

Test Aptima™ HIV-1 Quant Dx

Pour diagnostic *in vitro*.

Réservé à l'exportation américaine.

Informations générales	2
Usage prévu	2
Résumé et explication du test	2
Principes de la procédure	3
Avertissements et précautions	4
Conditions de conservation et de manipulation des réactifs	7
Collecte et conservation des échantillons	8
Échantillons placés à bord du Panther System	11
Transport des échantillons	11
Panther System	12
Réactifs et matériels fournis	12
Matériel requis mais disponible séparément	14
Matériel optionnel	15
Procédure de test pour le Panther System	15
Remarques concernant la procédure	20
Contrôle de qualité	21
Calibration du test	21
Contrôles négatifs et positifs	21
Calibrateur interne/Contrôle interne	21
Interprétation des résultats	22
Limites	23
Performances	24
Limite de détection (LoD) à l'aide du 3ème étalon de référence international de l'OMS pour le VIH-1	24
Limite de détection pour différents sous-types et groupes du VIH-1	25
Plage linéaire	26
Linéarité pour différents sous-types et groupes du VIH-1	27
Limite inférieure de quantification à l'aide du 3ème étalon de référence international de l'OMS pour le VIH-1	28
Vérification de la LLoQ pour les sous-types et groupes du VIH-1	29
Précision	30
Substances potentiellement interférentes	31
Spécificité	33
Spécificité analytique	34
Reproductibilité des échantillons cliniques	35
Dilution d'échantillons à l'aide du diluant d'échantillon	36
Corrélation de la méthode	37
Concordance diagnostique	38
Contamination de transfert	38
Panel de séroconversion	39
Étude d'équivalence entre le sérum et le plasma	40
Bibliographie	41

Informations générales

Usage prévu

Le test Aptima HIV-1 Quant Dx est un test d'amplification de l'acide nucléique *in vitro* conçu pour détecter et quantifier le ARN du virus de l'immunodéficience humaine de type 1 (VIH-1) des groupes M, N et O, à l'aide du Panther™ System entièrement automatisé. Il est destiné à faciliter le diagnostic de l'infection par le VIH-1, à confirmer une telle infection et à faciliter la prise en charge clinique de patients infectés par le VIH-1.

Le test Aptima HIV-1 Quant Dx peut être utilisé pour faciliter le diagnostic d'une infection par le VIH-1, y compris une primo-infection ou une infection en phase aiguë. La présence de l'ARN du VIH-1 dans le sérum ou le plasma de patients sans anticorps dirigés contre le VIH-1 témoigne d'une primo-infection ou d'une infection en phase aiguë. Le test Aptima HIV-1 Quant Dx peut être utilisé en tant que test supplémentaire pour les échantillons dont les résultats sont réactifs à plusieurs reprises avec des tests immunologiques approuvés pour le VIH. Si un résultat réactif est obtenu avec le test Aptima HIV-1 Quant Dx, alors l'infection par le VIH-1 est confirmée.

Le test Aptima HIV-1 Quant Dx peut également être utilisé en association avec le tableau clinique et d'autres marqueurs biologiques pour déterminer le pronostic clinique de personnes infectées par le VIH-1. Le test Aptima HIV-1 Quant Dx peut servir d'outil de suivi de l'effet d'un traitement antirétroviral par la mesure des variations de la concentration en ARN du VIH-1 dans le plasma.

Lorsqu'utilisé pour faciliter le diagnostic d'une infection par le VIH-1, les performances du test Aptima HIV-1 Quant Dx pour l'obtention de résultats qualitatifs ont été établies aussi bien pour des échantillons de plasma que de sérum.* Lorsqu'utilisé comme outil de suivi d'une thérapie antirétrovirale, les performances pour l'obtention de résultats quantitatifs ont été établies uniquement pour des échantillons de plasma. Des échantillons de sérum ne peuvent pas être utilisés pour l'obtention de résultats quantitatifs.

Ce test n'est pas destiné à être utilisé pour le dépistage de donneurs de sang ou de plasma.

Résumé et explication du test

Des études épidémiologiques ont permis d'identifier le virus de l'immunodéficience humaine de type 1 (VIH-1) en tant qu'agent étiologique du syndrome d'immunodéficience acquise (SIDA) (1-7). Le VIH peut être transmis par contact sexuel, exposition à du sang ou à des produits sanguins infectés, ou par une mère séropositive à son fœtus (8). Dans les 3 à 6 semaines après avoir été exposées, les personnes infectées développent généralement un bref syndrome aigu caractérisé par un état grippal et associé à une virémie élevée dans le sang périphérique (9-12). Chez la plupart des personnes infectées, cette phase précoce est suivie par une réponse immunologique spécifique contre le VIH et une baisse de la virémie plasmatique, le plus souvent dans les 4 à 6 semaines après la survenue des symptômes (13-14). À la suite de la séroconversion s'installe classiquement une phase asymptomatique cliniquement stable qui peut durer des années (15-17). Cette période asymptomatique se caractérise par une virémie plasmatique faible mais persistante (18), ainsi qu'une déplétion progressive en lymphocytes T CD4+. Cette déplétion aboutit à une immunodéficience sévère, des infections opportunistes multiples, des tumeurs malignes et le décès (19). Bien que le taux de virus soit relativement faible dans le sang périphérique pendant la phase asymptomatique de l'infection, il semblerait que la réplication et la clairance virales soient des procédés dynamiques dans lesquels les forts taux de production du virus et d'infection des cellules CD4+ soient contrebalancés par des taux aussi élevés de clairance virale, de mort des cellules infectées et de réapprovisionnement en cellules CD4+, ce qui conduit à une stabilité relative de la virémie plasmatique et du nombre de cellules CD4+ (20-22).

Des mesures quantitatives du VIH dans le sang périphérique ont démontré que des taux de virus élevés pourraient être corrélés avec un risque accru de progression de maladies associées au VIH, et qu'une baisse du taux de virus plasmatique pourrait être associée à une réduction du risque de progression de la maladie (23-25). Le taux de virus dans le sang périphérique peut être quantifié par dosage de l'antigène sérique VIH p24, par culture quantitative du VIH à partir du plasma ou par dosage direct de l'ARN viral dans le plasma au moyen d'une amplification de l'acide nucléique ou de technologies d'amplification du signal (26-30).

Actuellement, la détection d'une infection par le VIH-1 repose principalement sur des tests sérologiques de détection d'anticorps et/ou un test immunologique pour l'antigène p24. Les Centers for Disease Control (Centres pour le contrôle des maladies) des États-Unis recommandent l'utilisation d'un test de détection d'anticorps et d'un test ARN afin de diagnostiquer des infections aiguës dues au VIH (31). Même si la sensibilité de la détection d'anticorps dirigés contre le VIH-1 et de l'antigène p24 a été améliorée, il existe toujours une période de latence sérologique entre le moment de l'infection et le moment où les marqueurs sérologiques peuvent être détectés. Cette période de latence sérologique est fonction de la sensibilité du test sérologique utilisé. Il a été estimé que les tests de détection d'anticorps/de l'antigène p24 de 4^{ème} génération peuvent détecter l'infection lorsque la concentration en ARN du VIH-1 atteint 14 000 copies/ml (32). La limite de détection du test Aptima HIV-1 Quant Dx est nettement inférieure à 14 000 copies/ml et pourrait permettre de détecter la présence du VIH-1 avant les tests immunologiques.

Les techniques moléculaires telles que l'amplification médiée par la transcription (Transcription-Mediated Amplification, TMA) ont été largement utilisées pour amplifier des acides nucléiques (31). La TMA utilise la capture de cible spécifique et l'amplification isotherme pour détecter des acides nucléiques dans de nombreux agents pathogènes infectieux (32).

Le test Aptima HIV-1 Quant Dx est basé sur la technique de la TMA et utilise plusieurs longues amorces qui ciblent plusieurs régions du génome du VIH-1 afin de compenser le taux de mutation élevé et les multiples mutations potentielles dans la région cible.

Principes de la procédure

Le test Aptima HIV-1 Quant Dx comprend trois étapes principales, toutes réalisées dans un même tube à bord du Panther System : capture de cible, amplification de la cible par amplification médiée par la transcription (Transcription-Mediated Amplification, TMA) et détection des produits d'amplification (amplicons) par sondes fluorescentes (torches moléculaires).

Lors de la capture de cible, l'acide nucléique viral est isolé à partir des échantillons. L'échantillon est traité par 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 du VIH-1, 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 application d'un champ magnétique. Plusieurs étapes de lavage permettent d'enlever les composants non désirés du tube réactionnel.

L'amplification de la cible se fait par TMA, qui est une méthode d'amplification d'acide nucléique médiée par la transcription qui utilise deux enzymes, la transcriptase inverse MMLV (virus de la leucémie murine de Moloney) et la polymérase de l'ARN T7. La transcriptase inverse permet de générer une copie en ADN de la séquence cible (contenant une séquence de promoteur pour la polymérase de l'ARN T7). La polymérase de l'ARN T7 produit de multiples copies en ARN de l'amplicon à partir de la matrice en ADN. Le dosage Aptima HIV-1

Quant Dx utilise la méthode TMA pour amplifier deux régions de l'ARN du VIH-1 (pol et LTR). L'amplification de ces régions spécifiques est obtenue à l'aide d'amorces spécifiques conçues pour amplifier le VIH-1 de groupe M, N et O. La conception des amorces et l'approche à deux cibles garantissent une détection et une quantification précises du VIH-1.

La détection de l'amplicon se déroule en temps réel par l'hybridation spécifique sur l'amplicon de torches moléculaires en 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 (quencher). Lorsque la torche moléculaire n'est pas hybridée à l'amplicon, le suppresseur se trouve proche du fluorophore et empêche l'émission de 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 fluorescent augmente avec le nombre de torches moléculaires hybridées à l'amplicon. La durée nécessaire pour que le signal fluorescent atteigne un seuil spécifique est proportionnelle à la concentration initiale en VIH-1. Chaque réaction comprend un calibrateur interne/contrôle interne (Internal Control, IC) qui permet de détecter des différences de traitement des échantillons, d'amplification et de détection. La concentration en VIH-1 d'un échantillon est calculée par le Panther System Software en utilisant les signaux obtenus pour le VIH-1 et l'IC pour chaque échantillon et en les comparant aux données de calibration.

Avertissements et précautions

- A. Pour diagnostic *in vitro*.
- B. Afin de réduire le risque d'obtention de résultats non valides, lisez attentivement l'ensemble de la notice du test et le *Panther System Operator's Manual* (manuel de l'opérateur du Panther System) avant d'effectuer ce test.

Recommandations concernant les laboratoires

-  C. **PRÉCAUTION** : les contrôles de ce test contiennent du plasma humain. Ce 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 méthodes approuvées par la Food and Drug Administration des États-Unis. De plus, ce plasma est non réactif pour l'ARN du VHC et l'ARN du VIH-1 lorsque analysé 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 en appliquant les précautions universelles (35-37).
- D. Cette procédure ne doit être réalisée que par des membres du personnel dûment formés à l'utilisation du test Aptima HIV-1 Quant Dx et à la manipulation de produits potentiellement infectieux. En cas de projection, désinfectez immédiatement en suivant les procédures appropriées de l'établissement.
- E. N'utilisez que le matériel de laboratoire jetable fourni ou recommandé.
- F. Prenez les précautions de laboratoire habituelles. Ne pas pipeter avec la bouche. Ne pas manger, boire ou 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.

- G. Les plans de travail, les pipettes et les autres matériels doivent être régulièrement décontaminés avec une solution d'hypochlorite de sodium de 2,5 % à 3,5 % (0,35 M à 0,5 M).
- H. Jetez tous les matériels ayant été au contact d'échantillons ou de réactifs selon la réglementation en vigueur au niveau local et national (35-38). Nettoyez et désinfectez soigneusement toutes les surfaces de travail.
- I. Les contrôles contiennent de l'azote de sodium comme conservateur. Ne pas utiliser des tubes métalliques pour le transfert de réactifs. En cas d'élimination de solutions contenant de l'azote de sodium par le système d'évacuation des eaux usées, 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 des canalisations en métal, laquelle pourrait favoriser le développement de conditions explosives.
- J. Les bonnes pratiques générales 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 cotonné et faites-le correspondre au tube d'aliquote d'échantillon Aptima (SAT).
 2. Étiquetez chaque SAT de manière appropriée.
 3. Remplissez chaque SAT avec 1 ml de diluant d'échantillon Aptima.
 4. Pour recueillir des échantillons à partir des surfaces, humidifiez légèrement un écouvillon avec de l'eau désionisée exempte de nucléases.
 5. Passez l'écouvillon sur la surface d'intérêt en effectuant un mouvement vertical de haut en bas. Faites tourner l'écouvillon d'environ un demi-tour pendant le geste.
 6. Introduisez immédiatement l'échantillon sur écouvillon dans le tube et faites-le tourner en douceur dans le diluant afin d'en extraire les matériels éventuellement prélevés. 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 les mêmes étapes pour les autres échantillons sur écouvillon.
 8. Analysez l'écouvillon à l'aide d'un test moléculaire.

Recommandations concernant les échantillons

- K. Les échantillons peuvent être infectieux. Respectez les précautions universelles lors de la réalisation de ce test (35-37). Des méthodes de manipulation et d'élimination des déchets appropriées doivent être établies selon la réglementation locale en vigueur (38). Cette procédure ne doit être réalisée que par des membres du personnel dûment formés à l'utilisation du test Aptima HIV-1 Quant Dx et à la manipulation de produits infectieux.
- L. *Seul le plasma contenant des anticoagulants EDTA et ACD a été évalué.*
- M. Observez des conditions de conservation 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.
- N. Évitez toute contamination croisée lors des étapes de manipulation des échantillons. Veillez tout particulièrement à éviter toute contamination par 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 différents 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 l'échantillon.

Recommandations concernant les tests

- O. Les résultats quantitatifs du test Aptima HIV-1 Quant Dx Assay ont été évalués avec du plasma EDTA et ACD. **Il ne faut pas utiliser du sérum pour l'obtention de résultats quantitatifs.** Les résultats qualitatifs ont été évalués sur du plasma et du sérum.
- P. Ne pas utiliser le kit de réactifs, le calibrateur ou les contrôles après leur date de péremption.
- Q. Ne pas échanger, mélanger ou combiner les réactifs de test de kits portant différents numéros de lot de référence. Les liquides de test peuvent être issus de lots de numéros différents. Les contrôles et le calibrateur peuvent être issus de lots de numéros différents.
- R. Évitez de contaminer les réactifs par des micro-organismes ou des nucléases.
- S. Fermez et stockez tous les réactifs de test aux températures indiquées. Les performances du test peuvent être affectées par l'utilisation de réactifs de test stockés dans des conditions inappropriées. Pour de plus amples informations, consultez les sections *Conditions de conservation et de manipulation des réactifs* et *Procédure de test pour le Panther System*.
- T. 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 Panther System vérifie le niveau des réactifs.
- U. Certains réactifs de ce kit sont marqués avec des symboles de risque et de sécurité.

Remarque : La notification des risques reflète les classifications des fiches de données de sécurité (FDS) de l'UE. Pour obtenir des informations sur les mentions de danger spécifiques à votre région, consultez la FDS spécifique à votre région dans la bibliothèque des fiches techniques de sécurité à l'adresse www.hologicsds.com.

**HIV VL Kit Controls**

Azoture de sodium 0.2%
Human Serum 95-100%

**Attention**

H312 - Nocif par contact cutané
H412 - Nocif pour les organismes aquatiques, entraîne des effets néfastes à long terme
P273 - Éviter le rejet dans l'environnement
P280 - Porter un équipement de protection des yeux/du visage

Conditions de conservation et de manipulation des réactifs

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

Réactifs	Conservation (non ouvert)	Kit ouvert (reconstitué)	
		Stockage	Stabilité
Réactif d'amplification qHIV-1	2 °C à 8 °C		
Solution de reconstitution de l'amplification qHIV-1	2 °C à 8 °C	2 °C à 8 °C	30 jours ^a
Réactif enzymatique qHIV-1	2 °C à 8 °C		
Solution de reconstitution enzymatique qHIV-1	2 °C à 8 °C	2 °C à 8 °C	30 jours ^a
Réactif-promoteur qHIV-1	2 °C à 8 °C		
Solution de reconstitution du promoteur qHIV-1	2 °C à 8 °C	2 °C à 8 °C	30 jours ^a
Réactif de capture de cible qHIV-1	2 °C à 8 °C	2 °C à 8 °C	30 jours ^a
qHIV-1 NC CONTROL – (Contrôle négatif)	-15 °C à -35 °C	15 °C à 30 °C	Flacon à usage unique Utiliser dans les 20 heures
qHIV-1 LPC CONTROL + (Contrôle positif faible)	-15 °C à -35 °C	15 °C à 30 °C	Flacon à usage unique Utiliser dans les 20 heures
qHIV-1 HPC CONTROL + (Contrôle positif fort)	-15 °C à -35 °C	15 °C à 30 °C	Flacon à usage unique Utiliser dans les 20 heures
PCAL qHIV-1 (calibrateur positif)	-15 °C à -35 °C	15 °C à 30 °C	Flacon à usage unique Utiliser dans les 20 heures

^a Lorsque des réactifs sont enlevés du Panther System, veillez à les remettre immédiatement à leurs températures de conservation appropriées.

- B. Jetez tous les réactifs reconstitués et le réactif de capture de cible (Target Capture Reagent, TCR) non utilisés après 30 jours ou après la date de péremption du lot de référence, la première échéance prévalant.
- C. Les réactifs stockés dans le Panther System sont stables pendant 72 heures. Vous pouvez charger les réactifs dans le Panther System jusqu'à 5 fois. Le Panther System 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 conservation et pendant la préparation avant de les utiliser.

Collecte et conservation des échantillons

Remarque : manipulez tout échantillon comme s'il était susceptible de contenir 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 matériels usagés.

Remarque : Seuls des tubes secondaires en plastique sont recommandés pour le stockage.

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

Pour des analyses quantitatives :

- Tubes contenant de l'EDTA ou des anticoagulants acide-citrate-dextrose (ACD), ou
- Tubes de préparation du plasma (PPT).

Pour des analyses qualitatives :

- Tubes contenant de l'EDTA ou des anticoagulants ACD, ou
- Tubes PPT, ou
- Tubes sérum, ou
- Tubes de séparation du sérum (serum separator tube, SST).

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

A. Collecte des échantillons

Le sang total peut être stocké entre 2 °C et 30 °C et doit être centrifugé dans les 24 heures suivant la collecte 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 le sérum peut être analysé directement sur le Panther System dans un tube primaire ou transféré dans un tube secondaire tel que le tube d'aliquote d'échantillon Aptima. Pour obtenir un volume réactionnel de 500 µl, le volume minimal de sérum ou de plasma est de 1 200 µl pour les tubes de collecte primaires et de 700 µl pour les tubes secondaires. Le tableau suivant présente les volumes morts nécessaires pour chaque type de tube primaire et secondaire.

Tube (taille et type)	Volume mort sur le Panther System
Tube d'aliquote d'échantillon Aptima (Sample Aliquot Tube, SAT)	0,2 ml
12 x 75 mm	0,5 ml
13 x 100 mm	0,5 ml
13 x 100 mm avec gel	0,3 ml
16 x 100 mm avec gel	0,7 ml

Dans le cas où le plasma ou le sérum n'est pas analysé immédiatement, il peut être conservé comme suit : S'ils sont transférés dans un tube secondaire, le plasma peut être congelé à -20 °C ou -70 °C et le sérum peut être congelé à -20 °C. Pour éviter tout résultat erroné, ne pas congeler/décongeler l'échantillon plus de trois fois. Ne pas congeler les échantillons dans des tubes EDTA ou ACD, ou bien des tubes primaires de collecte du sérum.

B. Conditions de conservation des échantillons

1. Échantillons de plasma sur EDTA ou ACD

Les tubes primaires contenant du plasma centrifugé peuvent être stockés entre 2 °C et 30 °C jusqu'à 24 heures après la collecte de l'échantillon (Figure 1, encadré supérieur). Au-delà de 24 heures, le plasma peut être stocké à plus long terme dans une des conditions de conservation suivantes (Figure 1, encadrés inférieurs) :

- Jusqu'à 3 jours dans le tube de collecte primaire entre 2 °C et 8 °C,
- Jusqu'à 5 jours dans le tube secondaire entre 2 °C et 8 °C ou
- Jusqu'à 90 jours dans le tube secondaire à -20 °C ou -70 °C.

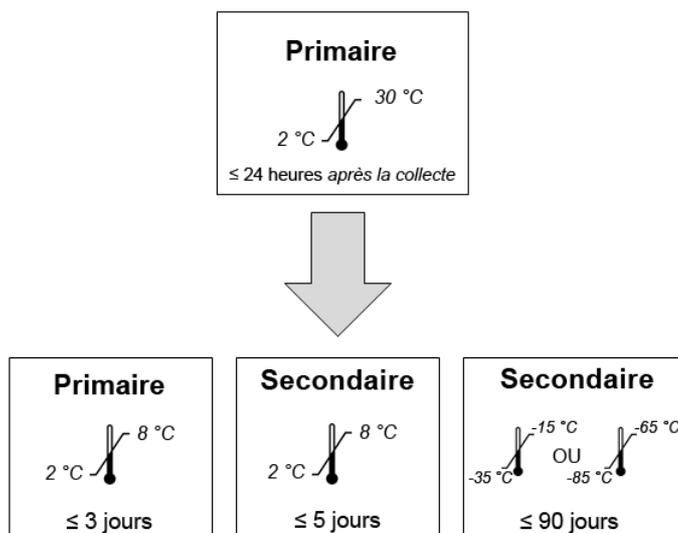


Figure 1. Conditions de conservation pour les tubes EDTA / ACD

2. Échantillons dans tubes PPT

Les tubes PPT contenant du plasma centrifugé peuvent être stockés entre 2 °C et 30 °C jusqu'à 24 heures après la collecte de l'échantillon (Figure 2, encadré supérieur). Au-delà de 24 heures, le plasma peut être stocké à plus long terme dans une des conditions de conservation suivantes (Figure 2, encadrés inférieurs) :

- Jusqu'à 3 jours dans le tube PPT entre 2 °C et 8 °C,
- Jusqu'à 5 jours dans le tube secondaire entre 2 °C et 8 °C ou
- Jusqu'à 90 jours dans le tube PPT ou secondaire à -20 °C ou -70 °C

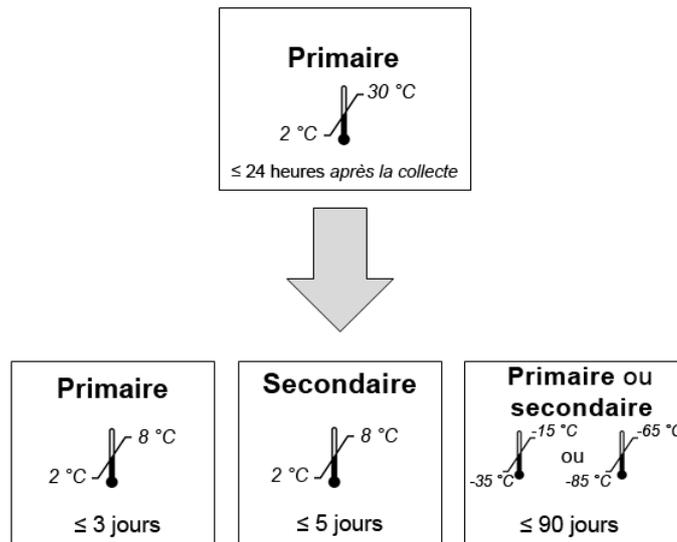


Figure 2. Conditions de conservation pour tubes PPT

3. Échantillons dans tubes sérum

Les tubes sérum contenant du sérum centrifugé peuvent être stockés entre 2 °C et 30 °C jusqu'à 24 heures après la collecte de l'échantillon (Figure 3, encadré supérieur). Au-delà de 24 heures, le sérum peut être stocké à plus long terme dans une des conditions de conservation suivantes (Figure 3, encadrés inférieurs) :

- Jusqu'à 5 jours dans le tube sérum entre 2 °C et 8 °C,
- Jusqu'à 5 jours dans le tube secondaire entre 2 °C et 8 °C ou
- Jusqu'à 7 jours dans le tube secondaire à -20 °C.

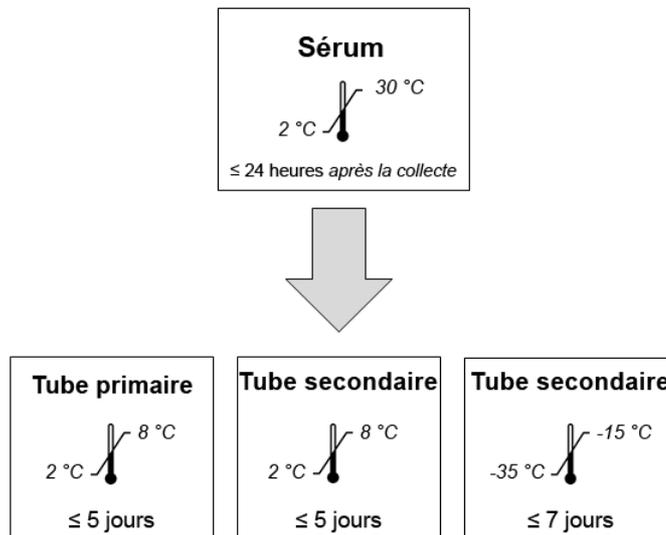


Figure 3. Conditions de conservation pour tubes sérum

4. Échantillon dans tubes SST

Les tubes SST contenant du sérum centrifugé peuvent être stockés entre 2 °C et 30 °C jusqu'à 24 heures après la collecte de l'échantillon (Figure 4, encadré supérieur). Au-delà de 24 heures, le sérum peut être stocké à plus long terme dans une des conditions de conservation suivantes (Figure 4, encadrés inférieurs) :

- Jusqu'à 5 jours dans le tube SST entre 2 °C et 8 °C,
- Jusqu'à 5 jours dans le tube secondaire entre 2 °C et 8 °C ou
- Jusqu'à 7 jours dans le tube SST ou secondaire à -20 °C.

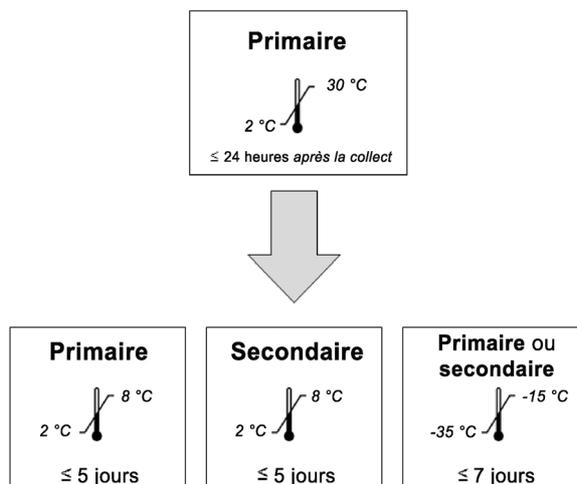


Figure 4. Conditions de conservation pour tubes SST

C. Dilution d'échantillons de plasma

Un échantillon de plasma peut être dilué dans le tube SAT ou secondaire pour être testé sur le système Panther. Pour de plus amples informations, consultez la section *Procédure de test pour le Panther System*, étape E.6.

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

⚠ La dilution des échantillons de plasma ne peut être utilisée que pour obtenir des résultats quantitatifs. Ne pas diluer les échantillons de plasma pour les résultats de diagnostic.

Échantillons placés à bord du Panther System

Les échantillons peuvent être laissés sans bouchon à bord du Panther System pendant un maximum de 8 heures. Les échantillons peuvent être enlevés du Panther System et analysés tant que la durée totale de leur séjour à bord du Panther System ne dépasse pas 8 heures avant le pipetage de l'échantillon par le système.

Transport des échantillons

Maintenez les conditions de conservation des échantillons telles que décrites dans la section *Collecte et conservation des échantillons*.

Remarque : L'expédition des échantillons doit s'effectuer conformément aux réglementations locales, nationales et internationales applicables en matière de transport.

Panther System

Les réactifs du Panther System nécessaires pour le test Aptima HIV-1 Quant Dx sont présentés ci-dessous. Les symboles d'identification des réactifs sont également indiqués à côté du nom du réactif.

Réactifs et matériels fournis

Remarque : Pour obtenir des informations sur les mentions de danger et de mise en garde qui pourraient être associées à ces réactifs, consultez la Safety Data Sheet Library (Bibliothèque des fiches techniques de sécurité) à l'adresse www.hologic.com/sds.

Kit pour le test Aptima HIV-1 Quant Dx, 100 tests, N° de réf. PRD-03000 (1 carton du test, 1 kit de calibration et 1 kit de contrôles)

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

Carton du test Aptima HIV-1 Quant Dx
(conserver entre 2 °C et 8 °C dès réception)

Symbole	Composant	Quantité
A	Réactif d'amplification qHIV-1 <i>Acides nucléiques non infectieux lyophilisés dans une solution tamponnée.</i>	1 flacon
E	Réactif enzymatique qHIV-1 <i>Transcriptase inverse et polymérase d'ARN lyophilisées dans une solution tamponnée HEPES.</i>	1 flacon
PRO	Réactif-promoteur qHIV-1 <i>Acides nucléiques non infectieux lyophilisés dans une solution tamponnée.</i>	1 flacon
AR	Solution de reconstitution de l'amplification qHIV-1 <i>Solution aqueuse contenant du glycérol et des conservateurs.</i>	1 x 7,2 ml
ER	Solution de reconstitution enzymatique qHIV-1 <i>Solution tamponnée HEPES contenant un surfactant et du glycérol.</i>	1 x 5,8 ml
PROR	Solution de reconstitution du promoteur qHIV-1 <i>Solution aqueuse contenant du glycérol et des conservateurs.</i>	1 x 4,5 ml
TCR	Réactif de capture de cible qHIV-1 <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

Kit de calibrateurs du test Aptima HIV-1 Quant Dx (N° de réf. PRD-03001)
(conserver entre -15 °C et -35 °C dès réception)

Symbole	Composant	Quantité
PCAL	Calibrateur positif qHIV-1 <i>Transcrit dans solution tamponnée.</i>	5 x 2,5 ml
	Étiquette à code à barres du calibrateur	—

Kit de contrôles Aptima HIV-1 Quant Dx (N° de réf. PRD-03002)
(conserver entre -15 °C et -35 °C dès réception)

Symbole	Composant	Quantité
NC	Contrôle négatif qHIV-1 <i>Plasma humain défibriné négatif pour le VIH-1 contenant de la gentamicine et de l'azoture de sodium à 0,2 % comme conservateurs.</i>	5 x 1,5 ml
LPC	Contrôle positif faible qHIV-1 <i>Armored ARN (résistant aux nucléases) du VIH-1 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 1,5 ml
HPC	Contrôle positif fort qHIV-1 <i>Armored ARN (résistant aux nucléases) du VIH-1 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 1,5 ml
	Étiquette à code à barres des contrôles	—

Matériel requis mais disponible séparément

Remarque : Les références du matériel disponible chez Hologic sont indiquées, sauf indication contraire.

Matériau	N° de réf.
Panther System	—
Kit pour séries Panther system - tests TMA temps réel seulement	PRD-03455 (5000 tests)
<i>Kit de liquides test Aptima (également connu comme kit Fluides Universel) contient la solution de lavage Aptima, le tampon pour solution de désactivation Aptima et l'réactif huileux Aptima</i>	303014 (1000 tests)
<i>Unités multi-tube (Multi-Tube Unit, MTU)</i>	104772-02
<i>Assortiment de sacs pour déchets Panther</i>	902731
<i>Couvre-déchets Panther</i>	504405
Kit pour séries Panther system	303096 (5000 tests)
<i>(lors de la réalisation de tests TMA en temps différé parallèlement à des tests TMA en temps réel) contient des MTU, des sacs pour déchets, des couvre-déchets, détection automatique et des liquides pour tests</i>	
Embouts, 1000 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 non pénétrables de remplacement	103036A
Bouchons de rechange pour réactifs	
<i>Flacons de reconstitution de réactif d'amplication, enzymatique et promoteur</i>	CL0041 (100 bouchons)
<i>Flacon de TCR</i>	CL0040 (100 bouchons)
Protection de paillasse de laboratoire à envers plastifié	—
Papier absorbant non pelucheux	—
Pipette	—
Embouts	—
Dimensions possibles des tubes de collecte primaires (ACD, EDTA, PPT, SST, sérum) :	—
<i>13 mm x 100 mm</i>	—
<i>13 mm x 75 mm</i>	—
<i>16 mm x 100 mm</i>	—
Centrifugeuse	—
Vortexeur	—

Matériel optionnel

Matériau	N° de réf.
Dimensions possibles des tubes secondaires :	
12 mm x 75 mm	—
13 mm x 100 mm	—
16 mm x 100 mm	—
<i>Tubes d'aliquote d'échantillon Aptima (SAT) (100/paquet)</i>	503762
Bouchons pour tubes de transport (100/paquet) <i>bouchons pour tubes SAT</i>	504415
Diluant d'échantillon Aptima	PRD-03003
Kit de diluant d'échantillon Aptima <i>contient du diluant, 100 SAT et 100 bouchons</i>	PRD-03478
Pipettes de transfert	—
Panels disponibles dans le commerce, par exemple : <i>VIH-1 de l'organisation Quality Control for Molecular Diagnostics (QCMD) ou panel de suivi de la charge virale VIH du College of American Pathologists (CAP) ou panels VIH ACCURUN de SeraCare</i>	—
Écouvillons à embout cotonné	—
Agitateur de tubes	—

Procédure de test pour le Panther System

Remarque : Consultez le *Panther System Operator's Manual (Manuel de l'opérateur du Panther System)* pour de plus amples informations sur la procédure.

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 au contact des surfaces pendant au moins 1 minute puis rincez avec de l'eau désionisée. Ne pas laisser sécher la solution d'hypochlorite de sodium. Couvrez la surface de la paillasse sur laquelle les réactifs et les échantillons seront préparés avec des protections de paillasse de laboratoire absorbantes propres à envers plastifié.
2. Nettoyez une surface de travail distincte pour la préparation des échantillons. Suivez la procédure décrite ci-dessus (étape A.1).
3. Nettoyez toutes les pipettes. Suivez la procédure décrite ci-dessus (étape A.1).

B. Préparation du calibrateur et des contrôles

Laissez le calibrateur et les contrôles s'équilibrer entre 15 °C et 30 °C avant de poursuivre comme suit :

1. Enlevez le calibrateur et les contrôles de leur lieu de conservation (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 des 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 : *Veillez à éviter toute formation excessive de mousse lors du retournement du calibrateur et des contrôles. La mousse interfère avec le détecteur de niveau du Panther System.*

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

C. Reconstitution des réactifs/préparation d'un nouveau kit

Remarque : *La reconstitution des réactifs doit être effectuée avant d'entreprendre toute tâche sur le Panther System.*

1. Pour préparer le réactif de capture de cible (Target Capture Reagent, TCR), procédez comme suit :
 - a. Enlevez le TCR de son lieu de conservation (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 s'équilibrer 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. Dans ce cas, procédez comme suit : Enlevez le TCR de son lieu de conservation (2 °C à 8 °C) et agitez immédiatement le flacon de TCR vigoureusement (10 fois). Placez le flacon de TCR sur un agitateur à tubes et laissez-le s'équilibrer 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. Enlevez les réactifs lyophilisés et les solutions de reconstitution correspondantes de leur lieu de conservation (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 appariés.
 - i. Ouvrez le flacon de réactif lyophilisé en enlevant la capsule métallique et le bouchon en caoutchouc.
 - ii. Insérez fermement l'extrémité à encoche du collet de reconstitution (noir) dans le flacon (Figure 5, étape 1).
 - iii. Ouvrez le flacon de solution de reconstitution correspondante et posez le bouchon sur une surface de travail propre et couverte.

- iv. Placez le flacon de solution de reconstitution sur une surface stable (p. ex. une paille). Retournez ensuite le flacon de réactif lyophilisé au-dessus du flacon de solution de reconstitution et attachez le collet solidement au flacon de la solution de reconstitution (Figure 5, étape 2).
- v. Retournez lentement les flacons assemblés (flacon attaché 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 les faire 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 faites balancer délicatement d'avant en arrière la solution dans le flacon en verre pour le 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. Enlevez 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 ainsi que 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).

Avertissement : Évitez la formation excessive de mousse lors de la reconstitution des réactifs. La mousse interfère avec le détecteur de niveau du Panther System.

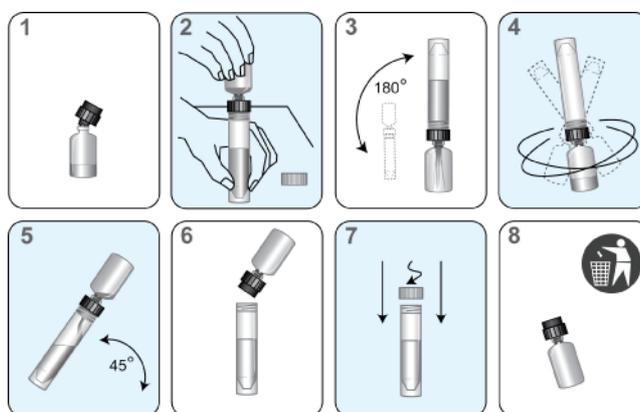


Figure 5. Procédure de reconstitution des réactifs

D. Préparation de réactifs précédemment reconstitués

1. Enlevez les réactifs précédemment reconstitués de leur lieu de conservation (2 °C à 8 °C).
2. Il faut laisser les réactifs d'amplification, enzymatique et promoteur et le TCR précédemment reconstitués s'équilibrer 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 Panther System reconnaît et rejette les flacons qui ont été remplis à nouveau.

E. Manipulation des échantillons

1. Assurez-vous que les échantillons traités dans les tubes primaires ou les échantillons non dilués dans des tubes secondaires ont été conservés de manière appropriée, conformément à la section « Collecte et conservation des échantillons », page 8.
2. Assurez-vous que les échantillons congelés sont entièrement décongelés. Mélangez les échantillons décongelés au vortex pendant 3 à 5 secondes afin de les mélanger complètement.
3. Laissez tous les échantillons s'équilibrer entre 15 °C et 30 °C avant de les traiter. Pour de plus amples informations, consultez la section *Échantillons placés à bord du Panther System*.
4. Assurez-vous que chaque tube primaire contient jusqu'à 1 200 µl d'échantillon ou que chaque SAT contient au moins 700 µl d'échantillon. Reportez-vous au tableau de la section « *Collecte des échantillons* », page 8 pour les volumes morts nécessaires pour chaque type de tube primaire et secondaire. Si vous devez diluer un échantillon, consultez l'étape E.6 ci-dessous pour des informations supplémentaires.
5. Juste avant de charger les échantillons dans un portoir d'échantillons, centrifuger chaque échantillon entre 1000 et 3000g pendant 10 minutes. Ne pas enlever les bouchons. La présence de bulles dans le tube peut empêcher la détection du niveau par le Panther System.

Consultez la section *Préparation du système*, étape F.2 ci-dessous pour des informations concernant le chargement du portoir et le retrait des bouchons.

6. Diluez un échantillon de plasma 1:3 dans un tube SAT ou 1:100 dans un tube secondaire.

Un échantillon de plasma peut être dilué dans un tube secondaire pour être testé sur le Panther System.

- ⚠ La dilution d'échantillons de plasma n'est à utiliser que pour l'obtention de résultats quantitatifs. Ne pas diluer les échantillons de plasma utilisés 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 de plasma peut être augmenté afin d'atteindre le volume minimum requis (700 µl) à l'aide du diluant d'échantillon Aptima. Les échantillons comprenant au moins 240 µl de plasma 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. Ajoutez 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 Panther System (pour de plus amples informations, consultez le *Panther System Operator's Manual* (manuel de l'opérateur du Panther System)). Le logiciel prend automatiquement en compte le facteur de dilution et produit le résultat correspondant à l'échantillon non dilué. 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. Déposez 30 µl d'échantillon dans le tube SAT ou un tube secondaire.
- ii. Ajoutez 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 testés en utilisant l'option 1:100 sur le Panther System (pour de plus amples informations, consultez le *Panther System Operator's Manual* (manuel de l'opérateur du Panther System)). Le logiciel prend automatiquement en compte le facteur de dilution et produit le résultat correspondant à l'échantillon non dilué. Ces échantillons sont signalés comme des échantillons dilués.

Remarque : Pour les échantillons dilués avec des concentrations nettement supérieures à la ULoQ, les résultats seront exprimés à l'aide de la notation scientifique.

F. Préparation du système

1. Configurez le système selon les instructions du *Panther System Operator's Manual* (manuel de l'opérateur du Panther System) et de la section *Remarques concernant la procédure*. Vérifiez que des portoirs de réactifs et des adaptateurs TCR de taille appropriée sont utilisés.
2. Chargez les échantillons dans un portoir d'échantillons. Effectuez les étapes suivantes pour chaque tube d'échantillon (échantillon et, s'il y a lieu calibrateur et contrôles) :
 - a. Desserrez le bouchon d'un des tubes sans l'enlever.

Remarque : Veillez tout particulièrement à éviter les contaminations par 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 les portoirs d'échantillons, enlevez et jetez le bouchon de chaque tube d'échantillon d'un des portoirs d'échantillons. Pour éviter toute contamination, ne passez pas les bouchons au-dessus d'autres portoirs d'échantillons ou de tubes d'échantillons.
- e. S'il y a lieu, utilisez une pipette de transfert jetable neuve pour éliminer les bulles et la mousse.
- f. Une fois le dernier bouchon retiré, chargez le portoir d'échantillons dans le compartiment des 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 le compartiment des 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 qHIV-1 positif, les tubes de contrôle qHIV-1 positif faible, contrôle qHIV-1 positif fort et contrôle qHIV-1 négatif peuvent être chargés dans n'importe quelle position du portoir d'échantillons et dans n'importe quelle rangée du compartiment des échantillons du Panther System. Le pipetage des échantillons commence quand 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 traités avec le kit de réactifs Aptima HIV-1 Quant Dx, alors des échantillons peuvent être testés pendant 24 heures avec le kit reconstitué associé, **à moins que** :
 - a. Les résultats du calibrateur ou des contrôles soient non valides
 - b. Le kit de réactifs de test associé soit retiré du système.
 - c. Le kit 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'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 qualité

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

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'un kit de réactifs est chargé sur le Panther System. Une fois établie, la calibration est valide pour un maximum de 24 heures. Le logiciel du Panther System signale à l'opérateur lorsqu'une calibration est requise. L'opérateur lit un coefficient de calibration qui se trouve sur la fiche des codes à barres du lot de référence fournie avec chaque kit de réactifs.

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

Contrôles négatifs et positifs

Afin d'obtenir 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'un kit de réactifs est chargé sur le Panther System. Une fois validés, les contrôles sont valables pour 24 heures. Le logiciel du Panther System avertit l'opérateur lorsque des contrôles sont nécessaires.

Le logiciel du Panther System vérifie automatiquement les critères d'acceptation pour les 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 des paramètres prédéfinis. Si un résultat non valide est généré pour l'un des contrôles, alors le logiciel invalide automatiquement la série. Les échantillons d'une série invalidée doivent être analysés à 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 Panther System vérifie automatiquement les critères d'acceptation pour le CI lors du traitement. Si un résultat du CI est non valide, alors le logiciel invalide automatiquement le résultat de l'échantillon. Chaque échantillon dont le résultat du CI est non valide doit être analysé à nouveau afin d'obtenir un résultat valide.

Le logiciel du Panther System est conçu pour vérifier avec précision les processus lorsque les procédures sont effectuées suivant les instructions fournies dans cette notice et le *Panther System Operator's Manual* (manuel de l'opérateur du Panther System).

Interprétation des résultats

Remarque : Les résultats quantitatifs du test Aptima HIV-1 Quant Dx ont été évalués sur du plasma. Il ne faut pas utiliser du sérum pour l'obtention de résultats quantitatifs. Les résultats qualitatifs ont été évalués sur du plasma et du sérum.

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

Remarque : Pour les échantillons dilués, les résultats indiqués comme « Non détecté » ou « < 30 détectés » peuvent être générés en diluant un échantillon à une concentration supérieure, mais proche de la LoD (limite de détection) ou LLoQ (limite inférieure de quantification). Si un résultat quantitatif n'est pas obtenu, il est recommandé de collecter un nouvel échantillon et de l'analyser sans le diluer.

Le Panther System ne génère pas un résultat qualitatif (c.-à-d. « Réactif » ou « Non réactif ») à des fins diagnostiques. L'opérateur doit interpréter la concentration en ARN du VIH-1 rapportée 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 VIH-1. Les résultats d'échantillons signalés comme « < 30 détectés » ou qui appartiennent à la plage linéaire indiquent que de l'ARN du VIH-1 a été détecté et que ces échantillons sont réactifs pour l'ARN du VIH-1.

Tableau 1 : Interprétation des résultats

Résultat signalé du test Aptima HIV-1 Quant Dx		Interprétation de la concentration en ARN du VIH-1	Interprétation qualitative à fins diagnostiques ^c
Copies/ml ^a	Valeur \log_{10} ^b		
Non détecté	Non détecté	ARN du VIH-1 non détecté.	Non réactif pour l'ARN du VIH-1
< 30 détectés ^e	< 1,47	Le ARN du VIH-1 est détecté mais à une concentration inférieure à la LLoQ.	Réactif pour le ARN du VIH-1
30 à 10 000 000	1,47 à 7,00	La concentration en ARN du VIH-1 appartient à la plage linéaire comprise entre 30 et 10 000 000 copies/ml.	Réactif pour le ARN du VIH-1
> 10 000 000	> 7,00	La concentration en ARN du VIH-1 est supérieure à la limite supérieure de quantification (ULoQ).	Réactif pour le ARN du VIH-1
Non valide ^d	Non valide ^d	Une erreur est survenue lors de la génération du résultat. L'échantillon doit être analysé à nouveau.	Non valide

^a Le facteur de conversion pour transposer les copies en unités internationales (UI) pour le 3ème étalon de référence international pour l'ARN du VIH-1 (10/152) est de 0,35 copy/UI.

^b Valeur arrondie à deux décimales.

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

^d Les résultats non valides sont affichés dans une police de couleur bleue.

^e La valeur la plus faible pouvant être rapportée par le logiciel est de 30 copies/ml. La LoD la plus élevée pour le test est de 17,5 copies/ml pour le sous-type G. Reportez-vous au tableau 3 pour les valeurs de LoD de tous les sous-types. La LoD obtenue avec le 3^e étalon international de référence de l'OMS (sous-type B) pour l'ARN du VIH-1 est de 12,1 copies/ml (tableau 2).

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 de test peut donner lieu à des résultats erronés.
- B. L'obtention de résultats fiables repose sur la collecte, le transport, le stockage et le traitement appropriés des échantillons.
- C. Ce test a été validé pour être utilisé comme test quantitatif uniquement avec du plasma humain EDTA et ACD.
- D. Ce test a été validé pour être utilisé comme test qualitatif avec du plasma EDTA et ACD et du sérum humains.
- E. 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 HIV-1 Quant Dx peuvent aboutir à une sous-quantification ou à une absence de détection du virus.

Performances

Limite de détection (LoD) à l'aide du 3^{ème} étalon de référence international de l'OMS pour le VIH-1

D'après le protocole EP17-A2 du CLSI (39), la limite de détection (LoD) est définie comme la concentration en ARN du VIH-1 dont la probabilité de détection est égale ou supérieure à 95 %. La LoD a été déterminée en analysant des panels comprenant des dilutions du 3^{ème} étalon de référence international de l'OMS pour le VIH-1 (sous-type B, code NIBSC : 10/152) dans du plasma négatif pour le VIH-1. Trente répliquats de chaque dilution ont été analysés sur trois Panther System à l'aide de trois lots de réactifs, soit un total de 90 répliquats pour chaque dilution. Selon le protocole EP17-A2 du CLSI, les résultats pour le lot de réactifs avec la concentration la plus élevée pour la limite de détection estimée ont été définis comme la LoD et sont présentés dans le Tableau 2. Par analyse Probit, il a été déterminé que la LoD pour le test Aptima HIV-1 Quant Dx était de 12 copies/ml (35 UI/ml ; 0,35 copy = 1 UI).

Tableau 2 : limite de détection du test Aptima HIV-1 Quant Dx déterminée avec le 3^{ème} étalon de référence international de l'OMS pour le VIH-1

Limite de détection estimée	Concentration (copies/ml)
10 %	1,2
20 %	1,6
30 %	2,0
40 %	2,5
50 %	3,1
60 %	3,8
70 %	4,8
80 %	6,2
90 %	9,0
95 %	12,1

Limite de détection pour différents sous-types et groupes du VIH-1

Sept panels ont été créés pour le VIH-1 de groupe M (sous-types A, C, D, F, G, CRF01_AE, CRF02_AG) et les groupes N et O en ajoutant du virus VIH-1 cultivé ou des échantillons cliniques positifs à du plasma humain négatif pour le VIH-1 (0 à 40 copies/ml). Trente répliquats de chaque échantillon de panel ont été analysés avec deux lots de réactifs, soit un total de 60 répliquats par échantillon de panel. Les concentrations de départ des échantillons cliniques ou des stocks de virus cultivé ont été déterminées à l'aide d'un test d'un autre fabricant. Une analyse Probit a été menée afin d'estimer les limites de détection à 50 % et 95 %. Selon le protocole EP17-A2 du CLSI (39), les résultats pour le lot de réactifs avec la concentration la plus élevée pour la limite de détection estimée ont été définis comme la LoD et sont présentés dans le Tableau 3.

Tableau 3 : limite de détection pour différents sous-types et groupes du VIH-1

Sous-type/ Groupe	Limite de détection estimée	Concentration (copies/ml)
A	50 %	3,0
	95 %	12,3
CRF01_AE	50 %	1,8
	95 %	6,2
CRF02_AG	50 %	3,4
	95 %	15,4
C	50 %	2,0
	95 %	10,7
D	50 %	3,7
	95 %	14,0
F	50 %	2,1
	95 %	8,3
G	50 %	3,1
	95 %	17,5
N	50 %	1,2
	95 %	7,8
O	50 %	1,8
	95 %	8,0

Plage linéaire

La plage linéaire du test Aptima HIV-1 Quant Dx a été établie conformément au protocole EP06-A du CLSI (40) en analysant des panels comprenant un virus du VIH-1 de sous-type B cultivé dilué dans du plasma humain négatif pour le VIH-1. La concentration des panels allait de 1,30 à 7,30 log copies/ml. Les tests ont été effectués sur sept Panther System avec deux lots de réactifs du test Aptima HIV-1 Quant Dx. Comme illustré dans la Figure 6, la linéarité du test Aptima HIV-1 Quant Dx a été démontrée sur l'ensemble de la plage de concentrations testée.

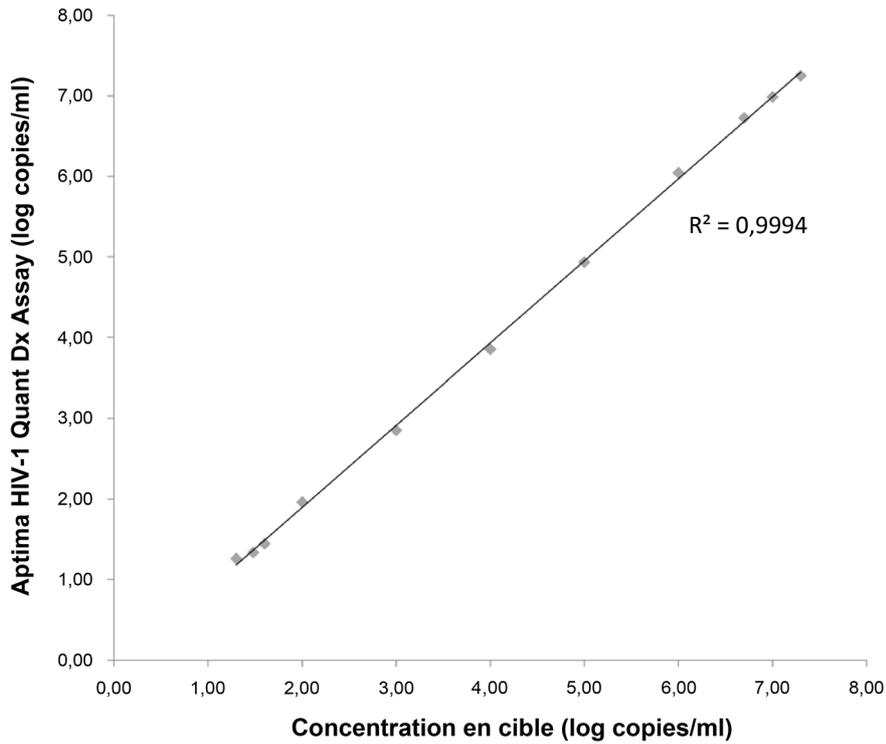


Figure 6. Linéarité du test Aptima HIV-1 Quant Dx

Linéarité pour différents sous-types et groupes du VIH-1

La linéarité de la réponse du test Aptima HIV-1 Quant Dx pour le groupe M (sous-types A, B, C, D, F, G, H, CRF01_AE) et les groupes N et O a été confirmée par l'analyse de panels contenant du transcrit VIH-1 dilué dans un tampon à des concentrations allant de 2,00 à 6,70 log copies/ml. Les tests ont été effectués sur quatre Panther System en six séries. La linéarité a été démontrée sur l'ensemble de la plage de concentrations testée (Figure 7).

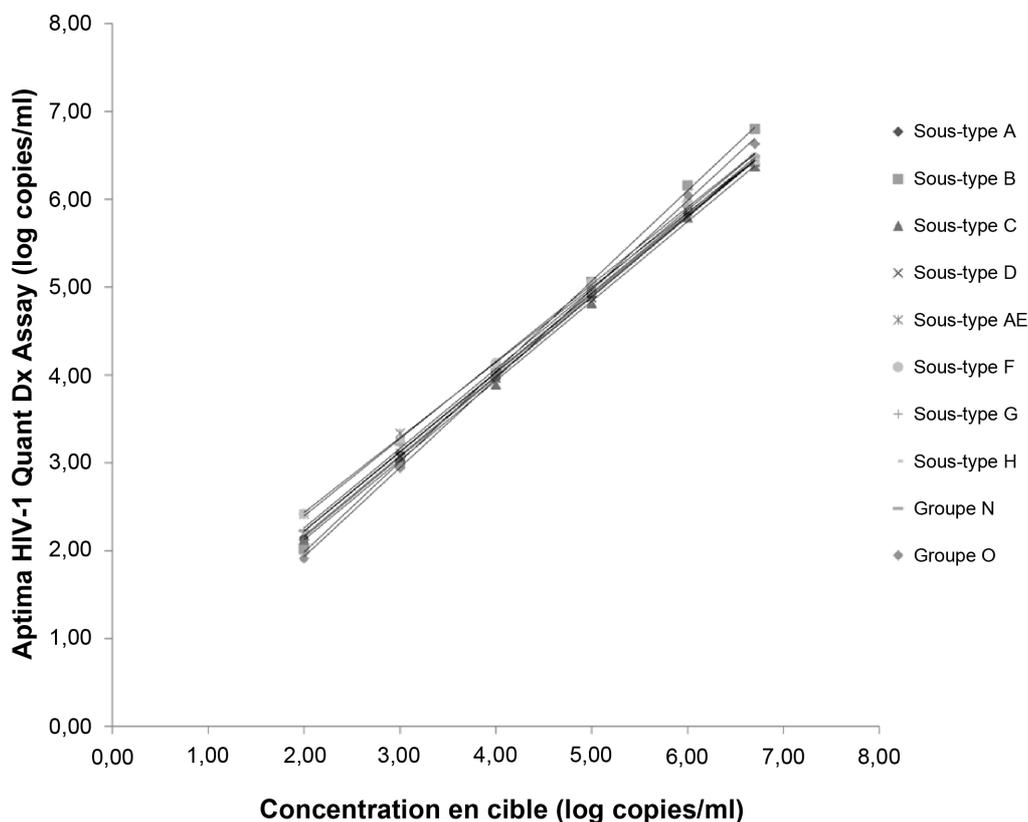


Figure 7. Linéarité pour le groupe M (sous-types A, B, C, D, F, G, H, CRF01_AE) et les groupes N et O

Limite inférieure de quantification à l'aide du 3^{ème} étalon de référence international de l'OMS pour le VIH-1

D'après le protocole EP17-A2 du CLSI (39), la limite inférieure de quantification (LLOQ) est définie comme la concentration la plus faible à laquelle la quantification de l'ARN du VIH-1 est fiable d'après le calcul d'une erreur totale (ET). L'ET a été calculé à l'aide du modèle Westgard ($ET = |\text{biais}| + 2SD$). Afin de s'assurer de l'exactitude et de la précision des mesures, l'ET du test Aptima HIV-1 Quant Dx était définie comme 1 log copies/ml (c.-à-d. qu'au LLOQ, la différence entre 2 mesures de plus de 1 log copies/ml est statistiquement significative).

La LLOQ a été déterminée par l'analyse de panels consistant de dilutions du 3^{ème} étalon de référence international de l'OMS pour le VIH-1 (sous-type B, code NIBSC : 10/152) dans du plasma négatif pour le VIH-1. Conformément au protocole EP17-A2 du CLSI, les tests ont été effectués avec trois lots de réactifs avec 30 réplicats pour chaque lot en 23 séries. Les résultats sont présentés dans le Tableau 4. La LLOQ la plus élevée dans les trois lots testés pour le test Aptima HIV-1 Quant Dx Assay avec le 3^e étalon de référence international de l'OMS est de 15 copies/ml (1,17 log copies/mL ; 42,9 IU/mL) (Tableau 5).

Tableau 4 : Détermination de la LLOQ pour le test Aptima HIV-1 Quant Dx avec le 3^{ème} étalon de référence international de l'OMS pour le VIH-1

Lot de réactifs	Concentration en cible (log copies/ml)	Aptima HIV-1 Quant Dx (log copies/ml)	ET (log copies/ml)	Biais (log copies/ml)	ET calculée (log copies/ml)
1	1,15	1,05	0,37	0,10	0,84
	1,24	0,94	0,35	0,30	1,00
	1,42	1,37	0,33	0,05	0,71
	1,54	1,47	0,22	0,07	0,50
	1,94	1,98	0,13	0,04	0,30
	2,42	2,45	0,07	0,03	0,17
2	1,15	0,50	0,33	0,65	1,31
	1,24	0,80	0,44	0,45	1,33
	1,42	0,93	0,37	0,49	1,24
	1,54	1,17	0,31	0,38	0,99
	1,94	1,75	0,21	0,19	0,62
	2,42	2,28	0,21	0,14	0,55
3	1,15	0,88	0,41	0,26	1,09
	1,24	0,98	0,35	0,27	0,97
	1,42	1,15	0,34	0,27	0,96
	1,54	1,35	0,37	0,20	0,93
	1,94	1,84	0,17	0,11	0,44
	2,42	2,37	0,11	0,05	0,27

ET = écart-type

Tableau 5 : Résumé des LLoQ obtenues avec le 3^{ème} étalon de référence international de l'OMS pour le VIH-1 (3 lots de réactifs)

Lot de réactifs	LLoQ (log copies/ml)	LLoQ (copies/ml)
1	0,94	8,7
2	1,17	15
3	0,98	9,5

Vérification de la LLoQ pour les sous-types et groupes du VIH-1

La LLoQ a été vérifiée pour les sous-types et groupes du VIH-1 conformément au protocole EP17-A2 du CLSI. Des panels ont été créés pour le VIH-1 de groupe M (sous-types A, B, C, D, F, G, CRF01_AE, CRF02_AG) et des groupes N et O en ajoutant des échantillons cliniques naturellement infectés ou des isolats cliniques à du plasma humain groupé négatif pour le VIH-1. Les tests comprenant un total de 30 réplicats par échantillon de panel. Les données présentées dans le Tableau 6 indiquent la concentration la plus faible pour chaque sous-type ou groupe à laquelle l'ET était inférieure à 1 log copies/ml. Pour tous les sous-types et groupes testés, la LLoQ la plus élevée était de 30 copies/ml ; cette valeur haute a donc été retenue comme la LLoQ pour le test Aptima HIV-1 Quand Dx.

Tableau 6 : Vérification de la LLoQ par sous-type ou groupe de VIH-1

Panel	LLoQ (copies/ml)
Sous-type A	30
Sous-type CRF01_AE	10
Sous-type CRF02_AG	30
Sous-type B	10
Sous-type C	30
Sous-type D	15
Sous-type F	15
Sous-type G	30
Groupe N	10
Groupe O	15

Précision

Afin d'évaluer la précision du test Aptima HIV-1 Quant Dx, un panel a été constitué en ajoutant du VIH-1 de sous-type B cultivé à du plasma négatif pour le VIH-1. Ce panel a ensuite été analysé par trois opérateurs à l'aide de trois lots de réactifs sur trois Panther System sur une période de 20 jours (Tableau 7). Le panel comprenait un échantillon de panel négatif pour le VIH-1 et huit échantillons de panel positifs pour le VIH-1. Les concentrations de départ des échantillons cliniques ou des stocks de virus cultivé ont été déterminées à l'aide d'un test d'un autre fabricant.

Tableau 7 : Précision du test Aptima HIV-1 Quant Dx

Nombre de répliquats valides	Concentration moyenne (log copies/ml)	Inter-appareil		D'un opérateur à l'autre		D'un lot à l'autre		Inter-série		Intra-série		Total	
		ET	CV (%)	ET	CV (%)	ET	CV (%)	ET	CV (%)	ET	CV (%)	ET	CV (%)
137	1,80	0,00	0,00	0,03	1,72	0,00	0,00	0,00	0,00	0,16	8,93	0,16	9,10
157	2,37	0,00	0,00	0,05	2,08	0,01	0,36	0,08	3,33	0,15	6,19	0,17	7,34
160	2,47 ^a	0,00	0,00	0,03	1,37	0,03	1,35	0,07	2,97	0,12	5,03	0,15	6,15
162	2,95	0,00	0,00	0,08	2,57	0,02	0,61	0,10	3,29	0,09	3,04	0,15	5,20
162	3,80	0,01	0,32	0,03	0,80	0,02	0,48	0,06	1,49	0,07	1,80	0,10	2,53
159	4,93	0,00	0,00	0,02	0,37	0,04	0,77	0,05	1,10	0,04	0,71	0,08	1,56
162	5,69	0,00	0,00	0,02	0,27	0,04	0,66	0,03	0,58	0,07	1,29	0,09	1,58
162	6,71	0,00	0,00	0,01	0,22	0,04	0,52	0,04	0,60	0,05	0,78	0,08	1,13

CV = coefficient de variation, ET = écart-type

^aCe membre du panel a été dilué 1:3 dans du diluant d'échantillon et testé afin d'évaluer la précision pour l'échantillon dilué.

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, ET = 0 et CV = 0 %. Le nombre total de répliquats testés était de 162 pour chaque panel ; seuls les répliquats avec une valeur numérique étaient analysés.

Substances potentiellement interférentes

La susceptibilité du test Aptima HIV-1 Quant Dx aux interférentes générées par des taux élevés de substances endogènes et de médicaments fréquemment prescrits chez les personnes infectées par le VIH-1 a été évaluée. Des échantillons de plasma humain négatifs pour le VIH-1 et des échantillons auxquels a été ajouté de l'ARN du VIH-1 à une concentration de 3 log copies/ml ont été testés.

Aucune altération des performances du test Aptima HIV-1 Quant Dx 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).

Aucune altération des performances du test Aptima HIV-1 Quant Dx n'a été observée en présence des substances exogènes présentées dans le Tableau 8 à des concentrations d'au moins trois fois la C_{max} (plasma humain).

Tableau 8 : Substances exogènes

Groupe de substances exogènes	Substances exogènes testés
1	Lopinavir, indinavir, saquinavir, ritonavir, mésylate de nelfinavir, darunavir, amprénavir, atazanavir
2	Névirapine, éfavirenz, rilpivirine, clarithromycine, amphotéricine B
3	Fumarate de ténofovir disoproxil, adéfovir dipivoxil, ribavirine, enfuvirtide, maraviroc, raltegravir, dolutegravir
4	Sulfate d'abacavir, didanosine, zidovudine, lamivudine, stavudine, entecavir, telbivudine, emtricitabine
5	Paroxétine HCl, fluoxétine, sertraline
6	Ganciclovir, valacyclovir, aciclovir, rifampine/rifampicine, ethambutol
7	Ciprofloxacine, azithromycine, amoxicilline, céfalexine, ampicilline, triméthoprim
8	Valganciclovir HCl, bocéprevir, télaprevir, simeprevir, sofosbuvir
9	Interféron alpha-2b pégylé, interféron alpha-2a, interféron alpha-2b
10	Héparine, EDTA, citrate de sodium
11	Tipranavir
12	Isoniazide

Les échantillons de plasma cliniques présentés dans le Tableau 9 prélevés chez des patients présentant des taux élevés de ces substances ou chez des patients souffrant des maladies citées dans le tableau ont été testés avec le test Aptima HIV-1 Quant Dx en la présence et l'absence de l'ARN du VIH-1 à une concentration de 3 log copies/ml. Aucune altération des performances n'a été observée.

Tableau 9 : Types d'échantillon clinique testés

Types d'échantillon clinique	
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	Cirrhose alcoolique (AC)
10	Myélome multiple (MM)
11	Lipémique (lipides élevés)
12	Ictérique (bilirubine élevée)
13	Hémolysé (hémoglobine élevée)
14	Protéine albumine élevée
15	Anticorps anti-VHC
16	Anticorps anti-VHB
17	Anticorps anti-VIH-2

Spécificité

La spécificité du test Aptima HIV-1 Quant Dx a été déterminée à l'aide de 120 échantillons de plasma négatifs pour le VIH-1 frais et 510 échantillons de plasma négatifs pour le VIH-1 congelés, ainsi que 120 échantillons de sérum négatifs pour le VIH-1 frais et 510 échantillons de sérum négatifs pour le VIH-1 congelés. Tous les résultats étaient non réactifs (spécificité de 100 % ; IC à 95 % : 99,4 à 100 %).

Tableau 10 : Spécificité dans les échantillons de plasma et de sérum

	Plasma frais	Plasma congelé	Plasma total	Sérum frais	Sérum congelé	Sérum total
Réplicats valide (n)	120	510	630	120	510	630
Non réactif	120	510	630	120	510	630
Spécificité (IC à 95 %)	100 % (97,0-100)	100 % (99,3-100)	100 % (99,4-100)	100 % (97,0-100)	100 % (99,3-100)	100 % (99,4-100)

IC= intervalle de confiance

Spécificité analytique

La réactivité croisée potentielle du test Aptima HIV-1 Quant Dx avec des agents pathogènes (Tableau 11) a été évaluée en la présence ou l'absence de l'ARN du VIH-1 à 3 log copies/ml dans du plasma négatif pour le VIH-1. Aucune altération des performances du test n'a été observée en présence des agents pathogènes.

Tableau 11 : Agents pathogènes testés pour la spécificité analytique

Agent pathogène	Concentration
Virus de l'hépatite A	100 000 PFU/ml ^a
Virus de l'hépatite B	100 000 UI/ml ^b
Virus de l'hépatite C	100 000 UI/ml
Virus de l'hépatite G	100 000 copies/ml
Virus de l'herpès simplex 1 (HSV-1)	100 000 PFU/ml
Virus de l'herpès simplex 2 (HSV-2)	75 000 PFU/ml
Virus de l'herpès humain de type 6	100 000 copies/ml
Virus de l'herpès humain de type 8	42 000 PFU/ml
HIV-2	5 500 PFU/ml
Virus T-lymphotropique humain (HTLV)	100 000 pv/ml ^c
Virus du Nil occidental	100 000 copies/ml
Parvovirus B19	100 000 UI/ml
Cytomégalovirus	100 000 copies/ml
Virus Epstein-Barr	100 000 copies/ml
Adénovirus de type 5	100 000 PFU/ml
Virus de la dengue	100 000 copies/ml
Influenzavirus A	100 000 PFU/ml
<i>Staphylococcus aureus</i>	1 000 000 UFC/ml ^d
<i>Propionibacterium acnes</i>	1 000 000 UFC/ml
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	1 000 000 UFC/ml
<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	1 000 000 UFC/ml
<i>Chlamydia trachomatis</i>	300 000 IFU/ml ^e
<i>Candida albicans</i>	1 000 000 UFC/ml

^a PFU/ml = unités de formation de plaques par ml.

^b UI/ml = unités internationales par ml.

^c pv/ml = particules virales par ml.

^d UFC/ml = unités de formation de colonies par ml.

^e IFU/ml = unités de formation d'inclusions par ml.

Reproductibilité des échantillons cliniques

Trois réplicats de dix échantillons cliniques de plasma ont été testés à l'aide du test Aptima HIV-1 Quant Dx. La concentration moyenne et l'écart-type sont présentés dans le Tableau 12.

Tableau 12 : Reproductibilité des échantillons cliniques

Échantillon	Concentration moyenne (log copies/ml)	ET
1	2,57	0,06
2	3,20	0,03
3	3,24	0,06
4	3,97	0,02
5	4,20	0,05
6	4,85	0,01
7	5,17	0,04
8	5,51	0,06
9	5,84	0,02
10	6,64	0,00

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

Afin d'évaluer la dilution d'échantillons, un panel composé de 11 échantillons à des concentrations couvrant l'ensemble de la plage linéaire du test Aptima HIV-1 Quant Dx et de deux échantillons dont la concentration était supérieure à la limite supérieure de quantification du test ont été analysés en triplicat dilués (1:3 ou 1:100 dans du diluant d'échantillon) et non dilués (Tableau 13).

Tableau 13 : Dilution d'échantillons

Dilution	Concentration non diluée moyenne (log copies/ml)	Concentration rapportée moyenne ^a (log copies/ml)	Différence
1:3	2,57	2,72	0,15
	3,20	3,33	0,13
	3,24	3,55	0,30
	3,97	4,05	0,07
	4,20	4,24	0,04
	4,85	4,81	-0,04
	5,17	5,08	-0,08
	5,51	5,32	-0,19
	5,84	5,94	0,10
	6,64	6,66	0,02
	2,46 ^b	2,19	-0,27
1:100	> 7,00 (7,16 ^c)	7,48	0,32
1:100	> 7,00 (7,40 ^c) ^b	7,39	-0,01

^a La concentration rapportée est la valeur calculée après application du facteur de dilution.

^b Échantillon enrichi en ARN.

^c Tous les résultats > 7,00 log copies/ml ont été estimés à l'aide d'une analyse supplémentaire.

Corrélation de la méthode

Les performances du test Aptima HIV-1 Quant Dx ont été évaluées par rapport à un test homologué CE d'un autre fabricant en testant des échantillons de plasma cliniques non dilués provenant de patients infectés par le VIH-1 sur quatre Panther System avec deux lots de réactifs. Au total 342 échantillons de plasma congelés et 108 échantillons de plasma frais générant des résultats quantifiables aussi bien avec le test Aptima HIV-1 Quant Dx et le test de l'autre fabricant ont été utilisés pour la régression linéaire (Figure 8). Les échantillons comprenaient du VIH-1 de groupe M (sous-types A, B, C, D, F, G, H, CRF01_AE, CRF02_AG).

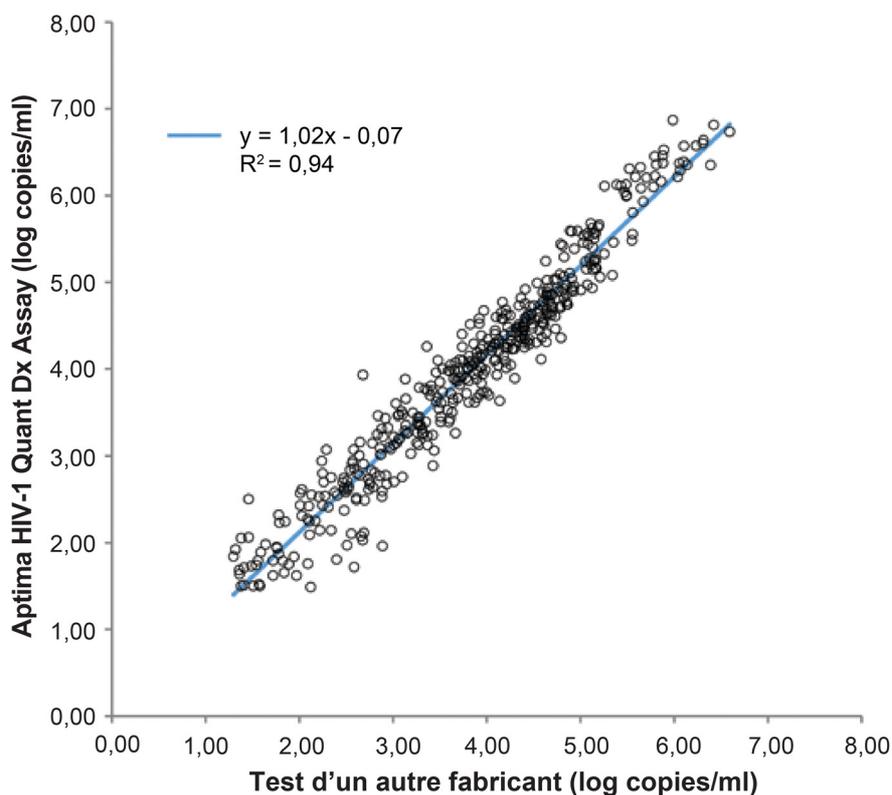


Figure 8. Corrélation entre le test Aptima HIV-1 Quant Dx et un test d'un autre fabricant

Concordance diagnostique

Afin d'évaluer la concordance diagnostique, des échantillons provenant de personnes positives pour le VIH-1 ont été testés avec le test Aptima HIV-1 Quant Dx et un test VIH-1 qualitatif homologué CE d'un autre fabricant : les résultats étaient valides pour 414 échantillons (Tableau 14). Les résultats des deux tests étaient classés comme suit : tout échantillon avec un résultat quantifiable ou détectable était classé comme « Détecté » ; tout échantillon pour lequel la cible n'était pas détectée était classé comme « Cible non détectée ».

Tableau 14 : Concordance diagnostique entre le test Aptima HIV-1 Quant Dx et un test d'un autre fabricant

		Test Aptima HIV-1 Quant Dx	
		Détecté	Cible non détectée
Test d'un autre fabricant	Détecté	214	0
	Cible non détectée	0	200

Contamination de transfert

Afin d'établir que le Panther System réduit au minimum le risque de résultats faussement positifs par contamination de transfert, une étude analytique à plusieurs séries a été menée sur deux Panther System avec des échantillons enrichis en ARN. La contamination par transfert a été évaluée à l'aide d'échantillons à titre élevé enrichis en VIH-1 (7 log copies/ml) répartis entre des échantillons négatifs pour le VIH-1 selon un motif en damier. Les tests ont comporté un ensemble de cinq séries. Le taux de contamination de transfert global était de 0 % (n = 469).

Panel de séroconversion

Dix-neuf jeux de panels de séroconversion VIH-1 comprenant 204 échantillons ont été testés à l'aide du test Aptima HIV-1 Quant Dx. La détection de l'ARN du VIH-1 a été comparée à la détection avec des tests basés sur l'antigène p24 et les anticorps anti-HIV-1/2. Le nombre de jours jusqu'à l'obtention d'un premier résultat réactif est présenté dans le Tableau 15 pour les tests de détection de l'antigène p24, des anticorps anti-HIV-1/2 et le test Aptima HIV-1 Quant Dx. En moyenne, le test Aptima HIV-1 Quant Dx permettait de détecter l'ARN du VIH-1 respectivement 5,58 et 11,16 jours avant les tests de détection de l'antigène p24 et des anticorps anti-HIV-1/2.

Tableau 15 : Résumé des données du panel de séroconversion

ID de panel	Nombre d'échantillons du panel testés	Nombre d'échantillons du panel réactifs			Jours jusqu'au premier résultat réactif			Différence en jours jusqu'au premier résultat réactif (basée sur la date de prélèvement)		
		Aptima HIV-1 Quant Dx	Antigène p24 du VIH	Anticorps anti-HIV-1/2	Aptima HIV-1 Quant Dx	Antigène p24 du VIH	Anticorps anti-HIV-1/2	Jours avant la détection avec l'antigène p24 du VIH	Jours avant la détection avec l'anticorps anti-HIV-1/2	
6248	7	3	2	1	14	18	25	4	11	
6243	10	6	3	2	18	25	32	7	14	
6247	9	4	4	1	21	21	30	0	9	
9016	10	3	2	0	27	30	34 ^a	3	7	
9018	11	5	3	2	21	28	32	7	11	
9020	22	5	4	1	83	87	97	4	14	
9021	17	5	4	1	43	47	57	4	14	
9022	9	3	2	1	23	25	32	2	9	
9023	22	5	3	0	71	78	85 ^a	7	14	
9030	16	5	3	1	40	47	54	7	14	
9034	13	4	3	1	41	46	53	5	12	
9089	6	5	3	2	7	16	20	9	13	
12008	13	7	4	4	21	28	33	7	12	
PRB962	6	4	2	0	7	14	17 ^a	7	10	
PRB963	7	4	2	0	9	17	21 ^a	8	12	
PRB966	10	5	3	2	35	44	48	9	13	
PRB974 ^b	4	3	2	1	7	9	16	2	9	
PRB975 ^b	5	3	1	0	7	14	14 ^a	7	7	
PRB978 ^b	7	3	1	0	26	33	33 ^a	7	7	
Total	204	82	51	20				Moyenne	5,58	11,16
								Médiane	7	12

^a tous les prélèvements de ce panel étaient non réactifs pour les anticorps anti-HIV-1/2. Le dernier jour de prélèvement a été utilisé comme « Jours jusqu'au premier résultat réactif ».

Les tests à anticorps anti-HIV-1/2 ont été effectués avec le test Abbott Anti-HIV 1/2, sauf pour les exceptions suivantes :

^b les panels PRB974, PRB975 et PRB978 ont été testés avec le test Siemens Anti-HIV 1/2.

Les tests de détection de l'antigène p24 du HIV ont été effectués avec le test Coulter VIH-1 p24 Ag, sauf pour les exceptions suivantes :

^b les panels PRB974, PRB975 et PRB978 ont été testés avec le test BioMérieux p24 Ag.

Étude d'équivalence entre le sérum et le plasma

Afin d'évaluer l'équivalence, des jeux appariés de sérum et de plasma (25 positifs pour le VIH-1 et 25 négatifs pour le VIH-1), et 40 échantillons enrichis avec du VIH-1 cultivé (50 à 1 000 000 copies/ml dans du plasma et du sérum négatif pour le VIH-1) ont été testés à l'aide du test Aptima HIV-1 Quant Dx. La concordance négative était de 100,0 % (IC à 95 % : 97,0-100,0 %). La concordance positive était de 98,4 % (IC à 95 % : 95,4-99,5 %).

Bibliographie

1. **Barre-Sinoussi, F., J. C. Chermann, F. Rey, M. T. Nugeyre, S. Chamaret, J. Gruest, C. Dauguet, C. Axler-Blin, F. Vezinet-Brun, C. Rouziuz, W. Rozenbaum, and L. Montagnier.** 1983. Isolation of a T-lymphotropic retrovirus from a patient at risk for Acquired Immune Deficiency Syndrome (AIDS). *Science* **220**:868–871.
2. **Popovic, M., M. G. Sarngadharan, E. Read, and R. C. Gallo.** 1984. Detection, isolation, and continuous production of cytopathic retroviruses (HTLV-III) from patients with AIDS and pre-AIDS. *Science* **224**:497–500.
3. **Gallo R. C., S. Z. Salahuddin, M. Popovic, G. M. Streater, M. Kaplan, D. F. Haynas, T. J. Palker, R. Redfield, J. Oleske, B. Safai, G. White, P. Foster, and P. D. Markham.** 1984. Frequent detection and isolation of cytopathic retroviruses (HTLV III) from patients with AIDS and at risk for AIDS. *Science* **224**:500–503.
4. **Piot, P., F. A. Plummer, F. S. Mhalu, J-L. Lamboray, J. Chin, and J. M. Mann.** 1988. AIDS: An international perspective. *Science* **239**:573–579.
5. **Sarngadharan, J. G., M. Popovic, L. Broch, J. Scupbach, and R. C. Gallo.** 1984. Antibodies reactive with human T-lymphotropic retroviruses (HTLV-III) in the serum of patients with AIDS. *Science* **224**:506–508.
6. **Gallo, D., J. S. Kimpton, and P. J. Dailey.** 1987. Comparative studies on use of fresh and frozen peripheral blood lymphocyte specimens for isolation of human immunodeficiency virus and effects of cell lysis on isolation efficiency. *J. Clin. Microbiol.* **25**:1291–1294.
7. **Clavel, F., D. Guetard, F. Brun-Vezinet, S. Chamaret, M. Rey, M. O. Santos-Ferraira, A. G. Laurent, C. Dauguet, C. Katlama, C. Rouzioux, D. Klatzmann, J. L. Champalimaud, and L. Montagnier.** 1986. Isolation of a new human retrovirus from West African patients with AIDS. *Science* **233**:343–346.
8. **Curran, J. W., H. W. Jaffe, A. M. Hardy, W. M. Morgan, R. M. Selik, and T. J. Dondero.** 1988. Epidemiology of HIV Infection and AIDS in the United States. *Science* **239**:610–616.
9. **Gaines, H., M. A. von Sydow, and L.V. von Stedingk.** 1990. Immunological changes in primary HIV-1 infection. *AIDS* **4**:995–999.
10. **Tindall, B., and D. A. Cooper.** 1991. Primary HIV-1 infection: host responses and intervention strategies. *AIDS* **5**:1–14.
11. **Daar, E. S., T. Moudgil, R. D. Meyer, and D. D. Ho.** 1991. Transient high levels of viremia in patients with primary human immunodeficiency virus type 1 infection. *N. Engl. J. Med.* **324**:961–964.
12. **Clark, S. J., M. S. Saag, and W. D. Decker.** 1991. High titers of cytopathic virus in plasma of patients with symptomatic primary HIV-1 infection. *N. Engl. J. Medicine* **324**:954–960.
13. **Albert J., B. Abrahamsson, K. Nagy, E. Aurelius, H. Gaines, G. Nystrom, and E. M. Fenyo.** 1990. Rapid development of isolate-specific neutralizing antibodies after primary HIV-1 infection and consequent emergence of virus variants which resist neutralization by autologous sera. *AIDS* **4**:107–112.
14. **Horsburgh, C. R. Jr., C. Y. Ou, J. Jason, S. D. Holmberg, I. M. Longini Jr., C. Schable, K. H. Mayer, A. R. Lifson, G. Schochetman, J. W. Ward, et al.** 1989. Duration of human immunodeficiency virus infection before detection of antibody. *Lancet* **16**:637–640.
15. **Schnittman, S. M., M. C. Psallidopoulos, H. C. Lane, L. Thompson, M. Baseler, F. Massari, C. H. Fox, N. P. Salzman, and A. S. Fauci.** 1989. The reservoir for HIV-1 in human peripheral blood is a T cell that maintains expression of CD4. *Science* **245**:305–308. Erratum in: *Science* 1989 **245**, preceding 694.
16. **Schnittman, S. M., J. J. Greenhouse, M. C. Psallidopoulos, M. Baseler, N. P. Salzman, A. S. Fauci, and H.C. Lane.** 1990. Increasing viral burden in CD4+ T cells from patients with human immunodeficiency virus (HIV) infection reflects rapidly progressive immunosuppression and clinical disease. *Ann. Intern. Med.* **113**:438–443.
17. **Pantaleo, G., C. Graziosi, and A. S. Fauci.** 1993. New concepts in the immunopathogenesis of human immunodeficiency virus (HIV) infection. *N. Engl. J. Med.* **328**:327–335.
18. **Piatak, M. Jr., M. S. Saag, L. C. Yang, S. J. Clark, J. C. Kappes, K. C. Luk, B. H. Hahn, G. M. Shaw, and J. D. Lifson.** 1993. High levels of HIV-1 in plasma during all stages of infection determined by competitive PCR. *Science* **259**:1749–1754.
19. **Fauci, A. S., S. M. Schnittman, G. Poli, S. Koenig, and G. Pantaleo.** 1991. NIH conference: immunopathogenic mechanisms in human immunodeficiency virus (HIV) infection. *Ann. Intern. Med.* **114**:678–693.
20. **Coffin, J. M.** 1995. HIV-1 population dynamics in vivo: implications for genetic variation, pathogenesis, and therapy. *Science* **267**:483–489.
21. **Ho, D. D., A. U. Neumann, A. S. Perelson, W. Chen, J. M. Leonard, and M. Markowitz.** 1995. Rapid turnover of plasma virions and CD4 lymphocytes in HIV-1 infection. *Nature* **373**:123–126.
22. **Wei, X., S. K. Ghosh, M. E. Taylor, V. A. Johnson, E. A. Emini, P. Deutsch, J. D. Lifson, S. Bonhoeffer, M. A. Nowak, B. H. Hahn et al.** 1995. Viral dynamics in human immunodeficiency virus type 1 infection. *Nature* **373**:117–122.
23. **O'Brien, W. A., P. M. Hartigan, D. Martin, J. Esinhart, A. Hill, S. Benoit, M. Rubin, M. S. Simberkoff, and J. D. Hamilton.** 1996. Changes in plasma HIV-1 RNA and CD4 lymphocyte counts and the risk of progression to AIDS. Veterans Affairs Cooperative Study Group on AIDS. *N. Engl. J. Med.* **334**:426–431.

24. Welles, S. L., J. B. Jackson, B. Yen-Lieberman, L. Demeter, A. J. Japour, L. M. Smeaton, V. A. Johnson, D. R. Kuritzkes, R. T. D'Aquila, P. A. Reichelderfer, D. D. Richman, R. Reichman, M. Fischl, R. Dolin, R. W. Coombs, J. O. Kahn, C. McLaren, J. Todd, S. Kwok, and C. S. Crumpacker. 1996. Prognostic value of plasma Human Immunodeficiency Virus Type I (HIV-1) RNA levels in patients with advanced HIV-1 disease and with little or no zidovudine therapy. AIDS Clinical Trials Group Protocol 116A/116B/117 Team. *J. Infect. Dis.* **174**:696–703.
25. Coombs, R. W., S. L. Welles, C. Hooper, P. S. Reichelderfer, R. T. D'Aquila, A. J. Japour, V. A. Johnson, D. R. Kuritzkes, D. D. Richman, S. Kwok, J. Todd, J. B. Jackson, V. DeGruttola, C. S. Crumpacker, and J. Kahn. 1996. Association of plasma Human Immunodeficiency Virus Type I RNA level with risk of clinical progression in patients with advanced infection. AIDS Clinical Trials Group (ACTG) 116B/117 Study Team. ACTG Virology Committee Resistance and HIV-1 RNA Working Groups. *J. Infect. Dis.* **174**:704–712.
26. Hammer, S., C. Crumpacker, R. D'Aquila, B. Jackson, J. Lathey, D. Livnat, and P. Reichelderfer. 1993. Use of virologic assays for detection of human immunodeficiency virus in clinical trials: Recommendations of the AIDS Clinical Trials Group Virology Committee. *J. Clin. Microbiol.* **31**:2557–2564.
27. Schochetman, G., and J. R. George, ed. 1994. *AIDS Testing: A Comprehensive Guide To Technical, Medical, Social, Legal and Management Issues*, 2nd ed. Springer-Verlag, New York.
28. Mulder, J., N. McKinney, C. Christopherson, J. Sninsky, L. Greenfield, and S. Kwok. 1994. Rapid and simple PCR assay for quantitation of human immunodeficiency virus type 1 RNA in plasma: application to acute retroviral infection. *J. Clin. Microbiol.* **32**:292–300.
29. Dewar, R. L., H. C. Highbarger, M. D. Sarmiento, J. A. Todd, M. B. Vasudevachari, R. T. Davey, Jr., J. A. Kovacs, N. P. Salzman, H. C. Lane, and M. S. Urdea. 1994. Application of branched DNA signal amplification to monitor human immunodeficiency virus type 1 burden in human plasma. *J. Infect. Dis.* **170**:1172–1179.
30. van Gemen, B., T. Kievits, R. Schukink, D. van Strijp, L. T. Malek, R. Sooknanan, H. G. Huisman, and P. Lens. 1993. Quantification of HIV-1 RNA in plasma using NASBA during HIV-1 primary infection. *J. Virol. Methods* **43**:177–187.
31. Centers for Disease Control and Association of Public Health Laboratories. 2014. Laboratory testing for the diagnosis of HIV infection: Updated recommendations.
32. Pandori, M. W., J. Hackett Jr., B. Louie, A. Vallari, T. Dowling, S. Liska, and J. D. Klausner. 2009. Assessment of the ability of a fourth-generation immunoassay for human immunodeficiency virus (HIV) antibody and p24 antigen to detect both acute and recent HIV infections in a high-risk setting. *J. Clin. Microbiol.* **47**:2639–2642.
33. Gill, P. and Ghaemi, A. 2008. Nucleic acid isothermal amplification technologies: a review. *Nucleosides Nucleotides Nucleic Acids.* **27**(3):224–43.
34. Hill, C. 2001. Molecular diagnostic testing for infectious diseases using TMA technology. *Expert Reve. Mol. Diagn.* **1**(4): 445–455.
35. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). 2005. Collection, Transport, Preparation, and Storage of Specimens for Molecular Methods; Approved Guideline. CLSI Document MM13-A. Wayne, PA.
36. 29 CFR Part 1910.1030. Occupational Exposure to Bloodborne Pathogens; current version.
37. Centers for Disease Control and Prevention/National Institutes of Health. Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories (BMBL); current version.
38. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). 2002. Clinical Laboratory Waste Management. CLSI Document GP5-A2. Villanova, PA.
39. 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.
40. 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 États-Unis

Service clients : +1 800 442 9892
customersupport@hologic.com
Service technique : +1 888 484 4747
molecularsupport@hologic.com

Pour obtenir des coordonnées supplémentaires, visitez le site www.hologic.com.



Hologic BV
Da Vincilaan 5
1930 Zaventem
Belgium

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

Armored ARN est une marque commerciale d'Asuragen, Inc.

Toutes les autres marques commerciales qui peuvent apparaître dans cette notice sont des marques commerciales de leurs détenteurs respectifs.

Ce produit peut faire l'objet d'un ou plusieurs brevets américains décrits à l'adresse www.hologic.com/patents.

© 2014-2020 Hologic, Inc. Tous droits réservés.
AW-11853-901 Rev. 008
2020-11