS Other HR HPV	Positivo para Outro HPV de Alto Risco A amostra é positiva para o ADN de qualquer um dos seguintes tipos de HPV de alto risco, ou qualquer combinação dos mesmos: 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66, 68.
NEG Other HR HPV	Negativo para Outro HPV de Alto Risco* Não foi detectado ADN dos tipos de HPV 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66 e 68 ou está abaixo do limite predefinido.
Invalid Other HR HPV	Inválido para Outro HPV de Alto Risco O resultado de Outro HPV de Alto Risco é inválido. Para amostras em PreservCyt®, a amostra original não deverá ser novamente testada mais de duas vezes para se obterem resultados válidos. Se os resultados ainda forem inválidos, deverá ser obtida uma nova amostra. Para amostras em SurePath™, a amostra original deve ser novamente testada se ainda houver volume suficiente. Se os resultados ainda forem inválidos, deverá ser obtida uma nova amostra.
POS HPV16	Positivo para HPV16 A amostra é positiva para o ADN do tipo de HPV 16.
NEG HPV16	Negativo para HPV16* O ADN do tipo de HPV 16 não foi detectado ou está abaixo do limite predefinido.
Invalid HPV16	Inválido para HPV16 O resultado de HPV16 é inválido. Para amostras em PreservCyt®, a amostra original não deverá ser novamente testada mais de duas vezes para se obterem resultados válidos. Se os resultados ainda forem inválidos, deverá ser obtida uma nova amostra. Para amostras em SurePath™, a amostra original deve ser novamente testada se ainda houver volume suficiente. Se os resultados ainda forem inválidos, deverá ser obtida uma nova amostra.
POS HPV18	Positivo para HPV18 A amostra é positiva para o ADN do tipo de HPV 18.
NEG HPV18	Negativo para HPV18* O ADN do tipo de HPV 18 não foi detectado ou está abaixo do limite predefinido.
Invalid HPV18	Inválido para HPV18 O resultado de HPV18 é inválido. Para amostras em PreservCyt®, a amostra original não deverá ser novamente testada mais de duas vezes para se obterem resultados válidos. Se os resultados ainda forem inválidos, deverá ser obtida uma nova amostra. Para amostras em SurePath™, a amostra original deve ser novamente testada se ainda houver volume suficiente. Se os resultados ainda forem inválidos, deverá ser obtida uma nova amostra.
Failed	Nenhum resultado para a amostra Para instruções sobre como analisar alarmes de corridas e as ações recomendadas, consulte a Assistência ao utilizador do cobas® 4800 System. A amostra original deverá ser novamente testada para obter resultados válidos.

* Um resultado negativo não impede a presença de infecção pelo HPV, porque os resultados dependem de uma colheita de amostras adequada, ausência de inibidores e ADN suficiente para ser detectado.

Tabela 2
Interpretação de resultados do Teste cobas® 4800 HPV para doentes com Anomalias citológicas

Resultados	Interpretação
NEG Other HR HPV*, NEG HPV16, NEG HPV18	Probabilidade muito baixa da possibilidade de existência de \geq CIN2.
POS Other HR HPV*, NEG HPV16, NEG HPV18	Probabilidade aumentada de que a existência de \geq CIN2 será detectada na colposcopia.
POS HPV16 e/ou POS HPV18	Probabilidade aumentada de que a existência de \geq CIN2 será detectada na colposcopia ^{34,35} .

* Outros ADN de HPV de Alto Risco incluem os seguintes tipos: 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66, 68.

NOTA: Resultados negativos para o HPV não se destinam a impedir que mulheres prossigam com colposcopia.

NOTA: Para além dos resultados indicados nas tabelas anteriores, são também possíveis resultados inválidos para uma ou mais combinações. Se for obtido um tal resultado, por exemplo:

Other HR HPV NEG, HPV16 POS, HPV18 Invalid

Os resultados positivos e negativos deverão ser interpretados conforme indicado na Tabela 1. Neste exemplo, os resultados do HPV 18 são inválidos. A amostra original não deverá ser novamente testada mais de duas vezes para se obterem resultados válidos. Se os resultados ainda forem inválidos, deverá ser obtida uma nova amostra.

NOTA: Os resultados negativos indicam que não são detectadas concentrações de ADN do HPV ou que estão abaixo do limite predefinido.

NOTA: Os resultados de teste positivos indicam a presença de qualquer um ou vários dos tipos de alto risco, mas como os doentes estão muitas vezes co-infectados com tipos de baixo risco, não é rejeitada a possibilidade da presença de tipos de baixo risco em doentes com infecções mistas.

NOTA: Os resultados deste teste só deverão ser interpretados em conjunto com a informação disponível da avaliação clínica do doente e do histórico do doente.

LISTA DE ALARMES DE RESULTADOS

A tabela a seguir apresenta uma lista dos alarmes do teste **cobas**[®] 4800 HPV que são relevantes para a interpretação de resultados. Para uma lista completa dos alarmes, consulte a Assistência ao utilizador do **cobas**[®] 4800 System.

Tabela 3
Lista dos alarmes do teste cobas[®] 4800 HPV

Código do alarme	Descrição	Ação recomendada
R20	O controlo positivo é inválido.	Os valores do controlo positivo são inválidos. 1. Repita a corrida inteira com novos reagentes. 2. Se o problema persistir, contacte a assistência da Roche.
R21	O controlo negativo é inválido.	Os valores do controlo negativo são inválidos. Para evitar carryover, utilize boas práticas de laboratório. 1. Repita a corrida inteira com novos reagentes. 2. Se o problema persistir, contacte a assistência da Roche.
X3	Erro: foi detetado um coágulo. A amostra não foi processada.	Certifique-se de que as amostras foram manuseadas de acordo com a descrição do fluxo de trabalho. 1. Verifique a amostra quanto a coágulos. 2. Execute novamente a amostra.
X4	Erro: ocorreu um erro de pipetagem. A amostra não foi processada.	O motivo mais provável deverá ser um volume de amostra insuficiente ou um erro mecânico durante a pipetagem. 1. Assegure-se de que há volume de amostra suficiente. 2. Verifique se a placa de ejeção de pontas está colocada corretamente. 3. Execute novamente a amostra.

CONTROLO DE QUALIDADE

Em cada corrida é incluído um conjunto de Controlos Negativo e Positivo do Teste **cobas**[®] 4800 HPV. Em qualquer corrida, para se poder apresentar os resultados do Teste **cobas**[®] 4800 HPV dessa corrida, têm de ser obtidos resultados válidos para ambos os controlos Positivo e Negativo do software **cobas**[®] 4800.

Controlo Positivo

O resultado do Controlo HPV (+) deve ser "Valid". Se os resultados do Controlo HPV (+) forem, de forma consistente, inválidos, contacte o seu representante local da Roche, para obter assistência técnica.

Controlo Negativo

O resultado do Controlo (-) deve ser "Valid". Se os resultados do Controlo (-) forem, de forma consistente, inválidos, contacte o seu representante local da Roche, para obter assistência técnica.

PRECAUÇÕES DE PROCEDIMENTO

À semelhança do que sucede com qualquer procedimento de teste, uma boa técnica laboratorial é essencial para um desempenho adequado deste ensaio. Em virtude da elevada sensibilidade analítica deste teste, deverão ser tomadas as devidas precauções para manter os reagentes e as misturas de amplificação livres de contaminação.

LIMITAÇÕES DO PROCEDIMENTO

1. O Teste **cobas**[®] 4800 HPV detecta o ADN dos tipos de alto risco 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66 e 68. Este teste não detecta ADN de tipos de HPV de baixo risco (por ex. 6, 11, 42, 43, 44), uma vez que não há qualquer utilidade clínica em testar tipos de HPV de baixo risco³⁶.
2. O Teste **cobas**[®] 4800 HPV para a deteção do vírus do papiloma humano dos tipos 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66 e 68 não é recomendado para avaliação de suspeita de abuso sexual.
3. O desempenho do Teste **cobas**[®] 4800 HPV não foi adequadamente estabelecido para indivíduos vacinados contra o HPV³⁷.
4. A prevalência de infecção por HPV numa população pode afectar o desempenho. Valores predictivos de positivo diminuem ao testar populações com baixa prevalência ou indivíduos com nenhum risco de infecção.
5. A infecção por HPV não é um indicador de HSIL na citologia ou de CIN de alto grau subjacente, nem implica o desenvolvimento futuro de cancro ou de CIN2-3. A maioria das mulheres infectadas com um ou mais tipos de HPV de alto risco não desenvolve CIN2-3 ou cancro.
6. Um resultado negativo para HPV de alto risco não exclui a possibilidade de futuro HSIL na citologia ou de CIN2-3 subjacente ou cancro.
7. Teste exclusivamente o tipo de amostra indicado. O teste **cobas**[®] 4800 HPV só foi validado para utilização com:
 - amostras cervicais colhidas em Roche Cell Collection Medium
 - amostras cervicais colhidas em Solução PreservCyt[®]
 - amostras cervicais colhidas em Fluido Conservante SurePath[™]
 - amostras vaginais colhidas com FLOQSwab[®] 552C.80 e suspensas em Roche Cell Collection Medium
 - amostras vaginais colhidas com FLOQSwab[®] 552C.80 e suspensas em Solução PreservCyt[®]
 - amostras vaginais colhidas com a escova Evalyn[®] Brush e suspensas em Roche Cell Collection Medium
 - amostras vaginais colhidas com a escova Evalyn[®] Brush e suspensas em Solução PreservCyt[®]O desempenho do ensaio não foi validado para utilização com outros meios de colheita e/ou dispositivos de colheita. A utilização de outros meios de colheita e/ou dispositivos de colheita poderá originar resultados falsos positivos, falsos negativos ou inválidos.
8. A deteção de HPV de alto risco depende do número de cópias presentes na amostra e pode ser afectada pelos métodos de colheita da amostra, por factores inerentes ao próprio doente, pelo estágio da infecção e pela presença de substâncias interferentes.
9. A amplificação e deteção da beta-globina está incluída no Teste **cobas**[®] 4800 HPV para diferenciar amostras negativas para o HPV das amostras que não apresentam um sinal de HPV devido a massa insuficiente de células na amostra. Todas as amostras negativas para o HPV devem ter um sinal de beta-globina válido para serem identificadas como negativas válidas pelo Sistema **cobas**[®] 4800.
10. A obtenção de resultados fiáveis está dependente da colheita, transporte, armazenamento e processamento adequados das amostras. Siga os procedimentos descritos neste folheto informativo e na Assistência ao utilizador do **cobas**[®] 4800 System.
11. A adição de enzima AmpErase à Mistura Principal **cobas**[®] 4800 HPV permite a amplificação selectiva do ADN alvo; no entanto, para evitar a contaminação dos reagentes, é necessário observar boas práticas laboratoriais e cumprir cuidadosamente os procedimentos especificados neste folheto informativo.
12. A utilização deste produto deve estar limitada a pessoal com formação em técnicas de PCR e na utilização do sistema **cobas**[®] 4800.
13. Apenas o equipamento **cobas**[®] x 480 e o analisador **cobas**[®] z 480 foram validados para utilização com este produto. Nenhum outro equipamento de preparação de amostras ou sistema de PCR pode ser utilizado com este produto.
14. Devido a diferenças básicas entre tecnologias, recomenda-se que, antes de mudarem de uma tecnologia para outra, os utilizadores realizem estudos de correlação de métodos nos seus laboratórios, para qualificar as diferenças tecnológicas.
15. Os efeitos de outras potenciais variáveis, tais como corrimento vaginal, uso de tampões, irrigação, etc. e variáveis relativamente à colheita de amostras, não foram avaliados.
16. Embora raras, as mutações dentro das regiões altamente conservadas do ADN genómico do Vírus do papiloma humano cobertas pelos iniciadores e/ou sonda do Teste **cobas**[®] 4800 HPV podem resultar na não deteção da presença do ADN viral.
17. A presença de inibidores da PCR pode causar resultados falsos negativos ou inválidos.
18. As amostras cervicais revelam frequentemente níveis visivelmente detetáveis de sangue total na forma de uma coloração rosa ou castanha clara. Essas amostras são processadas normalmente no **cobas**[®] 4800 System. Se as concentrações de sangue total excederem 2% (coloração vermelha escura ou castanha) em Roche Cell Collection Medium ou em Solução PreservCyt[®], ou se forem superiores a 4% em Fluido Conservante SurePath[™] tratado com **cobas**[®] Sample Prep Buffer, existe a probabilidade de se obter um resultado falso negativo. Para obter detalhes, consulte os resultados de interferências.
19. A utilização do creme hidratante vaginal Replens[®] tem sido associada a resultados falsos negativos em Fluido Conservante SurePath[™].
20. A utilização de produtos de higiene vaginal RepHresh[®] tem sido associada a resultados falsos negativos em Roche Cell Collection Medium e em Solução PreservCyt[®].
21. A remoção de glóbulos vermelhos de amostras em Roche Cell Collection Medium, em Solução PreservCyt[®] ou em Fluido Conservante SurePath[™] através do tratamento com ácido acético glacial (GAA) não foi validada com o teste **cobas**[®] 4800 HPV. Qualquer utilização de tratamentos GAA com o teste **cobas**[®] 4800 HPV deve ser validada pelo laboratório.

DESEMPENHO CLÍNICO COM AMOSTRAS CLÍNICAS

Comparação de desempenho com um Teste HPV comparável de marca CE

A especificidade e a sensibilidade clínica ao estado da doença (\geq CIN2) foram determinadas para o Teste **cobas**[®] 4800 HPV e para um teste de HPV comparável de marca CE³⁸, numa população de mulheres de pelo menos 21 anos de idade, com resultados citológicos de ASC-US, determinados através de rastreio de rotina do cancro cervical. Todos os testes foram realizados utilizando amostras cervicais em Solução PreservCyt[®]. Um total de 1578 sujeitos com um resultado citológico inicial de ASC-US foram submetidos a colposcopia e obtiveram-se resultados válidos de testes de HPV e de biópsia cervical. O estado da doença dos sujeitos foi verificado por um painel de exame patológico central, a partir de amostras de biópsia obtidas na colposcopia. Os resultados para uma população ASC-US estão resumidos na Tabela 4 e indicam que o desempenho do Teste **cobas**[®] 4800 HPV foi semelhante ao do teste comparável.

Tabela 4
Comparação do desempenho do Teste cobas[®] 4800 HPV com um teste de HPV comparável de marca CE na deteção de \geq CIN2 e \geq CIN3 na população ASC-US

	Teste cobas [®] 4800 HPV		Teste de HPV comparável de marca CE	
	Estimativa pontual	IC de 95%	Estimativa pontual	IC de 95%
\geq CIN2				
Sensibilidade (%)	90,0 (72/80)	(81,5, 94,8)	87,2 (68/78) ¹	(78,0, 92,9)
Especificidade (%)	70,5 (1056/1498)	(68,1, 72,7)	71,1 (1056/1485) ²	(68,8, 73,4)
PPV (%)	14,0 (72/514)	(12,8, 15,3)	13,7 (68/497)	(12,4, 15,1)
NPV (%)	99,2 (1056/1064)	(98,6, 99,6)	99,1 (1056/1066)	(98,3, 99,5)
Prevalência (%)	5,1 (80/1578)	(4,1, 6,3)	5,0 (78/1563)	(4,0, 6,2)
\geq CIN3				
Sensibilidade (%)	93,5 (43/46)	(82,5, 97,8)	91,3 (42/46)	(79,7, 96,6)
Especificidade (%)	69,3 (1053/1517)	(66,9, 71,5)	70,0 (1062/1517)	(67,7, 72,3)
PPV (%)	8,4 (43/514)	(7,6, 9,2)	8,5 (42/497)	(7,6, 9,4)
NPV (%)	99,7 (1061/1064)	(99,2, 99,9)	99,6 (1062/1066)	(99,0, 99,9)
Prevalência (%)	2,9 (43/1578)	(2,2, 3,9)	3,0 (46/1563)	(2,2, 3,9)

¹ Os resultados de dois sujeitos com um diagnóstico \geq CIN2 não puderam ser determinados pelo teste de HPV comparável de marca CE devido a volume insuficiente resultante da repetição de testes.

² Os resultados de treze sujeitos com um diagnóstico $<$ CIN2 não puderam ser determinados pelo teste de HPV comparável de marca CE devido a volume insuficiente resultante da repetição de testes.

Em mulheres com idades \geq 30 anos com citologia normal, o risco de doença cervical (\geq CIN2) é 7,29 vezes maior com um resultado positivo de alto risco ao Teste **cobas**[®] 4800 HPV do que com um resultado negativo ao Teste **cobas**[®] 4800 HPV. As estimativas de risco relativo e os respectivos intervalos de confiança de 95% são apresentados na Tabela 5.

Em mulheres com 30 anos ou mais, o Teste **cobas**[®] 4800 HPV pode ser utilizado para avaliar a presença ou ausência dos genótipos 16 e 18 do HPV. O risco de doença cervical (\geq CIN2) é 13,71 vezes maior com um resultado ao Teste **cobas**[®] 4800 HPV positivo para o HPV16 e/ou HPV18 do que com um resultado negativo, e o risco é 2,51 vezes maior com um resultado do Teste **cobas**[®] 4800 HPV positivo para o HPV16 e/ou HPV18 quando comparado com um resultado ao Teste **cobas**[®] 4800 HPV positivo para os outros 12 tipos de alto risco. Em todos os casos, o limite inferior do intervalo de confiança de 95% excede 1, sugerindo um risco estatisticamente maior de contrair uma doença cervical com um resultado de teste de HPV positivo.

Tabela 5
Risco relativo de doença cervical (\geq CIN2 por exame patológico central) em mulheres com idades \geq 30 anos com citologia normal*

Resultado HPV	Estimativa de Risco Relativo	IC de 95%*
Pos. versus Neg.	7,29	(3,99, 22,11)
16+/18+ versus Neg	13,71	(7,31, 41,92)
16+/18+ versus 12 outros de alto risco+	2,51	(1,73, 3,61)

Nota: foi adicionado 0,5 ao valor zero do número estimado de sujeitos com a doença em quaisquer das 1000 amostras bootstrap

* O IC de 95% é o percentil 2,5 e 97,5 do IC de bootstrap com base em 1000 amostras bootstrap

População NILM (≥ 30 anos) – Avaliação do Desempenho

A Tabela 6 apresenta os resultados não ajustados das estimativas de sensibilidade e especificidade juntamente com ICs de 95% do HR HPV POS versus o HR HPV NEG, relativamente à população NILM (≥ 30 anos).

A sensibilidade e a especificidade não ajustadas do teste para a histologia ≥ CIN2 foram respectivamente de 83,2% (109/131) com IC de 95%: 75,9% a 88,6% e de 60,4% (2492/4127) com IC de 95%: 58,9% a 61,9%. A sensibilidade e a especificidade não ajustadas do Teste **cobas**[®] HPV para a deteção de histologia ≥ CIN3 foram respectivamente de 90,0% (72/80) com IC de 95%: 81,5% a 94,8% e de 60,0% (2506/4178) com IC de 95%: 58,5% a 61,5%.

Tabela 6
Desempenho do Teste cobas[®] 4800 HPV na população NILM (≥ 30 anos) (estimativas não ajustadas)

Diagnóstico do CPR (exame patológico central)	Desempenho	Estimativa	IC de 95%
≥ CIN2	Sensibilidade (%)	83,2 (109/131)	(75,9, 88,6)
	Especificidade (%)	60,4 (2492/4127)	(58,9, 61,9)
	PPV (%)	6,3 (109/1744)	(5,8, 6,8)
	NPV (%)	99,1 (2492/2514)	(98,7, 99,4)
	Prevalência (%)	3,1 (131/4258)	(2,6, 3,6)
≥ CIN3	Sensibilidade (%)	90,0 (72/80)	(81,5, 94,8)
	Especificidade (%)	60,0 (2506/4178)	(58,5, 61,5)
	PPV (%)	4,1 (72/1744)	(3,8, 4,5)
	NPV (%)	99,7 (2506/2514)	(99,4, 99,8)
	Prevalência (%)	1,9 (80/4258)	(1,5, 2,3)

População geral (≥ 25 anos) – Comparação do desempenho dos testes de HPV versus Citologia

Foi determinado o desempenho clínico do Teste **cobas**[®] HPV e da citologia à base de líquidos (PreservCyt[®]) numa população de 40.901 mulheres com 25 anos ou mais, independentemente do estado citológico (população geral). A Tabela 7 apresenta³⁸, para a população geral (≥ 25 anos), estimativas de sensibilidade e de especificidade para o Teste **cobas**[®] HPV versus a citologia para a deteção do ≥ CIN2 e do ≥ CIN3. As sensibilidades não ajustadas do Teste **cobas**[®] HPV e da citologia para a deteção do ≥ CIN2, foram respectivamente de 88,2% (380/431) com IC de 95%: 84,8 a 90,9 e de 51,5% (222/431) com IC de 95%: 46,8% a 56,2%. As sensibilidades não ajustadas do Teste **cobas**[®] HPV e da citologia para a deteção do ≥ CIN3, foram respectivamente de 92,0% (252/274) com IC de 95%: 88,1 a 94,6 e de 53,3% (146/274) com IC de 95%: 47,4% a 59,1%. As especificidades ajustadas de viés de verificação do Teste **cobas**[®] HPV e da citologia para a deteção do ≥ CIN2, foram respectivamente de 90,5% (36343/40163) com IC de 95%: 90,2% a 90,8% e de 94,1% (37811/40163) com IC de 95%: 93,9% a 94,4%.

Tabela 7
Comparação do desempenho do Teste cobas[®] 4800 HPV e da Citologia para a deteção do ≥ CIN2 e do ≥ CIN3 na população geral (≥ 25 anos)

	Citologia		Teste cobas [®] HPV	
	% (n)	IC de 95%	% (n)	IC de 95%
≥ CIN2				
Sensibilidade	51,5 (222/431)	(46,8 a 56,2)	88,2 (380/431)	(84,8 a 90,9)
Especificidade	73,4 (5428/7392)	(72,4 a 74,4)	57,8 (4270/7392)	(56,6 a 58,9)
PPV	10,2 (222/2186)	(9,3 a 11,1)	10,9 (380/3502)	(10,4 a 11,3)
NPV	96,3 (5428/5637)	(95,9 a 96,6)	98,8 (4270/4321)	(98,5 a 99,1)
≥ CIN3				
Sensibilidade	53,3 (146/274)	(47,4 a 59,1)	92,0 (252/274)	(88,1 a 94,6)
Especificidade	73,0 (5509/7549)	(72,0 a 74,0)	56,9 (4299/7549)	(55,8 a 58,1)
PPV	6,7 (146/2186)	(6,0 a 7,4)	7,2 (252/3502)	(6,9 a 7,5)
NPV	97,7 (5509/5637)	(97,4 a 98,0)	99,5 (4299/4321)	(99,2 a 99,7)

Limite de detecção: Solução PreservCyt® e Fluido Conservante SurePath™

Foi determinado o limite de detecção (LOD) dos genótipos de HPV de alto risco HPV16, HPV18 e HPV31 para o Teste **cobas®** 4800 HPV. Os LODs foram avaliados utilizando 1) plasmídeos de HPV31, HPV16 e HPV18 no fundo de amostras de doentes em pool negativas para o HPV colhidas em Solução PreservCyt® e em Fluido Conservante SurePath™, e 2) linhas de células SiHa (HPV16) e HeLa (HPV18) positivas para o HPV em Solução PreservCyt® e em Fluido Conservante SurePath™ contendo um fundo de linhas de células (HCT-15) positivo para o HPV. Os plasmídeos e as linhas de células foram diluídos para concentrações abaixo, acima e aos níveis esperados do LOD. Foram testadas pelo menos 60 réplicas de cada plasmídeo ou linha de célula em Solução PreservCyt® e em Fluido Conservante SurePath™ para cada um de 3 lotes de reagentes. Todos os testes em fundo de amostras SurePath™ foram efectuados utilizando tratamento com **cobas®** Sample Prep Buffer. O LOD é o nível de ADN de HPV na amostra que tem resultados de teste positivos pelo menos durante 95% do tempo. As tabelas 8 e 9 contêm resultados do lote de reagentes que produz o LOD mais conservador (o maior) na análise, respectivamente para Solução PreservCyt® e para Fluido Conservante SurePath™.

Tabela 8
Níveis de Limite de Detecção para os Tipos de HPV 31, 16, 18 e Linhas de Células SiHa (HPV16) e HeLa (HPV18) em Solução PreservCyt®

Tipo de HPV	Título (cópias ou células/ml)	Número de Positivos/Testados	% Positivos	Intervalo de Confiança de 95%	
				Inferior	Superior
31	600	60/60	100%	94%	100%
31	300	59/61	97%	89%	100%
31	150	49/60	82%	70%	90%
16	1500	60/60	100%	94%	100%
16	600	60/60	100%	94%	100%
16	300	55/61	90%	80%	96%
18	1,500	60/60	100%	94%	100%
18	600	60/60	100%	94%	100%
18	300	42/61	69%	56%	80%
SiHa (HPV 16)	200	66/66	100%	95%	100%
SiHa (HPV 16)	100	64/65	98%	92%	100%
SiHa (HPV 16)	50	57/60	95%	86%	99%
HeLa (HPV 18)	80	60/60	100%	94%	100%
HeLa (HPV 18)	40	60/60	100%	94%	100%
HeLa (HPV 18)	20	56/60	93%	84%	98%

Tabela 9
Níveis de Limite de Detecção para os Tipos de HPV 31, 16, 18 e Linhas de Células SiHa (HPV16) e HeLa (HPV18) em Fluido Conservante SurePath™

Tipo de HPV	Títulos (cópias ou células/ml)	Número de Positivos/Testados	% Positivos	Intervalo de Confiança de 95%	
				Inferior	Superior
31	600	60/60	100%	94%	100%
31	300	59/59	100%	94%	100%
31	150	54/60	90%	80%	96%
16	600	60/60	100%	94%	100%
16	300	59/60	98%	91%	100%
16	150	40/60	67%	53%	78%
18	1.500	60/60	100%	94%	100%
18	600	60/60	100%	94%	100%
18	300	55/59	93%	84%	98%
SiHa (HPV 16)	400	60/60	100%	94%	100%
SiHa (HPV 16)	200	60/60	100%	94%	100%
SiHa (HPV 16)	100	55/60	92%	82%	97%
HeLa (HPV 18)	80	60/60	100%	94%	100%
HeLa (HPV 18)	40	59/60	98%	91%	100%
HeLa (HPV 18)	20	43/60	72%	59%	83%

Limite de detecção: Roche Cell Collection Medium

Painéis de diluição de plasmídeo HPV31 e linhas celulares HPV16 e HPV18 no fundo de uma pool de amostras negativas para o HPV, colhidas em Roche Cell Collection Medium e em Solução PreservCyt®, foram testados lado a lado. O limite de detecção para o teste **cobas**® 4800 HPV foi comparável.

Verificação da Inclusividade

Para verificar que o Teste **cobas**® 4800 HPV consegue detectar com precisão todos os genótipos de alto risco do HPV, o limite de detecção (LOD) foi determinado (tabelas 10 e 11) para os genótipos 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66 e 68. A sensibilidade do Teste **cobas**® 4800 HPV para os genótipos 16, 18 e 31 do HPV foi determinado no Estudo de Limite de Detecção descrito anteriormente neste folheto informativo. Stocks de plasmídeos quantificados de cada genótipo do HPV foram diluídos em Solução PreservCyt® ou em Fluido Conservante SurePath™ contendo células HCT-15 negativas para o HPV, para concentrações abaixo, acima e aos níveis esperados do LOD. Foi utilizado um lote de reagentes para produzir um mínimo de 48 réplicas para cada nível positivo em cada meio. Para testar em Fluido Conservante SurePath™ utilizando tratamento com Tampão de Preparação de Amostras **cobas**® (Tabela 11), foi preparado material de fundo a partir de amostras cervicais colhidas em Fluido Conservante SurePath™ e testadas com dois lotes de reagentes como 24 réplicas cada. Para cada tipo de HPV, o LOD apresentado foi definido como a concentração mais baixa dos testes a ter uma taxa de positividade de positivos $\geq 95\%$, com todas as concentrações mais elevadas a ter pelo menos uma taxa de positividade de 95%.

Tabela 10
Resumo do Limite de Detecção dos genótipos de alto risco do Estudo de Inclusividade de Genótipos cobas® 4800 HPV (solução PreservCyt®)

Tipo de ADN do HPV	LOD (cópias/ml)	Número de Positivos/Testados	Taxa de positividade	Intervalo de Confiança de 95%	
				Inferior	Superior
33	190	46/48	96%	86%	99%
35	480	48/48	100%	93%	100%
39	80	48/48	100%	93%	100%
45	190	46/48	96%	86%	99%
51	100	46/48	96%	86%	99%
52	2400	48/48	100%	93%	100%
56	1400	48/48	100%	93%	100%
58	480	47/48	98%	89%	100%
59	190	46/48	96%	86%	99%
66	640	48/48	100%	93%	100%
68	450	48/48	100%	93%	100%

Tabela 11
Resumo do Limite de Detecção dos genótipos de alto risco do Estudo de Inclusividade de Genótipos cobas® 4800 HPV (Fluido Conservante SurePath™)

Tipo de ADN do HPV	LOD (cópias/ml)	Número de Positivos/Testados	Taxa de positividade	Intervalo de Confiança de 95%	
				Inferior	Superior
33	300	48/48	100%	93%	100%
35	600	47/48	100%	89%	100%
39	150	48/48	100%	93%	100%
45	300	48/48	100%	93%	100%
51	600	46/48	96%	86%	99%
52	4800	48/48	100%	93%	100%
56	1200	46/48	96%	86%	99%
58	600	48/48	100%	93%	100%
59	600	48/48	100%	93%	100%
66	1200	48/48	100%	93%	100%
68	300	48/48	100%	93%	100%

A precisão interna foi examinada utilizando membros do painel preparados para o Estudo do Limite de Detecção descrito neste folheto informativo. Para a análise de precisão foram utilizados níveis iguais e acima do limite de detecção (LOD). Os painéis foram preparados adicionando plasmídeos de HPV31, HPV16 e HPV18 ao fundo de amostras de doentes em pool negativas para o HPV colhidas em Solução PreservCyt® e em Fluido Conservante SurePath™. Todos os testes em fundo de amostras SurePath™ foram efectuados utilizando tratamento com **cobas®** Sample Prep Buffer.

A taxa de positividade dos membros do painel (Solução PreservCyt® e Fluido Conservante SurePath™) igual ou acima do LOD é apresentada, respectivamente, nas tabelas 12 e 13. As taxas de acertos foram acima dos 95% para todos os níveis do painel de plasmídeos. Foi analisada a variação do valor de Ct para o teste, e a contribuição de factores como lote de reagente, sistemas, corrida em corrida e factores aleatórios internos da corrida foi calculada e resumida na Tabela 14 para Solução PreservCyt® e na Tabela 15 para Fluido Conservante SurePath™. A Tabela 16 apresenta o DP do valor de Ct e o %CV de componentes de variação em Solução PreservCyt®. A Tabela 17 apresenta o DP do valor de Ct e o %CV de componentes de variação em Fluido Conservante SurePath™.

Tabela 12
Resumo das Taxas de Acertos iguais ou acima do LOD do Estudo de Precisão cobas® 4800 HPV
(em Solução PreservCyt®)

Alvo	Nível do painel	Concentração (cópias ou células/ml)	N.º de Testes	N.º de Pos.	Taxa de positividade	95% CI para Taxa de positividade	
						Inferior	Superior
HPV31	> LOD	600	186	186	100%	98%	100%
	= LOD	300	187	184	98%	95%	100%
HPV16	> LOD	1500	186	186	100%	98%	100%
	= LOD	600	186	186	100%	98%	100%
HPV18	> LOD	1500	186	186	100%	98%	100%
	= LOD	600	186	186	100%	98%	100%

Tabela 13
Resumo das Taxas de Acertos iguais ou acima do LOD do Estudo de Precisão cobas® 4800 HPV
(em Fluido Conservante SurePath™)

Alvo	Nível do painel	Concentração (cópias ou células/ml)	N.º de Testes	N.º de Pos.	Taxa de positividade	95% CI para Taxa de positividade	
						Inferior	Superior
HPV31	> LOD	300	180	180	100%	98%	100%
	= LOD	150	180	175	97%	94%	99%
HPV16	> LOD	600	180	180	100%	98%	100%
	= LOD	300	180	180	100%	98%	100%
HPV18	> LOD	1500	180	180	100%	98%	100%
	= LOD	600	180	180	100%	98%	100%

Tabela 14
Análise dos Componentes de variação do Valor de Ct
para os níveis do painel do Estudo de Precisão cobas® 4800 HPV,
preparados em Solução PreservCyt®

Alvo	Nível do painel	N.º	Elbow Médio	Componentes de variação / Percentagem de contribuição				
				Lote de Rg.	Sistema	Corrida	Aleatório	Total
HPV16	> LOD	186	36,3	0,038	0	0,111	0,079	0,228
				17%	0%	49%	35%	100%
	= LOD	186	37,5	0,025	0	0,042	0,161	0,228
				11%	0%	18%	71%	100%
HPV18	> LOD	186	36,6	0,043	0	0,149	0,067	0,259
				16%	0%	58%	26%	100%
	= LOD	186	37,8	0,027	0	0,050	0,184	0,261
				10%	0%	19%	71%	100%
HPV31	> LOD	186	36,5	0,003	0,002	0,105	0,187	0,297
				1%	1%	35%	63%	100%
	= LOD	187	37,6	0,020	0	0,157	0,489	0,666
				3%	0%	24%	73%	100%

Tabela 15
Análise dos Componentes de variação do Valor de Ct
 para os níveis do painel do Estudo de Precisão cobas® 4800 HPV, preparados em Fluido Conservante SurePath™

Alvo	Nível do painel	N.º	Elbow Médio	Componentes de variação / Percentagem de contribuição				
				Lote de Rg.	Sistema	Corrida	Aleatório	Total
HPV16	> LOD	180	37,2	0,014	0	0,039	0,157	0,209
				7%	0%	18%	75%	100%
	= LOD	180	38,2	0	0	0,090	0,316	0,405
				0%	0%	22%	78%	100%
HPV18	> LOD	180	36,3	0,011	0	0,119	0,073	0,204
				5%	0%	58%	36%	100%
	= LOD	180	37,7	0	0	0,148	0,219	0,366
				0%	0%	40%	60%	100%
HPV31	> LOD	180	37,2	0	0	0,099	0,393	0,493
				0%	0%	20%	80%	100%
	= LOD	180	38,1	0,026	0,015	0,038	0,684	0,764
				3%	2%	5%	90%	100%

Tabela 16
Análise do DP do valor de Ct e o %CV para os níveis do painel
 do Estudo de Precisão cobas® 4800 HPV, preparados em Solução PreservCyt®

Alvo	Nível do painel	N.º	Elbow Médio	Componentes do DP / %CV				
				Lote de Rg.	Sistema	Corrida	Aleatório	Total
HPV16	> LOD	186	36,3	0,19	0	0,33	0,28	0,48
				0,50%	0,00%	0,90%	0,80%	1,30%
	= LOD	186	37,5	0,16	0	0,20	0,40	0,48
				0,40%	0,00%	0,50%	1,10%	1,30%
HPV18	> LOD	186	36,6	0,21	0	0,39	0,26	0,51
				0,60%	0,00%	1,10%	0,70%	1,40%
	= LOD	186	37,8	0,16	0	0,22	0,43	0,51
				0,40%	0,00%	0,60%	1,10%	1,30%
HPV31	> LOD	186	36,5	0,05	0,05	0,32	0,43	0,54
				0,10%	0,10%	0,90%	1,20%	1,50%
	= LOD	187	37,6	0,14	0	0,40	0,70	0,82
				0,40%	0,00%	1,10%	1,90%	2,20%

Tabela 17
Análise do DP do valor de Ct e o %CV para os níveis do painel
 do Estudo de Precisão cobas® 4800 HPV, preparados em Fluido Conservante SurePath™

Alvo	Nível do painel	N.º	Elbow Médio	Componentes do DP / %CV				
				Lote de Rg.	Sistema	Corrida	Aleatório	Total
HPV16	> LOD	180	37,2	0,12	0	0,20	0,40	0,46
				0,30%	0,00%	0,50%	1,10%	1,20%
	= LOD	180	38,2	0	0	0,30	0,56	0,64
				0,00%	0,00%	0,80%	1,50%	1,70%
HPV18	> LOD	180	36,3	0,11	0	0,34	0,27	0,45
				0,30%	0,00%	1,00%	0,70%	1,20%
	= LOD	180	37,7	0	0	0,38	0,47	0,61
				0,00%	0,00%	1,00%	1,20%	1,60%
HPV31	> LOD	180	37,2	0	0,02	0,32	0,63	0,70
				0,00%	0,10%	0,80%	1,70%	1,90%
	= LOD	180	38,1	0,16	0,12	0,20	0,83	0,87
				0,40%	0,30%	0,50%	2,20%	2,30%

Precisão: Roche Cell Collection Medium

Os painéis foram preparados através da adição de ADN de linha celular HPV16 e ADN de linha celular HPV18 a um fundo de uma pool de amostras negativas para HPV colhidas em Roche Cell Collection Medium no e acima do LOD. Os testes dos painéis preparados em Roche Cell Collection Medium demonstraram uma precisão comparável à precisão com painéis preparados em Solução PreservCyt®.

Especificidade analítica

Para avaliar a especificidade analítica, o Teste **cobas**® 4800 HPV foi utilizado para testar um painel de bactérias, fungos e vírus, incluindo os normalmente encontrados no tracto urogenital das mulheres, assim como vários tipos de Vírus do papiloma humano classificados como de risco baixo ou indeterminado. Os organismos indicados na Tabela 18 foram adicionados em concentrações altas ($\geq 1 \times 10^3$ unidades/reacção) a uma amostra em Solução PreservCyt® negativa para o HPV e a uma amostra em Solução PreservCyt® negativa para o HPV adicionada com ADN dos plasmídeos HPV 31, HPV16 e HPV18 a 3 vezes o limite de detecção (LOD). Os organismos com um asterisco foram também testados em fundo de amostras de Fluido Conservante SurePath™ nas mesmas condições. Os organismos com um asterisco duplo foram testados apenas em fundo de amostras SurePath™. Todos os testes em fundo de amostras SurePath™ foram efectuados utilizando tratamento com Tampão de Preparação de Amostras **cobas**®. Os resultados indicaram que nenhum desses organismos interferiu com a detecção do ADN dos plasmídeos HPV31, HPV16 e HPV18 ou produziu um resultado falso positivo na amostra negativa para o HPV.

Tabela 18
Micro-organismos testados relativamente a Especificidade analítica

<i>Achromobacter xerosis</i>	<i>Haemophilus ducreyi</i>	<i>Streptococcus agalactiae</i> *
<i>Acinetobacter calcaceticus</i>	Vírus da Hepatite B (HBV)	<i>Streptococcus anginosus</i>
<i>Acinetobacter Iwoffii</i>	Vírus do herpes simples 1*	<i>Streptococcus faecalis</i> **
<i>Acinetobacter sp. genospecies 3</i>	Vírus do herpes simples 2*	<i>Streptococcus pyogenes</i> *
<i>Actinomyces israelii</i>	Vírus da imunodeficiência humana (HIV-1)	<i>Streptococcus sanguis</i>
Adenovírus*	<i>Kingella kingae</i>	SV40
<i>Aerococcus viridans</i>	<i>Klebsiella pneumoniae ss ozaenae</i> *	<i>Treponema pallidum</i>
<i>Alcaligenes faecalis</i>	<i>Lactobacillus acidophilus</i> *	<i>Trichomonas vaginalis</i> *
<i>Bacillus thuringiensis</i>	<i>Lactobacillus crispus</i>	<i>Ureaplasma urealyticum</i>
<i>Bacteroides caccae</i> **	<i>Lactobacillus delbrueckii s. lactis</i>	<i>Veillonella parvula</i>
<i>Bacteroides fragilis</i>	<i>Lactobacillus jensenii</i>	<i>Vibrio parahaemolyticus</i>
<i>Bacteroides ureolyticus</i>	<i>Lactobacillus vaginalis</i>	<i>Weissella paramesenteroides</i>
<i>Bifidobacterium longum</i>	<i>Lactococcus lactis cremoris</i>	<i>Yersinia enterocolitica</i>
<i>Bifidobacterium adolescentis</i> *	<i>Legionella pneumophila</i>	HPV 6*
<i>Bifidobacterium brevi</i>	<i>Micrococcus luteus</i>	HPV 11*
<i>Campylobacter jejuni</i>	<i>Mobiluncus curtisii s. curtisii</i>	HPV 26*
<i>Candida albicans</i> *	<i>Moraxella osloensis</i>	HPV 30**
<i>Chlamydia trachomatis</i> *	<i>Morganella morganii</i>	HPV 34**
<i>Chromobacter violaceum</i>	<i>Mycobacterium avium</i>	HPV 40
<i>Citrobacter braakii</i>	<i>Mycobacterium smegmatis</i>	HPV 42
<i>Clostridium adolescentis</i>	<i>Mycoplasma genitalium</i>	HPV 53**
<i>Clostridium beijerinckii</i> **	<i>Mycoplasma hominis</i>	HPV 54
<i>Clostridium perfringens</i>	<i>Neisseria gonorrhoeae</i> *	HPV 55B
<i>Corynebacterium genitalium</i> **	<i>Neisseria meningitidis</i> Serogrupo A	HPV 61
<i>Corynebacterium glutamicum</i>	<i>Pasteurella multocida</i>	HPV 62
Citomegalovírus*	<i>Pediococcus acidilactici</i>	HPV 64
<i>Eikenella corrodens</i>	<i>Peptostreptococcus anaerobius</i> *	HPV 67*
<i>Enterobacter aerogenes</i> **	<i>Propionibacterium acnes</i>	HPV 69*
<i>Enterobacter cloacae</i>	<i>Proteus mirabilis</i> *	HPV 70*
<i>Enterococcus faecalis</i>	<i>Proteus vulgaris</i>	HPV 71
<i>Enterococcus faecium</i> *	<i>Providencia stuartii</i>	HPV 72
Vírus de Epstein Barr*	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	HPV 73*
<i>Erysipelothrix rhusiopathiae</i>	<i>Pseudomonas fluorescens</i> **	HPV 81
<i>Escherichia coli</i> *	<i>Ruminococcus productus</i>	HPV 82*
<i>Ewingella americana</i>	<i>Salmonella minnesota</i>	HPV 83
<i>Fusobacterium nucleatum</i>	<i>Serratia marcescens</i>	HPV 84
<i>Fusobacterium varium</i> **	<i>Staphylococcus aureus</i> *	HPV 85**
<i>Gemella morbillorum</i>	<i>Staphylococcus epidermidis</i> *	HPV 89 (CP6108)
<i>Gardnerella vaginalis</i>	<i>Staphylococcus saprophyticus</i>	-

* Testado em fundo de amostras PreservCyt® e SurePath™

** Testado apenas em fundo de amostras SurePath™

Substâncias Interferentes

Amostras cervicais positivas e negativas para o HPV, assim como amostras artificiais, foram utilizadas para avaliar os efeitos de substâncias interferentes endógenas e exógenas que poderiam potencialmente estar presentes em amostras cervicais. Os materiais de teste utilizados nestes estudos estão descritos na Tabela 19. As concentrações das substâncias endógenas e exógenas testadas representam condições que podem ocorrer durante a colheita de amostras.

Sangue total, células mononucleares do sangue periférico (PBMC) e muco cervical foram testados como substâncias endógenas potencialmente interferentes encontradas em amostras cervicais. Todos os testes em fundo de amostras SurePath™ foram efectuados utilizando tratamento com **cobas**® Sample Prep Buffer. Na Tabela 20 estão descritos os níveis de cada substância potencialmente interferente testada e observações de desempenho. Não foram observadas interferências com PBMC ou muco cervical a todos os níveis testados. O sangue total não mostrou nenhuma interferência quando presente em quantidades visualmente detetáveis de até 2% em Roche Cell Collection Medium e em Solução PreservCyt®. O sangue total não causou qualquer interferência quando presente em quantidades detectadas visualmente de até 4% em Fluido Conservante SurePath™.

Tabela 19
Descrições de amostras de teste interferentes

Tipo de amostra	Descrição
Amostras cervicais positivas para o HPV	10 amostras individuais em Solução PreservCyt® positivas para HPV foram divididas em alíquotas para serem testadas com e sem substâncias endógenas interferentes
Amostras cervicais negativas para o HPV	10 amostras individuais em Solução PreservCyt® negativas para HPV foram divididas em alíquotas para serem testadas com e sem substâncias endógenas interferentes
Amostra cervical artificialmente positiva para o HPV	Amostras em Solução PreservCyt® positivas para o HPV (canal 1) foram diluídas com amostra negativa para o HPV para um nível de aproximadamente 3 x LOD. Foram então adicionados os plasmídeos do HPV tipos 16 (canal 2) e 18 (canal 3) a ~ 3 x LOD. Plasmídeo HPV31, ADN de linha celular HPV16 e ADN de linha celular HPV18 foram adicionados a ~3X LOD a amostras negativas para o HPV colhidas em Roche Cell Collection Medium.
Pools de 3 x LOD de Fluido Conservante SurePath™ e Solução PreservCyt®	Os plasmídeos do HPV tipos 31, 16, 18 foram individualmente diluídos para 3 x LOD em pools de amostra negativa de Solução PreservCyt® e Fluido Conservante SurePath™.

Tabela 20
Resultados de testes de Interferência com Substâncias Interferentes Endógenas

Interferente testado	Concentrações testadas	Interferência observada	
		PreservCyt®	SurePath™
Sangue Total	1%, 1,5%, 2%, 3%, 4%, 6%, 8% p/p	Acima de 2%	Acima de 4%
PBMC	10 ⁴ , 10 ⁵ , 10 ⁶ células/ml	Nenhuma	Nenhuma
Muco cervical	Muco obtido de um procedimento de limpeza cervical standard	Nenhuma	Nenhuma

Foram testados 18 produtos contraceptivos e de higiene feminina de venda livre (OTC) como substâncias potencialmente interferentes. Os tipos de potenciais interferentes testados e as observações do desempenho em pools com 3 vezes LOD em Roche Cell Collection Medium, em Solução PreservCyt® e em Fluido Conservante SurePath™ são descritos na Tabela 21.

Tabela 21
Resultados de testes de Interferência com Substâncias Exógenas Interferentes

Descrição da substância interferente	Interferência observada
Geles contraceptivos, Espumas	Nenhuma
Lubrificantes vaginais	*Sim
Duche vaginal	Nenhuma
Crems anti-fúngicos que contêm 1% de clotrimazole, hidrocloreto de fenazopiridina, 1% de hidrocortisona, 2% de nitrato de miconazol, 6,5% de pomada de tioconazol, 20% de benzocaína	Nenhuma

* O Replens® (gel hidratante vaginal) produziu resultados negativos em réplicas da pool de 3 x LOD de Fluido Conservante SurePath™. Esta interferência foi também observada quando o material em SurePath™ foi tratado com Tampão de Preparação de Amostras **cobas**®. Produtos de higiene vaginal RepHresh® produziram resultados negativos em réplicas da pool de 3 x LOD de Roche Cell Collection Medium e Solução PreservCyt®.

Estabilidade de amostras em SurePath™ durante 6 Semanas a temp. entre 2 e 30°C utilizando tratamento com Tampão de Preparação de Amostras **cobas**®

Três pools de amostras em SurePath™ negativas para o HPV foram adicionadas com material de amostra em SurePath™ positivo para o tipo 51 do HPV, para produzir uma pool de amostras positiva, uma pool de amostras positiva baixa e uma pool de amostras positiva alta. A pool positiva baixa estava ao ~Limite de Detecção (LOD) no Dia 0 antes do tratamento com Tampão de Preparação de Amostras **cobas**®. Estas pools foram armazenadas a 32°C e testadas a intervalos de até 6 semanas. Os materiais em pool foram tratados para inverter as ligações cruzadas induzidas pela matriz, seguido de análise com o Teste **cobas**® 4800 HPV a cada ponto no tempo. Todas as três pools mantiveram médias de Ct abaixo do cutoff clínico para o HPV tipo 51 (40,0 para o canal 1) durante todo o período de armazenamento de 6 semanas (consulte a Tabela 22).

Tabela 22
Resultados de Estabilidade de amostras em SurePath™ para 6 semanas utilizando tratamento com Tampão de Preparação de Amostras cobas®

Pools em SurePath™	Valores médios de Ct*				
	Dia 0	Semana 1	Semana 3	Semana 4	Semana 6
Positiva Alta	28,7	30,1	30,3	30,6	31,1
Positiva	32,9	33,5	34,1	33,9	34,6
Positiva Baixa (~LOD)	36,9	37,9	38,0	38,8	38,7

* Pontos no tempo Positivos Baixos testados como 40 réplicas; pontos no tempo Positivos como 30 réplicas e pontos no tempo Positivos Altos como 20 réplicas

Correlação de resultados de amostras colhidas pela própria mulher utilizando a zaragatoa FLOQSwab® 552C.80 e amostras colhidas clinicamente

Foi realizada uma comparação dos resultados de amostras vaginais colhidas pela própria mulher e de amostras cervicais colhidas clinicamente usando amostras emparelhadas de 744 mulheres elegíveis pelo rastreamento.

Cada mulher colheu primeiro a sua amostra com um FLOQSwab® 552C.80 (Copan, Itália), que foi suspensa em Roche Cell Collection Medium ou Solução PreservCyt® depois da colheita. Uma segunda amostra foi colhida por um profissional de saúde durante a mesma visita, usando o protocolo de cuidados padrão; a amostra colhida clinicamente foi suspensa no mesmo tipo de meio que a amostra colhida pela própria mulher.

A taxa de resultados inválidos para os resultados colhidos pela própria mulher e para os colhidos clinicamente foi de 4,6% e 0,3%, respectivamente. Foi usado um total de 708 resultados emparelhados válidos para uma análise de correlação. As amostras com resultados positivos para qualquer um dos 14 genótipos do HPV de alto risco detetados pelo teste (HPV-HR) foram consideradas positivas; as amostras com resultados negativos para todos os 14 genótipos do HPV de alto risco detetados pelo teste foram consideradas negativas.

Os resultados de correlação e as concordâncias calculadas na percentagem de positivos, na percentagem de negativos e na percentagem geral, juntamente com intervalos de confiança de 95%, são apresentados na Tabela 23.

Tabela 23
Correlação de resultados para amostras vaginais colhidas pela própria mulher usando FLOQSwab® 552C.80 e amostras cervicais colhidas clinicamente

		Amostra cervical colhida clinicamente		Total
		Resultado 14 HR		
		Positivo	Negativo	
Amostra vaginal colhida pela própria mulher usando FLOQSwab® 552C.80	Positivo	161	48	209
	Negativo	22	477	499
Total		183	525	708

	Resultado (%)	Intervalo de confiança de 95%
Concordância na percentagem de positivos	88,0%	82,5-91,9%
Concordância na percentagem de negativos	90,8%	88,1-93,0%
Concordância na percentagem geral	90,1%	87,7-92,1%

Correlação de resultados de amostras colhidas pela própria mulher utilizando a escova Evalyn® Brush e amostras colhidas clinicamente

Foi realizada uma comparação dos resultados de amostras vaginais colhidas pela própria mulher e de amostras cervicais colhidas clinicamente usando amostras emparelhadas de 784 mulheres elegíveis pelo rastreio.

Cada mulher colheu primeiro a sua amostra utilizando uma escova Evalyn® Brush (Rovers, Holanda), que foi suspensa em Roche Cell Collection Medium ou em Solução PreservCyt® após a colheita. Uma segunda amostra foi colhida por um profissional de saúde durante a mesma visita, usando o protocolo de cuidados padrão; a amostra colhida clinicamente foi suspensa no mesmo tipo de meio que a amostra colhida pela própria mulher.

A taxa de resultados inválidos para os resultados colhidos pela própria mulher e para os colhidos clinicamente foi de 4,7% e 0,4%, respectivamente. Foi usado um total de 742 resultados emparelhados válidos para uma análise de correlação. As amostras com resultados positivos para qualquer um dos 14 genótipos do HPV de alto risco detetados pelo teste (HPV-HR) foram consideradas positivas; as amostras com resultados negativos para todos os 14 genótipos do HPV de alto risco detetados pelo teste foram consideradas negativas.

Os resultados de correlação e as concordâncias calculadas na percentagem de positivos, na percentagem de negativos e na percentagem geral, juntamente com intervalos de confiança de 95%, são apresentados na Tabela 24.

Tabela 24

Correlação de resultados para amostras vaginais colhidas pela própria mulher utilizando a escova Evalyn® Brush e amostras cervicais colhidas clinicamente

		Amostra cervical colhida clinicamente		Total
		Resultado 14 HR		
		Positivo	Negativo	
Amostra vaginal colhida pela própria mulher utilizando a escova Evalyn® Brush	Positivo	195	37	232
	Negativo	25	485	510
Total		220	522	742

	Resultado (%)	Intervalo de confiança de 95%
Concordância na percentagem de positivos	88,6%	83,8-92,2%
Concordância na percentagem de negativos	92,9%	90,4-94,8%
Concordância na percentagem geral	91,6%	89,4-93,4%

BIBLIOGRAFIA

1. Burd, Eileen M. 2003. Human Papillomavirus and Cervical Cancer. *Clinical Microbiology Reviews*. **16**:1-17.
2. zur Hausen, H. 2002. Papillomaviruses and Cancer: From Basic Studies to Clinical Application. *Nat Rev Cancer*. **2(5)**:342-50.
3. Walboomers, Jan M.M., Jacobs, Marcel V., Manos, M.M., et al. 1999. Human Papillomavirus is a Necessary Cause of Invasive Cervical Cancer Worldwide. *Journal of Pathology*. **189**:12-19.
4. Bernard HU. Review: The clinical importance of the nomenclature, evolution and taxonomy of human papillomaviruses. *J Clin Virol*. 2005; **32S**, S1-6.
5. Molijn A, Kleter B, Quint W, van Doorn, L. Review: Molecular diagnosis of human papillomavirus (HPV) infections. *J Clin Virol*. 2005; **32S**:S43-51.
6. zur Hausen H. Roots and perspectives of contemporary papillomavirus research. *J Cancer Res Clin Oncol*. 1996; **122**:3-13.
7. de Villiers EM, Fauquet C, Broker TR, Bernard HU, zur Hausen H. Classification of papillomaviruses. *Virology*. 2004; **324**:17-27.
8. Franco EL, Rohan TE, Villa LL. Epidemiologic evidence and human papillomavirus infection as a necessary cause of cervical cancer. *J Natl Cancer Inst*. 1999; **91**:506-511.
9. Lorincz AT, Reid R, Jenson AB, et al. Human papillomavirus infection of the cervix: relative risk associations of 15 common anogenital types. *Obstet Gynecol*. 1992; **79**:328-37.
10. Bosch, F.X., Manos, M.M., Munoz, N., et al. 1995. International Biological Study on Cervical Cancer (IBSCC) Study Group. Prevalence of Human Papillomavirus in Cervical Cancer: a Worldwide Perspective. *Journal of the National Cancer Institute*, Vol. 87, No. **11**:796-802.
11. Bosch, F.X., A. Lorincz, N. Muñoz, C.J.L.M. Meijer, K.V. Shah (2002) "The causal relation between human papillomavirus and cervical cancer" *J Clin Path* **55**:244-265.
12. Muñoz N, F.X. Bosch, S. de Sanjosé, R. Herrero, X. Castellsagué, K.V. Shah, P.J.F. Snijders, and Chris J.L.M. Meijer, for the International Agency for Research on Cancer Multicenter Cervical Cancer Study Group. (2003) "Epidemiologic Classification of Human Papillomavirus Types Associated with Cervical Cancer" *N Engl J Med* **348(6)**:518-527.
13. Clifford GM, Smith JS, Plummer M, Muñoz N, Franceschi S. Human papillomavirus types in invasive cervical cancer worldwide: a meta-analysis. *Br J Cancer*. 2003; **88**:63-73.
14. Koutsky, L. 1997. Epidemiology of genital human papillomavirus infection. *American Journal of Medicine*. **102(5A)**:3-8.
15. Winer RL, Kiviat NB, Hughes JP, et al. Development and duration of human papillomavirus lesions, after initial infection. *J Infect Dis*. 2005; **191**:731-738.
16. Moscicki, A, Schiffman M, Kjaer S, Villa L. Updating the natural history of HPV and anogenital cancer. *Vaccine* 2006; **24(S3)**; 42-51.
17. Moscicki AB, Ellenberg JH, Farhat S, Xu J. Persistence of human papillomavirus infection in HIV-infected and -uninfected adolescent girls: risk factors and differences, by phylogenetic type. *J Infect Dis*. 2004 Jul **190(1)**:37-45.
18. Palmer Castle PE, Schiffman M, Herrero R, Hildesheim A, Rodriguez AC, Bratti MC, Sherman ME, Wacholder S, Tarone R, Burk RD. A prospective study of age trends in cervical human papillomavirus acquisition and persistence in Guanacaste, Costa Rica. *J Infect Dis*. 2005 Jun **191(11)**:1808-16.
19. Zielinski GD, Snijders PJF, Rozendaal I, et al. High-risk HPV testing in women with borderline and mild dyskaryosis; long term follow-up data and clinical relevance. *J Pathol* 2001; **195**:300-306.
20. Holowaty P, Miller AB, Rohan T, To T. Natural history of dysplasia of the uterine cervix, *J Natl Cancer Inst* 1999; **91**:252-58.
21. Nobbenhuis MA, Helmerhorst TJ, van den Brule AJ, Rozendaal L, Voorhorst FJ, Bezemer PD, Verheijen RH, Meijer CJ. Cytological regression and clearance of high-risk human papillomavirus in women with an abnormal cervical smear. *Lancet*. 2001; **358(9295)**:1782-1783.
22. Cuzick J, Clavel C, Petry KU, et al. Overview of the European and North American studies on HPV testing in primary cervical cancer screening. *Int J Cancer* 2006; **119**:1095-1101.
23. Whitlock EP, Vesco KK, Eder M, Lin JS, Senger CA, Burda BU. Liquid-based cytology and human papillomavirus testing to screen for cervical cancer: a systematic review for the U.S. Preventive Services Task Force. *Ann Intern Med* 2011; **155**:687,697, W214-5.
24. Myers, T.W. and Gelfand, D.H. 1991. Reverse transcription and DNA amplification by a *Thermus thermophilus* DNA polymerase. *Biochemistry*. **30**:7661-7666.
25. Davies, P., Kornegay, J., Iftner, T. 2001. Current methods of testing for human papillomavirus. *Best Practice and Research Clinical Obstetrics and Gynaecology*. Vol. 15, No. **5**:677-700.
26. Birch, D.E., et al. 1996. The use of a thermally activated DNA polymerase PCR gives improved specificity, sensitivity and product yield without additives or extra process steps. *Nature*. Vol 381, **No 6581**:445-446.
27. Meng, Q., et al. 2001. Automated Multiplex Assay System for Simultaneous Detection of Hepatitis B Virus DNA, Hepatitis C Virus RNA, and Human Immunodeficiency Virus Type 1 RNA. *J Clin Microbiol*. Vol 39, **No 8**:2937-2945.
28. Longo, M.C., Berninger, M.S. and Hartley, J.L. 1990. Use of uracil DNA glycosylase to control carry-over contamination in polymerase chain reactions. *Gene*. **93**:125-128.

29. Higuchi, R., Dollinger, G., Walsh, P.S., and Griffith, R. 1992. Simultaneous amplification and detection of specific DNA sequences. *Bio/Technology* **10**:413-417.
30. Heid, C.A., Stevens, J., Livak, J.K., and Williams, P.M. 1996. Real time quantitative PCR. *Genome Research* **6**:986-994.
31. Richmond, J.Y. and McKinney, R.W. eds. 1999. *Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories*. HHS Publication Number (CDC) 93-8395.
32. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Protection of Laboratory Workers from Occupationally Acquired Infections. Approved Guideline-Third Edition. CLSI Document M29-A3 Villanova, PA:CLSI, 2005.
33. International Air Transport Association. Dangerous Goods Regulations, 48th Edition. 2007.
34. Wheeler, C.M., Hunt, W.C., Joste, N.E., Key, C.R., Quint, W.G.V. and Castle, P.E. 2009. Human Papillomavirus Genotype Distributions: Implications for Vaccination and Cancer Screening in the United States. *J Natl Cancer Inst.* **101**:475-487.
35. Khan, M.J., Castle, P.E., Lorincz, A.T., Wacholder, S., Sherman, M., Scott, D.R., Rush, B.B., Glass, A.G. and Schiffman, M. 2005. The Elevated 10-Year Risk of Cervical Precancer and Cancer in Women With Human Papillomavirus (HPV) Type 16 and 18 and the Possible Utility of Type-Specific HPV Testing in Clinical Practice. *J Natl Cancer Inst.* **97**:1072-1079.
36. Wright TC, Jr., Massad LS, Dunton CJ, Spitzer M, Wilkinson EJ, and Solomon D. 2007. 2006 Consensus Guidelines for the Management of Women with Abnormal Cervical Cancer Screening Tests, *Am J Obstet Gynecol* **197 (4)**; 346-355.
37. Saslow D, Runowicz CD, Solomon D, Moscicki A-B, Smith RA, Eyre HJ, Cohen C. 2002, American Cancer Society Guideline for the Early Detection of Cervical Neoplasia and Cancer. *CA Can Jour Clin* **53**: 342-362.
38. Stoler MH, Wright TC Jr, Sharma A, Apple R, Gutekunst K, Wright TL; ATHENA(Addressing THE Need for Advanced HPV Diagnostics) HPV Study Group. High-risk human papillomavirus testing in women with ASC-US cytology: results from the ATHENA HPV study. *Am J Clin Pathol.* 2011 Mar;**135(3)**:468-475.

Informações de revisão do documento	
Doc Rev. 22.0 11/2022	<p>Adicionadas informações sobre o dispositivo de colheita à secção de Materiais necessários mas não fornecidos.</p> <p>Secção atualizada sobre Colheita, transporte e armazenamento de amostras com informações da amostra colhida pela própria mulher.</p> <p>Adicionadas instruções de suspensão de amostras colhidas pela própria mulher utilizando a escova Evalyn Brush e atualizados os tipos de amostra validados na secção Instruções de utilização.</p> <p>Atualizou a secção Limitações do procedimento com tipos de amostras validados para o teste.</p> <p>Atualizada a secção Desempenho clínico com amostras clínicas com dados de desempenho de amostras colhidas pela própria mulher utilizando a escova Evalyn Brush.</p> <p>Secção Marcas comerciais e patentes atualizada, incluindo o link.</p> <p>Corrigidos erros de formatação ao longo do documento, conforme necessário.</p> <p>Se tiver quaisquer questões, por favor contacte o representante local da Roche.</p>
Doc Rev. 23.0 11/2023	<p>Corrigida tabela 23.</p> <p>Corrigidos erros de formatação ao longo do documento, conforme necessário.</p> <p>Marca cobas[®] atualizada.</p> <p>Se tiver quaisquer questões, por favor contacte o representante local da Roche.</p>

O resumo de relatório de segurança e de desempenho pode ser utilizado com o seguinte link: <https://ec.europa.eu/tools/eudamed>

Assistência técnica

Para apoio técnico (assistência) entre em contacto com a sua filial local:
https://www.roche.com/about/business/roche_worldwide.htm

Fabricante e importador



Roche Molecular Systems, Inc.
1080 US Highway 202 South
Branchburg, NJ 08876 USA
www.roche.com

Fabricado nos EUA



Roche Diagnostics GmbH
Sandhofer Strasse 116
68305 Mannheim, Germany

Marcas comerciais e patentes

Consulte <https://diagnostics.roche.com/us/en/about-us/patents>

©2023 Roche Molecular Systems, Inc.



Roche Diagnostics GmbH
Sandhofer Str. 116
68305 Mannheim
Germany



Os seguintes símbolos são utilizados em etiquetas de produtos de diagnóstico por PCR da Roche.

Age/DOB Idade ou data de nascimento



Assigned Range [copies/mL] Intervalo atribuído (cópias/ml)

Assigned Range [IU/mL] Intervalo atribuído (UI/ml)

EC REP Representante autorizado na Comunidade Europeia

BARCODE Folha de dados de códigos de barras

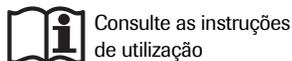
LOT Número do lote



REF Referência de catálogo

CE Marcação de conformidade CE; este dispositivo está em conformidade com os requisitos aplicáveis para marcação CE de um dispositivo médico de diagnóstico *in vitro*

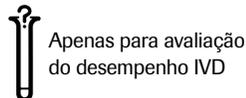
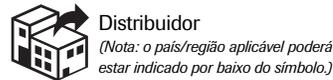
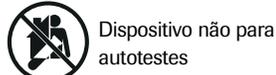
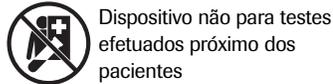
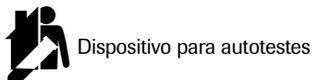
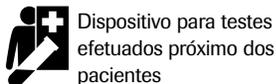
Collect Date Data da colheita



Σ Conteúdo suficiente para <n> testes

CONTENT Conteúdo do kit

CONTROL Controlo



GTIN Global Trade Item Number

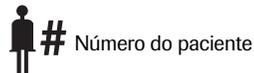
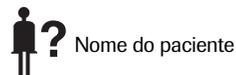
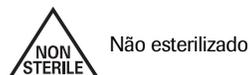


IVD Dispositivo médico para diagnóstico *in vitro*

LLR Limite inferior do intervalo atribuído



CONTROL - Controlo negativo



CONTROL + Controlo positivo

QS copies / PCR Cópias QS por reação PCR, utilize as cópias QS por reação PCR no cálculo dos resultados.

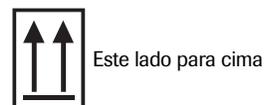
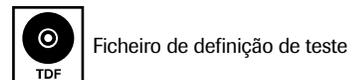
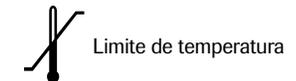
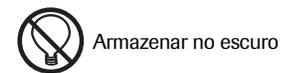
QS IU/PCR UI QS por reação PCR, utilize as Unidades Internacionais QS (UI) por reação PCR no cálculo dos resultados.

SN Número de série

Site Centro

Procedure Standard Procedimento padrão

STERILE EO Esterilizado com óxido de etileno



Procedure UltraSensitive Procedimento ultrasensível

UDI Identificação exclusiva do equipamento

ULR Limite superior do intervalo atribuído

Urine Fill Line Linha de enchimento da urina

Rx Only Apenas nos EUA: a Lei federal dos Estados Unidos restringe a venda deste dispositivo a um profissional licenciado ou a pedido deste.

