

São Paulo, 02 de fevereiro de 2018.

**Validação do Desempenho de Amostras Coletadas no Sistema de Citologia Líquida  
CellPreserv® (Kolplast) para Detecção de Genotipagem HPV 36 tipos virais por  
Metodologia Flow Chip**

Os componentes químicos pertencentes à composição de kits coletores voltados para a realização de Citologia Líquida, hoje comercializados no Brasil, são sabidamente importantes para a preservação morfológica e análise citológicas das amostras biológicas. Alguns desses componentes conhecidamente são inibidores de reações de exames de Biologia Molecular.

A análise da viabilidade uma amostra para o teste de PCR – reação em cadeia de polimerase – é demonstrada pelo resultado do teste como válido ou inválido devido à inibição da reação ou falta de celularidade da amostra. A validação de uma amostra é monitorada através da validação dos controles do ensaio e da amplificação de controles internos da amostra testada. Os controles internos são sinalizadores do desempenho e eficácia da reação, podendo variar de teste para teste. Usualmente utilizam-se genes celulares constitutivos ou sequências conhecidas de microrganismos que são inseridas nas amostras, a fim de monitorar o desempenho da extração e da reação de PCR. Ensaio com resultados de PCR inibida são sinalizados na conclusão do ensaio e são repetidos e reanalisados, dentro de um limite aceitável estipulado pelo laboratório, a fim de monitorar se a internalização de um exame realizado com um kit coletor seja viável ou não.

A validação de desempenho se faz necessária a cada introdução de nova metodologia, antes até da validação de sensibilidade e especificidade do teste.

O objetivo desta validação é a averiguação do desempenho do kit coletor **CellPreserv® (Kolplast)** para o exame de **Detecção de Genotipagem HPV 36 tipos virais por Metodologia Flow Chip**, novo teste utilizado pelo IPOG.

## **Protocolo de Processamento de Amostras de Células Cérvico-Vaginais Coletadas em Coletor CellPreserv para Detecção de Genotipagem HPV 36 tipos virais - Metodologia Flow Chip**

Foram utilizadas 50 amostras de escovado de células cérvico-vaginais, colhidas no kit coletor **CellPreserv® (Kolplast)**, sem resultado previamente conhecido.

Segundo o fornecedor da metodologia as amostras coletadas em kit coletor em meio líquido poderão ser processadas diretamente, pulando a etapa de extração e purificação de DNA.

O teste inicial do preparo das amostras, segundo o fabricante, seguiu o protocolo abaixo:

- Deixar as células assentarem no fundo do recipiente de coleta.
- Pipetar 500 µL dessa suspensão de células em microtubo de 1,5 – 2,0 mL;
- Centrifugar por 3 minuto a 2000 rpm;
- Remover o sobrenadante cuidadosamente;
- Ressuspender o pellet em 500 µL de PBS 1X;
- Centrifugar a 2000 rpm por 3 minutos;
- Remover um volume de 450 ul de sobrenadante cuidadosamente;
- Agitar vigorosamente os 50 ul remanescentes para ressuspender novamente o pellet.
- Utilizar 4 µL dessa suspensão de células para a reação de PCR. O volume restante pode ser armazenado por uma semana a 4°C ou por 2 meses a -20°C.

### **Resultados da validação:**

- Obtivemos 100% dos casos testados com resultado válido, e nenhum caso inválido que necessitou da repetição do teste devido à inibição de PCR.
- Segue a Tabela 01, com os resultados testados e obtidos. Nenhuma amostra foi submetida à concordância de resultados por outra metodologia para a validação de sensibilidade e especificidade.

Tabela 01. Relação de amostras **CellPreserv** testadas por **Genotipagem HPV 36 tipos virais**

nº	ID	EXAME	RESULTADO
1	90528	HPV Genotipagem 36 tipos - Flow chip	<b>POSITIVO PARA HPV 51</b>
2	91413	HPV Genotipagem 36 tipos - Flow chip	<b>NEGATIVO</b>
3	88566	HPV Genotipagem 36 tipos - Flow chip	<b>POSITIVO PARA HPV 40/43/44/55/39/68</b>
4	88731	HPV Genotipagem 36 tipos - Flow chip	<b>NEGATIVO</b>
5	91824	HPV Genotipagem 36 tipos - Flow chip	<b>NEGATIVO</b>
6	88729	HPV Genotipagem 36 tipos - Flow chip	<b>NEGATIVO</b>
7	90531	HPV Genotipagem 36 tipos - Flow chip	<b>NEGATIVO</b>
8	92433	HPV Genotipagem 36 tipos - Flow chip	<b>POSITIVO PARA HPV 56/66 E SONDA UNIVERSAL</b>
9	88728	HPV Genotipagem 36 tipos - Flow chip	<b>POSITIVO PARA SONDA UNIVERSAL</b>
10	88737	HPV Genotipagem 36 tipos - Flow chip	<b>NEGATIVO</b>
11	92431	HPV Genotipagem 36 tipos - Flow chip	<b>NEGATIVO</b>
12	90966	HPV Genotipagem 36 tipos - Flow chip	<b>POSITIVO PARA HPV 58 E SONDA UNIVERSAL</b>
13	88789	HPV Genotipagem 36 tipos - Flow chip	<b>NEGATIVO</b>
14	88730	HPV Genotipagem 36 tipos - Flow chip	<b>NEGATIVO</b>
15	90530	HPV Genotipagem 36 tipos - Flow chip	<b>NEGATIVO</b>
16	88567	HPV Genotipagem 36 tipos - Flow chip	<b>NEGATIVO</b>
17	88736	HPV Genotipagem 36 tipos - Flow chip	<b>NEGATIVO</b>
18	89068	HPV Genotipagem 36 tipos - Flow chip	<b>NEGATIVO</b>
19	88732	HPV Genotipagem 36 tipos - Flow chip	<b>NEGATIVO</b>
20	88565	HPV Genotipagem 36 tipos - Flow chip	<b>NEGATIVO</b>
21	90533	HPV Genotipagem 36 tipos - Flow chip	<b>NEGATIVO</b>
22	90532	HPV Genotipagem 36 tipos - Flow chip	<b>POSITIVO PARA HPV 06/ 52</b>
23	88734	HPV Genotipagem 36 tipos - Flow chip	<b>NEGATIVO</b>
24	88564	HPV Genotipagem 36 tipos - Flow chip	<b>POSITIVO PARA HPV 52/81/35/52/56</b>
25	88727	HPV Genotipagem 36 tipos - Flow chip	<b>NEGATIVO</b>
26	90535	HPV Genotipagem 36 tipos - Flow chip	<b>NEGATIVO</b>
27	90534	HPV Genotipagem 36 tipos - Flow chip	<b>POSITIVO PARA SONDA UNIVERSAL</b>
28	89064	HPV Genotipagem 36 tipos - Flow chip	<b>POSITIVO PARA HPV 70/16/18/31/39</b>
29	92430	HPV Genotipagem 36 tipos - Flow chip	<b>NEGATIVO</b>
30	92435	HPV Genotipagem 36 tipos - Flow chip	<b>NEGATIVO</b>
31	92432	HPV Genotipagem 36 tipos - Flow chip	<b>POSITIVO PARA HPV 70 E SONDA UNIVERSAL</b>
32	92471	HPV Genotipagem 36 tipos - Flow chip	<b>POSITIVO PARA HPV 42/44/55/62/81 E SONDA UNIVERSAL</b>
33	92434	HPV Genotipagem 36 tipos - Flow chip	<b>NEGATIVO</b>
34	92468	HPV Genotipagem 36 tipos - Flow chip	<b>NEGATIVO</b>
35	93661	HPV Genotipagem 36 tipos - Flow chip	<b>NEGATIVO</b>
36	94372	HPV Genotipagem 36 tipos - Flow chip	<b>POSITIVO PARA HPV 06/40/18/52/68</b>
37	94740	HPV Genotipagem 36 tipos - Flow chip	<b>NEGATIVO</b>
38	93659	HPV Genotipagem 36 tipos - Flow chip	<b>NEGATIVO</b>
39	93934	HPV Genotipagem 36 tipos - Flow chip	<b>NEGATIVO</b>
40	94164	HPV Genotipagem 36 tipos - Flow chip	<b>POSITIVO PARA HPV 06</b>

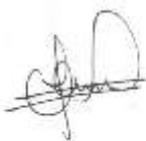
nº	ID	EXAME	RESULTADO
41	94739	HPV Genotipagem 36 tipos - Flow chip	NEGATIVO
42	94163	HPV Genotipagem 36 tipos - Flow chip	POSITIVO PARA HPV 42/54/52/56 E SONDA UNIVERSAL
43	94793	HPV Genotipagem 36 tipos - Flow chip	NEGATIVO
44	93662	HPV Genotipagem 36 tipos - Flow chip	POSITIVO PARA HPV 26 E SONDA UNIVERSAL
45	87058	HPV Genotipagem 36 tipos - Flow chip	NEGATIVO
46	94185	HPV Genotipagem 36 tipos - Flow chip	NEGATIVO
47	88354	HPV Genotipagem 36 tipos - Flow chip	NEGATIVO
48	88353	HPV Genotipagem 36 tipos - Flow chip	POSITIVO PARA HPV 06
49	82512	HPV Genotipagem 36 tipos - Flow chip	NEGATIVO
50	10023	HPV Genotipagem 36 tipos - Flow chip	POSITIVO PARA HPV 62/81/51

### Conclusão da validação:

- O coletor **CellPreserv® (Kolplast)** demonstrou um ótimo desempenho no exame de **Genotipagem HPV 36 tipos virais - Metodologia Flow Chip**, nenhum dos 50 casos testados apresentaram resultados inválidos pelo motivo de PCR inibida.
- Concluímos com essa validação que nenhum componente químico do kit de coleta **CellPreserv® (Kolplast)** interfere na reação de PCR do exame de **Genotipagem HPV 36 tipos virais - Metodologia Flow Chip**.
- É importante, em um próximo momento, uma validação para a confirmação dos resultados obtidos, avaliando a sensibilidade e especificidade, para que o kit **CellPreserv® (Kolplast)** seja aceito para o exame **Genotipagem HPV 36 tipos virais - Metodologia Flow Chip**.

Ficamos à disposição sobre qualquer esclarecimento.

Atenciosamente,



**Fernanda Dahrouge Chiarot**

**CRBM: 10628**