Test Aptima® HCV Quant Dx

Mode d'emploi
Pour diagnostic *in vitro*
Réservé à l'exportation américaine

Informations générales 2
Usage prévu 2
Résumé et explication du test 2
Principe de la procédure 3
Résumé de la sécurité et des performances 4
Avertissements et précautions 4
Conditions de conservation et de manipulation des réactifs 8
Collection et conservation des échantillons 9
Échantillons placés à bord du Panther System 12
Transport des échantillons 12
Panther System 13
Réactifs et matériels fournis 13
Matériel requis, mais disponible séparément 15
Matériel facultatif 16
Procédure de test pour le Panther System 16
Remarques concernant la procédure 20
Contrôle de qualité 22
Calibration du test 22
Contrôles négatifs et positifs 22
Calibrateur interne/contrôle interne 22
Interprétation des résultats 23
Limites 24
Performance analytique 25
Seuil de détection (LoD) à l'aide du 2e étalon de référence international de l'OMS 25
Seuil de détection pour tous les génotypes du HCV 25
Plage linéaire 26
Linéarité pour les différents génotypes du HCV 27
Limite inférieure de quantification avec le 2e étalon de référence international de l'OMS 28
Détermination de la limite inférieure de quantification (LIDQ) pour les différents génotypes du HCV 29
Traçabilité à l'étalon de référence de l'OMS 31
Précision 31
Substances potentiellement interférentes 32
Performance avec des échantillons négatifs au HCV 34
Spécificité analytique 35
Échantillons cliniques contenant des virus autres que le HCV 36
Équivalence des matrices 36
Dilution d'échantillons à l'aide du diluant d'échantillon Aptima (1:3) 37
Dilution d'échantillons à l'aide du diluant d'échantillon Aptima (1:100) 38
Confirmation de la LIDQ dans les échantillons cliniques dilués dans le diluant pour échantillons 39
Précision des échantillons dilués 40
Contamination de transfert 40
Panel de séroconversion 41
Étude de reproductibilité 41
Performance clinique 43
Corrélation de la méthode 43
Étude de l'utilité clinique 44
Réponse au traitement antiviral 48
Étude de l'utilité diagnostique 51
Réactivité croisée chez les sujets atteints d'une maladie hépatique non liée au HCV 53
Bibliographie 55
Coordonnées et historique des révisions 56

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 du RNA du virus de l'hépatite C (HCV) dans du sérum et du plasma humain frais et congelé provenant de personnes infectées par le HCV.

Le plasma peut être préparé dans de l'acide éthylène diamine tétracétique (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 sérum et des tubes séparation du sérum (SST). Les échantillons sont testés à l'aide du Panther System™ pour un traitement, une amplification, une détection et une quantification automatiques des échantillons. Les échantillons contenant les génotypes 1 à 6 du HCV 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 HCV. Ce test peut être utilisé pour confirmer une infection active par le HCV chez des patients présentant un résultat positif pour les anticorps anti-HCV. La détection du RNA du HCV 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 HCV sous traitement médicamenteux antiviral contre le HCV. Ce test mesure les niveaux de RNA du HCV 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 HCV dans le sang ou les produits sanguins.

Résumé et explication du test

Le HCV est un agent pathogène véhiculé par le sang et un problème de santé publique à l'échelle mondiale, avec jusqu'à 170 millions de personnes infectées dans le monde et 350 000 décès dus chaque année à des pathologies liées au HCV, notamment la cirrhose et le cancer du foie.[1,2] Le HCV se transmet par exposition à du sang ou à des produits sanguins, ou par le biais d'activités présentant un potentiel d'exposition percutanée.[3,4] Sur le plan génétique, le HCV contient un génome RNA à brin positif d'environ 9 500 nucléotides codant pour les protéines structurelles (centrale, glycoprotéines E1 et E2, protéine p7 de canal ionique) et non structurelles (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 HCV.[6]

Sur le plan clinique, la prévalence de l'infection asymptomatique par le HCV est élevée et l'infection chronique par le HCV touche jusqu'à 75 % des patients.[2] Les algorithmes de dépistage du HCV en laboratoire exigent le diagnostic des infections actives par le HCV chez les personnes positives aux anticorps par la détection du RNA du HCV dans le plasma ou le sérum afin de permettre une prise en charge appropriée.[7,8,9]

La quantification du RNA du HCV (charge virale) a joué un rôle central dans la définition et le contrôle d'un traitement efficace contre le HCV. La réponse virologique soutenue (RVS), définie comme l'absence de détection du RNA du HCV après un traitement efficace, est un marqueur clé de la guérison du HCV.[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 de RNA du HCV 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 on 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), la quantification du RNA du HCV (charge virale) a joué un rôle central dans la définition et le contrôle d'un traitement efficace contre le HCV. La réponse virologique soutenue (RVS), définie comme l'absence de détection du RNA du HCV (avec un test dont le seuil de détection est < 25 UI/mL) après le traitement.[10,11] Les lignes directrices récentes de l'AASLD suggèrent de tester le RNA du HCV non seulement au départ, mais aussi périodiquement pendant le traitement (c.-à-d. 4 semaines) et 12 semaines après la fin du traitement.[10,12,13]

Principe 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 le RNA du HCV, 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 HCV pour la détection et la quantification des génotypes 1, 2, 3, 4, 5 et 6. Ce test est conforme au 2e 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 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 (amplicons) par sondes marquées par fluorescence (torches moléculaires).

Lors de la capture de la cible, le RNA viral est isolé à partir des échantillons. L'échantillon est traité avec un détergent afin de solubiliser l'enveloppe virale, dénaturer les protéines et libérer le RNA génomique viral. Les oligonucléotides de capture s'hybrident à des régions hautement conservées du génome du RNA du HCV, si celui-ci est présent dans l'échantillon testé. La cible ainsi hybridée est ensuite capturée par des microparticules magnétiques et séparée du reste de l'échantillon par l'application d'un champ magnétique. Les étapes de lavage permettent d'éliminer les composants exogènes du tube réactionnel.

L'amplification de la cible est réalisée par TMA, une méthode d'amplification de l'acide nucléique médiée par la transcription employant deux enzymes, la transcriptase inverse du virus de la leucémie murine de Moloney (MoMuLV) et la polymérase du RNA T7. La transcriptase inverse permet de générer une copie du DNA de la séquence cible (contenant une séquence de promoteur pour la 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. Le test Aptima HCV Quant Dx utilise la méthode TMA pour amplifier une partie de la région 5'-UTR du génome du HCV. 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 HCV.

La détection se déroule en temps réel par l'hybridation spécifique sur l'amplicon de torches moléculaires d'acide nucléique simple brin présentes pendant la phase d'amplification de la cible. Chaque torche moléculaire est munie d'un fluorophore et d'un suppresseur (quencher). Lorsque la torche moléculaire n'est pas hybridée à l'amplicon, le suppresseur se trouve proche du fluorophore et inhibe la fluorescence. Lorsque la torche moléculaire s'hybride à l'amplicon, la distance entre le suppresseur et le fluorophore augmente et un signal est émis

sur une longueur d'onde spécifique après excitation par une source lumineuse. L'intensité du signal de fluorescence augmente avec le nombre de torches moléculaires hybridées à des amplicons. La durée nécessaire pour que le signal de fluorescence atteigne un seuil spécifique est proportionnelle à la concentration initiale en HCV. Chaque réaction comprend un calibrateur interne/contrôle interne (CI) qui permet de détecter des différences de traitement des échantillons, d'amplification et de détection. La concentration d'un échantillon est calculée par le logiciel du Panther System en utilisant les signaux obtenus pour le HCV et l'IC pour chaque réaction et en les comparant aux données de calibration.

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 (IUD-ID de base). Pour localiser le SSP du test Aptima HCV Quant Dx, se reporter à l'identifiant de base unique du dispositif (BUDI) : 54200455DIAGAPTHCVAJ.

Avertissements et précautions

A. Pour diagnostic *in vitro*.

B. Réservé à un usage professionnel.

C. Pour réduire le risque d'obtention de résultats non valides, lire attentivement l'ensemble de la notice du test et le *Manuel de l'opérateur du Panther*/Panther Fusion™ System pour obtenir des informations sur la procédure avant d'effectuer le test sur le Panther System.

D. Pour tout avertissement, précaution ou procédure complémentaires concernant le contrôle de la contamination, consultez le *Manuel de l'opérateur du Panther/Panther Fusion System*.

Recommandations concernant les laboratoires

E. ATTENTION : les contrôles de ce test contiennent du plasma humain. Le plasma est non réactif pour l'antigène de surface de l'hépatite B (HBsAg), les anticorps contre le HCV, les anticorps contre le HIV-1 et le HIV-2, et l'antigène du HIV lorsque testé selon les procédures approuvées par la Food and Drug Administration des États-Unis. De plus, le plasma est non réactif pour le RNA du HCV et le RNA du HIV-1 lorsque testé sous la forme d'échantillons groupés à l'aide de tests de détection de l'acide nucléique approuvés. Tout produit dérivé du sang humain doit être considéré comme potentiellement infectieux et manipulé avec les précautions universelles.[14,15,16]

F. Cette procédure ne doit être réalisée que par du personnel dûment formé sur l'utilisation du test Aptima HCV Quant Dx et sur la manipulation de produits potentiellement infectieux. En cas de déversement, désinfectez immédiatement en suivant les procédures appropriées de l'établissement.

G. N'utilisez que le matériel de laboratoire jetable fourni ou recommandé.

H. 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 une blouse de laboratoire pour manipuler les spécimens et les réactifs du kit. Lavez-vous bien les mains après avoir manipulé les échantillons et les réactifs du kit.

I. Les plans de travail, les pipettes et les autres matériels doivent être régulièrement décontaminés avec une solution d'hypochlorite de sodium entre 2,5 % à 3,5 % (0,35 M à 0,5 M).

J. Jetez tout le matériel ayant été en contact avec des échantillons ou des réactifs selon la réglementation locale, régionale et nationale.[14,15,16,17] Nettoyez et désinfectez soigneusement tous les plans de travail.

K. Les contrôles contiennent de l'azoture de sodium comme conservateur. N'utilisez pas de tubes métalliques pour le transfert des réactifs. En cas d'élimination de solutions contenant de l'azoture de sodium par le réseau de plomberie, veillez à les diluer et à faire couler d'importantes quantités d'eau en même temps. Il est conseillé de respecter ces précautions pour éviter toute accumulation de dépôts dans les canalisations en métal, laquelle pourrait favoriser la création de conditions explosives.

L. Les bonnes pratiques normales pour les laboratoires de biologie moléculaire incluent la surveillance de l'environnement. La procédure suivante est suggérée pour surveiller l'environnement d'un laboratoire :

1. Associez un écouvillon à embout de coton au tube d'aliquote d'échantillon (SAT) Aptima.
2. Étiquetez chaque SAT de manière appropriée.
3. Remplissez chaque SAT avec 1 mL de diluant d'échantillon Aptima.
4. Pour prélever les échantillons de surface, humidifiez légèrement un écouvillon avec de l'eau désionisée exempte de nucléases.
5. Écouvillonnez la surface d'intérêt en effectuant un mouvement vertical de haut en bas. Faites tourner l'écouvillon d'environ un demi-tour pendant l'écouvillonnage.
6. Introduisez immédiatement l'échantillon sur écouvillon dans le tube et faites-le tournoyer en douceur dans le diluant afin d'en extraire les matières potentiellement écouvillonnées. Pressez l'écouvillon contre le bord du tube de transport pour en extraire le maximum de liquide. Jetez l'écouvillon et fermez le tube.
7. Répétez ces étapes pour les autres échantillons sur écouvillon.
8. Analysez l'écouvillon à l'aide d'un test moléculaire.

Recommandations concernant les échantillons

M. Les échantillons peuvent présenter un risque infectieux. Appliquez les précautions universelles[14,15,16] lors de la réalisation de ce test. Des méthodes de manipulation et d'élimination appropriées devront être établies conformément à la réglementation locale.[17] Cette procédure doit être réalisée uniquement par du personnel dûment formé à l'utilisation du test Aptima HCV Quant Dx et à la manipulation de produits infectieux.

N. Maintenez des conditions de conservation adéquates pendant le transport des échantillons afin de préserver leur intégrité. La stabilité des échantillons dans des conditions de transport autres que celles recommandées n'a pas été évaluée.

O. Évitez toute contamination croisée lors des étapes de manipulation des échantillons. Veillez particulièrement à éviter toute contamination par la diffusion d'aérosols lors du débouchage ou de l'ouverture des échantillons. Les échantillons peuvent contenir des taux d'organismes très importants. Veillez à éviter tout contact entre les différents tubes d'échantillon et à ne pas passer au-dessus d'un récipient ouvert pour éliminer du matériel usagé. Changez de gants en cas de contact avec un échantillon.

Recommandations concernant les tests

P. N'utilisez pas le kit de réactifs, le calibrateur ou les contrôles après la date de péremption.

Q. 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 provenir de numéros de lots différents. Les contrôles et le calibrateur peuvent provenir de numéros de lots différents.

R. Veillez à éviter de contaminer les réactifs par des agents microbiologiques ou des nucléases.

S. Fermez et conservez tous les réactifs de test aux températures indiquées. La performance du test peut être affectée par l'utilisation de réactifs de test mal conservés. Voir *Conditions de conservation et de manipulation des réactifs* et *Procédure de test pour le Panther System* pour plus d'informations.

T. 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.

U. 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 votre région, consultez la FDS spécifique à la région dans la Safety Data Sheet Library (Bibliothèque des fiches de données de sécurité) accessible depuis l'adresse suivante : www.hologicsds.com. Pour plus d'informations sur les symboles, reportez-vous à la légende des symboles à l'adresse www.hologic.com/package-inserts.*

Informations sur les dangers pour l'UE	
—	**Réactif d'amplification** *CHLORURE DE MAGNÉSIUM 60 À 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.
—	**Réactif promoteur** *CHLORURE DE MAGNÉSIUM 60 À 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.
—	**Réactif enzymatique** *Triton X-100 1 à 5 %* *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/récipient dans une usine d'élimination des déchets homologuée.

	**Contrôles de kit HCV VL** *AZOTURE DE SODIUM < 1 %* — **DANGER** H300 – Mortel en cas d'ingestion. H410 – Très toxique pour les organismes aquatiques, entraîne des effets néfastes à long terme. P264 – Laver le visage, les mains et toute surface de peau exposée soigneusement après manipulation. P273 – Éviter le rejet dans l'environnement. P301 + P310 – EN CAS D'INGESTION : Appeler immédiatement un CENTRE ANTIPOISON ou un médecin. P321 – Traitement spécifique (voir les instructions complémentaires de premier secours sur cette étiquette). P330 – Rincer la bouche. P391 – Recueillir le produit répandu.
—	**Calibrateurs de kit HCV VL** *HEPES 15 à 20 %* *Lauryl Sulfate Lithium Salt 5 à 10 %* *Lithium Hydroxide, Monohydrate 1 à 5 %* *Succinic Acid 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.
—	**Solution de reconstitution enzymatique** *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/récipient dans une usine d'élimination des déchets homologuée.
—	**Réactif de capture de cible** *HEPES 15 à 20 %* *Lauryl Sulfate Lithium Salt 5 à 10 %* *Lithium Hydroxide, Monohydrate 1 à 5 %* *Succinic Acid 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.

Conditions de conservation et de manipulation des réactifs

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

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

[a] Lorsque des réactifs sont retirés du 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) inutilisés après 30 jours ou après la date de péremption du lot de référence, selon la première éventualité.

C. Les réactifs conservés à bord du Panther System sont stables pendant 72 heures. Les réactifs peuvent être chargés jusqu'à 8 fois dans le Panther System. Le Panther System enregistre le nombre de chargements des réactifs.

D. Après décongélation du calibrateur, la solution doit être transparente, c.-à-d., elle ne doit pas être trouble ou contenir des précipités.

E. Le réactif promoteur et le réactif promoteur reconstitué sont photosensibles. Protégez ces réactifs de la lumière lors de leur conservation et pendant la préparation avant de les utiliser.

Collection et conservation des échantillons

Remarque : *manipulez chaque 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 prélevés dans les tubes en verre ou en plastique suivants peuvent être utilisés :

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

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

A. Collection d'échantillon

Le sang total peut être conservé entre 2 °C et 30 °C et doit être centrifugé dans les 6 heures suivant le prélèvement de l'échantillon. Séparez le plasma ou le sérum du culot de globules rouges en suivant les instructions du fabricant du tube utilisé. Le plasma ou le sérum peut être analysé directement sur le Panther System dans un tube primaire ou transféré dans un tube secondaire tel que le tube d'aliquote d'échantillon Aptima. Pour obtenir un volume réactionnel de 500 µL, le volume minimal de sérum ou de plasma est de 1 200 µL pour les tubes de collecte primaires et de 700 µL pour les tubes secondaires. Le tableau suivant présente les volumes morts nécessaires pour chaque type de tube primaire et secondaire.

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

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

B. Conditions de conservation des échantillons

1. Échantillons de plasma sur EDTA ou ACD

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

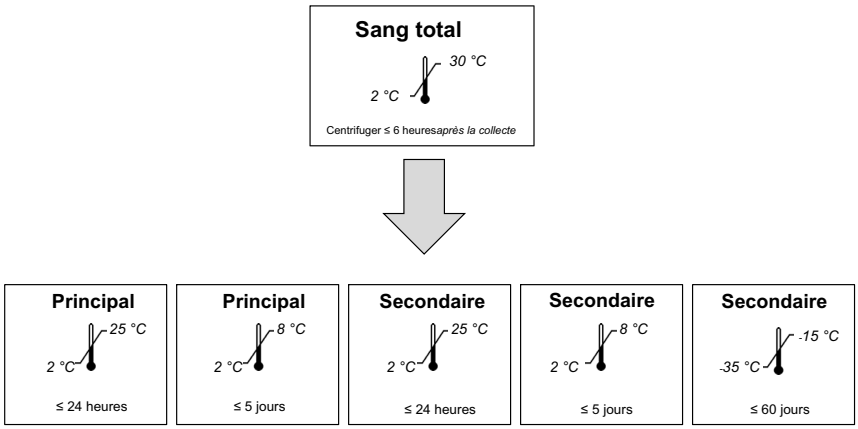


Figure 1. Conditions de conservation pour les tubes EDTA/ACD

2. Échantillons dans tubes PPT

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

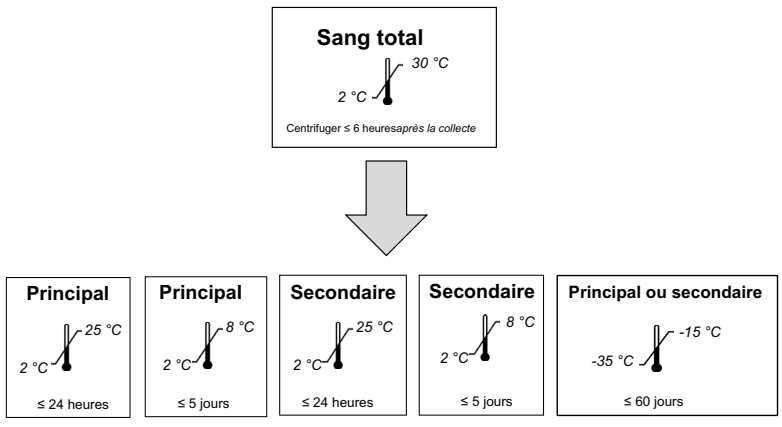


Figure 2. Conditions de conservation pour les tubes PPT

3. Échantillons dans des tubes de sérum

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

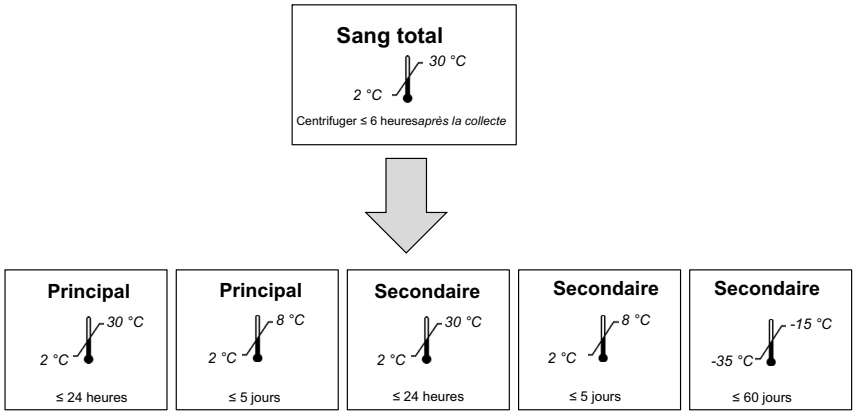


Figure 3. Conditions de conservation pour les tubes de sérum

4. Échantillons dans des tubes SST

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

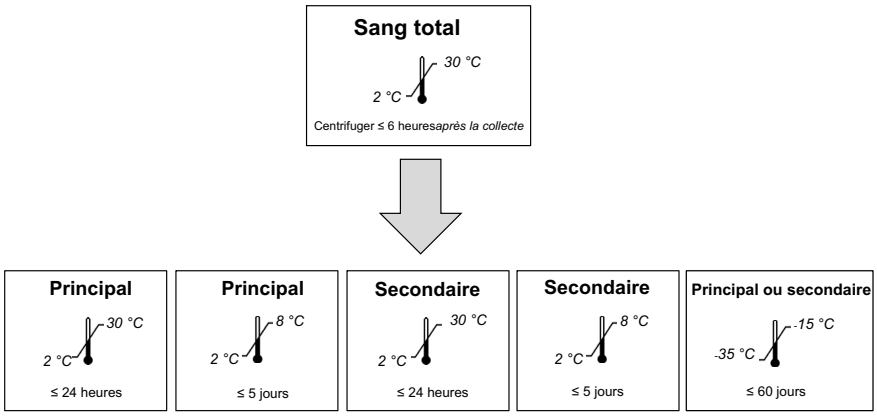


Figure 4. Conditions de stockage pour les tubes SST

C. Entreposage à long terme au congélateur

Les échantillons de plasma ou de sérum peuvent être conservés entre -65 °C et -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. Voir *Procédure de test pour le Panther System*, étape E.5 ci-dessous pour plus d'informations.

⚠ *Une interprétation diagnostique ne doit pas être formulée à partir d'un résultat « Non détecté » pour les échantillons de sérum ou de plasma qui ont été dilués. Prélevez un nouvel échantillon non dilué et refaites le test.*

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

Échantillons placés à bord du Panther System

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

Transport des échantillons

Observez les conditions de conservation des échantillons décrites dans la section *Collection et conservation des échantillons*.

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

Panther System

Les réactifs du Panther System nécessaires pour le test Aptima 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

Kit pour le test Aptima HCV Quant Dx, 100 tests, N° de réf. PRD-03506
(1 boîte de test, 1 kit de calibrateurs et 1 kit de contrôles)
Des contrôles et des calibrateurs supplémentaires peuvent être commandés séparément. Voir les numéros de référence respectifs ci-dessous.

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

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

Kit de calibrateurs du test Aptima HCV Quant Dx (n° de référence PRD-03507)
(conserver entre -15 °C et -35 °C dès réception)

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

Kit de contrôles du test 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** *Plasma humain défibriné négatif au HCV contenant de la gentamicine et de l'azoture de sodium à 0,2 % comme conservateurs.*	5 x 0,8 mL
LPC	**Contrôle positif faible qHCV** *RNA du HCV 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.*	5 x 0,8 mL
HPC	**Contrôle positif fort qHCV** *RNA du HCV 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.*	5 x 0,8 mL
	Étiquette code à barres des contrôles	—

Matériel requis, mais disponible séparément

Remarque : *les numéros de référence des matériels vendus par Hologic sont indiqués, sauf indication contraire.*

Matériel	N° de réf.
Panther™ System	303095
Panther Fusion™ System	PRD-04172
Panther™ System, Liquides et déchets en continu (Panther Plus)	PRD-06067
Kit de contrôles Aptima® HCV Quant Dx	PRD-03508
Kit de calibrateurs Aptima® HCV Quant Dx	PRD-03507
Kit d'analyse Panther pour les tests en temps réel (uniquement pour les tests en temps réel)	PRD-03455 (5 000 tests)
Kit de liquides pour tests Aptima® (aussi connu sous le nom de kit de liquides universels) *contient la solution de lavage Aptima®, le tampon pour solution de désactivation Aptima® et le réactif huileux Aptima®*	303014 (1 000 tests)
Unités multi-tube (MTU)	104772-02
Assortiment de sacs pour déchets Panther™	902731
Couvre-déchets Panther™	504405
Ou, kit d'analyse pour le Panther™ System *(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, des solutions d'Auto Detect et des liquides de test*	303096 (5 000 tests)
Embouts, 1 000 µL, avec filtre, détecteurs de liquide, conducteurs et jetables *Tous les produits ne sont pas disponibles dans toutes les régions. Contacter le représentant pour obtenir des informations spécifiques à la région.*	901121 (10612513 Tecan) 903031 (10612513 Tecan) MME-04134 (30180117 Tecan) MME-04128
Eau de Javel, solution d'hypochlorite de sodium de 5 % à 8,25 % (0,7 M à 1,16 M)	—
Gants jetables sans poudre	—
Bouchons non pénétrables de remplacement	103036A
Bouchons de rechange pour réactifs *Flacons de reconstitution de réactif d'amplification, enzymatique et promoteur* *Flacon de TCR*	 CL0041 (100 bouchons) CL0040 (100 bouchons)
Protections pour paillasse de laboratoire à envers plastifié	—
Chiffons non pelucheux	—
Pipette	—
Embouts	—
Dimensions possibles des tubes de collecte principales : *13 mm x 100 mm* *13 mm x 75 mm* *16 mm x 100 mm*	 — — —
Centrifugeuse	—
Agitateur vortex	—

Matériel facultatif

Matériel	N° de réf.
Dimensions possibles des tubes secondaires :	
12 mm x 75 mm	—
13 mm x 100 mm	—
16 mm x 100 mm	—
Tubes d'aliquote d'échantillon Aptima (SAT) (100/paquet)	FAB-18184
Bouchons pour tubes de transport (100/paquet) *bouchon pour tube SAT*	504415
Diluant d'échantillon Aptima®	PRD-03003
Kit de diluant d'échantillon Aptima® *contient le diluant d'échantillon, 100 SAT et 100 bouchons*	PRD-03478
Pipettes de transfert	—
Panneaux commercialisés	—
Écouvillons à embout de coton	—
Agitateur de tubes	PRD-03488

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.*

A. Préparation de la zone de travail

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

B. Préparation du calibrateur et des contrôles

Laissez le calibrateur et les contrôles atteindre entre 15 °C et 30 °C avant de procéder 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 les mélanger complètement. Vérifier que le contenu du tube est complètement décongelé avant de l'utiliser.

   Option. Les tubes de calibrateur et de contrôle peuvent être soigneusement mélangés dans un agitateur de tubes. Vérifiez que le contenu du tube est complètement décongelé avant de l'utiliser.

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

2. Une fois le contenu des tubes décongelé, sécher l'extérieur des tubes avec un chiffon jetable propre et sec.

3. Pour éviter toute contamination, ne pas ouvrir les tubes à ce moment.

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

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

1. Pour préparer le réactif de capture de cible (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 se réchauffer entre 15 °C et 30 °C pendant au moins 45 minutes. Pendant cette période, faites tournoyer et inversez le flacon de TCR au moins toutes les 10 minutes.

      Option. La préparation du flacon de TCR peut également s'effectuer à l'aide d'un agitateur de tubes en suivant les instructions ci-dessous : Retirez le TCR de son lieu de conservation (2 °C à 8 °C) et agitez immédiatement le flacon de TCR vigoureusement 10 fois. Placez le flacon de TCR sur un agitateur à tubes et laissez-le se réchauffer entre 15 °C et 30 °C pendant au moins 45 minutes.
   c. Assurez-vous que tout précipité a été dissous et que les particules magnétiques sont bien en suspension avant l'utilisation.
2. Pour reconstituer les réactifs d'amplification, enzymatique et promoteur, procédez comme suit :
   a. Retirez les réactifs lyophilisés et les solutions de reconstitution correspondantes de leur lieu de conservation (2 °C à 8 °C). Faites correspondre chaque solution de reconstitution avec son réactif lyophilisé.
   b. Assurez-vous que les couleurs des étiquettes de la solution de reconstitution et du réactif lyophilisé correspondent. Vérifiez les numéros de lot sur la fiche de code-barres du lot de référence pour vous assurer que les réactifs sont associés correctement.
      i. Ouvrez le flacon de réactif lyophilisé en enlevant l'opercule métallique et le bouchon en caoutchouc.
      ii. Insérez fermement l'extrémité à encoche du collet de reconstitution (noir) sur le flacon (Figure 5, Étape 1).
      iii. Ouvrez la bouteille de solution de reconstitution correspondante et posez le bouchon sur une surface de travail propre et couverte.
      iv. Placez le flacon de solution de reconstitution sur une surface stable (c.-à-d., une paillasse). Retournez ensuite le flacon de réactif lyophilisé au-dessus du flacon de solution de reconstitution et fixez le collet solidement au flacon de la solution de reconstitution (Figure 5, Étape 2).
      v. Retournez lentement les flacons assemblés (flacon fixé au flacon de solution) pour que la solution puisse s'écouler dans le flacon en verre (Figure 5, Étape 3).
      vi. Soulevez les flacons assemblés et faites-les tournoyer 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 tournoyer les flacons assemblés pendant au moins 10 secondes, puis balancez délicatement d'avant en arrière la solution dans le flacon en verre pour la mélanger complètement.

c. Inclinez lentement les flacons assemblés pour permettre à la totalité de la solution de s'écouler de nouveau dans le flacon de solution de reconstitution (Figure 5, Étape 5).

d. Retirez avec précaution le collet de reconstitution et le flacon en verre (Figure 5, Étape 6).

e. Rebouchez la bouteille. Enregistrez les initiales de l'opérateur ainsi que la date de reconstitution sur l'étiquette (Figure 5, Étape 7).

f. Jetez le flacon en verre et le collet de reconstitution (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.*

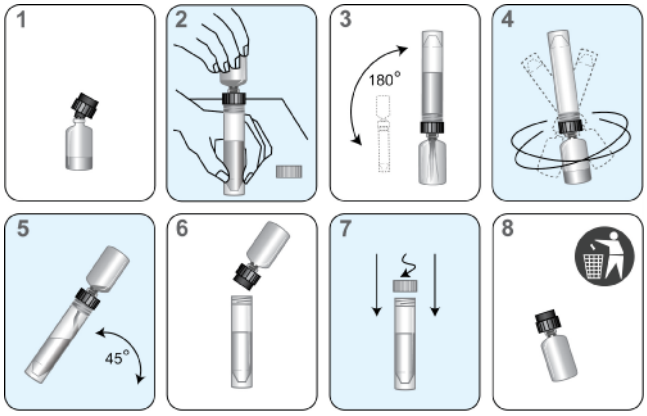


Figure 5. Procédure de reconstitution des réactifs

D. Préparation des réactifs précédemment reconstitués

1. Retirez les réactifs précédemment reconstitués de leur lieu de conservation (2 °C à 8 °C).
2. Les réactifs d'amplification, enzymatique et promoteur et le TCR précédemment reconstitués doivent atteindre entre 15 °C et 30 °C avant de commencer le test.
3. Pour le TCR précédemment préparé, effectuez l'étape C.1 ci-dessus avant de le charger sur le système.
4. Faites tournoyer et inversez 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.

   Option : la préparation des réactifs préparés précédemment peut également s'effectuer à l'aide d'un agitateur de tubes en procédant comme suit : Retirez les réactifs de leur lieu d'entreposage (2 °C à 8 °C). Placez les réactifs sur un agitateur à tubes et laissez-les se réchauffer entre 15 °C et 30 °C pendant au moins 30 minutes.
5. Ne rajoutez pas de réactif dans les flacons. Le Panther System reconnaît et rejette les flacons remplis à nouveau.

E. Manipulation des échantillons

1. Assurez-vous que les échantillons traités dans les tubes primaires ou les échantillons non dilués dans des tubes secondaires ont été conservés de manière appropriée, conformément à la section *Collection et conservation des échantillons*.
2. Vérifiez que les échantillons congelés soient entièrement décongelés. Mélangez les échantillons décongelés au vortex pendant 3 à 5 secondes pour les mélanger complètement.

3. Laissez tous les échantillons atteindre une température entre 15 °C et 30 °C avant de les analyser. Pour de plus amples informations, consultez la section *Échantillons placés à bord du Panther System* .
4. Assurez-vous que chaque tube de collecte principal 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 *Collection d'échantillon* pour les volumes morts nécessaires pour chaque type de tube primaire et secondaire. Si vous devez diluer un échantillon, voir l'étape E.5 ci-dessous pour de l'information supplémentaire.
5. 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.

⚠ *Une interprétation diagnostique ne doit pas être formulée à partir d'un résultat « Non détecté » pour les échantillons de sérum ou de plasma qui ont été dilués. Prélevez un nouvel échantillon non dilué et refaites le test.*

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

a. Dilution d'échantillons de faible volume

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

   i. Déposez 240 µL d'échantillon dans le tube SAT.

   ii. Ajoutez 480 µL de diluant d'échantillon Aptima.

   iii. Fermez le tube.

   iv. Retournez délicatement 5 fois pour mélanger.

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

b. Dilution d'échantillons à titre élevé

   Si le résultat d'un échantillon excède la limite supérieure de quantification (LSDQ), 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 (voir le *Manuel de l'opérateur du Panther/Panther Fusion System* pour plus d'information). Le logiciel signale automatiquement le résultat non dilué en appliquant le facteur de dilution. Ces échantillons sont signalés comme des échantillons dilués.

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

6. Juste avant de charger les échantillons dans un portoir d'échantillons, centrifugez chaque échantillon entre 1000 et 3 000 *g* pendant 10 minutes. Ne pas enlever les bouchons. La présence de bulles dans le tube empêche la détection du niveau par le Panther System.

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

F. Préparation du système

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

      Remarque : *évitez particulièrement toute contamination par diffusion d'aérosols. Desserrez délicatement les bouchons des échantillons.*

   b. Chargez le tube d'échantillon dans le portoir d'échantillons.

   c. Répétez les étapes 2.a et 2.b pour chaque échantillon restant.

   d. Une fois les échantillons chargés dans le portoir d'échantillons, enlevez et jetez le bouchon de chaque tube d'échantillon dans l'un des portoirs d'échantillons. Pour éviter toute contamination, ne passez pas les bouchons au-dessus d'autres portoirs d'échantillons ou tubes d'échantillons.

   e. Utilisez une pipette de transfert jetable neuve pour éliminer les bulles ou la mousse, si nécessaire.

   f. Une fois le dernier bouchon retiré, chargez le portoir d'échantillons dans un compartiment à échantillons.

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

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

Remarques concernant la procédure

A. Calibrateur et contrôles

1. Le calibrateur positif qHCV, puis les tubes de contrôle positif faible qHCV, de contrôle positif fort qHCV et de contrôle négatif qHCV peuvent être chargés dans n'importe quelle position dans le portoir d'échantillons et dans n'importe quelle rangée du compartiment à échantillons du Panther System. Le pipetage des échantillons commence lorsque l'une des deux conditions suivantes est satisfaite :
   a. Le calibrateur et les contrôles sont en cours de traitement par le système.

   b. Les résultats valides du calibrateur et des contrôles sont enregistrés sur le système.
2. Une fois que le calibrateur et les tubes de contrôles ont été pipettés et sont en traitement avec le kit de réactifs de test Aptima HCV Quant Dx, des échantillons peuvent alors être testés pendant 24 heures avec le kit reconstitué correspondant, **à moins que :**
   a. Le résultat du calibrateur ou les résultats des contrôles soient non valides.

   b. Le kit de réactifs de test associé soit enlevé du système.

c. Le kit de réactifs de test associé ait dépassé les limites de stabilité.

3. Le calibrateur et chaque tube de contrôle ne peuvent être utilisés qu'une seule fois. Les tentatives d'utiliser le tube plus d'une fois peuvent entraîner des erreurs de traitement.

B. 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 sans poudre.

Contrôle de qualité

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

Calibration du test

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

Le logiciel du Panther System vérifie automatiquement les critères d'acceptation du 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 de nouveau avec un calibrateur et des contrôles fraîchement préparés.

Contrôles négatifs et positifs

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

Le logiciel du Panther System vérifie automatiquement les critères d'acceptation des contrôles lors de leur traitement. Afin d'obtenir des résultats valides, le résultat du contrôle négatif doit être « Non détecté » et les résultats des contrôles positifs doivent correspondre à la plage de paramètres prédéfinie (cible nominale LPC : 2,36 $\log_{10}$ UI/mL, cible nominale HPC : 5,36 $\log_{10}$ UI/mL). Si un résultat non valide est généré pour l'un des contrôles, le logiciel invalide alors automatiquement la série. Les échantillons d'une série invalidée doivent être analysés de nouveau avec un calibrateur et des contrôles fraîchement préparés.

Calibrateur interne/contrôle interne

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

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

Interprétation des résultats

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

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

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

Tableau 1 : Interprétation des résultats

Résultat signalé du test Aptima HCV Quant Dx		Interprétation de la concentration de RNA du HCV	Interprétation qualitative diagnostique de l'utilisateur[a]
UI/mL	Log_{10} Valeur[b]		
Non détecté	Non détecté	RNA du HCV non détecté.	Non réactif pour le RNA du HCV
< 10 détectés	< 1,00	Le RNA du HCV est détecté mais à une concentration inférieure à la LIDQ	Réactif pour le RNA du HCV
10 à 100 000 000	1,00 à 8,00	La concentration de RNA du HCV se situe dans la plage linéaire comprise entre 10 et 100 000 000 UI/mL	Réactif pour le RNA du HCV
> 100 000 000	> 8,00	La concentration de RNA du HCV est supérieure à la LSDQ	Réactif pour le RNA du HCV
Non valide[c]	Non valide[c]	Une erreur est survenue lors de la génération du résultat. L'échantillon doit être analysé de 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.

Les critères d'acceptation pour chacun des contrôles du test Aptima HCV Quant Dx sont décrits au Tableau 2.

Remarque : *la plage de récupération indiquée ci-dessous varie en fonction de la valeur attribuée à chaque lot spécifique. Reportez-vous à la concentration assignée figurant sur la fiche des codes à barres du contrôle fournie avec chaque boîte de contrôle.*

Tableau 2 : Critères d'acceptation de la plage de récupération pour les contrôles du test Aptima HCV Quant Dx

Composant	Plage de récupération pour les essais valides
Contrôle négatif	S.O.
Contrôle positif faible	+/- 0,5 log_{10} IU/mL
Contrôle positif fort	+/- 0,5 log_{10} IU/mL

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. Bien que rares, des mutations au sein des régions hautement conservées du génome viral couvertes par les amorces et/ou les sondes du test Aptima HCV Quant Dx peuvent aboutir à une absence de détection du virus.

Performance analytique

Seuil de détection (LoD) à l'aide du 2e étalon de référence international de l'OMS

Selon la norme CLSI EP17-A2, le seuil de détection (LoD) est défini comme la concentration de RNA du HCV dont la probabilité de détection est égale ou supérieure à 95 %.[18]

Le LoD a été déterminé par le test de panels du 2e étalon de référence international de l'OMS pour le RNA du HCV (NIBSC 96/798 génotype 1) dilués dans du plasma et du sérum humain EDTA négatifs pour le HCV. Au moins 36 réplicats de chaque dilution ont été analysés avec chacun des trois lots de réactifs pour un minimum de 108 réplicats par dilution. Une analyse Probit a été réalisée pour obtenir les seuils de détection attendus. Les valeurs de LoD sont les résultats du lot de réactif avec le seuil de détection attendu le plus élevé. Le LoD à 95 % pour le test Aptima HCV Quant Dx avec le 2e étalon de référence international de l'OMS est de 4,3 UI/mL pour le plasma et 3,9 UI/mL pour le sérum.

Seuil de détection pour tous les génotypes du HCV

Le LoD a été déterminé en analysant des dilutions d'échantillons cliniques positifs pour le HCV de génotypes 1, 2, 3, 4, 5 et 6 dans du plasma et du sérum humain négatifs pour le HCV. Les concentrations ont été déterminées à l'aide d'un test approuvé. Au moins 20 réplicats de chaque échantillon du panel ont été analysés avec chacun des trois lots de réactifs pour un minimum de 60 réplicats par échantillon du panel. Une analyse Probit a été réalisée pour générer des seuils de détection prédits à 95 %. Les valeurs de LoD indiquées au Tableau 3 sont les résultats obtenus avec le lot de réactifs doté du seuil de détection prévu le plus élevé.

Tableau 3 : Seuil de détection pour tous les génotypes du HCV avec des échantillons cliniques

Génotype	Seuil de détection prévu	Concentration (UI/mL)	
		Plasma	Sérum
1	95 %	4,0	5,2
2	95 %	2,8	4,0
3	95 %	4,3	3,4
4	95 %	4,8	2,3
5	95 %	2,1	3,3
6	95 %	4,1	3,9

Plage linéaire

La plage linéaire a été établie en analysant des panels de RNA du HCV 1a encapsulé (aRNA) dilué dans du plasma et du sérum humain négatifs pour le HCV conformément à la norme CLSI EP06-A.[19] La concentration des panels allait de 1,0 log_{10} UI/mL à 8,2 log_{10} 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_{10} UI/mL, comme l'illustre la Figure 6.

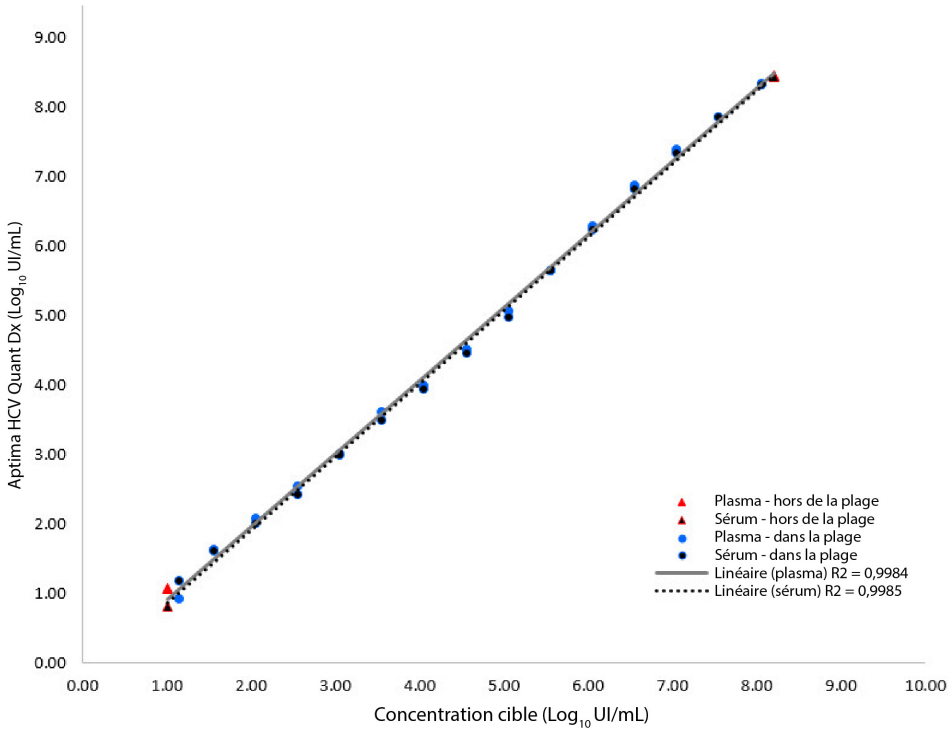


Figure 6. Linéarité dans le plasma et le sérum

Linéarité pour les différents génotypes du HCV

La linéarité et la plage linéaire des génotypes 1 (1a pour le plasma et 1b pour le sérum) à 6 du HCV ont été établies en testant des positifs cliniques individuels dilués, un pour chaque génotype du HCV pour la plage inférieure du test combiné avec l'aRNA (HCV 1a) pour la plage supérieure du test (au-dessus de 100 000 UI/mL). Des dilutions dans le plasma et le sérum humains négatifs ont été testées pour tous les génotypes. La linéarité a été démontrée pour les six génotypes dans la plage testée, comme indiqué dans la Figure 7 pour le plasma et la Figure 8 pour le sérum.

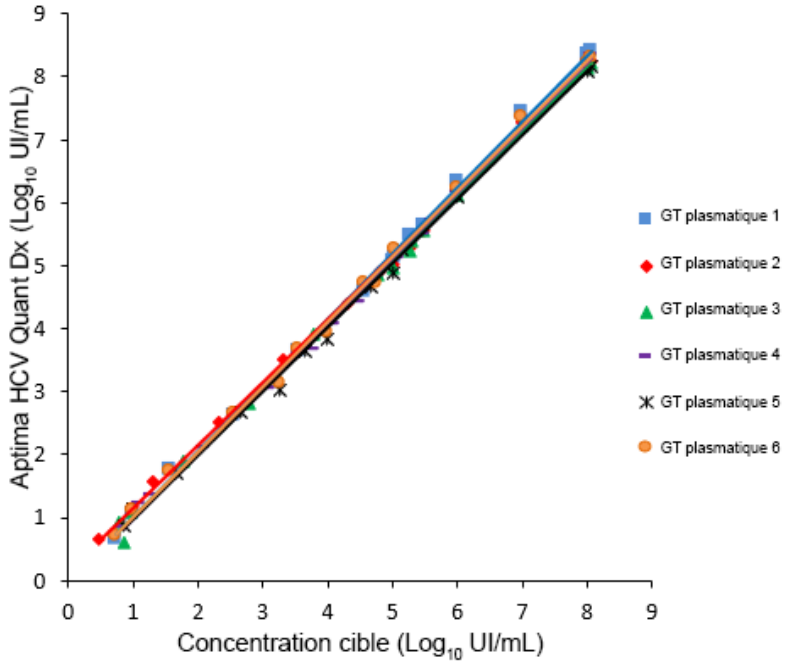


Figure 7. Plage linéaire et linéarité (plasma)

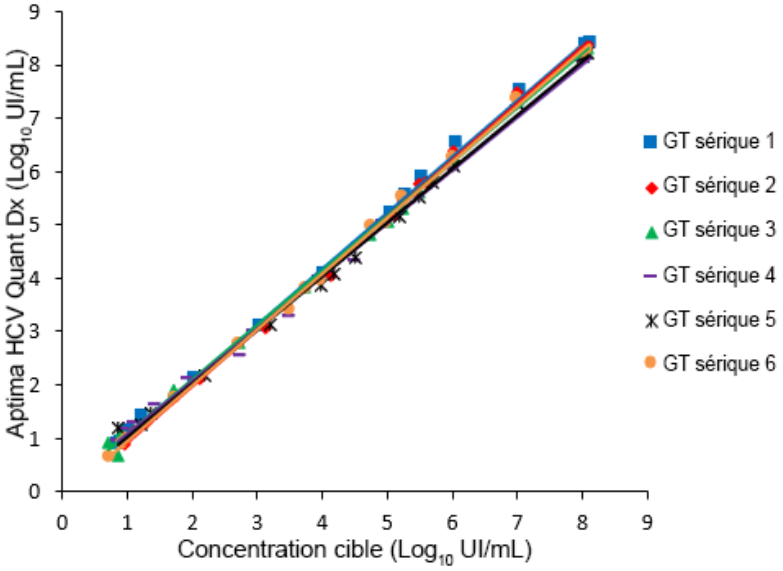


Figure 8. Plage linéaire et linéarité (sérum)

Limite inférieure de quantification avec le 2e étalon de référence international de l'OMS

Selon la norme CLSI EP17-A2, la limite inférieure de quantification (LIDQ) est définie comme la concentration la plus faible à laquelle la quantification du RNA du HCV est fiable d'après le calcul d'une erreur totale.[18] L'erreur totale a été estimée à l'aide de deux méthodes : Erreur analytique totale (TAE) = |biais| + 2 ET, et erreur totale (TE) = racine carrée(2) x 2 ET. Afin de s'assurer de l'exactitude et de la précision des mesures, l'erreur totale du test Aptima HCV Quant Dx était définie comme 1 $\log_{10}$ UI/mL (c.-à-d. qu'à la LIDQ, la différence entre deux mesures de plus de 1 $\log_{10}$ UI/mL est statistiquement significative).

La LIDQ a été déterminée par le test de panels du 2e étalon de référence international de l'OMS pour le RNA du HCV (NIBSC 96/798 génotype 1) dilués dans du plasma et du sérum humain négatifs pour le HCV. Trente six (36) réplicats de chaque dilution ont été analysés avec chacun des trois lots de réactifs pour un minimum de 108 réplicats par dilution. Les résultats du lot de réactifs doté de la concentration la plus élevée, supérieure ou égale à la LoD et conforme aux exigences de TE et de TAE, sont illustrés au Tableau 4 pour le plasma et au Tableau 5 pour le sérum. La LIDQ pour le 2e étalon de référence international de l'OMS est de 7 UI/mL (0,82 $\log_{10}$ UI/mL) pour le plasma et de 9 UI/mL (0,93 $\log_{10}$ UI/mL) pour le sérum, comme résumé au Tableau 6. La LIDQ a été établie pour tous les génotypes (voir *Détermination de la limite inférieure de quantification (LIDQ) pour les différents génotypes du HCV*). Ces données sur les génotypes établissent la LIDQ générale pour le test à 10 UI/mL.

Tableau 4 : LIDQ utilisant le 2e étalon de référence international de l'OMS pour le HCV dilué dans du plasma

Lot de réactifs	Aptima HCV Quant Dx (UI/mL)	Aptima HCV Quant Dx ($\log_{10}$ UI/mL)	ET ($\log_{10}$ UI/mL)	Biais ($\log_{10}$ UI/mL)	TE calculée ($\log_{10}$ UI/mL)	TAE calculée ($\log_{10}$ UI/mL)
1	3	0,53	0,30	0,05	0,85	0,65
	5	0,73	0,31	-0,04	0,88	0,67
	12	1,08	0,23	0,18	0,65	0,64
2	2	0,37	0,32	-0,11	0,92	0,75
	7	0,82	0,27	0,04	0,78	0,59
	9	0,96	0,26	0,06	0,74	0,58
3	3	0,46	0,25	-0,01	0,71	0,52
	6	0,76	0,34	-0,02	0,95	0,69
	8	0,89	0,26	-0,01	0,73	0,53

ET = écart-type

Tableau 5 : LIDQ utilisant le 2e étalon de référence international de l'OMS pour le HCV dilué dans du sérum

Lot de réactifs	Aptima HCV Quant Dx (UI/mL)	Aptima HCV Quant Dx ($\log_{10}$ UI/mL)	ET ($\log_{10}$ UI/mL)	Biais ($\log_{10}$ UI/mL)	TE calculée ($\log_{10}$ UI/mL)	TAE calculée ($\log_{10}$ UI/mL)
1	4	0,65	0,33	0,17	0,94	0,84
	8	0,93	0,32	0,15	0,90	0,79
	12	1,08	0,28	0,18	0,80	0,74
2	3	0,52	0,36	0,04	1,02	0,76
	8	0,89	0,32	0,11	0,90	0,75
	10	1,01	0,21	0,11	0,60	0,53
3	3	0,47	0,39	-0,01	1,11	0,79
	5	0,71	0,30	-0,06	0,86	0,67
	9	0,95	0,29	0,05	0,83	0,63

ET = écart-type

Tableau 6 : Résumé de la LIDQ utilisant le 2e étalon de référence international de l'OMS pour le HCV

Lot de réactifs	LIDQ plasmatique		LIDQ sérique	
	UI/mL	log_{10} UI/mL	UI/mL	log_{10} UI/mL
1	5	0,73	8	0,93
2	7	0,82	8	0,89
3	6	0,76	5	0,71

Détermination de la limite inférieure de quantification (LIDQ) pour les différents génotypes du HCV

La LIDQ a été déterminée en analysant des dilutions d'échantillons cliniques positifs pour le HCV de génotypes 1, 2, 3, 4, 5 et 6 dans du plasma et du sérum humain négatifs pour le HCV. La concentration de départ des échantillons cliniques a été déterminée à l'aide d'un test comparatif. Trente six (36) réplicats de chaque échantillon du panel ont été analysés avec chacun des trois lots de réactifs pour un minimum de 108 réplicats par échantillon du panel. Les résultats du lot de réactifs doté de la concentration la plus élevée, supérieure ou égale au LoD et conforme aux exigences de TE et de TAE, calculée selon CLSI EP 17-A2,[18] sont illustrés au Tableau 7 pour la plasma et au Tableau 8 pour le sérum. Seul un résultat supérieur et inférieur à la LIDQ par génotype est rapporté au Tableau 7 et Tableau 8 ci-dessous, car ces résultats reflètent le mieux la LIDQ attendue. Les LIDQ pour les génotypes 1 à 6 dans le plasma et dans le sérum sont résumées dans le Tableau 9. Le génotype 6 avait la LIDQ la plus élevée pour le sérum à 10 UI/mL. Ceci 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	Aptima HCV Quant Dx[a] (UI/mL)	Aptima HCV Quant Dx[a] (log_{10} UI/mL)	ET (log_{10} UI/mL)	Biais (log_{10} UI/mL)	TE calculée (log_{10} UI/mL)	TAE calculée (log_{10} UI/mL)
1	4	0,65	0,38	0,17	1,08	0,94
	8	0,88	0,35	0,11	1,00	0,82
	10	0,99	0,24	0,09	0,68	0,56
2	4	0,63	0,40	0,16	1,13	0,95
	6	0,76	0,29	0,15	0,81	0,73
	13	1,12	0,30	0,34	0,86	0,94
3	3	0,52	0,30	-0,26	0,85	0,86
	6	0,80	0,21	-0,20	0,59	0,62
	8	0,89	0,26	-0,19	0,74	0,71
4	4	0,61	0,39	-0,29	1,11	1,07
	7	0,82	0,31	-0,18	0,87	0,80
	10	1,01	0,29	-0,07	0,83	0,65
5	4	0,57	0,37	0,10	1,06	0,85
	7	0,87	0,31	0,09	0,89	0,72
	14	1,15	0,16	0,15	0,44	0,46
6	5	0,66	0,36	0,36	1,02	1,08
	6	0,79	0,28	0,31	0,80	0,87
	14	1,14	0,26	0,36	0,74	0,89

ET = écart-type

[a]D'autres niveaux ont été analysés, mais ces données ne figurent pas dans le tableau.

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

Génotype	Aptima HCV Quant Dx[a] (UI/mL)	Aptima HCV Quant Dx[a] (log_{10} UI/mL)	ET (log_{10} UI/mL)	Biais (log_{10} UI/mL)	TE calculée (log_{10} UI/mL)	TAE calculée (log_{10} UI/mL)
1	6	0,75	0,36	-0,03	1,02	0,75
	8	0,88	0,32	-0,02	0,89	0,65
	11	1,04	0,29	0,04	0,81	0,61
2	3	0,48	0,35	0,00	0,99	0,70
	6	0,80	0,31	0,02	0,86	0,63
	11	1,04	0,25	0,04	0,72	0,54
3	3	0,45	0,25	-0,33	0,72	0,84
	5	0,67	0,22	-0,33	0,63	0,78
	8	0,92	0,19	-0,16	0,54	0,54
4	2	0,19	0,27	0,19	0,77	0,73
	4	0,65	0,32	0,35	0,91	0,99
	4	0,65	0,34	0,17	0,96	0,85
5	3	0,48	0,37	0,02	1,04	0,76
	5	0,72	0,29	-0,04	0,81	0,61
	11	1,04	0,27	0,10	0,77	0,65
6	4	0,58	0,37	0,11	1,04	0,84
	10	0,99	0,22	0,21	0,61	0,64
	18	1,25	0,22	0,25	0,63	0,70

ET = écart-type

[a]D'autres niveaux ont été analysés, mais ces données ne figurent pas dans le tableau.

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

Génotype du HCV	LIDQ plasmatique		LIDQ sérique	
	UI/mL	log_{10} UI/mL	UI/mL	log_{10} UI/mL
1	8	0,88	8	0,88
2	6	0,76	6	0,80
3	6	0,80	5	0,67
4	7	0,82	4	0,65
5	7	0,87	5	0,72
6	6	0,79	10	0,99

Traçabilité à l'étalon de référence de l'OMS

Une série d'étalons secondaires avec des concentrations connues a été utilisée tout au long de l'élaboration et de la fabrication des produits pour établir la traçabilité à l'étalon de l'OMS. Les concentrations testées pour l'étalon de référence de l'OMS du HCV étaient comprises entre 4,00 et 2,30 $\log_{10}$ UI/mL, les concentrations des étalons secondaires allant de 1,50 à 8,46 $\log_{10}$ UI/mL. Les contrôles et les calibrateurs du test Aptima HCV Quant Dx ont également été testés avec les étalons secondaires et l'étalon de référence de l'OMS. Tous les panels ont donné des résultats similaires, distribués de façon linéaire dans la plage linéaire du test, comme indiqué à la Figure 9.

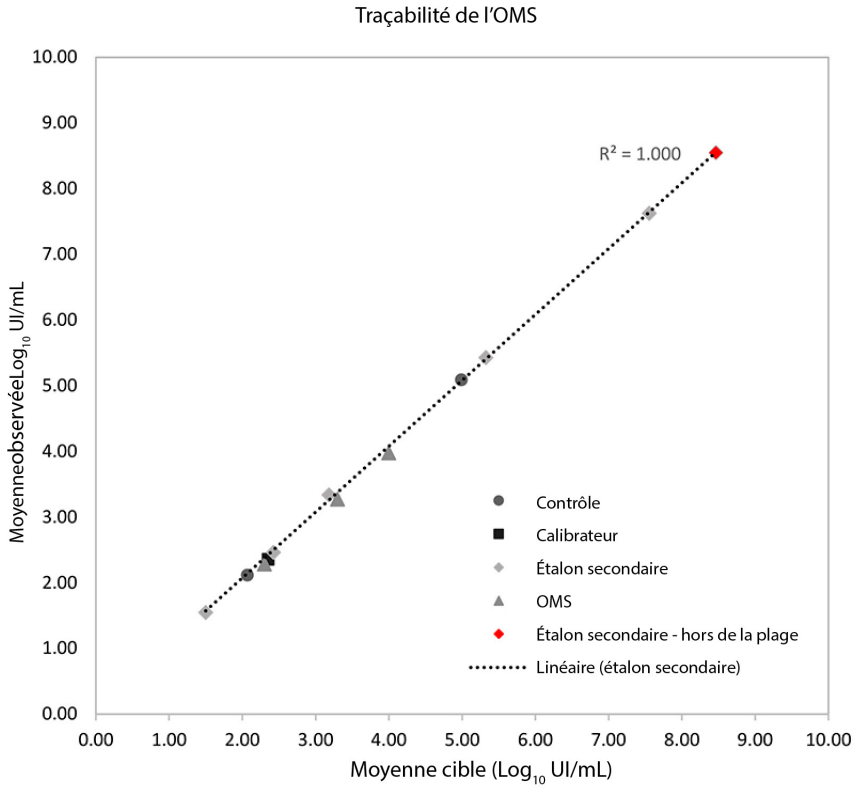


Figure 9. Traçabilité entre les concentrations cibles du 2e étalon de référence de l'OMS pour le HCV et la concentration observée dans le test Aptima HCV Quant Dx

Précision

Le panel de précision Aptima HCV Quant Dx a été constitué en diluant du plasma clinique positif au HCV et de l'aRNA du HCV 1a dans du plasma clinique négatif au HCV (les deux échantillons les plus élevés du panel étaient de l'aRNA). Sept échantillons positifs du panel couvraient la plage du test (1,86 $\log_{10}$ UI/mL à 7,68 $\log_{10}$ UI/mL), et ont été testés en trois répétitions par cycle par un opérateur, en utilisant un lot pilote de réactifs sur un Panther System pendant 21 jours de test, à raison de deux cycles par jour.

Le Tableau 10 indique la précision des résultats du test (en $\log_{10}$ UI/mL) entre les séries, à l'intérieur d'une même série et dans l'ensemble. La variabilité totale était ≤ 0,14 sur l'ensemble des échantillons du panel, surtout en raison de la variabilité intra-série (c.-à-d., erreur aléatoire).

Tableau 10 : Précision du test Aptima HCV Quant Dx

N	Concentration moyenne (UI/mL)	Concentration moyenne ($\log_{10}$ UI/mL)	Entre les jours ET	Entre les séries ET	Intra-série ET	Total ET
126	72	1,86	0,02	0,06	0,12	0,14
126	182	2,26	0,00	0,07	0,07	0,10
126	617	2,79	0,00	0,06	0,08	0,10
126	1 950	3,29	0,00	0,07	0,05	0,08
126	8 128	3,91	0,00	0,06	0,07	0,10
126	616 595	5,79	0,03	0,04	0,06	0,08
125[a]	47 863 009	7,68	0,05	0,05	0,06	0,09

ET = écart-type

[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 faible. Lorsque cela se produit, l'ET est indiqué comme étant de 0,00.

Substances potentiellement interférentes

La susceptibilité du test Aptima HCV Quant Dx aux interférences générées par des taux élevés de substances endogènes ou de médicaments couramment prescrits chez les personnes infectées par le HCV a été évaluée. Des échantillons de plasma négatifs pour le HCV et des échantillons enrichis en HCV à une concentration d'environ 15 UI/mL (1,2 $\log_{10}$ UI/mL) ou 1 995 UI/mL (3,3 $\log_{10}$ UI/mL) de RNA du HCV ont été testés.

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

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

Tableau 11 : Types d'échantillons cliniques testés

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

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

Tableau 12 : Substances exogènes

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

Performance avec des échantillons négatifs au HCV

La spécificité a été déterminée à l'aide de 198 échantillons cliniques frais et 538 échantillons cliniques congelés négatifs au HCV. Au total, 370 échantillons de plasma et 366 échantillons de sérum ont été confirmés négatifs au HCV à l'aide de tests approuvés. La spécificité a été calculée comme le pourcentage d'échantillons négatifs au HCV avec des résultats « Non détecté ». Le RNA du HCV n'a pas été détecté dans les 736 échantillons. La spécificité était de 100 % (736/736, IC à 95 % : 99,6 à 100 %).

Tableau 13 : Performance dans les échantillons cliniques de plasma et de sérum négatifs pour le HCV

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

IC = intervalle de confiance

Spécificité analytique

La réactivité croisée potentielle avec les agents pathogènes énumérés au Tableau 14 a été évaluée en la présence ou l'absence du HCV dans du plasma humain négatif au HCV d'environ 15 UI/mL (1,2 $\log_{10}$ UI/mL) ou 1 995 UI/mL (3,3 $\log_{10}$ UI/mL). Aucune réactivité croisée n'a été observée. Aucune altération n'a été observée en présence des agents pathogènes.

Tableau 14 : Agents pathogènes testés pour la spécificité analytique

Agent pathogène	Concentration	
Virus de l'hépatite A	100 000	copies/mL
Virus de l'hépatite B (HBV)	100 000	UI/mL[a]
Virus de l'hépatite G	1 470	génome/mL
HIV-1	100 000	copies/mL
HIV-2	100 000	UFP/mL[b]
Virus de l'herpès simplex 1 (VHS-1)	100 000	UFP/mL
Virus de l'herpès simplex 2 (VHS-2)	100 000	UFP/mL
Virus de l'herpès humain de type 6B	100 000	copies/mL
Virus de l'herpès humain de type 8	2 667	DICT50 U/mL[c]
Virus T-lymphotrope humain de type 1 (HTLV-1)	100 000	pv/mL[d]
Virus T-lymphotrope humain de type 2 (HTLV-2)	100 000	pv/mL
Parvovirus B19	100 000	UI/mL
Virus du Nil occidental	100 000	UFP/mL
Virus de la dengue de type 1	100 000	UFP/mL
Virus de la dengue de type 2	100 000	UFP/mL
Virus de la dengue de type 3	100 000	UFP/mL
Virus de la dengue de type 4	100 000	UFP/mL
Cytomégalovirus	100 000	UFP/mL
Virus Epstein-Barr	100 000	copies/mL
Virus de la rubéole	100 000	UFP/mL
Papillomavirus humain	100 000	cellules/mL
Adénovirus de type 5	100 000	DICT50 U/mL
Virus de la grippe A	100 000	DICT50 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	DL50/mL[e]
Virus de la fièvre jaune	100 000	cellules/mL

Agent pathogène	Concentration	
Corynebacterium diphtheriae	1 000 000	UFC/mL[f]
Streptococcus pneumoniae	1 000 000	UFC/mL
Staphylococcus aureus	1 000 000	UFC/mL
Propionibacterium acnes	1 000 000	UFC/mL
Staphylococcus epidermidis	1 000 000	UFC/mL
Candida albicans	1 000 000	UFC/mL
Neisseria gonorrhoeae	1 000 000	UFC/mL
Chlamydia trachomatis	1 000 000	UFI/mL[g]
Trichomonas vaginalis	1 000 000	cellules/mL

[a]UI/mL = unités internationales par mL

[b]UFP/mL = unités formant plaques par mL

[c]DICT50 U/mL = unités de dose infectieuse de culture tissulaire par ml

[d]pv/mL = particules virales par mL

[e]DL50/mL = dose létale par mL

[f]UFC/mL = unités de formant colonies par mL

[g]UFI/mL = unités de formant inclusions par mL

Échantillons cliniques contenant des virus autres que le HCV

Les agents pathogènes énumérés au Tableau 15 ont été évalués par l'obtention d'échantillons cliniques individuels naturellement infectés. Ils ont été testés en la présence ou en l'absence d'environ 15 UI/mL (1,2 log_{10} UI/mL) ou 1 995 UI/mL (3,3 log_{10} UI/mL) de HCV. Aucune réactivité croisée n'a été observée. Aucune altération n'a été observée.

Tableau 15 : Échantillons cliniques testés pour la spécificité analytique

Microorganisme	Matrice	N (donneurs)
HBV	Sérum	5
HBV	Plasma	5
Virus de la dengue	Plasma	10
Virus de l'hépatite A	Plasma	10
HTLV-1	Plasma	10
HTLV-2	Plasma	10
HIV-1	Plasma	10
Virus du Nil occidental	Plasma	10

Équivalence des matrices

Cent soixante-seize ensembles d'échantillons de tubes de collecte de sang appariés (tubes à sérum, SST, PPT, ACD, K2 EDTA, K3 EDTA) ont été évalués pour l'équivalence des matrices. Parmi ces ensembles d'échantillons, 68 étaient naturellement positifs au HCV et 108 étaient négatifs au HCV. Vingt-six des 68 échantillons positifs ont été dilués avec 13 échantillons négatifs de tubes de collecte de sang appariés à 1:10, 1:100 et 1:1000 ou 1:100, 1:10 000 et 1:100 000, avec des concentrations dans la plage dynamique du test (146 réplicats positifs par tube de collecte). La corrélation a été mesurée en utilisant le tube de collecte de sérum comme comparateur.

Tableau 16 : Étude d'équivalence des matrices

Tube de collecte de sang	Régression de Deming	IC à 95 % de la pente		IC à 95 % de l'ordonnée à l'origine		R^2	Différence moyenne (log_{10})
		Limite inférieure	Limite supérieure	Limite inférieure	Limite supérieure		
SST	y = 1,00x - 0,01	0,99	1,01	-0,05	0,07	0,998	0,00
K2 EDTA	y = 1,01x - 0,03	0,99	1,02	-0,12	-0,07	0,995	0,00
K3 EDTA	y = 1,00x - 0,01	0,98	1,01	-0,10	0,07	0,996	-0,02
ACD	y = 1,00x - 0,14	0,99	1,01	-0,20	-0,08	0,997	-0,13
PPT	y = 1,00x - 0,01	0,98	1,01	-0,10	0,08	0,996	-0,01

Dilution d'échantillons à l'aide du diluant d'échantillon Aptima (1:3)

Pour évaluer la précision de détection du RNA du HCV dans des échantillons dilués avec le diluant d'échantillon Aptima (plasma ou sérum), des échantillons de 1,67 log_{10} UI/mL à 6,34 log_{10} UI/mL ont été dilués au 1:3 avec le diluant d'échantillon Aptima (240 µL d'échantillon combinés à 480 µL de diluant d'échantillon Aptima). Chaque échantillon a été testé non dilué et dilué (1:3) en triplicat. Le test a été réalisé avec un lot de réactifs de test sur un Panther System et deux lots de diluant d'échantillon Aptima. La différence entre les résultats de test pur et dilué a été calculée pour chaque ensemble d'échantillons, comme indiqué au Tableau 17 pour le plasma et au Tableau 18 pour le sérum.

Tableau 17 : Résumé de la matrice de comparaison de la dilution 1:3 de l'échantillon de plasma en Log_{10} UI/mL

Matrice plasmatique Concentration rapportée moyenne (log_{10} UI/mL) n = 3	Diluant Concentration rapportée moyenne (log_{10} UI/mL) n = 6	Différence Diluant de la matrice plasmatique (log_{10} UI/mL)
1,74[a]	1,57[b]	-0,18
4,56	4,36	-0,20
5,62	5,46	-0,17
3,69	3,56	-0,13
2,65	2,60	-0,05
4,18	4,09	-0,09
3,25	3,28	0,03
4,12	4,06	-0,07
3,54	3,48	-0,06
6,20	5,91	-0,30

[a]Résultat de deux répétitions. Un résultat « détecté » mais non quantifié.
[b]Résultat de quatre répétitions. Deux résultats « détectés » mais non quantifiés.

Tableau 18 : Résumé de la matrice de comparaison de la dilution 1:3 de l'échantillon de sérum en $_{Log}10$ UI/mL

Matrice sérique Concentration rapportée moyenne (log_{10} UI/mL) n = 3	Diluant Concentration rapportée moyenne (log_{10} UI/mL) n = 6	Différence Diluant de la matrice sérique (log_{10} UI/mL)
1,50[a]	1,80	0,30
5,32	5,14	-0,18
3,65	3,59	-0,06
4,91	4,71	-0,20
3,66	3,72	0,06
3,81	3,74	-0,07
2,42	2,60	0,18
2,65	2,88	0,23
4,90	4,70	-0,21
6,17	6,00	-0,17

[a]Résultat de deux répétitions. Un résultat « détecté » mais non quantifié.

Dilution d'échantillons à l'aide du diluant d'échantillon Aptima (1:100)

Pour évaluer la précision de détection du RNA du HCV dans les échantillons dilués avec le diluant d'échantillons Aptima (plasma ou sérum), cinq échantillons de plasma et cinq échantillons de sérum naturellement infectés, ainsi que dix échantillons de plasma et de sérum négatifs au HCV enrichis d'aRNA du HCV ciblant plus que l'LSDQ, 8 $\log_{10}$ UI/mL à 8,30 $\log_{10}$ UI/mL, ont été testés en triplicat. Une dilution 1:100 a été effectuée avec une part d'échantillon et 99 parts de diluant d'échantillon Aptima juste avant le test. Le test a été réalisé avec un lot de réactifs de test sur un Panther System et deux lots de diluant d'échantillon Aptima. La différence entre les résultats de test pur et dilué a été calculée pour chaque ensemble d'échantillons, comme indiqué au Tableau 19 pour le plasma et au Tableau 20 pour le sérum.

Tableau 19 : Résumé de la matrice de comparaison de la dilution 1:100 de l'échantillon de plasma en $_{Log}10$ UI/mL

Matrice	Dilution	Matrice plasmatique Concentration rapportée moyenne ($\log_{10}$ UI/mL) n = 3	Diluant Concentration rapportée moyenne ($\log_{10}$ UI/mL) n = 6	Différence
Plasma	1:100	8,03[a]	7,95	-0,08
		8,07[a]	7,93	-0,15
		8,14[a]	7,97	-0,17
		8,16[a]	7,94	-0,22
		8,09[a]	7,96	-0,13
		8,38[a]	7,97	-0,42
		7,98[a]	7,89	-0,09
		8,08[a]	7,89	-0,19
		8,14[a]	7,92	-0,22
		8,08[a]	7,97	-0,11
		6,41	6,22	-0,19
		6,73	6,58	-0,15
		6,88	6,75	-0,14
		6,54	6,51	-0,03
		6,55	6,29	-0,27

[b]Échantillon enrichi

Tableau 20 : Résumé de la matrice de comparaison de la dilution 1:100 de l'échantillon de sérum en $_{Log}$10 UI/mL

Matrice	Dilution	Matrice sérique Concentration rapportée moyenne (log_{10} UI/mL) n = 3	Diluant Concentration rapportée moyenne (log_{10} UI/mL) n = 6	Différence
Sérum	1:100	8,04[a]	7,94	-0,09
		8,07[a]	7,91	-0,16
		7,99[a]	7,91	-0,08
		8,03[a]	7,92	-0,11
		7,99[a]	7,89	-0,09
		8,05[a]	7,85	-0,20
		8,16[a]	7,93	-0,23
		8,16[a]	7,90	-0,26
		8,06[a]	7,89	-0,17
		8,26[a]	7,92	-0,34
		7,34	7,09	-0,25
		7,07	6,83	-0,24
		7,18	6,80	-0,38
		7,35[b]	7,12	-0,23
		7,07	6,68	-0,39

[b]Échantillon enrichi

[b]Résultat de deux des trois réplicats testés. Un réplicat aberrant a été supprimé.

Confirmation de la LIDQ dans les échantillons cliniques dilués dans le diluant pour échantillons

La LIDQ du test Aptima HCV Quant a été confirmée avec des échantillons cliniques de génotype 1 du HCV dilués dans le diluant d'échantillon Aptima. Les échantillons ont été préparés dans du plasma et du sérum humains négatifs pour le HCV à 21, 30 et 45 UI/mL. Chaque panel a été dilué 1:3 dans le diluant d'échantillon Aptima juste avant le test pour obtenir des concentrations finales d'environ 7, 10 et 15 UI/mL. Trente-six (36) réplicats de chaque échantillon du panel ont été testés avec un lot de réactifs sur trois jours. Une LIDQ ≤ 10 UI/mL pour le plasma et le sérum HCV dilués dans le diluant d'échantillon Aptima a été confirmée comme indiqué au Tableau 21.

Tableau 21 : Confirmation de la LIDQ – Échantillons cliniques dans le diluant d'échantillon Aptima

Matrice	Concentration en cible (UI/ml)	Concentration en cible (log_{10} UI/mL)	% Détecté	Aptima HCV Quant Dx (UI/ml)	Aptima HCV Quant Dx (log_{10} UI/mL)	ET (log_{10} UI/mL)	Biais (log_{10} UI/mL)	TE calculée (log_{10} UI/mL)	TAE calculée (log_{10} UI/mL)
Plasma	7	0,85	100 %	9	0,94	0,25	0,10	0,71	0,60
Sérum	7	0,85	100 %	9	0,96	0,21	0,12	0,60	0,54

Précision des échantillons dilués

Le panel de précision Aptima HCV Quant Dx a été constitué en diluant du plasma clinique positif au HCV et de l'aRNA du HCV dans du plasma clinique négatif au HCV. Ces échantillons ont ensuite été dilués dans le diluant d'échantillon Aptima. Les panels positifs ont été dilués dans le diluant d'échantillon Aptima. Ces tests ont été effectués en trois répétitions par cycle par un opérateur, en utilisant un lot pilote de réactifs sur un Panther System pendant 21 jours de test, à raison de deux séries par jour.

Le Tableau 22 indique la précision des résultats de l'essai (en $\log_{10}$ UI/mL) entre les séries, à l'intérieur d'une même série, entre les jours et dans l'ensemble. La variabilité totale était ≤ 0,15 sur l'ensemble des échantillons du panel, surtout en raison de la variabilité intra-série (c.-à-d., erreur aléatoire).

Tableau 22 : Précision des échantillons dilués dans le diluant d'échantillon Aptima

Dilution	N	Concentration moyenne ($\log_{10}$ IU/ml)	Écart-type			
			Entre les jours	Entre les séries	Intra-série	Total
1:3	126	2,24	0,00	0,05	0,13	0,14
1:100	126	3,86	0,06	0,05	0,12	0,15
1:100	126	7,31	0,03	0,10	0,05	0,12

[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 faible. Dans ces cas, l'ET et l'ETR sont indiqués par 0.*

Contamination de transfert

Afin d'établir que le Panther System minimise le risque de résultats faussement positifs par contamination de transfert, une étude a été menée sur trois Panther System avec des échantillons enrichis en RNA. La contamination de transfert a été évaluée à l'aide d'échantillons à titre élevé enrichis en aRNA (7 $\log_{10}$ UI/mL) répartis entre des échantillons négatifs au HCV selon un motif en damier. Les tests ont comporté un ensemble de quinze séries. Le taux de contamination de transfert global était de 0,14 % (1/704)

Panel de séroconversion

Onze ensembles de panels de séroconversion au HCV, 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-HCV. Le nombre de jours avant le premier résultat réactif est indiqué au Tableau 23. Le test Aptima HCV Quant Dx a détecté la présence du HCV en moyenne 20 jours avant les tests de détection des anticorps.

Tableau 23 : Résumé des données du panel de séroconversion

ID du panel	Nombre d'échantillons du panel testés	Nombre d'échantillons du panel réactifs			Jours avant le premier résultat réactif			Différences en jours avant le premier résultat réactif (basée sur la date de prélèvement)	
		Aptima HCV Quant Dx	Test 1 de détection des anticorps anti-HCV	Test 2 de détection des anticorps anti-HCV	Aptima HCV Quant Dx	Test 1 de détection des anticorps anti-HCV	Test 2 de détection des anticorps anti-HCV	Jours avant le test 1 de détection des anticorps anti-HCV	Jours avant le test 2 de détection des anticorps anti-HCV
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
6 227	7	4	2	2	42	74	74	32	32
6 229	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-HCV a été réalisé avec le test Abbott Prism HCV.
Le test 2 de détection des anticorps anti-HCV 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.
[a] Le premier prélèvement n'a pas été analysé en raison de l'indisponibilité de l'échantillon chez le fournisseur.
[b] Tous les prélèvements de ce panel ont été non réactifs pour les anticorps anti-HCV. Le jour du dernier prélèvement a été utilisé pour déterminer les « jours avant le premier résultat réactif ».
[c] Le deuxième prélèvement n'a pas été analysé en raison de l'indisponibilité de l'échantillon chez le fournisseur.

Étude de reproductibilité

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

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

Le Tableau 24 présente la reproductibilité et la précision des résultats de test pour chaque échantillon positif du panel entre les sites, entre les opérateurs, entre les lots, entre les jours, entre les séries, dans les séries et dans l'ensemble, ainsi que la proportion de réplicats avec des résultats en dehors de la plage signalable du test Aptima HCV Quant Dx.

Le coefficient de variation a été calculé avec l'équation suivante, où σ^2 est la variance de l'échantillon des données après la transformation du $\log_{10}$.

$$\%CV = 100 \times \sqrt{(10^{\sigma_2^{\ln(10)}} - 1)}$$

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

Tableau 24 : Reproductibilité des taux de RNA du HCV du test Aptima HCV Quant Dx sur le Panther System sur des échantillons du panel positifs

GT	N	Moyenne observée		Entre les sites	Entre les lots	Entre les opérateurs/jours[a]	Entre les séries	Au sein des séries	Total	Inférieure LIDQ	Au-dessus LSDQ
		IU/mL	Log_{10} IU/mL	SD (%CV)	SD (%CV)	SD (%CV)	SD (%CV)	SD (%CV)	SD (%CV)	n (%)	n (%)
1	108	10,6	1,0	0,070 (16,22)	0,048 (10,98)	0,000 (0,00)	0,040 (9,20)	0,258 (64,93)	0,274 (69,94)	59 (54,6)	0 (0,0)
	107	19,5	1,3	0,034 (7,77)	0,035 (7,97)	0,009 (2,10)	0,064 (14,91)	0,169 (40,31)	0,187 (45,12)	9 (8,4)	0 (0,0)
	108	43,6	1,6	0,000 (0,00)	0,070 (16,11)	0,000 (0,00)	0,061 (14,13)	0,155 (36,82)	0,180 (43,39)	0 (0,0)	0 (0,0)
	108	602,7	2,8	0,042 (9,58)	0,035 (8,02)	0,022 (5,05)	0,023 (5,30)	0,075 (17,40)	0,098 (22,81)	0 (0,0)	0 (0,0)
	108	22710,9	4,3	0,075 (17,42)	0,045 (10,49)	0,044 (10,08)	0,058 (13,46)	0,071 (16,57)	0,135 (31,74)	0 (0,0)	0 (0,0)
	108	4195539,0	6,6	0,007 (1,65)	0,026 (6,08)	0,045 (10,43)	0,000 (0,00)	0,131 (30,97)	0,142 (33,50)	0 (0,0)	0 (0,0)
	108	58549271,2	7,8	0,010 (2,26)	0,000 (0,00)	0,022 (5,10)	0,035 (8,08)	0,105 (24,42)	0,113 (26,43)	0 (0,0)	1 (0,9)
2	108	11,3	1,0	0,062 (14,29)	0,075 (17,28)	0,112 (26,28)	0,000 (0,00)	0,290 (75,02)	0,326 (86,94)	53 (49,1)	0 (0,0)
	108	13,9	1,1	0,000 (0,00)	0,125 (29,36)	0,128 (30,18)	0,068 (15,83)	0,211 (51,69)	0,285 (73,45)	46 (42,6)	0 (0,0)
	108	62,6	1,8	0,000 (0,00)	0,044 (10,18)	0,101 (23,48)	0,069 (16,00)	0,124 (29,25)	0,180 (43,24)	0 (0,0)	0 (0,0)
	108	351,0	2,5	0,022 (5,18)	0,062 (14,38)	0,004 (1,01)	0,045 (10,31)	0,081 (18,70)	0,113 (26,56)	0 (0,0)	0 (0,0)
	108	14519,2	4,1	0,000 (0,00)	0,051 (11,78)	0,048 (11,01)	0,011 (2,42)	0,092 (21,50)	0,116 (27,25)	0 (0,0)	0 (0,0)
	108	5810012,3	6,8	0,000 (0,00)	0,017 (4,00)	0,041 (9,54)	0,015 (3,53)	0,104 (24,25)	0,114 (26,73)	0 (0,0)	0 (0,0)
	108	77499195,7	7,9	0,000 (0,00)	0,018 (4,24)	0,028 (6,56)	0,000 (0,00)	0,077 (17,77)	0,084 (19,46)	0 (0,0)	10 (9,3)

GT	N	Moyenne observée		Entre les sites	Entre les lots	Entre les opérateurs/jours[a]	Entre les séries	Au sein des séries	Total	Inférieure LIDQ	Au-dessus LSDQ
		IU/mL	Log_{10} IU/mL	SD (%CV)	SD (%CV)	SD (%CV)	SD (%CV)	SD (%CV)	SD (%CV)	n (%)	n (%)
3	107	8,6	0,9	0,049 (11,32)	0,103 (24,05)	0,056 (12,95)	0,000 (0,00)	0,225 (55,47)	0,258 (65,16)	71 (66,4)	0 (0,0)
	108	14,3	1,1	0,157 (37,31)	0,000 (0,00)	0,090 (21,04)	0,000 (0,00)	0,178 (42,88)	0,254 (63,90)	36 (33,3)	0 (0,0)
	107	49,9	1,7	0,119 (27,96)	0,065 (15,08)	0,047 (10,80)	0,034 (7,81)	0,109 (25,42)	0,183 (44,15)	0 (0,0)	0 (0,0)
	108	218,3	2,2	0,324 (86,23)	0,043 (10,01)	0,139 (32,83)	0,063 (14,64)	0,082 (19,09)	0,370 (103,21)	0 (0,0)	0 (0,0)
	107	8541,1	3,9	0,248 (61,97)	0,056 (12,90)	0,151 (35,77)	0,048 (10,99)	0,078 (18,19)	0,309 (81,20)	0 (0,0)	0 (0,0)
	107	4128761,4	6,6	0,044 (10,17)	0,000 (0,00)	0,000 (0,00)	0,042 (9,61)	0,126 (29,65)	0,140 (33,06)	0 (0,0)	0 (0,0)
	108	63813728,0	7,8	0,012 (2,84)	0,000 (0,00)	0,000 (0,00)	0,059 (13,76)	0,092 (21,32)	0,110 (25,71)	0 (0,0)	3 (2,8)

%CV = coefficient de variation log-normal, GT = génotype, ET = écart-type (log_{10} UI/mL)

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.

[a] Les estimations entre opérateurs peuvent être confondues avec les estimations entre jours ; par conséquent, les estimations entre opérateurs et entre jours sont combinées dans les estimations entre opérateurs/jours.

Performance clinique

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 non dilués provenant de patients infectés par le HCV 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 HCV dans la plage linéaire commune aux deux tests ont été utilisés pour la régression linéaire, comme l'illustre la Figure 10.

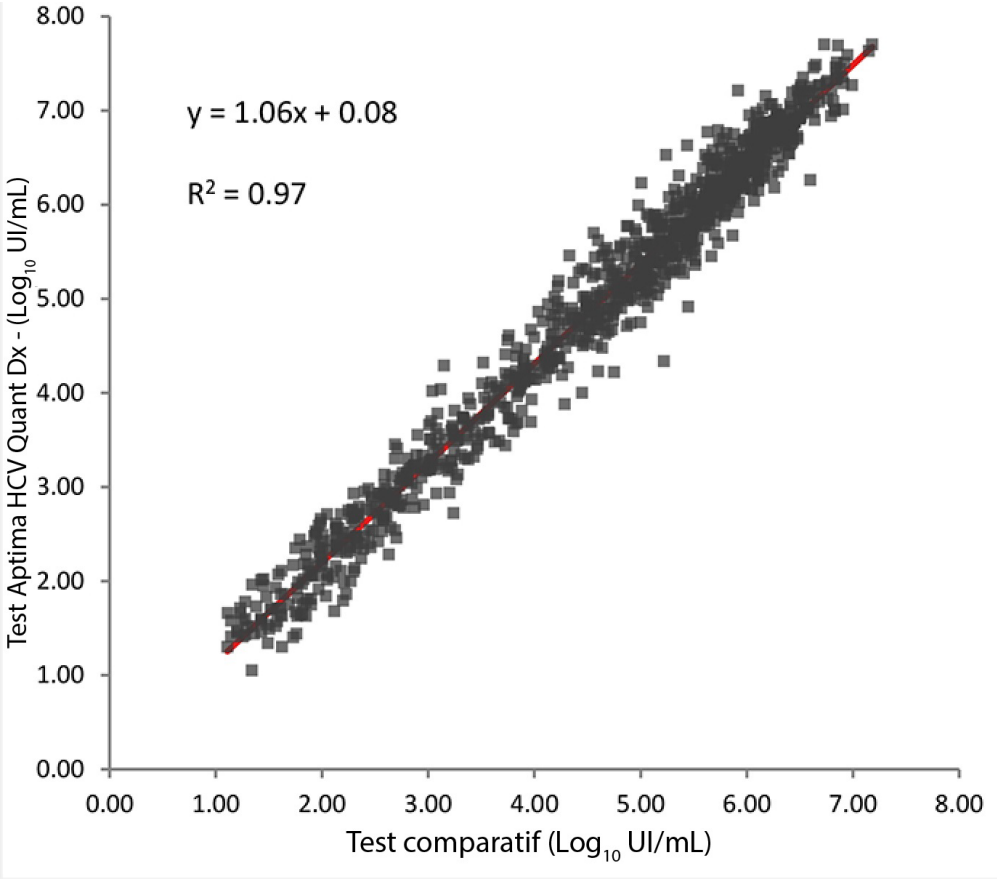


Figure 10. Corrélation entre le test Aptima HCV Quant Dx et le test comparatif

Étude de l'utilité clinique

L'étude a été conçue pour démontrer l'utilité clinique en estimant les caractéristiques de performance pour l'obtention d'une réponse virologique soutenue (RVS) ou d'une réponse virologique non soutenue (RVNS) à des moments cliniquement pertinents au cours d'un traitement antiviral de 8, 12 ou 24 semaines. L'étude a également évalué l'impact des covariables (âge, sexe, ethnicité, niveau initial de RNA du HCV, présence ou absence de cirrhose) sur la réponse RVS.

Les échantillons ont été collectés de manière prospective auprès de sujets infectés chroniquement par le HCV de génotype 1, 2 et 3 qui commençaient un traitement de 8, 12 ou 24 semaines à base de sofosbuvir en utilisant des médicaments approuvés par la FDA et prescrits conformément à l'étiquetage approuvé par la FDA et/ou aux directives de traitement du HCV de l'AASLD/IDSA.[20,21] Les sujets naïfs ou expérimentés de traitement du HCV et les sujets sans cirrhose ou avec cirrhose compensée étaient éligibles, selon le cas, pour chaque schéma de traitement.

La détermination de la charge virale en RNA du HCV a été effectuée au départ, à la semaine 1, à la semaine 2, à la semaine 4, à la semaine 8, à la semaine 12 et à la semaine 24 à l'aide du test Aptima HCV Quant Dx. Les résultats de fin de traitement (EOT) et de suivi post-traitement à la semaine 4 et à la semaine 12 ont été déterminés à l'aide du test Aptima HCV Quant Dx et de deux tests quantitatifs approuvés de dosage du RNA du HCV La RVS a été définie comme un niveau de RNA du HCV < LIDQ, déterminé par un test quantitatif approuvé pour l'échantillon de la semaine 12 après le traitement.

Sur les 352 sujets recrutés dans 35 sites cliniques américains, 274 avaient un statut de RVS concluant et étaient évaluables pour l'analyse. 56 sujets avaient un statut de RVS non évaluable et n'ont pas été inclus dans l'analyse. Vingt-deux autres sujets avaient un statut de RVS concluant, mais n'étaient pas évaluables en raison de l'absence de résultats avant traitement/de référence, de tous les résultats en cours de traitement < LIDQ ou non détectés, ou de génotypes qui n'ont pas été établis à l'aide d'un test approuvé. Dans cette étude, 90,5 % (248/274) des sujets ont obtenu une RVS et 9,5 % (26/274) ont obtenu une RVNS (voir du Tableau 31 au Tableau 33 pour les chiffres par génotype et DRA). La charge virale initiale la plus élevée était de 7,58 $\log_{10}$ UI/mL, déterminée par le test Aptima HCV Quant Dx. Tous les sujets évaluables ont suivi le traitement jusqu'au bout, sans aucun échec thérapeutique (p. ex. absence de réponse). Au total, 2 449 échantillons collectés à différents moments chez chaque sujet ont été testés dans trois sites américains.

Le Tableau 25 montre les caractéristiques démographiques et cliniques des 274 sujets évaluables.

Tableau 25 : Données démographiques et caractéristiques cliniques

Caractéristiques		
Total	N	274
Sexe	Femmes, n (%)	112 (40,9)
	Hommes, n (%)	162 (59,1)
Âge (ans)	n	274
	Moyenne	55,1
	Médiane	56,0
	ET	10,40
	Minimum	23
	Maximum	83
	21-49, n (%)	61 (22,3)
	50-70, n (%)	203 (74,1)
	> 70, n (%)	10 (3,6)
Origine ethnique	n	274
	Hispanique ou latino-américain, n (%)	65 (23,7)
	Non hispanique ou non latino-américain, n (%)	202 (73,7)
	Inconnue, n (%)	6 (2,2)
	Préfère ne pas se prononcer, n (%)	1 (0,4)
Ethnicité[a]	n	274
	Blanc, n (%)	223 (81,4)
	Noir ou afro-américain, n (%)	43 (15,7)
	Asiatique, n (%)	1 (0,4)
	Indien d'Amérique/Autochtones d'Alaska, n (%)	3 (1,1)
	Autochtones hawaïens ou des îles du Pacifique, n (%)	0 (0,0)
	Autre, n (%)	3 (1,1)
	Inconnue, n (%)	1 (0,4)
	Préfère ne pas se prononcer, n (%)	0 (0,0)
Génotype	n	274
	Génotype 1, n (%)	158 (57,7)
	Génotype 2, n (%)	66 (24,1)
	Génotype 3, n (%)	50 (18,2)
Statut du traitement HCV	n	274
	Naïf, n (%)	232 (84,7)
	Expérimenté, n (%)	42 (15,3)
	En rechute, n (%)	32 (76,2)
	Répondant nul, n (%)	1 (2,4)
	Non-répondant, n (%)	2 (4,8)
	Répondant partiel, n (%)	3 (7,1)
	Échappement, n (%)	1 (2,4)
	Rebond, n (%)	0 (0,0)
	Réponse au traitement inconnue, n (%)	3 (7,1)
	Manquant, n (%)	0 (0,0)
Statut cirrhotique	n	274
	Cirrhotique, n (%)	98 (35,8)
	Non cirrhotique, n (%)	176 (64,2)

[a] Les sujets peuvent déclarer plusieurs ethnicités

Le Tableau 26 présente les schémas thérapeutiques finaux pour les 274 sujets évaluables.

Tableau 26 : Résumé de l'attribution des schémas thérapeutiques finaux des sujets par génotype

Attribution du schéma thérapeutique	Génotype du HCV n (%)		
	1	**2**	**3**
Sofosbuvir, peginterféron et ribavirine pendant 12 semaines	25 (15,8)	-	3 (6,0)
Sofosbuvir et siméprévir et/ou ribavirine pendant 12 semaines	63 (39,9)	-	-
Sofosbuvir et siméprévir et/ou ribavirine pendant 24 semaines	4 (2,5)	-	-
Sofosbuvir et ribavirine pendant 12 semaines	-	66 (100)	-
Sofosbuvir et ribavirine pendant 24 semaines	6 (3,8)	-	47 (94,0)
Lédipasvir et sofosbuvir pendant 8 semaines	14 (8,9)	-	-
Lédipasvir et sofosbuvir pendant 12 semaines	39 (24,7)	-	-
Lédipasvir et sofosbuvir pendant 24 semaines	7 (4,4)	-	-
Total des sujets admissibles	158	66	50

Le Tableau 27 évalue l'association des covariables de base (âge, ethnicité, sexe, charge virale HCV initiale [variable binaire] et statut cirrhotique) et la RVS en utilisant le rapport des cotes (OR) avec une analyse de régression logistique univariée (non ajustée). Les résultats pour les 274 sujets évaluables ont été évalués en fonction du génotype du HCV. Pour les génotypes 1 et 2, les sujets cirrhotiques étaient moins susceptibles que les sujets non cirrhotiques d'obtenir une RVS (OR = 0,16 [IC Wald à 95 % : 0,04 à 0,63], P = 0,009 et OR = 0,13 [IC Wald à 95 % : 0,02 à 0,70], P = 0,017, respectivement). Les valeurs de l'IC à 95 % pour les autres covariables pour les génotypes 1 et 2, et toutes les covariables pour le génotype 3, incluaient la valeur 1 et n'étaient pas statistiquement significatives.

Tableau 27 : Évaluation des prédicteurs de la RVS de référence

GT	Catégorie	N	Groupement	N(%)	Pourcentage ayant obtenu une RVS	Rapport des cotes (IC Wald à 95 %) Utilisation de l'analyse RL univariée	Valeur P
1	Âge	158	≥ 40 ans	146 (92,4)	91,8	0 [0 – ∞)	Impossible à calculer
			< 40 ans	12 (7,6)	100		
	Sexe	158	Homme	92 (58,2)	90,2	0,44 (0,11 - 1,69)	0,231
			Femme	66 (41,8)	95,5		
	Ethnicité	158	Blanche	116 (73,4)	94,0	2,10 (0,63 - 7,03)	0,227
			Non-blanc	42 (26,6)	88,1		
	Charge virale initiale de RNA du HCV[a]	156	> 740 000 UI/mL	111 (71,2)	92,8	1,26 (0,36 - 4,40)	0,721
			≤ 740 000 UI/mL	45 (28,8)	91,1		
	Statut cirrhotique	158	Cirrhotiques	57 (36,1)	84,2	0,16 (0,04 - 0,63)	0,009
			Non cirrhotique	101 (63,9)	97,0		
2	Âge	66	≥ 40 ans	60 (90,9)	88,3	1,51 (0,15 - 14,91)	0,722
			< 40 ans	6 (9,1)	83,3		
	Sexe	66	Homme	36 (54,5)	86,1	0,69 (0,15 - 3,15)	0,631
			Femme	30 (45,5)	90,0		
	Ethnicité	66	Blanche	61 (92,4)	86,9	0 [0 – ∞)	Impossible à calculer
			Non-blanc	5 (7,6)	100		
	Charge virale initiale de RNA du HCV	66	> 740 000 UI/mL	44 (66,7)	84,1	0,25 (0,03 - 2,19)	0,211
			≤ 740 000 UI/mL	22 (33,3)	95,5		
	Statut cirrhotique	66	Cirrhotiques	22 (33,3)	72,7	0,13 (0,02 - 0,70)	0,017
			Non cirrhotique	44 (66,7)	95,5		
3	Âge	50	≥ 40 ans	44 (88,0)	86,4	0 [0 – ∞)	NC
			< 40 ans	6 (12,0)	100		
	Sexe	50	Homme	34 (68,0)	85,3	0,39 (0,04 - 3,62)	0,405
			Femme	16 (32,0)	93,8		
	Ethnicité	50	Blanche	46 (92,0)	87,0	0 [0 – ∞)	Impossible à calculer
			Non-blanc	4 (8,0)	100		
	Charge virale initiale de RNA du HCV[a]	49	> 740 000 UI/mL	30 (61,2)	83,3	0,28 (0,03 - 2,59)	0,261
			≤ 740 000 UI/mL	19 (38,8)	94,7		
	Statut cirrhotique	50	Cirrhotiques	19 (38,0)	78,9	0,26 (0,04 - 1,58)	0,143
			Non cirrhotique	31 (62,0)	93,5		

IC = intervalle de confiance, GT = génotype, RL = régression logistique

[a]La covariable de la charge virale initiale de RNA du HCV n'inclut pas les sujets qui n'ont pas fourni de charge virale quantitative de RNA du HCV avant l'initiation du traitement.

Réponse au traitement antiviral

Les caractéristiques de performance du test ont été établies pour les personnes traitées avec certains régimes AAD. Aucune information n'est disponible sur la valeur prédictive du test lorsque d'autres combinaisons thérapeutiques d'AAD sont utilisées.

Définitions :

Charge virale (Viral load, VL) à la semaine 1 = RNA du HCV < LIDQ = 10 UI/mL à la semaine 1 du traitement antiviral

VL à la semaine 2 = RNA du HCV < LIDQ = 10 UI/mL à la semaine 2 du traitement antiviral

VL à la semaine 4 = RNA du HCV < LIDQ = 10 UI/mL à la semaine 4 du traitement antiviral

VL à la semaine 8 = RNA du HCV < LIDQ = 10 UI/mL à la semaine 8 du traitement antiviral

VL à la semaine 8 (EOT) : RNA du HCV < LIDQ à la semaine 8 du traitement antiviral

VL à la semaine 12 = RNA du HCV < LIDQ = 10 UI/mL à la semaine 12 du traitement antiviral

VL à la semaine 12 (EOT) : RNA du HCV < LIDQ à la semaine 12 du traitement antiviral

VL à la semaine 24 (EOT) : RNA du HCV < LIDQ à la semaine 24 du traitement antiviral

Réponse virologique soutenue (RVS) 12 : RNA du HCV < LIDQ à la semaine 12 après la fin du traitement antiviral, mesuré par un test indépendant du RNA du HCV.

Le Tableau 28 et le Tableau 29 montrent la fréquence de la réponse et de la non-réponse RVS, respectivement, par génotype et schéma thérapeutique dans l'ensemble, et pour les sujets cirrhotiques, non cirrhotiques, naïfs de traitement et ayant déjà reçu un traitement. La plupart des sujets ont obtenu une RVS pour tous les génotypes : 92,4 % pour le génotype 1, 87,9 % pour le génotype 2 et 88,0 % pour le génotype 3. Pour l'ensemble des génotypes, les taux de RVS étaient généralement plus élevés chez les sujets non cirrhotiques que chez les sujets cirrhotiques, et similaires entre les sujets naïfs de traitement et les sujets ayant déjà reçu un traitement.

Tableau 28 : Fréquence de la réponse RVS selon le génotype et le schéma thérapeutique

GT	DRA	Sujets répondant à la RVS n (%)				
		Global	Cirrhotiques	Non cirrhotique	Patient naïf de traitement	Patient ayant déjà reçu un traitement
1	Lédipasvir et sofosbuvir pendant 8 semaines	13/14 (92,9)	S.O.	13/14 (92,9)	13/14 (92,9)	S.O.
	Lédipasvir et sofosbuvir pendant 12 semaines	39/39 (100)	9/9 (100)	30/30 (100)	34/34 (100)	5/5 (100)
	Lédipasvir et sofosbuvir pendant 24 semaines	6/7 (85,7)	6/7 (85,7)	S.O.	S.O.	6/7 (85,7)
	Sofosbuvir, peginterféron et ribavirine pendant 12 semaines	24/25 (96,0)	7/7 (100)	17/18 (94,4)	22/23 (95,7)	2/2 (100)
	Sofosbuvir et ribavirine pendant 24 semaines	6/6 (100)	1/1 (100)	5/5 (100)	5/5 (100)	1/1 (100)
	Sofosbuvir et siméprévir et/ou ribavirine pendant 12 semaines	54/63 (85,7)	21/29 (72,4)	33/34 (97,1)	45/54 (83,3)	9/9 (100)
	Sofosbuvir et siméprévir et/ou ribavirine pendant 24 semaines	4/4 (100)	4/4 (100)	S.O.	2/2 (100)	2/2 (100)
2	Sofosbuvir et ribavirine pendant 12 semaines	58/66 (87,9)	16/22 (72,7)	42/44 (95,5)	53/60 (88,3)	5/6 (83,3)
3	Sofosbuvir, peginterféron et ribavirine pendant 12 semaines	3/3 (100)	3/3 (100)	S.O.	1/1 (100)	2/2 (100)
	Sofosbuvir et ribavirine pendant 24 semaines	41/47 (87,2)	12/16 (75,0)	29/31 (93,5)	35/39 (89,7)	6/8 (75,0)

DRA = attribution du schéma thérapeutique, GT = génotype, S.O. = le schéma thérapeutique n'est pas applicable à ce groupe de patients

Tableau 29 : Fréquence de la non-réponse RVS selon le génotype et le schéma thérapeutique

GT	DRA	Sujets non-répondant à la RVS n (%)				
		Globale	**Cirrhotiques**	**Non cirrhotique**	**Patient naïf de traitement**	**Patient ayant déjà reçu un traitement**
1	Lédipasvir et sofosbuvir pendant 8 semaines	1/14 (7,1)	S.O.	1/14 (7,1)	1/14 (7,1)	S.O.
	Lédipasvir et sofosbuvir pendant 12 semaines	0/39 (0,0)	0/9 (0,0)	0/30 (0,0)	0/34 (0,0)	0/5 (0,0)
	Lédipasvir et sofosbuvir pendant 24 semaines	1/7 (14,3)	1/7 (14,3)	S.O.	S.O.	1/7 (14,3)
	Sofosbuvir, peginterféron et ribavirine pendant 12 semaines	1/25 (4,0)	0/7 (0,0)	1/18 (5,6)	1/23 (4,3)	0/2 (0,0)
	Sofosbuvir et ribavirine pendant 24 semaines	0/6 (0,0)	0/1 (0,0)	0/5 (0,0)	0/5 (0,0)	0/1 (0,0)
	Sofosbuvir et siméprévir et/ou ribavirine pendant 12 semaines	9/63 (14,3)	8/29 (27,6)	1/34 (2,9)	9/54 (16,7)	0/9 (0,0)
	Sofosbuvir et siméprévir et/ou ribavirine pendant 24 semaines	0/4 (0,0)	0/4 (0,0)	S.O.	0/2 (0,0)	0/2 (0,0)
2	Sofosbuvir et ribavirine pendant 12 semaines	8/66 (12,1)	6/22 (27,3)	2/44 (4,5)	7/60 (11,7)	1/6 (16,7)
3	Sofosbuvir, peginterféron et ribavirine pendant 12 semaines	0/3 (0,0)	0/3 (0,0)	S.O.	0/1 (0,0)	0/2 (0,0)
	Sofosbuvir et ribavirine pendant 24 semaines	6/47 (12,8)	4/16 (25,0)	2/31 (6,5)	4/39 (10,3)	2/8 (25,0)

DRA = attribution du schéma thérapeutique, GT = génotype, S.O. = le schéma thérapeutique n'est pas applicable à ce groupe de patients

Le Tableau 30 montre le pourcentage de sujets présentant une réponse virologique (définie par des résultats du test Aptima HCV Quant Dx < LIDQ) pour chaque génotype et chaque schéma thérapeutique à chaque visite en cours de traitement et après le traitement. La plupart des sujets ont obtenu une RVS à la semaine 4 pour tous les génotypes, et tous les sujets ont obtenu une RVS à la semaine 8.

Tableau 30 : Probabilité d'obtention d'une RVS au cours des semaines de traitement et de post-traitement

GT	DRA	N	Répondant à la RVS % (n)	Non-répondant à la RVS % (n)	Pourcentage de sujets présentant une réponse virologique par visite[a] n (%)						
					Semaines					EOT	PT04
					1	2	4	8	12		
1	LDV + SOF (8 semaines)	14	92,9 (13/14)	7,1 (1/14)	42,9 (6/14)	76,9 (10/13)	100 (14/14)	S.O.	S.O.	100 (14/14)	90 (9/10)
	LDV + SOF (12 semaines)	39	100 (39/39)	0,0 (0/39)	11,1 (4/36)	52,6% (20/38)	92,1 (35/38)	100 (36/36)	S.O.	100 (39/39)	100 (33/33)
	LDV + SOF (24 semaines)	7	85,7 (6/7)	14,3 (1/7)	0,0 (0/6)	42,9 (3/7)	71,4 (5/7)	100 (7/7)	100 (7/7)	100 (6/6)	80 (4/5)
	SOF + PEG + RBV (12 semaines)	25	96,0 (24/25)	4,0 (1/25)	40,0 (10/25)	80,0 (20/25)	100 (25/25)	100 (25/25)	S.O.	100 (25/25)	100 (25/25)
	SOF + RBV (24 semaines)	6	100 (6/6)	0,0 (0/6)	16,7 (1/6)	66,7 (4/6)	83,3 (5/6)	100 (5/5)	100 (6/6)	100 (5/5)	100 (6/6)
	SOF + SIM + RBV (12 semaines)	63	85,7 (54/63)	14,3 (9/63)	20,7 (12/58)	67,9 (38/56)	98,4 (62/63)	100 (57/57)	S.O.	96,6 (57/59)	90,0 (54/60)
	SOF + SIM + RBV (24 semaines)	4	100 (4/4)	0,0 (0/4)	66,7 (2/3)	66,7 (2/3)	100 (4/4)	100 (3/3)	100 (3/3)	100 (4/4)	100 (4/4)
2	SOF + RBV (12 semaines)	66	87,9 (58/66)	12,1 (8/66)	22,2 (12/54)	69,4 (43/62)	95,4 (62/65)	100 (64/64)	S.O.	98,5 (64/65)	93,5 (58/62)
3	SOF + PEG + RBV (12 semaines)	3	100 (3/3)	0,0 (0/3)	33,3 (1/3)	100 (2/2)	100 (3/3)	100 (2/2)	S.O.	100 (3/3)	100 (3/3)
	SOF + RBV (24 semaines)	47	87,2 (41/47)	12,8 (6/47)	20,9 (9/43)	70,5 (31/44)	100 (46/46)	100 (46/46)	100 (47/47)	100 (42/42)	89,1 (41/46)

DRA = attribution du schéma thérapeutique, EOT = fin du traitement, S.O. = non applicable car la visite correspond à l'EOT du traitement administré ou est en dehors de la fenêtre de traitement, PT04 = semaine 4 post-traitement

[a]La réponse virale en cours de traitement et après le traitement est définie comme étant < 10 UI/mL.

Remarque : EOT n'est pas inclus dans la semaine de traitement

Pour les sujets de génotype 1, 95,5 % (150/157) des sujets évalués avaient une réponse virale en cours de traitement à la semaine 4. Les 7 sujets de génotype 1 qui n'avaient pas de réponse à la semaine 4 (3 sujets traités par LDV + SOF [12 semaines], 2 sujets traités par LDV + SOF [24 semaines], 1 sujet traité chacun par SOF + RBV [24 semaines] ou SOF + SIM ± RBV [12 semaines]) avaient une réponse virale en cours de traitement à la semaine 8. Deux (2) sujets traités par SOF + SIM ± RBV (12 semaines) avaient rechuté à la fin du traitement, et 6 (1 sujet traité par LDF + SOF [8 semaines], 1 sujet traité par LDF + SOF [24 semaines], et 4 sujets traités par SOF + SIM ± RBV [12 semaines]), avaient rechuté à la semaine 4 après le traitement.

Pour les sujets de génotype 2, 95,4 % (62/65) des sujets évalués avaient une réponse virale en cours de traitement à la semaine 4. Les 3 sujets de génotype 2 sans réponse à la semaine 4 avaient une réponse virale sous traitement à la semaine 8. Un (1) sujet traité par SOF + RBV (12 semaines) avait rechuté à la fin du traitement, et 4 sujets ayant reçu le même schéma thérapeutique avaient rechuté à la semaine 4 après le traitement.

Pour les sujets de génotype 3, 100 % (49/49) des sujets évalués avaient une réponse virale en cours de traitement à la semaine 4. Aucun (0) sujet n'avait rechuté à la fin du traitement, et 5 sujets traités par SOF + RBV (24 semaines) avaient rechuté à la semaine 4 après le traitement.

Sur la base des résultats de cette étude, le test Aptima HCV Quant Dx peut être utilisé comme aide à la prise en charge des patients infectés par le HCV qui suivent un traitement antiviral à base de sofosbuvir et peut être utilisé pour déterminer la réponse et la non-réponse RVS. Les résultats du test peuvent être utilisés pour mesurer quantitativement les niveaux de RNA du HCV dans le plasma humain au début et pendant le traitement.

Étude de l'utilité diagnostique

La sensibilité a été évaluée chez 338 sujets positifs aux anticorps anti-HCV issus d'une population à haut risque. Le Tableau 31 présente les caractéristiques démographiques et cliniques des sujets.

Tableau 31 : Données démographiques et caractéristiques cliniques des sujets positifs aux anticorps anti-HCV

Caractéristiques		
Total	*N*	338
Sexe	Femmes, n (%)	80 (23,7)
	Hommes, n (%)	258 (76,3)
Âge (ans)	Moyenne	48,2
	Médiane	51,0
	ET	11,01
	< 21, n (%)	2 (0,6)
	21-49, n (%)	152 (45,0)
	50-70, n (%)	182 (53,8)
	> 70, n (%)	2 (0,6)
Race/Origine ethnique[a]	Blanc, n (%)	86 (25,4)
	Noir, n (%)	118 (34,9)
	Asiatique, n (%)	1 (0,3)
	Hispanique, n (%)	123 (36,4)
	Origine ethnique mixte, n (%)	4 (1,2)
	Autre, n (%)	10 (3,0)
	Inconnue, n (%)	0 (0,0)
Facteurs de risque[b]	Utilisation de substances injectables, n (%)	294 (87,0)
	Receveurs de facteurs de coagulation fabriqués avant 1990, n (%)	0 (0,0)
	Diagnostiqué/traité pour une hépatite, n (%)	172 (50,9)
	Diagnostiqué/traité pour le HIV, n (%)	13 (3,8)
	Antécédents d'incarcération, n (%)	311 (92,0)
	Ayant reçu une transfusion de sang ou de composants sanguins, n (%)	39 (11,5)
	Ayant reçu une greffe, n (%)	0 (0,0)
	Hémodialyse, n (%)	3 (0,9)
	Taux d'ALT constamment élevés, n (%)	2 (0,6)
	Né entre 1945 et 1965, n (%)	192 (56,8)
Statut d'infection par le HCV	Positif au RNA du HCV, n (%)	259 (76,6)
	Négatif au RNA du HCV, n (%)	79 (23,4)

ALT = alanine aminotransférase, HIV = virus de l'immunodéficience humaine
[a]Les sujets peuvent déclarer plusieurs ethnicités.
[b]Les sujets peuvent déclarer plusieurs facteurs de risque.

Les échantillons ont été testés avec un test qualitatif approuvé pour le RNA du HCV, un test approuvé pour les anticorps anti-HCV et le test Aptima HCV Quant Dx. L'étude a porté sur 338 sujets réagissant aux anticorps anti-HCV. Selon les directives actuelles de l'AASLD, un NAAT approuvé par la FDA avec un niveau de détection de 25 UI/mL ou moins[20] doit être utilisé pour confirmer un statut positif d'infection par le HCV après un résultat réactif au test d'anticorps anti-HCV. La concordance entre le statut d'infection du patient et les résultats du test Aptima HCV Quant Dx a été déterminée en utilisant un seuil de 25 UI/mL. Les échantillons < 25 UI/mL ont été considérés comme « non détectés » et les échantillons avec des résultats ≥ 25 UI/mL ont été considérés comme « détectés ». Voir Tableau 32.

Les résultats du test Aptima HCV Quant Dx ont été comparés à un statut d'infection du patient basé sur les résultats approuvés des tests de détection des anticorps anti-HCV et les résultats approuvés des tests qualitatifs de détection du RNA. Le statut infectieux du patient était considéré comme positif au HCV si les résultats du test approuvé de détection des anticorps anti-HCV et du test qualitatif approuvé étaient tous deux réactifs. L'état d'infection du patient était considéré comme négatif au HCV si le test approuvé de détection des anticorps anti-HCV donnait un résultat non réactif.

Sur les 338 sujets ayant des résultats réactifs aux anticorps anti-HCV, 256 ont été détectés par le test Aptima HCV Quant Dx (% de concordance positive = 98,8 %). Parmi les trois sujets dont le RNA du HCV a été quantifié à moins de 25 UI/mL ou n'a pas été détecté, deux sujets ont eu un résultat détecté mais non quantifié (RNA du HCV < 10 UI/mL) et un sujet a eu un résultat quantitatif de RNA du HCV de 12 UI/mL.

Tableau 32 : Concordance entre les résultats du test Aptima HCV Quant Dx et l'état d'infection du patient en utilisant un seuil de 25 UI/mL

Aptima HCV Quant Dx Résultats du test	**État d'infection du patient**		**Total**
	Positif au HCV	**Négatif au HCV**	
RNA du HCV quantifié à ou au-dessus de 25 UI/mL	256	0	256
RNA du HCV quantifié ou détecté à moins de 25 UI/mL ou non détecté	3[a]	79	82
Total	259	79	338
% de concordance positive (Score IC à 95 %)	98,8 (96,7 - 99,6)	S.O.	S.O.
% de concordance négative (Score IC à 95 %)	S.O.	100 (95,4 - 100)	S.O.

IC = intervalle de confiance, S.O. = sans objet

[a] Le test Aptima HCV Quant Dx a détecté mais n'a pas quantifié le RNA du HCV (< 10 UI/mL) chez deux sujets, et le troisième sujet avait un taux de RNA du HCV quantifié à 12 UI/mL.

Cette étude démontre l'utilité clinique du test Aptima HCV Quant Dx pour diagnostiquer correctement les sujets présentant une infection à RNA du HCV active et pour les distinguer des sujets présentant des infections inactives dans une population ayant déjà été exposée au HCV (sérologie positive aux anticorps anti-HCV).

Réactivité croisée chez les sujets atteints d'une maladie hépatique non liée au HCV

Des échantillons de sérum et de plasma (n = 214) provenant de personnes souffrant d'autres maladies du foie (pour lesquelles une infection HCV active n'était pas indiquée comme cause sous-jacente) ont été prélevés. Les échantillons ont été testés avec un test anti-HCV approuvé et un test RNA du HCV qualitatif approuvé pour confirmer que les échantillons étaient négatifs pour le HCV. Dix-sept (17) échantillons positifs pour le HCV (avec des résultats anti-HCV positifs et/ou des résultats réactifs au test RNA du HCV qualitatif) et trois échantillons inéligibles ont été exclus. Le test Aptima HCV Quant Dx a été réalisé en interne avec trois lots de kits de réactifs. Le Tableau 33 présente les caractéristiques démographiques et l'état de la maladie hépatique des 194 sujets évaluables.

Tableau 33 : Caractéristiques démographiques des sujets et état de la maladie hépatique

Caractéristiques		Tous
Total	N	194
Sexe	n	193
	Femmes, n (%)	116 (60,1)
	Hommes, n (%)	77 (39,9)
Âge (ans)	n	194
	Moyenne	55,2
	Médiane	56,0
	ET	12,19
	Minimum	25
	Maximum	82
	21-49, n (%)	60 (30,9)
	50-70, n (%)	114 (58,8)
	> 70, n (%)	20 (10,3)
Origine ethnique	n	194
	Hispanique ou latino-américain, n (%)	9 (4,6)
	Non hispanique ou non latino-américain, n (%)	147 (75,8)
	Inconnue, n (%)	38 (19,6)
	Préfère ne pas se prononcer, n (%)	0 (0,0)
Ethnicité[a]	n	194
	Blanc, n (%)	122 (62,9)
	Noir ou afro-américain, n (%)	20 (10,3)
	Asiatique, n (%)	17 (8,8)
	Indien d'Amérique/Autochtones d'Alaska, n (%)	0 (0,0)
	Autochtones hawaïens ou des îles du Pacifique, n (%)	1 (0,5)
	Autre, n (%)	34 (17,5)
	Inconnue, n (%)	2 (1,0)
	Préfère ne pas se prononcer, n (%)	0 (0,0)
Maladie hépatique	n	194
	Hépatite auto-immune, n (%)	31 (16,0)
	Maladie hépatique alcoolique, n (%)	51 (26,3)
	HBV chronique, n (%)	34 (17,5)
	Cirrhose biliaire primitive, n (%)	37 (19,1)
	NASH, n (%)	39 (20,1)
	Maladies hépatiques multiples déclarées, n (%)	2 (1,0)

HBV = virus de l'hépatite B, NASH = stéatohépatite non alcoolique

[a] Les sujets peuvent déclarer plusieurs ethnicités

[b] Les sujets atteints de maladies hépatiques multiples ont signalé une hépatite auto-immune et une cirrhose biliaire primitive.

Le Tableau 34 montre la spécificité du test Aptima HCV Quant Dx en fonction de la maladie hépatique et la distribution des résultats du test Aptima HCV Quant Dx selon les catégories de charge virale. La spécificité était de 100 % chez les sujets atteints d'hépatite B (HBV) chronique, de cirrhose biliaire primitive, de stéatohépatite non alcoolique (NASH) et de plusieurs maladies hépatiques signalées. Le RNA du HCV a été détecté à des niveaux très bas chez 1 sujet atteint d'hépatite auto-immune (< 10 UI/mL) et 4 sujets atteints de maladie hépatique alcoolique (< 10 UI/mL pour 3 sujets et 16 UI/mL pour 1 sujet). Chez l'un des 5 sujets, la présence de RNA du HCV a été détectée au moyen d'un test HCV quantitatif approuvé.

Tableau 34 : Spécificité du test Aptima HCV Quant Dx et résultats de distribution chez les sujets négatifs aux anticorps anti-HCV et au RNA atteints de maladies hépatiques non liées au HCV

Maladie hépatique	Spécificité (%) IC à 95 %[a]	Non détecté	< 10 UI/mL	10 à < 25 UI/mL	25 à 100 000 000 UI/mL	> 100 000 000 UI/mL	Total
Hépatite auto-immune	96,8 (83,8 - 99,4)	30 (96,8)	1 (3,2)	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	31
Maladie hépatique alcoolique	92,2 (81,5 - 96,9)	47 (92,2)	3 (5,9)[b]	1 (2,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	51
HBV chronique	100 (89,8 - 100)	34 (100)	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	34
Cirrhose biliaire primitive	100 (90,6 - 100)	37 (100)	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	37
NASH	100 (91,0 - 100)	39 (100)	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	39
Maladies hépatiques multiples[c]	100 (34,2 - 100)	2 (100)	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	2
Total	97,4 (94,1 - 98,9)	189 (97,4)	4 (2,1)	1 (0,5)	0 (0,0)	0 (0,0)	194

HBV = virus de l'hépatite B, NASH = stéatohépatite non alcoolique

[a]IC du résultat.

[b]Chez un sujet, la présence de RNA du HCV a été détectée au moyen d'un test HCV quantitatif approuvé par la FDA.

[c]Les sujets présentaient à la fois une hépatite auto-immune et une cirrhose biliaire primitive.

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. Zalesak M, Francis K, Gedeon A, et al. Current and Future Disease Progression of the Chronic HCV Population in the United States. PLoS One. 2013 May 21;8(5):e63959
3. Engle RE, Bukh J, Alter HJ et al., 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 Gasteroenterology 2014: 20 (28): 9270-9280.
5. Tan SL, editor. Hepatitis C Viruses: Genome and Molecular Biology. Norfolk (UK): Horizon Bioscience; 2006.
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. Jan 2014;59(1):318-27.
7. Recommandations 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). Lignes directrices sur le HCV : Recommandations pour le dépistage, la prise en charge et le traitement de l'hépatite C. 2014 : www.hcvguidelines.org.
9. CDC. Dépistage de l'infection par le HCV : une mise à jour pour les cliniciens et les laboratoires. MMWR 2013; 62 (18).
10. Sidharthan, S., Kohli, A., Sims, Z., Nelson, A., Osinusi, A., Masur, H., Kottilil, S. Utility of Hepatitis C Viral Load Monitoring on Directly Acting Antiviral Therapy. Clinical Infectious Diseases, 2015.
11. Kohli, A., Shaffer, A., Sherman, A., Kottilil, S. Treatment of hepatitis C: a systematic review. JAMA, 2014.
12. AASLD. Recommandations pour le dépistage, la prise en charge et le traitement de l'hépatite C. 2015. Publié sur hcvguidelines.org, consulté le 11 février 2016.
13. Simmons, B., Saleem, J., Heath, K., Cooke, G., Hill, A. Long-term treatment outcomes of patients infected with Hepatitis C virus: a systematic review and meta-analysis of the survival benefit of achieving a Sustained Virological Response. Clinical Infectious. Sept 2015 1;61(5):730-40.
14. **Clinical and Laboratory Standards Institute.** 2005. Collection, transportation, préparation et conservation des échantillons pour les méthodes moléculaires ; lignes directrices approuvées. CLSI Document MM13-A. Wayne, PA.
15. **29 CFR Part 1910.1030.** Occupational Exposure to Bloodborne Pathogens ; version actuelle.
16. **Centers for Disease Control and Prevention/National Institutes of Health.** Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories (BMBL) ; version actuelle.
17. **Clinical and Laboratory Standards Institute.** 2002. Gestion des déchets des laboratoires cliniques. CLSI Document GP5-A2. Villanova, PA.
18. **Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI).** 2012. Évaluation de la capacité de détection des procédures de mesure des laboratoires cliniques ; lignes directrices approuvées — deuxième édition. CLSI Document EP17-A2. Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne, PA.
19. **Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI)**. 2003. Évaluation de la linéarité des procédures de mesure quantitative : une approche statistique ; lignes directrices approuvées. CLSI document EP06-A. Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne, PA.
20. AASLD/IDSA. Recommandations pour le dépistage, la prise en charge et le traitement de l'hépatite C. AASLD et IDSA. http://www.hcvguidelines.org/fullreport. Mise à jour le 21 mars 2014. Consulté le 01 mars 2016.
21. AASLD/IDSA HCV Guidance Panel. Hepatitis C Guidance: AASLD-IDSA recommendations for testing, managing, and treating adults infected with hepatitis C virus. Hepatology. 2015;62(3):932-954.

Coordonnées et historique des révisions

Hologic, Inc.
10210 Genetic Center Drive
San Diego, CA 92121 USA

IVD

CE 2797

EC REP
Hologic BV
Da Vincilaan 5
1930 Zaventem
Belgium

Australian Sponsor
Hologic (Australia & New Zealand) Pty Ltd.
Macquarie Park NSW 2113

Pour l'adresse e-mail et le numéro de téléphone de l'assistance technique et du service client spécifiques au pays, rendez-vous sur www.hologic.com/support.

Tout incident grave survenant avec le dispositif au sein de l'Union européenne doit être signalé au fabricant et aux autorités compétentes de l'État membre dans lequel vit (vivent) l'utilisateur et/ou le patient.

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.

Armored RNA est une marque commerciale de Asuragen, Inc.

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.

©2016-2025 Hologic, Inc. Tous droits réservés.

AW-28216-901 Rév. 001

2025-12

Historique des révisions	Date	Description
AW-28216-901 Rév. 001	Décembre 2025	• Version initiale.