

## Aptima™ Zika Virus Assay

Pour diagnostic *in vitro*.

Réservé à l'exportation américaine uniquement.

<b>Renseignements généraux</b> .....	<b>2</b>
Usage prévu .....	2
Résumé et explication du test .....	2
Principes de la procédure .....	2
Avertissements et précautions .....	3
Conditions de conservation et de manipulation des réactifs .....	5
Prélèvement et conservation des échantillons .....	6
<b>Panther™ System</b> .....	<b>9</b>
Réactifs et matériel fourni .....	9
Matériel requis mais disponible séparément .....	10
Matériel facultatif .....	11
Procédure de test pour le système Panther .....	11
Remarques concernant la procédure .....	17
<b>Contrôle de la qualité</b> .....	<b>18</b>
Critères d'acceptation pour le test Aptima Zika Virus Assay .....	18
Critères d'acceptation pour l'étalonnage et le calcul du seuil .....	18
<b>Interprétation des résultats</b> .....	<b>21</b>
<b>Limites</b> .....	<b>22</b>
<b>Performance</b> .....	<b>23</b>
Sensibilité analytique .....	23
Reproductibilité .....	24
Interférence .....	26
Réactivité croisée .....	28
Évaluation clinique .....	29
<b>Bibliographie</b> .....	<b>32</b>

## **Renseignements généraux**

### **Usage prévu**

Le test Aptima Zika Virus assay (Test Aptima Virus Zika) est un test d'amplification médiée par la transcription (Transcription-Mediated Amplification; TMA) destiné à la détection qualitative de l'ARN du virus Zika dans le sérum, plasma, ou l'urine traitée. Les échantillons sont testés à l'aide du système Panther™, qui permet le traitement, l'amplification et la détection automatiques des échantillons. Les résultats permettent l'identification de l'ARN du virus Zika.

### **Résumé et explication du test**

Le virus Zika (ZIKV) est un virus à ARN, membre de la famille des *Flaviviridae* et du genre *Flavivirus*.<sup>1</sup> Il est transmis à l'homme par les moustiques du genre *Aedes*.<sup>2</sup> ZIKV a été initialement identifié sur un macaque rhésus infecté en 1947 dans la forêt Zika en Ouganda puis par les premiers cas humains signalés en Ouganda et en République-Unie de Tanzanie en 1952.<sup>3</sup> Depuis lors, des épidémies sporadiques de ZIKV ont été documentées dans de nombreuses régions d'Afrique et d'Asie du sud-est. Le premier cas d'épidémie de ZIKV hors d'Asie ou d'Afrique a eu lieu en 2007, lorsqu'une épidémie importante s'est produite sur l'île de Yap dans le Pacifique, dans les États fédérés de Micronésie.<sup>4</sup>

En 2013 et 2014, une importante épidémie de maladie à ZIKV, associée à des complications cliniques, a été signalée en Polynésie française.<sup>5</sup> En mai 2015, les premiers cas dus à des transmissions locales d'infection à ZIKV dans les Amériques ont été confirmés au Brésil.<sup>6,7</sup> En décembre 2016, l'Organisation mondiale de la Santé a indiqué que 75 pays et territoires avaient signalé des preuves de transmission du ZIKV par les moustiques depuis 2007, et que 69 de ces pays les ont déclarés à partir de 2015.<sup>8</sup> ZIKV est généralement associé à des maladies humaines, allant des infections subcliniques aux maladies bénignes de type grippal, mais l'infection à ZIKV a également été associée à des cas graves et parfois mortels de syndrome de Guillain-Barré.<sup>9</sup> Le virus a également été lié à une microcéphalie et à d'autres anomalies congénitales chez les bébés nés de mères infectées.<sup>10</sup> Bien que la principale voie d'infection semble être la piqûre d'un moustique, la transmission sexuelle<sup>11</sup> et des cas de transmission par transfusion<sup>12</sup> de ZIKV ont également été signalés.

### **Principes de la procédure**

Le test Aptima Zika Virus assay cible deux régions hautement conservées dans les régions NS2 et NS4/NS5 pour la tolérance accrue aux mutations potentielles. Le test implique trois étapes principales, qui se déroulent dans un tube unique, sur le système Panther automatisé : préparation de l'échantillon, amplification de la cible ARN de ZIKV par amplification médiée par la transcription (Transcription-Mediated Amplification, TMA),<sup>13</sup> et détection des produits d'amplification (amplicons) par test de protection de l'hybridation (Hybridization Protection Assay, HPA).<sup>14</sup> Le test incorpore un contrôle interne (IC) pour vérifier les étapes de capture de l'acide nucléique, d'amplification et de détection et pour repérer d'éventuelles erreurs de l'opérateur ou de l'appareil.

Durant la préparation de l'échantillon, l'ARN est isolé des échantillons par capture de cible. L'échantillon est traité avec un détergent afin de solubiliser l'enveloppe virale, dénaturer les protéines et libérer l'ARN génomique viral. Des oligonucléotides (« oligonucléotides de capture ») homologues aux régions hautement conservées de ZIKV sont hybridées à la cible ARN de ZIKV, si présente dans l'échantillon testé. La cible ainsi hybridée est ensuite capturée par des microparticules magnétiques et séparée du reste de l'échantillon par l'application d'un champ magnétique. Des étapes de lavage permettent d'éliminer les composants exogènes du tube réactionnel. La séparation magnétique et les lavages sont effectués avec un système de capture de cible.

L'amplification de la cible est réalisée par TMA, une méthode d'amplification de l'acide nucléique médiée par la transcription employant deux enzymes, la transcriptase inverse du virus de la leucémie murine de Moloney (MMLV) et l'ARN polymérase de T7. La transcriptase inverse est utilisée pour générer une copie d'ADN (contenant une séquence promotrice pour l'ARN polymérase de T7) de la séquence d'ARN cible. L'ARN polymérase de T7 produit plusieurs copies de l'amplicon d'ARN à partir de la matrice d'ADN. Le test Aptima Zika Virus assay utilise la méthode TMA pour amplifier les régions de l'ARN du ZIKV.

La détection s'effectue par HPA avec des sondes d'acide nucléique simple brin à marqueurs chimioluminescents qui sont complémentaires de l'amplicon. Les sondes d'acide nucléique marquées s'hybrident spécifiquement à l'amplicon. Le réactif de sélection différencie les sondes hybridées de celles qui ne le sont pas en désactivant le marqueur sur les sondes non hybridées. Pendant l'étape de détection, le signal chimioluminescent produit par la sonde hybridée est mesuré dans un luminomètre et est rapporté en unités relatives de lumière (RLU).

Le contrôle interne est ajouté à chaque échantillon testé et à chaque calibrateur du test par l'intermédiaire du réactif de capture de cible. Le contrôle interne dans le test Aptima Zika Virus assay sert à contrôler les étapes d'extraction, d'amplification et de détection des échantillons. Le signal du contrôle interne est distingué du signal de ZIKV par les cinétiques différentielles d'émission de luminescence de sondes avec des marqueurs différents.<sup>14</sup> L'amplicon spécifique du contrôle interne est détecté à l'aide d'une sonde dont l'émission de lumière est rapide (signal éclair). L'amplicon spécifique du ZIKV est détecté à l'aide de sondes dont les cinétiques d'émission de lumière sont relativement plus longues (signal brillant). Le test à double cinétique (Dual Kinetic Assay, DKA) est une méthode utilisée pour différencier les signaux des marqueurs à signal éclair de ceux à signal brillant.<sup>15</sup>

Les calibrateurs du test Aptima Zika Virus assay sont utilisés pour déterminer le seuil du test et évaluer la validité du test dans chaque amplification. Consultez *Contrôle de la qualité* pour de plus amples détails.

## Avertissements et précautions

- A. Pour diagnostic *in vitro*.
- B. Afin de réduire le risque d'obtention de résultats invalides, lisez attentivement l'ensemble de la notice et le *Manuel de l'opérateur du système Panther* avant d'effectuer ce test.

## Recommandations concernant les laboratoires

- C. Cette procédure ne doit être réalisée que par des membres du personnel dûment formés à l'utilisation du test Aptima Zika Virus assay et à la manipulation de produits potentiellement infectieux. En cas de déversement, désinfectez immédiatement en suivant les procédures appropriées de l'établissement.
- D. N'utilisez que le matériel de laboratoire jetable fourni ou recommandé.
- E. Prenez les précautions de laboratoire habituelles. Ne pas pipeter avec la bouche. Il est interdit de manger, de boire ou de fumer dans les zones de travail signalées. Portez des gants jetables sans poudre, des lunettes de protection et des blouses de laboratoire pour manipuler les échantillons et les réactifs du kit. Lavez-vous bien les mains après avoir manipulé les échantillons et les réactifs du kit.

- F. Les plans de travail, les pipettes et le reste du matériel doivent être régulièrement décontaminés avec une solution d'hypochlorite de sodium de 2,5 % à 3,5 % (0,35 M à 0,5 M).
- G. Jetez tout le matériel ayant été en contact avec des échantillons ou des réactifs selon la réglementation locale, régionale et nationale.<sup>16,17,18,19</sup> Nettoyez et désinfectez soigneusement tous les plans de travail.
- H. Le réactif enzymatique contient de l'azoture de sodium comme conservateur. N'utilisez pas de tubes métalliques pour le transfert des réactifs. En cas d'élimination de solutions contenant de l'azoture de sodium par le réseau de plomberie, veillez à les diluer et à faire couler d'importantes quantités d'eau en même temps. Il est conseillé de respecter ces précautions pour éviter toute accumulation de dépôts dans les canalisations en métal, laquelle pourrait favoriser la création de conditions explosives.

### Recommandations concernant les échantillons

- I. Les échantillons peuvent être infectieux. Appliquez les précautions universelles<sup>16,17,18</sup> lors de la réalisation de ce test. Des méthodes de manipulation et d'élimination appropriées doivent être établies selon la réglementation locale en vigueur.<sup>19</sup> Cette procédure ne doit être réalisée que par des membres du personnel dûment formés à l'utilisation du test Aptima Zika Virus assay et à la manipulation de produits potentiellement infectieux.
- J. Les procédures de prélèvement, de transport, de stockage et de traitement décrites dans cette notice du test sont requises pour l'exécution optimale de ce test. Un prélèvement, un transport ou un stockage inadapté des échantillons peut entraîner des résultats incorrects.
- K. Maintenez des conditions de stockage adéquates pendant le transport des échantillons pour préserver leur intégrité. La stabilité des échantillons dans des conditions de transport autres que celles recommandées n'a pas été évaluée.
- L. Évitez toute contamination croisée lors des étapes de manipulation des échantillons. Veillez particulièrement à éviter toute contamination par la diffusion d'aérosols lors du débouchage ou de l'ouverture des échantillons. Les échantillons peuvent contenir des taux d'organismes très importants. Veillez à éviter tout contact entre les récipients d'échantillons et à ne pas passer au-dessus d'un récipient ouvert en jetant le matériel usagé. Changez de gants en cas de contact avec un échantillon.

### Recommandations concernant les tests

- M. Ne pas utiliser les kits de réactif ou les calibrateurs après la date de péremption.
- N. Ne pas échanger, mélanger ou combiner les réactifs de test de kits portant différents numéros de lot de référence. Les liquides de test peuvent provenir de numéros de lots différents.
- O. Évitez de contaminer les réactifs par des agents microbiologiques ou des nucléases.
- P. Fermez et conservez tous les réactifs de test aux températures indiquées. La performance du test peut être affectée par l'utilisation de réactifs de test mal conservés. Voir *Conditions de conservation et de manipulation des réactifs* et *Procédure de test pour le système Panther* pour plus d'information.

- Q. Ne pas combiner de réactifs de test ou de liquides de test sans consignes spécifiques. Ne pas rajouter de réactif ou de liquide dans les flacons. Le système Panther vérifie le niveau des réactifs.
- R. Certains réactifs de ce kit sont étiquetés avec des symboles de risque et de sécurité et doivent être manipulés en conséquence.

**Remarque:** Pour plus d'informations sur les mentions de danger et de mise en garde pouvant être associées aux réactifs, consultez la bibliothèque de fiches signalétiques au [www.hologicsds.com](http://www.hologicsds.com).

	<p><b>Réactif d'amplification</b>  <b>MISE EN GARDE</b>            H315 - Provoque des irritations cutanées            H319 - Provoque une sévère irritation des yeux</p>
	<p><b>Réactif enzymatique</b>  <b>MISE EN GARDE</b>            H315 - Provoque des irritations cutanées            H319 - Provoque une sévère irritation des yeux            H412 - Nocif pour les organismes aquatiques, entraîne des effets néfastes à long terme</p>
 	<p><b>Réactif de sélection</b>  <i>Acide borique 1 - 5 %</i>  <i>Hydroxyde de sodium &lt; 1 %</i>  <b>MISE EN GARDE</b>            H315 - Provoque des irritations cutanées            H319 - Provoque une sévère irritation des yeux            H371 - Risque présumé d'effets graves pour les organes            H373 - Risque présumé d'effets graves pour les organes à la suite d'expositions répétées ou d'une exposition prolongée            P264 - Se laver les mains soigneusement après manipulation            P280 - Porter des gants/des vêtements/des lunettes/un masque de protection            P305 + P351 + P338 - EN CAS DE CONTACT AVEC LES YEUX : rincer avec précaution à l'eau pendant plusieurs minutes. Enlever les lentilles de contact le cas échéant et continuer à rincer            P337 + P313 - Si l'irritation oculaire persiste : consulter un médecin/chercher une aide médicale            P302 + P352 - CONTACT AVEC LA PEAU : laver avec une quantité abondante d'eau savonneuse            P332 + P313 - En cas d'irritation cutanée : consulter un médecin/chercher une aide médicale            P362 - Enlever les vêtements contaminés et les laver avant réutilisation</p>

## Conditions de conservation et de manipulation des réactifs

- A. Le tableau suivant présente les conditions de conservation et de stabilité pour les réactifs et les calibrateurs.

Réactif	Stockage (non ouvert)	Kit ouvert (reconstitué) <sup>a</sup>	
		Stockage	Stabilité
Réactif d'amplification	-35 °C à -15 °C	2 °C à 8 °C	30 jours <sup>b</sup>
Réactif enzymatique	-35 °C à -15 °C	2 °C à 8 °C	30 jours <sup>b</sup>
Réactif sonde	-35 °C à -15 °C	2 °C à 8 °C	30 jours <sup>b</sup>
Contrôle interne	-35 °C à -15 °C	15 °C à 30 °C	8 heures avant de le mélanger avec le TCR
Réactif de capture de cible (TCR)	2 °C à 8 °C	N/A	N/A
Solution de réactif de capture de cible (wTCR)	N/A	2 °C à 8 °C	30 jours <sup>b</sup>
Réactif de sélection	15 °C à 30 °C	15 °C à 30 °C	30 jours <sup>b</sup>

NCAL (calibrateur négatif)	-35 °C à -15 °C	N/A	Flacon à usage unique Utiliser dans les 8 heures
PCAL (Calibrateur positif)	-35 °C à -15 °C	N/A	Flacon à usage unique Utiliser dans les 8 heures

<sup>a</sup> Les conditions de conservation et de stabilité du kit ouvert sont basées sur des tests validés semblables.

<sup>b</sup> Lorsque des réactifs sont retirés du système Panther, veillez à les remettre immédiatement à leurs températures de conservation appropriées.

- B. Jetez tous les réactifs inutilisés, ceux préalablement préparés, comme la solution de réactif de capture de cible, après 30 jours.
- C. Les réactifs entreposés dans le système Panther sont stables pendant 120 heures (cumulatives). Le système Panther enregistre le nombre de chargements des réactifs.
- D. Si un précipité se forme dans le réactif de capture de cible (TCR) au cours du stockage, voir les instructions sous *Préparation des réactifs d'un nouveau kit*. NE PAS VORTEXER. NE PAS CONGELER LE TCR.
- E. Ne pas recongeler les réactifs de contrôle interne, d'amplification, enzymatique et sonde après la décongélation initiale.
- F. Les calibrateurs sont des flacons à usage unique et doivent être jetés après usage.
- G. Si le précipité se forme dans le réactif de sélection, le réactif sonde, le calibrateur négatif ou le calibrateur positif, voir les instructions sous *Procédure de test pour le système Panther*.
- H. Des changements dans l'apparence physique du réactif fourni peuvent indiquer une instabilité ou la détérioration de ceux-ci. Si des changements de l'apparence physique des réactifs se produisent (p. ex., changements évidents dans la couleur du réactif ou sa turbidité sont indicatifs de contamination microbienne), ils ne doivent pas être utilisés.
- I. Après décongélation des calibrateurs, la solution doit être transparente, c.-à-d., elle ne doit pas être trouble ni contenir de précipités.
-  J. Le réactif sonde est photosensible. Protégez les réactifs de la lumière lors de leur stockage et pendant la préparation avant de les utiliser.

## Prélèvement et conservation des échantillons

Le test Aptima Zika Virus assay peut être utilisé sur échantillons de sérum, plasma et d'urine traitée.

Un échantillon d'urine traitée est de l'urine pure (sans conservateur) ajoutée au milieu de transport d'urine dans un tube de transport d'échantillon d'urine Aptima.

**Remarque:** Manipulez tout échantillon comme s'il contenait des agents potentiellement infectieux. Appliquez les précautions universelles.

**Remarque:** Veillez à éviter toute contamination croisée pendant les étapes de manipulation des échantillons. Par exemple, veillez à ne pas passer au-dessus de tubes ouverts lors de l'élimination de matériel usagé. Des résultats faussement positifs peuvent se produire si la contamination croisée des échantillons n'est pas adéquatement contrôlée au cours de la manipulation et du traitement des échantillons.

**Remarque:** Le volume minimal de sérum ou de plasma pour des tubes de prélèvement primaires est de 1 200 µL et de 700 µL pour les tubes d'aliquote d'échantillon (SAT), pour obtenir un volume de réaction de 500 µL.

A. Instructions de prélèvement :

Référez-vous à la notice du test correspondant au kit de collecte d'échantillons pour toute instruction.

1. Échantillons de plasma et de sérum

Des échantillons de sang total prélevés dans les tubes en verre ou en plastique suivants peuvent être utilisés selon les instructions du fabricant :

- Tubes contenant de l'acide éthylènediaminetétracétique (EDTA) ou des anticoagulants acide citrate dextrose (ACD-A) ou citrate de sodium (NAC)
- Tubes de préparation du plasma (PPT)
- Tubes de sérum
- Tubes de séparation du sérum (SST)

En cas d'utilisation du sérum, laissez le caillot se former avant de poursuivre.

2. Échantillons d'urine

Les échantillons d'urine doivent être prélevés selon les instructions du fabricant.

B. Transport et conservation des échantillons avant le test :

1. Échantillons de plasma et de sérum

Le sérum et le plasma peuvent être conservés pour un total de 13 jours du moment du prélèvement jusqu'au moment du test dans les conditions suivantes :

- Les échantillons de sang total doivent être centrifugés dans les 72 heures suivant le prélèvement.
  - Échantillons doivent être conservés entre 2 °C à 8 °C, à moins qu'ils ne soient congelés. Toutefois, les échantillons peuvent être conservés pendant 72 heures à une température ne dépassant pas 25 °C et jusqu'à 24 heures au cours des 72 heures à des températures allant jusqu'à 30 °C.
- a. Si une conservation plus longue est nécessaire, congelez le plasma et le sérum séparés des cellules et conservez-les à -20 °C ou à -70 °C. Ne pas congeler le sang total.
  - b. Aucun effet négatif sur les performances du test n'a été observé lorsque des échantillons de sérum et de plasma ont été soumis à trois cycles de congélation-décongélation.
  - c. Assurez-vous que les échantillons de sérum et de plasma aient un volume d'échantillon suffisant au-dessus du gel séparateur ou de l'interface de globules rouges.
  - d. Les échantillons qui présentent des précipités visibles ou du matériel fibrineux doivent être clarifiés par centrifugation pendant 10 minutes entre 1 000 et 3 000 g avant le test.

2. Échantillons d'urine
  - a. L'urine doit être transférée dans un tube de transport d'échantillon d'urine Aptima, qui contient du milieu de transport d'urine et bien mélangée dans les 72 heures. Voir la notice du kit de collection appropriée.
  - b. Conservez l'échantillon d'urine traité et mélangé entre 2 °C et 30 °C et testez-le dans les 30 jours qui suivent la collecte. Si une conservation plus longue est nécessaire, congelez l'échantillon d'urine traité à -20 °C ou à -70 °C.
  - c. Aucun effet négatif sur les performances du test n'a été observé lorsque des échantillons d'urine traités ont été soumis à trois cycles de congélation-décongélation.
  - d. Assurez-vous que les échantillons aient un volume suffisant.
  - e. Les échantillons qui présentent des précipités visibles ou du matériel fibrineux doivent être clarifiés par centrifugation pendant 10 minutes entre 1 000 et 3 000 g avant le test.
- C. Conservation des échantillons après le test
  1. Les échantillons qui ont été testés doivent être conservés sur un portoir en position verticale.
  2. Les tubes d'échantillons doivent être recouverts avec une nouvelle barrière de film plastique ou d'aluminium propre.
  3. Si certains des échantillons testés doivent être congelés ou envoyés, placez de nouveaux bouchons sur les tubes d'échantillons. Si les échantillons doivent être envoyés dans un autre établissement pour y être testés, les températures recommandées doivent être maintenues. Avant de déboucher des échantillons qui ont été testés et rebouchés auparavant, les tubes d'échantillon doivent être centrifugés (5 minutes à 500 g) pour faire descendre la totalité du liquide au fond du tube. **Évitez les projections et la contamination croisée.**

**Remarque:** L'expédition des échantillons doit s'effectuer conformément à la réglementation locale, nationale et internationale applicable concernant le transport.

**Panther™ System**

Les réactifs du test Aptima Zika Virus assay sont présentés ci-dessous pour le système Panther. Les symboles d'identification des réactifs sont également indiqués à côté du nom de chaque réactif.

**Réactifs et matériel fourni**

Les kits de calibrateur APTIMA Zika Virus doivent être achetés séparément. Voir le numéro catalogue du kit ci-dessous.

**Aptima Zika Virus Assay Kit**, 1 000 tests (4 x 250 tests) N° de Cat PRD-04232 (3 boîtes de réactifs)

**Aptima Zika Virus Assay Box**

(conserver entre -35 °C et -15 °C dès réception)

Symbole	Composant	Quantité
<b>A</b>	<b>Réactif d'amplification</b> <i>Acides nucléiques non infectieux dans une solution tamponnée.</i>	4 x 26 mL
<b>E</b>	<b>Réactif enzymatique</b> <i>Transcriptase inverse et polymérase d'ARN dans une solution tamponnée HEPES.</i>	4 x 13,4 mL
<b>P</b>	<b>Réactif sonde</b> <i>Sonde chimioluminescente en solution tamponnée de succinate.</i>	4 x 34,7 mL
<b>IC</b>	<b>Réactif contrôle interne</b> <i>Solution tamponnée HEPES tamponnée contenant un détergent et un transcrit ARN.</i>	4 x 2,8 mL
	<b>Fiche des codes à barres du lot de référence</b>	1 fiche

**Aptima Zika Virus Assay Box**

(conserver entre 15 °C et 30 °C dès réception)

Symbole	Composant	Quantité
<b>S</b>	<b>Réactif de sélection</b> <i>Solution tamponnée de borate à 600 mM contenant un surfactant.</i>	4 x 91 mL

**Aptima Zika Virus Assay Box**

(conserver entre 2 °C et 8 °C dès réception)

Symbole	Composant	Quantité
<b>TCR</b>	<b>Réactif de capture de cible</b> <i>Solution saline tamponnée contenant des acides nucléiques non infectieux fixés sur une phase solide.</i>	4 x 161 mL

**Matériel requis mais disponible séparément**

**Remarque:** Les numéros de catalogue du matériel disponible chez Hologic sont indiqués, sauf indication contraire.

<b>Matériel</b>	<b>N° de cat.</b>
Système Panther	—
Le Aptima Assay Fluids Kit (également connu sous le nom de Kit de liquides pour tests Aptima) <i>contient la solution de lavage Aptima, le tampon pour solution de désactivation Aptima et le réactif huileux Aptima</i>	303014 (1 000 tests)
Kit Aptima Auto Detect	303013 (1 000 tests)
Unités multi-tube (Multi-Tube Unit, MTU)	104772-02
Assortiment de sacs pour déchets Panther	902731
Couvre-déchets Panther	504405
Ou, Kit d'analyse pour Panther System <i>contient des MTU, des sacs pour déchets, des couvre-déchets, un dispositif de détection automatique et des liquides pour tests</i>	303096 (5 000 tests)
Embouts, 1 000 µL conducteurs, à détection de liquide	10612513 (Tecan)
Aptima Zika Virus Calibrator Kit <i>NCAL. Calibrateur négatif, solution tamponnée contenant un détergent, 15 x 2,2 mL</i> <i>PCAL. Calibrateur positif, transcrit RNA en solution tamponnée contenant un détergent, 15 x 2,2 mL</i>	PRD-04233
Eau de Javel, solution d'hypochlorite de sodium dosée de 5 % à 7 % (0,7 M à 1,0 M)	—
Gants jetables sans poudre	—
Bouchons de remplacement non perçables	103036A
Bouchons de remplacement pour réactif pour 250 flacons test <i>Réactifs d'amplification et de sonde</i> CL0041 (100 bouchons) <i>Réactif enzymatique</i> 501616 (100 bouchons) <i>TCR et réactifs de sélection</i> CL0040 (100 bouchons)	
Protecteur de paillasse de laboratoire à envers plastifié	—
Chiffons non pelucheux	—
Pipette	—
Embouts	—
Des tubes de prélèvement de sang aux dimensions suivantes peuvent être utilisés : 13 mm x 100 mm 13 mm x 75 mm 16 mm x 100 mm	—
Centrifugeuse	—
Agitateur-mélangeur vortex	—

**Matériel facultatif**

Matériel	N° de cat.
Tubes d'aliquote d'échantillon Aptima (SAT) (100/paquet)	503762
Bouchons pour tubes de transport (100/paquet) <i>bouchons pour tubes SAT</i>	504415
Pipettes de transfert	—
Écouvillons à embout de coton	—
Agitateur de tubes	—
Kit de collecte d'échantillons d'urine Aptima	301040
Ou Tubes de transport d'échantillons d'urine Aptima	105575
SB100™ système d'équilibrage du réactif (SB100-RES)	—
Bain-marie	—

**Procédure de test pour le système Panther**

**Remarque:** Consultez le manuel de l'opérateur du système Panther pour de plus amples informations sur la procédure.

**Remarque:** Voir la fiche d'application du système d'équilibrage de réactif SB100 pour des informations sur la préparation optionnelle de réactif.

**A. Préparation de la zone de travail**

1. Nettoyez les plans de travail sur lesquels les réactifs seront préparés. Essuyez les plans de travail avec une solution d'hypochlorite de sodium de 2,5 % à 3,5 % (0,35 M à 0,5 M). Laissez la solution d'hypochlorite de sodium en contact avec les surfaces pendant au moins 1 minute, puis rincez avec de l'eau désionisée. Ne laissez pas sécher la solution d'hypochlorite de sodium. Couvrez la surface de travail avec des protections de paillasse de laboratoire absorbantes à envers plastifié propres.
2. Nettoyez un plan de travail distinct sur lequel les échantillons seront préparés. Suivez la procédure décrite ci-dessus (étape A.1).
3. Nettoyez toutes les pipettes. Suivez la procédure de nettoyage décrite ci-dessus (étape A.1).

**B. Préparation des réactifs d'un nouveau kit**

**Mise en garde:** Évitez la formation excessive de mousse dans les réactifs. La mousse interfère avec le détecteur de niveau du système Panther.

**Remarque:** Les réactifs sonde sont photosensibles. Protégez les réactifs de la lumière lors de leur stockage et pendant leur utilisation.

**Remarque:** Les réactifs d'amplification, enzymatique et de sonde peuvent être décongelés jusqu'à 24 heures entre 2 °C et 8 °C avant la préparation du réactif.

**Remarque:** Le contrôle interne peut être décongelé jusqu'à 24 heures entre 2 °C à 8 °C ou jusqu'à 8 heures à température ambiante (15 °C à 30 °C) avant la préparation de la wTCR.

**Préparation du réactif de capture de cible (TCR) et des réactifs d'amplification, enzymatique et de sonde**

1. Prélevez un nouvel ensemble de réactifs de la zone de stockage. Vérifiez la correspondance entre le numéro de lot sur les flacons de réactifs et le numéro de lot sur la fiche de codes à barres du lot de référence.
2. Portez les réactifs à température ambiante (15 °C à 30 °C) utilisant l'une des trois options décrites ci-dessous :

*Préparation SB100-RES (Option 1)*

1. **Immédiatement** après leur retrait de la zone de stockage (2 °C à 8 °C), retournez le flacon TCR vigoureusement pour mettre le gel en solution (au moins 10 inversions et jusqu'à ce que le gel ne soit plus déposé sur le fond). NE PAS VORTEXER.
2. Préparez le TCR, les réactifs d'amplification, enzymatique et de sonde à l'aide de l'instrument SB100-RES.
3. Après avoir déchargé les réactifs, notez la date de décongélation des réactifs d'amplification, enzymatique et de sonde dans l'espace prévu sur l'étiquette.

*Préparation au bain-marie (Option 2)*

**Mise en garde:** La température du bain-marie ne doit pas dépasser 30 °C.

**Remarque:** Reportez-vous aux instructions pour la préparation à température ambiante (15 °C à 30 °C) pour préparer le TCR. Ne pas utiliser un bain-marie pour préparer le TCR.

1. Après leur retrait de la zone de stockage (-35 °C à -15 °C ou 2 °C à 8 °C), placez les réactifs d'amplification, enzymatique et de sonde verticalement dans un bain-marie dédié à température ambiante (15 °C à 30 °C). Toutes les 10 minutes au moins, retournez doucement les réactifs pour mélanger parfaitement et examinez-les visuellement pour vous assurer de la dissolution des précipités. Continuez à retourner doucement et examinez-les visuellement jusqu'à ce plus aucun précipité ne soit présent.
2. Veillez à ce que les précipités soient dissous. N'utilisez pas un réactif si gélifié ou en cas de précipité ou de turbidité.
3. Notez la date de décongélation des réactifs d'amplification, enzymatique et de sonde dans l'espace prévu sur l'étiquette.

*Préparation à température ambiante (Option 3)*

**Remarque:** Faire passer le réactif de sonde du stockage entre -35 °C et -15 °C à température ambiante (15 °C à 30 °C) peut prendre jusqu'à 4 heures pour le décongeler complètement ; retournez le tube délicatement toutes les 10 minutes au moins.

1. Pour préparer le TCR, effectuez les opérations suivantes :
  - a. **Immédiatement** après leur retrait de la zone de stockage (2 °C à 8 °C), retournez le flacon TCR vigoureusement pour mettre le gel en solution (au moins 10 inversions et jusqu'à ce que le gel ne soit plus déposé sur le fond). NE PAS VORTEXER.
  - b. Laissez le flacon de TCR à température ambiante (15 °C à 30 °C) pendant au moins 45 minutes. Toutes les 10 minutes au moins, retournez doucement le flacon de TCR (au moins 10 inversions) pour mélanger parfaitement et examinez visuellement pour vous assurer de l'absence de gel.
  - c. Assurez-vous que le gel est dissous et que les particules magnétiques sont bien en suspension avant l'utilisation.

**Remarque:** Si le gel est présent et persiste, n'utilisez pas le flacon. Remettez le flacon de TCR dans la zone de conservation (2 °C à 8 °C) pour une utilisation ultérieure. Récupérer un nouveau flacon de TCR de la zone de stockage (2 °C à 8 °C) et répétez les étapes 1.a à 1.c.

2. Pour préparer les réactifs d'amplification, enzymatique et de sonde, procédez comme suit :
  - a. Après leur retrait de la zone de stockage (-35 °C à -15 °C ou 2 °C à 8 °C), placez les réactifs verticalement à température ambiante (15 °C à 30 °C). Toutes les 10 minutes au moins, retournez doucement les réactifs pour mélanger parfaitement et examinez-les visuellement pour vous assurer de la dissolution des précipités. Continuez à décongeler jusqu'à ce qu'aucun précipité ne soit présent.
3. Veillez à ce que les précipités soient dissous. N'utilisez pas un réactif si gélifié ou en cas de précipité ou de turbidité.
4. Notez la date de décongélation des réactifs d'amplification, enzymatique et de sonde dans l'espace prévu sur l'étiquette.

#### **Préparation du contrôle interne et de la solution de réactif de capture de sonde (wTCR)**

**Remarque:** N'utilisez pas l'instrument SB100-RES pour préparer le contrôle interne.

1. Pour préparer le contrôle interne, procédez comme suit :
  - a. Récupérez un tube de contrôle interne de la zone de stockage (-35 °C à -15 °C ou 2 °C à 8 °C).
  - b. Après leur retrait de la zone de stockage (-35 °C à -15 °C ou 2 °C à 8 °C), laissez le contrôle interne à température ambiante (15 °C à 30 °C) pendant au moins 30 minutes.

**Option:** Le tube de contrôle interne peut être placé dans un bain-marie à température ambiante (15 °C à 30 °C).

- c. Toutes les 10 minutes au moins, retournez doucement le tube de contrôle interne pour mélanger parfaitement et examinez-le visuellement pour contrôler la présence de gel. Assurez-vous que le gel soit dissous avant de l'utiliser.

**Option:** Le tube de contrôle interne peut être placé sur un agitateur pour tubes pour mélanger parfaitement à température ambiante.

**Remarque:** En cas de gélification, le gel doit être dissous avant l'utilisation et dans la période de décongélation de 8 heures à température ambiante (15 °C à 30 °C). Si la gélification persiste, ne l'utilisez pas. Jetez le tube, prenez un nouveau tube de contrôle interne et répétez les étapes 1.a à 1.c.

2. Pour préparer la wTCR, procédez comme suit :
  - a. Lorsque le RCT est prêt à l'emploi, versez tout le contenu du tube de contrôle interne dans le flacon TCR. Bouchez le flacon TCR et retournez-le doucement pour bien mélanger.
  - b. Dans l'espace indiqué sur le flacon TCR, inscrivez la date à laquelle le contrôle interne a été ajouté, la date de péremption de la wTCR (la date à laquelle le contrôle interne a été ajouté plus 30 jours), le numéro de lot du contrôle interne (Lot IC) et les initiales de l'opérateur.
  - c. Gardez le tube de contrôle interne car il est nécessaire de passer au scanner l'étiquette code à barres sur le système de Panther.

**Préparation du réactif de sélection**

**Remarque:** Ne l'utilisez pas tant que le précipité ou la turbidité n'ont pas disparu.

1. Pour préparer le réactif de sélection, procédez comme suit :
  - a. Récupérez un flacon de réactif de sélection de la zone de stockage à la température ambiante (15 °C à 30 °C). Vérifiez la correspondance entre le numéro de lot sur le flacon et le numéro de lot sur la fiche de codes à barres du lot de référence.
  - b. Inversez délicatement le flacon pour bien mélanger et examinez-le visuellement pour vous assurer qu'aucun précipité ou turbidité n'est présent.
  - c. Notez la date à laquelle il a été ouvert (Date d'ouverture) dans l'espace prévu sur l'étiquette.

**Remarque:** Reconstitution du réactif de sélection : Si le réactif de sélection a été conservé par inadvertance entre 2 °C et 8 °C ou si la température du laboratoire tombe en dessous de 15 °C, un précipité peut se former. Si un précipité se forme dans le réactif de sélection durant le stockage, chauffez-le à 60 °C ± 1 °C pendant au maximum 45 minutes et agitez doucement et fréquemment le flacon (toutes les 5 à 10 minutes). Lorsque le précipité est passé en solution, placez le flacon dans un bain-marie à température ambiante (15 °C à 30 °C) et laissez le flacon s'équilibrer pendant au moins 1 heure.

**C. Préparation du calibrateur**

**Remarque:** Évitez la formation excessive de mousse lors du retournement des calibrateurs. La mousse interfère avec le détecteur de niveau du système Panther.

**Remarque:** N'utilisez pas l'instrument SB100-RES pour décongeler les calibrateurs.

1. Après leur retrait de la zone de stockage (-35 °C à -15 °C), laissez les calibrateurs à température ambiante (15 °C à 30 °C) pendant au moins 30 minutes.

**Option:** Les calibrateurs peuvent être placés dans un bain-marie à température ambiante (15 °C à 30 °C) à décongeler.

2. Toutes les 10 minutes au moins, retournez doucement chaque tube pour bien mélanger. Assurez-vous que le contenu des tubes est entièrement décongelé avant de l'utiliser.

**Option:** Les calibrateurs peuvent être placés sur un agitateur pour tubes pour mélanger parfaitement à température ambiante.

3. Si un gel est observé, retournez doucement le tube jusqu'à ce que le gel disparaisse.

**Remarque:** En cas de gélification, le gel doit être dissous avant l'utilisation et dans la période de décongélation de 8 heures à température ambiante (15 °C à 30 °C). Si la gélification persiste, ne l'utilisez pas. Jetez le tube, prenez un nouveau tube de calibrateurs et répétez les étapes C.1 à C.3.

4. Une fois le contenu des tubes décongelé, séchez l'extérieur de chaque tube avec un chiffon jetable propre et sec.
5. Pour éviter les contaminations, ne pas ouvrir les tubes de calibrateur à ce moment.

**D. Préparation des réactifs précédemment reconstitués**

**Préparation du wTCR, des réactifs d'amplification, enzymatique et de sonde**

1. Prenez la bouteille de wTCR et les réactifs préparés précédemment de la zone stockage.
2. Portez les réactifs à température ambiante (15 °C à 30 °C) utilisant l'une des trois options décrites ci-dessous :

*Préparation SB100-RES (Option 1)*

1. **Immédiatement** après leur retrait de la zone de stockage (2 °C à 8 °C), retournez le flacon TCR vigoureusement pour mettre le gel en solution (au moins 10 inversions et jusqu'à ce que le gel ne soit plus déposé sur le fond). NE PAS VORTEXER.
2. Préparez la wTCR, les réactifs d'amplification, enzymatique et de sonde à l'aide de l'instrument SB100-RES.

*Préparation au bain-marie (Option 2)*

**Mise en garde:** La température du bain-marie ne doit pas dépasser 30 °C.

**Remarque:** Reportez-vous aux instructions pour la préparation à température ambiante (15 °C à 30 °C) pour préparer la wTCR. Ne pas utiliser un bain-marie pour préparer la wTCR.

1. Après leur retrait de la zone de stockage (2 °C à 8 °C), placez les réactifs d'amplification, enzymatique et de sonde verticalement dans un bain-marie dédié à température ambiante (15 °C à 30 °C). Toutes les 10 minutes au moins, retournez doucement les réactifs pour mélanger parfaitement et examinez-les visuellement pour vous assurer de la dissolution des précipités. Continuez à décongeler jusqu'à ce que plus aucun précipité ne soit présent.
2. Veillez à ce que les précipités soient dissous. N'utilisez pas un réactif si gélifié ou en cas de précipité ou de turbidité.

*Préparation à température ambiante (Option 3)*

1. Pour préparer la wTCR, procédez comme suit :
  - a. **Immédiatement** après son retrait de la zone de stockage (2 °C à 8 °C), retournez le flacon de wTCR vigoureusement pour mettre le gel en solution (au moins 10 inversions et jusqu'à ce que le gel ne soit plus déposé sur le fond). NE PAS VORTEXER.
  - b. Laissez le flacon de wTCR à température ambiante (15 °C à 30 °C) pendant au moins 45 minutes. Toutes les 10 minutes au moins, retournez doucement le flacon de wTCR (au moins 10 inversions) pour mélanger parfaitement et examinez visuellement pour vous assurer de l'absence de gel.
  - c. Assurez-vous que le gel est dissous et que les particules magnétiques sont bien en suspension avant l'utilisation.

**Remarque:** Si le gel est présent et persiste, n'utilisez pas le flacon. Remettez le flacon de wTCR dans la zone de conservation (2 °C à 8 °C) pour une utilisation ultérieure.

2. Pour préparer les réactifs d'amplification, enzymatique et de sonde, procédez comme suit :
  - a. Après leur retrait de la zone de stockage (2 °C à 8 °C), placez les réactifs verticalement à température ambiante (15 °C à 30 °C). Toutes les 10 minutes au moins, retournez doucement les réactifs pour mélanger parfaitement et examinez-les visuellement pour vous assurer de la dissolution des précipités. Continuez à décongeler jusqu'à ce que plus aucun précipité ne soit présent.

3. Veillez à ce que les précipités soient dissous. N'utilisez pas un réactif si gélifié ou en cas de précipité ou de turbidité.

#### **Préparation du réactif de sélection**

**Remarque:** Ne l'utilisez pas tant que le précipité ou la turbidité n'ont pas disparu.

1. Prenez le flacon correspondant de réactif de sélection de la zone de stockage à la température ambiante (15 °C à 30 °C).
2. Inversez délicatement le flacon pour bien mélanger et examinez-le visuellement pour vous assurer qu'aucun précipité ou turbidité n'est présent.

**Remarque:** Reconstitution du réactif de sélection : Si le réactif de sélection a été conservé par inadvertance entre 2 °C et 8 °C ou si la température du laboratoire tombe en dessous de 15 °C, un précipité peut se former. Si un précipité se forme dans le réactif de sélection durant le stockage, chauffez-le à 60 °C ± 1 °C pendant au maximum 45 minutes et agitez doucement et fréquemment le flacon (toutes les 5 à 10 minutes). Lorsque le précipité est passé en solution, placez le flacon dans un bain-marie à température ambiante (15 °C à 30 °C) et laissez le flacon s'équilibrer pendant au moins 1 heure.

#### E. Manipulation des échantillons

1. Laissez tous les échantillons atteindre entre 15 °C et 30 °C avant de procéder.
2. Assurez-vous que chaque tube d'échantillon contienne un volume suffisant pour chaque type d'échantillon et type de tube.
3. Bien mélanger les échantillons frais ou décongelés.
4. Juste avant de charger les échantillons dans un portoir d'échantillons, centrifugez chaque échantillon pendant 10 minutes entre 1 000 et 3 000 g. Ne pas enlever les bouchons. La présence de bulles dans le tube empêche la détection du niveau par le système Panther. Le temps et la vitesse de centrifugation nécessaires pour faire descendre tous les liquides et les précipités doivent être validés par l'utilisateur. Si le précipité ne se remet pas en solution, vérifiez visuellement qu'il n'interfère pas avec l'obtention de l'échantillon.

Voir *Préparation du système*, étape F.2 ci-dessous pour de l'information sur le chargement du portoir et le retrait des bouchons.

#### F. Préparation du système

1. Configurez le système selon les instructions du *Manuel de l'opérateur du système Panther* et de la section *Remarques concernant la procédure*. Assurez-vous que des portoirs de réactifs et des adaptateurs TCR de taille appropriée sont utilisés.
2. Chargez les échantillons dans le portoir d'échantillons. Effectuez les étapes suivantes pour chaque tube d'échantillon (échantillon et, le cas échéant, calibrateur) :
  - a. Desserrez le bouchon de l'un des tubes d'échantillon, sans l'enlever.

**Remarque:** Veillez particulièrement à éviter toute contamination par la diffusion d'aérosols. Desserrez délicatement les bouchons des échantillons.
  - b. Chargez le tube d'échantillon dans le portoir d'échantillons.
  - c. Répétez les étapes 2.a et 2.b pour chaque échantillon restant.
  - d. Une fois les échantillons chargés dans le portoir d'échantillons, enlevez et jetez le bouchon de chaque tube d'échantillon dans l'un des portoirs d'échantillons. Pour

éviter toute contamination, ne passez pas les bouchons au-dessus d'autres portoirs d'échantillons ou tubes d'échantillons.

**Remarque:** Les bouchons perforables des tubes de transport d'échantillon d'urine Aptima doivent également être enlevés et jetés.

- e. Au besoin, utilisez une pipette de transfert jetable neuve pour éliminer les bulles ou la mousse.
- f. Une fois le dernier bouchon retiré, chargez le portoir d'échantillons dans un compartiment à échantillons.

**Remarque:** Si d'autres tests et types d'échantillons sont analysés en même temps, fixez le dispositif de rétention des échantillons avant de charger le portoir d'échantillons dans un compartiment à échantillons.

- g. Répétez les étapes 2.a à 2.f pour le portoir d'échantillons suivant.

## Remarques concernant la procédure

### A. Calibrateurs

1. Les tubes de calibrateur peuvent être chargés sur n'importe quelle position d'un portoir échantillons et dans n'importe quel compartiment des échantillons sur le système Panther. Le pipetage des échantillons commence lorsque l'une des deux conditions suivantes est satisfaite :
  - a. Le calibrateur est en cours de traitement par le système.
  - b. Des résultats valides pour le calibrateur sont enregistrés dans le système.
2. Une fois les tubes de calibrateur ont été pipetés et sont en cours de traitement avec le kit de réactifs Aptima Zika Virus assay, alors des échantillons peuvent être testés pendant jusqu'à 24 heures avec le kit reconstitué associé, **à moins que** :
  - a. Les résultats du calibrateur soient invalides.
  - b. Le kit de réactifs de test correspondant soit retiré du système.
  - c. Le kit de réactifs de test ait dépassé les limites de stabilité.
3. Chaque tube de calibrateur peut être utilisé une fois. Les tentatives d'utiliser le tube plus d'une fois peuvent entraîner des erreurs de traitement.

### B. Gants poudrés

Comme avec tout système de réactif, l'excès de poudre sur certains gants peut entraîner la contamination des tubes ouverts. Il est recommandé d'utiliser des gants sans poudre.

## Contrôle de la qualité

### Critères d'acceptation pour le test Aptima Zika Virus Assay

#### A. Validité d'une série

Une série (également identifiée comme une liste de travail) est valide si le nombre minimum de calibrateurs correspondent à leurs critères d'acceptation et sont valides (voir *Critères d'acceptation pour l'étalonnage et le calcul du seuil*).

1. Dans une série du test Aptima Zika Virus assay, au moins quatre des six réplicats de calibrateur doivent être valides. Au moins deux des trois réplicats de calibrateur négatif et deux des trois réplicats de calibrateur positif doivent être valides.
2. Le logiciel du Panther System vérifie automatiquement les critères d'acceptation du calibrateur. Si un nombre inférieur au nombre minimum de réplicats du calibrateur sont valides, alors la série est invalidée automatiquement par le logiciel du Panther System.
3. Dans une série valide, les valeurs seuil seront automatiquement calculées pour le contrôle interne (signal éclair) et l'analyte (signal brillant).
4. Si une série n'est pas valide, les résultats de l'échantillon sont rapportés comme non valides et tous les échantillons doivent être retestés.

#### B. Validité de l'échantillon

1. Si une série est valide, le résultat de l'échantillon est valide si le signal du IC est égal ou supérieur au seuil du IC, avec les exceptions suivantes :
  - a. Les échantillons avec un signal d'analyte (signal éclair) supérieur au seuil d'analyte ne sont pas invalidés même si le signal du contrôle interne (IC) est en dessous du seuil.
  - b. Les échantillons avec un signal de IC supérieur à 750 000 RLU sont invalidés par le logiciel et leur statut réactif ne peut pas être évalué. Le logiciel invalide également automatiquement des calibrateurs positifs avec un signal du IC supérieur à 750 000 RLU.
2. Un échantillon peut aussi être invalidé en raison d'erreurs de l'instrument ou de traitement des résultats. Consultez le *Panther System Operator's Manual* (Manuel de l'opérateur du Panther System) pour plus de détails.
3. Tous les résultats des échantillons individuels qui sont non valides dans une série valide doivent être retestés.

### Critères d'acceptation pour l'étalonnage et le calcul du seuil

#### A. Critères d'acceptation du calibrateur négatif

Le calibrateur négatif (NC) est analysé en trois réplicats dans le test Aptima Zika Virus assay. Chaque réplicat du calibrateur négatif doit avoir une valeur du contrôle interne (IC) supérieure ou égale à 50 000 RLU et inférieure ou égale à 500 000 RLU. Chaque réplicat du calibrateur négatif doit avoir une valeur de l'analyte inférieure ou égale à 40 000 RLU et supérieure ou égale à 0 RLU. Si l'une des valeurs du réplicat du calibrateur négatif est invalide en raison d'une valeur du IC ou d'une valeur de l'analyte en dehors de ces limites, la moyenne du calibrateur négatif ( $NC_x$ ) sera recalculée sur la base des deux valeurs acceptables. La série est invalide et doit être répétée si deux ou plus des trois valeurs du réplicat du calibrateur négatif ont des valeurs du IC ou de l'analyte en dehors de ces limites.

Détermination de la moyenne des valeurs du calibrateur négatif (NC<sub>x</sub>) pour le contrôle interne [NC<sub>x</sub> (contrôle interne)]

Exemple :

Calibrateur négatif	Contrôle interne Unités relatives de lumière (Relative Light Units)
1	235 000
2	200 000
3	210 000
RLU totales du contrôle interne	= 645 000

$$NC_x (\text{Contrôle interne}) = \frac{\text{RLU totales du contrôle interne}}{3} = 215\,000$$

Détermination de la moyenne des valeurs du calibrateur négatif (NC<sub>x</sub>) pour l'analyte [NC<sub>x</sub> (analyte)]

Exemple :

Calibrateur négatif	Analyte Unités relatives de lumière (Relative Light Units)
1	14 000
2	16 000
3	15 000
RLU totales de l'analyte	= 45 000

$$NC_x (\text{Analyte}) = \frac{\text{RLU totales de l'analyte}}{3} = 15\,000$$

## B. Critères d'acceptation du calibrateur positif

Le calibrateur positif est analysé en trois réplicats dans le test Aptima Zika Virus assay. Chaque réplicat du calibrateur positif (PC) doit avoir une valeur de l'analyte inférieure ou égale à 4 000 000 RLU et supérieure ou égale à 400 000 RLU. Les valeurs de l'IC ne doivent dépasser 750 000 RLU. Si l'une des valeurs du réplicat du calibrateur positif est en dehors de ces limites, la moyenne du calibrateur positif (PC<sub>x</sub>) sera recalculée sur la base des deux valeurs acceptables du calibrateur positif. La série est invalide et doit être répétée si deux ou plus des trois valeurs du réplicat du calibrateur positif ont des valeurs de l'analyte en dehors de ces limites.

Détermination de la moyenne des valeurs du calibrateur positif (NC<sub>x</sub>) pour l'analyte [PC<sub>x</sub> (analyte)]

Exemple :

Calibrateur positif	Analyte Unités relatives de lumière (Relative Light Units)
1	1 250 000
2	1 500 000
3	1 150 000
RLU totales de l'analyte	= 3 900 000

$$PC_x (\text{Analyte}) = \frac{\text{RLU totales de l'analyte}}{3} = 1\,300\,000$$

C. Calcul de la valeur seuil du contrôle interne

$$\text{Valeur seuil du contrôle interne} = 0,5 \times [\text{NC}_x \text{ (contrôle interne)}]$$

À l'aide des valeurs indiquées dans l'exemple du calibrateur négatif ci-dessus :

$$\text{Valeur seuil du contrôle interne} = 0,5 \times (215\ 000)$$

$$\text{Valeur seuil du contrôle interne} = 107\ 500 \text{ RLU}$$

D. Calcul de la valeur seuil d'analyte Virus Zika

$$\text{Valeur seuil d'analyte} = \text{NC}_x \text{ (Analyte)} + [0,03 \times \text{PC}_x \text{ (Analyte)}]$$

À l'aide des valeurs indiquées dans les exemples du calibrateur négatif et du calibrateur positif ci-dessus :

$$\text{Valeur seuil d'analyte} = 15\ 000 + (0,03 \times 1\ 300\ 000)$$

$$\text{Valeur seuil d'analyte} = 54\ 000 \text{ RLU}$$

E. Résumé des critères d'acceptation pour le test Aptima Zika Virus Assay

<b>Critères d'acceptation</b>	
<b>Calibrateur négatif</b>	
Analyte	$\geq 0$ et $\leq 40\ 000$ RLU
Contrôle interne	$\geq 50\ 000$ et $\leq 500\ 000$ RLU
<b>Calibrateur positif</b>	
Analyte	$\geq 400\ 000$ et $\leq 4\ 000\ 000$ RLU
Contrôle interne	$\leq 750\ 000$ RLU

F. Résumé des calculs des seuils pour le test Aptima Zika Virus Assay

$$\begin{aligned} \text{Seuil d'analyte} &= \text{RLU moyenne NC analyte} + [0,03 \times (\text{RLU moyenne PC analyte})] \\ \text{Seuil du contrôle interne} &= 0,5 \times (\text{RLU moyenne IC calibrateur négatif}) \end{aligned}$$

## Interprétation des résultats

Tous les calculs décrits ci-dessus sont effectués par le logiciel du Panther System. Deux seuils sont déterminés pour chaque test : un pour le signal de l'analyte (signal brillant) appelé seuil d'analyte et un pour le signal du contrôle interne (signal éclair) appelé seuil du contrôle interne. Le calcul de ces seuils est indiqué ci-dessus. Pour chaque échantillon, une valeur en RLU du signal de l'analyte et une valeur en RLU du signal du contrôle interne sont déterminées. RLU du signal de l'analyte divisées par le seuil d'analyte est abrégé comme Signal/Seuil (S/CO) de l'analyte sur le rapport.

Un échantillon est négatif si le signal de l'analyte est inférieur au seuil d'analyte (c.-à-d. S/CO de l'analyte < 1,00) et si le signal du contrôle interne (IC) est supérieur ou égale au seuil du contrôle interne (seuil IC) et inférieur ou égal à 750 000 RLU. Un échantillon est positif si le signal de l'analyte est supérieur au seuil d'analyte (c.-à-d. S/CO de l'analyte ≥ 1,00) et si le signal du contrôle interne (IC) est inférieur ou égal à 750 000 RLU. Les résultats seront indiqués par le logiciel. Un échantillon est invalide si le signal de l'analyte est inférieur au seuil d'analyte (c.-à-d. S/CO de l'analyte < 1,00) et si le signal du contrôle interne est inférieur au seuil du contrôle interne. Tout échantillon dont les valeurs du contrôle interne sont supérieures à 750 000 RLU est considéré comme invalide.

### Résumé de l'interprétation de l'échantillon

Interprétation des échantillons	Critères
Négatif	S/CO d'analyte < 1,00 et IC ≥ Seuil IC et IC ≤ 750 000 RLU
Positif	S/CO d'analyte ≥ 1,00 et IC ≤ 750 000 RLU*
Invalide	IC > 750 000 RLU ou S/CO d'analyte < 1,00 et IC < seuil

\*Pour les échantillons dont le signal IC est supérieur à 750 000 RLU, l'échantillon sera invalidé par le logiciel.

- A. Tout échantillon avec une interprétation invalide dans le test Aptima Zika Virus assay doit être retesté en singulet.
- B. Les échantillons avec une valeur de contrôle interne valide et avec un S/CO d'analyte inférieur à 1,00 dans le test Aptima Zika Virus assay sont considérés comme négatifs pour l'ARN de ZIKV.
- C. Les échantillons avec un S/CO d'analyte supérieur ou égal à 1,00 avec un signal de IC inférieur ou égal à 750 000 RLU sont considérés positifs pour l'ARN de ZIKV.

**Limites**

- A. L'utilisation de ce test est limitée au personnel ayant été formé à la procédure. Le non-respect des instructions figurant dans cette notice peut donner lieu à des résultats erronés.
- B. L'obtention de résultats fiables repose sur le prélèvement, le transport, le stockage et le traitement appropriés des échantillons.
- C. L'effet du stockage à long terme des échantillons sur la performance du test Aptima Zika Virus assay n'a pas été totalement évalué.
- D. Bien que rares, des mutations au sein des régions hautement conservées du génome viral couvertes par les amorces et/ou les sondes du test Aptima Zika Virus assay peuvent aboutir à une absence de détection du virus.
- E. Ce test a été développé pour une utilisation avec le système Panther seulement.
- F. Une contamination croisée des échantillons peut provoquer des résultats faussement positifs.
- G. Les tests doivent être effectués, et les résultats interprétés, selon les procédures prévues.
- H. Des écarts par rapport à ces procédures, des conditions défavorables d'expédition et/ou de stockage ou l'utilisation de réactifs périmés peuvent produire des résultats non fiables.
- I. L'incapacité d'obtenir les résultats escomptés est une indication d'une série invalide. Les sources d'erreurs possibles incluent une détérioration du kit de test, une erreur de l'opérateur, un mauvais fonctionnement de l'équipement, une dégradation de l'échantillon ou une contamination des réactifs.
- J. Ce test a été testé uniquement sur les types d'échantillons indiqués. La performance avec d'autres échantillons n'a pas été évaluée.
- K. Les résultats du test Aptima Zika Virus assay doivent être interprétés en conjonction avec les autres données de laboratoire et cliniques dont dispose le clinicien.
- L. Un résultat négatif n'exclut pas une éventuelle infection étant donné que les résultats dépendent de la qualité du recueil de l'échantillon. Les résultats des tests peuvent être affectés par un recueil impropre des échantillons, une mauvaise conservation des échantillons, une erreur technique, une confusion entre échantillons, ou des niveaux de la cible inférieurs à la limite de détection du test.
- M. Le test Aptima Zika Virus assay fournit des résultats qualitatifs. Il n'est donc pas possible d'établir une corrélation entre la magnitude d'un signal de test positif et le nombre d'organismes dans un échantillon.
- N. Les clients doivent valider indépendamment un processus de transfert LIS.

## Performance

### Sensibilité analytique

#### Limite de détection (LoD) pour les échantillons de plasma

La limite de détection (LoD) est définie comme la concentration d'ARN du ZIKV dont la probabilité de détection est égale ou supérieure à 95 % selon la norme CLSI EP17-A2.<sup>20</sup> La LoD a été déterminée en analysant un échantillon de plasma séropositifs pour ZIKV dilués en série dans un plasma humain défibriné et délipidé. L'échantillon positif de plasma a été recueilli d'un donneur de sang lors de l'épidémie de Zika en 2015 au Brésil. Deux lots de réactifs et trois instruments Panther furent utilisés pour tester les 72 répliqués de chaque niveau de copie par lot de réactifs pour un total de 144 répliqués par niveau, à l'exception du membre du panel avec 90 copies/mL, qui a été testé en 20 répliqués par lot de réactifs pour un total de 40 répliqués. Les résultats sont résumés dans le Tableau 1.

Tableau 1: Détection de ZIKV dans le plasma

Concentration (copies/mL)	% Positivité (CI à 95 %)		
	Lot 1 (n=72)	Lot 2 (n=72)	Combinés (n=144)
90	100 (84 - 100) <sup>a</sup>	100 (84 - 100) <sup>a</sup>	100 (91 - 100) <sup>b</sup>
30	100 (95 - 100)	100 (95 - 100)	100 (97 - 100)
10	100 (95 - 100)	100 (95 - 100)	100 (97 - 100)
3	86 (76 - 92)	92 (83 - 96)	89 (83 - 93)
1	38 (28 - 50)	60 (48 - 71)	49 (41 - 57)
0,3	19 (12 - 30)	14 (8 - 24)	17 (12 - 24)
0,1	1 (0 - 7)	6 (2 - 14)	3 (1 - 7)
0	0 (0 - 5)	0 (0 - 5)	0 (0 - 3)

CI = Intervalle de Confiance.

<sup>a</sup>n=20.

<sup>b</sup>n=40.

Les probabilités de détection à 50 % et à 95 % de ZIKV dans le plasma ont été déterminées par analyse Probit en utilisant les données obtenues dans les tests de sensibilité analytique. La limite de détection de ZIKV dans le test Aptima Zika Virus assay variait de 0,91 copies/mL à 1,22 copies/mL à la probabilité de détection de 50 %, et de 3,30 copies/mL à 4,41 copies/mL à la probabilité de détection de 95 % (Tableau 2).

Tableau 2: Analyse probit de détection de ZIKV dans le plasma

Lot de réactifs	Limite de détection de 50% (limites fiducielles à 95 %)	Limite de détection de 95% (limites fiducielles à 95 %)
Lot 1	1,22 (1,01 - 1,47)	4,41 (3,46 - 6,14)
Lot 2	0,91 (0,74 - 1,09)	3,30 (2,63 - 4,44)
Combinés	1,06 (0,92 - 1,20)	3,87 (3,25 - 4,78)

### Limite de détection pour les échantillons d'urine

La LoD a été déterminée en analysant un échantillon de plasma séropositifs pour ZIKV dilué en série dans un pool d'urines négatives. Les membres du panel pour la sensibilité sur urine ont été préparés en inoculant un échantillon de plasma positif au ZIKV dans l'urine à la concentration indiquée avant le mélanger avec l'UTM à un ratio de 1:1 (urine traitée). Deux lots de réactifs et trois instruments Panther ont été utilisés pour tester de 30 réplicats de chaque niveau de copie par lot de réactif pour un total de 60 réplicats par niveau. Les résultats sont résumés dans le Tableau 3.

Tableau 3: Détection de ZIKV dans l'urine

Concentration <sup>a</sup> (copies/mL)	% Positivité (CI à 95 %)		
	Lot 1 (n=30)	Lot 2 (n=30)	Combinés (n=60)
90	100 (89 - 100)	100 (89 - 100)	100 (94 - 100)
30	100 (89 - 100)	100 (89 - 100)	100 (94 - 100)
10	97 (84 - 100)	83 (66 - 92)	90 (80 - 95)
3	63 (45 - 78)	43 (27 - 60)	53 (41 - 65)
1	27 (14 - 45)	30 (17 - 48)	28 (18 - 40)
0,3	7 (2 - 22)	3 (0 - 16)	5 (2 - 14)
0,1	0 (0 - 11)	0 (0 - 11)	0 (0 - 6)
0	0 (0 - 11)	0 (0 - 11)	0 (0 - 6)

CI = Intervalle de Confiance.

<sup>a</sup> Concentration dans l'urine avant d'être traitée.

Les probabilités de détection à 50 % et à 95 % de ZIKV dans l'urine ont été déterminées par analyse Probit en utilisant les données obtenues dans les tests de sensibilité analytique. La limite de détection de ZIKV dans le test Aptima Zika Virus assay variait de 2,26 copies/mL à 3,42 copies/mL à la probabilité de détection de 50 %, et de 8,25 copies/mL à 15,63 copies/mL à la probabilité de détection de 95 % (Tableau 4).

Tableau 4: Analyse probit de détection de ZIKV dans l'urine<sup>a</sup>

Lot de réactifs	Limite de détection de 50% (limites fiducielles à 95 %)	Limite de détection de 95% (limites fiducielles à 95 %)
Lot 1	2,26 (1,67 - 3,00)	8,25 (5,89 - 13,53)
Lot 2	3,42 (2,42 - 4,64)	15,63 (10,70 - 27,30)
Combinés	2,81 (2,23 - 3,47)	11,99 (9,17 - 17,04)

<sup>a</sup> Concentration dans l'urine avant d'être traitée.

## Reproductibilité

### Reproductibilité pour les échantillons de sang

La reproductibilité du test Aptima Zika Virus assay sur le Panther System a été évaluée en testant un panel ZIKV composé des membres du panel positif à 100 copies/mL et 30 copies/mL et d'un membre du panel négatif préparé à partir de plasma négatif (Tableau 5). Les membres du panel positif ont été créés en inoculant un échantillon de plasma positif pour ZIKV dans un plasma négatif. Le panel a été testé par trois opérateurs à l'aide de trois lots de réactifs sur trois systèmes Panther sur plusieurs jours. Au total, 27 séries valides ont été générées avec le test Aptima Zika Virus assay. Chaque membre du panel a été testé en 486 réplicats au total. Le taux d'invalidité global était de 0% (0/1 458).

Les analyses de reproductibilité incluaient l'évaluation du pourcentage de concordance et les rapports moyens signal sur seuil (S/CO) pour les membres du panel et l'évaluation de l'écart-type (SD) et coefficient de variation (%CV) en pourcentage des rapports S/CO pour chacun des cinq facteurs de variance (Tableau 5). Les ratios S/CO moyens d'analyte ont été analysés pour les membres du panel positif, et les rapports moyens S/CO du contrôle interne ont été analysés pour le membre du panel négatif. Le pourcentage de concordance entre les résultats de test et le statut réel de chaque membre du panel a été calculé en utilisant le S/CO de l'analyte pour tous les membres du panel.

Le pourcentage de concordance global des résultats du test était de 100 % pour les membres du panel positif et de 100 % pour le membre du panel négatif. Il n'y avait aucune corrélation entre le taux de réactivité et les facteurs de variance testés dans cette étude. En ce qui concerne la variabilité du signal, au sein d'une série, elle représentait le plus grand contributeur à la variance totale (telle que mesurée par les valeurs de SD) dans le test Aptima Zika Virus assay.

Tableau 5: *Reproductibilité du test Aptima Zika Virus Assay pour les échantillons de sang*

Membre du panel	N	#P	% A	S/CO moyen <sup>a</sup>	Entre les lots		Entre les instruments		Entre les opérateurs		Entre les jours		Intra-série		Total	
					SD	% CV	SD	% CV	SD	% CV	SD	% CV	SD	% CV	SD	% CV
Élevée (100 copies/mL)	486	486	100	33,22	0,02	0 %	0,34	1 %	0,17	1 %	0,12	0 %	1,33	4 %	1,38	4 %
Faible (30 copies/mL)	486	486	100	33,35	0,17	1 %	0,27	1 %	0,08	0 %	0,08	0 %	1,27	4 %	1,31	4 %
Négatif	486	0	100	1,94	0,02	1 %	0,01	1 %	0,01	0 %	0,00	0 %	0,05	2 %	0,05	3 %

N = nombre de membres du panel combinés pour cette analyse ; #P = nombre de positifs ; %A = pourcentage de concordance ; S/CO = Rapport signal sur seuil dans les réplicats réactifs seulement ; SD = écart type ; CV = coefficient de variation.

<sup>a</sup> Ratios S/CO moyens d'analyte pour les membres du panel positif (haut et bas) ; ratios moyens S/CO pour le membre du panel négatif.

## Reproductibilité pour les échantillons d'urine

La reproductibilité du test Aptima Zika Virus assay sur le Panther System a été évaluée en testant un panel ZIKV composé des membres du panel positif à 100 copies/mL et 30 copies/mL et d'un membre du panel négatif préparé à partir d'un pool d'urines négatives (Tableau 6). Les membres du panel positif ont été préparés en inoculant un échantillon de plasma positif pour ZIKV dans un pool d'urines négatives à la concentration indiquée. Tous les membres du panel ont été mélangés avec l'UTM au rapport 1:1 pour créer des panels de reproductibilité de l'urine traitée. Le panel a été testé par trois opérateurs à l'aide de trois lots de réactifs sur trois systèmes Panther sur plusieurs jours. Au total, 27 séries valides ont été générées avec le test Aptima Zika Virus assay. Chaque membre du panel a été testé en 486 réplicats au total. Le taux d'invalidité global était de 0% (0/1 458).

Les analyses de reproductibilité incluaient l'évaluation du pourcentage de concordance et les rapports moyens signal sur seuil (S/CO) pour les membres du panel et l'évaluation de l'écart-type (SD) et coefficient de variation (%CV) en pourcentage des rapports S/CO pour chacun des cinq facteurs de variance (Tableau 6). Les ratios S/CO moyens d'analyte ont été analysés pour les membres du panel positif, et les rapports moyens S/CO du contrôle interne ont été analysés pour le membre du panel négatif. Le pourcentage de concordance entre les résultats de test et le statut réel de chaque membre du panel a été calculé en utilisant le S/CO de l'analyte pour tous les membres du panel.

Le pourcentage de concordance globale des résultats du test était de 100 % pour les membres du panel positif haut, 96,5 % pour les membres du panel positif bas et de 100 %

pour le membre du panel négatif. Il n'y avait aucune corrélation entre le taux de réactivité et les facteurs de variance testés dans cette étude. En ce qui concerne la variabilité du signal, au sein d'une série, elle représentait le plus grand contributeur à la variance totale (telle que mesurée par les valeurs de SD) dans le test Aptima Zika Virus assay.

Tableau 6: Reproductibilité du test Aptima Zika Virus Assay pour les échantillons d'urine

Membre du panel <sup>a</sup>	N	#P	% A	S/CO moyen <sup>b</sup>	Entre les lots		Entre les instruments		Entre les opérateurs		Entre les jours		Intra-série		Total	
					SD	%CV	SD	%CV	SD	%CV	SD	%CV	SD	%CV	SD	%CV
Élevée (100 copies/mL)	486	486	100	34,36	0,09	0 %	0,25	1 %	0,08	0 %	0,07	0 %	1,31	4 %	1,34	4 %
Faible (30 copies/mL)	486	469	96,5	32,02	1,01	3 %	0,30	1 %	0,46	1 %	1,46	5 %	5,21	16 %	5,53	17 %
Négatif	486	0	100	1,99	0,02	1 %	0,01	1 %	0,02	1 %	0,01	0 %	0,04	2 %	0,05	2 %

N = nombre de membres du panel combinés pour cette analyse ; #P = nombre de positifs ; %A = pourcentage de concordance ; S/CO = Rapport signal sur seuil dans les réplicats réactifs seulement ; SD = écart type ; CV = coefficient de variation.

<sup>a</sup> Concentration dans l'urine avant d'être traitée.

<sup>b</sup> Ratios S/CO moyens d'analyte pour les membres du panel positif (haut et bas) ; ratios moyens S/CO pour le membre du panel négatif.

## Interférence

### Substances interférentes pour les échantillons de sang

Le potentiel d'interférence des substances endogènes a été évalué en testant des échantillons provenant de patients atteints de maladies auto-immunes et d'autres maladies. Dix échantillons de plasma provenant de chaque groupe de patients ayant des maladies auto-immunes et d'autres maladies ont été évalués : ictérique, lipémique, hémolysé, anticorps antinucléaires, myélome multiple, lupus érythémateux systémique et facteur rhumatoïde. Chaque échantillon a été divisé en deux aliquotes. Une aliquote a été inoculée avec du plasma positif pour ZIKV à une concentration de 18 copies/mL. Les aliquotes inoculées et non-inoculées ont été testées avec le test Aptima Zika Virus assay. Tous les échantillons non-inoculés étaient négatifs. Tous les échantillons inoculés étaient positifs, à l'exception d'une aliquote inoculée provenant d'un patient atteint de lupus érythémateux systémique. Une aliquote fraîche de l'échantillon a été inoculée et retestée. Le résultat était positif lors du nouveau test.

Le potentiel d'interférence de substances endogènes a également été évalué en testant des plasmas inoculés avec les substances suivantes : l'albumine (60 000 mg/L), hémoglobine (2 000 mg/L), bilirubine (200 mg/L) et lipides (30 000 mg/L). Aucune interférence n'a été observée lors de l'évaluation de la spécificité et la sensibilité.

Pour évaluer l'interférence des anticoagulants et des dispositifs de collecte, les performances d'échantillons de sérum et de plasma dans le test Aptima Zika Virus assay ont été comparées. Du sang de 10 donneurs sains a été recueilli en utilisant les anticoagulants et les types de tubes suivants : 1) acide éthylène-diamine-tétraacétique dipotassique (EDTA K2), 2) acide éthylène-diamine-tétraacétique tripotassique (EDTA K3), 3) acide citrique-citrate-dextrose, formule A (ACD-A), 4) citrate de sodium (NAC), 5) Tubes de préparation de plasma (PPT), 6) Tube de séparation de sérum (SST), et 7) Tube de sérum (Sérum). Pour chacun des 10 donneurs, le sang a été recueilli en utilisant chacun des sept types de tubes. Chaque échantillon de donneur a été divisé en deux aliquotes. Une aliquote a été inoculée avec du plasma positif pour ZIKV à 18 copies/mL. Les aliquotes inoculées et non-inoculées ont été testées avec le test Aptima Zika Virus assay.

Pour les aliquotes non-inoculées, les 70 échantillons étaient négatifs dans le test Aptima Zika Virus assay. Les ratios moyens S/CO du IC variaient de 1,83 à 1,90 avec un %CV allant de 2 % à 3 % pour chaque type de tube (Tableau 7). Pour les aliquotes inoculées, les 70 échantillons étaient positifs dans le test Aptima Zika Virus assay. Les ratios moyens S/CO de l'analyte pour chacun des sept types de tubes variaient de 31,90 à 34,20 avec un %CV allant de 3 % à 4 % (Tableau 8). Aucune interférence de la part des anticoagulants et des dispositifs de collecte n'a été observée.

Tableau 7: Résultats du test Aptima Zika Virus Assay pour les échantillons de plasma et de sérum non-inoculés, recueillis dans divers types de tubes

Tube de collecte	N	#P	%P	S/CO IC			S/CO de l'analyte		
				Moyenne	SD	CV	Moyenne	SD	CV
EDTA K2	10	0	0 %	1,89	0,06	3 %	0,00	0,01	N/A
EDTA K3	10	0	0 %	1,87	0,04	2 %	0,00	0,00	N/A
ACD-A	10	0	0 %	1,87	0,04	2 %	0,00	0,00	N/A
PPT	10	0	0 %	1,83	0,04	2 %	0,00	0,00	N/A
NAC	10	0	0 %	1,84	0,06	3 %	0,00	0,00	N/A
Sérum	10	0	0 %	1,85	0,06	3 %	0,00	0,00	N/A
SST	10	0	0 %	1,90	0,05	3 %	0,00	0,00	N/A

N = nombre de spécimens ; #P = nombre de positifs ; %P = pourcentage de positifs ; IC = contrôle interne ; S/CO = Ratio signal seuil ; SD = Écart-type ; CV = coefficient de variation ; N/A = non disponible.

Tableau 8: Résultats du test Aptima Zika Virus Assay pour les échantillons de plasma et de sérum inoculés, recueillis dans divers types de tubes

Tube de collecte	N	#P	%P	S/CO IC			S/CO de l'analyte		
				Moyenne	SD	CV	Moyenne	SD	CV
EDTA K2	10	10	100 %	2,05	0,45	22 %	32,77	1,23	4 %
EDTA K3	10	10	100 %	1,99	0,39	20 %	32,63	0,82	3 %
ACD-A	10	10	100 %	1,88	0,44	23 %	32,02	1,32	4 %
PPT	10	10	100 %	1,92	0,25	13 %	32,32	1,24	4 %
NAC	10	10	100 %	1,91	0,50	26 %	31,90	1,31	4 %
Sérum	10	10	100 %	1,78	0,31	18 %	34,20	1,34	4 %
SST	10	10	100 %	1,77	0,51	29 %	32,52	1,32	4 %

N = nombre de spécimens ; #P = nombre de positifs ; %P = pourcentage de positifs ; IC = contrôle interne ; S/CO = Ratio signal seuil ; SD = Écart-type ; CV = coefficient de variation ; N/A = non disponible.

### Substances interférentes pour les échantillons d'urine

Les effets des métabolites d'urine ont été testés par l'ajout de KOVA-Trol I High Abnormal avec Urobilinogen Urinalysis Control (Contrôle anormalement élevé avec analyse urinaire de l'urobilinogène KOVA-Trol I) dilué dans un milieu de transport d'urine (urine transport medium, UTM) à la place de l'urine. Ce matériau de contrôle pour analyse urinaire à base d'urine humaine contient des substances interférentes potentielles comme les protéines (albumine), le glucose, les cétones, la bilirubine, les érythrocytes, les nitrites, l'urobilinogène et les leucocytes. En outre, de l'urine contenant du sang total a été testée à une concentration de 5 % en volume/volume. Aucune interférence n'a été observée avec l'une des substances lorsqu'inoculée avec ZIKV à une concentration finale de 18 copies/mL ou non-inoculée avec ZIKV, et testée dans le test Aptima Zika Virus assay.

## Réactivité croisée

### Réactivité croisée pour les échantillons de sang

Pour les échantillons de sang, d'autres agents pathogènes véhiculés par le sang ont été testés pour la réactivité croisée et l'interférence. La réactivité croisée du test Aptima Zika Virus assay a été évaluée en testant des échantillons cliniques provenant de 10 patients présentant chacune des infections virales suivantes : Virus de la dengue, virus de l'hépatite A (VHA), virus de l'hépatite B (VHB), virus de l'hépatite C (VHC), virus de l'immunodéficience humaine 1 ou 2 (VIH-1/2), parvovirus B19 et virus du Nil occidental (VNO). Des échantillons de 10 personnes qui avaient reçu le vaccin contre le VHB ont également été testés. Les échantillons ont été obtenus à partir d'une source commerciale et caractérisés par les fournisseurs en utilisant des méthodes validées. En outre, un pool de plasma négatif inoculé avec le virus de l'hépatite E (VHE) à  $1 \times 10^5$  copies/mL et un pool de plasma négatif inoculé avec le virus Chikungunya à  $1 \times 10^5$  U/mL ont été évalués. Chaque échantillon décrit ci-dessus a été divisé en deux aliquotes. Une aliquote a été utilisée pour l'évaluation de la réactivité croisée. L'autre aliquote a été inoculée avec un plasma positif pour ZIKV et utilisée comme échantillons artificiels dans l'évaluation clinique. Pour la réactivité croisée, des aliquotes d'échantillons de donneurs présentant des infections d'origine naturelle ou qui avaient reçu le vaccin contre le VHB ont été testées une fois. Les échantillons inoculés avec le VHE et Chikungunya ont été testés en 10 réplicats.

Les résultats du test Aptima Zika Virus assay ont été négatifs pour tous les échantillons. Aucune réactivité croisée n'a été observée dans les échantillons provenant de patients infectés par d'autres agents pathogènes véhiculés par le sang ou dans les échantillons provenant d'individus qui avaient reçu des vaccins du VHB ou dans les échantillons inoculés avec le virus. Le potentiel d'interférence a été testé à l'aide d'une aliquote de chaque échantillon, inoculée avec ZIKV à 18 copies/mL, et tous les résultats ont été positifs. Aucune réactivité croisée ou interférence n'a été observée dans les échantillons contenant d'autres agents pathogènes véhiculés par le sang.

D'autres micro-organismes ont été testés pour la réactivité croisée et l'interférence. Un plasma négatif a été utilisé pour préparer des échantillons inoculés à  $1 \times 10^6$  unités formant des colonies (UFC/ml) ou unités de formation des inclusions par mL (IFU/mL), avec chacun des microorganismes suivants : *Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus aureus*, *Corynebacterium diphtheriae*, *Propionibacterium acnes*, *Candida albicans*, *Neisseria gonorrhoeae*, ou *Chlamydia trachomatis*. La réactivité croisée a été testée en utilisant des échantillons non-inoculés avec ZIKV, et tous les résultats étaient négatifs. Le potentiel d'interférence microbienne a été testé à l'aide d'une aliquote de chaque échantillon, inoculée avec ZIKV à 18 copies/mL, et tous les résultats ont été positifs. Aucune réactivité croisée ou interférence n'a été observée dans les échantillons contenant des bactéries ou des champignons.

### Réactivité croisée pour les échantillons d'urine

La réactivité croisée et les interférences des microorganismes dans l'urine ont été testées pour le test Aptima Zika Virus assay. Un pool d'urines négatives a été utilisé pour préparer des échantillons inoculés à  $1 \times 10^6$  unités formant des colonies (UFC/ml) ou unités de formation des inclusions par mL (IFU/mL), avec chacun des microorganismes suivants : *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Candida albicans*, *Chlamydia trachomatis* ( $5 \times 10^5$  IFU/mL), *Trichomonas vaginalis*, *Mycoplasma genitalium*, *Gardnerella vaginalis*, *Lactobacillus gasseri*, *Lactobacillus crispatus*, *Lactobacillus jensenii*, ou *Proteus mirabilis* ( $1 \times 10^6$  rRNA/mL). La réactivité croisée a été

testée en utilisant des échantillons non-inoculés avec ZIKV, et tous les résultats étaient négatifs. Le potentiel d'interférence microbienne a été testé à l'aide d'une aliquote de chaque échantillon, inoculée avec ZIKV à 18 copies/mL, et tous les résultats ont été positifs. Aucune réactivité croisée ou interférence n'a été observée dans les échantillons contenant ces micro-organismes.

## Évaluation clinique

### Évaluation clinique pour les échantillons de sang

Vingt-six (26) échantillons de plasma ont été obtenus à partir de trois ressources commerciales. Les 26 échantillons ont été déterminés par les fournisseurs comme étant positifs pour ZIKV sur la base des résultats du test CDC TrioPlex Assay (deux fournisseurs) ou d'un test de RT-PCR en temps réel validé. Les échantillons ont été testés à nouveau en utilisant un test de RT-PCR en temps réel validé différent et 24 des 26 échantillons ont été confirmés positifs. Les deux échantillons qui étaient négatifs lors du nouveau test sont considérés comme négatifs pour le résultat de référence dans les analyses ci-dessous. Le test Aptima Zika Virus assay a été positif pour l'ensemble des 26 échantillons cliniques. Le Tableau 9 montre les résultats pour les 24 échantillons positifs de référence.

Tableau 9: Résultats du test Aptima Zika Virus Assay pour 24 échantillons cliniques positifs au ZIKV

ID échantillon	Pays d'origine	Référence Ct/Cp	Résultat Aptima	S/CO Aptima
08847156	Colombie	34,14	Positif	30,5
08847163	Colombie	34,90	Positif	31,3
08847229	Colombie	31,43	Positif	31,3
08847260	Colombie	32,75	Positif	32,5
08847264	Colombie	36,32	Positif	32,8
08847284	Colombie	33,14	Positif	32,5
08847325	Colombie	36,22	Positif	31,2
08847716	Colombie	31,76	Positif	29,8
1043-TDS-0112	République dominicaine	31,80	Positif	30,9
1043-TDS-0114	République dominicaine	35,20	Positif	31,8
1043-TDS-0115	République dominicaine	24,74	Positif	32,3
1043-TDS-0119	République dominicaine	30,69	Positif	32,1
1043-TDS-0122	République dominicaine	35,05	Positif	30,6
1043-TDS-0129	République dominicaine	37,24	Positif	31,8
1043-TDS-0130	République dominicaine	34,23	Positif	33,4
1043-TDS-0131	République dominicaine	29,66	Positif	30,3
1043-TDS-0134	République dominicaine	37,30	Positif	31,0
1043-TDS-0135	République dominicaine	34,07	Positif	32,1
1043-TDS-0137	République dominicaine	29,54	Positif	31,7
1043-TDS-0141	République dominicaine	30,71	Positif	32,0
1043-TDS-0143	République dominicaine	28,73	Positif	29,6
1043-TDS-0144	République dominicaine	34,19	Positif	29,8
1043023924	Colombie	34,69	Positif	30,3
8798593	Colombie	22,75	Positif	31,7

Au total 90 échantillons artificiels ont été préparés en inoculant un échantillon de plasma positif au ZIKV dans les échantillons de plasma individuels à une concentration de 18 copies/mL. Les 90 échantillons comprennent 10 échantillons individuels de plasma de patients positifs pour le Parvovirus B19, la Dengue, HAV, HBV, HCV, HIV, ou VNO ; 10 échantillons de plasma d'un donneur vacciné pour le VHB ; et 10 échantillons de plasma provenant de donneurs sains.

Un total de 72 échantillons individuels de plasma ont été utilisés comme échantillons négatifs pour ZIKV. Soixante-dix (70) échantillons comprennent 10 échantillons de plasma individuels chacun d'eux positifs pour les anticorps antinucléaires, hémolysés (hémoglobine élevée), ictériques (bilirubine élevée), lipémiques (lipides élevés), de myélome multiple, de polyarthrite rhumatoïde ou de lupus érythémateux systémique. Deux échantillons positifs selon un test de référence initial, mais négatifs lors d'un nouveau test sont également inclus. Ces deux échantillons étaient positifs pour le test Aptima Zika Virus assay. Les résultats de l'évaluation clinique sont résumés dans le Tableau 10.

Tableau 10: Résultats de l'évaluation clinique pour le test Aptima Zika Virus Assay

Catégorie d'échantillon	Aptima Zika Virus Assay		
	Nombre d'échantillons testés	Positif pour ZIKV	Négatif pour ZIKV
Échantillons positifs naturels pour ZIKV	24	24 / 24	0 / 24
Échantillons artificiels cliniquement positifs pour ZIKV (3 x LoD)	90 <sup>a</sup>	90 / 90	0 / 90
Échantillons présumés cliniquement négatifs pour ZIKV	72 <sup>b</sup>	2 / 72	70 / 72
Pourcentage de concordance positive		100 % (114 / 114) CI à 95 % : 96,7 % à 100 %	
Pourcentage de concordance négative		97,2 % (70 / 72) <sup>b</sup> CI à 95 % : 90,4 à 99,2 %	

CI = Intervalle de confiance.

<sup>a</sup> Comprend les aliquotes inoculées au ZIKV des 90 échantillons de plasma évalués dans les études d'interférence.

<sup>b</sup> Comprend deux échantillons de patients qui étaient positifs lors du test de référence initial et négatifs lors du nouveau test par méthode PCR alternative et a été considéré comme un faux positif.

### Évaluation clinique pour les échantillons d'urine

Dix (10) échantillons appariés ont été obtenus (échantillons appariés plasma/sérum/urine prélevés sur 10 patients symptomatiques) à partir d'une ressource commerciale. Les 10 patients symptomatiques ont été déterminés par les vendeurs comme étant positifs pour ZIKV sur la base des résultats du test sur sérum avec une méthode validée de RT-PCR en temps réel. Les échantillons d'urine ont été traités avant le test. Les dix échantillons d'urine traités ont été testés en même temps que les échantillons de plasma et de sérum provenant de chacun des 10 patients en utilisant le test Aptima Zika Virus assay. Tous les échantillons ont été positifs lors des tests initiaux. Le Tableau 11 montre les résultats pour les 10 échantillons appariés.

Tableau 11: Résultats du test Aptima Zika Virus Assay pour 10 échantillons cliniques appariés positifs au ZIKV

ID échantillon	Pays d'origine	Cp référence (sérum)	Plasma		Sérum		Urine traitée	
			Résultat	S/CO	Résultat	S/CO	Résultat	S/CO
1043-TDS-0159	République dominicaine	36,31	Positif	33,1	Positif	31,7	Positif	32,9
1043-TDS-0163	République dominicaine	32,54	Positif	33,4	Positif	33,4	Positif	17,0

Tableau 11: Résultats du test Aptima Zika Virus Assay pour 10 échantillons cliniques appariés positifs au ZIKV

ID échantillon	Pays d'origine	Cp référence (sérum)	Plasma		Sérum		Urine traitée	
			Résultat	S/CO	Résultat	S/CO	Résultat	S/CO
1043-TDS-0165	République dominicaine	40,38	Positif	32,8	Positif	32,6	Positif	33,7
1043-TDS-0173	République dominicaine	33,15	Positif	32,6	Positif	32,8	Positif	34,1
1043-TDS-0206	République dominicaine	36,62	Positif	31,6	Positif	30,8	Positif	32,4
1043-TDS-0221	République dominicaine	38,11	Positif	17,8	Positif	33,5	Positif	32,8
1043-TDS-0223	République dominicaine	32,50	Positif	34,0	Positif	33,4	Positif	31,9
1043-TDS-0224	République dominicaine	31,81	Positif	33,8	Positif	31,6	Positif	33,6
1043-TDS-0230	République dominicaine	30,51	Positif	33,8	Positif	33,7	Positif	34,7
1043-TDS-0231	République dominicaine	35,63	Positif	31,6	Positif	33,8	Positif	34,4

Au total 99 échantillons d'urine artificiels ont été préparés en inoculant un échantillon de plasma positif pour ZIKV dans des échantillons d'urine individuels : 33 échantillons ont été inoculés à 20 copies/mL, 33 échantillons ont été inoculés à 36 copies/mL, et 33 échantillons ont été inoculés à 100 copies/mL. Chaque échantillon d'urine inoculé a été traité avant le test avec Aptima Zika Virus assay. Tous les échantillons d'urine artificiels ont été testés positifs.

Au total 123 échantillons individuels d'urine ont été utilisés comme échantillons négatifs pour ZIKV. Parmi ceux-ci, 87 échantillons d'urine ont été prélevés dans une population saine : 36 échantillons d'urine de femmes ont été recueillis à partir d'une population de patients (7 patientes atteintes de cancer du sein, 6 patientes atteintes de maladie rénale chronique, 6 patientes atteintes de lupus érythémateux systémique, 4 patientes atteintes de pneumonie, 8 patientes atteintes de diabète, et 5 patientes atteintes d'une infection des voies urinaires). Chaque échantillon d'urine a été traité avant le test avec Aptima Zika Virus assay. Tous les échantillons ont été testés négatifs. Les résultats de l'évaluation clinique sont résumés dans le Tableau 12.

Tableau 12: Résultats de l'évaluation clinique pour les échantillons d'urine traités

Catégorie d'échantillon	Aptima Zika Virus Assay		
	Nombre d'échantillons testés	Positif pour ZIKV	Négatif pour ZIKV
Échantillons positifs naturels pour ZIKV	10	10 / 10	0 / 10
Échantillons artificiels cliniquement positifs pour ZIKV	99	99 / 99	0 / 99
Échantillons présumés cliniquement négatifs pour ZIKV	123	0 / 123	123 / 123
Pourcentage de concordance positive		100 % (109/109) CI à 95 % : 96,6% à 100 %	
Pourcentage de concordance négative		100 % (123/123) CI à 95 % : 97,0 % à 100 %	

CI = Intervalle de confiance.

## **Bibliographie**

1. **International Committee on Taxonomy of Viruses.** <http://www.ictvonline.org/>
2. **Musso D, Gubler DJ.** 2016. Zika virus. *Clin Microbiol Rev.* Jul;29(3):487-524.
3. **Kitchen SF, Haddow AJ.** 1952. Zika virus. I. Isolations and serological specificity. *Trans R Soc Trop Med Hyg.* 46:509–520.
4. **Duffy MR, Chen TH, Hancock WT, Powers AM, Kool JL, Lanciotti RS, Pretrick M, Marfel M, Holzbauer S, Dubray C, Guillaumot L, Griggs A, Bel M, Lambert AJ, Laven J, Kosoy O, Panella A, Biggerstaff BJ, Fischer M, Hayes EB.** 2009. Zika virus outbreak on Yap Island, Federated States of Micronesia. *N Engl J Med* 360:2536–2543. doi: 10.1056/NEJMoa0805715.
5. **Cao-Lormeau VM, Roche C, Teissier A, Robin E, Berry AL, Mallet HP, Sall AA, Musso D.** 2014. Zika virus, French Polynesia, South Pacific, 2013. *Emerg Infect Dis* 20:1085–1086.
6. **Campos GS, Bandeira AC, Sardi SI.** 2015. Zika virus outbreak, Bahia, Brazil. *Emerg Infect Dis* 21:1885–1886. doi: 10.3201/eid2110.150847.
7. **Zanluca C, Melo VC, Mosimann AL, Santos GI, Santos CN, Luz K.** 2015. First report of autochthonous transmission of Zika virus in Brazil. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 110:569-572.
8. **World Health Organization.** 2016. Situation report: Zika virus, microcephaly, Guillain-Barré syndrome. 8 December 2016.
9. **Cao-Lormeau V-M et al.** Guillain–Barré syndrome outbreak associated with Zika virus infection in French Polynesia: a case–control study. *Lancet* [http://dx.doi.org/10.1016/S0140-6736\(16\)00562-6](http://dx.doi.org/10.1016/S0140-6736(16)00562-6).
10. **Rasmussen SA, Jamieson DJ, Honein MA, Petersen LR.** 2016. Zika virus and birth defects — reviewing the evidence for causality. *N Engl J Med.* 2016 May 19;374(20):1981-1987. doi: 10.1056/NEJMs1604338. PubMed PMID: 27074377.
11. **Musso D, Roche C, Robin E, Nhan T, Teissier A, Cao-Lormeau VM.** 2015. Potential sexual transmission of Zika virus. *Emerg Infect Dis* 21: 359-361.
12. **U.S. Centers for Disease Control and Prevention.** <http://www.cdc.gov/zika/transmission/blood-transfusion.html>
13. **Kacian DL, Fultz TJ** 1995. Nucleic acid sequence amplification methods. U.S. Patent 5,399,491.
14. **Arnold LJ, Hammond PW, Wiese WA, Nelson NC.** 1989. Assay formats involving acridinium-ester-labeled DNA probes. *Clin Chem* 35:1588-1594.
15. **Nelson NC, Cheikh A, Matsuda E, Becker M.** 1996. Simultaneous detection of multiple nucleic acid targets in a homogeneous format. *Biochem.* 35:8429-8438.
16. **Clinical and Laboratory Standards Institute.** 2005. *Collection, Transport, Preparation, and Storage of Specimens for Molecular Methods; Approved Guideline.* CLSI Document MM13-A. Wayne, PA.
17. **29 CFR Part 1910.1030.** *Occupational Exposure to Bloodborne Pathogens*; current version.
18. **Centers for Disease Control and Prevention/National Institutes of Health.** *Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories (BMBL)*; current version.
19. **Clinical and Laboratory Standards Institute.** 2002. *Clinical Laboratory Waste Management.* CLSI Document GP5-A2. Villanova, PA.
20. **Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI).** 2012. *Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures; Approved Guideline.* 2nd ed. CLSI Document EP17-A2. Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne, PA.



**Hologic N.V.**  
Da Vincilaan 5  
1930 Zaventem  
Belgium

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

Informations de contact pour les États-Unis et les autres pays :

**Soutien à la clientèle :** +1 800 442 9892  
customersupport@hologic.com  
**Servce technique :** +1-888-484-4747  
molecularsupport@hologic.com

Pour obtenir des coordonnées supplémentaires, visitez le site  
[www.hologic.com](http://www.hologic.com).

Hologic, Aptima, Panther, SB100 et les logos associés sont des marques de commerce et/ou déposées de Hologic, Inc. et/ou ses filiales aux États-Unis et/ou dans d'autres pays.

Toutes les autres marques de commerce pouvant apparaître dans cette notice appartiennent à leurs propriétaires respectifs.

Ce produit peut être couvert par un ou plusieurs brevets américains identifiés sur le site [www.hologic.com/patents](http://www.hologic.com/patents).

© 2017-2018 Hologic, Inc. Tous droits réservés.

AW-15988-901 Rév. 003  
2018-04