

Aptima™ HCV Quant Dx Assay

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
Exigences de conservation et de manipulation des réactifs	7
Collecte et conservation des échantillons	8
Échantillons placés dans le 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	19
Contrôle de 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 (LdD) avec le deuxième étalon de référence international 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 avec le deuxième étalon de référence international de l'OMS	26
Détermination de la limite inférieure de quantification (LIdQ) 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	37
Contamination de transfert	38
Panel de séroconversion	38
Bibliographie	39

Informations générales

Usage prévu

Le test Aptima HCV Quant Dx 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 éthylène diamine tétraacétique (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 Panther System, qui permet 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 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 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 doivent être interprétés en prenant en compte tous les résultats cliniques et obtenus en laboratoire.

L'utilisation du test Aptima HCV Quant Dx 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 au sang, aux 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 sous 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 (< LIdQ) 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 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 au 2ème étalon de référence international de l'OMS pour le virus de l'hépatite C (code NIBSC 96/798).¹²

Le test Aptima HCV Quant Dx comprend trois étapes principales, toutes réalisées dans un même tube au sein du Panther System : capture de cible, amplification de la cible par TMA et détection des produits d'amplification (amplicons) par sondes fluorescentes (torches moléculaires).

Lors de la capture de cible, l'ARN 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 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 application d'un champ magnétique. Plusieurs étapes de lavage permettent d'enlever les composants non désirés du tube réactionnel.

L'amplification de la cible est réalisée par TMA, une méthode d'amplification de l'acide nucléique médiée par la transcription et employant deux enzymes, la transcriptase inverse du virus de la leucémie murine de Moloney (MoMuLV) et l'ARN polymérase de T7. La transcriptase inverse permet de générer une copie de l'ADN de la séquence cible (contenant une séquence promoteur 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 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 hybridation spécifique sur l'amplicon de torches moléculaires simple brin présentes pendant l'amplification de la cible. Chaque torche moléculaire est munie d'un fluorophore et d'un supprimeur (quencher). Lorsque la torche moléculaire n'est pas hybridée à l'amplicon, le supprimeur se trouve à proximité immédiate du fluorophore et empêche l'émission de fluorescence. Lorsque la torche moléculaire s'hybride à l'amplicon, la distance entre le supprimeur et le fluorophore augmente et un signal est émis sur une longueur d'onde spécifique après excitation par une source lumineuse. L'intensité du signal fluorescent augmente avec le nombre de torches moléculaires hybridées à l'amplicon. Le temps nécessaire pour que le signal fluorescent atteigne un seuil spécifique est proportionnel à la concentration initiale en VHC. Chaque réaction comprend un contrôle interne (Internal Control, IC) qui détecte les différences de traitement des échantillons, d'amplification et de détection. La concentration d'un échantillon est calculée par le logiciel du Panther System à l'aide des signaux obtenus pour le VHC et l'IC pour chaque réaction et en les comparant aux données de calibration.

Avertissements et précautions

- A. Afin de réduire le risque d'obtention de résultats non valides, lisez attentivement l'ensemble de la notice du test et le *manuel de l'opérateur du Panther System* avant d'effectuer ce test.

Recommandations destinées aux laboratoires



- B. MISE EN GARDE : 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.^{15,16,17}
- C. Cette procédure ne doit être réalisée que par des membres du personnel dûment formés à l'utilisation du test Aptima HCV Quant Dx et à la manipulation de produits potentiellement infectieux. En cas de déversement, désinfectez immédiatement en suivant les procédures appropriées de l'établissement.
- D. N'utilisez que le matériel de laboratoire jetable fourni ou recommandé.
- E. Prenez les précautions de laboratoire habituelles. Ne pipetez pas avec la bouche. Ne mangez pas, ne buvez pas et ne fumez pas dans les zones de travail signalées. Portez des gants jetables sans poudre, des lunettes de protection et des blouses de laboratoire pour manipuler les échantillons et les réactifs du kit. Lavez-vous bien les mains après avoir manipulé les échantillons et les réactifs du kit.
- F. Les plans de travail, les pipettes et les autres matériels doivent être régulièrement décontaminés avec une solution d'hypochlorite de sodium 2,5 % à 3,5 % (0,35 M à 0,5 M).

- G. Jetez tous les matériels ayant été au contact d'échantillons ou de réactifs selon la réglementation en vigueur au niveau local et national.^{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 de réactifs. En cas d'élimination de solutions contenant de l'azoture de sodium par le système d'évacuation des eaux usées, veillez à les diluer et à les rincer abondamment à l'eau courante. Ces précautions sont recommandées pour ces précautions pour éviter toute accumulation de dépôts dans des canalisations en métal, laquelle pourrait favoriser le développement de conditions explosives.
- I. 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 ouaté et combinez-le 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 recueillir des échantillons de surface, humidifiez légèrement un écouvillon avec de l'eau désionisée exempte de nucléases.
 5. Passez l'écouvillon sur la surface qui vous intéresse en effectuant un mouvement vertical de haut en bas. Faites tourner l'écouvillon d'environ un demi-tour tout en le passant sur la surface.
 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 côté du tube de transport pour en extraire un 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

- J. Les échantillons peuvent être infectieux. Respectez 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 des membres du personnel dûment formés à l'utilisation du test Aptima HCV Quant Dx et à la manipulation de produits potentiellement infectieux.
- K. 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.
- L. Évitez toute contamination croisée lors des étapes de manipulation des échantillons. Veillez tout particulièrement à éviter toute contamination par diffusion d'aérosols lors du dévissage 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

- M. N'utilisez pas le kit de réactifs, le calibrateur ou les contrôles après leur date de péremption.
- N. N'échangez pas, ne mélangez pas et ne combinez pas 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.
- O. Évitez de contaminer les réactifs par des micro-organismes ou des nucléases.
- P. 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 *Exigences de conservation et de manipulation des réactifs* et *Procédure de test pour le Panther System*.
- Q. Ne combinez pas de réactifs de test ou de liquides de test sans consignes spécifiques. Ne rajoutez pas de réactif ou de liquide dans les flacons. Le Panther System vérifie le niveau des réactifs.
- R. 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.hologicds.com.

**HCV 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 des gants/des vêtements/des lunettes/un masque de protection

Exigences de conservation et de manipulation des réactifs

- A. Les tableaux suivants indiquent les conditions et la stabilité de conservation pour les réactifs, les contrôles et le calibrateur.

Réactif	Conservation non ouvert	Kit ouvert (reconstitué)	
		Conservation	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 À 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 À 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 À utiliser dans les 24 heures
qHCV PCAL (calibrateur positif)	-15 °C à -35 °C	15 °C à 30 °C	Flacon à usage unique À utiliser dans les 24 heures

^a Lorsque des réactifs sont retirés 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 combien de fois les réactifs ont été chargés.
- D. Après décongélation du calibrateur, la solution doit être transparente, c.-à-d. qu'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 :

- Tubes contenant de l'acide éthylène diamine tétraacétique (EDTA) ou des anticoagulants acide citrate dextrose (ACD), ou
- Tubes de préparation du plasma (PPT)
- Tubes sérum
- Tubes de séparation du sérum (SST)

En cas d'utilisation du sérum, laissez le caillot se former 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 6 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

S'il ne sont pas analysés immédiatement, le plasma et le sérum peuvent être stockés conformément aux spécifications ci-dessous. 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 d'EDTA ou d'ACD, ou bien des tubes primaires de collecte du sérum.

B. Conditions de conservation des échantillons

1. Échantillons de plasma sur EDTA ou ACD

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

- Jusqu'à 24 heures dans le tube de collecte primaire ou le tube secondaire entre 2 °C et 25 °C,
- Jusqu'à 5 jours dans le tube de collecte primaire ou le tube secondaire entre 2 °C et 8 °C ou
- Jusqu'à 60 jours dans le tube secondaire à -20 °C.

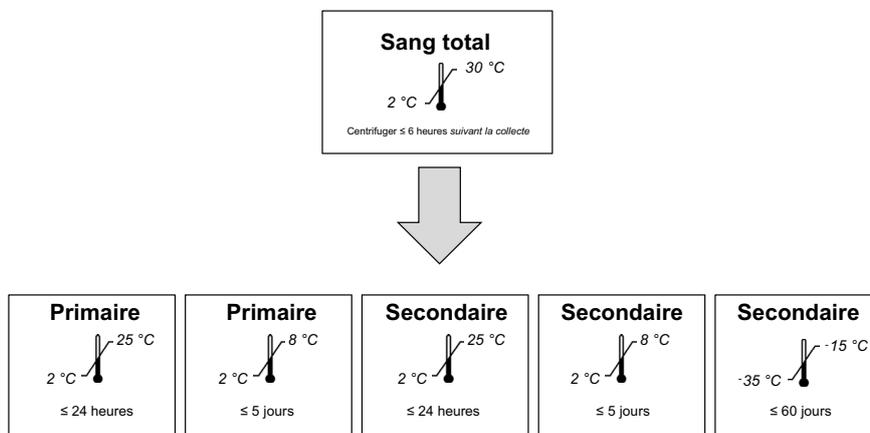


Figure 1. Conditions de conservation pour les tubes d'EDTA/ACD

2. Échantillons dans des tubes PPT

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

- Jusqu'à 24 heures dans le tube de collecte primaire ou le tube secondaire entre 2 °C et 25 °C,
- Jusqu'à 5 jours dans le tube de collecte primaire ou le tube secondaire entre 2 °C et 8 °C ou
- Jusqu'à 60 jours dans le tube de collecte primaire ou le tube secondaire à -20 °C.

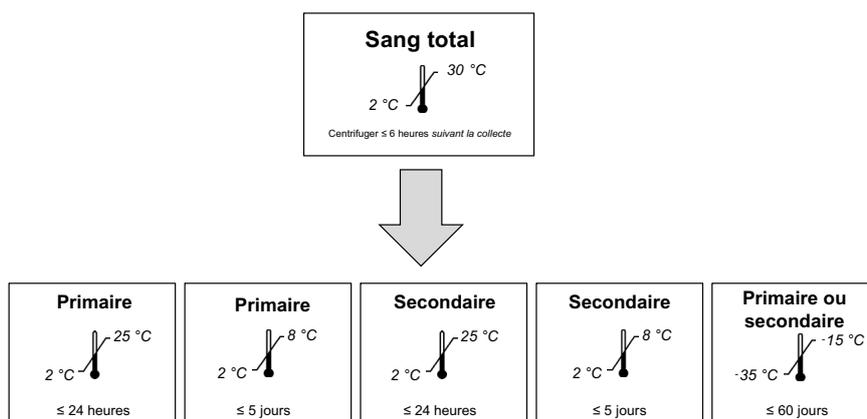


Figure 2. Conditions de conservation pour les tubes PPT

3. Échantillons dans des tubes sérum

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

- Jusqu'à 24 heures dans le tube de collecte primaire ou le tube secondaire entre 2 °C et 30 °C,
- Jusqu'à 5 jours dans le tube de collecte primaire ou le tube secondaire entre 2 °C et 8 °C ou
- Jusqu'à 60 jours dans le tube secondaire à -20 °C.

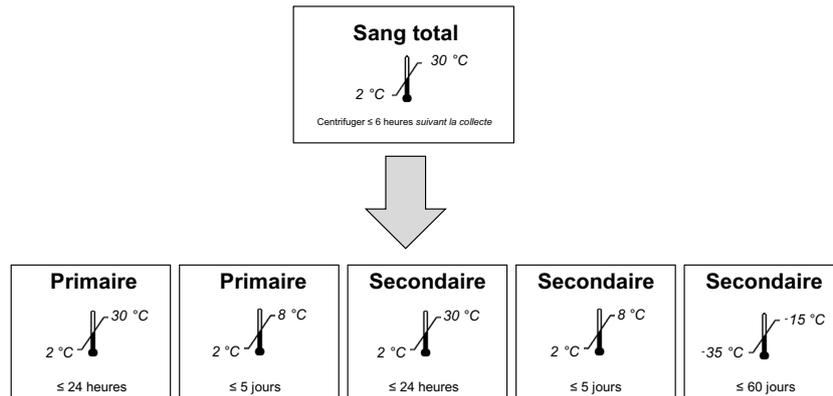


Figure 3. Conditions de conservation pour les tubes sérum

4. Échantillons dans des tubes SST

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

- Jusqu'à 24 heures dans le tube de collecte primaire ou le tube secondaire entre 2 °C et 30 °C,
- Jusqu'à 5 jours dans le tube de collecte primaire ou le tube secondaire entre 2 °C et 8 °C ou
- Jusqu'à 60 jours dans le tube de collecte primaire ou le tube secondaire à -20 °C.

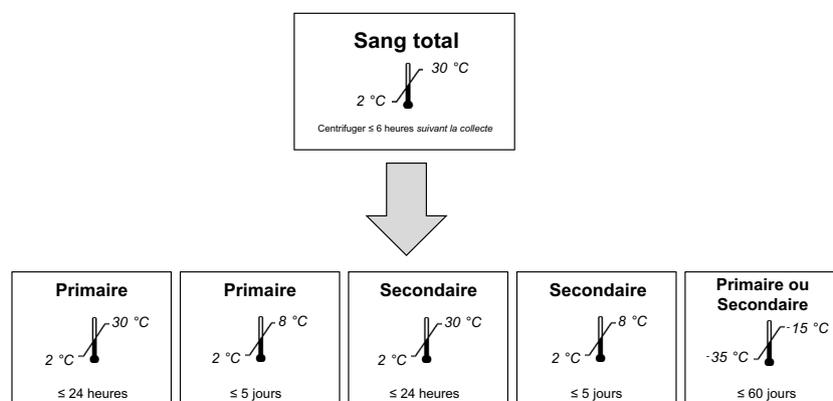


Figure 4. Conditions de conservation pour les tubes SST

C. Conservation à long terme au congélateur

Les échantillons de plasma ou de sérum peuvent être stockés à -70 °C jusqu'à 60 jours dans des tubes SAT.

D. Dilution d'échantillons de plasma et de sérum

Les échantillons de plasma et de sérum peuvent être dilués dans le tube SAT ou dans un tube secondaire pour être testés sur le Panther System. Pour de plus amples informations, consultez la section *Procédure de test pour le Panther System*, étape E.6

⚠ *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 congelez pas un échantillon dilué.

Échantillons placés dans le Panther System

Les échantillons peuvent être laissés sans bouchon dans le 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 dans le Panther System ne dépasse pas 8 heures avant le pipetage de l'échantillon par le système.

Transport des échantillons

Observez les conditions de conservation 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 au test Aptima HCV 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 de test Aptima HCV Quant Dx, 100 tests, n° de réf. PRD-03506

(1 boîte de réactifs de tests, 1 kit de calibration et 1 kit de contrôles)

Des calibrateurs et des contrôles supplémentaires peuvent être commandés séparément.

Reportez-vous aux références ci-dessous.

Boîte de réactifs de test Aptima HCV Quant Dx

(conserver 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 ARN polymérase 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 en 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 Aptima HCV Quant Dx (n° de réf. PRD-03507)
(conserver entre -15 °C et -35 °C dès réception)

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

Kit de contrôles Aptima HCV Quant Dx (N° de réf. PRD-03508)
(conserver 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 à code à barres des contrôles	—

Matériel requis, mais disponible séparément

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

Matériel	N° de réf.
Panther System	—
Kit d'analyse Panther pour tests en temps réel (pour tests en temps réel uniquement)	PRD-03455 (5 000 tests)
<i>Kit de liquides pour tests Aptima (également appelé Kit de liquides universel) contient : solution de lavage Aptima, tampon Aptima pour solution de désactivation et réactif huileux Aptima</i>	303014 (1 000 tests)
<i>Tubes réactionels - Multi-tubes (Multi-Tube Unit, MTU)</i>	104772-02
<i>Sacs pour déchets Panther</i>	902731
<i>Couvre-déchets Panther</i>	504405
Ou kit d'analyse pour Panther System <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, un dispositif de détection automatique et des liquides pour tests</i>	303096 (5 000 tests)
Embouts, 1000 µl conductifs, à détection de liquide	10612513 (Tecan)
Eau de Javel, solution d'hypochlorite de sodium à 5 % à 7 % (0,7 M à 1,0 M).	—
Gants sans poudre jetables	—
Bouchons non pénétrables de rechange	103036A
Bouchons de rechange pour réactifs <i>Flacons de reconstitution de réactif d'amplification, 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	—
Pipeteur	—
Embouts	—
Dimensions possibles des tubes de collecte primaires :	
<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

Matériel	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
Bouchon pour tube de transport (100/paquet) <i>bouchon pour tube SAT</i>	504415
Diluant d'échantillon Aptima	PRD-03003
Kit de diluant d'échantillon Aptima <i>contient du diluant d'échantillon, 100 tubes SAT et 100 bouchons</i>	PRD-03478
Pipettes de transfert	—
Panels disponibles dans le commerce, par exemple : <i>le panel HCV de l'organisation Quality Control for Molecular Diagnostics (QCMD) ou</i> <i>les panels HCV ACCURUN de SeraCare</i>	—
Écouvillons à embout ouaté	—
Agitateur de tubes	—

Procédure de test pour le Panther System

Remarque : Consultez le 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 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.
2. Nettoyez un plan de travail distinct pour la préparation des échantillons. Suivez la procédure décrite ci-dessus (étape A.1).
3. Nettoyez tous les pipeteurs. Suivez la procédure de nettoyage 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. Retirez 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 le 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 placés dans un agitateur de 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 toute contamination, n'ouvrez pas 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. Retirez 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 en procédant comme suit : Retirez le TCR de son lieu de conservation (2 °C à 8 °C) et agitez-le immédiatement vigoureusement (10 fois). Placez le flacon de TCR sur un agitateur de tubes et laissez-le s'équilibrer entre 15 °C et 30 °C pendant au moins 45 minutes.
 - c. Avant utilisation, vérifiez que tout précipité a été dissous et que les particules magnétiques sont en suspension.
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 de conservation (2 °C à 8 °C). Associez chaque solution de reconstitution à 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 un plan de travail propre et couvert.
 - 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 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 agitez 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 le flacon. Notez 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.

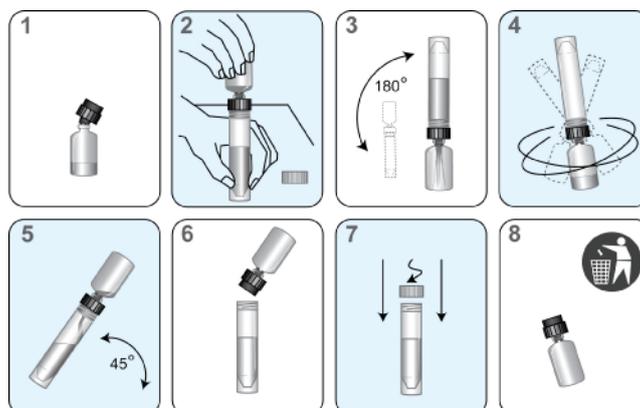


Figure 5. Procédure de reconstitution des réactifs

D. Préparation de réactifs précédemment reconstitués

1. Retirez 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 remplis à ras bord.

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 à l'aide d'un agitateur 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 sur les procédures dans le système, consultez *Échantillons placés dans le 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, centrifugez chaque échantillon entre 1 000 et 3 000 g pendant 10 minutes. N'enlevez pas 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 ou de sérum 1:3 dans un tube SAT ou 1:100 dans un tube secondaire.

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

- ⚠ La dilution d'échantillons n'est à utiliser que pour l'obtention de résultats quantitatifs. Ne diluez pas les échantillons 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 des échantillons 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 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 au 1/3 peuvent être analysés à l'aide de l'option 1:3 du Panther System (pour de plus amples informations, consultez le *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 le seuil de quantification supérieur, 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 analysés à l'aide de l'option 1:100 du Panther System (pour de plus amples informations, consultez le *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 dont la concentration non diluée est supérieure à la LSdQ, les résultats seront présentés en notation scientifique.*

F. Préparation du système

1. Configurez le système selon les instructions du *manuel de l'opérateur du Panther System* et de la section *Remarques concernant la procédure*. Vérifiez que les portoirs de réactifs et les adaptateurs TCR utilisés sont de taille appropriée.
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 le retirer.

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 tous les autres échantillons.
- d. Une fois les échantillons chargés dans le portoir d'échantillons, enlevez et jetez le bouchon de chaque tube d'échantillon du même portoir d'échantillons. Pour éviter toute contamination, ne passez pas les bouchons au-dessus d'autres portoirs d'échantillons ou tubes d'échantillons.
- e. S'il y a lieu, utilisez une pipette de transfert jetable neuve pour retirer les bulles ou la mousse.
- f. Une fois le dernier bouchon retiré, chargez le portoir d'échantillons dans un compartiment d'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 positif qHCV, le contrôle qHCV positif faible, le contrôle qHCV positif fort et le contrôle qHCV négatif peuvent être chargés à 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 les tubes de calibrateur et de contrôles ont été pipetés et sont traités avec le kit de réactifs du test Aptima HCV Quant Dx, alors des échantillons peuvent être testés pendant 24 heures maximum avec le kit reconstitué associé, **à moins que :**
- a. Le résultat du calibrateur et les résultats des contrôles ne soient pas valides.
 - b. Le kit de réactifs de test associé soit retiré du système.
 - c. Le kit de réactifs de test associé ait dépassé les limites de stabilité.
3. Le calibrateur et chaque tube de contrôle sont prévus pour une seule utilisation. Les tentatives d'utiliser le tube plus d'une fois peuvent entraîner des erreurs de traitement.
- B. Poudre des gants

Comme avec tout système de réactifs, 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

Le résultat d'une analyse ou d'un échantillon peut être invalidé 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 à nouveau être testés.

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 pendant 24 heures maximum. Le logiciel du Panther System avertit l'opérateur lorsque des contrôles sont nécessaires. L'opérateur scanne 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 réplicats 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 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 réplicat du contrôle négatif, du contrôle positif faible et du contrôle positif fort doivent être analysés chaque fois qu'un kit de réactifs est chargé sur le Panther System. Une fois établis, les contrôles sont valides pendant 24 heures maximum. 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 aux 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 (IC). Le logiciel du Panther System vérifie automatiquement les critères d'acceptation pour l'IC lors du traitement. Si un résultat de l'IC est non valide, alors le résultat de l'échantillon est invalidé. Chaque échantillon dont le résultat de l'IC est non valide doit être analysé à nouveau afin d'obtenir un résultat valide.

Le logiciel du Panther System est conçu pour vérifier précisément les processus lors de la réalisation des procédures conformément aux instructions de cette notice de test et du *manuel de l'opérateur du Panther System*.

Interprétation des résultats

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

Remarque : Pour les échantillons dilués, les résultats signalés comme « < Non détecté » ou « < 10 détecté » peuvent être générés en diluant un échantillon avec une concentration proche, mais supérieure à la limite de détection (LdD) ou à la limite inférieure de quantification (LIdQ). 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 VHC 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 VHC. Les résultats d'échantillons signalés comme « < 10 détecté » qui appartiennent à 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 rapporté du test Aptima HCV Quant Dx		Interprétation de la concentration en ARN du VHC	Interprétation qualitative diagnostique de l'utilisateur ^a
UI/ml	Valeur en \log_{10} ^b		
Non détecté	Non détecté	ARN du VHC non détecté.	Non réactif pour l'ARN du VHC
< 10 détecté	< 1,00	L'ARN du VHC est détecté mais à un niveau inférieur à la LIdQ	Réactif pour l'ARN du VHC
10 à 100 000 000	1,00 à 8,00	La concentration en ARN du VHC est dans la plage linéaire de 10 à 100 000 000 UI/ml	Réactif pour l'ARN du VHC
> 100 000 000	> 8,00	La concentration en ARN du VHC est supérieure à la LSdQ	Réactif pour l'ARN du VHC
Non valide ^c	Non valide ^c	Une erreur est survenue lors de la génération du résultat. L'échantillon doit être analysé à nouveau	Non valide

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

^b La valeur est tronquée à deux décimales.

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

Limites

- 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.
- L'obtention de résultats fiables repose sur la collecte, le transport, la conservation et le traitement appropriés des échantillons.

Performance

Limite de détection (LdD) avec le deuxième étalon de référence international de l'OMS

D'après le protocole EP17-A2 du CLSI, la limite de détection (LdD) du test est définie comme la concentration en ARN du VHC dont la probabilité de détection est égale ou supérieure à 95 %.¹⁹

La LdD a été déterminée par le test de panels du deuxième étalon de référence international 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 au moins 108 réplicats par dilution. Une analyse Probit a été réalisée afin d'estimer les limites de détection. Les valeurs de LdD indiquées dans le Tableau 2 sont les résultats obtenus avec le lot de réactifs doté de la limite de détection estimée la plus élevée. La LdD pour le test Aptima HCV Quant Dx avec le deuxième étalon de référence international 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 avec le deuxième étalon de référence international de l'OMS pour le VHC

Limite de détection estimée	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 LdD 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 d'un autre fabricant homologué CE. Au moins 20 réplicats de chaque membre du panel ont été analysés avec chacun des trois lots de réactifs pour au moins 60 réplicats par membre du panel. Une analyse Probit a été réalisée afin d'estimer les seuils de détection à 50 % et 95 %. Les valeurs de LdD indiquées dans le Tableau 3 sont les résultats obtenus avec le lot de réactifs doté de la limite de détection estimée la plus élevée.

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

Génotype	Seuil de détection	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 au protocole EP06-A du CLSI.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 a été démontrée sur l'ensemble de la plage testée, avec une limite supérieure de quantification (LSdQ) de 8,0 log UI/ml, comme illustré dans la Figure 6.

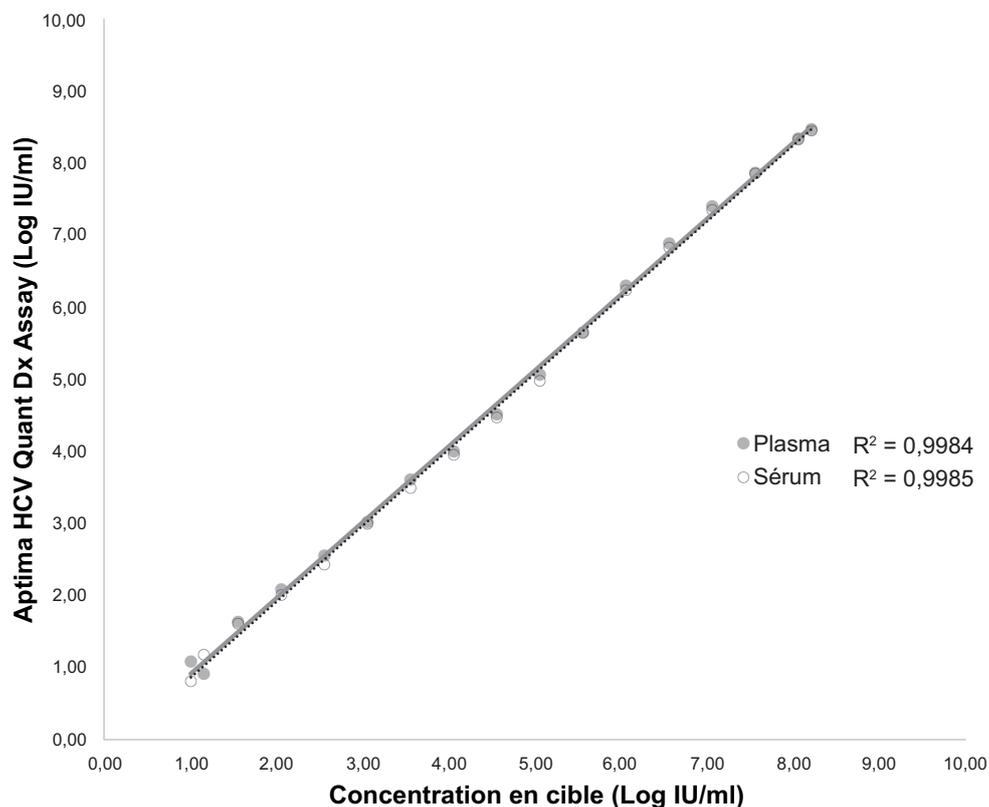


Figure 6. Linéarité dans le plasma et le sérum

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 transcrite VHC dilué dans un tampon à des concentrations allant de 1,36 log UI/ml à 7,36 log UI/ml. Les analyses ont été réalisées sur trois systèmes Panther utilisant trois lots de réactifs. La linéarité a été démontrée sur l'ensemble de la plage testée pour tous les génotypes testés, comme illustré dans la Figure 7.

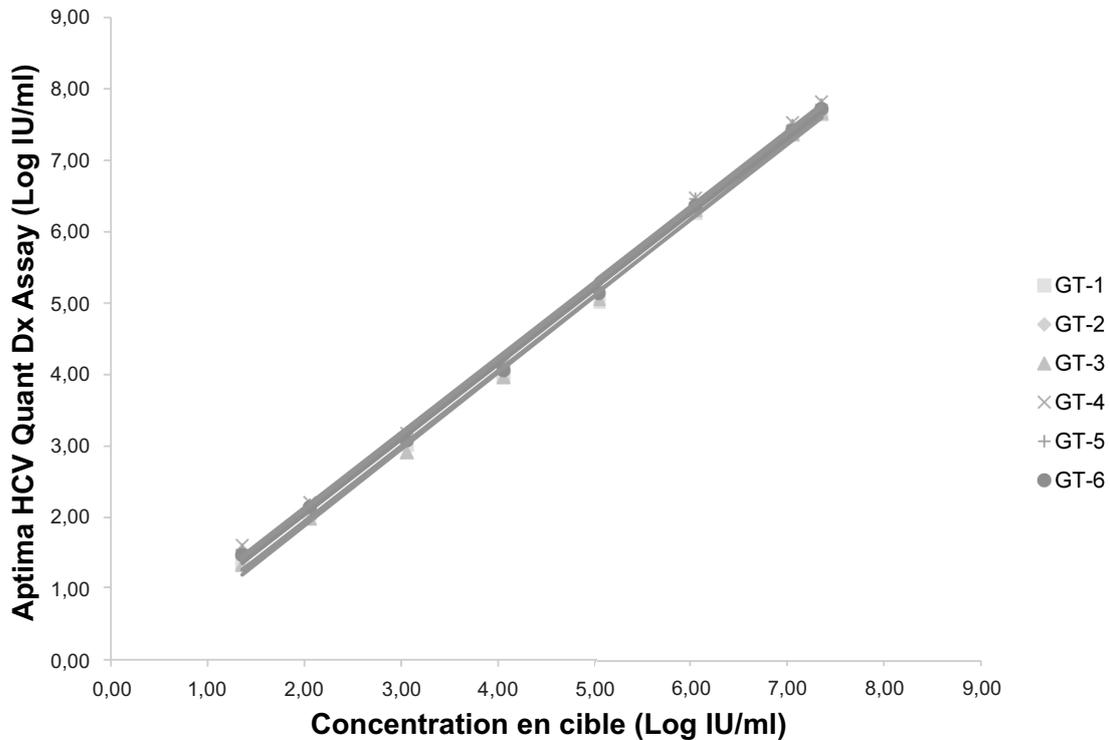


Figure 7. Linéarité pour les différents génotypes (1 à 6) du VHC

Limite inférieure de quantification avec le deuxième étalon de référence international de l'OMS

D'après le protocole EP17-A2 du CLSI¹⁹, la limite inférieure de quantification (LIdQ) 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. L'erreur totale a été estimée à l'aide de deux méthodes : Erreur analytique totale (EAT) = |biais| + 2 écarts-types, et Erreur totale (ET) = × 2 écarts-types. Afin de s'assurer de l'exactitude et de la précision des mesures, l'erreur totale du test Aptima HCV Quant Dx était définie à 1 log UI/ml (c.-à-d. qu'à la LIdQ, la différence entre 2 mesures de plus de 1 log UI/ml est statistiquement significative).

La LIdQ a été déterminée par le test de panels du deuxième étalon de référence international 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 au moins 108 réplicats par dilution. Les résultats du lot de réactifs doté de la concentration la plus élevée, supérieure ou égale à la LdD et conforme aux exigences de l'ET et de l'EAT, sont illustrés dans le Tableau 4 pour le plasma et dans le Tableau 5 pour le sérum. La LIdQ pour le deuxième étalon de référence international de l'OMS est de 7 UI/ml (0,82 log UI/ml) pour le plasma et 9 UI/ml (0,93 log UI/ml) pour le sérum, comme résumé dans le Tableau 6. La LIdQ a été établie pour tous les génotypes (voir la section suivante, « Détermination de la limite inférieure de quantification [LIdQ] pour les différents génotypes du VHC »). Ces données sur les génotypes établissent la LIdQ générale pour le test à 10,0 UI/ml.

Tableau 4 : LIdQ avec le deuxième étalon de référence international de l'OMS pour le VHC dilué dans du plasma

Lot de réactifs	Concentration cible	Concentration cible	Aptima HCV Quant Dx	Écart-type	Biais	ET calculée	EAT calculée
	(IU/ml)	(log IU/ml)	(log IU/ml)	(log IU/ml)	(log IU/ml)	(log IU/ml)	(log IU/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

SD = écart-type (standard deviation)

Tableau 5 : LIdQ avec le deuxième étalon de référence international de l'OMS pour le VHC dilué dans du sérum

Lot de réactifs	Concentration cible	Concentration cible	Aptima HCV Quant Dx	Écart-type	Biais	ET calculée	EAT calculée
	(IU/ml)	(log IU/ml)	(log IU/ml)	(log IU/ml)	(log IU/ml)	(log IU/ml)	(log IU/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

SD = écart-type (standard deviation)

Tableau 6 : Résumé de la LIdQ avec le deuxième étalon de référence international de l'OMS pour le VHC

Lot de réactifs	LIdQ plasma		LIdQ sérum	
	(log UI/ml)	(IU/ml)	(log UI/ml)	(IU/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 (LIdQ) pour les différents génotypes du VHC

La LIdQ 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 d'un autre fabricant homologué CE. Au moins 36 réplicats de chaque membre du panel ont été analysés avec chacun des trois lots de réactifs pour au moins 108 réplicats par membre du panel. Les résultats du lot de réactifs doté de la concentration la plus élevée, supérieure ou égale à la LdD et conforme aux exigences de l'ET et de l'EAT, sont illustrés dans le Tableau 7 pour le plasma et dans le Tableau 8 pour le sérum. Les LIdQ pour les génotypes 1 à 6 dans le plasma et dans le sérum sont résumées dans le Tableau 9. Cela a permis d'établir la LIdQ générale pour le test à 10 UI/ml.

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

Génotype	Concentration cible	Concentration cible	Aptima HCV Quant Dx	Écart-type	Biais	ET calculée	EAT calculée
	(IU/ml)	(log IU/ml)	(log IU/ml)	(log IU/ml)	(log IU/ml)	(log IU/ml)	(log IU/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

SD = écart-type (standard deviation)

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

Génotype	Concentration cible	Concentration cible	Aptima HCV Quant Dx	Écart-type	Biais	ET calculée	EAT calculée
	(IU/ml)	(log IU/ml)	(log IU/ml)	(log IU/ml)	(log IU/ml)	(log IU/ml)	(log IU/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

SD = écart-type (standard deviation)

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

Génotype du VHC	LIdQ plasma		LIdQ sérum	
	(log IU/ml)	(IU/ml)	(log IU/ml)	(IU/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 membres 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 négatif 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 durée 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, inter-séries (« between runs »), intra-série (« within runs ») et en général. La variabilité totale était $\leq 13,31$ % sur l'ensemble des membres du panel, surtout en raison de la variabilité intra-série (c.-à-d. erreur aléatoire).

Tableau 10 : Précision du test Aptima HCV Quant Dx

Matrice	N	Concentration moyenne (log UI/ml)	Entre appareils		Entre opérateurs		Entre lots		Inter-séries		Intra-série		Total	
			SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)
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

CV = coefficient de variation, SD = écart-type (standard deviation)

^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. Lorsque cela se produit, les valeurs SD et CV indiquées sont égales à 0.

Substances potentiellement interférentes

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

Aucune altération des performances 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 dans le Tableau 11 ont été analysés avec le test Aptima HCV Quant Dx. Aucune altération des performances du test n'a été observée.

Tableau 11 : Types d'échantillons cliniques analysés

Types d'échantillons cliniques	
1	Facteur rhumatoïde (FR)
2	Anticorps antinucléaire (AAN)
3	Anticorps anti-Jo-1 (JO-1)
4	Lupus érythémateux disséminé (LED)
5	Polyarthrite rhumatoïde (PR)
6	Sclérose en plaques (SEP)
7	Hyperglobulinémie
8	Alanine aminotransférase (ALT) élevée
9	Aspartate aminotransférase (AST) élevée
10	Cirrhose alcoolique (CA)
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 des performances du test n'a été observée en présence des substances exogènes présentées dans le Tableau 12 à des concentrations d'au moins trois fois la C_{max} (plasma humain).

Tableau 12 : Substances exogènes

Pool de substances exogènes	Substances exogènes testées
1	Telaprévir, 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 frais et 538 échantillons congelés négatifs pour le VHC. Au total, 370 échantillons de plasma et 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 été détecté dans aucun des 736 échantillons. La spécificité était de 100 % (736/736, IC à 95 % : 99,6 -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 valide (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

Les réactions croisées potentielles avec les agents pathogènes énumérés dans le Tableau 14 ont été évaluées en la présence ou l'absence d'ARN du VHC à 3,3 log UI/ml. Aucune réaction 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 (HSV-1)	100 000	UFP/ml	<i>Candida albicans</i>	1 000 000	UFC/ml
Virus de l'herpès simplex 2 (HSV-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	TCID50 U/ml ^c	<i>Trichomonas vaginalis</i>	1 000 000	cellules/ml
Virus T-lymphotropique humain de type 1 (HTLV-1)	100 000	pv/ml ^d			
Virus T-lymphotropique 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	TCID50 U/ml			
Virus de la grippe A	100 000	TCID50 U/ml			
Virus de l'encéphalite japonaise	S.O.	S.O.			
Virus de l'encéphalite de Saint-Louis	S.O.	S.O.			
Virus de l'encéphalite de la Murray valley	2 643	DL/ml ^e			
Virus de la fièvre jaune	100 000	cellules/ml			

^a UI/ml = unités internationales par ml

^b UFP/ml = unités formant plaques par ml

^c TCID50 U/ml = tissue culture infective dose units (unités de dose infectieuse de culture tissulaire) par ml

^d pv/ml = particules virales par ml

^e DL/ml = dose létale par ml

^f UFC/ml = unités formant colonies par ml

^g UFI/ml = unités formant inclusions par ml

Échantillons cliniques contenant des virus autres que le VHC

Les agents pathogènes énumérés dans le Tableau 15 ont été évalués par 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 réaction 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 naturellement infectés par le VHC. La concentration moyenne et l'écart-type pour les échantillons de plasma et de sérum sont présentés dans les Tableaux 16 et 17.

Tableau 16 : Reproductibilité des échantillons cliniques de plasma

ID d'échantillon de plasma	Concentration moyenne (log UI/ml)	Écart-type
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)	Écart-type
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 au 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) de concentrations supérieures à la LSdQ ont été dilués au 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 rapportée (facteur de dilution appliqué au résultat de l'échantillon dilué) et la concentration non diluée moyenne sont indiquées dans le Tableau 18 pour le plasma et dans le Tableau 19 pour le sérum. Les concentrations des échantillons se retrouvaient avec précisions 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 moyenne rapportée ^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

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

^b Échantillon avec ajout.

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 moyenne rapportée ^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

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

^b Échantillon avec ajout.

^c Résultat 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

Les performances du test Aptima HCV Quant Dx ont été évaluées par rapport à un test homologué CE d'un autre fabricant en testant des échantillons cliniques de plasma 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 illustré dans la Figure 8.

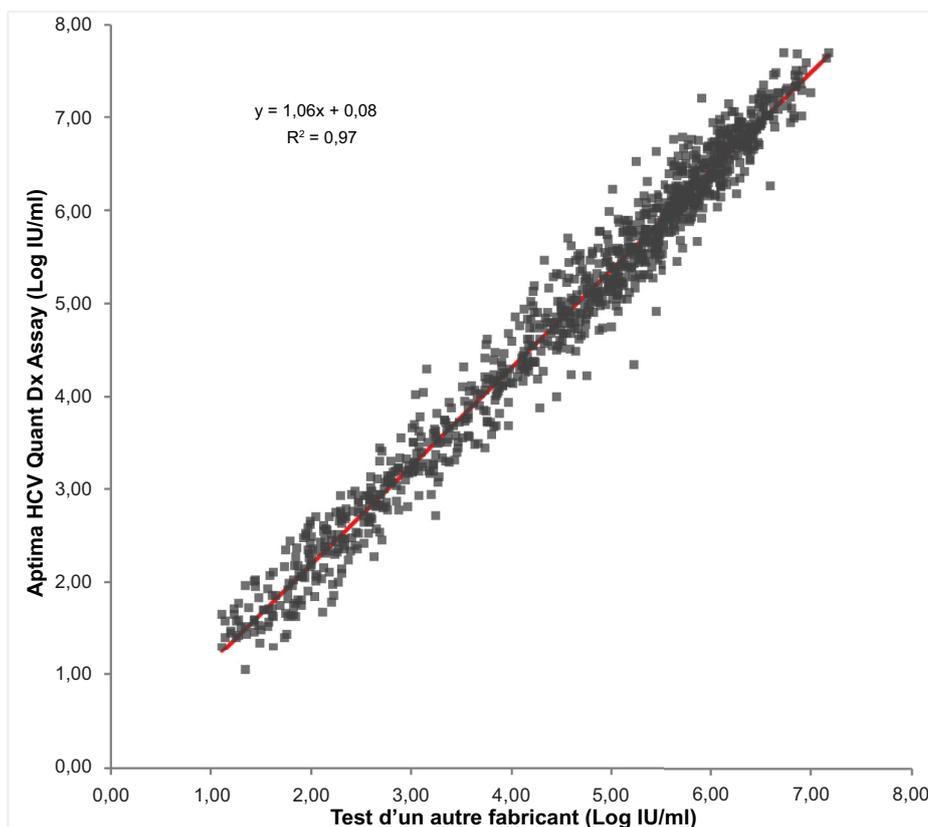


Figure 8. Corrélation entre le test Aptima HCV Quant Dx et le test d'un autre fabricant

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 et d'un test d'un autre fabricant homologué CE. 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 illustré dans le Tableau 20.

Tableau 20 : Concordance diagnostique entre le test Aptima HCV Quant Dx et le test d'un autre fabricant

		Test Aptima HCV Quant Dx	
		Détecté	Cible non détectée
Test d'un autre fabricant	Détecté	99	0
	Cible non détectée	0	128

Contamination de transfert

Afin d'établir que le système System réduit au maximum le risque de résultats faussement positifs par contamination de transfert, une étude a été menée sur trois systèmes Panther avec des panels enrichis en ARN. La contamination de transfert a été évaluée en utilisant des échantillons de plasma à titre élevé auxquels avait été ajouté de l'ARN encapsulé (Armored RNA) (7 log UI/ml) intercalés entre des échantillons négatifs pour le VHC selon un motif en damier. Les tests ont porté sur plus de quinze analyses. 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 ont été comparés aux résultats du test de détection des anticorps anti-VHC. Le nombre de jours avant le premier résultat réactif est indiqué dans le Tableau 21. Le test Aptima HCV Quant Dx 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 de membres du panel testés	Nombre de membres du panel réactifs		Jours avant le premier résultat réactif			Différence 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.

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*. 5 mai 2014
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*. janvier 2014;59(1):318-27.
7. Recommendations de l'EASL relatives au traitement de l'hépatite C 2014: www.easl.eu/_clinical-practice-guideline
8. AASLD et l'Infectious Diseases Society of America (IDSA), en collaboration avec l'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*. juillet 2013;38(2):118-23.
11. Treatment of Hepatitis C, A Systemic Review (2014) *JAMA* Volume 312: No.6; 631-640.
12. Conférence de concertation internationale de l'EASL sur l'hépatite 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 et 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 États-Unis

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

Pour d'autres informations de contact, rendez-vous sur www.hologic.com.



Hologic BVBA
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 RNA est une marque commerciale de Asuragen, Inc.

Toutes les autres marques commerciales figurant dans cette notice de test appartiennent à leurs propriétaires respectifs.

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

© 2015-2019 Hologic, Inc. Tous droits réservés.

AW-13249-901 Rev. 005
2019-04