

Aptima™ Herpes Simplex Viruses 1 & 2 Assay

Mode d'emploi
Pour une utilisation en 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
Résumé de la sécurité et des performances	3
Avertissements et précautions	4
Conditions de conservation et de manipulation des réactifs	6
Prélèvement et conservation des échantillons	7
Panther System	9
Réactifs et matériels fournis	9
Matériel requis, mais disponible séparément	10
Procédure de test pour le Panther System	11
Remarques concernant la procédure	14
Contrôle de la qualité	16
Interprétation des tests	17
Limites	18
Performances analytiques du test sur le Panther System	19
Milieu de Transport viral (VTM)	19
Sensibilité analytique	19
Vérification de la LoD	19
Co-infection	20
Réactivité croisée	20
Interférence	21
Reproductibilité	23
Performance HSV-2 dans une matrice clinique orale simulée	24
Performances cliniques du test sur le Panther System	25
Performance clinique	25
Intervalle de référence et valeurs attendues	28
Bibliographie	31
Coordonnées et historique des révisions	32

Informations générales

Usage prévu

Le test Aptima™ Herpes Simplex Virus 1 et 2 assay (test Aptima HSV 1 et 2) est un test *in vitro* d'amplification de l'acide nucléique (TAAN) en temps réel pour la détection qualitative et la différenciation du RNA messager (mRNA) du virus herpès simplex (HSV) de type 1 (HSV-1) et type 2 (HSV-2) sur le Panther™ system.

Le test peut être utilisé pour tester les écouvillons collectés par un clinicien, sur des lésions cutanées de la région ano-génitale ou de la région orale, et placés dans un milieu de transport viral (VTM) ou un milieu de transport d'échantillon Aptima (STM). Le test sert au diagnostic des infections à HSV-1 ou HSV-2 chez les patients symptomatiques, hommes et femmes.

Le dispositif n'est pas destiné à être utilisé avec le liquide céphalorachidien ou pour le dépistage prénatal.

Résumé et explication du test

Les virus herpès simplex de type 1 et 2 (HSV-1 et HSV-2) sont des virus à DNA double-brin appartenant à la sous-famille des alpha herpesviridae. Bien que HSV-1 et HSV-2 sont étroitement liés, ils sont génétiquement et sérologiquement distincts (1). Aux États-Unis, entre 2005 et 2010, la séroprévalence HSV-1 était de 53,9 % et la séroprévalence HSV-2 était de 15,7 % (2).

HSV-1 et HSV-2 infectent généralement la peau abrasée ou les muqueuses orales ou génitales, provoquant des lésions douloureuses. Après la phase symptomatique initiale, les virus établissent des infections latentes dans les ganglions nerveux sensoriels, provoquant chez l'homme des infections incurables pour le reste de la vie. De nombreux événements, comme le stress physique ou émotionnel, la fièvre, la lumière ultraviolette et des lésions tissulaires, peuvent causer la réactivation virale conduisant à des lésions récurrentes ou à une excrétion virale asymptomatique (1, 3).

Bien que HSV-1 et HSV-2 peuvent infecter les muqueuses buccales et génitales, le virus HSV-1 est responsable de la majorité des infections non génitales. L'infection génitale à HSV est l'une des infections sexuellement transmissibles les plus répandues aux États-Unis. Alors que le virus HSV-2 est toujours la cause la plus fréquente de l'herpès génital, des études récentes suggèrent une augmentation de l'incidence de HSV-1 dans l'herpès génital (4). Les infections génitales à HSV peuvent faciliter l'acquisition et la transmission du VIH (5). En outre, les femmes enceintes présentant une infection génitale primaire à HSV en fin de terme ont 50 % de chance de transmettre le virus au fœtus et courent un risque d'avortement spontané et d'accouchement prématuré plus élevé (6).

Un pourcentage élevé d'infections asymptomatiques à HSV restent inconnues au patient ou au médecin (7). Un diagnostic précis des infections à HSV améliore l'accompagnement du patient, conduit à un traitement efficace et réduit la transmission (4).

Historiquement, les infections à HSV ont été diagnostiquées à l'aide de culture virale suivie par génotypage du HSV par immunofluorescence ; des procédures longues et fastidieuses. Les tests d'amplification des acides nucléiques (TAAN) se sont avérés être plus sensibles que les méthodes de culture et permettent d'obtenir les résultats beaucoup plus rapidement (4).

Le test Aptima HSV 1 & 2 assay est un TAAN développé pour être utilisé sur le Panther System automatisé qui utilise la capture de cible, la TMA et la détection en temps réel de HSV-1, HSV-2 et un contrôle interne (IC). Le test Aptima HSV 1 & 2 assay amplifie et détecte des mRNA du HSV-1 et du HSV-2 (8). Ces ARN sont exprimés à partir du génome viral durant le cycle d'infection et sont stockés à l'intérieur des particules virales HSV-1 et HSV-2 avant que les cellules infectées ne libèrent le virus (9). Le test Aptima HSV 1 & 2 assay détecte donc les cellules infectées par le virus et les particules virales matures elles-mêmes.

Principes de la procédure

Le test Aptima HSV 1 & 2 assay comporte trois étapes principales, qui ont toutes lieu dans un seul tube sur le Panther System : capture de la cible, amplification de la cible par TMA et détection des produits d'amplification (amplicon) par sondes marquées par fluorescence (torches). Le test intègre un CI dans chaque phase pour suivre la capture des acides nucléiques cibles, l'amplification et la détection.

Les échantillons sont collectés ou transférés dans un tube contenant du STM qui lyse les cellules, libère les mRNA et les empêche de se dégrader pendant le stockage. Lorsque le test Aptima HSV 1 & 2 assay est effectué, les mRNA cibles sont isolés de l'échantillon au moyen d'oligomères de capture qui sont liés à des microparticules magnétiques. Les oligomères de capture contiennent des séquences complémentaires à des régions précises des molécules cibles des mRNA du HSV ainsi qu'une chaîne de résidus de désoxyadénosine. Lors de l'étape d'hybridation, les régions spécifiques de la séquence des oligomères de capture se fixent sur des régions précises des molécules cibles des mRNA du HSV. Le complexe oligomère de capture/cible est ensuite capturé hors de la solution en ramenant la température de la réaction à température ambiante. Cette réduction de température permet à l'hybridation de se produire entre la région désoxyadénosine de l'oligomère de capture et les molécules (poly)désoxythimidines liées par covalence aux particules magnétiques. Les microparticules, y compris les molécules cibles des mRNA du HSV capturées auxquelles elles sont liées, sont attirées sur la paroi du tube réactionnel par des aimants, puis le surnageant est aspiré. Les particules sont lavées afin d'éliminer la matrice résiduelle de l'échantillon, qui peut contenir des inhibiteurs d'amplification.

Une fois la capture de cible terminée, les mRNA du HSV sont amplifiés par TMA, une méthode d'amplification de l'acide nucléique basée sur la transcription qui utilise deux enzymes : la transcriptase inverse MMLV et la polymérase du RNA T7. La transcriptase inverse sert à générer une copie du DNA de la séquence de mRNA cible contenant une séquence de promoteur de polymérase du RNA T7. La polymérase du RNA T7 produit de multiples copies de l'amplicon du RNA à partir de la matrice de copie du DNA.

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 suppresseur (quencher). Le quencher supprime la fluorescence du fluorophore car il est conçu pour être à proximité de celui-ci lorsqu'il n'est pas hybridé à l'amplicon. Lorsque la torche moléculaire s'hybride à l'amplicon, la distance entre le quencher et le fluorophore augmente et un signal est émis sur une longueur d'onde spécifique après excitation par une source lumineuse. Plus il y a d'amplicons présents, plus les torches moléculaires vont s'hybrider. L'augmentation du signal fluorescent dérivant de l'amplification progressive est détectée par les fluorimètres au sein du Panther System. Le Panther System peut détecter et distinguer trois signaux fluorescents correspondant aux produits d'amplification de HSV-1, HSV-2 et du CI. La fluorescence (mesurée en unités de fluorescence relative [RFU]) est suivie dans le temps pour produire une courbe d'émergence de fluorescence en temps réel pour chaque colorant rapporteur. Le logiciel du Panther System compare les courbes d'émergence de fluorescence à des temps limites imposés pour rapporter les résultats (TTime) pour HSV-1, HSV-2 et le CI.

Résumé de la sécurité et des performances

Le SSP (Résumé de la sécurité et des performances) est disponible dans la base de données européenne sur les dispositifs médicaux (Eudamed) ; il est lié aux identifiants du dispositif (UDI-DI de base). Pour localiser le SSP du test Aptima Herpes Simplex Viruses 1 & 2 assay, consulter la section « Basic Unique Device Identifier » (BUDI, identifiant de base unique du dispositif) : **54200455DIAGAPTHSV12S7**.

Avertissements et précautions

- A. Pour diagnostic *in vitro*.
- B. Réservé à un usage professionnel.
- C. 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/Panther Fusion™ System* avant d'effectuer ce test.

Recommandations concernant les laboratoires

- D. N'utiliser que le matériel de laboratoire jetable fourni ou recommandé.
- E. Respecter les précautions de laboratoire habituelles. Ne pas pipeter avec la bouche. Ne pas manger, boire ni fumer dans les zones de travail désignées. Porter des gants jetables non poudrés, des lunettes de protection et une blouse de laboratoire pour manipuler les spécimens et les réactifs du kit. Bien se laver 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 entre 2,5 % et 3,5 % (0,35 M à 0,5 M).
- G. Jetez tous les matériels ayant été au contact d'échantillons ou de réactifs conformément à la réglementation en vigueur au niveau local, national et international (10, 11, 12, 13). Nettoyer et désinfecter soigneusement toutes les surfaces de travail.
- H. Appliquer les bonnes pratiques en vigueur dans les laboratoires de biologie moléculaire, y compris la surveillance de l'environnement.

Recommandations concernant les échantillons

- I. Les dates de péremption pour les kits de transfert d'échantillons s'appliquent au recueil/transfert des échantillons et non au test des échantillons. Les échantillons collectés/transférés avant ces dates de péremption sont valides pour des tests s'ils ont été transférés et conservés conformément à la notice du test, même si les dates de péremption sur les tubes de transfert sont dépassées.
- J. Les échantillons peuvent présenter un risque infectieux. Utilisez les précautions universelles (10,11,12) lors de la réalisation de ce test. Des méthodes de manipulation et d'élimination appropriées devront être établies conformément à la réglementation locale (13). Cette procédure ne doit être réalisée que par des membres du personnel dûment formés à l'utilisation du test Aptima HSV 1 & 2 assay et à la manipulation de produits infectieux.
- K. Maintenir des conditions de conservation appropriées 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. Éviter toute contamination croisée lors des étapes de manipulation des échantillons. Veiller particulièrement à éviter toute contamination par la diffusion d'aérosols lors du débouchage ou de l'ouverture des échantillons. Les échantillons peuvent contenir des taux d'organismes très importants. Veiller à éviter tout contact entre les différents tubes d'échantillon et à ne pas passer au-dessus d'un récipient ouvert pour éliminer du matériel usagé. Changer de gants en cas de contact avec un échantillon.
- M. Si le bouchon d'un tube de transport Aptima venait à être perforé, le liquide pourrait s'écouler sous certaines conditions. Consultez la *procédure de test* appropriée pour de plus amples informations.

- N. Si le laboratoire reçoit un tube de prélèvement d'échantillons sur écouvillon Aptima™ Multitest sans écouvillon, avec 2 écouvillons ou un écouvillon non fourni par Hologic, l'échantillon doit être rejeté. Avant de rejeter un tube de transport ne contenant pas d'écouvillon, vérifiez qu'il ne s'agit pas d'un tube de transfert d'échantillon Aptima, car ce type de tube ne contient pas d'écouvillon.

Recommandations concernant les tests

- O. Ne pas échanger, mélanger ni combiner les réactifs de test de kits portant différents numéros de lot de référence. Les liquides de contrôles et de test peuvent être interchangeables.
- P. Eviter de contaminer les réactifs par des agents microbiologiques ou des nucléases.
- Q. Fermer et conserver tous les réactifs de test aux températures indiquées. La performance du test peut être affectée par l'utilisation de réactifs de test mal conservés. Voir *Conditions de conservation et de manipulation des réactifs* et *Procédure de test pour le Panther System* pour plus d'informations.
- R. Ne pas combiner de réactifs de test ou de liquides de test sans consignes spécifiques. Ne pas rajouter de réactif ni de liquide dans les flacons. Le Panther System vérifie le niveau des réactifs.
- S. Certains réactifs de ce kit sont marqués avec des symboles de risque et de sécurité.

Remarque : la signalisation 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 la région, consulter la FDS spécifique à la région dans la Safety Data Sheet Library (Bibliothèque des fiches de données de sécurité) à l'adresse www.hologicsds.com. Pour plus d'informations sur les symboles, consulter la légende des symboles à l'adresse <https://www.hologic.com/package-inserts>.

Informations sur les dangers pour l'UE	
—	Enzyme Reagent HEPES 1 À 5 % TRITON X-100 1 À 5 % H412 - Nocif pour les organismes aquatiques, entraîne des effets néfastes à long terme. P273 - Éviter le rejet dans l'environnement. P501 - Éliminer le contenu/récepteur dans une usine d'élimination des déchets homologuée.
—	Enzyme Reconstitution Solution GLYCÉRINE 20 À 25 % TRITON X-100 5 À 10 % HEPES 1 À 5 % — H412 - Nocif pour les organismes aquatiques, entraîne des effets néfastes à long terme. P273 - Éviter le rejet dans l'environnement. P501 - Éliminer le contenu/récepteur dans une usine d'élimination des déchets homologuée.
—	Promoter Reagent CHLORURE DE MAGNÉSIUM 60 - 65 % H412 - Nocif pour les organismes aquatiques, entraîne des effets néfastes à long terme. P273 - Éviter le rejet dans l'environnement. P501 - Éliminer le contenu/récepteur dans une usine d'élimination des déchets homologuée.

—	Target Capture Reagent HEPES 5 À 10 % ACIDE ETHYLENEDIAMINETETRA CETIQUE 1 À 5 % LITHIUM HYDROXIDE, MONOHYDRATE 1 À 5 % H412 - Nocif pour les organismes aquatiques, entraîne des effets néfastes à long terme. P273 - Éviter le rejet dans l'environnement. P501 - Éliminer le contenu/récipient dans une usine d'élimination des déchets homologuée.
—	Amplification Reagent CHLORURE DE MAGNÉSIUM 60 - 65 % H412 - Nocif pour les organismes aquatiques, entraîne des effets néfastes à long terme. P273 - Éviter le rejet dans l'environnement. P501 - Éliminer le contenu/récipient dans une usine d'élimination des déchets homologuée.

Conditions de conservation et de manipulation des réactifs

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

Réactif	Conservation non ouvert	Kit ouvert (reconstitué)	
		Stockage	Stabilité
Réactif d'amplification	2 °C à 8 °C		
Solution de reconstitution pour amplification	15 °C à 30 °C	2 °C à 8 °C	30 jours ¹
Réactif enzymatique	2 °C à 8 °C		
Solution de reconstitution enzymatique	15 °C à 30 °C	2 °C à 8 °C	30 jours ¹
Réactif promoteur	2 °C à 8 °C		
Solution de reconstitution du promoteur	15 °C à 30 °C	2 °C à 8 °C	30 jours ¹
Réactif de capture de cible	15 °C à 30 °C	15 °C à 30 °C ²	30 jours ¹
Contrôle négatif	2 °C à 8 °C		Flacon à usage unique
Contrôle positif	2 °C à 8 °C		Flacon à usage unique
Contrôle interne	2 °C à 8 °C		Flacon à usage unique

¹Lorsque des réactifs sont retirés du Panther System, ils doivent être replacés immédiatement à leurs températures de conservation appropriées.

²Conditions de conservation pour la solution de réactif de capture de cible (réactif de capture de cible avec contrôle interne ajouté).

- B. Jetez tous les réactifs reconstitués et la solution de réactif de capture de cible (wTCR) non utilisés après 30 jours ou après la date de péremption du lot de référence, la première échéance prévalant.
- C. Les réactifs conservés à bord du Panther System sont stables pendant 120 heures.
- D. Les contrôles sont stables jusqu'à la date indiquée sur les flacons.
- 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.
- F. Éviter toute contamination croisée pendant la manipulation et le stockage des réactifs. Reboucher tous les réactifs reconstitués avec de nouveaux bouchons de réactif chaque fois avant stockage.
- G. **Ne pas congeler les réactifs.**

Prélèvement et conservation des échantillons

Remarque : manipuler tout échantillon comme potentiellement infectieux. Respecter les précautions universelles.

Remarque : veiller à éviter toute contamination croisée pendant les étapes de manipulation des échantillons. Par exemple, veiller à ne pas passer au-dessus de tubes ouverts lors de l'élimination de matériels usagés.

Les écouvillons collectés par un clinicien d'échantillons provenant de lésions ano-génitales et orales placés dans du STM ou du VTM peuvent être utilisés.

Les échantillons provenant de lésion peuvent être prélevés en utilisant soit le :

- Kit de collecte d'échantillons sur écouvillon Aptima™ Multitest (pour STM)
- Kit de prélèvement en VTM disponible dans le commerce (BD Universal Viral Transport/Copan Universal Transport Media, Remel M4RT, Remel M4 et Remel M5)

A. Instructions de collecte

Consultez la notice du kit de collecte d'échantillons approprié pour obtenir des instructions de prélèvement spécifiques (Kit de collecte d'échantillons sur écouvillon Aptima Multitest, pour les échantillons prélevés en STM, ou kit de transfert d'échantillons Aptima™, pour les échantillons prélevés en VTM).

B. Transport et conservation des échantillons avant le test

1. Échantillons sur écouvillon prélevés avec le kit de collecte d'échantillons sur écouvillon Aptima Multitest
 - a. Transportez et conservez l'échantillon dans le tube de transport d'échantillons sur écouvillon Aptima entre 2 °C et 30 °C jusqu'à 60 jours après le prélèvement.
 - b. Si une durée de conservation supérieure est nécessaire, congelez à ≤ -20 °C jusqu'à 90 jours après le prélèvement.
2. Échantillons sur écouvillon collectés avec kit de collecte en VTM
 - a. Transportez et conservez l'échantillon dans le tube de VTM entre 2 °C et 8 °C jusqu'à 3 jours après le prélèvement.
 - b. Avant le test avec le Aptima HSV 1 & 2 assay, les échantillons collectés en VTM doivent être transférés dans le tube de transfert du kit de transfert d'échantillons Aptima qui contient 2,9 mL de STM selon les instructions ci-dessous.
 - c. Préparation de la zone de transfert de l'échantillon
 - i. Mettez des gants propres sans poudre.
 - ii. Essuyez les surfaces de travail et les pipettes avec une solution d'hypochlorite de sodium de 2,5 % à 3,5 % (0,35 M à 0,5 M).
 - iii. Laissez la solution d'hypochlorite de sodium au contact des surfaces de travail et des pipettes pendant au moins 1 minute, puis rincez à l'eau désionisée. Séchez les surfaces avec des serviettes en papier propres.
 - iv. Couvrez le plan de travail avec des protections de paillasse de laboratoire absorbantes à envers plastifiées propres.
 - v. Dans la zone de transfert de l'échantillon, placez un porte-tube à essai contenant un nombre suffisant de tubes de transfert d'échantillons Aptima correspondant au nombre d'échantillons en VTM à tester.
 - vi. Étiquetez chaque tube de transfert d'échantillons Aptima avec le numéro d'accès ou l'ID de l'échantillon.

d. Procédure de transfert des échantillons

- i. Pour réduire le risque de contaminer d'autres échantillons, travaillez avec un seul échantillon en VTM à la fois.
 - ii. Mettez des gants propres sans poudre et placez les échantillons à tester dans la zone de transfert des échantillons.
 - iii. Prenez 1 échantillon en VTM. Débouchez le tube de transfert d'échantillons Aptima correspondant en plaçant le bouchon sur la paillasse avec le filetage dirigé vers le haut.
 - iv. Mélangez l'échantillon en VTM à l'aide d'un vortex pendant 3 à 10 secondes. Débouchez le tube en plaçant le bouchon sur la paillasse avec le filetage dirigé vers le haut.
 - v. Après 1 minute d'agitation au vortex, transférez 0,5 mL d'échantillon en VTM dans le tube de transfert d'échantillons Aptima du kit de transfert d'échantillons Aptima contenant 2,9 mL de STM.
 - vi. Jetez l'embout de la pipette dans un récipient contenant une solution d'hypochlorite de sodium à 0,5 %.
 - vii. Refermez hermétiquement le tube de transfert d'échantillons Aptima. Retournez délicatement le tube 2 à 3 fois pour que l'échantillon se mélange de manière homogène.
 - viii. Rebouchez le tube contenant l'échantillon en VTM restant pour le conserver à $\leq -70^{\circ}\text{C}$ si vous le souhaitez.
 - ix. Répéter les étapes iii à viii pour procéder au transfert des autres échantillons. Changez de gants sans poudre souvent et en particulier en cas de contact avec l'échantillon.
- e. Après avoir été transférés dans un tube de transfert d'échantillons Aptima, les échantillons peuvent être transportés et conservés entre 2°C et 30°C jusqu'à 30 jours.
- f. Si une conservation plus longue est nécessaire, congelez l'échantillon en VTM dans le tube de transfert d'échantillons Aptima à $\leq -20^{\circ}\text{C}$ jusqu'à 90 jours.

C. Conservation des échantillons après le test

1. Les échantillons qui ont été testés doivent être rangés dans un portoir en position verticale.
2. Les tubes d'échantillons doivent être recouverts avec une nouvelle barrière de film plastique, aluminium ou bouchon propre.

Remarque : toute situation entraînant la perte ou l'évaporation du milieu pendant le transport, la manipulation ou le stockage peut nuire à la capacité de pipeter plusieurs aliquotes.

3. Si certains des échantillons testés doivent être congelés ou envoyés, retirez les bouchons pénétrables et placez de nouveaux bouchons non pénétrables sur les tubes de transport d'échantillons. Si les échantillons doivent être envoyés dans un autre établissement pour y être testés, les températures recommandées doivent être maintenues.
4. Avant de déboucher et de reboucher des échantillons qui ont déjà été testés, les tubes de transport d'échantillons doivent être centrifugés pendant 5 minutes à 420 FCR (force centrifuge relative) pour faire descendre la totalité du liquide au fond du tube. **Éviter les éclaboussures et les contaminations croisées.**

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

Panther System

Les réactifs du Panther System nécessaires au test Aptima HSV 1 & 2 assay sont présentés ci-dessous. Les symboles d'identification des réactifs sont également indiqués à côté du nom du réactif.

Réactifs et matériels fournis

Kit Aptima Herpes Simplex Viruses 1 & 2 Assay

100 tests (2 boîtes de test et 1 kit de contrôles), réf. PRD-03568

Les contrôles sont disponibles séparément. Voir le numéro catalogue spécifique ci-dessous.

Boîte réfrigérée du Aptima Herpes Simplex Viruses 1 & 2 Assay (conserver entre 2 °C et 8 °C dès réception)

Symbole	Composant	Quantité
A	Réactif d'amplification <i>Acides nucléiques non infectieux lyophilisés dans une solution tamponnée.</i>	1 flacon
E	Réactif enzymatique <i>Transcriptase inverse et RNA polymérase lyophilisées dans une solution tamponnée HEPES.</i>	1 flacon
PRO	Réactif promoteur <i>Acides nucléiques non infectieux lyophilisés dans une solution tamponnée.</i>	1 flacon
CI	Contrôle interne <i>Acides nucléiques non infectieux dans une solution tamponnée.</i>	1 x 0,3 mL

Boîte à température ambiante de Aptima Herpes Simplex Viruses 1 & 2 Assay (conserver entre 15 °C et 30 °C dès réception)

Symbole	Composant	Quantité
AR	Solution de reconstitution pour amplification <i>Solution aqueuse contenant du glycérol et des conservateurs.</i>	1 x 7,2 mL
ER	Solution de reconstitution enzymatique <i>Solution tamponnée HEPES contenant un surfactant et du glycérol.</i>	1 x 5,8 mL
PROR	Solution de reconstitution du promoteur <i>Solution aqueuse contenant du glycérol et des conservateurs.</i>	1 x 4,5 mL
TCR	Réactif de capture de cible <i>Acides nucléiques dans une solution saline tamponnée contenant des acides nucléiques non infectieux en phase solide.</i>	1 x 26,0 mL
	Collets de reconstitution	3
	Fiche des codes à barres de lot de référence	1 fiche

Kit de contrôles Aptima Herpes Simplex Viruses 1 & 2 (réf. PRD-03569)
(conserver entre 2 °C et 8 °C dès réception)

Symbole	Composant	Quantité
CONTRÔLE -	Contrôle négatif <i>Solution tamponnée.</i>	5 x 2,7 mL
CONTRÔLE +	Contrôle positif <i>Acides nucléiques non infectieux dans une solution tamponnée.</i>	5 x 1,7 mL
	Fiche des codes à barres des contrôles	1 fiche

Matériel requis, mais disponible séparément

Remarque : les matériels avec les numéros de catalogue indiqués sont disponibles auprès de Hologic, sauf indication contraire.

Matériel	Réf. n°
Panther System	303095
Système Panther Fusion	PRD-04172
Fluide et déchets en continu Panther System (Panther Plus)	PRD-06067
Kit d'analyse Panther pour tests en temps réel (pour tests en temps réel uniquement)	PRD-03455 (5 000 tests)
<i>Le Aptima™ Assay Fluids Kit (également connu sous le nom de Kit de liquide universel) contient la solution de lavage Aptima, le tampon pour solution de désactivation Aptima et le réactif huileux Aptima</i>	303014 (1 000 tests)
Unités multi-tube (MTU)	104772-02
Assortiment de sacs pour déchets Panther	902731
Couvre-déchets Panther	504405
Ou kit pour d'analyse Panther <i>(lors de la réalisation de tests TMA en temps différé parallèlement à des tests TMA en temps réel)</i> <i>Contient des MTU, des sacs pour déchets, des couvre-déchets, un dispositif de détection automatique et des liquides pour tests</i>	303096 (5 000 tests)
Kit de liquides de test Aptima <i>(contient solution de lavage Aptima, tampon Aptima pour solution de désactivation et réactif huileux Aptima)</i>	303014 (1 000 tests)
Unités multi-tube (MTU)	104772-02
Embouts, 1 000 µL, avec filtre, conducteurs, détection de liquide et jetables <i>Tous les produits ne sont pas disponibles dans toutes les régions. Contactez votre représentant pour obtenir des informations spécifiques à votre région</i>	901121 (10612513 Tecan) 903031 (10612513 Tecan) MME-04134 (30180117 Tecan) MME-04128
Kit de transfert d'échantillons Aptima <i>à utiliser avec les échantillons collectés en VTM</i>	301154C
Kit de transfert d'échantillons Aptima — imprimable <i>à utiliser avec les échantillons collectés en VTM</i>	PRD-05110
Kit de collecte d'échantillons sur écouvillon Aptima Multitest	PRD-03546

Eau de Javel solution d'hypochlorite de sodium dosée de 5 % à 8,25 % (0,7 M à 1,16 M)	—
Gants jetables sans poudre	—
Bouchons perçables Aptima	105668
Bouchons non pénétrables de remplacement	103036A
Bouchons de rechange pour réactifs	—
<i>Solutions de reconstitution pour réactif d'amplification, réactif enzymatique et réactif promoteur</i>	CL0041 (100 bouchons)
TCR	501604 (100 bouchons)
Protection de paillasse de laboratoire à envers plastifié	—
Chiffons non pelucheux	—
Pipeteur	—
Embouts	—
Vortexeur	—
Centrifugeuse	—

Matériel optionnel**Réf. n°**

Hologic Bleach Enhancer for Cleaning	302101
<i>pour le nettoyage de routine des surfaces et des équipements</i>	
Agitateur de tubes	—

Procédure de test pour le Panther System

Remarque : consultez le manuel de l'opérateur du Panther/Panther Fusion System pour de plus amples informations sur la procédure Panther System.

A. Préparation de la zone de travail

1. Nettoyez les plans de travail sur lesquels les réactifs seront préparés. Essuyer 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 (DI). Ne pas laisser sécher la solution d'hypochlorite de sodium. Recouvrez la surface de la paillasse avec des housses de laboratoire propres, absorbantes et doublées de plastique.
2. Nettoyez un plan de travail distinct sur lequel les échantillons seront préparés. Suivez la procédure décrite ci-dessus (étape A.1).
3. Nettoyez toutes les pipettes. Suivez la procédure de nettoyage décrite ci-dessus (étape A.1).

B. 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. Avant le test, les réactifs d'amplification, enzymatique et promoteur doivent être reconstitués en combinant le contenu des flacons de réactif lyophilisé avec la solution de reconstitution appropriée.

- a. Laissez les réactifs lyophilisés parvenir à température ambiante (entre 15 °C et 30 °C) avant de les utiliser.
- b. Faites correspondre chaque solution de reconstitution avec son réactif lyophilisé. Avant de fixer le collet de reconstitution, assurez-vous que les symboles des étiquettes de la solution de reconstitution et du réactif correspondent.
- c. Vérifiez les numéros de lot sur la fiche des codes à barres du lot de référence pour vous assurer que les réactifs sont associés correctement. Étiquetez les bouchons des flacons de solution de reconstitution.
- d. Ouvrez le flacon en verre de réactif lyophilisé et insérez fermement l'extrémité à encoche du collet de reconstitution dans l'ouverture du flacon en verre (Figure 1, Étape 1).
- e. Ouvrez le flacon de solution de reconstitution correspondante et posez le bouchon sur une surface de travail propre et couverte.
- f. Tout en tenant le flacon de solution de reconstitution au-dessus de la paillasse, insérez fermement l'autre extrémité du collet de reconstitution dans l'ouverture du flacon de solution de reconstitution (Figure 1, Étape 2).
- g. Retournez délicatement les flacons assemblés. Laissez la solution s'écouler depuis le flacon de solution de reconstitution dans le flacon en verre (Figure 1, Étape 3).
- h. Faites tourner délicatement la solution dans le flacon pour la mélanger. Évitez de faire de la mousse pendant cette manipulation (Figure 1, Étape 4).
- i. Attendez au moins 15 minutes pour que le réactif lyophilisé se mêle à la solution, puis retournez à nouveau les flacons assemblés en l'inclinant à un angle de 45° pour minimiser la formation de mousse (Figure 1, Étape 5). Laissez la totalité du liquide retourner dans le flacon de solution de reconstitution.
- j. Retirez le collet de reconstitution et le flacon en verre (Figure 1, Étape 6).
- k. Rebouchez le flacon en plastique avec le bouchon étiqueté mis de côté qui correspond au réactif, ou un bouchon neuf. Ne mélangez pas les bouchons. Enregistrez les initiales de l'opérateur ainsi que la date de reconstitution sur l'étiquette (Figure 1, Étape 7).
- l. Jetez le flacon en verre et le collet de reconstitution (Figure 1, Étape 8).

Option : il est possible de procéder à un mélange supplémentaire des réactifs d'amplification, enzymatique et promoteur à l'aide d'un agitateur de tubes. Pour ce faire, placez le flacon en plastique rebouché sur un agitateur de tubes réglé sur 20 tr/min (ou équivalent) pendant au moins 5 minutes.

Avertissement : évitez de faire de la mousse en inversant les réactifs. La mousse interfère avec le détecteur de niveau du Panther System.

Avertissement : un mélange adéquat des réactifs est nécessaire pour obtenir les résultats d'analyse escomptés.

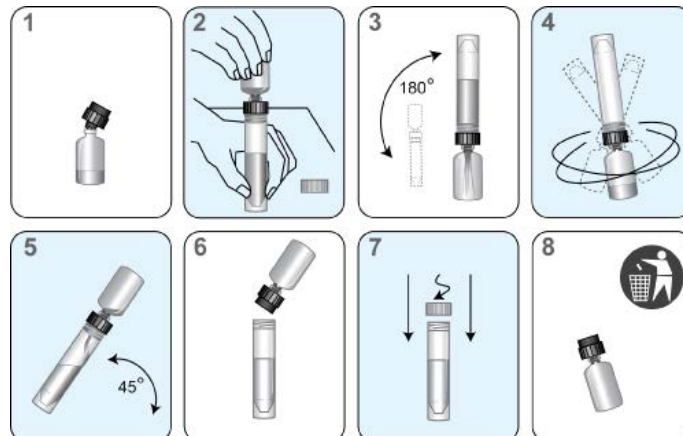


Figure 1. Procédure de reconstitution des réactifs

2. Préparation de la solution de réactif de capture de cible (wTCR)
 - a. Faites correspondre les flacons appropriés de TCR et de CI.
 - b. Vérifiez les numéros de lot des réactifs sur la fiche des codes à barres du lot de référence pour vous assurer que les réactifs appropriés du kit se correspondent.
 - c. Ouvrez le flacon de TCR et posez le bouchon sur une surface de travail propre et couverte.
 - d. Ouvrez le flacon de CI et versez la totalité du contenu dans le flacon de TCR. Il est normal qu'une petite quantité de liquide reste dans le flacon de CI.
 - e. Rebouchez le flacon de TCR et faites tourner délicatement la solution pour mélanger le contenu. Éviter la formation de mousse pendant cette étape.
 - f. Notez les initiales de l'opérateur ainsi que la date du jour sur l'étiquette.
 - g. Jetez le flacon de CI et son bouchon.
- C. Préparation des réactifs précédemment reconstitués
 1. Les réactifs d'amplification, enzymatique et promoteur précédemment préparés doivent parvenir à température ambiante (entre 15 °C et 30 °C) avant de commencer le test.

Option : un mélange additionnel des réactifs d'amplification, enzyme et promoteur à l'aide d'un agitateur de tube est permis. Les réactifs peuvent être mélangés en plaçant le flacon en plastique rebouché sur un agitateur de tube réglé à 20 tr/min (ou équivalent) pendant au moins 25 minutes.
 2. Si le wTCR contient un précipité, chauffez-le à une température entre 42 °C et 60 °C pendant 90 minutes maximum. Laissez le wTCR parvenir à température ambiante avant l'emploi. Ne l'utilisez pas tant que le précipité n'a pas disparu.
 3. Vérifiez que les réactifs n'ont pas dépassé leur temps de conservation pour leur stabilité, y compris leur temps de conservation pour leur stabilité à bord de l'appareil.
 4. Mélangez bien chaque réactif en le retournant doucement avant de le charger dans le système. Évitez de faire de la mousse en reconstituant les réactifs. Cette étape n'est pas nécessaire si les réactifs sont chargés dans le système directement après mélange sur l'agitateur de tube.
 5. Ne rajoutez pas de réactif dans les flacons. Le Panther System reconnaît et rejette les flacons remplis à nouveau.

Avertissement : *il est nécessaire de mélanger soigneusement les réactifs pour obtenir des résultats précis.*

D. Manipulation des échantillons

1. Vérifiez visuellement que chaque échantillon répond à l'un des critères suivants :
 - a. La présence d'un seul écouvillon de collecte rose Aptima dans le tube de prélèvement d'échantillons sur écouvillon Aptima Multitest.
 - b. L'absence d'un écouvillon dans le tube de transfert d'échantillons Aptima pour les échantillons en VTM.
2. Laissez les contrôles ainsi que les échantillons parvenir à température ambiante avant tout traitement.

Remarque : *avant de procéder au test et/ou afin de résoudre les problèmes de résultats non valides pouvant être liés à l'échantillon, il est possible de mélanger les échantillons au vortex à vitesse élevée pendant au moins 3 minutes, puis à vitesse réduite pendant 1 minute (afin de faire descendre le liquide dans le tube).*

3. Inspectez les tubes d'échantillons avant de les charger dans le portoir :
 - a. Si un tube d'échantillon contient des bulles dans l'espace situé entre le liquide et le bouchon, centrifugez le tube pendant 5 minutes à 420 RCF pour éliminer les bulles.
 - b. Si le tube d'échantillon présente un volume inférieur à celui généralement obtenu lorsque les instructions de prélèvement ont été respectées, centrifugez le tube pendant 5 minutes à 420 RCF pour s'assurer qu'il ne reste pas liquide dans le bouchon.

Remarque : *le non-respect des Étapes 3a – 3b peut entraîner l'écoulement du liquide par le bouchon du tube d'échantillon.*

Remarque : *il est possible de tester jusqu'à cinq aliquotes distinctes de chaque tube d'échantillon. Toute tentative de pipeter plus de cinq aliquotes d'un tube d'échantillon peut entraîner des erreurs de traitement.*

E. Préparation du système

1. Configurer le Fusion système selon les instructions du *Panther/Panther Fusion System Operator's Manual* (manuel de l'opérateur du Panther/Panther Fusion System) et *Remarques concernant la procédure*.

Remarque : *vérifier que les portoirs de réactifs et les adaptateurs TCR utilisés sont de taille appropriée.*

2. Chargez les échantillons.

Remarques concernant la procédure

A. Contrôles

1. Les tubes de contrôle positif et négatif peuvent être chargés dans une quelconque position de portoir ou sur une quelconque rangée du compartiment des échantillons du Panther System. Le pipetage des échantillons commence quand l'1 des 2 conditions suivantes est satisfaite :
 - a. Les contrôles sont en cours de traitement par le système.
 - b. Des résultats valides pour les contrôles sont enregistrés dans le système.

2. Lorsque les tubes de contrôle ont été pipetés et qu'ils sont en cours de traitement pour un kit de réactifs spécifique, les échantillons de patient peuvent être traités avec le kit associé pendant 24 heures maximum, **à moins que** :
 - a. Les résultats pour les contrôles ne soient pas valides.
 - b. Le kit de réactifs de test associé est enlevé du système.
 - c. Le kit de réactifs de test associé a dépassé les limites de stabilité.
 3. Chaque tube de contrôle est prévu pour un seul test. Toute tentative de pipeter plus d'une fois du tube peut entraîner des erreurs de traitement.
- B. Température
- La température ambiante est définie comme se situant entre 15 °C et 30 °C.
- C. Poudre sur les gants
- 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 non poudrés.

Contrôle de la qualité

A. Critères de validité de la série

Le logiciel détermine automatiquement la validité de la série. Le logiciel invalidera une série si un ou les deux contrôles (négatif et positif) présentent des résultats non valides.

Une série peut être invalidée par un opérateur si des difficultés techniques, de l'opérateur ou de l'appareil sont observées et documentées pendant la réalisation du test.

Une série non valide doit être répétée.

B. Validité des contrôles

Le Tableau 1 définit les critères de validité du TTime pour les contrôles négatif et positif.

Tableau 1 : Critères de validité du TTime

	TTime CI	TTime HSV-1	TTime HSV-2
Contrôle négatif	$\geq 7,0$ et $\leq 40,0$	-	-
Contrôle positif	$\geq 7,0$ et $\leq 53,0$	$\geq 3,0$ et $\leq 35,0$	$\geq 3,0$ et $\leq 35,0$

Remarque : les échantillons de contrôle de qualité externes (non fournis) doivent être testés en conformité avec les exigences réglementaires et accréditations locales, nationales et/ou internationales et les procédures standard de contrôle de la qualité de chaque laboratoire.

Remarque : pour recevoir de l'assistance pour des contrôles qui seraient hors critères de validité, contactez le support technique de Hologic.

Remarque : lorsque le TTime ne peut être calculé, un tiret (-) s'affiche.

Interprétation des tests

Les résultats des tests sont automatiquement déterminés par le logiciel de test. Les résultats pour la détection de HSV-1 et HSV-2 sont présentés séparément. Le Tableau 2 présente les résultats rapportés dans une série valide avec l'interprétation des résultats. Le premier résultat valide est celui qu'il convient de rapporter. Les échantillons ayant des résultats de test non valides doivent être retestés. Si le résultat est de nouveau non valide, un nouvel échantillon doit être prélevé.

Tableau 2 : Interprétation des résultats

Résultat HSV-1	Résultat HSV-2	Interprétation
HSV1 nég.	HSV2 nég.	Négatif : aucun mRNA de HSV-1 ou HSV-2 détecté
HSV1 nég.	HSV2 POS	HSV-2 positif : mRNA de HSV-2 détecté
HSV1 POS	HSV2 nég.	HSV-1 positif : mRNA de HSV-1 détecté
HSV1 POS	HSV2 POS	HSV-1 et HSV-2 positifs : mRNA de HSV-1 et de HSV-2 détectés
Non valide	Non valide	Non valide : une erreur est survenue lors de la génération du résultat. L'échantillon doit être analysé à nouveau.

Le Tableau 3 montre les critères du TTime servant à déterminer le résultat d'un échantillon particulier. Un test peut aussi ne pas être valide en raison d'autres paramètres qui se situent en dehors des seuils normalement prévus.

Tableau 3 : Critères du TTime

	TTime CI	TTime HSV-1	TTime HSV-2
Négatif	≥ 7,0 et ≤ 45,0	-	-
HSV1 positif	- ou ≥ 7,0 et ≤ 53,0	≥ 3,0 et ≤ 53,0	-
HSV2 négatif	- ou ≥ 7,0 et ≤ 53,0	-	≥ 3,0 et ≤ 53,0
HSV1 négatif	- ou ≥ 7,0 et ≤ 53,0	-	≥ 3,0 et ≤ 53,0
HSV2 positif	- ou ≥ 7,0 et ≤ 53,0	≥ 3,0 et ≤ 53,0	≥ 3,0 et ≤ 53,0
Non valide	-	-	-

Remarque : lorsque le TTime ne peut être calculé, un tiret (-) s'affiche.

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 le prélèvement, le transport, la conservation et le traitement appropriés des échantillons.
- C. Le dispositif n'est pas destiné à être utilisé avec le liquide céphalorachidien ou pour le dépistage prénatal.
- D. Les résultats du test Aptima HSV 1 & 2 assay doivent être interprétés en conjonction avec les autres données de laboratoire et cliniques dont dispose le clinicien.
- E. Un résultat du test Aptima HSV 1 & 2 assay négatif n'exclut pas une éventuelle infection étant donné que les résultats dépendent la qualité de la collecte de l'échantillon. Les résultats des tests peuvent être affectés par un prélèvement incorrect de l'échantillon, une erreur technique, le stade clinique de la lésion échantillonnée, ou des niveaux de la cible inférieurs au seuil de détection du test.

Performances analytiques du test sur le Panther System

Milieu de Transport viral (VTM)

La performance du test Aptima HSV 1 & 2 assay a été évaluée avec des types communément utilisés de VTM (BD Universal Viral Transport/Copan Universal Transport Media, Remel M4RT, Remel M4 et Remel M5). Chaque milieu a été inoculé séparément avec des particules virales de souche MacIntyre HSV-1 ou HSV-2 MS à ~ 3 fois le seuil de détection (LoD). Chaque panel a été ensuite transféré conformément aux instructions de la notice du STM. Afin d'évaluer les interférences potentielles des différents types de VTM, des panels négatifs à HSV (non inoculés) ont également été dilués dans du STM et testés à 40 réplicats par panel. Tous les panels négatifs étaient 100 % valides et négatifs, et tous les panels inoculés avec HSV-1 ou HSV-2 étaient 100 % positifs pour le type de HSV approprié.

Sensibilité analytique

La sensibilité analytique/LoD du test Aptima HSV 1 & 2 assay a été déterminée en testant une série de panels composés de virus HSV-1 ou HSV-2 dilués dans des échantillons cliniques négatifs regroupés dans du STM et du VTM dilués dans les matrices basées sur le STM. Pour le HSV-1, les souches virales MacIntyre et HF ont été testées. Pour le HSV-2, les souches virales MS et G ont été testées. Au moins 60 réplicats ont été testés à chaque concentration pour chaque échantillon du panel pour chaque matrice et pour chaque souche virale sur 3 lots de réactifs.

Une analyse de régression par la méthode des probits a été effectuée pour établir la limite de détection à 95 % prévue pour chaque souche de HSV, dans chaque matrice et dans chaque lot. La LoD est déterminée comme étant la concentration à laquelle ≥ 95 % de positivité des réplicats testés est obtenue selon le calcul plus élevé parmi les 3 lots de réactifs.

Tableau 4 : LoD de HSV 1 & 2 en VTM et STM

Type/souche HSV	Type d'échantillon	LoD
		TCID50/mL (IC à 95 %)
HSV-1 MacIntyre	STM	60,6 (37,9 – 143,2)
	VTM	186,9 (148,1 – 266,5)
HSV-1 HF	STM	78,9 (47,7 – 195,3)
	VTM	159,3 (98,3 – 326,7)
HSV-2 MS	STM	18,2 (10,7 – 46,1)
	VTM	28,7 (15,6 – 105,6)
HSV-2 G	STM	18,8 (13,2 – 36,4)
	VTM	128,8 (57,8 – 584,2)

Vérification de la LoD

La LoD a été vérifiée à l'aide de 2 isolats cliniques de HSV-1 et 2 isolats cliniques de HSV-2 isolés à partir d'échantillons cliniques positifs au HSV cultivés et quantifiés en interne. Chaque isolat a été testé avec le test Aptima HSV 1 & 2 assay à l'aide de 60 réplicats chacun à 1X LoD, 3X LoD et 10X LoD. Le test a été effectué en matrice STM et VTM pour les 4 isolats cliniques et a été réalisé à l'aide de 3 lots de réactifs. Tous les réplicats pour tous les isolats cliniques aux 3 concentrations testées ont été détectés par le test Aptima HSV 1 & 2 assay, ce qui démontre que le test peut détecter avec précision une gamme d'isolats de HSV-1 et de HSV-2 à la limite de détection déterminée.

Co-infection

Des panels ont été construits avec des particules virales de HSV-1 à 3X LoD et de HSV-2 à 1 000X LoD, et avec HSV-2 à 3X LoD et HSV-1 à 1 000X LoD. Des panels supplémentaires ont été construits contenant HSV-2 à 100X la concentration de HSV-1 à 3X LoD. Tous les tests ont abouti à 100 % de détection pour HSV-1 et HSV-2.

Réactivité croisée

Afin d'évaluer la sensibilité analytique et la spécificité du test Aptima HSV 1 & 2 assay en présence de microorganismes non-ciblés qui pourraient être présents dans les échantillons cliniques, des panels de microorganismes non-ciblés ont été construits en STM à une concentration de test de 1×10^5 unités/mL pour les virus et de 1×10^6 unités/mL pour tous les autres organismes. Les organismes ont été testés en l'absence de HSV ou en présence de HSV-1 ou HSV-2 à 3X LoD. Quarante-sept des 48 microorganismes testés n'ont eu aucun effet sur les performances du test à 1×10^6 unités/mL ; *Streptococcus pneumoniae* n'a montré aucune interférence à 1×10^5 unités/mL (Tableau 5).

Tableau 5 : Spécificité analytique

Microorganisme	Concentration
<i>Acinetobacter calcoaceticus</i>	1×10^6 UFC/mL ^{1,2}
<i>Acinetobacter lwoffii</i>	1×10^6 UFC/mL ^{1,2}
<i>Actinomyces israelii</i>	1×10^6 copies de RNA/mL ²
Adénovirus de type 1	1×10^5 TCID50/mL ³
<i>Alcaligenes faecalis</i>	1×10^6 UFC/mL ¹
<i>Atopobium vaginae</i>	1×10^6 copies de RNA/mL ²
<i>Bacteroides fragilis</i>	1×10^6 UFC/mL ^{1,2}
<i>Bifidobacterium adolescentis</i>	1×10^6 UFC/mL ^{1,2}
Virus BK	1×10^5 copies de DNA/mL ³
<i>Bordetella bronchiseptica</i>	1×10^6 UFC/mL ^{1,2}
<i>Bordetella pertussis</i>	1×10^6 UFC/mL ^{1,2}
<i>Campylobacter jejuni</i>	1×10^6 UFC/mL ^{1,2}
<i>Candida glabrata</i>	1×10^6 UFC/mL ^{1,2}
<i>Clostridium difficile</i>	1×10^6 UFC/mL ^{1,2}
<i>Clostridium perfringens</i>	1×10^6 UFC/mL ^{1,2}
<i>Corynebacterium genitalium</i>	1×10^6 UFC/mL ^{1,2}
<i>Cryptococcus neoformans</i>	1×10^6 UFC/mL ^{1,2}
<i>Enterobacter aerogenes</i>	1×10^6 UFC/mL ^{1,2}
<i>Enterobacter cloacae</i>	1×10^6 UFC/mL ^{1,2}
<i>Enterococcus faecium</i>	1×10^6 UFC/mL ^{1,2}
<i>Enterococcus faecalis</i>	1×10^6 UFC/mL ^{1,2}
Virus Epstein-Barr	1×10^5 copies de DNA/mL ³
<i>Escherichia coli</i>	1×10^6 UFC/mL ^{1,2}

Tableau 5 : Spécificité analytique (suite)

Microorganisme	Concentration
<i>Fusobacterium nucleatum</i>	1x10 ⁶ UFC/mL ^{1,2}
<i>Gardnerella vaginalis</i>	1x10 ⁶ UFC/mL ^{1,2}
<i>Haemophilus ducreyi</i>	1x10 ⁶ UFC/mL ^{1,2}
Virus de l'hépatite B	1x10 ⁵ UI/mL ^{4,3}
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	1x10 ⁶ UFC/mL ^{1,2}
<i>Lactobacillus crispatus</i>	1x10 ⁶ UFC/mL ^{1,2}
<i>Moraxella catarrhalis</i>	1x10 ⁶ UFC/mL ^{1,2}
<i>Mycoplasma hominis</i>	1x10 ⁶ copies de RNA/mL ²
<i>Mycoplasma orale</i>	1x10 ⁶ copies de RNA/mL ²
<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	1x10 ⁶ UFC/mL ^{1,2}
<i>Neisseria meningitidis</i>	1x10 ⁶ UFC/mL ^{1,2}
Parvovirus B19	1x10 ⁵ TCID50/mL ³
<i>Prevotella bivia</i>	1x10 ⁶ UFC/mL ^{1,2}
<i>Propionibacterium acnes</i>	1x10 ⁶ UFC/mL ^{1,2}
<i>Proteus mirabilis</i>	1x10 ⁶ UFC/mL ^{1,2}
<i>Proteus vulgaris</i>	1x10 ⁶ UFC/mL ^{1,2}
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	1x10 ⁶ UFC/mL ^{1,2}
<i>Staphylococcus aureus</i>	1x10 ⁶ UFC/mL ^{1,2}
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	1x10 ⁶ UFC/mL ^{1,2}
<i>Staphylococcus saprophyticus</i>	1x10 ⁶ UFC/mL ^{1,2}
<i>Streptococcus mitis</i>	1x10 ⁶ UFC/mL ^{1,2}
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	100 000 UFC/mL ^{1,2}
<i>Streptococcus pyogenes</i>	1x10 ⁶ UFC/mL ^{1,2}
Virus varicelle-zona	1x10 ⁵ copies de DNA/mL ³
Virus du Nil occidental	1x10 ⁵ TCID50/mL ³

¹ UFC = unités formant des colonies.² Fourni en interne par Hologic, Inc.³ Obtenu auprès de ZeptoMetrix Corporation (Buffalo NY).⁴ UI = unités internationales.

Interférence

Les substances potentiellement interférentes énumérées dans le Tableau 6 ont été analysées avec le test Aptima HSV 1 & 2 assay aux concentrations initiales de 5 % vol/vol (V/V), ce qui équivaut à 100 % de capacité de l'écouvillon (SC) ; ou aux concentrations de 0,03 % ou 5 % p/vol (P/V) ; ou 4x10⁵ cellules/mL pour les leucocytes. Des panels ont été construits en STM et évalués pour des effets potentiels sur la sensibilité et la spécificité. La performance en matière de sensibilité a été évaluée séparément pour les particules virales HSV-1 et HSV-2 en inoculant les particules virales dans des substances contenant les panels à 3X LoD. Des panels négatifs au HSV contenant chaque substance ont également été évalués pour la spécificité.

Aucun effet sur les performances du test n'a été observé en présence d'une marque représentative de substances exogènes suivantes à 5 % P/V ou V/V (100 % SC) : lubrifiant vaginal ; crème antifongique ; nettoyant intime ; spray féminin ; médicament pour herpès labial ; baume pour les lèvres ; lotion pour le corps ; poudre pour le corps ; solution de lavage à l'acide acétique glacial ; crème pour les hémorroïdes ; antitussif ; dentifrice ; et rince-bouche. Le gel spermicide/contraceptif n'a causé aucune interférence à une concentration de 4 % P/V ou 80 % de SC. Aucune interférence n'a été observée en présence d'une marque représentative de médicaments anti-viraux à 5 % P/V. Aucun effet sur les performances du test n'a été observé avec les substances endogènes suivantes testées à 5 % V/V ou P/V (100 % SC) : urine, mucus et liquide séminal. Aucune interférence n'a été observée avec les substances endogènes suivantes aux concentrations finales indiquées : leucocytes (4×10^5 cellules/mL) ; salive (4 % P/V / 80 % SC) ; protéines (4 % P/V / 80 % SC) ; sang total (0,5 % V/V / 10 % SC) ; et matières fécales (0,03 % P/V / 0,6 % SC).

Tableau 6 : Substances interférentes

Substance	Marque/Source	Concentration finale*
Lubrifiant vaginal	KY Jelly	5 % V/V
Gel spermicide/contraceptif	Options Gynol II	4 % P/V
Crème antifongique	Monistat 3	5 % P/V
Nettoyant intime	Up & Up Feminine Wash	5 % V/V
Spray féminin	FDS Feminine Deodorant Spray	5 % P/V
Médicament pour herpès labial	Releev	5 % P/V
Baume pour les lèvres	Carmex	5 % P/V
Lotion pour le corps	Vaseline Aloe Fresh	5 % P/V
Poudre	Summer's Eve Powder	5 % P/V
Solution de lavage à l'acide acétique glacial	solution de lavage à l'acide acétique glacial	5 % V/V
Crème pour les hémorroïdes	Preparation H	5 % P/V
Urine	Recueil d'urine en interne	5 % V/V
Sang total	Recueil de sang total en interne	0,5 % V/V
Leucocytes	Biological Specialty Corporation Leukocytes	4×10^5 cellules/mL
Salive	Recueil de salive en interne	4 % P/V
Mucus	Sigma Aldrich Mucine	0,3 % P/V
Liquide séminal	Liquide séminal	5 % V/V
Matières fécales	Matières fécales	0,03 % P/V
Antitussif	Dayquil	5 % V/V
Dentifrice	Sensodyne	5 % P/V
Protéine	Caséine	4 % P/V
Médicament antiviral	Acyclovir	5 % P/V
Rince-bouche	Listerene	5 % V/V

*Les concentrations finales représentent la concentration finale (FC) dans l'échantillon lors d'un test sur l'appareil Panther. En ce qui concerne le recueil SC, 5 % FC = 100 % SC ; 4 % FC = 80 % SC ; 0,5 % FC = 10 % SC ; 0,03 % FC = 0,6 % SC.

Reproductibilité

La reproductibilité du test Aptima HSV 1 & 2 assay a été évaluée par 3 sites américains externes. Les tests ont été effectués en utilisant 3 lots de réactifs de test et 6 opérateurs (2 à chaque site). Sur chaque site, les tests ont été effectués pendant au moins 6 jours. Les échantillons du panel ont été créés en inoculant des particules virales HSV-1 et/ou HSV2 dans du STM. Les concentrations finales de HSV-1 variaient entre 0 TCID₅₀/mL et 86,96 TCID₅₀/mL et les concentrations finales de HSV-2 variaient entre 0 TCID₅₀/mL et 1,63 TCID₅₀/mL.

La robustesse du test Aptima HSV 1 & 2 assay a été évaluée en testant les membres du panel HSV-négatif et les échantillons du panel contenant des concentrations faibles et modérées de HSV-1 et de HSV-2. La concordance était de 100 % pour HSV-1 et HSV-2 dans les échantillons du panel négatif et positif modéré et ≤ 100 % dans les échantillons du panel avec des concentrations proches ou inférieures à la LoD à 95 % du test en STM inoculé avec des particules virales.

Le Tableau 7 montre la concordance des résultats du test Aptima HSV 1 & 2 assay avec les résultats attendus pour tous les échantillons du panel.

Tableau 7 : Concordance des résultats du test Aptima HSV 1 & 2 Assay avec les résultats attendus

Conc.		Conc. cible (TCID ₅₀ /mL)		Résultat attendu			Concordance (n)		Concordance (%) (IC à 95 %)	
HSV-1	HSV-2	HSV-1	HSV-2	HSV-1	HSV-2	N	HSV-1	HSV-2	HSV-1	HSV-2
Nég.	Nég.	0	0	Nég.	Nég.	108	108	108	100 (96,6-100)	100 (96,6-100)
LPos.	Nég.	28,90	0	Pos.	Nég.	108	103	108	95,4 (89,6-98,0)	100 (96,6-100)
Nég.	LPos.	0	0,54	Nég.	Pos.	108	108	105	100 (96,6-100)	97,2 (92,1-99,1)
LPos.	MPos.	28,90	1,63	Pos.	Pos.	108	97	108	89,8 (82,7-94,2)	100 (96,6-100)
MPos.	LPos.	86,96	0,54	Pos.	Pos.	108	108	108	100 (96,6-100)	100 (96,6-100)
HNég.	Nég.	3,00	0	Pos.	Nég.	108	50	108	46,3 (37,2-55,7)	100 (96,6-100)
Nég.	HNég.	0	0,20	Nég.	Pos.	108	108	86	100 (96,6-100)	79,6 (71,1-86,1)

IC = intervalle de confiance du score, Conc. = concentration, HNég. = négatif élevé, LPos. = positif faible, MPos. = positif modéré, Nég. = négatif, Pos. = positif.

Le Tableau 8 montre la variabilité du signal HSV-1 et HSV-2 dans les échantillons du panel positif faible et modérée entre les sites, entre les opérateurs, entre les lots, entre les jours, entre les séries, et globale dans les échantillons du panel avec résultats positifs au test Aptima HSV 1 & 2 assay.

Tableau 8 : Variabilité du signal du test Aptima HSV 1 & 2 assay dans les échantillons du panel positif faible et modérée

Virus	Conc.	N	Moyenne TTime	Entre sites	Entre opérateurs	Entre lots	Entre jours	Entre séries	Dans séries	Total
				ET (%CV)	ET (%CV)	ET (%CV)	ET (%CV)	ET (%CV)	ET (%CV)	ET (%CV)
HSV-1	LPos.	103	24,68	0 (0)	0,23 (0,95)	1,63 (6,62)	0,71 (2,89)	0,54 (2,18)	0,88 (3,55)	2,07 (8,40)
	LPos.	97	23,91	0 (0)	0 (0)	2,18 (9,11)	0,86 (3,58)	0 (0)	1,60 (6,71)	2,84 (11,87)
	MPos.	108	22,96	0 (0)	0,22 (0,97)	1,54 (6,69)	0,31 (1,34)	0,68 (2,96)	0,94 (4,11)	1,96 (8,55)
HSV-2	LPos.	105	25,49	0 (0)	0,70 (2,74)	0,84 (3,30)	0 (0)	0 (0)	2,52 (9,87)	2,74 (10,76)
	LPos.	108	25,34	0 (0)	0 (0)	1,54 (6,08)	0,86 (3,41)	0,59 (2,34)	2,67 (10,53)	3,26 (12,85)
	MPos.	108	22,91	0 (0)	0 (0)	1,09 (4,76)	0,35 (1,53)	0,42 (1,83)	1,06 (4,64)	1,62 (7,07)

Conc = concentration, CV = coefficient de variation, LPos = positif faible, MPos = positif modéré, ET = écart-type.

Remarque : la variabilité de certains facteurs peut être numériquement négative. Cela peut se produire si la variabilité due à ces facteurs est très faible. Dans ces cas, les valeurs ET et CV sont indiquées comme 0.

Performance HSV-2 dans une matriceclinique orale simulée

Un test Aptima HSV 1 & 2 assay a été effectué en utilisant une matrice d'échantillons cliniques artificiels pour fournir des données de performance supplémentaires pour la détection de HSV-2 dans des échantillons d'origine orale. Des particules virales HSV-2 de souche MS ont été inoculées dans des matrices d'échantillons cliniques d'origine orale HSV-négatif en VTM ou STM à 3X LoD ou 1 000X LoD pour chaque support respectif. Quinze répliquats d'échantillons HSV-négatif, vingt-cinq répliquats de HSV-2 à 3X LoD, et vingt-cinq répliquats de HSV-2 à 1 000X LoD pour les deux matrices en VTM et STM ont été testés par des opérateurs non informés sur le contenu du panel. Les résultats ont montré 100 % de détection de panels artificiels contenant des échantillons d'origine orale HSV-2 positif et une détection de 0 % dans toutes les matrices d'échantillons cliniques négatifs en STM comme en VTM.

Performances cliniques du test sur le Panther System

Performance clinique

Une étude clinique multicentrique prospective a été menée pour établir les caractéristiques de performance du test Aptima HSV 1 & 2 assay. Des hommes et des femmes (n = 839) avec lésions cutanées actives dans les régions ano-génitales¹ ou orales² ont été inclus auprès de 19 sites cliniques aux États-Unis, y compris des centres de planning familial, des services de dermatologie, de pédiatrie et d'infections sexuellement transmissibles, des cabinets privés et des centres de santé publique, des hôpitaux, des universités et des sites de recherche clinique. Deux (2) échantillons prélevés par écouvillon ont été collectés sur une lésion unique pour chaque patient : un a été recueilli avec un écouvillon à partir d'un kit de collecte en VTM disponible dans le commerce et un a été recueilli avec un écouvillon du kit de collecte d'échantillons sur écouvillon Aptima Multitest. Les échantillons ont été traités conformément aux instructions des notices appropriées et testés avec la culture virale du ELVIS HSV ID and D³ Typing Test system et une procédure validée de PCR bidirectionnelle/séquençage afin d'établir une interprétation par la méthode de référence composite pour HSV-1 et HSV-2. L'interprétation par la méthode de référence composite était considérée comme : A) positive si soit la culture virale du ELVIS HSV ID and D³ Typing Test system soit la PCR/le séquençage montrait un résultat positif pour le type HSV (HSV-1 ou HSV-2) et B) et négative si la PCR/le séquençage montrait un résultat négatif pour l'un des types de HSV et la culture virale du ELVIS HSV ID and D³ Typing Test system montrait un résultat négatif (ou un résultat positif pour l'autre type de HSV³). Les échantillons ont été testés avec un test approuvé par la FDA pour HSV-1 et HSV-2 afin de clarifier le type de HSV lorsque : A) la PCR/le séquençage détectait à la fois HSV-1 et HSV-2 et B) les résultats combinés des tests à la méthode de référence composite étaient positifs pour les deux types de HSV.

Les performances cliniques du test Aptima HSV 1 & 2 assay pour la détection de HSV-1 et de HSV-2 ont été évaluées à partir d'échantillons prélevés sur des lésions dans les régions ano-génitales et orales. Le test Aptima HSV 1 & 2 assay a été effectué par trois laboratoires externes. Quelque 108 séries du test Aptima HSV 1 & 2 assay ont été générées ; 107 (99,1 %) séries étaient valides et une série (0,9 %) n'était pas valide en raison d'un défaut du matériel. Quelque 1 629 échantillons ont été traités dans des séries du test Aptima HSV 1 & 2 assay valides ; 1628 échantillons (99,9 %) ont montré des résultats finaux valides et un échantillon (0,1 %) a montré un résultat final non valide en raison d'un défaut du matériel (cet échantillon n'a pas été retesté car son volume était insuffisant). Sept échantillons (0,4 %) ont montré des résultats initiaux non valides ; parmi ceux-ci, 6 ont été retestés et ont obtenu des résultats valides.

Au total, 790 patients (285 hommes et 505 femmes) ont été évaluables pour l'inclusion dans les analyses de performance ; 544 avaient des lésions dans la région ano-génitale et 246 avaient des lésions dans la région buccale.

Dans l'ensemble, pour la détection de HSV-1 et de HSV-2 dans les échantillons prélevés sur des lésions dans la région ano-génitale, la sensibilité variait de 93,4 % à 98,4 % et la spécificité entre 92,8 % et 99,8 % (Tableau 9 et Tableau 10).

Le Tableau 9 présente la sensibilité, la spécificité, le coefficient de prédiction positif (VPP) et le coefficient de prédiction négatif (VPN) du test Aptima HSV 1 & 2 assay pour la détection du HSV-1 et la prévalence du HSV-1 (basées sur la méthode de référence composite) dans les lésions ano-génitales pour chaque type d'échantillon.

1 Comprend abdomen, anus, fesses, col de l'utérus, prépuce, gland du pénis, aine, mont de Vénus, pénis (corps), région péri-anale, périnée, rectum, scrotum, cuisse, orifice de l'urètre/urètre, vagin, région vulvaire et autres.

2 Comprend gencives, lèvres, bouche, langue et autres.

3 Le ELVIS HSV ID and D³ Typing Test system ne peut pas détecter des échantillons co-infectés. Seuls les échantillons HSV-2 négatifs peuvent être typés pour HSV-1.

Tableau 9 : Performance clinique du test Aptima HSV 1 & 2 assay pour la détection du HSV-1 dans les lésions ano-génitales par type d'échantillon

Type d'échantillon	Localisation de la lésion	N	TP	FP	TN	FN	Prév. (%)	Sensibilité % (IC à 95 %)³	Spécificité % (IC à 95 %)³	VPP % (IC à 95 %)⁴	VPN % (IC à 95 %)⁴
VTM	Ano-génitale	528	71	1	451	5¹	14,4	93,4 (85,5-97,2)	99,8 (98,8-99,9)	98,6 (93,0-100)	98,9 (97,6-99,6)
	Ano-génitale homme	192	19	1	170	2	10,9	90,5 (71,1-97,3)	99,4 (96,8-99,9)	95,0 (78,6-99,8)	98,8 (96,4-99,9)
	Ano-génitale femme	336	52	0	281	3	16,4	94,5 (85,1-98,1)	100 (98,7-100)	100 (93,7-100)	98,9 (97,1-99,8)
Écouvillon Aptima en STM	Ano-génitale	531	71	2	454	4²	14,1	94,7 (87,1-97,9)	99,6 (98,4-99,9)	97,3 (91,1-99,6)	99,1 (97,9-99,8)
	Ano-génitale homme	192	20	2	169	1	10,9	95,2 (77,3-99,2)	98,8 (95,8-99,7)	90,9 (74,5-98,7)	99,4 (97,2-100)
	Ano-génitale femme	339	51	0	285	3	15,9	94,4 (84,9-98,1)	100 (98,7-100)	100 (93,6-100)	99,0 (97,2-99,8)

Écouvillon Aptima en STM = écouvillon-échantillon Aptima Multitest, Prév = prévalence, VTM = échantillon en VTM.

¹ Deux (2) échantillons présentaient des résultats de culture négatifs et 1 échantillon présentait un résultat de culture HSV positif non typable.

² Un (1) échantillon présentait un résultat de culture négatif et 1 échantillon présentait un résultat de culture HSV positif non typable.

³ Score IC.

⁴ IC à 95 % de VPP : calculé à partir de l'exact IC à 95 % pour le rapport de vraisemblance positif, IC à 95 % de VPN : calculé à partir de l'exacte IC à 95 % pour le rapport de vraisemblance négatif.

Le Tableau 10 présente la sensibilité, la spécificité, VPP et VPN du test Aptima HSV 1 & 2 assay pour la détection du HSV-2 et la prévalence du HSV-2 (basée sur la méthode de référence composite) dans les lésions ano-génitales pour chaque type d'échantillon.

Tableau 10 : Performance clinique du test Aptima HSV 1 & 2 assay pour la détection du HSV-2 dans les lésions ano-génitales par type d'échantillon

Type d'échantillon	Localisation de la lésion	N	TP	FP	TN	FN	Prév. (%)	Sensibilité % (IC à 95 %)³	Spécificité % (IC à 95 %)³	VPP % (IC à 95 %)⁴	VPN % (IC à 95 %)⁴
VTM	Ano-génitale	533	248	7	270	8¹	48,0	96,9 (94,0-98,4)	97,5 (94,9-98,8)	97,3 (94,7-98,8)	97,1 (94,6-98,7)
	Ano-génitale homme	194	79	2	110	3	42,3	96,3 (89,8-98,7)	98,2 (93,7-99,5)	97,5 (92,0-99,7)	97,3 (93,0-99,4)
	Ano-génitale femme	339	169	5	160	5	51,3	97,1 (93,5-98,8)	97,0 (93,1-98,7)	97,1 (93,8-99,0)	97,0 (93,4-99,0)
Écouvillon Aptima en STM	Ano-génitale	535	253	20	258	4²	48,0	98,4 (96,1-99,4)	92,8 (89,1-95,3)	92,7 (89,4-95,3)	98,5 (96,3-99,6)
	Ano-génitale homme	194	79	6	106	3	42,3	96,3 (89,8-98,7)	94,6 (88,8-97,5)	92,9 (86,5-97,1)	97,2 (92,8-99,4)
	Ano-génitale femme	341	174	14	152	1	51,3	99,4 (96,8-99,9)	91,6 (86,3-94,9)	92,6 (88,5-95,7)	99,3 (96,6-100)

Écouvillon Aptima en STM = Écouvillon-échantillon Aptima Multitest, Prév = prévalence, VTM = échantillon en VTM.

¹ Les 8 échantillons avaient des résultats de culture négatifs.

² Les 4 échantillons avaient des résultats de culture négatifs.

³ Score IC.

⁴ IC à 95 % de VPP : calculé à partir de l'exact IC à 95 % pour le rapport de vraisemblance positif, IC à 95 % de VPN : calculé à partir de l'exacte IC à 95 % pour le rapport de vraisemblance négatif.

Le Tableau 11 présente la sensibilité, la spécificité, VPP et VPN du test Aptima HSV 1 & 2 assay pour la détection du HSV-1 et la prévalence du HSV-1 (basée sur la méthode de référence composite) dans les lésions orales pour chaque type d'échantillon. La sensibilité pour la détection de HSV-1 dans les échantillons prélevés dans la région buccale était de 97,5 % pour les écouvillons-échantillons Aptima Multitest et de 81,5 % pour les échantillons en VTM. Des 22 échantillons en VTM avec résultats faussement négatifs pour le HSV-1, 19 échantillons avaient des résultats de culture négatifs. La spécificité pour la détection de HSV-1 était de 88,7 % pour les écouvillons-échantillons Aptima Multitest et de 99,2 % pour les échantillons en VTM. Neuf (9) des 14 écouvillons-échantillons Aptima Multitest avec des résultats faussement positifs provenaient de 2 des 17 sites de prélèvement qui collectaient les échantillons de la région buccale.

Tableau 11 : Performance clinique du test Aptima HSV 1 & 2 assay pour la détection du HSV-1 dans les lésions orales par type d'échantillon

Type d'échantillon	N	TP	FP	TN	FN	Prév. (%)	Sensibilité % (IC à 95 %)³	Spécificité % (IC à 95 %)³	VPP % (IC à 95 %)⁴	VPN % (IC à 95 %)⁴
VTM	241	97	1	121	22¹	49,4	81,5 (73,6-87,5)	99,2 (95,5-99,9)	99,0 (95,0-100)	84,6 (79,3-89,3)
Écouvillon Aptima en STM	243	116	14	110	3²	49,0	97,5 (92,8-99,1)	88,7 (81,9-93,2)	89,2 (83,9-93,5)	97,3 (93,1-99,4)

Écouvillon Aptima en STM = écouvillon-échantillon Aptima Multitest, Prév = prévalence, VTM = échantillon en VTM.

¹ Dix-neuf échantillons présentaient des résultats de culture négatifs et 1 avait un résultat de culture HSV positive non typable.

² Tous les 3 échantillons avaient des résultats de culture négatifs.

³ Score IC.

⁴ IC à 95 % de VPP : calculé à partir de l'exact IC à 95 % pour le rapport de vraisemblance positif, IC à 95 % de VPN : calculé à partir de l'exacte IC à 95 % pour le rapport de vraisemblance négatif.

Comme la plupart des infections orales au HSV sont causées par le HSV-1, la prévalence des infections à HSV-2 observées dans la région orale était très faible (de 0,9 à 1,3 %) (Tableau 12). Des 235 échantillons en VTM et 237 écouvillons-échantillons Aptima Multitest, seuls 2 échantillons en VTM et 3 écouvillons-échantillons Aptima Multitest avaient des résultats positifs, sur la base des tests de référence. La sensibilité pour la détection de HSV-2 dans les échantillons prélevés dans la région buccale était de 66,7 % pour les écouvillons-échantillons Aptima Multitest et de 100 % pour les échantillons en VTM. Le seul écouvillon-échantillon Aptima Multitest prélevé sur une lésion buccale avec un résultat faussement négatif avait un résultat de culture négatif. Comme décrit ci-dessus, la sensibilité analytique de détection du HSV-2 à l'aide d'échantillons oraux artificiels était de 100 %. La spécificité pour la détection de HSV-2 était de 100 % pour les écouvillons-échantillons Aptima Multitest et de 100 % pour les échantillons en VTM.

Le Tableau 12 présente la sensibilité, la spécificité, VPP et VPN du test Aptima HSV 1 & 2 assay pour la détection du HSV-2 et la prévalence du HSV-2 (basée sur la méthode de référence composite) dans les lésions orales pour chaque type d'échantillon.

Tableau 12 : Performance clinique du test Aptima HSV 1 & 2 assay pour la détection du HSV-2 dans les lésions orales par type d'échantillon

Type d'échantillon	N	TP	FP	TN	FN	Prév. (%)	Sensibilité % (IC à 95 %)²	Spécificité % (IC à 95 %)²	VPP % (IC à 95 %)³	VPN % (IC à 95 %)³
VTM	235	2	0	233	0	0,9	100 (34,2-100)	100 (98,4-100)	100 (30,1-100)	100 (99,3-100)
Écouvillon Aptima en STM	237	2	0	234	1¹	1,3	66,7 (20,8-93,9)	100 (98,4-100)	100 (29,1-100)	99,6 (98,9-100)

Écouvillon Aptima en STM = écouvillon-échantillon Aptima Multitest, Prév = prévalence, VTM = échantillon en VTM.

¹ Cet échantillon avait un résultat de culture négatif.

² Score IC.

³ IC à 95 % de VPP : calculé à partir de l'exact IC à 95 % pour le rapport de vraisemblance positif, IC à 95 % de VPN : calculé à partir de l'exacte IC à 95 % pour le rapport de vraisemblance négatif.

Intervalle de référence et valeurs attendues

Prévalence

La prévalence du HSV-1 et du HSV-2 dans les différentes populations dépend des facteurs de risque du patient comme l'âge, le mode de vie et la sensibilité du test dans la détection de l'infection. Un résumé de la prévalence du HSV-1 et du HSV-2 selon le type d'échantillon et le groupe d'âge, déterminée par le test Aptima HSV 1 & 2 assay dans l'étude des performances cliniques, est présenté dans le Tableau 13.

Tableau 13 : Positivité du test Aptima HSV 1 & 2 assay par catégorie d'emplacement de la lésion et groupe d'âge¹

Localisation de la lésion Tranche d'âge	% prévalence (nbre positifs/nbre testés)			
	Échantillon en VTM		Écouvillons-échantillons Aptima Multitest	
	HSV-1 Positif	HSV-2 Positif	HSV-1 Positif	HSV-2 Positif
Toutes les localisations de lésions				
Tous les âges	21,9 (170/778)	33,0 (257/778)	26,0 (203/782)	35,3 (276/782)
< 2 ans	40,0 (2/5)	0,0 (0/5)	40,0 (2/5)	0,0 (0/5)
De 2 à 11 ans	30,8 (4/13)	0,0 (0/13)	50,0 (7/14)	0,0 (0/14)
De 12 à 21 ans	21,5 (23/107)	40,2 (43/107)	24,8 (27/109)	42,2 (46/109)
De 22 à 30 ans	18,9 (63/334)	36,8 (123/334)	21,4 (72/337)	39,5 (133/337)
De 31 à 40 ans	20,7 (30/145)	33,8 (49/145)	27,3 (39/143)	35,7 (51/143)
De 41 à 50 ans	22,7 (17/75)	26,7 (20/75)	25,7 (19/74)	28,4 (21/74)
De 51 à 60 ans	30,9 (21/68)	22,1 (15/68)	37,7 (26/69)	24,6 (17/69)
> 60 ans	32,3 (10/31)	22,6 (7/31)	35,5 (11/31)	25,8 (8/31)
Lésions ano-génitales				
Tous les âges	13,4 (72/537)	47,5 (255/537)	13,5 (73/539)	50,8 (274/539)
< 2 ans	0,0 (0/1)	0,0 (0/1)	0,0 (0/1)	0,0 (0/1)
De 2 à 11 ans	0,0 (0/1)	0,0 (0/1)	0,0 (0/1)	0,0 (0/1)
De 12 à 21 ans	20,7 (17/82)	52,4 (43/82)	20,2 (17/84)	54,8 (46/84)
De 22 à 30 ans	14,2 (38/268)	45,5 (122/268)	14,4 (39/270)	48,9 (132/270)
De 31 à 40 ans	11,5 (12/104)	47,1 (49/104)	12,6 (13/103)	49,5 (51/103)
De 41 à 50 ans	9,1 (4/44)	45,5 (20/44)	4,8 (2/42)	50,0 (21/42)
De 51 à 60 ans	3,7 (1/27)	51,9 (14/27)	7,1 (2/28)	57,1 (16/28)
> 60 ans	0,0 (0/10)	70,0 (7/10)	0,0 (0/10)	80,0 (8/10)
Lésions orales				
Tous les âges	40,7 (98/241)	0,8 (2/241)	53,5 (130/243)	0,8 (2/243)
< 2 ans	50,0 (2/4)	0,0 (0/4)	50,0 (2/4)	0,0 (0/4)
De 2 à 11 ans	33,3 (4/12)	0,0 (0/12)	53,8 (7/13)	0,0 (0/13)
De 12 à 21 ans	24,0 (6/25)	0,0 (0/25)	40,0 (10/25)	0,0 (0/25)
De 22 à 30 ans	37,9 (25/66)	1,5 (1/66)	49,3 (33/67)	1,5 (1/67)
De 31 à 40 ans	43,9 (18/41)	0,0 (0/41)	65,0 (26/40)	0,0 (0/40)
De 41 à 50 ans	41,9 (13/31)	0,0 (0/31)	53,1 (17/32)	0,0 (0/32)
De 51 à 60 ans	48,8 (20/41)	2,4 (1/41)	58,5 (24/41)	2,4 (1/41)
> 60 ans	47,6 (10/21)	0,0 (0/21)	52,4 (11/21)	0,0 (0/21)

¹ Aucun patient n'avait des résultats positifs au test Aptima HSV 1 & 2 assay pour le HSV-1 et le HSV-2.

Coefficients de prévision positifs et négatifs pour des taux de prévalence hypothétiques

Les valeurs prédictives positives et négatives (VPP et VPN) du test Aptima HSV 1 & 2 assay pour la détection du HSV-1 et du HSV-2 à travers différents taux de prévalence hypothétiques sont indiquées pour chaque type d'échantillon dans le Tableau 14. Ces calculs sont basés sur la sensibilité et la spécificité globale estimées pour chaque type d'échantillon, déterminée dans l'étude de performance clinique.

Tableau 14 : VPP et VPN hypothétiques pour la détection du HSV-1 et du HSV-2 par type d'échantillon et catégorie d'emplacement de la lésion

Type d'échantillon	Localisation de la lésion	Prévalence (%)	HSV-1		HSV-2	
			VPP (%)	VPN (%)	VPP (%)	VPN (%)
Échantillon en VTM	Ano-génitale	1	81,0	99,9	27,9	100
		2	89,6	99,9	43,9	99,9
		5	95,7	99,7	66,9	99,8
		10	97,9	99,3	81,0	99,6
		20	99,1	98,4	90,6	99,2
		30	99,5	97,3	94,3	98,6
		40	99,6	95,8	96,2	97,9
		50	99,8	93,8	97,5	96,9
	Orale	1	50,1	99,8	100	100
		2	67,0	99,6	100	100
		5	84,0	99,0	100	100
		10	91,7	98,0	100	100
		20	96,1	95,5	100	100
		30	97,7	92,6	100	100
		40	98,5	88,9	100	100
		50	99,0	84,3	100	100
Écouvillon Aptima en STM	Ano-génitale	1	68,6	99,9	12,1	100
		2	81,5	99,9	21,8	100
		5	91,9	99,7	41,9	99,9
		10	96,0	99,4	60,3	99,8
		20	98,2	98,7	77,4	99,6
		30	98,9	97,8	85,4	99,3
		40	99,3	96,6	90,1	98,9
		50	99,5	94,9	93,2	98,4
	Orale	1	8,0	100	100	99,7
		2	15,0	99,9	100	99,3
		5	31,2	99,9	100	98,3
		10	49,0	99,7	100	96,4
		20	68,3	99,3	100	92,3
		30	78,7	98,8	100	87,5
		40	85,2	98,1	100	81,8
		50	89,6	97,2	100	75,0

Écouvillon Aptima en STM = écouvillon-échantillon Aptima Multitest, VTM = échantillon en VTM.

Distribution des TTime pour les contrôles positifs du test Aptima HSV 1 & 2 assay

La distribution des valeurs de TTime pour les contrôles positifs du test Aptima HSV 1 & 2 assay de toutes les séries valides de test Aptima HSV 1 & 2 assay effectuées au cours de l'étude des performances cliniques est présentée dans le Tableau 15.

Tableau 15 : Distribution des TTime pour les contrôles positifs du test Aptima HSV 1 & 2 assay

Contrôles positifs

Statistiques	TTime	
	HSV-1	HSV-2
N	107	107
Moyenne	20,03	22,01
Médiane	19,8	21,7
ET	1,198	1,612
CV (%)	6,0	7,3
Minimum	18,1	19,5
Maximum	22,9	26,2

CV = coefficient de variation, ET = écart-type

Bibliographie

1. **Gupta R., T. Warren, A. Wald.** 2007. Genital Herpes. *The Lancet* 370: 2127-2137.
2. **Bradley H., L. Markowitz, T. Gibson, G. McQuillan.** 2014. Seroprevalence of Herpes Simplex Virus Types 1 and 2 United States, 1999-2010. *Journal of Infectious Diseases* (JID) 209: 325-333.
3. **Whitley R., B. Roizman.** 2001. Herpes Simplex Virus Infections. *The Lancet* 357: 1513-1518.
4. **LeGoff J., H. Péré, L. Bélec.** 2014. Diagnosis of Genital Herpes Simplex Virus Infection in the Clinical Laboratory. *Virology Journal* 11: 83-99.
5. **Wald A., K. Link.** 2002. Risk of Human Immunodeficiency Virus Infection in Herpes Simplex Virus Type 2- Seropositive Persons: A Meta-Analysis. *Journal of Infectious Diseases* (JID) 185: 45-52.
6. **Brown A., A. Wald, R. Morrow, S. Selke, J. Zeh, L. Corey.** 2003. Effect of Serologic Status and Cesarean Delivery on Transmission Rates of Herpes Simplex Virus from Mother to Infant. *The Journal of the American Medical Association* (JAMA) 289(2): 203-209.
7. **Ashley RL., A. Wald.** 1999. Genital Herpes: Review of the Epidemic and Potential Use of Type-Specific Serology. *Clinical Microbiology Reviews* 12: 1-8.
8. **Swenson, et al.** 2016. Evaluation of a transcription mediated amplification assay for detection of herpes simplex virus types 1 and 2 mRNA in clinical specimens. *J Clin Virol* 80, 62-67.
9. **Sciortino MT., M. Suzuki, B. Taddeo, B. Roizman.** 2001. RNAs Extracted from Herpes Simplex Virus 1 Virions: Apparent Selectivity of Viral but Not Cellular RNAs Packaged in Virions. *Journal of Virology* 75(17):8105-8116.
10. **Clinical and Laboratory Standards Institute.** 2005. Collection, Transport, Preparation, and Storage of Specimens for Molecular Methods; Approved Guideline. CLSI Document MM13-A. Wayne, PA.
11. **29 CFR Part 1910.1030.** Occupational Exposure to Bloodborne Pathogens ; version actuelle.
12. **Centers for Disease Control and Prevention/National Institutes of Health.** Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories (BMBL) ; version actuelle.
13. **Clinical and Laboratory Standards Institute.** 2002. Clinical Laboratory Waste Management. CLSI Document GP5-A2. Villanova, PA.

Coordonnées et historique des révisions



Hologic, Inc.
10210 Genetic Center Drive
San Diego, CA 92121 États-Unis



Adresse du promoteur australien :
Hologic (Australie et Nouvelle-Zélande) Pty Ltd
Macquarie Park NSW 2113



Hologic BV
Da Vincilaan 5
1930 Zaventem
Belgium

Pour l'adresse e-mail et le numéro de téléphone du support technique et du service client spécifiques à un pays, consultez www.hologic.com/support.

Les incidents graves survenus en relation avec l'appareil dans l'Union européenne doivent être signalés au fabricant et à l'autorité compétente de l'État membre dans lequel l'utilisateur et/ou le patient sont établis.

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

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

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

©2016-2026 Hologic, Inc. Tous droits réservés.

AW-23071-901 Rév. 002
2026-03

Historique des révisions	Date	Description
AW-23071-901 Rév. 001	Octobre 2022	- Création du mode d'emploi APTIMA HSV 1 & 2 assay AW-23071 Rév. 001 qui remplace AW-15346 Rév. 005. Pour la conformité à l'IVDR (hors USA et/ou USA), les données sont plus rigoureuses et une nouvelle PI a été rédigée pour répondre aux exigences de l'IVDR - Ajout du Résumé de la sécurité et des performances - Mise à jour de la section Avertissements et précautions - Mise à jour de la section Matériel requis, mais disponible séparément - Mise à jour de la section du Panther System sous Procédure de test pour le Panther System - Suppression des anciens tableaux 13 à 18 et renumérotation en conséquence - Mise à jour des coordonnées, notamment : Rep. CE, marquage CE, rep. australien et service technique - Diverses mises à jour de style et de mise en forme

Historique des révisions	Date	Description
AW-23071-901 Rév. 002	Mars 2026	• Mise à jour du tableau sur les dangers pour l'UE avec les dernières déclarations relatives aux dangers. • Ajout de deux déclarations dans la section Avertissements et Précautions. L'une traite des bonnes pratiques dans les laboratoires de biologie moléculaire et de la surveillance de l'environnement, et l'autre concerne le rejet des tubes de transport ne contenant pas d'écouvillons. • Mise à jour des instructions de conservation des échantillons après les tests de manière à inclure la possibilité de couvrir le tube de transport d'un bouchon. De plus, ajout d'une remarque concernant les conditions qui ont des répercussions sur la capacité à pipeter plusieurs aliquotes. • Mise à jour du tableau Matériel requis, mais disponible séparément. • Mise à jour des instructions dans la section Reconstitution des réactifs/préparation d'un nouveau kit. • Mise à jour des instructions de manipulation des échantillons pour accroître le nombre d'aliquotes distinctes provenant d'un tube d'échantillon à 5 et permettre de mélanger au vortex dans certaines situations. • Mise à jour des instructions de préparation du système à des fins de clarté. • Dans la section Interprétation des tests, ajout de la possibilité de prélever un nouvel échantillon si les résultats du test de l'échantillon ne sont pas valides une seconde fois. • Pour des raisons de clarté, mise à jour du titre de la section « HSV-2 Oral artificiel » en « Performance HSV-2 dans une matrice d'échantillons cliniques artificiels ». • Diverses mises à jour de style, de marque déposée et de mise en forme.