

Aptima™ HCV Quant Dx Assay

Pour diagnostic *in vitro*.
Réservé à l'exportation américaine.

Renseignements généraux	2
Usage prévu	2
Résumé et explication du test	2
Principes de la procédure	3
Mises en garde et précautions	4
Conditions d'entreposage et de manipulation des réactifs	7
Prélèvement et entreposage des échantillons	8
Échantillons placés à bord du système Panther	11
Transport des échantillons	11
Système Panther	12
Réactifs et matériel fourni	12
Matériel requis mais disponible séparément	14
Matériel facultatif	15
Procédure de test pour le système Panther	15
Remarques concernant la procédure	20
Contrôle de la qualité	21
Calibration du test	21
Contrôles négatifs et positifs	21
Calibrateur interne/Contrôle interne	21
Interprétation des résultats	22
Limites	22
Performance	23
Limite de détection (LD) à l'aide de la 2e norme internationale de l'OMS	23
Limite de détection pour tous les génotypes du VHC	24
Plage linéaire	25
Linéarité pour les différents génotypes du VHC	26
Limite inférieure de quantification (LIQ) à l'aide de la 2e norme internationale de l'OMS	26
Détermination de la limite inférieure de quantification (LIQ) pour les différents génotypes du VHC	28
Précision	30
Substances potentiellement interférentes	31
Spécificité	32
Spécificité analytique	33
Échantillons cliniques contenant des virus autres que le VHC	34
Reproductibilité des échantillons cliniques	34
Dilution d'échantillons à l'aide du diluant d'échantillon	35
Corrélation de la méthode	37
Concordance diagnostique	38
Contamination de transfert	38
Panel de séroconversion	39
Performance clinique	40
Étude de reproductibilité	40
Bibliographie	43

Renseignements généraux

Usage prévu

L'Aptima HCV Quant Dx Assay (test Aptima HCV Quant Dx Assay) est un test d'amplification médiée par la transcription en temps réel. Ce test est utilisé à la fois pour la détection et la quantification de l'ARN du virus de l'hépatite C (VHC) dans du sérum et du plasma humain frais et congelé provenant de personnes infectées par le VHC.

Le plasma peut être préparé dans de l'acide éthylènediaminetétracétique (EDTA), une solution anticoagulante de citrate dextrose (ACD) et des tubes de préparation du plasma (PPT). Le sérum peut être préparé dans des tubes de séparation du sérum (SST). Les échantillons sont testés à l'aide du système Panther™ pour un traitement, une amplification, une détection et une quantification automatiques des échantillons. Les échantillons contenant les génotypes 1 à 6 du VHC sont validés pour la phase de détection et de quantification du test.

L'utilisation du test Aptima HCV Quant Dx Assay est indiquée pour aider au diagnostic d'une infection par le VHC. Ce test peut être utilisé pour confirmer une infection active par le VHC chez des patients présentant un résultat positif pour les anticorps anti-VHC. La détection de l'ARN du VHC indique que le virus se multiplie, ce qui est la preuve d'une infection active.

L'utilisation du test Aptima HCV Quant Dx Assay est indiquée pour aider à la prise en charge des patients infectés par le VHC sous traitement médicamenteux antiviral contre le VHC. Ce test mesure les niveaux d'ARN du VHC au début, pendant et après le traitement pour déterminer la réponse virologique soutenue (RVS). Les résultats du test Aptima HCV Quant Dx Assay doivent être interprétés en prenant en compte tous les résultats cliniques et obtenus en laboratoire.

L'utilisation du test Aptima HCV Quant Dx Assay n'est pas indiquée pour le dépistage de la présence du VHC dans le sang ou les produits sanguins.

Résumé et explication du test

Le VHC est un agent pathogène véhiculé par le sang et un problème de santé publique à l'échelle mondiale, avec plus de 170 millions de personnes infectées dans le monde et 350 000 décès dus chaque année à des pathologies liées au VHC, notamment la cirrhose et le cancer du foie.^{1,2} Le VHC se transmet par exposition à du sang ou à des produits sanguins, ou par le biais d'activités présentant un potentiel d'exposition percutanée.^{3,4} Sur le plan génétique, le VHC contient un génome ARN à brin positif d'environ 9 500 nucléotides codant pour les protéines structurales (centrale, glycoprotéines E1 et E2, protéine p7 de canal ionique) et non structurales (NS2, NS3, NS4A/B, NS5A/B), ces dernières étant des protéines clés de réplication virale et les cibles des antiviraux à action directe.^{4,5} Deux régions non traduites (UTR) du génome, 5'-UTR et 3'-UTR, servent à la traduction du génome et dans la réplication/l'encapsidation, respectivement.⁵ La région génomique 5'-UTR est la plus conservée parmi les six principaux génotypes du VHC.⁶

D'un point de vue clinique, il existe une forte prévalence d'infection asymptomatique par le VHC et, en dépit d'un anticorps détectable (généralement en 5 à 12 semaines), l'infection chronique par le VHC peut survenir chez 75 % des patients.² Les algorithmes de test du VHC en laboratoire nécessitent un diagnostic des infections par le VHC actives chez les personnes anti-VHC positives, par le biais de la détection de l'ARN du VHC dans le plasma ou le sérum, afin de permettre une prise en charge adaptée.^{7,8,9}

La quantification de l'ARN du VHC (charge virale) a joué un rôle central dans la définition et le contrôle d'un traitement efficace contre le VHC. La réponse virologique soutenue (RVS), définie comme l'absence de détection d'ARN du VHC après un traitement efficace, est un marqueur clé de la guérison du VHC.^{10,11} Dans un traitement à base d'interféron, il a été démontré qu'une réponse virologique précoce (RVP), définie comme une diminution de la charge virale atteignant au moins 2 logs après 12 semaines de traitement, ainsi qu'une réponse virologique rapide (RVR), définie comme des niveaux indétectables d'ARN du VHC après 4 semaines de traitement, sont des indicateurs positifs de RVS.^{10,12,13} Ces marqueurs de la cinétique virale sont utilisés dans des approches de personnalisation du traitement basées sur les réactions pour interrompre ou prolonger le traitement en vue de parvenir à une RVS.¹⁴ En outre, les études de suivi à long terme ont démontré que la RVS se maintenait à la suite d'un traitement réussi et que l'éradication du virus évite la progression des maladies hépatiques.¹⁰

À l'ère des antiviraux à action directe (AAD), des mesures de la charge virale du VHC sont effectuées avant le traitement, afin d'évaluer la charge virale au début du traitement, pendant le traitement, pour estimer les réactions au traitement et après le traitement, pour déterminer la RVS (ou la rechute). Presque tous les patients obtiennent pendant le traitement des réponses virologiques aux AAD définies comme en dessous de la limite inférieure de quantification (< LIQ) pour le test, puis des taux de RVS supérieurs à 90 % 12 semaines après le traitement avec la plupart des régimes posologiques.^{8,11} La détection et la quantification de l'ARN du VHC continuera à jouer un rôle central dans le diagnostic du VHC et la prise en charge des patients sous traitement antiviral.

Principes de la procédure

Le test Aptima HCV Quant Dx Assay est un test d'amplification de l'acide nucléique qui utilise l'amplification médiée par la transcription (TMA) en temps réel pour détecter et quantifier l'ARN du VHC avant le traitement, afin d'aider au diagnostic ou de déterminer la charge virale au début du traitement, ainsi que pour mesurer les réponses pendant et après le traitement. Ce test cible une région conservée du génome du VHC pour la détection et la quantification des génotypes 1, 2, 3, 4, 5 et 6. Ce test est conforme à la 2^e norme internationale de l'OMS pour le virus de l'hépatite C (code NIBSC 96/798).¹²

Le test Aptima HCV Quant Dx Assay comporte trois étapes principales, qui ont toutes lieu dans un seul tube sur le système Panther* : capture de la cible, amplification de la cible par TMA et détection des produits d'amplification (amplicons) par sondes marquées par fluorescence (torches moléculaires).

Lors de la capture de la cible, l'ARN viral est isolé à partir des échantillons. L'échantillon est traité avec un détergent afin de solubiliser l'enveloppe virale, dénaturer les protéines et libérer l'ARN génomique viral. Les oligonucléotides de capture s'hybrident à des régions hautement conservées du génome de l'ARN du VHC, si celui-ci est présent 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. Les étapes de lavage permettent d'éliminer les composants exogènes du tube réactionnel.

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 permet de générer une copie d'ADN de la séquence cible (contenant une séquence promotrice pour l'ARN polymérase de T7). L'ARN polymérase de T7 produit plusieurs copies de l'amplicon d'ARN à partir de la matrice d'ADN. Le test Aptima HCV Quant Dx Assay utilise la méthode TMA pour amplifier une partie de la région 5'-UTR du génome du VHC. L'amplification de cette région est obtenue à l'aide d'amorces spécifiques conçues pour amplifier les génotypes 1, 2, 3, 4, 5 et 6 du VHC.

La détection se déroule en temps réel par l'hybridation spécifique sur l'amplicon de torches moléculaires d'acide nucléique simple brin présentes pendant la phase d'amplification de la cible. Chaque torche moléculaire est munie d'un fluorophore et d'un suppresseur. Lorsque la torche moléculaire n'est pas hybridée à l'amplicon, le suppresseur se trouve proche du fluorophore et inhibe la fluorescence. Lorsque la torche moléculaire s'hybride à l'amplicon, la distance entre le suppresseur et le fluorophore augmente et un signal est émis à une longueur d'onde spécifique après excitation par une source de lumière. L'intensité du signal de fluorescence augmente avec le nombre de torches moléculaires hybridées à des amplicons. La durée nécessaire pour que le signal de fluorescence atteigne un seuil spécifique est proportionnelle à la concentration initiale en VHC. Chaque réaction comprend un calibrateur interne/contrôle interne (CI) qui permet de détecter des différences de traitement des échantillons, d'amplification et de détection. La concentration d'un échantillon est calculée par le logiciel du système Panther en utilisant les signaux obtenus pour le VHC et le CI pour chaque réaction et en les comparant aux données de calibration.

* Toutes les références au système Panther dans ce document portent sur les systèmes Panther et Panther Fusion. Aucune modification n'a été apportée aux indications d'utilisation, à l'étiquetage ou aux principes de fonctionnement du test Aptima HCV Quant Dx Assay sur le système Panther suite à l'intégration du module Panther Fusion.

Mises en garde et précautions

- A. 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



- B. **AVERTISSEMENT** : les contrôles de ce test contiennent du plasma humain. Le plasma est négatif pour l'antigène de surface de l'hépatite B (HBsAg), les anticorps contre le VHC, les anticorps contre le VIH-1 et le VIH-2, et l'antigène du VIH lorsque testé selon les procédures approuvées par la Food and Drug Administration des États-Unis. De plus, le plasma est non réactif pour l'ARN du VHC et l'ARN du VIH-1 lorsque testé sous la forme d'échantillons groupés à l'aide de tests de détection de l'acide nucléique approuvés. Tout produit dérivé du sang humain doit être considéré comme potentiellement infectieux et manipulé avec les précautions universelles.^{15,16,17}
- C. Cette procédure ne doit être réalisée que par du personnel dûment formé sur l'utilisation du test Aptima HCV Quant Dx Assay et sur 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 pipetter avec la bouche. Ne pas manger, boire ou fumer dans les aires de travail désignées. Portez des gants jetables sans poudre, des lunettes de protection et des blouses de laboratoire pour manipuler les échantillons et les réactifs de la trousse. Lavez-vous bien les mains après avoir manipulé les échantillons et les réactifs de la trousse.
- 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, provinciale et fédérale.^{15,16,17,18} Nettoyez et désinfectez soigneusement tous les plans de travail.
- H. Les contrôles contiennent 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.
- I. Les bonnes pratiques normales pour les laboratoires de biologie moléculaire incluent la surveillance de l'environnement. La procédure suivante est suggérée pour surveiller l'environnement d'un laboratoire :
1. Munissez-vous d'un écouvillon à embout de coton et faites-le correspondre au tube d'aliquote d'échantillon (SAT) Aptima.
 2. Étiquetez chaque SAT de manière appropriée.
 3. Remplissez chaque SAT avec 1 mL de diluant d'échantillon Aptima.
 4. Pour prélever les échantillons de surface, humidifiez légèrement un écouvillon avec de l'eau désionisée exempte de nucléases.
 5. Écouvillonnez la surface d'intérêt en effectuant un mouvement vertical de haut en bas. Faites tourner l'écouvillon d'environ un demi-tour pendant l'écouvillonnage.
 6. Introduisez immédiatement l'échantillon sur écouvillon dans le tube et faites-le tourner doucement dans le diluant afin d'en extraire les matières potentiellement écouvillonnées. Pressez l'écouvillon contre le bord du tube de transport pour en extraire le maximum de liquide. Jetez l'écouvillon et fermez le tube.
 7. Répétez ces étapes pour les autres échantillons sur écouvillon.
 8. Analysez l'écouvillon à l'aide d'un test moléculaire.

Recommandations concernant les échantillons

- J. Les échantillons peuvent être infectieux. Appliquez les précautions universelles^{15,16,17} lors de la réalisation de ce test. Des méthodes de manipulation et d'élimination des déchets appropriées doivent être établies selon la réglementation locale en vigueur.¹⁸ Cette procédure ne doit être réalisée que par du personnel dûment formé sur l'utilisation du test Aptima HCV Quant Dx Assay et sur la manipulation de produits infectieux.
- K. Maintenez des conditions d'entreposage 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. N'utilisez pas la trousse de réactifs, le calibrateur ou les témoins après la date de péremption.

- N. Ne pas échanger, mélanger ou combiner les réactifs de test des trousse portant différents numéros de lot de référence. Les liquides de test peuvent provenir de numéros de lots différents. Les contrôles et le calibrateur peuvent provenir de numéros de lots différents.
- O. Évitez de contaminer les réactifs par des agents microbiologiques ou des nucléases.
- P. Fermez et entreposez tous les réactifs de test aux températures indiquées. La performance du test peut être affectée par l'utilisation de réactifs de test mal entreposés. Voir *Conditions d'entreposage 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. L'étiquette de certains réactifs dans cette trousse porte des symboles de risque et de sécurité.

Remarque : pour de l'information sur les mentions de danger et de mise en garde pouvant être associées aux réactifs, consultez la bibliothèque de fiches signalétiques au www.hologic.com/sds.

**HCV VL Kit Controls***Azoture de sodium à 0,2 %**Plasma humain à 95-100 %***AVERTISSEMENT**

EUH032 – Au contact d'un acide, dégage un gaz très toxique

H302 – Nocif en cas d'ingestion

H312 – Nocif par contact cutané

H402 – Nocif pour les organismes aquatiques.

H412 – Nocif pour les organismes aquatiques, entraîne des effets néfastes à long terme.

P280 – Porter des gants de protection/des vêtements de protection/un équipement de protection des yeux/du visage

P301 + P312 – EN CAS D'INGESTION : appeler un CENTRE ANTIPOISON ou un médecin en cas de malaise

P302 + P352 – EN CAS DE CONTACT AVEC LA PEAU : laver abondamment à l'eau et au savon

P321 – Traitement spécifique (voir les instructions de premiers soins supplémentaires sur cette étiquette)

P362 + P364 – Enlever les vêtements contaminés et les laver avant réutilisation

P363 – Laver les vêtements contaminés avant réutilisation


P501 – Éliminer le contenu/récipient conformément à la réglementation locale/régionale/nationale/internationale.

Conditions d'entreposage et de manipulation des réactifs

- A. Le tableau suivant présente les conditions d'entreposage et de stabilité pour les réactifs, les contrôles et le calibrateur.

Réactif	Entreposage (non ouvert)	Trousse ouverte (reconstituée)	
		Entreposage	Stabilité
Réactif d'amplification qHCV	2 °C à 8 °C		
Solution de reconstitution d'amplification qHCV	2 °C à 8 °C	2 °C à 8 °C	30 jours ^a
Réactif enzymatique qHCV	2 °C à 8 °C		
Solution de reconstitution enzymatique qHCV	2 °C à 8 °C	2 °C à 8 °C	30 jours ^a
Réactif promoteur qHCV	2 °C à 8 °C		
Solution de reconstitution du promoteur qHCV	2 °C à 8 °C	2 °C à 8 °C	30 jours ^a
Réactif de capture de cible qHCV	2 °C à 8 °C	2 °C à 8 °C	30 jours ^a
qHCV NC CONTROL – (Contrôle négatif)	-15 °C à -35 °C	15 °C à 30 °C	Flacon à usage unique Utiliser dans les 24 heures
qHCV LPC CONTROL + (Contrôle positif faible)	-15 °C à -35 °C	15 °C à 30 °C	Flacon à usage unique Utiliser dans les 24 heures
qHCV HPC CONTROL + (Contrôle positif fort)	-15 °C à -35 °C	15 °C à 30 °C	Flacon à usage unique Utiliser dans les 24 heures
qHCV PCAL (Calibrateur positif)	-15 °C à -35 °C	15 °C à 30 °C	Flacon à usage unique Utiliser dans les 24 heures

^a Lorsque des réactifs sont retirés du système Panther, veillez à les remettre immédiatement à leurs températures d'entreposage appropriées.

- B. Jetez tous les réactifs reconstitués et le réactif de capture de cible (Target Capture Reagent, TCR) inutilisés après 30 jours ou après la date de péremption du lot de référence, selon la première éventualité.
- C. Les réactifs entreposés dans le système Panther sont stables pendant 72 heures. Vous pouvez charger les réactifs dans le système Panther jusqu'à 5 fois. Le système Panther enregistre le nombre de chargements des réactifs.
- D. Après décongélation du calibrateur, la solution doit être transparente, c.-à-d., elle ne doit pas être trouble ou contenir des précipités.
-  E. Le réactif promoteur et le réactif promoteur reconstitué sont photosensibles. Protégez ces réactifs de la lumière lors de leur entreposage et pendant la préparation avant de les utiliser.

Prélèvement et entreposage des échantillons

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.

Remarque : les tubes secondaires en plastique constituent le seul récipient d'entreposage recommandé.

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

- Tubes contenant de l'acide éthylènediaminetétracétique (EDTA) ou des anticoagulants acide citrate dextrose (ACD)
- 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.

A. Prélèvement des échantillons

Le sang total peut être entreposé entre 2 °C et 30 °C et doit être centrifugé dans les 6 heures suivant le prélèvement de l'échantillon. Séparez le plasma ou le sérum du culot de globules rouges en suivant les instructions du fabricant du tube utilisé. Le plasma ou sérum peut être analysé directement par le système Panther dans un tube primaire ou transféré dans un tube secondaire, par exemple dans le tube d'aliquote d'échantillon Aptima. Pour obtenir un volume de réaction de 500 µL, le volume de plasma ou de sérum est de 1 200 µL minimum pour des tubes de prélèvement primaires et de 700 µL minimum pour des tubes secondaires. Le tableau suivant identifie le volume mort minimum pour chaque type de tube primaire et secondaire.

Tube (taille et type)	Volume mort sur le système Panther
Tube d'aliquote d'échantillon Aptima (SAT)	0,2 mL
12x75 mm	0,5 mL
13x100 mm	0,5 mL
13x100 mm avec gel	0,3 mL
16x100 mm avec gel	0,7 mL

Dans le cas où le plasma ou le sérum n'est pas analysé immédiatement, il peut être entreposé selon les spécifications suivantes. S'il est transféré dans un tube secondaire, le plasma ou le sérum peut être congelé à -20 °C. Ne dépassez pas 3 cycles de congélation/décongélation. Ne congelez pas les échantillons dans des tubes de prélèvement primaires du sérum, d'EDTA ou d'ACD.

B. Conditions d'entreposage des échantillons

1. Échantillons de plasma sur EDTA ou ACD

Le sang total peut être entreposé entre 2 °C et 30 °C et doit être centrifugé dans les 6 heures suivant le prélèvement de l'échantillon. Le plasma peut ensuite être entreposé dans l'une des conditions suivantes :

- Jusqu'à 24 heures dans un tube de prélèvement primaire ou un tube secondaire entre 2 °C et 25 °C

- Jusqu'à 5 jours dans un tube de prélèvement primaire ou un tube secondaire entre 2 °C et 8 °C
- Jusqu'à 60 jours dans un tube secondaire à -20 °C

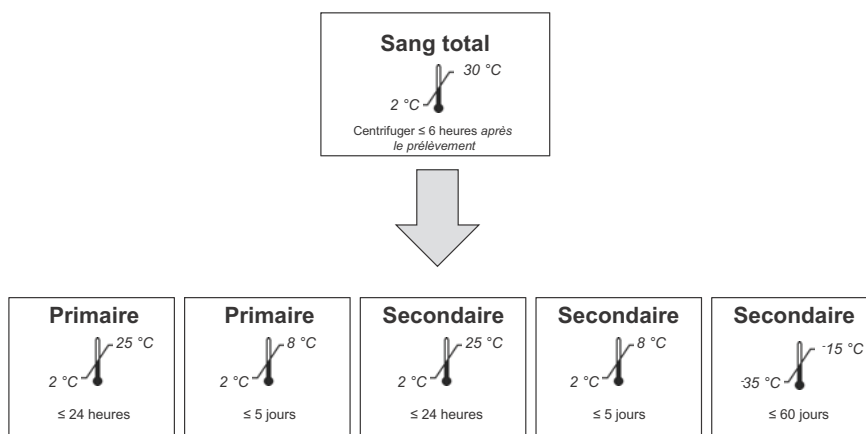


Figure 1. Conditions d'entreposage pour les tubes EDTA/ACD

2. Échantillons dans tubes PPT

Le sang total peut être entreposé entre 2 °C et 30 °C et doit être centrifugé dans les 6 heures suivant le prélèvement de l'échantillon. Le plasma peut ensuite être entreposé dans l'une des conditions suivantes :

- Jusqu'à 24 heures dans un tube de prélèvement primaire ou un tube secondaire entre 2 °C et 25 °C
- Jusqu'à 5 jours dans un tube de prélèvement primaire ou un tube secondaire entre 2 °C et 8 °C
- Jusqu'à 60 jours dans un tube de prélèvement primaire ou un tube secondaire à -20 °C

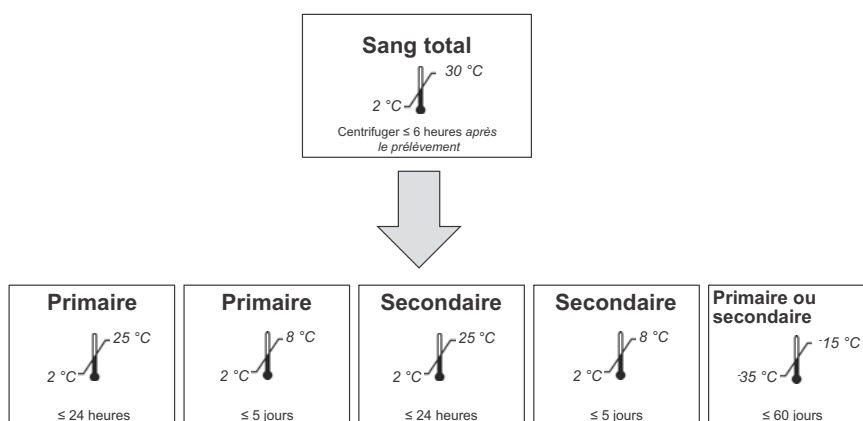


Figure 2. Conditions d'entreposage pour les tubes PPT

3. Échantillons dans des tubes de sérum

Le sang total peut être entreposé entre 2 °C et 30 °C et doit être centrifugé dans les 6 heures suivant le prélèvement de l'échantillon. Le sérum peut ensuite être entreposé dans l'une des conditions suivantes :

- Jusqu'à 24 heures dans un tube de prélèvement primaire ou un tube secondaire entre 2 °C et 30 °C
- Jusqu'à 5 jours dans un tube de prélèvement primaire ou un tube secondaire entre 2 °C et 8 °C
- Jusqu'à 60 jours dans un tube secondaire à -20 °C

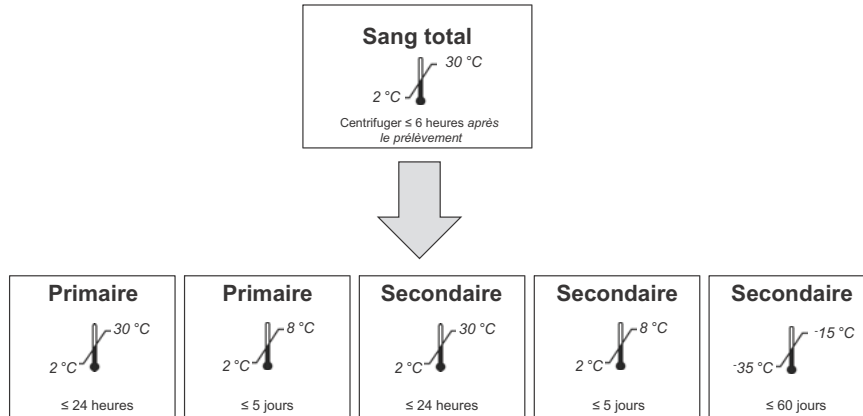


Figure 3. Conditions d'entreposage pour les tubes de sérum

4. Échantillons dans des tubes SST

Le sang total peut être entreposé entre 2 °C et 30 °C et doit être centrifugé dans les 6 heures suivant le prélèvement de l'échantillon. Le sérum peut ensuite être entreposé dans l'une des conditions suivantes :

- Jusqu'à 24 heures dans un tube de prélèvement primaire ou un tube secondaire entre 2 °C et 30 °C
- Jusqu'à 5 jours dans un tube de prélèvement primaire ou un tube secondaire entre 2 °C et 8 °C
- Jusqu'à 60 jours dans un tube de prélèvement primaire ou un tube secondaire à -20 °C

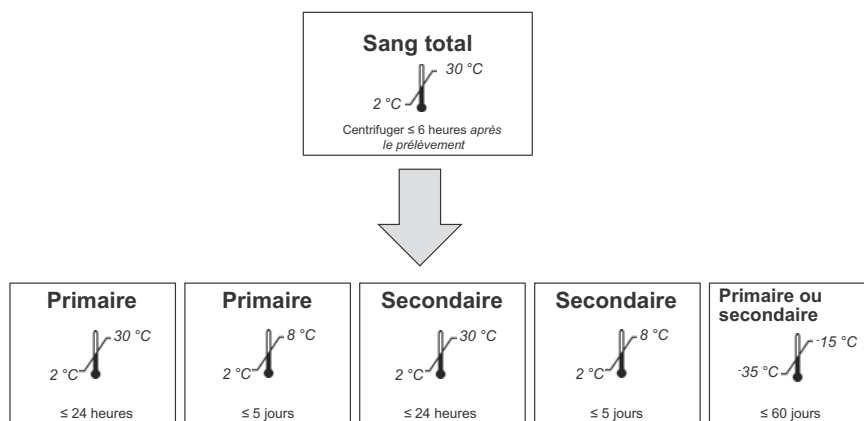



Figure 4. Conditions d'entreposage pour les tubes SST

C. Entreposage à long terme au congélateur

Les échantillons de plasma ou de sérum peuvent être entreposés entre -65 °C et -85 °C jusqu'à 60 jours dans des tubes SAT.

D. Dilution d'échantillons de plasma et de sérum

Les échantillons de plasma ou de sérum peuvent être dilués dans un tube SAT ou un tube secondaire pour être analysés sur le système Panther. Voir *Procédure de test pour le système Panther*, étape E.6 ci-dessous pour plus d'information.

 *La dilution d'échantillons de plasma et de sérum n'est à utiliser que pour l'obtention de résultats quantitatifs. Ne diluez pas les échantillons de plasma ou de sérum pour obtenir des résultats diagnostiques.*

Remarque : dans le cas où un échantillon est dilué, il doit être analysé immédiatement après la dilution. Ne pas congeler un échantillon dilué.

Échantillons placés à bord du système Panther

Les échantillons peuvent être laissés sans bouchon à bord du système Panther jusqu'à 8 heures. Les échantillons peuvent être retirés du système Panther et analysés aussi longtemps que la durée totale de leur séjour à bord du système Panther n'excède pas 8 heures avant le pipetage de l'échantillon par le système Panther.

Transport des échantillons

Maintenez les conditions d'entreposage des échantillons comme décrites dans la section *Prélèvement et entreposage des échantillons*.

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

Système Panther

Les réactifs du système Panther nécessaires pour le test Aptima HCV Quant Dx Assay sont présentés ci-dessous. Les symboles d'identification des réactifs sont également indiqués à côté du nom du réactif.

Réactifs et matériel fourni

Remarque : pour de l'information sur les mentions de danger et de mise en garde pouvant être associées aux réactifs, consultez la bibliothèque de fiches signalétiques au www.hologic.com/sds.

Trousse pour le test Aptima HCV Quant Dx Assay, 100 tests, N° de cat. PRD-03506
(1 boîte de test, 1 trousse de calibrateurs et 1 trousse de contrôles)

Des contrôles et des calibrateurs supplémentaires peuvent être commandés séparément. Voir les numéros de catalogue respectifs ci-dessous.

Boîte du test Aptima HCV Quant Dx Assay
(entreposer entre 2 °C et 8 °C dès réception)

Symbole	Composant	Quantité
A	Réactif d'amplification qHCV <i>Acides nucléiques non infectieux lyophilisés dans une solution tamponnée.</i>	1 flacon
E	Réactif enzymatique qHCV <i>Transcriptase inverse et polymérase d'ARN lyophilisées dans une solution tamponnée HEPES.</i>	1 flacon
PRO	Réactif promoteur qHCV <i>Acides nucléiques non infectieux lyophilisés dans une solution tamponnée.</i>	1 flacon
AR	Solution de reconstitution d'amplification qHCV <i>Solution aqueuse contenant du glycérol et des conservateurs.</i>	1 x 7,2 mL
ER	Solution de reconstitution enzymatique qHCV <i>Solution tamponnée HEPES contenant un surfactant et du glycérol.</i>	1 x 5,8 mL
PROR	Solution de reconstitution du promoteur qHCV <i>Solution aqueuse contenant du glycérol et des conservateurs.</i>	1 x 4,5 mL
TCR	Réactif de capture de cible qHCV <i>Acides nucléiques dans une solution saline tamponnée contenant des acides nucléiques non infectieux fixés sur une phase solide et un calibrateur interne.</i>	1 x 72,0 mL
	Collets de reconstitution	3
	Fiche des codes à barres du lot de référence	1 fiche

Trousse de calibrateurs du test Aptima HCV Quant Dx (N° de cat. PRD-03507)
(entreposer entre -15 °C et -35 °C dès réception)

Symbole	Composant	Quantité
PCAL	Calibrateur positif qHCV <i>Transcrit dans solution tamponnée.</i>	5 x 2,5 mL
	Étiquette code à barres du calibrateur	—

Trousse de contrôles du test Aptima HCV Quant Dx (N° de cat. PRD-03508)
(entreposer entre -15 °C et -35 °C dès réception)

Symbole	Composant	Quantité
NC	Contrôle négatif qHCV <i>Plasma humain défibriné négatif pour le VHC contenant de la gentamicine et de l'azoture de sodium à 0,2 % comme conservateurs.</i>	5 x 0,8 mL
LPC	Contrôle positif faible qHCV <i>ARN du VHC encapsulé (Armored RNA) non infectieux dans du plasma humain défibriné contenant de la gentamicine et de l'azoture de sodium à 0,2 % comme conservateurs.</i>	5 x 0,8 mL
HPC	Contrôle positif fort qHCV <i>ARN du VHC encapsulé (Armored RNA) non infectieux dans du plasma humain défibriné contenant de la gentamicine et de l'azoture de sodium à 0,2 % comme conservateurs.</i>	5 x 0,8 mL
	Étiquette code à barres des contrôles	—

Matériel requis mais disponible séparément

Remarque : les numéros de catalogue du matériel disponible chez Hologic sont indiquées, sauf indication contraire.

Matériel	N° de cat.
Système Panther	—
Trousse d'analyse Panther pour les tests en temps réel (tests en temps réel seulement)	PRD-03455 (5 000 tests)
<i>La trousse de liquides pour le test Aptima (ou trousse de liquides universelle) contient la solution de lavage Aptima, le tampon pour solution de désactivation Aptima et le réactif huileux Aptima</i>	303014 (1 000 tests)
<i>Unités multi-tube (Multi-Tube Unit, MTU)</i>	104772-02
<i>Assortiment de sacs à rebuts Panther</i>	902731
<i>Couvercle de poubelle à rebuts Panther</i>	504405
Trousse d'analyse du système Panther <i>(lors de la réalisation de tests TMA en temps différé parallèlement à des tests TMA en temps réel)</i> <i>contient des MTU, des sacs à rebuts, des couvercles de poubelles à rebuts, des solutions d'Autodetect et une trousse de liquides universelle</i>	303096 (5 000 tests)
Embouts, 1 000 µL conductifs, à détection de liquide	10612513 (Tecan)
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 rechange pour réactifs <i>Flacons de reconstitution de réactif d'amplification, enzymatique et promoteur</i> <i>Flacon de TCR</i>	CL0041 (100 bouchons) CL0040 (100 bouchons)
Protecteur de paillasse de laboratoire à envers plastifié	—
Chiffons non pelucheux	—
Pipette	—
Embouts	—
Options pour le tube de prélèvement primaire :	
<i>13 mm x 100 mm</i>	—
<i>13 mm x 75 mm</i>	—
<i>16 mm x 100 mm</i>	—
Centrifugeuse	—
Agitateur-mélangeur vortex	—

Matériel facultatif

Matériel	N° de cat.
Options pour le tube secondaire :	
12 mm x 75 mm	—
13 mm x 100 mm	—
16 mm x 100 mm	—
Tubes d'aliquote d'échantillon Aptima (SAT) (100/paquet)	503762
Bouchons pour tubes de transport (100/paquet) bouchons pour tubes SAT	504415
Diluant d'échantillon Aptima	PRD-03003
Trousse de diluant d'échantillon Aptima contient du diluant, 100 tubes SAT et 100 bouchons	PRD-03478
Pipettes de transfert	—
Panels commerciaux, par exemple : le panel HCV de l'organisation Quality Control for Molecular Diagnostics (QCMD) ou les panels HCV ACCURUN de SeraCare	—
Écouvillons à embout de coton	—
Agitateur de tubes	PRD-03488

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.

A. Préparation de la zone de travail

- 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 paille de laboratoire absorbantes à envers plastifié propres.
- Nettoyez un plan de travail distinct sur lequel les échantillons seront préparés. Suivez la procédure décrite ci-dessus (étape A.1).
- Nettoyez toutes les pipettes. Suivez la procédure de nettoyage décrite ci-dessus (étape A.1).

B. Préparation du calibrateur et des contrôles

Laissez le calibrateur et les contrôles atteindre entre 15 °C et 30 °C avant de procéder comme suit :

- Retirez le calibrateur et les contrôles de leur lieu d'entreposage (entre -15 °C et -35 °C) et placez-les entre 15 °C et 30 °C. Tout au long de la décongélation, retournez délicatement chaque tube pour les mélanger complètement. Assurez-vous que le contenu des tubes est entièrement décongelé avant de l'utiliser.

Option. Les tubes de calibrateur et de contrôles peuvent être mis dans un agitateur à tubes afin de les mélanger complètement. Assurez-vous que le contenu des tubes est entièrement décongelé avant de l'utiliser.

Remarque : éviter toute formation excessive de mousse en mélangeant par inversion le calibrateur et les contrôles. La mousse interfère avec le détecteur de niveau du système Panther.

2. Une fois le contenu des tubes décongelé, séchez l'extérieur des tubes avec un chiffon jetable propre et sec.
3. Pour éviter les contaminations, ne pas ouvrir les tubes à ce moment.

C. Reconstitution des réactifs/préparation d'une nouvelle trousse

Remarque : la reconstitution des réactifs doit être effectuée avant d'entreprendre toute tâche sur le système Panther.

1. Pour préparer le réactif de capture de cible (TCR), procédez comme suit :
 - a. Retirez le TCR de son lieu d'entreposage (2 °C à 8 °C). Vérifiez la correspondance entre le numéro de lot sur le flacon de TCR et le numéro de lot sur la fiche de codes à barres du lot de référence.
 - b. Agitez immédiatement le flacon de TCR vigoureusement 10 fois. Laissez le flacon de TCR se réchauffer entre 15 °C et 30 °C pendant au moins 45 minutes. Pendant cette période, faites tourner et retournez le flacon de TCR au moins toutes les 10 minutes.

Option. La préparation du flacon de TCR peut également s'effectuer à l'aide d'un agitateur de tubes en suivant les instructions ci-dessous : Retirez le TCR de son lieu d'entreposage (2 °C à 8 °C) et agitez immédiatement le flacon de TCR vigoureusement 10 fois. Placez le flacon de TRC sur un agitateur à tubes et laissez-le se réchauffer entre 15 °C et 30 °C pendant au moins 45 minutes.

- c. Assurez-vous que tout précipité a été dissous et que les particules magnétiques sont bien en suspension avant l'utilisation.
2. Pour reconstituer les réactifs d'amplification, enzymatique et promoteur, procédez comme suit :
 - a. Retirez les réactifs lyophilisés et les solutions de reconstitution correspondantes de leur lieu d'entreposage (2 °C à 8 °C). Faites correspondre chaque solution de reconstitution avec son réactif lyophilisé.
 - b. Assurez-vous que les couleurs des étiquettes de la solution de reconstitution et du réactif lyophilisé correspondent. Vérifiez les numéros de lot sur la fiche des codes à barres du lot de référence pour vous assurer que les réactifs appropriés sont jumelés.
 - i. Ouvrez le flacon de réactif lyophilisé en enlevant l'opercule métallique et le bouchon en caoutchouc.
 - ii. Insérez fermement l'extrémité à encoche du collet de reconstitution (noir) sur le flacon (Figure 5, Étape 1).
 - iii. Ouvrez le flacon de solution de reconstitution correspondante et déposez le bouchon sur un plan de travail propre et couvert.
 - iv. Placez le flacon de solution de reconstitution sur une surface stable (c.-à-d., une paillasse). Retournez ensuite le flacon de réactif lyophilisé au-dessus du flacon de solution de reconstitution et fixez le collet solidement au flacon de la solution de reconstitution (Figure 5, Étape 2).
 - v. Retournez lentement les flacons assemblés (flacon fixé au flacon de solution) pour que la solution puisse s'écouler dans le flacon en verre (Figure 5, Étape 3).
 - vi. Soulevez les flacons assemblés et faites-les tourner pendant au moins 10 secondes (Figure 5, Étape 4).

- vii. Attendez au moins 30 minutes pour que le réactif lyophilisé se dissolve entièrement.
- viii. Une fois le réactif lyophilisé dissous, faites tourner les flacons assemblés pendant au moins 10 secondes, puis balancez délicatement d'avant en arrière la solution dans le flacon en verre pour la mélanger complètement.
- c. Inclinez lentement les flacons assemblés pour permettre à la totalité de la solution de s'écouler de nouveau dans le flacon de solution de reconstitution (Figure 5, Étape 5).
- d. Retirez avec précaution le collet de reconstitution et le flacon en verre (Figure 5, Étape 6).
- e. Rebouchez la bouteille. Inscrivez les initiales de l'opérateur et la date de reconstitution sur l'étiquette (Figure 5, Étape 7).
- f. Jetez le collet de reconstitution et le flacon en verre (Figure 5, Étape 8).

Mise en garde : évitez la formation excessive de mousse lors de la reconstitution des réactifs. La mousse interfère avec le détecteur de niveau du système Panther.

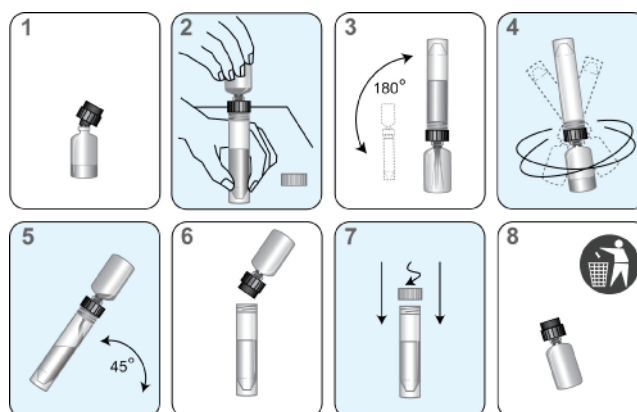


Figure 5. Procédure de reconstitution des réactifs

D. Préparation des réactifs précédemment reconstitués

1. Retirez les réactifs précédemment reconstitués de leur lieu d'entreposage (2 °C à 8 °C).
2. Les réactifs d'amplification, enzymatique et promoteur et le TCR précédemment reconstitués doivent atteindre entre 15 °C et 30 °C avant de commencer le test.
3. Pour le TCR précédemment préparé, effectuez l'étape C.1 ci-dessus avant de le charger sur le système.
4. Faites tourner et retournez les réactifs d'amplification, enzymatique et promoteur afin de les mélanger complètement avant de les charger sur le système. Évitez la formation excessive de mousse lors du retournement des réactifs.
5. Ne rajoutez pas de réactif dans les flacons. Le système Panther reconnaît et rejette les flacons qui ont été remplis à nouveau.

E. Manipulation des échantillons

1. Vérifier que les échantillons traités dans des tubes primaires et les échantillons non dilués dans des tubes secondaires ont été entreposés conformément à la section Prélèvement et entreposage des échantillons à la page 8.

2. Assurez-vous que les échantillons congelés sont entièrement décongelés. Agitez les échantillons décongelés au vortex pendant 3 à 5 secondes afin de les mélanger complètement.
3. Laissez tous les échantillons atteindre entre 15 °C et 30 °C avant de procéder. Voir *Échantillons placés à bord du système Panther* pour plus d'information sur la mise à bord.
4. Vérifier que chaque tube de prélèvement primaire contient jusqu'à 1 200 µL d'échantillon, ou que chaque tube SAT contient au moins 700 µL d'échantillon. Consulter le tableau dans la section *Prélèvement des échantillons* à la page 8 pour identifier le volume mort minimum pour chaque type de tube primaire et secondaire. Si vous devez diluer un échantillon, voir l'étape E.6 ci-dessous pour de l'information supplémentaire.
5. Juste avant de charger les échantillons dans un portoir d'échantillons, centrifugez chaque échantillon entre 1 000 et 3 000 g pendant 10 minutes. Ne pas enlever les bouchons. La présence de bulles dans le tube peut empêcher la détection du niveau de liquide par le système Panther.

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

6. Diluer un échantillon de plasma ou de sérum au ratio 1:3 dans un tube SAT ou au ratio 1:100 dans un tube secondaire.

Un échantillon peut être dilué dans un tube secondaire pour être analysé sur le système Panther.

- ⚠ La dilution d'échantillons n'est à utiliser que pour l'obtention de résultats quantitatifs. Ne diluez pas les échantillons pour obtenir des résultats diagnostiques.

Remarque : dans le cas où un échantillon est dilué, il doit être analysé immédiatement après la dilution.

a. Dilution d'échantillons de faible volume

Le volume d'échantillons peut être augmenté afin d'atteindre le volume minimal requis (700 µL) à l'aide du diluant d'échantillon Aptima. Les échantillons comprenant au moins 240 µL peuvent être dilués en ajoutant deux volumes de diluant d'échantillon (1:3) comme suit :

- i. Déposez 240 µL d'échantillon dans le tube SAT.
- ii. Ajouter 480 µL de diluant d'échantillon Aptima.
- iii. Fermez le tube.
- iv. Retournez délicatement 5 fois pour mélanger.

Les échantillons dilués 1:3 peuvent être analysés à l'aide de l'option 1:3 du système Panther (voir le *Manuel de l'opérateur du système Panther* pour plus d'information). Le logiciel signale automatiquement le résultat non dilué en appliquant le facteur de dilution. Ces échantillons sont signalés comme des échantillons dilués.

b. Dilution d'échantillons à titre élevé

Si le résultat d'un échantillon excède la limite supérieure de quantification, il peut être dilué dans 99 volumes de diluant d'échantillon Aptima (1:100) comme suit :

- i. Déposer 30 µL d'échantillon dans un tube SAT ou un tube secondaire.
- ii. Ajouter 2 970 µL de diluant d'échantillon Aptima.

- iii. Fermez le tube.
- iv. Retournez délicatement 5 fois pour mélanger.

Les échantillons dilués 1:100 peuvent être analysés à l'aide de l'option 1:100 du système Panther (voir le *Manuel de l'opérateur du système Panther* pour plus d'information). Le logiciel signale automatiquement le résultat non dilué en appliquant le facteur de dilution. Ces échantillons sont signalés comme des échantillons dilués.

Remarque : pour les échantillons dilués avec des concentrations non diluées supérieures à la LSQ, les résultats sont signalés sous forme de notation scientifique.

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 et contrôles) :
 - 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.
- 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. Calibrateur et contrôles

1. Le calibrateur positif qHCV, puis les tubes de contrôle positif faible qHCV, de contrôle positif fort qHCV et de contrôle négatif qHCV peuvent être chargés dans n'importe quelle position dans le portoir d'échantillons et dans n'importe quelle rangée du compartiment à échantillons du système Panther. Le pipetage des échantillons commence lorsque l'une des deux conditions suivantes est satisfaite :
 - a. Le calibrateur et les contrôles sont en cours de traitement par le système.
 - b. Les résultats valides du calibrateur et des contrôles sont enregistrés sur le système.
2. Une fois que le calibrateur et les tubes de contrôles ont été pipetés et sont en traitement avec la trousse de réactifs Aptima HCV Quant Dx Assay, des échantillons peuvent alors être testés pendant 24 heures avec la trousse reconstituée correspondante, **à moins que** :
 - a. Le résultat du calibrateur ou les résultats des contrôles soient invalides.
 - b. La trousse de réactifs de test correspondante soit retirée du système.
 - c. La trousse de réactifs de test ait dépassé les limites de stabilité.
3. Le calibrateur et chaque tube de contrôle ne peuvent être utilisés qu'une seule fois. Les tentatives d'utilisation du 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

Les résultats d'une série ou d'un échantillon peuvent être invalidés par un opérateur si des problèmes techniques, d'appareil ou liés à l'opérateur sont observés et documentés lors de la réalisation du test. Dans ce cas, les échantillons doivent être analysés de nouveau.

Calibration du test

Afin de produire des résultats valides, il faut procéder à la calibration du test. Un seul calibrateur positif est analysé en triplicat chaque fois qu'une trousse de réactifs est chargée sur le système Panther. Une fois établie, la calibration est valide pour un maximum de 24 heures. Le logiciel du système Panther signale à l'opérateur lorsqu'une calibration est requise. L'opérateur balaye un coefficient de calibration qui se trouve sur la fiche des codes à barres du lot de référence fournie avec chaque trousse de réactifs.

Le logiciel du système Panther vérifie automatiquement les critères d'acceptation du calibrateur lors de son traitement. Si moins de deux des répliquats du calibrateur sont valides, alors la série est invalidée automatiquement par le logiciel. Les échantillons d'une série invalidée doivent être analysés de nouveau avec un calibrateur et des contrôles fraîchement préparés.

Contrôles négatifs et positifs

Afin de produire des résultats valides, un jeu de contrôles du test doit être analysé. Un répliquat du contrôle négatif, du contrôle positif faible et du contrôle positif fort doit être analysé chaque fois qu'une trousse de réactifs est chargée sur le système Panther. Une fois établis, les contrôles sont valides pour un maximum de 24 heures. Le logiciel du système Panther signale à l'opérateur lorsque des contrôles sont requis.

Le logiciel du système Panther vérifie automatiquement les critères d'acceptation des contrôles lors de leur traitement. Afin d'obtenir des résultats valides, le résultat du contrôle négatif doit être « Non détecté » et les résultats des contrôles positifs doivent correspondre à la plage de paramètres prédéfinie. Si un résultat invalide est généré pour l'un des contrôles, le logiciel invalide alors automatiquement la série. Les échantillons d'une série invalidée doivent être analysés de nouveau avec un calibrateur et des contrôles fraîchement préparés.

Calibrateur interne/Contrôle interne

Chaque échantillon contient un calibrateur interne/contrôle interne (CI). Le logiciel du système Panther vérifie automatiquement les critères d'acceptation du CI lors du traitement. Si un résultat du CI est invalide, le résultat de l'échantillon est alors invalidé. Chaque échantillon dont le résultat du CI est invalide doit être analysé de nouveau afin d'obtenir un résultat valide.

Le logiciel du système Panther est conçu pour vérifier avec précision les processus lorsque les procédures sont effectuées suivant les instructions fournies dans cette notice et le *Manuel de l'opérateur du système Panther*.

Interprétation des résultats

Le système Panther détermine automatiquement la concentration d'ARN du VHC dans les échantillons et les contrôles en comparant les résultats à une courbe de calibration. Les concentrations d'ARN du VHC sont présentées en UI/mL et en \log_{10} UI/mL. L'interprétation des résultats est présentée au Tableau 1. Si la dilution 1:3 ou 1:100 est utilisée pour des échantillons dilués, le système Panther calcule automatiquement la concentration de VHC pour l'échantillon non dilué en multipliant la concentration diluée par le facteur de dilution et les échantillons dilués sont signalés comme dilués.

Remarque : pour les échantillons dilués, les résultats indiqués comme « Non détecté » ou « < 10 détectés » peuvent être générés en diluant un échantillon à une concentration supérieure, mais près de la LD ou de la LIQ (limite de détection ou limite inférieure de quantification). Si un résultat quantitatif n'est pas obtenu, il est recommandé de prélever un nouvel échantillon et de l'analyser sans le diluer.

Le système Panther ne génère pas de résultat qualitatif (c.-à-d., « Réactif » ou « Non réactif ») à des fins diagnostiques. L'opérateur doit interpréter la concentration d'ARN du VHC signalée pour en tirer un résultat qualitatif (Tableau 1). Les échantillons dont les résultats sont signalés comme « Non détecté » sont non réactifs pour l'ARN du VHC. Les résultats d'échantillons signalés comme « < 10 détectés » qui se situent dans la plage linéaire et qui sont supérieurs à > 100 000 000 (limite supérieure de quantification) indiquent que de l'ARN du VHC a été détecté et que ces échantillons sont réactifs pour l'ARN du VHC.

Tableau 1 : Interprétation des résultats.

Résultat signalé du test Aptima HCV Quant Dx Assay		Interprétation de la concentration d'ARN du VHC	Interprétation qualitative diagnostique de l'utilisateur ^a
UI/mL	Log ₁₀ Valeur ^b		
Non détecté	Non détecté	ARN du VHC non détecté.	Non réactif pour l'ARN du VHC
< 10 détectés	< 1,00	L'ARN du VHC est détecté mais à une concentration inférieure à la LIQ	Réactif pour l'ARN du VHC
10 à 100 000 000	1,00 à 8,00	La concentration d'ARN du VHC se situe dans la plage linéaire comprise entre 10 et 100 000 000 UI/mL	Réactif pour l'ARN du VHC
> 100 000 000	> 8,00	La concentration d'ARN du VHC est supérieure à la LSQ	Réactif pour l'ARN du VHC
Invalide ^c	Invalide ^c	Une erreur est survenue lors de la génération du résultat. L'échantillon doit être analysé de nouveau	Invalide

^a Une interprétation diagnostique peut être formulée à partir d'échantillons de plasma ou de sérum non dilués.

^b Valeur arrondie à deux décimales.

^c Les résultats invalides sont affichés dans une police de couleur bleue.

Limites

- L'utilisation de ce test est limitée au personnel ayant été formé sur la procédure. Le non-respect des instructions figurant dans cette notice peut donner lieu à des résultats erronés.
- L'obtention de résultats fiables repose sur le prélèvement, le transport, l'entreposage et le traitement appropriés des échantillons.

Performance

Limite de détection (LD) à l'aide de la 2^e norme internationale de l'OMS

Selon la norme CLSI EP17-A2, la limite de détection (LD) est définie comme la concentration d'ARN du VHC dont la probabilité de détection est égale ou supérieure à 95 %.¹⁹

La LD a été déterminée par le test de panels de la 2^e norme internationale de l'OMS pour l'ARN du virus de l'hépatite C (NIBSC 96/798 génotype 1) dilués dans du plasma et du sérum humain négatifs pour le VHC. Au moins 36 réplicats de chaque dilution ont été analysés avec chacun des trois lots de réactifs pour un minimum de 108 réplicats par dilution. Une analyse Probit a été effectuée afin de générer les limites de détection prévues. Les valeurs de LD indiquées au Tableau 2 sont les résultats obtenus avec le lot de réactifs doté de la limite de détection prévue la plus élevée. La LD pour le test Aptima HCV Quant Dx Assay avec la 2^e norme internationale de l'OMS est de 4,3 UI/mL pour le plasma et 3,9 UI/mL pour le sérum.

Tableau 2 : Limite de détection à l'aide de la 2^e norme internationale de l'OMS pour le VHC

Limite de détection prévue	Concentration (UI/mL)	
	Plasma	Sérum
10 %	0,3	0,3
20 %	0,4	0,5
30 %	0,5	0,6
40 %	0,7	0,8
50 %	0,9	1,0
60 %	1,1	1,2
70 %	1,5	1,5
80 %	2,0	2,0
90 %	3,0	2,9
95 %	4,3	3,9

Limite de détection pour tous les génotypes du VHC

La LD a été déterminée en analysant des dilutions d'échantillons cliniques positifs pour le VHC de génotypes 1, 2, 3, 4, 5 et 6 dans du plasma et du sérum humain négatifs pour le VHC. Les concentrations ont été déterminées à l'aide d'un test comparatif*. Au moins 20 réplicats de chaque échantillon du panel ont été analysés avec chacun des trois lots de réactifs pour un minimum de 60 réplicats par échantillon du panel. Une analyse Probit a été effectuée afin de générer des limites de détection prévues de 50 % et 95 %. Les valeurs de LD indiquées au Tableau 3 sont les résultats obtenus avec le lot de réactifs doté de la limite de détection prévue la plus élevée.

*Homologué par Santé Canada.

Tableau 3 : Limite de détection pour tous les génotypes du VHC avec des échantillons cliniques

Génotype	Limite de détection prévue	Concentration (UI/mL)	
		Plasma	Sérum
1	50 %	0,8	1,3
	95 %	3,8	5,1
2	50 %	1,0	1,1
	95 %	2,8	4,0
3	50 %	1,1	1,0
	95 %	4,3	3,4
4	50 %	1,3	0,7
	95 %	4,8	2,3
5	50 %	0,8	0,9
	95 %	2,1	3,2
6	50 %	0,6	0,9
	95 %	3,9	3,9

Plage linéaire

La plage linéaire a été établie en analysant des panels d'ARN du VHC encapsulé (Armored RNA) dilué dans du plasma et du sérum humain négatifs pour le VHC conformément à la norme CLSI EP06-A.²⁰ La concentration des panels allait de 1,0 log UI/mL à 8,2 log UI/mL. La linéarité du test Aptima HCV Quant Dx Assay a été démontrée sur l'ensemble de la plage testée, avec une limite supérieure de quantification (LSQ) de 8,0 log UI/mL, comme l'illustre la Figure 6.

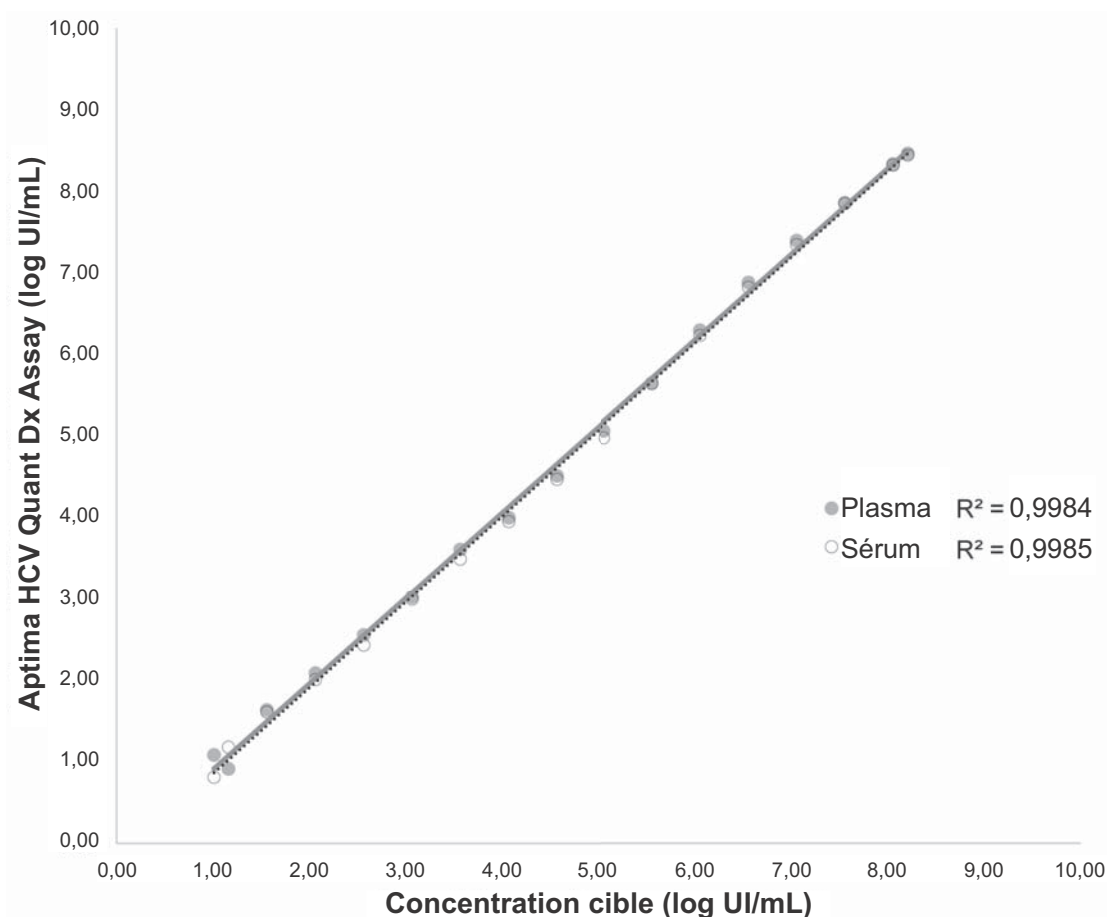


Figure 6. Linéarité dans le plasma et le sérum

Linéarité pour les différents génotypes du VHC

La linéarité de la réponse pour les génotypes 1, 2, 3, 4, 5 et 6 a été confirmée par l'analyse de panels du transcrit VHC dilué dans un tampon à des concentrations allant de 1,36 log UI/mL à 7,36 log UI/mL. Les tests ont été effectués sur trois systèmes Panther avec trois lots de réactifs. La linéarité a été démontrée sur l'ensemble de la plage testée pour tous les génotypes testés, comme l'illustre la Figure 7.



Figure 7. Linéarité pour les génotypes 1 à 6 du VHC

Limite inférieure de quantification (LIQ) à l'aide de la 2^e norme internationale de l'OMS

Selon la norme CLSI EP17-A2, la limite inférieure de quantification (LIQ) est définie comme la concentration la plus faible à laquelle la quantification de l'ARN du VHC est fiable dans les limites d'une erreur totale.¹⁹ L'erreur totale a été estimée à l'aide de deux méthodes : Erreur analytique totale (EAT) = |biais| + 2 écarts-types (ET), et Erreur totale (ET) = racine carrée (2) x 2 écarts-types (ET). Afin de s'assurer de l'exactitude et de la précision des mesures, l'erreur totale du test Aptima HCV Quant Dx Assay était définie comme 1 log UI/mL (c.-à-d. qu'à la LIQ, la différence entre deux mesures de plus de 1 log UI/mL est statistiquement significative).

La LIQ a été déterminée par le test de panels de la 2^e norme internationale de l'OMS pour l'ARN du virus de l'hépatite C (NIBSC 96/798 génotype 1) dilués dans du plasma et du sérum humain négatifs pour le VHC. Au moins 36 réplicats de chaque dilution ont été analysés avec chacun des trois lots de réactifs pour un minimum de 108 réplicats par dilution. Les résultats du lot de réactifs doté de la concentration la plus élevée, supérieure ou égale à la LD et conforme aux exigences de l'ET et de l'EAT, sont illustrés au Tableau 4 pour la plasma et au Tableau 5 pour le sérum. La LIQ pour la 2^e norme internationale de l'OMS est de 7 UI/mL (0,82 log UI/mL) pour le plasma et de 9 UI/mL (0,93 log UI/mL) pour le sérum, comme résumé au Tableau 6. La LIQ a été établie pour tous les génotypes (voir la section suivante « Détermination de la limite inférieure de quantification (LIQ) pour les différents génotypes du VHC »). Ces données sur les génotypes établissent la LIQ générale pour le test à 10 UI/mL.

Tableau 4 : LIQ avec la 2^e norme internationale de l'OMS pour le VHC dilué dans du plasma

Lot de réactifs	Concentration cible	Concentration cible	Aptima HCV Quant Dx	ET	Biais	ET calculée	EAT calculée
	(UI/mL)	(log UI/mL)	(log UI/mL)	(log UI/mL)	(log UI/mL)	(log UI/mL)	(log UI/mL)
1	3	0,48	0,53	0,30	0,05	0,85	0,65
	6	0,78	0,73	0,31	-0,04	0,88	0,67
	8	0,90	1,08	0,23	0,18	0,65	0,64
2	3	0,48	0,37	0,32	-0,11	0,92	0,75
	6	0,78	0,82	0,27	0,04	0,78	0,59
	8	0,90	0,96	0,26	0,06	0,74	0,58
3	3	0,48	0,46	0,25	-0,01	0,71	0,52
	6	0,78	0,76	0,34	-0,02	0,95	0,69
	8	0,90	0,89	0,26	-0,01	0,73	0,53

ET = écart-type

Tableau 5 : LIQ avec la 2^e norme internationale de l'OMS pour le VHC dilué dans du sérum

Lot de réactifs	Concentration cible	Concentration cible	Aptima HCV Quant Dx	ET	Biais	ET calculée	EAT calculée
	(UI/mL)	(log UI/mL)	(log UI/mL)	(log UI/mL)	(log UI/mL)	(log UI/mL)	(log UI/mL)
1	3	0,48	0,65	0,33	0,17	0,94	0,84
	6	0,78	0,93	0,32	0,15	0,90	0,79
	8	0,90	1,08	0,28	0,18	0,80	0,74
2	3	0,48	0,52	0,36	0,04	1,02	0,76
	6	0,78	0,89	0,32	0,11	0,90	0,75
	8	0,90	1,01	0,21	0,11	0,60	0,53
3	3	0,48	0,47	0,39	-0,01	1,11	0,79
	6	0,78	0,71	0,30	-0,06	0,86	0,67
	8	0,90	0,95	0,29	0,05	0,83	0,63

ET = écart-type

Tableau 6 : Résumé de la LIQ avec la 2^e norme internationale de l'OMS pour le VHC

Lot de réactifs	LIQ plasma		LIQ sérum	
	(log UI/mL)	(UI/mL)	(log UI/mL)	(UI/mL)
1	0,73	5	0,93	9
2	0,82	7	0,89	8
3	0,76	6	0,71	5

Détermination de la limite inférieure de quantification (LIQ) pour les différents génotypes du VHC

La LIQ a été déterminée en analysant des dilutions d'échantillons cliniques positifs pour le VHC de génotypes 1, 2, 3, 4, 5 et 6 dans du plasma et du sérum humain négatifs pour le VHC. La concentration de départ des échantillons cliniques a été déterminée à l'aide d'un test comparatif*. Au moins 36 réplicats de chaque échantillon du panel ont été analysés avec chacun des trois lots de réactifs pour un minimum de 108 réplicats par échantillon du panel. Les résultats du lot de réactifs doté de la concentration la plus élevée, supérieure ou égale à la LD et conforme aux exigences de l'ET et de l'EAT, sont illustrés au Tableau 7 pour la plasma et au Tableau 8 pour le sérum. Les LIQ pour les génotypes 1 à 6 dans le plasma et dans le sérum sont résumées au Tableau 9. Ceci a permis d'établir la LIQ générale pour le test à 10 UI/mL.

*Homologué par Santé Canada.

Tableau 7 : Détermination de la LIQ pour les différents génotypes dans du plasma

Génotype	Concentration cible	Concentration cible	Aptima HCV Quant Dx	ET	Biais	ET calculée	EAT calculée
	(UI/mL)	(log UI/mL)	(log UI/mL)	(log UI/mL)	(log UI/mL)	(log UI/mL)	(log UI/mL)
1	3	0,48	0,65	0,38	0,17	1,08	0,94
	6	0,78	0,88	0,35	0,11	1,00	0,82
	8	0,90	0,99	0,24	0,09	0,68	0,56
2	3	0,48	0,63	0,40	0,16	1,13	0,95
	4	0,60	0,76	0,29	0,15	0,81	0,73
	6	0,78	1,12	0,30	0,34	0,86	0,94
3	6	0,78	0,52	0,30	-0,26	0,85	0,86
	10	1,00	0,80	0,21	-0,20	0,59	0,62
	12	1,08	0,89	0,26	-0,19	0,74	0,71
4	8	0,90	0,61	0,39	-0,29	1,11	1,07
	10	1,00	0,82	0,31	-0,18	0,87	0,80
	12	1,08	1,01	0,29	-0,07	0,83	0,65
5	3	0,48	0,57	0,37	0,10	1,06	0,85
	6	0,78	0,87	0,31	0,09	0,89	0,72
	10	1,00	1,15	0,16	0,15	0,44	0,46
6	2	0,30	0,66	0,36	0,36	1,02	1,08
	3	0,48	0,79	0,28	0,31	0,80	0,87
	6	0,78	1,14	0,26	0,36	0,74	0,89

ET = écart-type

Tableau 8 : Détermination de la LIQ pour les différents génotypes dans du sérum

Génotype	Concentration cible	Concentration cible	Aptima HCV Quant Dx	ET	Biais	ET calculée	EAT calculée
	(UI/mL)	(log UI/mL)	(log UI/mL)	(log UI/mL)	(log UI/mL)	(log UI/mL)	(log UI/mL)
1	6	0,78	0,75	0,36	-0,03	1,02	0,75
	8	0,90	0,88	0,32	-0,02	0,89	0,65
	10	1,00	1,04	0,29	0,04	0,81	0,61
2	3	0,48	0,48	0,35	0,00	0,99	0,70
	6	0,78	0,80	0,31	0,02	0,86	0,63
	10	1,00	1,04	0,25	0,04	0,72	0,54
3	6	0,78	0,45	0,25	-0,33	0,72	0,84
	10	1,00	0,67	0,22	-0,33	0,63	0,78
	12	1,08	0,92	0,19	-0,16	0,54	0,54
4	1	0,00	0,19	0,27	0,19	0,77	0,73
	2	0,30	0,65	0,32	0,35	0,91	0,99
	3	0,48	0,65	0,34	0,17	0,96	0,85
5	3	0,46	0,48	0,37	0,02	1,04	0,76
	6	0,76	0,72	0,29	-0,04	0,81	0,61
	9	0,94	1,04	0,27	0,10	0,77	0,65
6	3	0,48	0,58	0,37	0,11	1,04	0,84
	6	0,78	0,99	0,22	0,21	0,61	0,64
	10	1,00	1,25	0,22	0,25	0,63	0,70

ET = écart-type

Tableau 9 : Résumé de la LIQ pour les différents génotypes dans le plasma et le sérum

Génotype du VHC	LIQ plasma		LIQ sérum	
	(log UI/mL)	(UI/mL)	(log UI/mL)	(UI/mL)
1	0,88	8	0,88	8
2	0,76	6	0,80	6
3	0,80	6	0,67	5
4	0,82	7	0,65	4
5	0,87	7	0,72	5
6	0,79	6	0,99	10

Précision

Pour évaluer la précision, un panel de 10 échantillons a été créé en diluant des échantillons cliniques positifs pour le VHC ou en ajoutant de l'ARN encapsulé (Armored RNA) dans du plasma et du sérum négatifs pour le VHC. Le panel a été analysé par trois opérateurs à l'aide de trois lots de réactifs sur trois systèmes Panther sur une période de 21 jours.

Le Tableau 10 indique la précision des résultats du test (en log UI/mL) entre les appareils, entre les opérateurs, entre les lots, entre les séries, dans les séries et en général. La variabilité totale était $\leq 13,31$ % sur l'ensemble des échantillons du panel, surtout en raison de la variabilité intra-série (c.-à-d., erreur aléatoire).

Tableau 10 : Précision du test Aptima HCV Quant Dx Assay

Matrice	N	Concentration moyenne (log UI/mL)	D'un appareil à l'autre		D'un opérateur à l'autre		D'un lot à l'autre		D'une série à l'autre		Intra-série		Total	
			ET	ETR (%)	ET	ETR (%)	ET	ETR (%)	ET	ETR (%)	ET	ETR (%)	ET	ETR (%)
Plasma	98 ^a	1,23	0,00	0,00	0,00	0,00	0,04	3,35	0,06	4,54	0,12	9,84	0,14	11,34
Plasma	162	2,06	0,05	2,23	0,00	0,00	0,07	3,20	0,03	1,47	0,10	4,91	0,14	6,88
Plasma	162	3,02	0,03	0,89	0,01	0,24	0,04	1,47	0,01	0,33	0,09	3,08	0,11	3,77
Plasma	162	4,87	0,00	0,00	0,00	0,00	0,03	0,60	0,04	0,86	0,06	1,13	0,10	2,04
Plasma	162	7,16	0,02	0,21	0,01	0,20	0,04	0,52	0,00	0,00	0,05	0,75	0,09	1,27
Sérum	132 ^a	1,27	0,00	0,00	0,00	0,00	0,07	5,16	0,00	0,00	0,15	12,17	0,17	13,31
Sérum	162	2,17	0,02	0,99	0,04	1,71	0,07	3,01	0,05	2,15	0,08	3,53	0,12	5,61
Sérum	162	3,09	0,02	0,67	0,00	0,00	0,06	1,79	0,03	0,90	0,07	2,26	0,11	3,44
Sérum	161	4,86	0,00	0,00	0,04	0,78	0,08	1,67	0,00	0,00	0,08	1,72	0,13	2,65
Sérum	162	7,16	0,00	0,00	0,05	0,70	0,05	0,73	0,02	0,31	0,04	0,55	0,10	1,35

ET = écart-type, ETR = écart-type relatif

^a Nombre de résultats valides dans la plage linéaire du test.

Remarque : la variabilité de certains facteurs peut être numériquement négative, ce qui peut survenir si la variabilité due à ces facteurs est très minime. Dans ces cas, l'ET et l'ETR sont indiqués par 0.

Substances potentiellement interférentes

La susceptibilité du test Aptima HCV Quant Dx Assay aux interférences générées par des taux élevés de substances endogènes ou de médicaments couramment prescrits chez les personnes infectées par le VHC a été évaluée. Des échantillons de plasma négatifs pour le VHC et des échantillons auxquels a été ajouté de l'ARN du VHC à une concentration de 3,3 log UI/mL ont été analysés.

Aucune altération de performance du test n'a été observée en présence d'albumine (90 mg/mL), d'hémoglobine (5 mg/mL), de triglycérides (30 mg/mL) ou de bilirubine non conjuguée (0,2 mg/mL).

Des échantillons cliniques de plasma prélevés chez des patients présentant des taux élevés des substances définies ou chez des patients souffrant des maladies citées au Tableau 11 ont été analysés avec le test Aptima HCV Quant Dx Assay. Aucune altération de performance du test n'a été observée.

Tableau 11 : Types d'échantillons cliniques testés

Types d'échantillons cliniques	
1	Facteur rhumatoïde (FR)
2	Anticorps antinucléaire (AAN)
3	Anticorps anti-Jo-1 (JO-1)
4	Lupus érythémateux systémique (LES)
5	Polyarthrite rhumatoïde (PR)
6	Sclérose en plaques (SEP)
7	Hyperglobulinémie
8	Alanine aminotransférase (ALT) élevée
9	Aspartate aminotransférase (AST) élevée
10	Cirrhose alcoolique (AC)
11	Myélome multiple (MM)
12	Lipémique (lipides élevés)
13	Ictérique (bilirubine élevée)
14	Hémolysé (hémoglobine élevée)
15	Protéine albumine élevée
16	Anticorps anti-VHB
17	Anticorps anti-VIH-1
18	Anticorps anti-VIH-2

Aucune altération de performance du test n'a été observée en présence des substances exogènes présentées au Tableau 12 à des concentrations d'au moins trois fois la C_{max} (plasma humain).

Tableau 12 : Substances exogènes

Groupe de substances exogènes	Substances exogènes testées
1	Télaprévir, clarithromycine, interféron alpha-2a, dolutégravir, azithromycine
2	Siméprévir, sofosbuvir
3	Éfavirenz, bocéprévir, peginterféron alfa-2b, emtricitabine, raltégravir, amoxicilline
4	Sulfate d'abacavir, ribavirine, dasabuvir, rilpivirine, rifampicine
5	Lopinavir, ténofovir, lamivudine, valganciclovir
6	Héparine, EDTA, citrate de sodium

Spécificité

La spécificité a été déterminée à l'aide de 198 échantillons cliniques frais et 538 échantillons cliniques congelés négatifs pour le VHC. Un total de 370 échantillons de plasma et de 366 échantillons de sérum ont été analysés. La spécificité a été calculée comme le pourcentage d'échantillons négatifs pour le VHC avec des résultats « Non détecté ». L'ARN du VHC n'a pas été détecté dans les 736 échantillons. La spécificité était de 100 % (736/736, IC à 95 % : 99,6 à 100 %).

Tableau 13 : Spécificité dans les échantillons cliniques de plasma et de sérum

	Plasma frais	Plasma congelé	Plasma total	Sérum frais	Sérum congelé	Sérum total	Combinés
Réplicats valides (n)	100	270	370	98	268	366	736
Non détecté	100	270	370	98	268	366	736
Spécificité (IC à 95 %)	100 % (97,1-100)	100 % (98,9-100)	100 % (99,2-100)	100 % (97,0-100)	100 % (98,9-100)	100 % (99,2-100)	100 % (99,6-100)

IC = intervalle de confiance

Spécificité analytique

La réactivité croisée potentielle avec les agents pathogènes énumérés au Tableau 14 a été évaluée en la présence ou l'absence du VHC dans du plasma humain négatif pour le VHC à 3,3 log UI/mL. Aucune réactivité croisée n'a été observée. Aucune altération n'a été observée en présence des agents pathogènes.

Tableau 14 : Agents pathogènes testés pour la spécificité analytique

Agent pathogène	Concentration		Agent pathogène	Concentration	
Virus de l'hépatite A	100 000	copies/mL	<i>Corynebacterium diphtheriae</i>	1 000 000	UFC/mL ^f
Virus de l'hépatite B (VHB)	100 000	UI/mL ^a	<i>Streptococcus pneumoniae</i>	1 000 000	UFC/mL
Virus de l'hépatite G	1 470	UFP/mL ^b	<i>Staphylococcus aureus</i>	1 000 000	UFC/mL
VIH-1	100 000	copies/mL	<i>Propionibacterium acnes</i>	1 000 000	UFC/mL
VIH-2	100 000	UFP/mL	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	1 000 000	UFC/mL
Virus de l'herpès simplex 1 (VHS-1)	100 000	UFP/mL	<i>Candida albicans</i>	1 000 000	UFC/mL
Virus de l'herpès simplex 2 (VHS-2)	100 000	UFP/mL	<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	1 000 000	UFC/mL
Virus de l'herpès humain de type 6B	100 000	copies/mL	<i>Chlamydia trachomatis</i>	1 000 000	UFI/mL ^g
Virus de l'herpès humain de type 8	2 667	DICT50 U/mL ^c	<i>Trichomonas vaginalis</i>	1 000 000	cellules/mL
Virus T-lymphotrope humain de type 1 (HTLV-1)	100 000	pv/mL ^d			
Virus T-lymphotrope humain de type 2 (HTLV-2)	100 000	pv/mL			
Parvovirus B19	100 000	UI/mL			
Virus du Nil occidental	100 000	UFP/mL			
Virus de la dengue de type 1	100 000	UFP/mL			
Virus de la dengue de type 2	100 000	UFP/mL			
Virus de la dengue de type 3	100 000	UFP/mL			
Virus de la dengue de type 4	100 000	UFP/mL			
Cytomégalovirus	100 000	UFP/mL			
Virus Epstein-Barr	100 000	copies/mL			
Virus de la rubéole	100 000	UFP/mL			
Papillomavirus humain	100 000	cellules/mL			
Adénovirus de type 5	100 000	DICT50 U/mL			
Virus grippal A	100 000	DICT50 U/mL			
Virus de l'encéphalite japonaise	SO	SO			
Virus de l'encéphalite de Saint-Louis	SO	SO			
Virus de l'encéphalite de la Murray valley	2 643	DL/mL ^e			
Virus de la fièvre jaune	100 000	cellules/mL			

^aUI/mL = unités internationales par mL

^bUFP/mL = unités de formation de plaques par mL

^cDICT50 U/mL = unités de dose infectante de culture de tissus par mL

^dpv/mL = particules virales par mL

^eDL/mL = dose létale par mL

^fUFC/mL = unités de formation de colonies par mL

^gUFI/mL = unités de formation d'inclusions par mL

Échantillons cliniques contenant des virus autres que le VHC

Les agents pathogènes énumérés au Tableau 15 ont été évalués par l'obtention d'échantillons cliniques individuels naturellement infectés. Ces derniers ont été analysés en la présence ou l'absence de 3,3 log UI/mL d'ARN du VHC. Aucune réactivité croisée n'a été observée. Aucune altération n'a été observée.

Tableau 15 : Échantillons cliniques testés pour la spécificité analytique

Microorganisme	Matrice	N (donneurs)
VHB	sérum	5
VHB	plasma	5
Virus de la dengue	plasma	10
Virus de l'hépatite A	plasma	10
HTLV-1	plasma	10
HTLV-2	plasma	10
VIH-1	plasma	10
Virus du Nil occidental	plasma	10

Reproductibilité des échantillons cliniques

La reproductibilité a été évaluée par l'analyse de trois réplicats d'échantillons cliniques de plasma et de sérum positifs naturellement infectés par le VHC. La concentration moyenne et l'écart-type pour les échantillons de plasma et de sérum sont présentés aux Tableaux 16 et 17.

Tableau 16 : Reproductibilité des échantillons cliniques de plasma

ID d'échantillon de plasma	Concentration moyenne (log UI/mL)	ET
1	1,68	0,05
2	1,69	0,17
3	1,73	0,06
4	1,73	0,06
5	1,84	0,05
6	2,30	0,10
7	2,71	0,09
8	2,80	0,06
9	3,22	0,04
10	3,80	0,05
11	4,12	0,08
12	4,21	0,11
13	4,90	0,14
14	6,94	0,11
15	7,05	0,04

Tableau 17 : Reproductibilité des échantillons cliniques de sérum

ID d'échantillon de sérum	Concentration moyenne (log UI/mL)	ET
1	1,67	0,07
2	1,74	0,10
3	1,86	0,15
4	1,67	0,07
5	2,00	0,07
6	2,51	0,08
7	3,12	0,23
8	3,29	0,02
9	3,70	0,18
10	3,99 ^a	0,13
11	4,35	0,05
12	5,48	0,12
13	5,74	0,07
14	5,80	0,13
15	7,15	0,10

^aRésultat de deux des trois réplicats testés. Un réplicat aberrant a été supprimé.

Dilution d'échantillons à l'aide du diluant d'échantillon

Pour évaluer la récupération de l'ARN du VHC dans les échantillons dilués avec du diluant d'échantillon Aptima, des échantillons de plasma et de sérum couvrant l'ensemble de la plage linéaire ont été dilués 1:3 avec du diluant d'échantillon Aptima. De plus, des échantillons cliniques à titre élevé naturellement infectés et des échantillons auxquels avait été ajouté de l'ARN encapsulé (Armored RNA) aux concentrations supérieures à la LSQ ont été dilués 1:100 avec le diluant d'échantillon Aptima. Chaque échantillon a été testé non dilué et dilué (1:3 ou 1:100) en triplicat. Les différences entre la concentration moyenne signalée (facteur de dilution appliqué au résultat de l'échantillon dilué) et la concentration non diluée moyenne sont indiquées au Tableau 18 pour le plasma et au Tableau 19 pour le sérum. Les concentrations des échantillons ont été récupérées avec précision dans les échantillons dilués.

Tableau 18 : Dilution d'échantillon avec le diluant d'échantillon Aptima – Plasma

Dilution	Concentration non diluée moyenne (log UI/mL)	Concentration rapportée moyenne ^a (log UI/mL)	Différence
1:3	1,68	1,89	-0,21
	1,69	1,69	0,00
	1,73	2,11	-0,38
	1,73	1,78	-0,05
	1,84	1,80	0,04
	2,30	2,23	0,07
	2,71	2,76	-0,05
	2,80	2,76	0,04
	3,22	3,28	-0,06
	3,80	3,71	0,09
	4,12	4,06	0,06
	4,21	4,07	0,14
	4,90	4,68	0,22
	6,94	6,72	0,22
7,05	6,91	0,14	
1:100	7,05	6,59	0,46
	> 8,00 (8,45) ^b	8,38	0,07

^aLa concentration signalée est la valeur calculée par le système Panther après l'application du facteur de dilution.

^bÉchantillon enrichi en ARN.

Remarque : tous les résultats > 8,00 log UI/mL ont été estimés à l'aide d'une analyse supplémentaire.

Tableau 19 : Dilution d'échantillon avec le diluant d'échantillon Aptima – Sérum

Facteur de dilution	Concentration non diluée moyenne	Concentration rapportée moyenne ^a	Différence
	(log UI/mL)	(log UI/mL)	
1:3	1,67	1,85	-0,18
	1,74	1,72	0,02
	1,86	1,66	0,20
	1,67	1,85	-0,18
	2,00	1,91	0,09
	2,51	2,37	0,14
	3,12	3,01	0,11
	3,29	3,35	-0,06
	3,70	3,53	0,17
	3,99 ^c	3,87	0,12
	4,35	4,30	0,05
	5,48	5,25	0,23
	5,74	5,62	0,12
	5,80	5,50	0,30
	7,15	6,86	0,29
1:100	7,15	6,65	0,50
	> 8,00 (8,44) ^b	8,46	-0,02

^aLa concentration signalée est la valeur calculée après l'application du facteur de dilution.

^bÉchantillon enrichi en ARN.

^cRésultat de deux des trois réplicats testés. Un réplicat aberrant a été supprimé.

Remarque : tous les résultats > 8,00 log UI/mL ont été estimés à l'aide d'une analyse supplémentaire.

Corrélation de la méthode

La performance du test Aptima HCV Quant Dx Assay a été évaluée par rapport à un test comparatif* en testant des échantillons cliniques non dilués provenant de patients infectés par le VHC sur trois systèmes Panther à l'aide de quatre lots de réactifs. Au total, 1 058 échantillons de plasma et de sérum (872 de plasma, 186 de sérum) pour tous les différents génotypes du VHC dans la plage linéaire commune aux deux tests ont été utilisés pour la régression linéaire, comme l'illustre la Figure 8.

**Homologué par Santé Canada.*

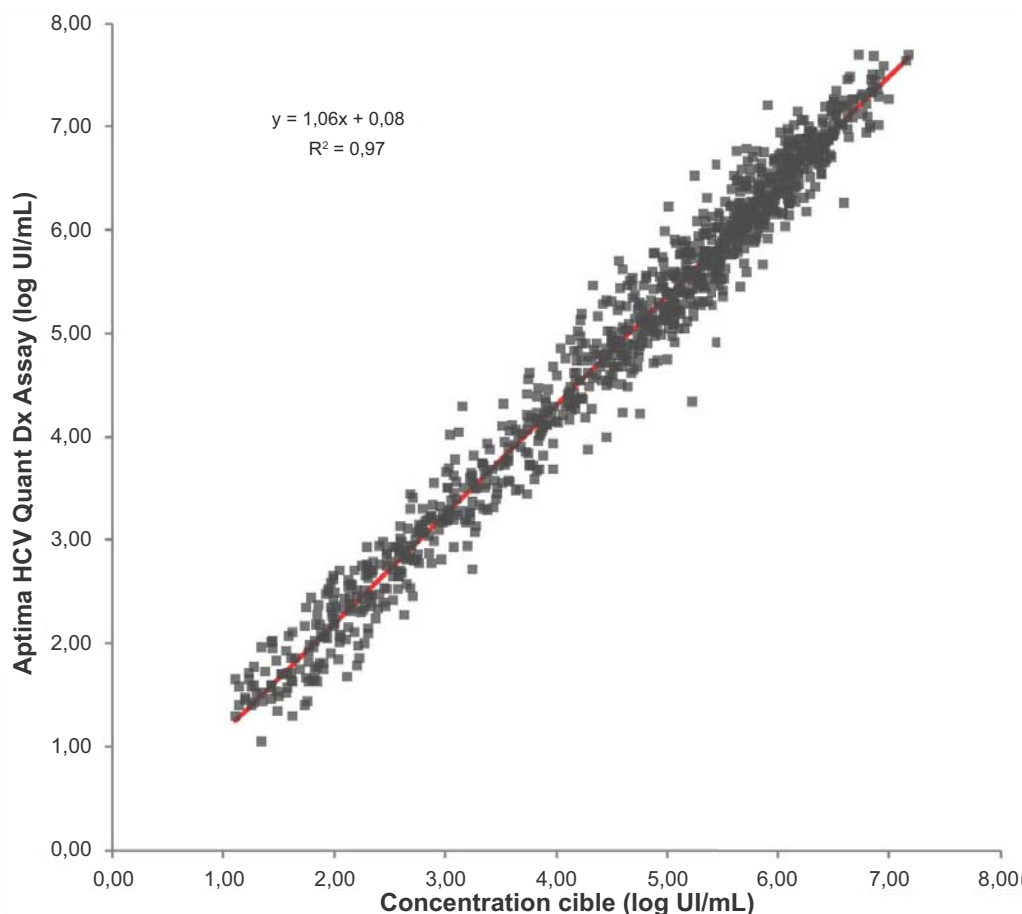


Figure 8. Corrélation entre le test Aptima HCV Quant Dx Assay et le test comparatif

Concordance diagnostique

Pour évaluer la concordance diagnostique, 227 échantillons de plasma et de sérum provenant de personnes positives pour le VHC ont été testés à l'aide du test Aptima HCV Quant Dx Assay et d'un test qualitatif comparatif. Tout résultat donnant un résultat quantifiable ou détectable a été classé comme « Détecté ». Tout résultat de cible non détectée a été classé comme « Cible non détectée ». La concordance diagnostique entre les tests étaient de 100 %, comme l'illustre le Tableau 20.

Tableau 20 : Concordance diagnostique entre le test Aptima HCV Quant Dx Assay et le test comparatif

		Aptima HCV Quant Dx Assay	
		Détecté	Cible non détectée
Test comparatif	Détecté	99	0
	Cible non détectée	0	128

Contamination de transfert

Afin d'établir que le système Panther minimise le risque de résultats faussement positifs par contamination de transfert, une étude a été menée sur trois systèmes Panther avec des échantillons enrichis en ARN. La contamination par transfert a été évaluée à l'aide d'échantillons à titre élevé enrichis en ARN encapsulé (Armored RNA) (7 log UI/mL) répartis entre des échantillons négatifs pour le VHC selon un motif en damier. Les tests ont comporté un ensemble de quinze séries. Le taux de contamination de transfert global était de 0,14 % (1/704).

Panel de séroconversion

Onze ensembles de panels de séroconversion au VHC, totalisant 72 échantillons, ont été analysés. Les résultats du test Aptima HCV Quant Dx Assay ont été comparés aux résultats du test de détection des anticorps anti-VHC. Le nombre de jours avant le premier résultat réactif est indiqué au Tableau 21. Le test Aptima HCV Quant Dx Assay a détecté la présence du VHC en moyenne 20 jours avant les tests de détection des anticorps.

Tableau 21 : Résumé des données du panel de séroconversion

ID du panel	Nombre d'échantillons du panel testés	Nombre d'échantillons du panel réactifs			Jours avant le premier résultat réactif			Différences en jours avant le premier résultat réactif (basée sur la date de prélèvement)	
		Aptima HCV Quant Dx	Test 1 de détection des anticorps anti-VHC	Test 2 de détection des anticorps anti-VHC	Aptima HCV Quant Dx	Test 1 de détection des anticorps anti-VHC	Test 2 de détection des anticorps anti-VHC	Jours avant le test 1 de détection des anticorps anti-VHC	Jours avant le test 2 de détection des anticorps anti-VHC
PHV911	4	4	3	3	3 ^a	14	14	11	11
PHV913	4	4	0	2	0	9 ^b	7	9	7
PH919	7	4	3	3	25	28	28	3	3
PH920	9	9	7	6	0 ^c	13	16	13	16
PH921	11	11	9	7	0	7	18	7	18
PH923	6	6	2	2	0	21	21	21	21
PH924	6	6	3	3	0	59	59	59	59
PH925	5	5	1	1	0	27	27	27	27
PH926	5	5	1	0	0	14	14 ^b	14	14
6227	7	4	2	2	42	74	74	32	32
6229	8	8	4	3	0	17	20	17	20
Total	72	66	35	32			Moyenne	19,36	20,73
							Médiane	14	18

Le test 1 de détection des anticorps anti-VHC a été réalisé avec le test Abbot Prism HCV.

Le test 2 de détection des anticorps anti-VHC a été réalisé avec le test Ortho Enhanced SAVE, à l'exception des panels suivants : 6227 et 6229, analysés avec le test Ortho ELISA Anti-HCV 3.0.

^aLe premier prélèvement n'a pas été analysé en raison de l'indisponibilité de l'échantillon chez le fournisseur.

^bTous les prélèvements de ce panel ont été non réactifs pour les anticorps anti-VHC. Le jour du dernier prélèvement a été utilisé pour déterminer les « jours avant le premier résultat réactif ».

^cLe deuxième prélèvement n'a pas été analysé en raison de l'indisponibilité de l'échantillon chez le fournisseur.

Performance clinique

Les échantillons ont été analysés avec un test d'ARN du VHC qualitatif comparatif et le test Aptima HCV Quant Dx Assay. La concordance entre les résultats qualitatifs du test d'ARN du VHC comparatif et du test Aptima HCV Quant Dx Assay a été calculée à l'aide de la limite de détection du test Aptima HCV Quant Dx Assay comme valeur seuil pour déterminer la présence ou l'absence d'une infection active (p. ex., les résultats « Non détecté » indiquaient l'absence d'une infection active. Voir Tableau 22). Sur les 338 sujets anti-VHC positifs, l'ARN du VHC a été détecté chez 259 sujets par le test d'ARN du VHC comparatif, de même que par le test Aptima HCV Quant Dx Assay (concordance positive = 100 %).

Tableau 22 : Concordance entre les résultats du test d'ARN du VHC comparatif et du test Aptima HCV Quant Dx Assay chez des sujets anti-VHC positifs

n	Réactif au test d'ARN du VHC		Non réactif au test d'ARN du VHC		% de concordance positive (IC de 95 %)¹	% de concordance négative (IC de 95 %)²
	Détecté par Aptima	Non détecté par Aptima	Détecté par Aptima	Non détecté par Aptima		
338	259	0	3 ^b	76	100 (98,5-100)	96,2 (89,4-98,7)

Aptima = test Aptima HCV Quant Dx Assay, IC = intervalle de confiance

¹IC du résultat.

² Les 3 sujets anti-VHC positifs avaient des résultats de test Aptima HCV Quant Dx Assay < 10 UI/mL.

Étude de reproductibilité

La reproductibilité a été évaluée sur le système Panther au sein de trois sites externes. Deux opérateurs ont effectué les tests à chaque site. Chaque opérateur a effectués deux séries par jour sur une période de trois jours, avec 3 lots de réactifs pendant la durée des tests. Chaque série comportait 3 réplicats de chaque échantillon du panel. Dans l'ensemble, 108 réplicats de chaque échantillon du panel ont été analysés.

La reproductibilité a été évaluée à l'aide d'échantillons du panel composés de plasma négatif pour le VHC. Les échantillons du panel positifs étaient positifs pour le génotype 1, le génotype 2 ou le génotype 3 du VHC. Les concentrations d'ARN du VHC ont couvert la plage linéaire du test.

Le Tableau 23 présente la reproductibilité et la précision des résultats de test pour chaque échantillon positif du panel entre les sites, entre les opérateurs, entre les lots, entre les jours, entre les séries, dans les séries et dans l'ensemble, ainsi que la proportion de réplicats avec des résultats en dehors de la plage signalable du test Aptima HCV Quant Dx Assay.

Pour l'échantillon du panel négatif pour le VHC, 108 réplicats ont été analysés et l'ARN du VHC n'a pas été détecté dans les 108 réplicats (concordance négative = 100 %, IC à 95 % : 96,6 % à 100 %). Pour tous les échantillons du panel positifs pour le VHC, les valeurs de concordance étaient de 100 %.

Tableau 23 : Reproductibilité des taux d'ARN du VHC du test Aptima HCV Quant Dx Assay (en Log₁₀ UI/mL) sur le système Panther sur des échantillons du panel positifs

GT	Moyenne observée		Entre les sites	Entre les opérateurs	Entre les lots	Entre les jours	Entre les séries	Dans les séries	Total	Sous LIQ	Au-dessus LSQ
	UI/mL	Log ₁₀ UI/mL	ET (% ETR)	ET (% ETR)	ET (% ETR)	ET (% ETR)	ET (% ETR)	ET (% ETR)	ET (% ETR)	n (%)	n (%)
1	10,6	1,0	0,070 (16,22)	0,000 (0,00)	0,048 (10,98)	0,000 (0,00)	0,040 (9,20)	0,258 (64,93)	0,274 (69,94)	59 (54,6)	0 (0,0)
	19,5	1,3 ^a	0,034 (7,77)	0,009 (2,10)	0,035 (7,97)	0,000 (0,00)	0,064 (14,91)	0,169 (40,31)	0,187 (45,12)	9 (8,4)	0 (0,0)
	43,6	1,6	0,000 (0,00)	0,000 (0,00)	0,070 (16,11)	0,000 (0,00)	0,061 (14,13)	0,155 (36,82)	0,180 (43,39)	0 (0,0)	0 (0,0)
	602,7	2,8	0,042 (9,58)	0,022 (5,05)	0,035 (8,02)	0,000 (0,00)	0,023 (5,30)	0,075 (17,40)	0,098 (22,81)	0 (0,0)	0 (0,0)
	22710,9	4,3	0,075 (17,42)	0,043 (9,97)	0,045 (10,49)	0,006 (1,46)	0,058 (13,46)	0,071 (16,57)	0,135 (31,74)	0 (0,0)	0 (0,0)
	4195539,0	6,6	0,007 (1,65)	0,000 (0,00)	0,026 (6,08)	0,045 (10,43)	0,000 (0,00)	0,131 (30,97)	0,142 (33,50)	0 (0,0)	0 (0,0)
	58549271,2	7,8	0,010 (2,26)	0,000 (0,00)	0,000 (0,00)	0,022 (5,10)	0,035 (8,08)	0,105 (24,42)	0,113 (26,43)	0 (0,0)	1 (0,9)
2	11,3	1,0	0,062 (14,29)	0,000 (0,00)	0,075 (17,28)	0,112 (26,28)	0,000 (0,00)	0,290 (75,02)	0,326 (86,94)	53 (49,1)	0 (0,0)
	13,9	1,1	0,000 (0,00)	0,128 (30,18)	0,125 (29,36)	0,000 (0,00)	0,068 (15,83)	0,211 (51,69)	0,285 (73,45)	46 (42,6)	0 (0,0)
	62,6	1,8	0,000 (0,00)	0,101 (23,48)	0,044 (10,18)	0,000 (0,00)	0,069 (16,00)	0,124 (29,25)	0,180 (43,24)	0 (0,0)	0 (0,0)
	351,0	2,5	0,022 (5,18)	0,000 (0,00)	0,062 (14,38)	0,004 (1,01)	0,045 (10,31)	0,081 (18,70)	0,113 (26,56)	0 (0,0)	0 (0,0)
	14519,2	4,1	0,000 (0,00)	0,000 (0,00)	0,051 (11,78)	0,048 (11,01)	0,011 (2,42)	0,092 (21,50)	0,116 (27,25)	0 (0,0)	0 (0,0)
	5810012,3	6,8	0,000 (0,00)	0,034 (7,82)	0,017 (4,00)	0,024 (5,44)	0,015 (3,53)	0,104 (24,25)	0,114 (26,73)	0 (0,0)	0 (0,0)
	77499195,7	7,9	0,000 (0,00)	0,022 (5,09)	0,018 (4,24)	0,018 (4,14)	0,000 (0,00)	0,077 (17,77)	0,084 (19,46)	0 (0,0)	10 (9,3)

Tableau 23 : Reproductibilité des taux d'ARN du VHC du test Aptima HCV Quant Dx Assay (en Log_{10} UI/mL) sur le système Panther sur des échantillons du panel positifs (suite)

GT	Moyenne observée		Entre les sites	Entre les opérateurs	Entre les lots	Entre les jours	Entre les séries	Dans les séries	Total	Sous LIQ n (%)	Au-dessus LSQ n (%)
	UI/mL	Log_{10} UI/mL	ET (% ETR)	ET (% ETR)	ET (% ETR)	ET (% ETR)	ET (% ETR)	ET (% ETR)	ET (% ETR)		
3	8,6	0,9 ^a	0,049 (11,32)	0,000 (0,00)	0,103 (24,05)	0,056 (12,95)	0,000 (0,00)	0,225 (55,47)	0,258 (65,16)	71 (66,4)	0 (0,0)
	14,3	1,1	0,157 (37,31)	0,076 (17,53)	0,000 (0,00)	0,050 (11,46)	0,000 (0,00)	0,178 (42,88)	0,254 (63,90)	36 (33,3)	0 (0,0)
	49,9	1,7 ^a	0,119 (27,96)	0,032 (7,35)	0,065 (15,08)	0,034 (7,89)	0,034 (7,81)	0,109 (25,42)	0,183 (44,15)	0 (0,0)	0 (0,0)
	218,3	2,2	0,324 (86,23)	0,132 (31,00)	0,043 (10,01)	0,045 (10,31)	0,063 (14,64)	0,082 (19,09)	0,370 (103,21)	0 (0,0)	0 (0,0)
	8541,1	3,9 ^a	0,248 (61,97)	0,149 (35,41)	0,056 (12,90)	0,021 (4,82)	0,048 (10,99)	0,078 (18,19)	0,309 (81,20)	0 (0,0)	0 (0,0)
	4128761,4	6,6 ^a	0,044 (10,17)	0,000 (0,00)	0,000 (0,00)	0,000 (0,00)	0,042 (9,61)	0,126 (29,65)	0,140 (33,06)	0 (0,0)	0 (0,0)
	63813728,0	7,8	0,012 (2,84)	0,000 (0,00)	0,000 (0,00)	0,000 (0,00)	0,059 (13,76)	0,092 (21,32)	0,110 (25,71)	0 (0,0)	3 (2,8)

% ETR = écart-type relatif log-normal, GT = génotype, ET = écart-type (log_{10} UI/mL)

Remarque : la variabilité de certains facteurs peut être numériquement négative. Ceci peut survenir si la variabilité due à ces facteurs est très minime. Dans ces cas, l'ET et l'ETR sont indiqués par 0.

^a N = 107 pour ces échantillons du panel. Un réplicat a obtenu un résultat invalide.

Bibliographie

1. Averhoff FM, Glass N and Holtzman D. Global Burden of Hepatitis C: Considerations for Healthcare Providers in the United States. *Clinical Infectious Diseases* 2012; 55 (S1): S10-15.
2. Current and Future Disease Progression of the Chronic HCV Population in the United States (2013) *PLOS ONE* Volume 8: Issue 5; 1-10.
3. Engle RE, Bukh J, Alter HJ et al., <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24797372> Transfusion-associated hepatitis before the screening of blood for hepatitis risk factors. *Transfusion*. 2014 May 5
4. Lee M-H, Yang, H-I, Yuan Y et al., Epidemiology and natural history of hepatitis C virus infection. *World J Gastroenterology* 2014; 20 (28): 9270-9280
5. Hepatitis C Viruses: Genome and Molecular Biology (2006); Horizon Biosciences
6. Smith DB, Bukh J, Kuiken C, et al, P. Expanded classification of hepatitis C virus into 7 genotypes and 67 subtypes: updated criteria and genotype assignment web resource. *Hepatology*. 2014 Jan;59(1):318-27.
7. EASL Recommendations on treatment of Hepatitis C 2014: www.easl.eu/_clinical-practice-guideline
8. AASLD and the Infectious Diseases Society of America (IDSA), in collaboration with the International Antiviral Society-USA (IAS-USA) 2014: www.hcvguidelines.org
9. CDC. Testing for HCV infection: An update for clinicians and laboratories. *MMWR* 2013; 62 (18)
10. Rutter, K, Hofer H, Beinhardt, S et al., Durability of SVR in chronic hepatitis C patients treated with peginterferon- α 2a/ribavirin in combination with a direct acting antiviral. *Aliment Pharmacol Ther*. 2013 Jul;38(2):118-23.
11. Treatment of Hepatitis C, A Systemic Review (2014) *JAMA* Volume 312: No.6; 631-640.
12. EASL International Consensus Conference on Hepatitis C. Consensus Statement. *J Hepatol* 1999; 30; 956-61
13. NIH Consensus and State-of-the-Science Statements. Management of Hepatitis C: 2002; 19 (3):1-46
14. Peiffer K-H and Sarrazin C. The importance of HCV RNA measurement in tailoring treatment duration: *Digestive and Liver Disease* 45S (2013) S323-S331.
15. **Clinical and Laboratory Standards Institute**. 2005. Collection, Transport, Preparation, and Storage of Specimens for Molecular Methods; Approved Guideline. CLSI Document MM13-A. Wayne, PA.
16. **29 CFR Part 1910.1030**. Occupational Exposure to Bloodborne Pathogens; current version.
17. **Centers for Disease Control and Prevention/National Institutes of Health**. Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories (BMBL); current version.
18. **Clinical and Laboratory Standards Institute**. 2002. Clinical Laboratory Waste Management. CLSI Document GP5-A2. Villanova, PA.
19. **Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI)**. 2012. Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures; Approved Guideline—Second Edition. CLSI Document EP17-A2. Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne, PA.
20. **Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI)**. 2003. Evaluation of the Linearity of Quantitative Measurement Procedures: A Statistical Approach; Approved Guideline. CLSI document EP06-A. Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne, PA.



Hologic, Inc.

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

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

Pour d'autres coordonnées, visitez le site www.hologic.com.

Hologic, Aptima, Panther 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.

Armored RNA est une marque de commerce de Asuragen, Inc.

Ce produit peut être couvert par un ou plusieurs brevets américains identifiés sur le site www.hologic.com/patents.

© 2018 Hologic, Inc. Tous droits réservés.

AW-15249-2201, Rév. 002

2018-10