

Test Aptima® HIV-1 Quant

IVD

Sur ordonnance seulement

Renseignements généraux	2
Utilisation prévue	2
Résumé et explication du test	2
Principes de la procédure	3
Avertissements et précautions	5
Conditions de conservation et manipulation des réactifs	8
Collecte et conservation des échantillons	9
Échantillons placés à bord du système Panther	12
Transport des échantillons	12
Système Panther	13
Réactifs et matériel fournis	13
Matériel requis mais disponible séparément	14
Matériel optionnel	15
Procédure de test pour le système Panther	15
Remarques concernant la procédure	20
Assurance de la qualité	21
Calibration du test	21
Contrôles négatifs et positifs	21
Calibrateur interne/contrôle interne	21
Interprétation des résultats	22
Limites	24
Performances non cliniques	25
Limite de détection (LoD) au moyen de la 3 ^e norme internationale de l’OMS pour le VIH-1	25
Limite de détection pour différents sous-types et groupes du VIH-1	25
Plage linéaire	27
Linéarité pour les sous-types et groupes de VIH-1	28
Détermination de la limite inférieure de quantification au moyen de la 3 ^e norme internationale de l’OMS pour le VIH-1	29
Vérification de la LLoQ pour les sous-types et groupes de VIH-1	30
Précision	32
Substances endogènes et exogènes potentiellement interférentes	32
Performance avec des échantillons négatifs pour le VIH-1	34
Agents pathogènes potentiellement interférents	35
Reproductibilité des échantillons cliniques	36
Dilution d’échantillons à l’aide du diluant d’échantillon	37
Contamination de transfert	37
Performances cliniques	38
Validation de la quantification de la charge virale	38
Études de spécificité clinique	39
Études de sensibilité clinique	39
Positivité dans les échantillons sérodiscordants	40
Études de reproductibilité	42
Bibliographie	44

Renseignements généraux

Utilisation prévue

Le test Aptima® HIV-1 Quant Dx est un test d'amplification de l'acide nucléique *in vitro* conçu pour détecter et quantifier le virus de l'immunodéficience humaine de type 1 (VIH-1) à l'aide du système Panther® entièrement automatisé. Il est destiné à faciliter le diagnostic de l'infection par le VIH-1 au moyen d'algorithmes de tests appropriés pour le VIH-1. La présence de l'acide nucléique du VIH-1 dans le sérum ou le plasma de patients sans anticorps combattant le VIH-1 témoigne d'une primo-infection ou d'une infection en phase aiguë.

Le test Aptima HIV-1 Quant Dx peut également être utilisé en tant que test supplémentaire, en cas de réactivité, pour confirmer l'infection d'une personne dont les échantillons de plasma ou de sérum sont réactifs, et ce, au moyen d'un test approuvé avec indication à titre d'aide au diagnostic de l'infection au VIH-1.

Le test Aptima HIV-1 Quant Dx est destiné à être utilisé en association avec le tableau clinique et d'autres marqueurs biologiques pour déterminer le pronostic clinique et à servir d'outil de suivi de l'effet d'un traitement antirétroviral par la mesure des variations de la concentration en ARN du VIH-1 dans le plasma. Le test Aptima HIV-1 Quant Dx quantifie l'ARN du VIH-1 des groupes M, N et O sur une plage de 30 à 10 000 000 copies/mL. Une unité internationale équivaut à 0,35 copie de l'ARN du VIH-1 pour la 3^e norme internationale de l'OMS sur le VIH-1 (sous-type B, code NIBSC : 10/152).

Ce test n'est pas destiné à être utilisé comme test de dépistage du VIH-1 chez les donneurs. Les performances de ce test n'ont pas été évaluées aux fins d'utilisation chez les femmes enceintes et les enfants.

Résumé et explication du test

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

Des mesures quantitatives du VIH dans le sang périphérique ont montré qu'un taux de virus plus élevé peut être corrélé à un risque accru de progression clinique de la maladie associée au VIH, et qu'une réduction des taux de virus plasmatique peut être associée à une diminution du risque de progression clinique (23-25). Le taux de virus dans le sang périphérique peut être quantifié par un dosage de l'antigène sérique VIH p24, par une culture quantitative du VIH à partir du plasma ou par un dosage direct de l'ARN viral dans le plasma au moyen d'une amplification de l'acide nucléique ou de technologies d'amplification du signal (26-30).

Les techniques moléculaires comme l'amplification médiée par transcription (« transcription mediated amplification », TMA) ont été largement utilisées pour amplifier les acides nucléiques (31). La TMA utilise la capture de cibles spécifiques et l'amplification isotherme pour détecter des acides nucléiques dans de nombreux agents pathogènes infectieux dont la CT, la NG, le VPH, la trichomonase et le VIH/VHC/VHB aux fins de dépistage chez les donneurs de sang (32).

Le test Aptima HIV-1 Quant Dx est basé sur la technique de la TMA et utilise plusieurs longues amorces qui ciblent plusieurs régions du génome du VIH-1 afin de compenser le taux de mutation élevé du VIH-1. Le test comprend des systèmes d'amplification et de détection à double cible, ciblant deux régions du génome du VIH-1 (pol et LTR) de façon indépendante. Le logiciel de test ne calcule pas la moyenne des signaux des deux systèmes.

Le système à double cible du test Aptima est conçu pour augmenter les chances de détecter et de quantifier avec précision les échantillons.

Principes de la procédure

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

Pendant la capture de la cible, l'acide nucléique viral est isolé à partir des échantillons. L'échantillon est traité par un détergent afin de solubiliser l'enveloppe virale, dénaturer les protéines et libérer l'ARN génomique viral. Les oligonucléotides de capture s'hybrident à des régions hautement conservées du génome du VIH-1, si celui-ci est présent dans l'échantillon testé. La cible ainsi hybridée est ensuite capturée par des microparticules magnétiques qui sont séparées du reste de l'échantillon par application d'un champ magnétique. Plusieurs étapes de lavage permettent d'enlever les composants non désirés du tube réactionnel.

L'amplification de la cible se fait par TMA, qui est une méthode d'amplification de l'acide nucléique médiée par la transcription qui utilise deux enzymes, la transcriptase inverse MMLV (virus de la leucémie murine de Moloney) et la polymérase de l'ARN T7. La transcriptase inverse permet de générer une copie en ADN de la séquence cible (contenant une séquence de promoteur pour la polymérase de l'ARN T7). La polymérase de l'ARN T7 produit de multiples copies en ARN de l'amplicon à partir de la matrice en ADN. Le dosage Aptima HIV-1 Quant Dx a recours à la méthode TMA pour amplifier deux régions de l'ARN du VIH-1 (pol et LTR). Un signal indépendant est généré à partir de l'amplification de chacune des régions à l'aide d'amorces spécifiques conçues pour amplifier le VIH-1 de groupe M, N et O.


La détection de l'amplicon se déroule en temps réel par l'hybridation spécifique sur l'amplicon de torches moléculaires en acide nucléique à simple brin présentes pendant la phase d'amplification de chaque cible. Chaque torche moléculaire est munie d'un fluorophore et d'un suppresseur (« quencher »). Lorsque la torche moléculaire n'est pas hybridée à l'amplicon, le suppresseur se trouve proche du fluorophore et empêche l'émission de fluorescence. Lorsque la torche moléculaire s'hybride à l'amplicon, la distance entre le suppresseur et le fluorophore augmente et un signal est émis à une longueur d'onde spécifique après excitation par une source de lumière. L'intensité du signal fluorescent augmente avec le nombre de torches moléculaires hybridées à l'amplicon. La durée nécessaire pour que le signal fluorescent atteigne un seuil spécifique (« tTime ») est proportionnelle à la concentration initiale en VIH-1. Chaque réaction comprend un calibrateur interne/contrôle interne (« internal control », IC) qui permet de détecter les différences éventuelles de traitement, d'amplification et de détection des échantillons. La concentration en VIH-1 d'un échantillon est ensuite calculée par le logiciel du système Panther en utilisant les signaux obtenus (« tTimes ») pour l'amplification de la pol et de la LTR. Grâce à son algorithme et à la comparaison aux renseignements de calibration enregistrés, le logiciel du système Panther retourne un résultat unique, validé cliniquement pour chaque échantillon.

*Toutes les références au système Panther dans ce document s'appliquent au système Panther et au système Panther Fusion. Il n'y a aucun changement aux indications d'utilisation, d'étiquetage et de principes de fonctionnement du test Aptima HIV-1 Quant Dx dans le système Panther à la suite de l'ajout du module complémentaire Panther Fusion.

Avertissements et précautions

- A. Pour diagnostic *in vitro* seulement.
- B. Le test Aptima HIV-1 Quant Dx n'est pas destiné à être utilisé pour le dépistage du VIH-1 de donneurs de sang.
- C. Afin de réduire le risque d'obtention de résultats non valides, lire attentivement l'ensemble de la notice du test et le *Manuel de l'utilisateur du système Panther* (« Panther System Operator's Manual ») avant d'effectuer ce test.

Recommandations concernant les laboratoires

-  D. MISE EN GARDE : Les contrôles de ce test contiennent du plasma humain. Ce plasma est négatif pour l'antigène de surface de l'hépatite B (HBsAg), les anticorps contre le VHC, les anticorps contre le VIH-1 et le VIH-2 et l'antigène du VIH lorsque les tests ont été effectués selon les méthodes approuvées par la Food and Drug Administration des États-Unis. De plus, ce plasma est non réactif pour l'ARN du VHC et l'ARN du VIH-1 lorsque l'analyse se déroule sous forme de tests de détection de l'acide nucléique approuvés en utilisant des échantillons groupés. Tout produit dérivé du sang humain doit être considéré comme potentiellement infectieux et manipulé en appliquant les précautions universelles (33-35).
- E. Cette procédure ne doit être réalisée que par des membres du personnel dûment formés à l'utilisation du test Aptima HIV-1 Quant Dx et à la manipulation de produits potentiellement infectieux. En cas de projection, désinfecter immédiatement la zone affectée en suivant les procédures appropriées de l'établissement.
- F. N'utiliser que le matériel de laboratoire jetable fourni ou recommandé.
- G. Prendre les précautions de laboratoire habituelles. Ne pas pipetter avec la bouche. Ne pas manger, boire ou fumer dans les zones de travail désignées. Porter des gants jetables sans poudre, des lunettes de protection et des blouses de laboratoire pour manipuler les échantillons et les réactifs de la trousse. Bien se laver les mains après avoir manipulé les échantillons et les réactifs de la trousse.
- H. Les plans de travail, les pipettes et les autres matériels doivent être régulièrement décontaminés avec une solution d'hypochlorite de sodium de 2,5 % à 3,5 % (0,35 M à 0,5 M).
- I. Jeter tous les matériels ayant été au contact d'échantillons ou de réactifs selon la réglementation en vigueur au niveau local et national (33-36). Nettoyer et désinfecter soigneusement toutes les surfaces de travail.
- J. Les contrôles contiennent de l'azoture de sodium comme agent de conservation. Ne pas utiliser des tubes métalliques pour le transfert de réactifs. En cas d'élimination de solutions contenant de l'azoture de sodium par le système d'évacuation des eaux usées, veiller à les diluer et à faire couler d'importantes quantités d'eau en même temps. Il est conseillé de respecter ces précautions pour éviter toute accumulation de dépôts dans des canalisations en métal, laquelle pourrait favoriser le développement de conditions explosives.
- K. Les bonnes pratiques générales pour les laboratoires de biologie moléculaire visent la surveillance de l'environnement. La procédure suivante est suggérée pour surveiller l'environnement d'un laboratoire.

1. Se munir d'un écouvillon à embout cotonné et le faire correspondre au tube d'aliquote d'échantillon (« specimen aliquot tube », SAT) Aptima.
2. Étiqueter chaque SAT de manière appropriée.
3. Remplir chaque SAT avec 1 mL de diluant d'échantillon Aptima.
4. Pour recueillir des échantillons à partir des surfaces, humidifier légèrement un écouvillon avec de l'eau désionisée exempte de nucléases.
5. Passer l'écouvillon sur la surface d'intérêt en effectuant un mouvement vertical de haut en bas. Faire tourner l'écouvillon d'environ un demi-tour pendant le geste.
6. Introduire immédiatement l'échantillon sur écouvillon dans le tube et le faire tourner délicatement dans le diluant afin d'en extraire les matériels éventuellement prélevés. Presser l'écouvillon contre le bord du tube de transport pour en extraire le maximum de liquide. Jeter l'écouvillon et fermer le tube.
7. Répéter les mêmes étapes pour les autres échantillons sur l'écouvillon.
8. Analyser l'écouvillon à l'aide d'un test moléculaire.

Recommandations concernant les échantillons

- L. Les échantillons peuvent être infectieux. Respecter les précautions universelles (33-35) lors de la réalisation de ce test. Des méthodes appropriées de manipulation et d'élimination des déchets doivent être établies selon la réglementation locale en vigueur (36). Cette procédure ne doit être réalisée que par des membres du personnel dûment formés à l'utilisation du test Aptima HIV-1 Quant Dx et à la manipulation de produits infectieux.
- M. Observer des conditions de conservation adéquates pendant le transport des échantillons pour préserver leur intégrité. La stabilité des échantillons dans des conditions de transport autres que celles recommandées n'a pas été évaluée.
- N. Éviter toute contamination croisée lors des étapes de manipulation des échantillons. Veiller tout particulièrement à éviter toute contamination par diffusion d'aérosols lors du débouchage ou de l'ouverture des échantillons. Les échantillons peuvent contenir des taux d'organismes très importants. Veiller à éviter tout contact entre les récipients d'échantillons et à ne pas passer au-dessus d'un récipient ouvert en jetant le matériel usagé. Changer de gants en cas de contact avec l'échantillon.

Recommandations concernant les tests

- O. Les résultats quantitatifs du test Aptima HIV-1 Quant Dx ont été évalués sur du plasma. Il ne faut pas utiliser du sérum pour l'obtention de résultats quantitatifs. Les résultats qualitatifs ont été évalués sur du plasma et du sérum. L'utilisation de cette trousse de test avec des échantillons autres que ceux qui sont spécifiquement approuvés pour utilisation avec cette trousse peut entraîner des résultats inexacts.
- P. Le test Aptima HIV-1 Quant Dx a été validé cliniquement à l'aide de l'algorithme du logiciel du système Panther. Le résultat validé à signaler est fourni par le logiciel du système Panther dans l'écran Résultats (« Results ») et le rapport Résultats (« Results »).
- Q. Ne pas utiliser la trousse de réactifs, le calibrateur ou les contrôles après leur date de péremption.

- R. Ne pas échanger, mélanger ou combiner les réactifs de test provenant de trousse dont le numéro de lot de référence est différent. Les liquides de test peuvent être issus de lots dont le numéro est différent. Les contrôles et le calibrateur peuvent être issus de lots dont le numéro est différent.
- S. Éviter de contaminer les réactifs par des micro-organismes ou des nucléases.
- T. Fermer et stocker tous les réactifs de test à la température indiquée. Les performances du test peuvent être affectées par l'utilisation de réactifs de test stockés dans des conditions inappropriées. Pour de plus amples renseignements, consulter les sections *Conditions de conservation et manipulation des réactifset Procédure de test pour le système Panther*.
- U. Ne pas combiner de réactifs de test ou de liquides de test sans avoir obtenu des consignes spécifiques. Ne pas rajouter de réactif ou de liquide dans les flacons. Le système Panther vérifie le niveau des réactifs.
- V. Certains réactifs de cette trousse portent des étiquettes affichant des symboles de risque et de sécurité.

Remarque : Pour obtenir des renseignements sur les mentions de danger et de mise en garde qui pourraient être associées à ces réactifs, consulter la bibliothèque des fiches de données de sécurité (« Safety Data Sheet Library ») à l'adresse www.hologicsds.com.

**Contrôles de la trousse de CV de VIH**

Azoture de sodium 0,2 %
Plasma humain 95-100 %

**MISE EN GARDE**

EUH 032 – Au contact d'un acide, dégage un gaz extrêmement toxique.

H302 – Nocif en cas d'ingestion.

H312 – Nocif par contact cutané.

H402 – Nocif pour les organismes aquatiques.

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

P280 – Porter des gants/lunettes/vêtements/couvre-visage de protection.

P301 + P312 - EN CAS D'INGESTION : Contacter immédiatement un CENTRE ANTIPOISON ou un médecin en cas de malaise.

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

P362 + P364 – Enlever les vêtements contaminés et les laver avant de les réutiliser.

P302 + P352 - EN CAS DE CONTACT AVEC LA PEAU : Laver abondamment avec de l'eau et du savon.

P363 – Laver les vêtements contaminés avant réutilisation.

P501 – Éliminer le contenu et le contenant conformément aux réglementations locales, régionales, nationales et internationales.

Conditions de conservation et manipulation des réactifs

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

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

^a Une fois les réactifs enlevés du système Panther, ils doivent être immédiatement remis à leur température d'entreposage appropriée.

- B. Jeter tous les réactifs reconstitués et le réactif de capture de cible (« target capture reagent », TCR) non utilisés après 30 jours ou après la date de péremption du lot de référence, selon la première échéance.

- C. Les réactifs stockés dans le système Panther sont stables pendant 72 heures. Les réactifs peuvent être chargés sur le système Panther jusqu'à 5 fois. Le système Panther enregistre le nombre de chargements des réactifs.
- D. Après décongélation du calibrateur, la solution doit être transparente; c.-à-d. elle ne doit pas être trouble ou contenir des précipités.
- ⚠ E. Le réactif-promoteur et le réactif-promoteur reconstitué sont photosensibles. Protéger ces réactifs de la lumière lors de leur conservation et pendant la préparation avant de les utiliser.

Collecte et conservation des échantillons

Remarque : Manipuler tout échantillon comme s'il était susceptible de contenir des agents potentiellement infectieux. Appliquer les précautions universelles.

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

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

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

Pour les analyses quantitatives :

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

Pour les analyses qualitatives :

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

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

A. Collecte des échantillons

Le sang total peut être stocké entre 2 °C et 30 °C et doit être centrifugé dans les 24 heures suivant la collecte de l'échantillon. Séparer le plasma ou le sérum des globules rouges granulés en suivant les instructions du fabricant du tube utilisé. Le plasma ou le sérum peut être soit analysé directement par le système Panther dans le tube primaire, soit transféré dans un tube secondaire. Le volume minimum de plasma ou de sérum pour des tubes de collecte primaires est de 1 200 µL et de 700 µL pour les tubes secondaires, pour obtenir un volume de réaction de 500 µL.

Le tableau suivant précise les exigences de volume mort pour chaque type de tube primaire et secondaire :

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

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

B. Conditions de conservation des échantillons

1. Échantillons de plasma EDTA et ACD

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

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

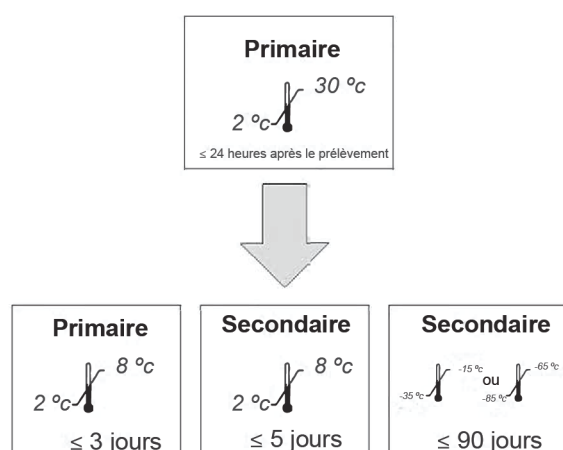


Figure 1. Conditions de conservation pour les tubes EDTA/ACD

2. Échantillons PPT

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

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

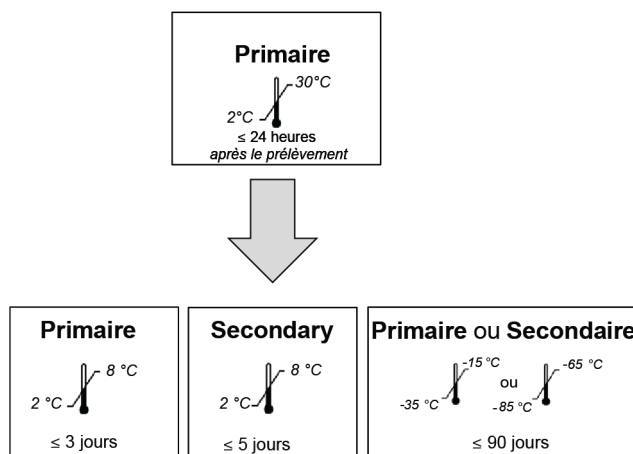


Figure 2. Conditions de conservation pour les tubes PPT

3. Échantillons dans des tubes sérologiques

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

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

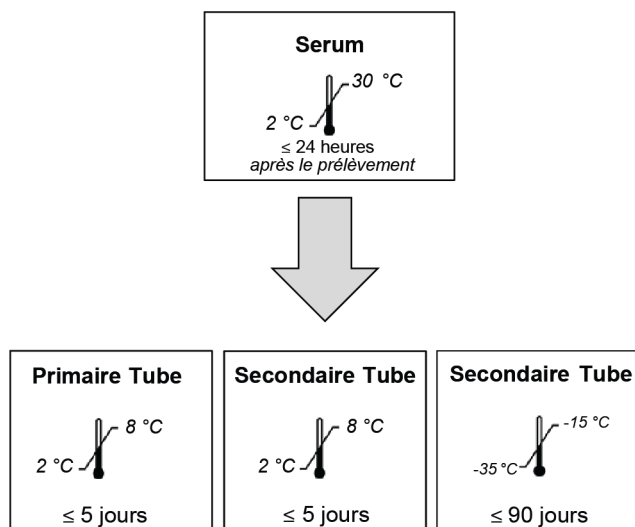


Figure 3. Conditions de conservation pour les tubes sérologiques

4. Échantillons dans des tubes SST

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

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

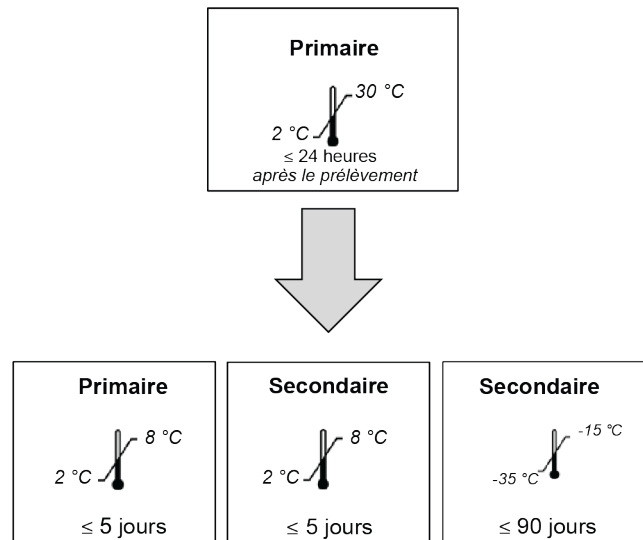


Figure 4. Conditions de conservation pour les tubes SST

C. Dilution d'échantillons de plasma

Un échantillon de plasma peut être dilué dans le tube SAT ou le tube secondaire avant d'être testé sur le système Panther. Pour de plus amples renseignements, consultez la section *Procédure de test pour le système Panther*, étape E. 6 ci-dessous.

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

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

Échantillons placés à bord du système Panther

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

Transport des échantillons

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

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

Système Panther

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

Réactifs et matériel fournis

Trousse pour le test Aptima HIV-1 Quant Dx, 100 tests, n° de réf. PRD-03565 (1 trousse de test, 1 trousse de calibration et 1 trousse de contrôles)

Il est possible de commander des contrôles et des calibrateurs supplémentaires séparément. Voir les numéros de référence respectifs ci-dessous.

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

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

Trousse de calibrateurs du test Aptima HIV-1 Quant Dx (n° de réf. PRD-03566)
(conserver entre -15 °C et -35 °C dès réception)

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

Trousse de contrôles Aptima HIV-1 Quant Dx (n° de réf. PRD-03567)
(conserver entre -15 °C et -35 °C dès réception)

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

Matériel requis mais disponible séparément

Remarque : Les numéros de références du matériel offert par Hologic sont indiqués, sauf spécification contraire.

Matériel	N° de réf.
Système Panther	—
Trousse pour séries de tests du système Panther – tests en temps réel seulement	PRD-03455 (5 000 tests)
<i>La trousse de liquides de test Aptima (également connu comme « Trousse de liquides Universel ») contient la solution de lavage Aptima, le tampon pour solution de désactivation Aptima et le réactif huileux Aptima</i>	303014 (1 000 tests)
<i>Unités multi-tubes (« Multi-Tube Unit », MTU)</i>	104772-02
<i>Assortiment de sacs pour déchets Panther</i>	902731
<i>Couvercle pour contenant à déchets Panther</i>	504405
Trousse pour séries du système Panther <i>(lors de la réalisation de tests TMA en temps différé parallèlement à des tests TMA en temps réel) contient des MTU, des sacs pour déchets, des couvercles pour contenant à déchets, détection automatique et des liquides pour tests</i>	303096 (5 000 tests)
Embouts, 1 000 µL conductifs, à détection de liquide	10612513 (Tecan)
Eau de Javel, solution d'hypochlorite de sodium dosée de 5 % à 7 % (0,7 M à 1,0 M)	—
Gants jetables sans poudre	—
Bouchons de rechange pour flacons de réactif <i>Flacons de reconstitution de réactif d'amplication, enzymatique et promoteur</i> <i>Flacon de TCR</i>	CL0041 (100 bouchons) CL0040 (100 bouchons)
Protection de paillasse de laboratoire à envers plastifié	—

Matériel	N° de réf.
Lingettes absorbantes non pelucheuses	—
Pipette	—
Embouts	—
Des tubes de collecte primaires (ACD, EDTA, PPT, SST, sérum) des dimensions suivantes peuvent être utilisés :	—
13 mm x 100 mm	—
13 mm x 75 mm	—
16 mm x 100 mm	—
Centrifugeuse	—
Agitateur-mélangeur vortex	—

Matériel optionnel

Matériel	N° de réf.
Des tubes secondaires des dimensions suivantes peuvent être utilisés :	—
12 mm x 75 mm	—
13 mm x 100 mm	—
16 mm x 100 mm	—
<i> Tubes d'aliquote d'échantillon Aptima (SAT) (100/paquet)</i>	503762
Bouchons pour tubes de transport (100/paquet)	504415
<i> Bouchons pour tubes SAT</i>	
Diluant d'échantillon Aptima	PRD-03503
Trousse de diluant d'échantillon Aptima	PRD-03654
<i> contient du diluant, 100 SAT et 100 bouchons</i>	
Pipettes de transfert	—
Panels disponibles dans le commerce, par exemple :	—
<i> panel VIH-1 de l'organisation Quality Control for Molecular Diagnostics (QCMD) ou</i>	
<i> panel de suivi de la charge virale VIH du College of American Pathologists (CAP) ou</i>	
<i> panels VIH ACCURUN de SeraCare</i>	
Écouvillons à embout cotonné	—
Agitateur de tubes	PRD-03488

Procédure de test pour le système Panther

Remarque : Consulter le Manuel de l'utilisateur du système Panther (« Panther System Operator's Manual ») pour de plus amples renseignements sur la procédure.

A. Préparation de la zone de travail

1. Nettoyer les plans de travail sur lesquels les réactifs seront préparés. Essuyer les plans de travail avec une solution d'hypochlorite de sodium de 2,5 % à 3,5 % (0,35 M à 0,5 M). Laisser la solution d'hypochlorite de sodium en contact avec les surfaces pendant au moins 1 minute, puis rincer avec de l'eau désionisée. Ne pas laisser sécher la solution d'hypochlorite de sodium. Couvrir la surface de la paillasse sur laquelle les réactifs et les échantillons seront préparés avec des protections de paillasse de laboratoire absorbantes propres à envers plastifié.

2. Nettoyer une surface de travail distincte pour la préparation des échantillons. Suivre la procédure décrite ci-dessus (étape A.1).
3. Nettoyer toutes les pipettes. Suivre la procédure décrite ci-dessus (étape A.1).

B. Préparation du calibrateur et des contrôles

Laisser le calibrateur et les contrôles atteindre une température entre 15 °C et 30 °C avant de poursuivre comme suit :

1. Enlever le calibrateur et les contrôles de leur lieu de conservation (entre -15 °C et -35 °C) et les laisser atteindre une température entre 15 °C et 30 °C. Tout au long de la décongélation, retourner délicatement chaque tube pour bien mélanger le contenu. S'assurer que le contenu des tubes est entièrement décongelé avant l'utilisation.

Option. Les tubes de calibrateur et des contrôles peuvent être mis dans un agitateur de tubes afin de bien mélanger leur contenu. S'assurer que le contenu des tubes est entièrement décongelé avant l'utilisation.

Remarque : Veiller à éviter toute formation excessive de mousse lorsque le calibrateur et les contrôles sont inversés. La mousse compromet la détection de niveaux par le système Panther.

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

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

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

1. Pour préparer le réactif de capture de cibles (« Target Capture Reagent », TCR), procéder comme suit :
 - a. Enlever le flacon de TCR de son lieu de conservation (2 °C à 8 °C). Vérifier 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. Agiter immédiatement le flacon de TCR vigoureusement (10 fois). Laisser le flacon de TCR se réchauffer pendant au moins 45 minutes pour atteindre une température entre 15 °C et 30 °C. Pendant cette période, faire tourner et retourner le flacon de TCR au moins toutes les 10 minutes.

Option. La préparation du flacon de TCR peut également s'effectuer à l'aide d'un agitateur de tubes. Dans ce cas, procéder comme suit : Enlever le flacon de TCR de son lieu de conservation (2 °C à 8 °C) et agiter immédiatement le flacon vigoureusement (10 fois). Placer le flacon de TCR sur un agitateur de tubes et laisser le flacon se réchauffer pendant au moins 45 minutes pour atteindre une température entre 15 °C et 30 °C.
 - c. S'assurer 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, procéder comme suit :
 - a. Enlever les réactifs lyophilisés et les solutions de reconstitution correspondantes de leur lieu de conservation (2 °C à 8 °C). Associer chaque solution de reconstitution à son réactif lyophilisé.
 - b. S'assurer que la couleur de l'étiquette de la solution de reconstitution correspond à celle du réactif lyophilisé. Vérifier les numéros de lot sur la fiche des codes à barres du lot de référence pour s'assurer que les réactifs appropriés sont appariés

- i. Ouvrir le flacon de réactif lyophilisé en enlevant la capsule métallique et le bouchon en caoutchouc.
 - ii. Insérer fermement l'extrémité à encoche du collet de reconstitution (noir) dans le flacon (Figure 5, étape 1).
 - iii. Ouvrir le flacon de solution de reconstitution correspondante et poser le bouchon sur une surface de travail propre et recouverte.
 - iv. Placer le flacon de solution de reconstitution sur une surface stable (p. ex. une paillasse). Retourner ensuite le flacon de réactif lyophilisé au-dessus du flacon de solution de reconstitution et fixer le collet solidement au flacon de la solution de reconstitution (Figure 5, étape 2).
 - v. Retourner 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. Soulever les flacons assemblés et les faire tourner pendant au moins 10 secondes (Figure 5, étape 4).
 - vii. Attendre au moins 30 minutes pour que le réactif lyophilisé se dissolve dans la solution.
 - viii. Une fois le réactif lyophilisé dissous, faire tourner les flacons assemblés pendant au moins 10 secondes puis faire balancer délicatement d'avant en arrière la solution dans le flacon en verre pour le mélanger complètement.
- c. Incliner lentement les flacons assemblés une autre fois 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. Enlever avec précaution le collet de reconstitution et le flacon en verre (Figure 5, étape 6).
 - e. Reboucher la bouteille. Inscrire les initiales du technicien de laboratoire et la date de reconstitution sur l'étiquette (Figure 5, étape 7).
 - f. Jeter le collet de reconstitution et le flacon en verre (Figure 5, étape 8).

Mise en garde : Éviter la formation excessive de mousse durant la reconstitution des réactifs. La mousse compromet la détection de niveaux par le système Panther.

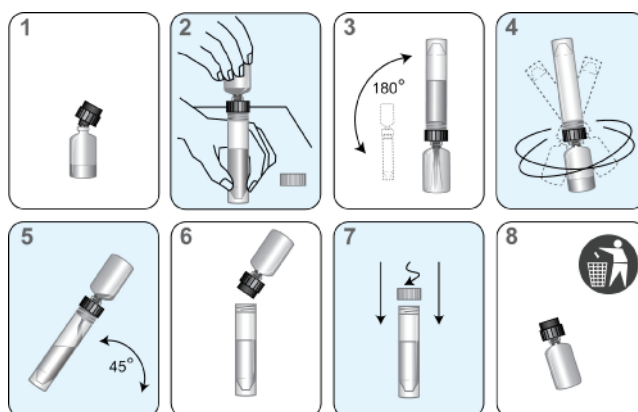


Figure 5. Processus de reconstitution des réactifs

D. Préparation des réactifs précédemment reconstitués

1. Enlever les réactifs précédemment reconstitués de leur lieu de conservation (2 °C à 8 °C).
2. Il faut laisser les réactifs d'amplification, enzymatique et promoteur précédemment reconstitués et le flacon de TCR atteindre une température entre 15 °C et 30 °C avant de commencer le test.
3. Pour le flacon de TCR précédemment préparé, effectuer l'étape C.1 ci-dessus avant de le charger sur le système.
4. Faire tourner et retourner les réactifs d'amplification, enzymatique et promoteur afin de les mélanger complètement avant de les charger sur le système. Éviter la formation excessive de mousse lors du retournement des réactifs.
5. Ne pas ajouter de réactif dans les flacons. Le système Panther reconnaît et rejette les flacons qui ont été remplis de nouveau.

E. Manipulation des échantillons

1. S'assurer que les échantillons traités dans les tubes primaires ou des échantillons non dilués dans les tubes secondaires ont été adéquatement entreposés selon la procédure décrite dans la section « Collecte et conservation des échantillons » à la page 9.
2. S'assurer que les échantillons congelés sont entièrement décongelés. Mélanger les échantillons décongelés dans l'agitateur-mélangeur vortex pendant 3 à 5 secondes afin de les mélanger complètement.
3. Laisser les échantillons atteindre une température entre 15 °C et 30 °C avant de les traiter. Pour de plus amples renseignements, consulter la section *Échantillons placés à bord du système Panther*.
4. S'assurer que chaque tube de collecte primaire contient au moins 1 200 µL d'échantillon ou que chaque tube SAT contient au moins 700 µL d'échantillon. Consulter le tableau de la section « Collecte et conservation des échantillons » à la page 9 pour connaître les exigences relatives au volume mort pour chaque type de tube primaire et secondaire. S'il est nécessaire de diluer un échantillon, consulter l'étape E.6 ci-dessous pour obtenir des renseignements supplémentaires.
5. Juste avant de charger les échantillons dans un portoir d'échantillons, centrifuger chaque échantillon entre 1 000 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 système Panther.

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

6. Diluer un échantillon de plasma à 1:3 dans le tube SAT ou à 1:100 dans un tube secondaire.

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

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

Remarque : *Dans le cas où un échantillon a été dilué, il doit être analysé immédiatement après la dilution.*

a. Dilution d'échantillons de faible volume

Le volume d'échantillons de plasma peut être augmenté afin d'atteindre le volume minimum requis (700 µL) à l'aide du diluant d'échantillon Aptima. Les échantillons

contenant au moins 240 µL de plasma peuvent être dilués en ajoutant deux volumes de diluant d'échantillon (1:3) comme suit :

- i. Verser 240 µL d'échantillon dans le tube SAT.
- ii. Ajouter 480 µL de diluant d'échantillon Aptima.
- iii. Fermer le tube.
- iv. Retourner délicatement 5 fois pour bien mélanger.

Les échantillons dilués à 1:3 peuvent être analysés à l'aide de l'option 1:3 du système Panther (pour de plus amples renseignements, consulter le Manuel de l'utilisateur du système Panther (« *Panther System Operator's Manual* »)). Le logiciel prend automatiquement en compte le facteur de dilution et produit le résultat correspondant. Ces échantillons sont signalés comme étant des échantillons dilués.

b. Dilution d'échantillons à titre élevé

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

- i. Verser 30 µL d'échantillon dans le tube SAT ou le tube secondaire.
- ii. Ajouter 2 970 µL de diluant d'échantillon Aptima.
- iii. Fermer le tube.
- iv. Retourner délicatement 5 fois pour bien mélanger.

Les échantillons dilués à 1:100 peuvent être analysés à l'aide de l'option 1:100 du système Panther (pour de plus amples renseignements, consulter le Manuel de l'utilisateur du système Panther (« *Panther System Operator's Manual* »)). Le logiciel prend automatiquement en compte le facteur de dilution et produit le résultat correspondant. Ces échantillons sont signalés comme étant des échantillons dilués.

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

F. Préparation du système

1. Configurer le système selon les instructions du Manuel de l'utilisateur du système Panther (« *Panther System Operator's Manual* ») et de la section *Remarques concernant la procédure*. Vérifier que des portoirs de réactifs et des adaptateurs pour flacons de TCR de taille appropriée sont utilisés.
2. Charger les échantillons dans un portoir d'échantillons. Effectuer les étapes suivantes pour chaque tube d'échantillon (échantillon et, s'il y a lieu, calibrateur et contrôles) :
 - a. Desserrer le bouchon d'un des tubes d'échantillon sans l'enlever.

Remarque : *Veiller tout particulièrement à éviter toute contamination par diffusion d'aérosols. Desserrer délicatement les bouchons des échantillons.*

- b. Charger le tube d'échantillon dans un portoir d'échantillons.
- c. Répéter les étapes 2.a et 2.b pour chaque échantillon restant.
- d. Une fois les échantillons chargés dans le portoir d'échantillons, retirer et jeter chaque capuchon de tube d'échantillon dans un des portoirs d'échantillons. Pour éviter toute contamination, ne pas passer les bouchons au-dessus d'autres portoirs d'échantillons ou de tubes d'échantillons.

- e. S'il y a lieu, utiliser une pipette de transfert neuve jetable pour éliminer les bulles et la mousse.
- f. Une fois le dernier bouchon retiré, charger le portoir d'échantillons dans le compartiment des échantillons.

Remarque : Si d'autres tests et types d'échantillons sont analysés en même temps, bien fixer en place le dispositif de rétention des échantillons avant de charger le portoir d'échantillons dans le compartiment des échantillons.

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

Remarques concernant la procédure

A. Calibrateur et contrôles

1. Le calibrateur qHIV-1 positif, les tubes de contrôle qHIV-1 positif faible, de contrôle qHIV-1 positif fort et de contrôle qHIV-1 négatif peuvent être chargés dans n'importe quelle position dans le portoir d'échantillons et dans n'importe quelle rangée du compartiment des échantillons du système Panther. Le pipetage des échantillons commence quand l'une des deux conditions suivantes est satisfaite :
 - a. Le calibrateur et les contrôles sont en cours de traitement par le système.
 - b. Les résultats valides du calibrateur et des contrôles sont enregistrés sur le système.
2. Une fois que le calibrateur et les tubes de contrôles ont été pipetés et sont traités avec la trousse de réactifs Aptima HIV-1 Quant Dx, alors des échantillons peuvent être testés avec la trousse reconstituée y associée pendant un délai maximal de 24 heures, **à moins que** :
 - a. les résultats du calibrateur ou des contrôles soient non valides;
 - b. la trousse de réactifs de test associé soit retiré du système;
 - c. la trousse de réactifs de test ait dépassé les limites de stabilité.
3. Le calibrateur et chaque tube de contrôle ne peuvent être utilisés qu'une seule fois. Les tentatives d'utiliser le tube plus d'une fois peuvent entraîner des erreurs de traitement.

B. Gants poudrés

Comme avec tout système de réactif, l'excès de poudre sur certains gants peut entraîner la contamination des tubes ouverts. Il est recommandé de porter des gants sans poudre.

Assurance de la qualité

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

Calibration du test

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

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

Contrôles négatifs et positifs

Afin d'obtenir des résultats valides, un jeu de contrôles du test doit être analysé. Un répliquat du contrôle négatif, du contrôle positif faible et du contrôle positif fort doit être analysé chaque fois qu'une trousse de réactifs est chargée sur le système Panther. Une fois validés, les contrôles sont valables pendant 24 heures. Le logiciel du système Panther avertit le technicien lorsque des contrôles sont nécessaires.

Le logiciel du système Panther vérifie automatiquement les critères d'acceptation des contrôles durant de leur traitement. Afin d'obtenir des résultats valides, le résultat du contrôle négatif doit être « Non détecté », et les résultats des contrôles positifs doivent correspondre à des paramètres prédéfinis (Cible LPC : $\sim 3 \log_{10} \text{ c/mL}$, cible HPC : $\sim 5 \log_{10} \text{ c/mL}$). Si un résultat non valide est généré pour l'un des contrôles, alors le logiciel invalide automatiquement la série de tests. Les échantillons d'une série de tests invalidée doivent être analysés à nouveau avec un calibrateur et des contrôles fraîchement préparés.

Calibrateur interne/contrôle interne

Chaque échantillon contient un calibrateur interne/contrôle interne (CI). Le logiciel du système Panther vérifie automatiquement les critères d'acceptation du CI durant le traitement. Si un résultat du CI est non valide, alors le logiciel invalide automatiquement le résultat de l'échantillon. Chaque échantillon dont le résultat du CI est non valide doit être analysé à nouveau afin d'obtenir un résultat valide. Le logiciel du système Panther est conçu pour vérifier avec précision les processus lorsque les procédures sont effectuées suivant les instructions fournies dans la présente notice et le Manuel de l'utilisateur du système Panther (« *Panther System Operator's Manual* »).

Interprétation des résultats

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

Le système Panther® détermine automatiquement la concentration en ARN du VIH-1 dans les échantillons et les contrôles en comparant les résultats à une courbe de calibration. Les concentrations en ARN du VIH-1 sont présentées en copies/mL et en log₁₀ copies/mL. L'interprétation des résultats est présentée dans le Tableau 1. Le test Aptima HIV-1 Quant Dx dispose de systèmes d'amplification et de détection à double cible, ciblant la pol et la LTR de façon indépendante. Le résultat signalé par le système sera basé sur le système primaire, la pol, à moins que la pol ne soit pas amplifiée. Dans ces cas, le système signalera le résultat du système secondaire, la LTR.

Si la dilution 1:3 ou 1:100 est utilisée pour des échantillons dilués, le système Panther calcule automatiquement la concentration en VIH-1 pour l'échantillon non dilué en multipliant les résultats obtenus avec la concentration diluée par le facteur de dilution, et les échantillons dilués sont signalés comme étant dilués.

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

Le système Panther ne génère pas de résultats qualitatifs (c.-à-d. « réactifs » ou « non réactifs ») à des fins diagnostiques. Le technicien doit interpréter la concentration en ARN du VIH-1 rapportée pour en tirer un résultat qualitatif (Tableau 1). Les échantillons dont les résultats sont signalés comme « non détectés » sont non réactifs pour l'ARN du VIH-1. Les résultats d'échantillons signalés comme « <30 détectés » ou qui se situent au sein de la plage linéaire, ou au-dessus, indiquent que de l'ARN du VIH-1 a été détecté et que ces échantillons sont réactifs pour l'ARN du VIH-1.

Tableau 1: Interprétation des résultats

Résultat signalé du test Aptima HIV-1 Quant Dx		Interprétation de la concentration en ARN du VIH-1	Interprétation qualitative à des fins diagnostiques ^c
Copies/mL ^a	Valeur log ₁₀ ^b		
Non détecté	Non détecté	ARN du VIH-1 non détecté.	Non réactif pour l'ARN du VIH-1
<30 détectées	<1,47	L'ARN du VIH-1 est détecté, mais possède une concentration inférieure à la LLoQ.	Réactif pour l'ARN du VIH-1
30 à 10 000 000	1,47 à 7,00	La concentration en ARN du VIH-1 se situe dans la plage linéaire de 30 à 10 000 000 copies/mL.	Réactif pour l'ARN du VIH-1
>10 000 00	>7,00	La concentration en ARN du VIH-1 est supérieure à limite supérieure de quantification (ULoQ).	Réactif pour l'ARN du VIH-1
Non valide ^d	Non valide ^d	Une erreur est survenue lors de la génération du résultat. L'échantillon doit être analysé de nouveau.	Non valide ^d

Tableau 1: Interprétation des résultats

^a Le facteur de conversion pour transposer les copies en unités internationales (UI) conformément à la 3^e norme internationale pour l'ARN du VIH-1 (10/152) est de 0,35 copie/UI.

^b Valeur arrondie à deux décimales.

^c Aucune interprétation diagnostique ne doit être formulée à partir d'un résultat « non réactif » pour les échantillons dilués. Il faut alors obtenir un nouvel échantillon non dilué et refaire le test.

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

Une fois que les résultats sont affichés à l'écran « Results » (Résultats), la valeur de quantification de chaque cible est accessible à l'aide de la fonction « Sample Curve Report » (Rapport de courbe d'échantillonnage) du logiciel du système Panther. Pour afficher les valeurs et les courbes d'amplification, sélectionner « Sample ID » (ID de l'échantillon) pour l'échantillon dans l'écran « Résultats » (« Results ») du logiciel du système Panther. Sélectionner ensuite le bouton « Curve Data » (Données de la courbe). Une fenêtre s'affiche qui présente le « Sample Curve Report » (Rapport de la courbe d'échantillonnage), qui comprend les profils de fluorescence et les valeurs de quantification de l'échantillon.

Remarque : Les données obtenues à partir du rapport sur la courbe d'échantillonnage sont fournies à titre informatif seulement (p. ex. dépannage et vérification de la courbe). Le résultat validé à signaler pour l'échantillon est fourni par le logiciel du système Panther dans l'écran « Results » (Résultats) et le rapport intitulé « Results » (Résultats).

Remarque : Consulter le Manuel de l'utilisateur du système Panther pour obtenir des instructions supplémentaires concernant le fonctionnement du système Panther.

Limites

- A. L'utilisation de ce test est limitée au personnel ayant été formé à la procédure. Le non-respect des instructions figurant dans cette notice de test peut donner lieu à des résultats erronés.
- B. L'obtention de résultats fiables repose sur la collecte, le transport, le stockage et le traitement appropriés des échantillons.
- C. Ce test a été validé en tant que test quantitatif avec du plasma humain uniquement.
- D. Ce test a été validé en tant que test qualitatif avec du plasma et du sérum humains.
- E. Bien que rares, des mutations au sein des régions hautement conservées du génome viral visées par les amorces et/ou les sondes du test Aptima HIV-1 Quant Dx peuvent aboutir à une sous-quantification ou à une absence de détection du virus.

Performances non cliniques

Limite de détection (LoD) au moyen de la 3^e norme internationale de l'OMS pour le VIH-1

D'après le protocole EP17-A2 du CLSI (37), la limite de détection (LoD) est définie comme la concentration en ARN du VIH-1 dont la probabilité de détection est égale ou supérieure à 95 %. La LoD a été déterminée en analysant des panels comprenant des dilutions selon la 3^e norme internationale de l'OMS pour le VIH-1 (sous-type B, code NIBSC : 10/152) dans du plasma et du sérum EDTA négatifs pour le VIH-1. Trente (30) réplicats de chaque dilution ont été analysés sur 3 systèmes Panther au moyen de 3 lots de réactifs, soit un total de 90 réplicats pour chaque dilution. Selon le protocole EP17-A2 du CLSI, les limites de détection (LoD) ont été définies à partir des résultats pour le lot de réactifs avec la concentration la plus élevée pour la limite de détection (LoD) estimée et sont présentées dans le Tableau 2. Par analyse Probit, il a été déterminé que la LoD estimée à 95 % pour le test Aptima HIV-1 Quant Dx était de 12 copies/mL (35 UI/mL) dans le plasma et de 8,9 copies/mL (25 UI/mL) dans le sérum (0,35 copie = 1 UI).

Tableau 2: Limite de détection du test Aptima HIV-1 Quant Dx déterminée selon la 3^e norme internationale de l'OMS pour le VIH-1

Limite de détection estimée	Plasma		Sérum	
	Concentration (copies/mL)	Concentration (UI/mL)	Concentration (copies/mL)	Concentration (UI/mL)
10 %	1,2	3,3	0,8	2,2
20 %	1,6	4,6	1,1	3,1
30 %	2,0	5,7	1,4	4,0
40 %	2,5	7,2	1,7	4,9
50 %	3,1	8,8	2,1	5,9
60 %	3,8	11	2,5	7,2
70 %	4,8	14	3,1	8,9
80 %	6,2	18	4,0	11
90 %	9,0	26	5,8	17
95 %	12,1	35	8,9	26

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

Six panels positifs et 1 panel négatif ont été créés pour le VIH-1 de groupe M (sous-types A, C, D, F, G, CRF01_AE, CRF02_AG) et les groupes N et O en ajoutant du virus VIH-1 cultivé ou des échantillons cliniques positifs à du plasma et à du sérum humains EDTA négatifs pour le VIH-1 (0 à 40 copies/mL). Trente (30) réplicats de chaque échantillon de panel ont été analysés avec 2 lots de réactifs, soit un total de 60 réplicats par échantillon de panel.

L'attribution de la concentration des échantillons cliniques ou des stocks de virus cultivés a été déterminée à l'aide d'un test comparatif. Une analyse Probit a été menée afin de générer des limites de détection estimées à 50 % et à 95 %. Selon le protocole EP17-A2 du CLSI (37), les LoD ont été définies en utilisant les résultats du lot de réactifs ayant la concentration la plus élevée pour la limite de détection estimée définie comme LoD ainsi qu'il est indiqué dans le Tableau 3.

Tableau 3: Limite de détection pour divers sous-types et groupes du VIH-1

Sous-type/Groupe	Limite de détection estimée	Plasma	Sérum
		Concentration (copies/mL)	Concentration (copies/mL)
A	50 %	3,0	5,2
	95 %	12,3	15,7
CRF01_AE	50 %	1,8	4,8
	95 %	6,2	19,0
CRF02_AG	50 %	3,4	3,5
	95 %	15,4	19,4
C	50 %	2,0	4,2
	95 %	10,7	19,4
D	50 %	3,7	4,0
	95 %	14,0	24,8
F	50 %	2,1	5,0
	95 %	8,3	18,3
G	50 %	3,1	2,2
	95 %	17,5	7,9
N	50 %	1,2	1,2
	95 %	7,8	7,8
O	50 %	1,8	8,4
	95 %	8,0	31,5

Plage linéaire

La plage linéaire du test Aptima HIV-1 Quant Dx a été établie conformément au protocole EP06-A du CLSI (38) en analysant des panels comprenant un virus du VIH-1 de sous-type B cultivé et dilué dans du plasma humain EDTA négatif pour le VIH-1. La concentration des panels allait de 1,30 à 7,30 \log_{10} copies/mL. Les tests ont été effectués sur sept systèmes Panther avec deux lots de réactifs. Comme illustré dans la Figure 6, la linéarité du test Aptima HIV-1 Quant Dx a été démontrée sur l'ensemble de la plage de concentrations testée.

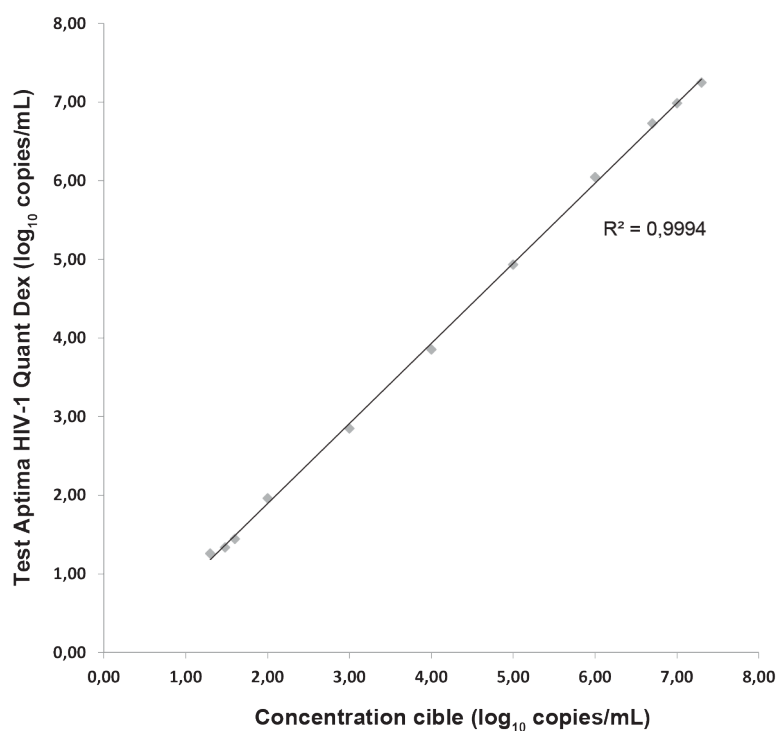


Figure 6. Linéarité du test Aptima HIV-1 Quant Dx

Linéarité pour les sous-types et groupes de VIH-1

La linéarité de la réponse du test Aptima HIV-1 Quant Dx pour le groupe M (sous-types A, B,C, D, F, G, H, CRF01_AE) et les groupes N et O a été confirmée par l'analyse de panels contenant du transcrit VIH-1 dilué dans un tampon à des concentrations allant de 2,00 à 6,70 \log_{10} copies/mL. Les tests ont été effectués sur quatre systèmes Panther en six séries. La linéarité a été démontrée sur l'ensemble de la plage de concentrations testée (Figure 7).

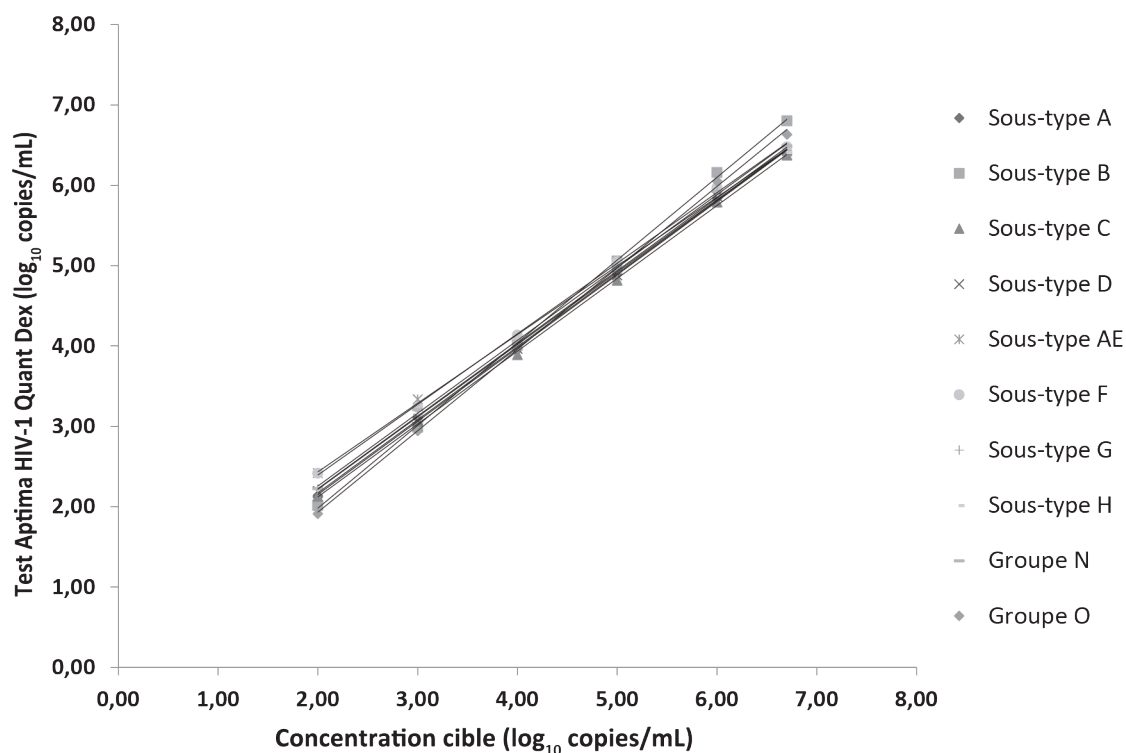


Figure 7. Linéarité pour le groupe M (sous-types A, B, C, D, F, G, H, CRF01_AE) et les groupes N et O

Détermination de la limite inférieure de quantification au moyen de la 3^e norme internationale de l'OMS pour le VIH-1

D'après le protocole EP17-A2 du CLSI (37), la limite inférieure de quantification (LLOQ) est définie comme la concentration la plus faible à laquelle la quantification de l'ARN du VIH-1 est fiable d'après le calcul d'une erreur totale (ET). L'erreur totale a été calculée à l'aide du modèle Westgard ($ET = |\text{biais}| + 2 \text{ SD}$)*. Afin d'assurer l'exactitude et la précision des mesures, l'ET du test Aptima HIV-1 Quant Dx était fixée à 1 \log_{10} copies/m : (c.-à-d. qu'à la LLOQ, la différence entre deux mesures de plus de 1 \log_{10} copies/mL est statistiquement significative).

La LLOQ a été déterminée en analysant des panels comprenant des dilutions de la 3^e norme internationale de l'OMS pour le VIH-1 (sous-type B, code NIBSC : 10/152) dans du plasma humain EDTA négatif pour le VIH-1. Conformément au protocole EP17-A2 du CLSI, les tests ont été effectués avec 3 lots de réactifs avec 30 réplicats pour chaque lot en 23 séries. Les résultats sont présentés dans le Tableau 4. La LLOQ la plus élevée pour les 3 lots testés sur le test Aptima HIV-1 Quant Dx selon la 3^e norme internationale de l'OMS pour le VIH-1 était de 15 copies/mL (1,17 \log_{10} copie/mL) (Tableau 5).

*SD = standard deviation (écart-type)

Tableau 4: Détermination de la LLOQ du test Aptima HIV-1 Quant Dx au moyen de la 3^e norme internationale de l'OMS pour le VIH-1

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

SD = standard deviation (écart-type); ET = erreur totale

Tableau 5: Résumé des LLoQ obtenues au moyen de la 3^e norme internationale de l'OMS pour le VIH-1 (3 lots de réactifs)

Lot de réactifs	LLoQ (log ₁₀ copies/mL)	LLoQ (copies/mL)
1	0,94	8,7
2	1,17	15
3	0,98	9,5

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

La LLoQ a été vérifiée pour les sous-types et groupes du VIH-1 conformément au protocole EP17-A2 du CLSI (37). Des panels ont été créés pour le VIH-1 de groupe M (sous-types A, B, C, D, F, G, CRF01_AE, CRF02_AG) et des groupes N et O en ajoutant des échantillons cliniques naturellement infectés ou des isolats cliniques à du plasma humain groupé EDTA négatif pour le VIH-1. Les tests comprenant un total de 30 réplicats par échantillon de panel. Les données présentées dans le Tableau 6 indiquent la concentration la plus faible pour chaque sous-type ou groupe pour laquelle l'ET était inférieure à 1 log₁₀ copies/mL. Pour tous les sous-types et groupes testés, la LLoQ la plus élevée était de 30 copies/mL; cette valeur élevée a donc été retenue comme la LLoQ pour le test Aptima HIV-1 Quand Dx.

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

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

Précision

Afin d'évaluer la précision du test Aptima HIV-1 Quant Dx, un panel qui a été constitué en ajoutant du VIH-1 de sous-type B cultivé à du plasma EDTA négatif pour le VIH-1 a été testé par 3 techniciens avec 3 lots de trousse de réactifs sur 3 systèmes Panther sur une période de 20 jours (Tableau 7). Ce panel était composé de 1 échantillon négatif pour le VIH-1 et de 8 échantillons positifs pour le VIH-1. L'attribution de la concentration des échantillons cliniques ou des stocks de virus cultivés a été déterminée à l'aide d'un test comparatif.

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

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

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

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

Remarque : La variabilité de certains facteurs peut être numériquement négative, ce qui peut survenir si la variabilité due à ces facteurs est très minime. Lorsque cela se produit, le SD = 0 et le CV = 0 %. Au total, 162 répliquats ont été testés pour chaque panel; seuls les répliquats ayant une valeur numérique ont été analysés.

Substances endogènes et exogènes potentiellement interférentes

La susceptibilité du test Aptima HIV-1 Quant Dx aux interférentes générées par des taux élevés de substances endogènes et de médicaments fréquemment prescrits chez les personnes infectées par le VIH-1 a été évaluée. Des échantillons de plasma humain EDTA négatifs pour le VIH-1 et des échantillons auxquels a été ajouté de l'ARN du VIH-1 à une concentration de 3 log₁₀ copies/mL ont été testés.

Aucune altération des performances du test Aptima HIV-1 Quant Dx n'a été observée en présence d'albumine (90 mg/mL), d'hémoglobine (5 mg/mL), de triglycérides (30 mg/mL) ou de bilirubine non conjuguée (0,2 mg/mL).

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

Tableau 8: Substances exogènes

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

Les échantillons de plasma EDTA cliniques présentés dans le Tableau 9 et prélevés chez des patients présentant des taux élevés de ces substances ou chez des patients souffrant de maladies citées dans le tableau ont été analysés avec le test Aptima Test HIV-1 Quant Dx en la présence et l'absence de l'ARN du VIH-1 à une concentration de 3 log₁₀ copies/mL. Aucune altération des performances n'a été observée.

Tableau 9: Types d'échantillon clinique testés

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

Performance avec des échantillons négatifs pour le VIH-1

La spécificité du test Aptima HIV-1 Quant Dx a été déterminée à l'aide de 120 échantillons de plasma négatifs pour le VIH-1 frais et 510 échantillons de plasma négatifs pour le VIH-1 congelés. Selon les résultats de l'ensemble des 630 échantillons, l'ARN du VIH-1 n'a pas été détecté (spécificité de 100 %; IC à 95 %). 99,4-100 %).

Tableau 10: Spécificité dans les échantillons de plasma

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

IC = intervalle de confiance

Agents pathogènes potentiellement interférents

La réactivité croisée potentielle du test Aptima HIV-1 Quant Dx avec des agents pathogènes (Tableau 11) a été évaluée en la présence ou l'absence de l'ARN du VIH-1 à $3 \log_{10}$ copies/mL dans du plasma humain négatif pour le VIH-1. Aucune altération des performances du test n'a été observée en présence des agents pathogènes.

Tableau 11: Agents pathogènes testés pour la réactivité croisée

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

^aPFU/mL = unités de formation de plaques par mL.

^bUI/mL = unités internationales par mL.

^cpv/ml = particules virales par mL.

^dUFC/mL = unités de formation de colonies par mL.

^eIFU/mL = unités de formation d'inclusions par mL.

Reproductibilité des échantillons cliniques

Trois (3) réplicats de 10 échantillons cliniques de plasma EDTA et 10 échantillons de sérum ont été testés au moyen du test Aptima HIV-1 Quant Dx. La concentration moyenne et l'écart-type (SD) sont présentés dans les Tableaux 12 et 13.

Tableau 12: Reproductibilité des échantillons cliniques de plasma

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

*SD = standard deviation (écart-type)

Tableau 13: Reproductibilité des échantillons cliniques de sérum

Échantillon	Sérum	
	Concentration moyenne (log ₁₀ copies/mL)	SD
1	1,68	0,10
2	2,44	0,19
3	3,08	0,03
4	3,37	0,06
5	4,05	0,04
6	4,55	0,06
7	5,06	0,04
8	5,49	0,05
9	6,28	0,02
10	6,79	0,04

*SD = standard deviation (écart-type)

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

Afin d'évaluer la dilution d'échantillons, un panel composé de 11 échantillons à des concentrations couvrant l'ensemble de la plage linéaire du test Aptima HIV-1 Quant Dx et composé de 2 échantillons dont la concentration était supérieure à la limite supérieure de quantification (ULoQ) du test ont été analysés à l'état non dilué et dilué (1:3 ou 1:100 dans du diluant d'échantillon) en triplicat (Tableau 14).

Tableau 14: Dilution d'échantillons

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

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

^b Échantillon enrichi.

^c Tous les résultats > 7,00 log₁₀ copies/mL ont été estimés au moyen d'une analyse supplémentaire.

Contamination de transfert

Afin d'établir que le système Panther réduit au minimum le risque de résultats faussement positifs par contamination de transfert, une étude analytique à plusieurs séries de tests a été menée sur deux systèmes Panther avec des échantillons enrichis. La contamination par transfert a été évaluée au moyen d'échantillons à titre élevé enrichis en VIH-1 (7 log₁₀ copies/mL) répartis entre des échantillons négatifs pour le VIH-1 selon un motif en damier. Les tests ont comporté un ensemble de cinq séries. Le taux de contamination de transfert global était de 0 % (n = 469).

Performances cliniques

Validation de la quantification de la charge virale

La quantification de l'ARN du VIH-1 a été comparée entre le test Aptima HIV-1 Quant Dx et un test de comparaison approuvé par la FDA. La comparaison comprenait l'analyse d'échantillons de plasma EDTA cliniques (conservés frais ou congelés) et d'échantillons préparés (échantillons de plasma clinique négatifs enrichis de virus cultivé). Chaque échantillon a été testé en duplicat au moyen du test Aptima HIV-1 Quant Dx et du test comparatif. Le test Aptima HIV-1 Quant Dx a été effectué dans 3 sites externes, et chaque site a utilisé 3 lots de trousse de réactifs. Les tests comparatifs ont été effectués dans 1 laboratoire externe.

Les résultats de 628 échantillons (dans la plage linéaire des deux types de tests) ont été analysés au moyen du modèle de régression de Deming. Parmi ces échantillons, 82 étaient des échantillons cliniques conservés frais (jamais congelés) avant d'être testés au moyen du test Aptima HIV-1 Quant Dx et du test comparatif. La Figure 8 montre les résultats de l'analyse de régression de Deming ($y = -0,03 + 1,04x$).

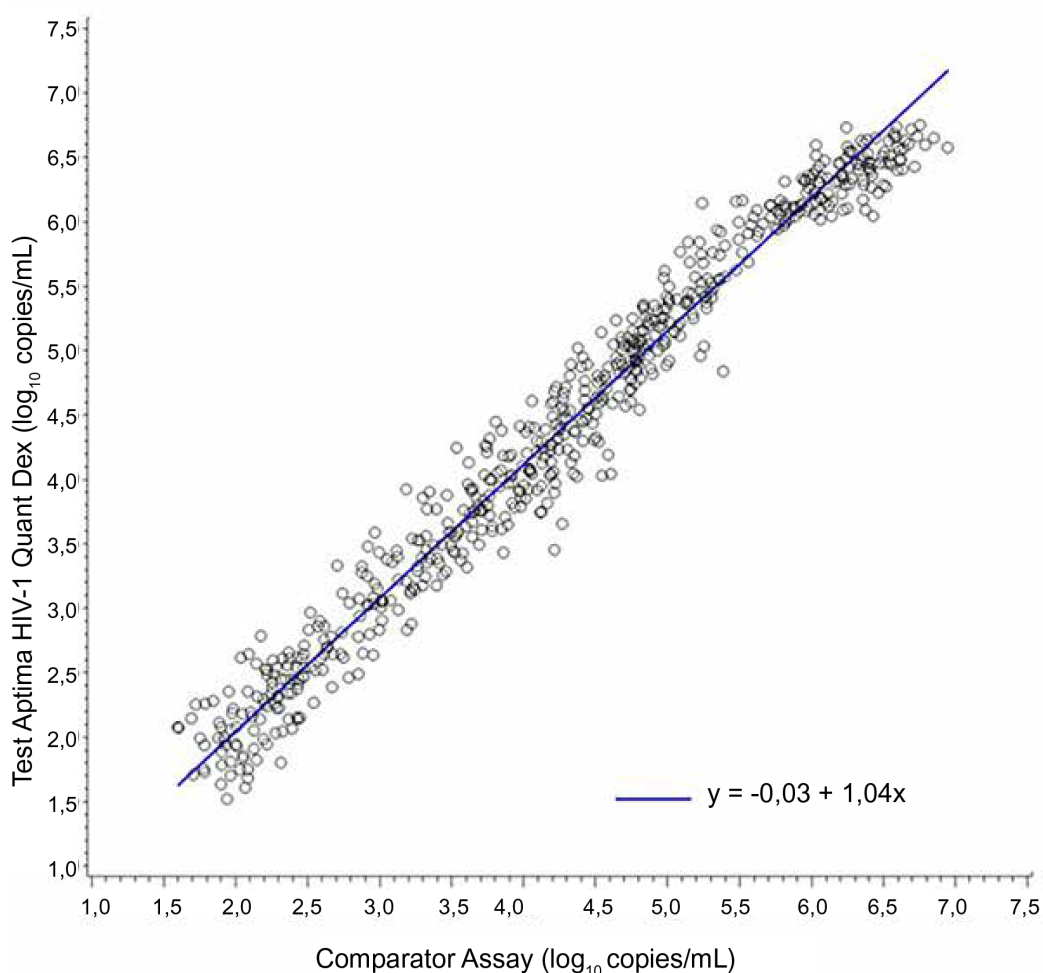


Figure 8. Corrélation entre le test Aptima HIV-1 Quant Dx Assay et le test comparatif

Études de spécificité clinique

Spécificité clinique dans les échantillons négatifs pour le VIH-1

Des échantillons de plasma EDTA négatifs pour le VIH-1 congelés antérieurement et obtenus auprès de donneurs volontaires de sang total ont été analysés au moyen du test Aptima HIV-1 Quant Dx. Les tests ont été effectués avec 3 lots de trousse de réactifs dans 3 sites externes. La spécificité clinique a été calculée comme le pourcentage d'échantillons négatifs pour le VIH-1 affichant un résultat « non détecté ». Six cents (600) échantillons de plasma négatifs pour le VIH-1 ont été testés, et l'ARN du VIH-1 n'a été détecté dans aucun de ces 600 échantillons. La spécificité des échantillons de plasma négatifs était de 100 % (600/600, IC à 95 % : 99,4 % à 100 %).

Spécificité clinique dans la population à faible risque

Les échantillons congelés antérieurement et prélevés chez un groupe de personnes ayant, pour la première fois, fait un don de sang, ainsi que chez un autre groupe ayant fait un don de substances autres que du sang et présentant un faible risque d'infection par le VIH-1, ont été testés au moyen du test Aptima HIV-1 Quant Dx. Les tests ont été effectués avec 1 lot de trousse de réactifs dans 1 site externe. La spécificité clinique a été calculée en comparant les résultats du test Aptima HIV-1 Quant Dx aux résultats d'un test d'amplification de l'acide nucléique (« nucleic acid amplification », NAT) homologué par la FDA.

Le Tableau 15 illustre la spécificité du test Aptima HIV-1 Quant Dx dans une population à faible risque par type d'échantillon.

Tableau 15: Spécificité clinique du test Aptima HIV-1 Quant Dx dans une population à faible risque par type d'échantillon.

Type d'échantillon	n	VP	FP	VN	FN	% de spécificité (IC à 95 %) ^a
Tous	911	4	3	902	2	99,7 (99,0, 99,9)
Sérum	304	1	2 ^b	300	1	99,3 (97,6, 99,9)
Plasma	607	3	1	602	1	99,8 (99,1, 100)

IC = intervalle de confiance, FN = faux négatif, FP = faux positif, VN = vrai négatif, VP = vrai positif

^aIC Clopper-Pearson

^bUn (1) de 2 échantillons de sérum ayant obtenu un résultat faussement positif s'est avéré positif lorsque ces échantillons ont été testés à l'aide d'un immunodosage combiné de 4^e génération d'antigènes/anticorps du VIH-1/VIH-2, approuvé par la FDA.

Études de sensibilité clinique

Sensibilité clinique dans les échantillons positifs pour le VIH-1

Des échantillons positifs pour le VIH-1 congelés antérieurement ont été testés au moyen du test Aptima HIV-1 Quant Dx. Les tests ont été effectués avec 2 lots de trousse de réactifs dans 3 sites, dont 2 sites externes.

Le Tableau 16 illustre la sensibilité du test Aptima HIV-1 Quant Dx dans des échantillons positifs par type d'échantillon.

Tableau 16: Sensibilité clinique du test Aptima HIV-1 Quant Dx dans des échantillons positifs par type d'échantillon.

Type d'échantillon	n	VP	FN	% de sensibilité (IC à 95 %) ^a
Tous	1572	1565	7	99,6 (99,1, 99,8)
Sérum	524	520	4	99,2 (98,1, 99,8)
Plasma	1048	1045	3	99,7 (99,2, 99,9)

IC = intervalle de confiance, FN = faux négatif, VP = vrai positif

^aIC Clopper-Pearson

Sensibilité clinique dans la population à risque élevé

Des échantillons prélevés de manière prospective auprès de personnes à risque élevé d'infection par le VIH-1 ont été analysés à l'aide du test Aptima HIV-1 Quant Dx. Les tests ont été effectués avec 1 lot de trousse de réactifs dans 3 sites, dont 2 sites externes. La sensibilité clinique a été calculée en comparant les résultats du test Aptima HIV-1 Quant Dx aux résultats d'un test de NAT homologué par la FDA.

Parmi les 498 échantillons évaluables, 332 étaient des échantillons de plasma, et 166 étaient des échantillons de sérum. La sensibilité clinique était de 100 % (1/1, IC à 95 % : 20,7 % à 100 %) dans les échantillons de sérum. La sensibilité n'a pas pu être évaluée dans les échantillons de plasma puisqu'aucun échantillon ayant des résultats de dosage vrai positif ou faux négatif n'a été observé.

Positivité dans les échantillons sérodiscordants

Des échantillons sérodiscordants (c.-à-d., réactifs à répétition sur un immunodosage initial du VIH homologué par la FDA, et indéterminés ou négatifs sur un immunodosage supplémentaire) qui ont été congelés antérieurement et obtenus auprès de donneurs de sang et de donneurs de substances autres que du sang ont été analysés à l'aide du test Aptima HIV-1 Quant Dx. Parmi les 473 échantillons évaluables, 76 ont été sélectionnés dans des groupes de séroconversion. Les tests ont été effectués avec 2 lots de trousse de réactifs dans 1 site interne. La positivité a été calculée pour les échantillons sérodiscordants qui ont été analysés au moyen du test Aptima HIV-1 Quant Dx.

Le Tableau 17 illustre la positivité suite au test Aptima HIV-1 Quant Dx dans des échantillons sérodiscordants par groupe d'échantillons, type de test supplémentaire de VIH et résultat de test supplémentaire de VIH.

Tableau 17: Positivité du test Aptima HIV-1 Quant Dx dans des échantillons sérodiscordants

Type de test supplémentaire	Résultat de test supplémentaire	% de positivité (n/N) IC à 95 % ^a		
		Absence de séroconversion Groupe du panel		Séroconversion Groupe du panel
		3 ^e génération	4 ^e génération	4 ^e génération
Immunochromatographique du VIH-1/2	Négatif	S.O.	0,0 (0/11) 0,0-25,9	100 (6/6) 61,0-100
Immunochromatographique du VIH-1/2	Indéterminé	S.O.	100 (1/1) 20,7-100	100 (1/1) 20,7-100
VIH-1/2 Rapide	Négatif	S.O.	0,0 (0/11) 0,0-25,9	100 (24/24) 86,2-100
VIH-1/2 Rapide	Indéterminé	S.O.	0,0 (0/2) 0,0-65,8	S.O.
HIV-1 TW ou IFI	Négatif	0,4 (1/239) 0,1-2,3	100 (4/4) 51,0-100	100 (35/35) 90,1-100
HIV-1 TW ou IFI	Indéterminé	0,0 (0/128) 0,0-2,9	100 (1/1) 20,7-100	100 (10/10) 72,2-100

3^e génération = immunodosage de troisième génération, 4^e génération = immunodosage de quatrième génération, IC = intervalle de confiance, IFI = immunofluorescence indirecte, S.O. = sans objet, TW = transfert Western.

^aScore de l'IC

Études de reproductibilité

Reproductibilité dans les échantillons de plasma

La reproductibilité du test Aptiam HIV-1 Quant Dx dans les échantillons de plasma a été évaluée dans 3 sites externes. Deux techniciens ont effectué des tests sur chaque site. Chaque technicien a effectué 2 séries de tests par jour sur 3 jours, en utilisant 3 lots de réactifs pour l'ensemble des tests. Chaque série comptait 3 réplicats de chaque échantillon du panel.

La reproductibilité a été testée à l'aide d'échantillons du panel composés de plasma EDTA négatif pour le VIH-1. Les échantillons positifs du panel ont été créés en ajoutant au plasma négatif du virus cultivé (sous-type B du VIH-1) à des concentrations couvrant la plage linéaire du test Aptima HIV-1 Quant Dx.

Le Tableau 18 illustre la reproductibilité et la précision des résultats de tests pour chaque échantillon positif du panel entre les sites, entre les techniciens, entre les lots, entre les jours, entre les séries de tests, au sein des séries de tests et dans l'ensemble. Quand seuls les échantillons dont les résultats sont supérieurs à la limite inférieure de quantification (LLOQ) ont été inclus (les échantillons dont les résultats sont inférieurs à la LLOQ ont été exclus), le SD (écart-type) total était $\leq 0,2 \log_{10}$ copies/mL pour tous les échantillons du panel. Lorsque tous les échantillons présentant un taux d'ARN du VIH-1 détectable ont été inclus, les valeurs totales de du SD (écart-type) demeuraient inchangées, sauf pour l'échantillon no 1 du panel qui a affiché un écart-type total de $0,3 \log_{10}$ copies/mL.

Pour tous les échantillons du panel positifs pour le VIH-1, les valeurs de concordance étaient de 100 %. Pour l'échantillon du panel négatif pour le VIH-1, 108 réplicats ont été testés, et aucun ARN du VIH-1 n'a été détecté dans aucun des réplicats (concordance négative = 100 %, IC à 95 % : 96,6 % à 100 %).

Tableau 18: Reproductibilité et précision du test Aptima HIV-1 Quant Dx Assay sur le système Panther pour les échantillons de plasma positifs du panel

Panel	N ^a	Log moy. ₁₀ copies/mL	Entre les sites		Entre les techniciens		Entre les lots		Entre les jours		Entre les séries		Dans une série		Total	
			SD	% CV	SD	% CV	SD	% CV	SD	% CV	SD	% CV	SD	% CV	SD	% CV
1	107	1,71 ^b	0,05	2,66	0,07	4,10	0,07	4,09	0,00	0,00	0,17	9,90	0,25	14,62	0,32	18,77
	85 ^c	1,84	0,07	3,51	0,00	0,00	0,02	0,97	0,00	0,00	0,06	3,07	0,17	8,98	0,19	10,17
2	108	2,94	0,08	2,74	0,00	0,00	0,00	0,00	0,04	1,49	0,00	0,00	0,11	3,69	0,14	4,83
3	108	3,84	0,07	1,75	0,00	0,00	0,00	0,00	0,04	0,95	0,04	0,98	0,06	1,62	0,11	2,75
4	108	4,94	0,08	1,52	0,00	0,00	0,03	0,57	0,03	0,50	0,05	1,01	0,06	1,18	0,11	2,30
5	108	5,71	0,07	1,26	0,00	0,00	0,01	0,22	0,05	0,85	0,04	0,77	0,07	1,23	0,12	2,11
6	108 ^d	6,71	0,05	0,80	0,00	0,00	0,02	0,32	0,03	0,43	0,07	1,03	0,06	0,85	0,11	1,65

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

^a Nombre de résultats valides avec de l'ARN du VIH-1 détectable.

^b Comprend 22 réplicats signalés comme $< 1,47 \log_{10}$ copies/mL. Cet échantillon avait une valeur attribuée de $1,176 \log_{10}$ copies/mL.

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

^d Comprend un réplicat signalé comme $> 7 \log_{10}$ copies/mL. Cet échantillon avait une valeur attribuée de $7,18 \log_{10}$ copies/mL.

Remarque : La variabilité de certains facteurs peut être numériquement négative, ce qui peut survenir si la variabilité due à ces facteurs est extrêmement minime (moins de 0,01). Dans ces cas, les valeurs du SD (écart-type) et du CV sont 0.

Reproductibilité dans les échantillons de sérum

La reproductibilité du test Aptiam HIV-1 Quant Dx dans les échantillons de sérum a été évaluée dans 3 sites externes. Deux techniciens ont effectué des tests sur chaque site. Chaque technicien a effectué 1 série de tests par jour sur 5 jours, en utilisant 1 lot de réactifs pour l'ensemble des tests. Chaque série comptait 3 réplicats de chaque échantillon du panel.

La reproductibilité a été testée en utilisant des échantillons du panel préparés avec du sérum négatif pour le VIH-1. Deux échantillons du panel positifs ont été créés en ajoutant à la matrice sérique négative des concentrations de virus cultivé (sous-type B du VIH-1) avec une LoD de 3X – 5X et de 10X.

Le Tableau 19 illustre la reproductibilité et la précision des résultats de tests pour chaque échantillon positif du panel entre les sites, entre les techniciens, entre les jours, entre les séries de tests, au sein des séries de tests et dans l'ensemble.

Pour tous les échantillons du panel positifs pour le VIH-1, les valeurs de concordance étaient de 100 %. Pour l'échantillon du panel négatif pour le VIH-1, 90 réplicats ont été testés, et aucun ARN du VIH-1 n'a été détecté dans 89 des 90 réplicats (concordance négative = 98,9 %, IC à 95 % : 94,0 % to 99,8 %).

Tableau 19: Reproductibilité et précision du test Aptima HIV-1 Quant Dx Assay sur le système Panther pour les échantillons de sérum positifs du panel

Panel	N	Log moy. ₁₀ copies/mL	Entre les sites		Entre les techniciens		Entre les jours		Entre les séries		Dans une série		Total	
			SD	% CV	SD	% CV	SD	% CV	SD	% CV	SD	% CV	SD	% CV
1	90	1,34	0,07	5,41	0,00	0,00	0,04	2,63	0,00	0,00	0,22	16,26	0,23	17,34
2	89	1,95	0,05	2,41	0,02	0,97	0,00	0,00	0,00	0,00	0,19	9,67	0,20	10,01

CV = coefficient de variation de la log normale, SD = standard deviation (écart-type) (\log_{10} copies/mL)

Remarque : La variabilité par rapport à 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 du SD et du CV sont 0,00.

Bibliographie

1. **Barre-Sinoussi, F., J. C. Chermann, F. Rey, M. T. Nugeyre, S. Chamaret, J. Gruest, C. Dauguet, C. Axler-Blin, F. Vezinet-Brun, C. Rouziou, W. Rozenbaum et L. Montagnier.** 1983. Isolation of a T-lymphotropic retrovirus from a patient at risk for Acquired Immune Deficiency Syndrome (AIDS) (Isolement d'un rétrovirus T-lymphotropique d'un patient à risque de syndrome d'immunodéficience acquise [SIDA]). *Science* **220**:868–871.
2. **Popovic, M., M. G. Sarngadharan, E. Read et R. C. Gallo.** 1984. Detection, isolation, and continuous production of cytopathic retroviruses (HTLV-III) from patients with AIDS and pre-AIDS (Détection, isolement et production continue de rétrovirus cytopathique [HTLV-III] chez des patients atteints de SIDA et de pré-SIDA). *Science* **224**:497–500.
3. **Gallo R. C., S. Z. Salahuddin, M. Popovic, G. M. Streater, M. Kaplan, D. F. Haynas, T. J. Palker, R. Redfield, J. Oleske, B. Safai, G. White, P. Foster et P. D. Markham.** 1984. Frequent detection and isolation of cytopathic retroviruses (HTLV III) from patients with AIDS and at risk for AIDS (Détection fréquente et isolement des rétrovirus cytopathiques [HTLV III] chez des patients atteints de SIDA et à risque de SIDA). *Science* **224**:500–503.
4. **Piot, P., F. A. Plummer, F. S. Mhalu, J.-L. Lamboray, J. Chin et J. M. Mann.** 1988. AIDS: An international perspective (SIDA : une perspective internationale). *Science* **239**:573–579.
5. **Sarngadharan, J. G., M. Popovic, L. Broch, J. Scupbach et R. C. Gallo.** 1984. Antibodies reactive with human T-lymphotropic retroviruses (HTLV-III) in the serum of patients with AIDS (Anticorps réactifs aux rétrovirus T-lymphotropes humains [HTLV-III] dans le sérum de patients atteints de SIDA). *Science* **224**:506–508.
6. **Gallo, D., J. S. Kimpton et P. J. Dailey.** 1987. Comparative studies on use of fresh and frozen peripheral blood lymphocyte specimens for isolation of human immunodeficiency virus and effects of cell lysis on isolation efficiency (Études comparatives sur l'utilisation d'échantillons frais et congelés de lymphocytes du sang périphérique pour l'isolement du virus de l'immunodéficience humaine et les effets de la lyse cellulaire sur l'efficacité de l'isolement). *J. Clin. Microbiol.* **25**:1291–1294.
7. **Clavel, F., D. Guetard, F. Brun-Vezinet, S. Chamaret, M. Rey, M. O. Santos-Ferraira, A. G. Laurent, C. Dauguet, C. Katlama, C. Rouzioux, D. Klatzmann, J. L. Champalimaud et L. Montagnier.** 1986. Isolation of a new human retrovirus from West African patients with AIDS (Isolement d'un nouveau rétrovirus humain chez des patients ouest-africains atteints de SIDA). *Science* **233**:343–346.
8. **DeCock, K.M., Jaffe, H.W., Curran, J.W.** The evolving epidemiology of HIV/AIDS (L'évolution de l'épidémiologie du VIH/SIDA). *AIDS*, 2012.
9. **Gaines, H., M. A. von Sydow et L.V. von Stedingk.** 1990. Immunological changes in primary HIV-1 infection (Changements immunologiques de l'infection primaire par le VIH-1). *AIDS* **4**:107–112.
10. **Tindall, B. et D. A. Cooper.** 1991. Primary HIV-1 infection: host responses and intervention strategies (Infection primaire par le VIH-1 : les réponses de l'hôte et les stratégies d'intervention). *AIDS* **5**:1–14.
11. **Daar, E. S., T. Moudgil, R. D. Meyer et D. D. Ho.** 1991. Transient high levels of viremia in patients with primary human immunodeficiency virus type 1 infection (Taux élevés de virémie transitoire chez les patients atteints d'une infection primitive par le virus de l'immunodéficience humaine de type 1). *N. Engl. J. Medicaments* **324**:961–964.
12. **Clark, S. J., M. S. Saag et W. D. Decker.** 1991. High titers of cytopathic virus in plasma of patients with symptomatic primary HIV-1 infection (Titres élevés de virus cytopathique dans le plasma de patients présentant une infection primaire symptomatique par le VIH-1). *N. Engl. J. Medicine* **324**:954–960.
13. **Albert J., B. Abrahamsson, K. Nagy, E. Aurelius, H. Gaines, G. Nystrom et E. M. Fenyo.** 1990. Rapid development of isolate-specific neutralizing antibodies after primary HIV-1 infection and consequent emergence of virus variants which resist neutralization by autologous sera (Développement rapide d'anticorps neutralisants spécifiques à l'isolat après une infection primaire par le VIH-1 et l'émergence subséquente de variantes virales qui résistent à la neutralisation par le sérum autologue). *AIDS* **4**:107–112.
14. **Horsburgh, C. R. Jr., C. Y. Ou, J. Jason, S. D. Holmberg, I. M. Longini Jr., C. Schable, K. H. Mayer, A. R. Lifson, G. Schochetman, J. W. Ward, et coll.** 1989. Duration of human immunodeficiency virus infection before detection of antibody (Durée de l'infection par le virus de l'immunodéficience humaine avant la détection d'anticorps). *Lancet* **16**:637–640.
15. **Schnittman, S. M., M. C. Psallidopoulos, H. C. Lane, L. Thompson, M. Baseler, F. Massari, C. H. Fox, N. P. Salzman, et A. S. Fauci.** 1989. The reservoir for HIV-1 in human peripheral blood is a T cell that maintains expression of CD4 (Le réservoir du VIH-1 dans le sang périphérique humain est un lymphocyte T qui maintient l'expression du CD4). *Science* **245**:305–308. Erratum in (dans) : *Science* 1989 **245**, preceding (précédant) 694.
16. **Schnittman, S. M., J. J. Greenhouse, M. C. Psallidopoulos, M. Baseler, N. P. Salzman, A. S. Fauci et H.C. Lane.** 1990. Increasing viral burden in CD4+ T cells from patients with human immunodeficiency virus (HIV) infection reflects rapidly progressive immunosuppression and clinical disease (L'augmentation de la charge virale des lymphocytes T CD4 + chez les patients infectés par le virus de l'immunodéficience humaine [VIH] reflète une immunosuppression et une maladie clinique à progression rapide). *Ann. Intern. Med.* **113**:438–443.
17. **Pantaleo, G., C. Graziosi et A. S. Fauci.** 1993. New concepts in the immunopathogenesis of human immunodeficiency virus (HIV) infection (Nouveaux concepts dans l'immunopathogenèse de l'infection par le virus de l'immunodéficience humaine [VIH]). *N. Engl. J. Med.* **328**:327–335.
18. **Piatak, M. Jr., M. S. Saag, L. C. Yang, S. J. Clark, J. C. Kappes, K. C. Luk, B. H. Hahn, G. M. Shaw et J. D. Lifson.** 1993. High levels of HIV-1 in plasma during all stages of infection determined by competitive PCR (Niveaux élevés de VIH-1 dans le plasma à tous les stades de l'infection déterminés par la réaction en chaîne de la polymérase [RCP] compétitive). *Science* **259**:1749–1754.

19. **Fauci, A. S., S. M. Schnittman, G. Poli, S. Koenig et G. Pantaleo.** 1991. NIH conference: immunopathogenic mechanisms in human immunodeficiency virus (HIV) infection (Conférence NIH : mécanismes immunopathogènes dans l'infection par le virus de l'immunodéficience humaine [VIH]). *Ann. Intern. Med.* **114**:678–693.
20. **Coffin, J. M.** 1995. HIV-1 population dynamics in vivo: implications for genetic variation, pathogenesis, and therapy (Dynamique des populations porteuses du VIH-1 in vivo : implications pour la variation génétique, la pathogenèse et la thérapie). *Science* **267**:483–489.
21. **Ho, D. D., A. U. Neumann, A. S. Perelson, W. Chen, J. M. Leonard et M. Markowitz.** 1995. Rapid turnover of plasma virions and CD4 lymphocytes in HIV-1 infection (Renouvellement rapide des virions plasmatiques et des lymphocytes CD4 dans une infection par le VIH-1). *Nature* **373**:123–126.
22. **Wei, X., S. K. Ghosh, M. E. Taylor, V. A. Johnson, E. A. Emini, P. Deutsch, J. D. Lifson, S. Bonhoeffer, M. A. Nowak, B. H. Hahn et coll.** 1995. Viral dynamics in human immunodeficiency virus type 1 infection (Dynamique virale dans l'infection par le virus de l'immunodéficience humaine de type 1). *Nature* **373**:117–122.
23. **O'Brien, W. A., P. M. Hartigan, D. Martin, J. Esinhart, A. Hill, S. Benoit, M. Rubin, M. S. Simberkoff et J. D. Hamilton.** 1996. Changes in plasma HIV-1 RNA and CD4 lymphocyte counts and the risk of progression to AIDS (Changements dans le taux plasmatique d'ARN du VIH-1 et de lymphocytes CD4 et risque de progression vers le développement du SIDA). Veterans Affairs Cooperative Study Group on AIDS. *N. Engl. J. Med.* **334**:426–431.
24. **Welles, S. L., J. B. Jackson, B. Yen-Lieberman, L. Demeter, A. J. Japour, L. M. Smeaton, V. A. Johnson, D. R. Kuritzkes, R. T. D'Aquila, P. A. Reichelderfer, D. D. Richman, R. Reichman, M. Fischl, R. Dolin, R. W. Coombs, J. O. Kahn, C. McLaren, J. Todd, S. Kwok et C. S. Crumpacker.** 1996. Prognostic value of plasma Human Immunodeficiency Virus Type I (HIV-1) RNA levels in patients with advanced HIV-1 disease and with little or no zidovudine therapy (Valeur pronostique des taux plasmatiques d'ARN du virus de l'immunodéficience humaine de type I [VIH-1] chez les patients atteints d'une maladie VIH-1 avancée et ne recevant que peu ou aucun de traitement par la zidovudine). AIDS Clinical Trials Group Protocol (Protocole du groupe d'essais cliniques sur le SIDA) 116A/116B/117 Team. *J. Infect. Dis.* **174**:696–703.
25. **Coombs, R. W., S. L. Welles, C. Hooper, P. S. Reichelderfer, R. T. D'Aquila, A. J. Japour, V. A. Johnson, D. R. Kuritzkes, D. D. Richman, S. Kwok, J. Todd, J. B. Jackson, V. DeGruttola, C. S. Crumpacker et J. Kahn.** 1996. Association of plasma Human Immunodeficiency Virus Type I RNA level with risk of clinical progression in patients with advanced infection (Association du taux plasmatique d'ARN du virus de l'immunodéficience humaine de type I avec un risque de progression clinique chez les patients atteints d'une infection avancée). AIDS Clinical Trials Group (ACTG) (Groupe des essais cliniques sur le SIDA) 116B/117 Study Team (Équipe de l'étude). ACTG Virology Committee Resistance and HIV-1 RNA Working Groups. *J. Infect. Dis.* **174**:704–712.
26. **Hammer, S., C. Crumpacker, R. D'Aquila, B. Jackson, J. Lathey, D. Livnat et P. Reichelderfer.** 1993. Use of virologic assays for detection of human immunodeficiency virus in clinical trials: Recommendations of the AIDS Clinical Trials Group Virology Committee (Recours aux tests virologiques pour la détection du virus de l'immunodéficience humaine dans les essais cliniques : recommandations du comité de virologie du groupe des essais cliniques sur le SIDA). *J. Clin. Microbiol.* **31**:2557–2564.
27. **Schochetman, G. et J. R. George,** éd. 1994. *AIDS Testing: A Comprehensive Guide To Technical, Medical, Social, Legal and Management Issues* (Test de dépistage du SIDA : Guide complet sur les questions techniques, médicales, sociales, juridiques et de gestion), 2^e éd. Springer-Verlag, New York.
28. **Mulder, J., N. McKinney, C. Christopherson, J. Sninsky, L. Greenfield et S. Kwok.** 1994. Rapid and simple PCR assay for quantitation of human immunodeficiency virus type 1 RNA in plasma: application to acute retroviral infection (Essai PCR rapide et simple pour la quantification de l'ARN du virus de l'immunodéficience humaine de type 1 dans le plasma : application à une infection rétrovirale aiguë). *J. Clin. Microbiol.* **32**:292–300.
29. **Dewar, R. L., H. C. Highbarger, M. D. Sarmiento, J. A. Todd, M. B. Vasudevachari, R. T. Davey, Jr., J. A. Kovacs, N. P. Salzman, H. C. Lane et M. S. Urdea.** 1994. Application of branched DNA signal amplification to monitor human immunodeficiency virus type 1 burden in human plasma (Application de l'amplification du signal d'ADN ramifié pour surveiller le fardeau du virus de l'immunodéficience humaine de type 1 dans le plasma humain). *J. Infect. Dis.* **170**:1172–1179.
30. **van Gemen, B., T. Kievits, R. Schukink, D. van Strijp, L. T. Malek, R. Sooknanan, H. G. Huisman et P. Lens.** 1993. Quantification of HIV-1 RNA in plasma using NASBA during HIV-1 primary infection (Quantification de l'ARN du VIH-1 dans le plasma à l'aide de NASBA [amplification séquentielle de l'acide nucléique] pendant l'infection primaire par le VIH-1). *J. Virol. Méthodes* **43**:177–187.
31. **Gill, P. et Ghaemi, A.** 2008. Nucleic acid isothermal amplification technologies: a review (Technologies d'amplification isothermique à l'acide nucléique : une revue). *Nucleosides Nucleotides Nucleic Acids* (Nucléosides des acides nucléiques nucléotidiques). **27**(3):224–43.
32. **Hill, C.** 2001. Molecular diagnostic testing for infectious diseases using TMA technology (Tests de diagnostic moléculaire pour les maladies infectieuses à l'aide de la technologie TMA). *Expert Rev. Mol. Diagn.* **1**(4): 445–455.
33. **Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI).** 2005. *Collection, Transport, Preparation, and Storage of Specimens for Molecular Methods; Approved Guideline.* (Collecte, transport, préparation et entreposage des spécimens pour les méthodes moléculaires; Ligne directrice approuvée). Document CLSI MM13-A. Wayne, PA.
34. **29 CFR Part 1910.1030.** Occupational Exposure to Bloodborne Pathogens; current version (Exposition en milieu professionnel aux agents pathogènes à diffusion hématogène; version actuelle).
35. **Centers for Disease Control and Prevention (Centres pour le contrôle et la prévention des maladies)/National Institutes of Health (NIH).** Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories (BMBL) (Biosécurité dans les laboratoires microbiologiques et biomédicaux); current version (version actuelle).

36. **Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI)**. 2002. Clinical Laboratory Waste Management (Gestion des déchets de laboratoires cliniques). CLSI Document EP17-A2. Villanova, PA.
37. **Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI)**. 2012. Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures; Approved Guideline—Second Edition (Évaluation de la capacité de détection des procédures de mesure des laboratoires cliniques; Directive approuvée - Deuxième édition). CLSI Document EP17-A2. Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne, PA.
38. **Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI)**. 2003. Evaluation of the Linearity of Quantitative Measurement Procedures: A Statistical Approach; Approved Guideline. (Évaluation de la linéarité des procédures de mesure quantitative : une approche statistique; Directive approuvée. Document sur la procédure EP06-A du CLSI). Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne, PA.



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

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

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

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

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

Toutes les autres marques commerciales qui apparaissent dans la présente notice sont des marques commerciales de leurs détenteurs respectifs.

Ce produit peut faire l'objet d'un ou de plusieurs brevets américains précisés sur le site Web suivant : www.hologic.com/patents.

© 2021 Hologic Inc. Tous droits réservés.
AW-18107-2201 Rév. 002
2021-04