

## Aptima™ HIV-1 Quant Assay

Pour diagnostic *in vitro*.

Réservé à l'exportation américaine

<b>Renseignements généraux</b> .....	<b>2</b>
Usage prévu .....	2
Résumé et explication du test .....	2
Principes de la procédure .....	3
Mises en garde et précautions .....	4
Conditions d'entreposage et de manipulation des réactifs .....	7
Prélèvement et entreposage des échantillons .....	8
Échantillons placés à bord du système Panther .....	10
Transport des échantillons .....	10
<b>Système Panther</b> .....	<b>11</b>
Réactifs et matériel fourni .....	11
Matériel requis mais disponible séparément .....	12
Matériel facultatif .....	13
Procédure de test pour le système Panther .....	14
Remarques concernant la procédure .....	18
<b>Contrôle de la qualité</b> .....	<b>19</b>
Calibration du test .....	19
Contrôles négatifs et positifs .....	19
Calibrateur interne/Contrôle interne .....	19
<b>Interprétation des résultats</b> .....	<b>20</b>
<b>Limites</b> .....	<b>21</b>
<b>Performance non clinique</b> .....	<b>22</b>
Limite de détection (LD) à l'aide de la 3e norme internationale de l'OMS pour le VIH-1 .....	22
Limite de détection pour différents sous-types et groupes du VIH-1 .....	23
Plage linéaire .....	24
Linéarité pour différents sous-types et groupes du VIH-1 .....	25
Détermination de la limite inférieure de quantification avec la 3e norme internationale de l'OMS pour le VIH-1 ..	26
Vérification de la LIQ dans les sous-types et groupes du VIH-1 .....	27
Précision .....	28
Substances potentiellement interférentes .....	29
Spécificité .....	30
Réactivité croisée .....	31
Reproductibilité des échantillons cliniques .....	32
Dilution d'échantillons à l'aide du diluant d'échantillon .....	33
Contamination de transfert .....	33
<b>Performance clinique</b> .....	<b>34</b>
Étude comparative de méthodes .....	34
Étude de la spécificité clinique .....	35
Étude de reproductibilité .....	35
<b>Bibliographie</b> .....	<b>36</b>

## **Renseignements généraux**

### **Usage prévu**

L'Aptima HIV-1 Quant Assay (test Aptima HIV-1 Quant Assay) est un test d'amplification des acides nucléiques (TAAN) *in vitro* pour la quantification de l'ARN du virus de l'immunodéficience humaine de type 1 (VIH-1) chez des individus infectés par le VIH-1 sur le système entièrement automatisé Panther™. Le test Aptima HIV-1 Quant Assay quantifie les groupes M, N et O de l'ARN du VIH-1 sur la plage de 30 à 10 000 000 copies/mL. Une unité internationale équivaut à 0,35 copie d'ARN du VIH-1 pour la 3<sup>e</sup> norme internationale de l'OMS concernant le VIH-1 (sous-type B, code du NIBSC : 10/152).

Le test Aptima HIV-1 Quant Assay est destiné à servir de complément au tableau clinique et à d'autres marqueurs biologiques en tant qu'outil pour le pronostic de la maladie et pour le suivi des effets du traitement antirétroviral, en mesurant la variation du taux d'ARN du VIH-1 dans le plasma.

Ce test n'est pas destiné à être utilisé comme test de dépistage du VIH-1 chez les donneurs ou comme épreuve diagnostique pour confirmer la présence d'une infection par le VIH-1.

### **Résumé et explication du test**

Des études épidémiologiques ont permis d'identifier le virus de l'immunodéficience humaine de type 1 (VIH-1) comme l'agent étiologique du syndrome d'immunodéficience acquise (sida) (1-7). Le VIH peut être transmis par contact sexuel, une exposition à du sang infecté ou à des produits sanguins, ou de la mère à l'enfant (8). Dans les 3 à 6 semaines suivant l'exposition au VIH, les individus infectés développent généralement un syndrome bref et aigu caractérisé par des symptômes de grippe, associé à un taux élevé de virémie dans le sang périphérique (9-12). Chez la plupart des individus infectés, cette phase préliminaire est suivie d'une réponse immunitaire spécifique au VIH et d'une diminution de la virémie plasmatique, généralement dans les 4 à 6 semaines suivant l'apparition des symptômes (13-14). Après la séroconversion, les individus infectés entrent généralement dans une phase asymptomatique cliniquement stable pouvant durer plusieurs années (15-17). La période asymptomatique se caractérise par une virémie plasmatique de faible niveau persistante (18) et une déplétion graduelle des lymphocytes T CD4+. Cette déplétion entraîne une immunodéficience sévère, de multiples infections opportunistes, des malignités et la mort (19). Bien que la charge virale dans le sang périphérique soit relativement faible pendant la phase asymptomatique de l'infection, la réplication et la clairance virales semblent être des processus dynamiques au cours desquels un taux élevé de production du virus et d'infection des cellules CD4+ est équilibré par un taux également élevé de clairance virale, de destruction des cellules infectées et de régénération des cellules CD4+, entraînant un taux relativement stable de virémie plasmatique et de cellules CD4+ (20-22).

Les mesures quantitatives du VIH dans le sang périphérique ont démontré qu'une charge virale supérieure peut être associée à un risque accru d'évolution clinique de la maladie associée au VIH, et qu'une diminution de la charge virale plasmatique peut être associée à un risque réduit d'évolution clinique (23-25). La charge virale dans le sang périphérique peut être quantifiée en mesurant l'antigène p24 du VIH dans le sérum, par une culture quantitative du VIH dans le plasma, ou en mesurant directement l'ARN viral dans le plasma à l'aide de technologies d'amplification des acides nucléiques ou d'amplification des signaux (26-30).

Des techniques moléculaires comme l'amplification médiée par la transcription (TMA) ont largement été utilisées pour amplifier les acides nucléiques (31). La TMA utilise la capture de cible spécifique et l'amplification isotherme pour détecter les acides nucléiques dans de nombreuses maladies infectieuses, notamment la CT, la NG, le VPH, la trichomonase et le VIH/VHC/VHB lors de l'analyse du sang des donneurs (32).

Le test Aptima HIV-1 Quant Assay, par la TMA, utilise plusieurs longues amorces qui ciblent différentes régions du génome du VIH-1 afin de compenser la forte mutagénicité du VIH-1.

## Principes de la procédure

Le test Aptima HIV-1 Quant Assay comporte trois étapes principales, qui ont toutes lieu dans un seul tube sur le système Panther\* : capture de la cible, amplification de la cible par TMA et détection des produits d'amplification (amplicons) par sondes marquées par fluorescence (torches moléculaires).

Lors de la capture de la cible, les acides nucléiques viraux sont isolés à partir des échantillons. L'échantillon est traité avec un détergent afin de solubiliser l'enveloppe virale, dénaturer les protéines et libérer l'ARN génomique viral. Les oligonucléotides de capture s'hybrident à des régions hautement conservées du génome du VIH-1, si celui-ci est présent dans l'échantillon testé. La cible ainsi hybridée est ensuite capturée par des microparticules magnétiques et séparée du reste de l'échantillon par l'application d'un champ magnétique. Les étapes de lavage permettent d'éliminer les composants exogènes du tube réactionnel.

L'amplification de la cible est réalisée par TMA, une méthode d'amplification de l'acide nucléique médiée par la transcription employant deux enzymes, la transcriptase inverse du virus de la leucémie murine de Moloney (MMLV) et l'ARN polymérase de T7. La transcriptase inverse permet de générer une copie d'ADN de la séquence cible (contenant une séquence promotrice pour l'ARN polymérase de T7). L'ARN polymérase de T7 produit plusieurs copies de l'amplicon d'ARN à partir de la matrice d'ADN. Le test Aptima HIV-1 Quant Assay utilise la méthode TMA pour amplifier deux régions du de l'ARN du VIH-1 (po et LTR). L'amplification de ces régions est obtenue à l'aide d'amorces spécifiques conçues pour amplifier le VIH-1 des groupes M, N et O. L'approche de la double région cible avec la conception des amorces assure une détection et une quantification précises du VIH-1.

La détection se déroule en temps réel par l'hybridation spécifique sur l'amplicon de torches moléculaires d'acide nucléique simple brin présentes pendant la phase d'amplification de la cible. Chaque torche moléculaire est munie d'un fluorophore et d'un suppresseur. Lorsque la torche moléculaire n'est pas hybridée à l'amplicon, le suppresseur se trouve proche du fluorophore et inhibe la fluorescence. Lorsque la torche moléculaire s'hybride à l'amplicon, la distance entre le suppresseur et le fluorophore augmente et un signal est émis à une longueur d'onde spécifique après excitation par une source de lumière. L'intensité du signal de fluorescence augmente avec le nombre de torches moléculaires hybridées à des amplicons. La durée nécessaire pour que le signal de fluorescence atteigne un seuil spécifique est proportionnelle à la concentration initiale en VIH-1. Chaque réaction comprend un calibrateur interne/contrôle interne (CI) qui permet de détecter des différences de traitement des échantillons, d'amplification et de détection. La concentration d'un échantillon est calculée par le logiciel du système Panther en utilisant les signaux obtenus pour le VIH-1 et le CI pour chaque réaction et en les comparant aux données de calibration.

\*Toutes les références au système Panther dans ce document portent sur les systèmes Panther et Panther Fusion. Aucune modification n'a été apportée aux indications d'utilisation, à l'étiquetage ou aux principes de fonctionnement du test Aptima HIV-1 Quant Assay sur le système Panther suite à l'intégration du module Panther Fusion.

**Mises en garde et précautions**

- A. Pour diagnostic *in vitro*.
- B. Afin de réduire le risque d'obtention de résultats invalides, lisez attentivement l'ensemble de la notice et le *Manuel de l'opérateur du système Panther* avant d'effectuer ce test.

**Recommandations concernant les laboratoires**

- C. **AVERTISSEMENT** : les contrôles de ce test contiennent du plasma humain. Le plasma est négatif pour l'antigène de surface de l'hépatite B (HBsAg), les anticorps contre le VHC, les anticorps contre le VIH-1 et le VIH-2, et l'antigène du VIH lorsque testé selon les procédures approuvées par la Food and Drug Administration des États-Unis. De plus, le plasma est non réactif pour l'ARN du VHC et l'ARN du VIH-1 lorsque testé sous la forme d'échantillons groupés à l'aide de tests de détection de l'acide nucléique approuvés. Tout produit dérivé du sang humain doit être considéré comme potentiellement infectieux et manipulé avec les précautions universelles (33-35).
- D. Cette procédure ne doit être réalisée que par du personnel dûment formé sur l'utilisation du test Aptima HIV-1 Quant Assay et sur la manipulation de produits potentiellement infectieux. En cas de déversement, désinfectez immédiatement en suivant les procédures appropriées de l'établissement.
- E. N'utilisez que le matériel de laboratoire jetable fourni ou recommandé.
- F. Prenez les précautions de laboratoire habituelles. Ne pas pipetter avec la bouche. Ne pas manger, boire ou fumer dans les aires de travail désignées. Portez des gants jetables sans poudre, des lunettes de protection et des blouses de laboratoire pour manipuler les échantillons et les réactifs de la trousse. Lavez-vous bien les mains après avoir manipulé les échantillons et les réactifs de la trousse.
- G. Les plans de travail, les pipettes et le reste du matériel doivent être régulièrement décontaminés avec une solution d'hypochlorite de sodium de 2,5 % à 3,5 % (0,35 M à 0,5 M).
- H. Jetez tout le matériel ayant été en contact avec des échantillons ou des réactifs selon la réglementation locale, provinciale et fédérale (33-36). Nettoyez et désinfectez soigneusement tous les plans de travail.
- I. Les contrôles contiennent de l'azoture de sodium comme conservateur. N'utilisez pas de tubes métalliques pour le transfert des réactifs. En cas d'élimination de solutions contenant de l'azoture de sodium par le réseau de plomberie, veillez à les diluer et à faire couler d'importantes quantités d'eau en même temps. Il est conseillé de respecter ces précautions pour éviter toute accumulation de dépôts dans les canalisations en métal, laquelle pourrait favoriser la création de conditions explosives.
- J. Les bonnes pratiques normales pour les laboratoires de biologie moléculaire incluent la surveillance de l'environnement. La procédure suivante est suggérée pour surveiller l'environnement d'un laboratoire.
  1. Munissez-vous d'un écouvillon à embout de coton et faites-le correspondre au tube d'aliquote d'échantillon (SAT) Aptima.
  2. Étiquetez chaque SAT de manière appropriée.
  3. Remplissez chaque SAT avec 1 mL de diluant d'échantillon Aptima.
  4. Pour prélever les échantillons de surface, humidifiez légèrement un écouvillon avec de l'eau désionisée exempte de nucléases.
  5. Écouvillonnez la surface d'intérêt en effectuant un mouvement vertical de haut en bas. Faites tourner l'écouvillon d'environ un demi-tour pendant l'écouvillonnage.
  6. Introduisez immédiatement l'échantillon sur écouvillon dans le tube et faites-le tourner doucement dans le diluant afin d'en extraire les matières potentiellement écouvillonnées. Pressez l'écouvillon contre le bord du tube de transport pour en extraire le maximum de liquide. Jetez l'écouvillon et fermez le tube.

7. Répétez ces étapes pour les autres échantillons sur écouvillon.
8. Analysez l'écouvillon à l'aide d'un test moléculaire.

### Recommandations concernant les échantillons

- K. Les échantillons peuvent être infectieux. Appliquez les précautions universelles (33-35) lors de la réalisation de ce test. Des méthodes de manipulation et d'élimination appropriées doivent être établies selon la réglementation locale en vigueur (36). Cette procédure ne doit être réalisée que par du personnel dûment formé sur l'utilisation du test Aptima HIV-1 Quant Assay et sur la manipulation de produits infectieux.
- L. Maintenez des conditions d'entreposage 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.
- M. Évitez toute contamination croisée lors des étapes de manipulation des échantillons. Veillez particulièrement à éviter toute contamination par la diffusion d'aérosols lors du débouchage ou de l'ouverture des échantillons. Les échantillons peuvent contenir des taux d'organismes très importants. Veillez à éviter tout contact entre les récipients d'échantillons et à ne pas passer au-dessus d'un récipient ouvert en jetant le matériel usagé. Changez de gants en cas de contact avec un échantillon.

### Recommandations concernant les tests

- N. Les résultats quantitatifs du test Aptima HIV-1 Quant Assay ont été évalués avec du plasma.
- O. N'utilisez pas la trousse de réactifs, le calibrateur ou les témoins après la date de péremption.
- P. Ne pas échanger, mélanger ou combiner les réactifs de test des trousse portant différents numéros de lot de référence. Les liquides de test peuvent provenir de numéros de lots différents. Les contrôles et le calibrateur peuvent provenir de numéros de lots différents.
- Q. Évitez de contaminer les réactifs par des agents microbiologiques ou des nucléases.
- R. Fermez et entreposez tous les réactifs de test aux températures indiquées. La performance du test peut être affectée par l'utilisation de réactifs de test mal entreposés. Voir *Conditions d'entreposage et de manipulation des réactifs* et *Procédure de test pour le système Panther* pour plus d'information.
- S. Ne pas combiner de réactifs de test ou de liquides de test sans consignes spécifiques. Ne pas rajouter de réactif ou de liquide dans les flacons. Le système Panther vérifie le niveau des réactifs.

- T. L'étiquette de certains réactifs dans cette trousse porte des symboles de risque et de sécurité.

**Remarque** : pour de l'information sur les mentions de danger et de mise en garde pouvant être associées aux réactifs, consultez la bibliothèque de fiches signalétiques au [www.hologic.com/sds](http://www.hologic.com/sds).

**HIV VL Kit Controls**

*Azoture de sodium à 0,2 %*

*Plasma humain à 95-100 %*

**AVERTISSEMENT**

EUH032 – Au contact d'un acide, dégage un gaz très 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 de protection/des vêtements de protection/un équipement de protection des yeux/du visage

P301 + P312 – EN CAS D'INGESTION : appeler un CENTRE ANTIPOISON ou un médecin en cas de malaise

P302 + P352 – EN CAS DE CONTACT AVEC LA PEAU : laver abondamment à l'eau et au savon

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

P362 + P364 – Enlever les vêtements contaminés et les laver avant réutilisation

P363 – Laver les vêtements contaminés avant réutilisation


P501 – Éliminer le contenu/réceptacle conformément à la réglementation locale/régionale/nationale/internationale.

## Conditions d'entreposage et de manipulation des réactifs

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

Réactif	Entreposage (non ouvert)	Trousse ouverte (reconstituée)	
		Entreposage	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 <sup>a</sup>
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 <sup>a</sup>
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 <sup>a</sup>
Réactif de capture de cible qHIV-1	2 °C à 8 °C	2 °C à 8 °C	30 jours <sup>a</sup>
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
qHIV-1 PCAL (Calibrateur positif)	-15 °C à - 35 °C	15 °C à 30 °C	Flacon à usage unique Utiliser dans les 20 heures

<sup>a</sup> Lorsque des réactifs sont retirés du système Panther, veillez à les remettre immédiatement à leurs températures d'entreposage appropriées.

- B. Jetez tous les réactifs reconstitués et le réactif de capture de cible (Target Capture Reagent, TCR) inutilisés après 30 jours ou après la date de péremption du lot de référence, selon la première éventualité.
- C. Les réactifs entreposés dans le système Panther sont stables pendant 72 heures. Vous pouvez charger les réactifs dans 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. Protégez ces réactifs de la lumière lors de leur entreposage et pendant la préparation avant de les utiliser.

## Prélèvement et entreposage des échantillons

**Remarque :** manipulez tout échantillon comme s'il contenait des agents potentiellement infectieux. Appliquez les précautions universelles.

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

**Remarque :** les tubes secondaires en plastique constituent le seul récipient d'entreposage recommandé.

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

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

### A. Prélèvement des échantillons

Le sang total peut être entreposé entre 2 °C et 30 °C et doit être centrifugé dans les 24 heures suivant le prélèvement de l'échantillon. Séparez le plasma du culot de globules rouges en suivant les instructions du fabricant du tube utilisé. Le plasma peut être analysé directement par le système Panther dans un tube primaire ou transféré dans un tube secondaire, par exemple dans le tube d'aliquote d'échantillon Aptima. Pour obtenir un volume de réaction de 500 µL, le volume de plasma est de 1 200 µL minimum pour des tubes de prélèvement primaires et de 700 µL minimum pour des tubes secondaires. Le tableau suivant identifie le volume mort minimum pour chaque type de tube primaire et secondaire.

Tube (taille et type)	Volume mort sur le système Panther
Tube d'aliquote d'échantillon Aptima (SAT)	0,2 mL
12x75 mm	0,5 mL
13x100 mm	0,5 mL
13x100 mm avec gel	0,3 mL
16x100 mm avec gel	0,7 mL

Dans le cas où le plasma n'est pas analysé immédiatement, il peut être entreposé selon les spécifications suivantes. S'il est transféré dans un tube secondaire, le plasma peut être congelé à -20 °C ou -70 °C. Ne congelez/décongelez pas l'échantillon plus de trois fois pour éviter d'influencer le résultat. Ne congelez pas les échantillons dans des tubes de prélèvement primaires EDTA ou ACD.

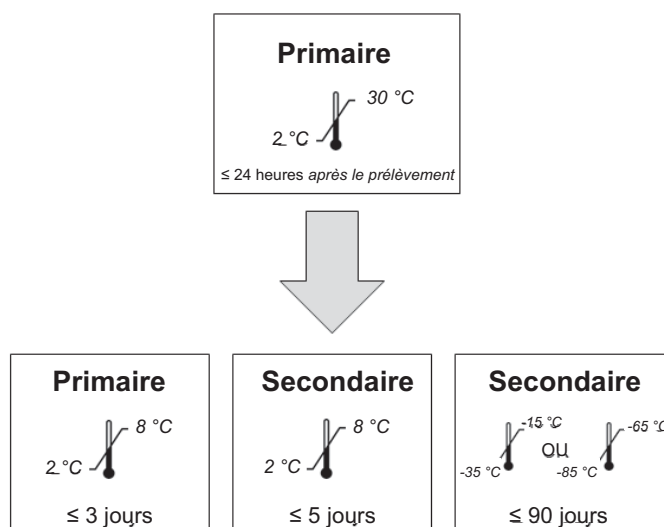


## B. Conditions d'entreposage des échantillons

### 1. Échantillons de plasma sur EDTA ou ACD

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

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

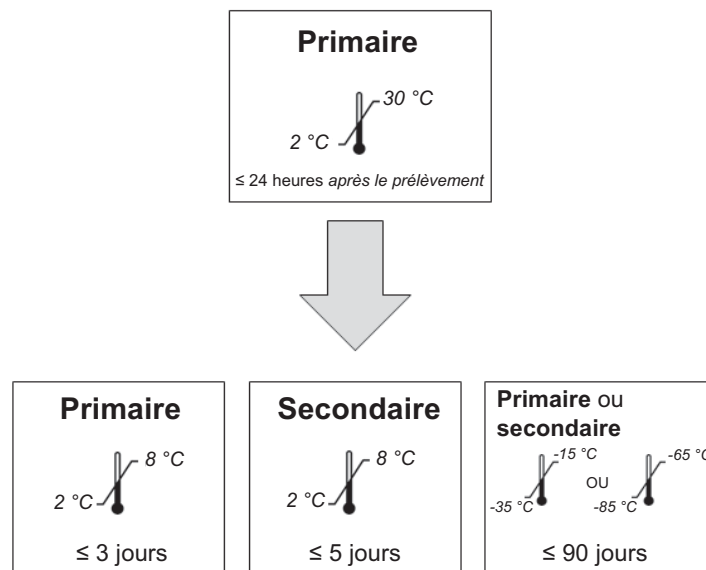


**Figure 1. Conditions d'entreposage pour les tubes EDTA/ACD**

### 2. Échantillons dans tubes PPT

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

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



**Figure 2. Conditions d'entreposage pour les tubes PPT**

### C. Dilution d'échantillons de plasma

Un échantillon de plasma peut être dilué dans un tube SAT ou un tube secondaire pour être testé sur le système Panther. Voir *Procédure de test pour le système Panther*, étape E.6 ci-dessous pour plus d'information.

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

### Échantillons placés à bord du système Panther

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

### Transport des échantillons

Maintenez les conditions d'entreposage des échantillons comme décrites dans la section *Prélèvement et entreposage des échantillons*.

**Remarque :** l'expédition des échantillons doit s'effectuer conformément à la réglementation locale, nationale et internationale applicable concernant le transport.

## Système Panther

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

### Réactifs et matériel fourni

**Remarque :** pour de l'information sur les mentions de danger et de mise en garde pouvant être associées aux réactifs, consultez la bibliothèque de fiches signalétiques au [www.hologic.com/sds](http://www.hologic.com/sds).

**Trousse pour le test Aptima HIV-1 Quant Assay**, 100 tests, N° de cat. PRD-03565 (1 boîte de test, 1 trousse de calibrateurs et 1 trousse de contrôles)

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

**Boîte de test Aptima HIV-1 Quant Assay**  
(entreposer entre 2 °C et 8 °C dès réception)

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

**Trousse de calibrateurs du test Aptima HIV-1 Quant** (N° de cat. PRD-03566)  
(entreposer entre -15 °C et -35 °C dès réception)

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

**Trousse de contrôles du test Aptima HIV-1 Quant** (N° de cat. PRD-03567)  
(entreposer entre -15 °C et -35 °C dès réception)

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

### Matériel requis mais disponible séparément

**Remarque :** les numéros de catalogue du matériel disponible chez Hologic sont indiquées, sauf indication contraire.

Matériel	N° de cat.
Système Panther	—
Trousse d'analyse Panther pour les tests en temps réel (tests en temps réel seulement)	PRD-03455 (5 000 tests)
<i>La trousse de liquides pour le test Aptima (ou trousse de liquides universelle) 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-tube (Multi-Tube Unit, MTU)</i>	104772-02
<i>Assortiment de sacs à rebuts Panther</i>	902731
<i>Couvercle de poubelle à rebuts Panther</i>	504405
Trousse d'analyse du système Panther	303096 (5 000 tests)
<i>(lors de la réalisation de tests TMA en temps différé parallèlement à des tests TMA en temps réel) contient des MTU, des sacs à rebuts, des couvercles de poubelles à rebuts, des solutions d'Autodetect et une trousse de liquides universelle</i>	
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 réactifs	
<i>Flacons de reconstitution de réactif d'amplification, enzymatique et promoteur</i>	CL0041 (100 bouchons)
<i>Flacon de TCR</i>	CL0040 (100 bouchons)

<b>Matériel</b>	<b>N° de cat.</b>
Protecteur de paillasse de laboratoire à envers plastifié	—
Chiffons non pelucheux	—
Pipette	—
Embouts	—
Options pour le tube de prélèvement primaire (EDTA, ACD, PPT) :	
13 mm x 100 mm	—
13 mm x 75 mm	—
16 mm x 100 mm	—
Centrifugeuse	—
Agitateur-mélangeur vortex	—
 <b>Matériel facultatif</b>	
<b>Matériel</b>	<b>N° de cat.</b>
Options pour le tube secondaire	
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 tubes SAT et 100 bouchons</i>	
Pipettes de transfert	—
Panels commerciaux, par exemple :	—
<i> 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 de coton	—
Agitateur de tubes	PRD-03488

## Procédure de test pour le système Panther

**Remarque :** consultez le manuel de l'opérateur du système Panther pour de plus amples informations sur la procédure.

### A. Préparation de la zone de travail

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

### B. Préparation du calibrateur et des contrôles

Laissez le calibrateur et les contrôles atteindre entre 15 °C et 30 °C avant de procéder comme suit :

1. Retirez le calibrateur et les contrôles de leur lieu d'entreposage (entre -15 °C et -35 °C) et placez-les entre 15 °C et 30 °C. Tout au long de la décongélation, retournez délicatement chaque tube pour les mélanger complètement. Assurez-vous que le contenu des tubes est entièrement décongelé avant de l'utiliser.

**Option.** Les tubes de calibrateur et de contrôles peuvent être mis dans un agitateur à tubes afin de les mélanger complètement. Assurez-vous que le contenu des tubes est entièrement décongelé avant de l'utiliser.

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

2. Une fois le contenu des tubes décongelé, séchez l'extérieur des tubes avec un chiffon 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

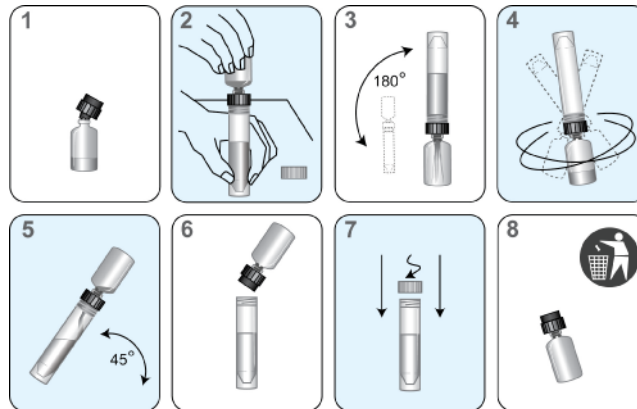
**Remarque :** la reconstitution des réactifs doit être effectuée avant d'entreprendre toute tâche sur le système Panther.

1. Pour préparer le réactif de capture de cible (TCR), procédez comme suit :
  - a. Retirez le TCR de son lieu d'entreposage (2 °C à 8 °C). Vérifiez la correspondance entre le numéro de lot sur le flacon de TCR et le numéro de lot sur la fiche de codes à barres du lot de référence.
  - b. Agitez immédiatement le flacon de TCR vigoureusement 10 fois. Laissez le flacon de TCR se réchauffer entre 15 °C et 30 °C pendant au moins 45 minutes. Pendant cette période, faites tourner et retournez le flacon de TCR au moins toutes les 10 minutes.

**Option.** La préparation du flacon de TCR peut également s'effectuer à l'aide d'un agitateur de tubes en suivant les instructions ci-dessous : Retirez le TCR de son lieu d'entreposage (2 °C à 8 °C) et agitez immédiatement le flacon de TCR vigoureusement 10 fois. Placez le flacon de TRC sur un agitateur à tubes et laissez-le se réchauffer entre 15 °C et 30 °C pendant au moins 45 minutes.

- c. Assurez-vous que tout précipité a été dissous et que les particules magnétiques sont bien en suspension avant l'utilisation.
2. Pour reconstituer les réactifs d'amplification, enzymatique et promoteur, procédez comme suit :
    - a. Retirez les réactifs lyophilisés et les solutions de reconstitution correspondantes de leur lieu d'entreposage (2 °C à 8 °C). Faites correspondre chaque solution de reconstitution avec son réactif lyophilisé.
    - b. Assurez-vous que les couleurs des étiquettes de la solution de reconstitution et du réactif lyophilisé correspondent. Vérifiez les numéros de lot sur la fiche des codes à barres du lot de référence pour vous assurer que les réactifs appropriés sont jumelés.
      - i. Ouvrez le flacon de réactif lyophilisé en enlevant l'opercule métallique et le bouchon en caoutchouc.
      - ii. Insérez fermement l'extrémité à encoche du collet de reconstitution (noir) sur le flacon (Figure 3, Étape 1).
      - iii. Ouvrez le flacon de solution de reconstitution correspondante et déposez le bouchon sur un plan de travail propre et couvert.
      - iv. Placez le flacon de solution de reconstitution sur une surface stable (c.-à-d., une paillasse). Retournez ensuite le flacon de réactif lyophilisé au-dessus du flacon de solution de reconstitution et fixez le collet solidement au flacon de la solution de reconstitution (Figure 3, Étape 2).
      - v. Retournez lentement les flacons assemblés (flacon fixé au flacon de solution) pour que la solution puisse s'écouler dans le flacon en verre (Figure 3, Étape 3).
      - vi. Soulevez les flacons assemblés et faites-les tourner pendant au moins 10 secondes (Figure 3, Étape 4).
      - vii. Attendez au moins 30 minutes pour que le réactif lyophilisé se dissolve entièrement.
      - viii. Une fois le réactif lyophilisé dissous, faites tourner les flacons assemblés pendant au moins 10 secondes, puis balancez délicatement d'avant en arrière la solution dans le flacon en verre pour la mélanger complètement.
    - c. Inclinez lentement les flacons assemblés pour permettre à la totalité de la solution de s'écouler de nouveau dans le flacon de solution de reconstitution (Figure 3, Étape 5).
    - d. Retirez avec précaution le collet de reconstitution et le flacon en verre (Figure 3, Étape 6).
    - e. Rebouchez la bouteille. Inscrivez les initiales de l'opérateur et la date de reconstitution sur l'étiquette (Figure 3, Étape 7).
    - f. Jetez le collet de reconstitution et le flacon en verre (Figure 3, Étape 8).

**Mise en garde :** évitez la formation excessive de mousse lors de la reconstitution des réactifs. La mousse interfère avec le détecteur de niveau du système Panther.



**Figure 3. Procédure de reconstitution des réactifs**

#### D. Préparation des réactifs précédemment reconstitués

1. Retirez les réactifs précédemment reconstitués de leur lieu d'entreposage (2 °C à 8 °C).
2. Les réactifs d'amplification, enzymatique et promoteur et le TCR précédemment reconstitués doivent atteindre entre 15 °C et 30 °C avant de commencer le test.
3. Pour le TCR précédemment préparé, effectuez l'étape C.1 ci-dessus avant de le charger sur le système.
4. Faites tourner et retournez les réactifs d'amplification, enzymatique et promoteur afin de les mélanger complètement avant de les charger sur le système. Évitez la formation excessive de mousse lors du retournement des réactifs.
5. Ne rajoutez pas de réactif dans les flacons. Le système Panther reconnaît et rejette les flacons qui ont été remplis à nouveau.

#### E. Manipulation des échantillons

1. Vérifier que les échantillons traités dans des tubes primaires et les échantillons non dilués dans des tubes secondaires ont été entreposés conformément à la section « Prélèvement et entreposage des échantillons » à la page 8.
2. Assurez-vous que les échantillons congelés sont entièrement décongelés. Agitez les échantillons décongelés au vortex pendant 3 à 5 secondes afin de les mélanger complètement.
3. Laissez tous les échantillons atteindre entre 15 °C et 30 °C avant de procéder. Voir *Échantillons placés à bord du système Panther* pour plus d'information sur la mise à bord.
4. Vérifier que chaque tube de prélèvement primaire contient jusqu'à 1 200 µL d'échantillon, ou que chaque tube SAT contient au moins 700 µL d'échantillon. Consulter le tableau dans la section *Prélèvement des échantillons* à la page 8 pour identifier le volume mort minimum pour chaque type de tube primaire et secondaire. Si vous devez diluer un échantillon, voir l'étape E.6 ci-dessous pour de l'information supplémentaire.
5. Juste avant de charger les échantillons dans un portoir d'échantillons, centrifugez chaque échantillon entre 1 000 et 3 000 g pendant 10 minutes. Ne pas enlever les bouchons. La présence de bulles dans le tube peut empêcher la détection du niveau de liquide par le système Panther.



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

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

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

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

- a. Dilution d'échantillons de faible volume

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

- i. Déposez 240 µL d'échantillon dans le tube SAT.
- ii. Ajouter 480 µL de diluant d'échantillon Aptima.
- iii. Fermez le tube.
- iv. Retournez délicatement 5 fois pour mélanger.

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

- b. Dilution d'échantillons à titre élevé

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

- i. Déposer 30 µL d'échantillon dans un tube SAT ou un tube secondaire.
- ii. Ajouter 2 970 µL de diluant d'échantillon Aptima.
- iii. Fermez le tube.
- iv. Retournez délicatement 5 fois pour mélanger.

Les échantillons dilués 1:100 peuvent être analysés à l'aide de l'option 1:100 du système Panther (voir le *Manuel de l'opérateur du système Panther* pour plus d'information). Le logiciel signale automatiquement le résultat non dilué en appliquant le facteur de dilution. Ces échantillons sont signalés comme des échantillons dilués.

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

## F. Préparation du système

1. Configurez le système selon les instructions du *Manuel de l'opérateur du système Panther* et de la section *Remarques concernant la procédure*. Assurez-vous que des portoirs de réactifs et des adaptateurs TCR de taille appropriée sont utilisés.
2. Chargez les échantillons dans le portoir d'échantillons. Effectuez les étapes suivantes pour chaque tube d'échantillon (échantillon et, le cas échéant, calibrateur et contrôles) :

- a. Desserrez le bouchon de l'un des tubes d'échantillon, sans l'enlever.  
**Remarque** : *veillez particulièrement à éviter toute contamination par la diffusion d'aérosols. Desserrez délicatement les bouchons des échantillons.*
- b. Chargez le tube d'échantillon dans le portoir d'échantillons.
- c. Répétez les étapes 2.a et 2.b pour chaque échantillon restant.
- d. Une fois les échantillons chargés dans le portoir d'échantillons, enlevez et jetez le bouchon de chaque tube d'échantillon dans l'un des portoirs d'échantillons. Pour éviter toute contamination, ne passez pas les bouchons au-dessus d'autres portoirs d'échantillons ou tubes d'échantillons.
- e. Au besoin, utilisez une pipette de transfert jetable neuve pour éliminer les bulles ou la mousse.
- f. Une fois le dernier bouchon retiré, chargez un portoir d'échantillons dans le compartiment à échantillons.  
**Remarque** : *si d'autres tests et types d'échantillons sont analysés en même temps, fixez le dispositif de rétention des échantillons avant de charger le portoir d'échantillons dans le compartiment à échantillons.*
- g. Répétez les étapes 2.a à 2.f pour le portoir d'échantillons suivant.

## Remarques concernant la procédure

### A. Calibrateur et contrôles

1. Le calibrateur positif qHIV-1, ainsi que les tubes de contrôle positif faible qHIV-1, de contrôle positif fort qHIV-1 et de contrôle négatif qHIV-1 peuvent être chargés dans n'importe quelle position dans le portoir d'échantillons et dans n'importe quelle rangée du compartiment à échantillons du système Panther. Le pipetage des échantillons commence lorsque l'une des deux conditions suivantes est satisfaite :
  - a. Le calibrateur et les contrôles sont en cours de traitement par le système.
  - b. Les résultats valides du calibrateur et des contrôles sont enregistrés sur le système.
2. Une fois que le calibrateur et les tubes de contrôles ont été pipetés et sont en traitement avec la trousse de réactifs Aptima HIV-1 Quant Assay, des échantillons peuvent alors être testés pendant 24 heures avec la trousse reconstituée correspondante, **à moins que** :
  - a. Les résultats du calibrateur ou des contrôles soient invalides.
  - b. La trousse de réactifs de test correspondante soit retirée 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'utilisation du tube plus d'une fois peuvent entraîner des erreurs de traitement.

### B. Gants poudrés

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

## **Contrôle de la qualité**

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

### **Calibration du test**

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

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

### **Contrôles négatifs et positifs**

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

Le logiciel du système Panther vérifie automatiquement les critères d'acceptation des contrôles lors de leur traitement. Afin d'obtenir des résultats valides, le résultat du contrôle négatif doit être « Non détecté » et les résultats des contrôles positifs doivent correspondre à la plage de paramètres prédéfinie (cible LPC :  $\sim 2,9 \text{ Log}_{10} \text{ c/mL}$ , cible HPC :  $\sim 5,0 \text{ Log}_{10} \text{ c/mL}$ ). Si un résultat invalide est généré pour l'un des contrôles, le logiciel invalide alors automatiquement la série. Les échantillons d'une série invalidée doivent être analysés de nouveau avec un calibrateur et des contrôles fraîchement préparés.

### **Calibrateur interne/Contrôle interne**

Chaque échantillon contient un calibrateur interne/contrôle interne (CI). Le logiciel du système Panther vérifie automatiquement les critères d'acceptation du CI lors du traitement. Si un résultat du CI est invalide, le résultat de l'échantillon est alors invalidé. Chaque échantillon dont le résultat du CI est invalide doit être analysé de 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 cette notice et le *Manuel de l'opérateur du système Panther*.

## Interprétation des résultats

Le système Panther détermine automatiquement la concentration d'ARN du VIH-1 dans les échantillons et les contrôles en comparant les résultats à une courbe de calibration. Les concentrations d'ARN du VIH-1 sont présentées en copies/mL et en  $\log_{10}$  copies/mL. L'interprétation des résultats est présentée au Tableau 1.

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

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

Tableau 1 : Interprétation des résultats

Résultat signalé du test Aptima HIV-1 Quant Assay		Interprétation de la concentration d'ARN du VIH-1
Copies /mL <sup>a</sup>	Log <sub>10</sub> Valeur <sup>b</sup>	
Non détecté	Non détecté	ARN du VIH-1 non détecté.
< 30 détectés	< 1,47	L'ARN du VIH-1 est détecté mais à une concentration inférieure à la LIQ.
30 à 10 000 000	1,47 à 7,00	La concentration d'ARN du VIH-1 se situe dans la plage linéaire comprise entre 30 et 10 000 000 copies/mL.
> 10 000 000	> 7,00	La concentration d'ARN du VIH-1 est supérieure à la limite supérieure de quantification (LSQ).
Invalide <sup>c</sup>	Invalide <sup>c</sup>	Une erreur est survenue lors de la génération du résultat. L'échantillon doit être analysé de nouveau.

<sup>a</sup> Le facteur de conversion des copies en unités internationales (UI) pour la 3<sup>e</sup> norme internationale pour l'ARN du VIH-1 (10/152) est de 0,35 copie/UI.

<sup>b</sup> Valeur arrondie à deux décimales.

<sup>c</sup> Les résultats invalides sont affichés dans une police de couleur bleue.

**Limites**

- A. L'utilisation de ce test est limitée au personnel ayant été formé sur la procédure. Le non-respect des instructions figurant dans cette notice peut donner lieu à des résultats erronés.
- B. L'obtention de résultats fiables repose sur le prélèvement, le transport, l'entreposage et le traitement appropriés des échantillons.
- C. Bien que rares, des mutations au sein des régions hautement conservées du génome viral couvertes par les amorces et/ou les sondes du test Aptima HIV-1 Quant Assay peuvent entraîner une sous-quantification ou une absence de détection du virus.

**Performance non clinique****Limite de détection (LD) à l'aide de la 3<sup>e</sup> norme internationale de l'OMS pour le VIH-1**

Selon la norme CLSI EP17-A2, la limite de détection (LD) est définie comme la concentration d'ARN du VIH-1 dont la probabilité de détection est égale ou supérieure à 95 % (37). La LD a été déterminée en analysant des panels comprenant des dilutions de la 3<sup>e</sup> norme internationale de l'OMS pour le VIH-1 (sous-type B, code NIBSC : 10/152) dans du plasma négatif VIH-1. Trente réplicats de chaque dilution ont été analysés sur trois systèmes Panther à l'aide de trois lots de réactifs, pour un total de 90 réplicats pour chaque dilution. Selon la norme CLSI EP17-A2, les LD ont été définies à l'aide des résultats du lot de réactifs avec la concentration la plus élevée pour la limite de détection (LD) prévue et sont présentées au Tableau 2. Par une analyse Probit, il a été déterminé que la LD prévue de 95 % pour le test Aptima HIV-1 Quant Assay était de 12 copies/mL (35 UI/mL; 0,35 copie = 1 UI).

*Tableau 2 : Limite de détection du test Aptima HIV-1 Quant Assay déterminée avec la 3<sup>e</sup> norme internationale de l'OMS pour le VIH-1*

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

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

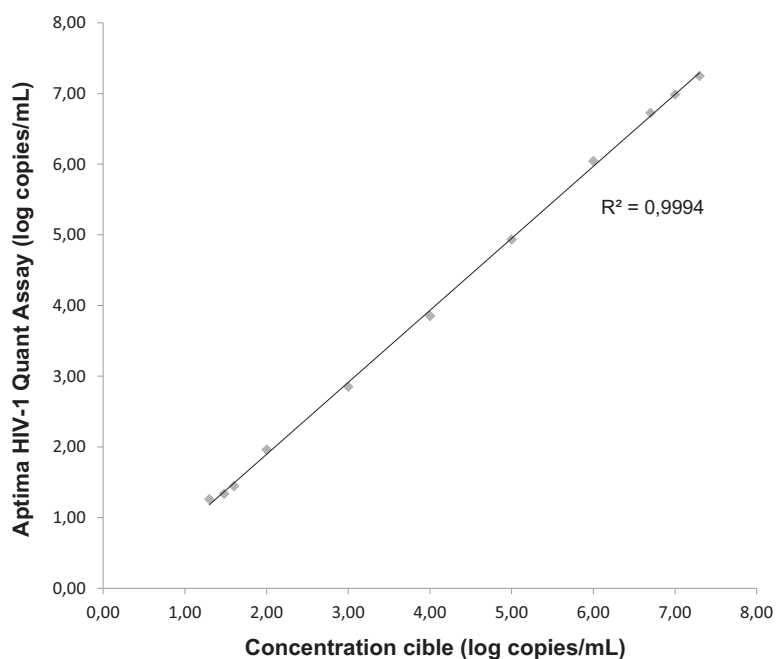
Sept panels ont été créés pour le VIH-1 du groupe M (sous-types A, C, D, F, G, CRF01\_AE, CRF02\_AG) et des groupes N et O en ajoutant du virus VIH-1 cultivé ou des échantillons cliniques positifs à du plasma humain négatif pour le VIH-1 (0 à 40 copies/mL). Chaque échantillon du panel a été analysé dans 30 réplicats avec deux lots de réactifs, pour un total de 60 réplicats par échantillon de panel. La concentration de départ des échantillons cliniques ou des stocks de virus cultivé a été déterminée à l'aide d'un test comparatif. Une analyse Probit a été effectuée afin de générer des limites de détection prévues de 50 % et 95 %. Selon la norme CLSI EP17-A2 (37), les LD définies à l'aide des résultats du lot de réactifs avec la concentration la plus élevée pour la limite de détection (LD) prévue sont définies comme la LD et sont présentées au Tableau 3.

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

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

## Plage linéaire

La plage linéaire du test Aptima HIV-1 Quant Assay a été établie conformément à la norme CLSI EP06-A (38) en analysant des panels comprenant un virus du VIH-1 de sous-type B cultivé dilué dans du plasma humain négatif pour le VIH-1. La concentration des panels allait de 1,30 à 7,30 log<sub>10</sub> copies/mL. Les tests ont été effectués sur sept systèmes Panther avec deux lots de réactifs. Comme l'illustre la Figure 4, la linéarité du test Aptima HIV-1 Quant Assay a été démontrée sur l'ensemble de la plage testée.



**Figure 4. Linéarité du test Aptima HIV-1 Quant Assay**



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

La linéarité de la réponse du test Aptima HIV-1 Quant Assay 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 transcrite VIH-1 dilué dans un tampon à des concentrations allant de 2,00 à 6,70 log<sub>10</sub> 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 testée (Figure 5).

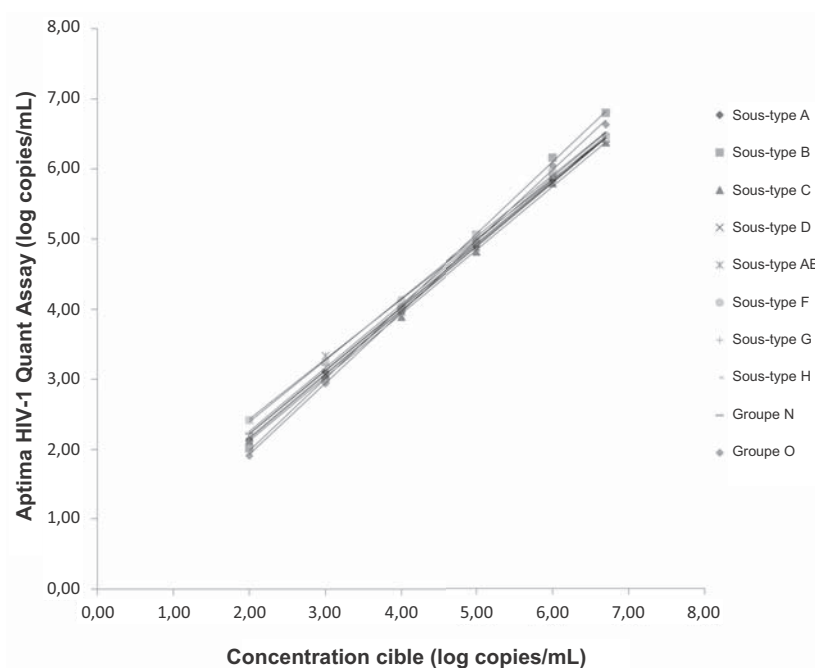


Figure 5. Linéarité pour le groupe M (sous-types A, B, C, D, F, G, H, CRF01\_AE) et les groupes N et O

### Détermination de la limite inférieure de quantification avec la 3<sup>e</sup> norme internationale de l'OMS pour le VIH-1

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

La LIQ a été déterminée en analysant des panels comprenant des dilutions de la 3<sup>e</sup> norme internationale de l'OMS pour le VIH-1 (sous-type B, code NIBSC : 10/152) dans du plasma humain négatif VIH-1. Conformément à la norme CLSI EP17-A2, les panels ont été analysés avec trois lots de réactifs dans des réplicats 30 pour chaque lot en 23 séries. Les résultats sont présentés dans le Tableau 4. La LIQ la plus élevée dans les trois lots analysés pour le test Aptima HIV-1 Quant Assay avec la 3<sup>e</sup> norme internationale de l'OMS pour le VIH-1 est de 15 copies/mL ( $1,17 \log_{10}$  copies/mL) (Tableau 5).

Tableau 4 : Détermination de la LIQ du test Aptima HIV-1 Quant Assay avec la 3<sup>e</sup> norme internationale de l'OMS pour le VIH-1

Lot de réactifs	Concentration cible ( $\log_{10}$ copies/mL)	Aptima HIV-1 Quant ( $\log_{10}$ copies/mL)	ET ( $\log_{10}$ 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

ET = écart-type

Tableau 5 : Résumé des LIQ obtenues avec la 3<sup>e</sup> norme internationale de l'OMS pour le VIH-1 (3 lots de réactifs)

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

### Vérification de la LIQ dans les sous-types et groupes du VIH-1

La LIQ a été vérifiée dans les sous-types et groupes du VIH-1 conformément à la norme CLSI EP17-A2 (37). Des panels ont été créés pour chaque groupe M (sous-types A, B, C, D, F, G, CRF01\_AE, CRF02\_AG) du VIH-1 et les groupes N et O en ajoutant des échantillons cliniques naturellement infectés ou des isolats cliniques à du plasma humain groupé négatif pour le VIH-1. Les tests comprenaient un total de 30 réplicats par échantillon de panel. Les données du Tableau 6 indiquent la concentration la plus faible pour chaque sous-type ou groupe à laquelle l'ET était inférieure à 1 log<sub>10</sub> copies/mL. Pour tous les sous-types et groupes testés, la LIQ la plus élevée était de 30 copies/mL; cette valeur plus élevée a donc été retenue comme la LIQ pour le test Aptima HIV-1 Quant Assay.

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

Panel	LIQ (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 Assay, un panel a été constitué en ajoutant du VIH-1 de sous-type B cultivé à du plasma négatif pour le VIH-1, puis a été analysé par trois opérateurs à l'aide de trois lots de réactifs sur trois systèmes Panther sur une période de 20 jours (Tableau 7). Le panel comprenait un échantillon de panel négatif pour le VIH-1 et huit échantillons de panel positifs pour le VIH-1. La concentration de départ des échantillons cliniques ou des stocks de virus cultivé a été déterminée à l'aide d'un test comparatif.

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

Nombre de répliquats valides	Concentration moyenne (log copies/mL)	D'un appareil à l'autre		D'un opérateur à l'autre		D'un lot à l'autre		D'une série à l'autre		Intra-série		Total	
		ET	ETR (%)	ET	ETR (%)	ET	ETR (%)	ET	ETR (%)	ET	ETR (%)	ET	ETR (%)
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 <sup>a</sup>	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

ET = écart-type, ETR = écart-type relatif

<sup>a</sup> Cet échantillon du panel a été dilué 1:3 dans du diluant d'échantillon et analysé afin d'évaluer la précision de l'échantillon dilué.

**Remarque** : la variabilité de certains facteurs peut être numériquement négative, ce qui peut survenir si la variabilité due à ces facteurs est très minime. Dans ces cas, ET = 0 et ETR = 0 %. Le nombre total de répliquats analysés était de 162 pour chaque panel; seuls les répliquats avec une valeur numérique étaient analysés.

## Substances potentiellement interférentes

La susceptibilité du test Aptima HIV-1 Quant Assay aux interférences générées par des taux élevés de substances endogènes et de médicaments couramment prescrits chez les personnes infectées par le VIH-1 a été évaluée. Des échantillons de plasma humain négatifs pour le VIH-1 et des échantillons auxquels a été ajouté de l'ARN du VIH-1 à une concentration de 3 log<sub>10</sub> copies/mL ont été analysés.

Aucune altération de performance du test Aptima HIV-1 Quant Assay 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 de performance du test Aptima HIV-1 Quant Assay n'a été observée en présence des substances exogènes présentées au Tableau 8 à des concentrations d'au moins trois fois la C<sub>max</sub> (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, enteécavir, telbivudine, emtricitabine
5	Paroxétine HCl, fluoxétine, sertraline
6	Ganciclovir, valacyclovir, aciclovir, rifampine/rifampicine, éthambutol
7	Ciprofloxacine, azithromycine, amoxicilline, céfalexine, ampicilline, triméthoprim
8	Valganciclovir HCl, bocéprévir, télaprévir, simeprévir, sofosbuvir
9	Interféron alpha-2b pégylé, interféron alpha-2a, interféron alpha-2b
10	Héparine, EDTA, citrate de sodium
11	Tipranavir
12	Isoniazide

Les échantillons de plasma cliniques présentés au Tableau 9 prélevés chez des patients présentant des taux élevés de ces substances ou chez des patients souffrant des maladies citées dans le tableau ont été analysés avec le test Aptima HIV-1 Quant Assay en la présence et l'absence de l'ARN du VIH-1 à une concentration de 3 log<sub>10</sub> copies/mL. Aucune altération de performance n'a été observée.

Tableau 9 : Types d'échantillons cliniques testés

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

## Spécificité

La spécificité du test Aptima HIV-1 Quant Assay 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. L'ARN du VIH-1 n'a pas été détecté dans les 630 échantillons. (spécificité de 100 %; IC à 95 % : 99,4 à 100 %).

Tableau 10 : Spécificité dans les échantillons de plasma

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

IC = intervalle de confiance

## Réactivité croisée

La réactivité croisée potentielle du test Aptima HIV-1 Quant Assay 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 de performance du test n'a été observée en présence des agents pathogènes.

Tableau 11 : Agents pathogènes testés pour la réactivité croisée

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

<sup>a</sup> UFP/mL = unités de formation de plaques par mL.

<sup>b</sup> UI/mL = unités internationales par mL.

<sup>c</sup> pv/mL = particules virales par mL.

<sup>d</sup> UFC/mL = unités de formation de colonies par mL.

<sup>e</sup> UFI/mL = unités de formation d'inclusions par mL.

**Reproductibilité des échantillons cliniques**

Dix échantillons cliniques de plasma ont été analysés dans trois réplicats à l'aide du test Aptima HIV-1 Quant Assay. La concentration moyenne et l'écart-type sont présentés dans le Tableau 12.

Tableau 12 : Reproductibilité des échantillons cliniques

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



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

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

Tableau 13 : Dilution d'échantillons

Dilution	Concentration non diluée moyenne (log copies/mL)	Concentration rapportée moyenne <sup>a</sup> (log copies/mL)	Différence
	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
<b>1:3</b>	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 <sup>b</sup>	2,19	-0,27
<b>1:100</b>	> 7,00 (7,16 <sup>c</sup> )	7,48	0,32
<b>1:100</b>	> 7,00 (7,40 <sup>c</sup> ) <sup>b</sup>	7,39	-0,01

<sup>a</sup> La concentration rapportée est la valeur signalée par le système Panther après l'application du facteur de dilution

<sup>b</sup> Échantillon enrichi en ARN

<sup>c</sup> Tous les résultats > 7,00 log copies/mL ont été estimés à l'aide d'une analyse supplémentaire

## Contamination de transfert

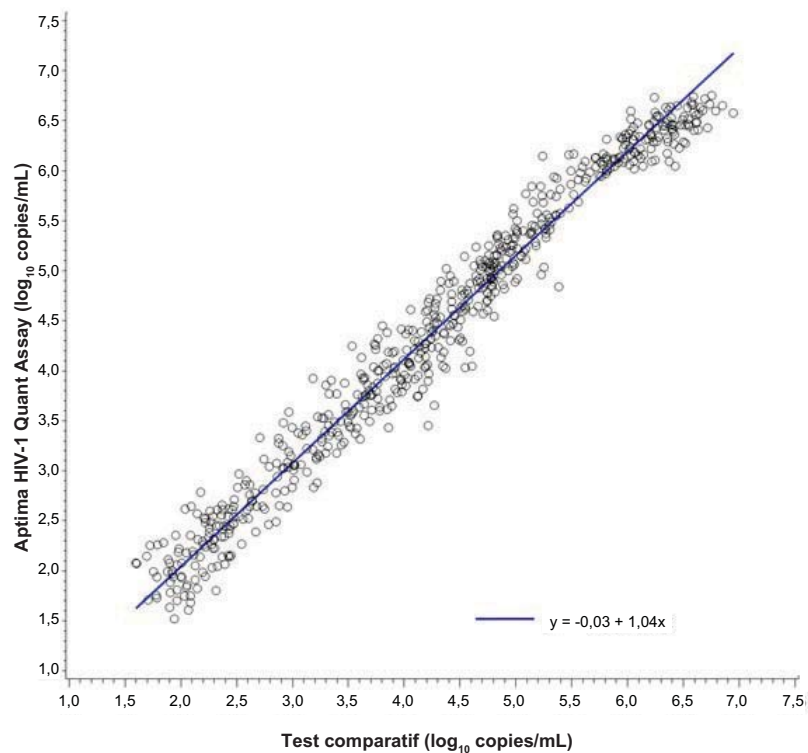
Afin d'établir que le système Panther minimise le risque de résultats faussement positifs par contamination de transfert, une étude analytique à plusieurs séries a été menée sur deux systèmes Panther avec des échantillons enrichis en ARN. La contamination par transfert a été évaluée à l'aide d'échantillons à titre élevé enrichis en VIH-1 (7 log<sub>10</sub> 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).

## Performance clinique

### Étude comparative de méthodes

La quantification de l'ARN du VIH-1 a été comparée entre le test Aptima HIV-1 Quant Assay et un test comparatif approuvé par la FDA. L'étude incluait l'analyse d'échantillons cliniques de plasma (frais ou congelés) et d'échantillons modifiés (virus cultivé ajouté aux échantillons cliniques de plasma négatifs). Chaque échantillon a été analysé en duplicat avec le test Aptima HIV-1 Quant Assay et le test comparatif. Le test Aptima HIV-1 Quant Assay a été exécuté au sein de 3 sites externes, où chaque site utilisait 3 lots de trousse de réactifs; le test comparatif a été exécuté au sein d'un (1) laboratoire externe.

Les résultats des 628 échantillons (dans la plage linéaire des deux tests) ont été analysés à l'aide de la régression de Deming. Sur ces échantillons, 82 étaient des échantillons cliniques entreposés frais (jamais congelés) avant d'être analysés avec le test Aptima HIV-1 Quant Assay et le test comparatif. La Figure 6 présente les résultats de l'analyse de régression de Deming ( $y = -0,03 + 1,04x$ ).



**Figure 6. Corrélation entre le test Aptima HIV-1 Quant Assay et le test comparatif**

## Étude de la spécificité clinique

Pour évaluer la spécificité, des échantillons de plasma négatifs pour le VIH-1 préalablement congelés obtenus de donneurs de sang volontaires ont été analysés avec le test Aptima HIV-1 Quant Assay. Les tests ont été effectués au sein de 3 sites externes avec 3 lots de trousse de réactifs. La spécificité clinique a été calculée comme le pourcentage d'échantillons négatifs pour le VIH-1 avec des résultats « Non détecté ». Six-cent (600) échantillons de plasma négatifs pour le VIH-1 ont été testés et l'ARN du VIH-1 n'a pas été détecté dans les 600 échantillons. La spécificité était de 100 % (600/600, IC du résultat à 95 % : 99,4 % à 100 %).

## Étude de reproductibilité

La reproductibilité du test Aptima HIV-1 Quant Assay a été évaluée sur le système Panther au sein de 3 sites externes. Deux opérateurs ont effectué les tests à chaque site. Chaque opérateur a effectués 2 séries par jour sur une période de 3 jours, avec 3 lots de réactifs pendant la durée des tests. Chaque série comportait 3 réplicats de chaque échantillon du panel.

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

Le Tableau 14 présente la reproductibilité et la précision des résultats de test pour chaque échantillon positif du panel entre les sites, entre les opérateurs, entre les lots, entre les jours, entre les séries, dans les séries et dans l'ensemble. Lorsque seuls les échantillons avec des résultats supérieurs à la limite inférieure de quantification (LIQ) étaient inclus (les échantillons avec des résultats inférieurs à la LIQ étaient exclus), l'écart-type (ET) total était  $\leq 0,2$  log copies/mL pour tous les échantillons du panel. Lorsque tous les échantillons avec de l'ARN du VIH-1 détectable étaient inclus, les valeurs d'ET total sont demeurées les mêmes sauf pour l'échantillon 1 du panel, lequel a obtenu un ET de 0,3 log copies/mL.

Pour l'échantillon du panel négatif pour le VIH-1, 108 réplicats ont été analysés et l'ARN du VIH-1 n'a pas été détecté dans les 108 réplicats (concordance négative = 100 %, IC du résultat à 95 % : 96,6 % à 100 %).

Tableau 14 : Reproductibilité et précision du test Aptima HIV-1 Quant Assay sur le système Panther

Panel	N°	Moyenne Log <sub>10</sub> Copies/mL	Entre les sites		Entre les opérateurs		Entre les lots		Entre les jours		Entre les séries		Dans les séries		Total	
			ET	% ETR	ET	% ETR	ET	% ETR	ET	% ETR	ET	% ETR	ET	% ETR	ET	% ETR
1	107	1,7 <sup>b</sup>	0,0	2,7	0,1	4,1	0,1	4,1	0,0	0,0	0,2	9,9	0,2	14,6	0,3	18,8
	85 <sup>c</sup>	1,8	0,1	3,5	0,0	0,0	0,0	1,0	0,0	0,0	0,1	3,1	0,2	9,0	0,2	10,2
2	108	2,9	0,1	2,7	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	1,5	0,0	0,0	0,1	3,7	0,1	4,8
3	108	3,8	0,1	1,8	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	1,0	0,0	1,0	0,1	1,6	0,1	2,7
4	108	4,9	0,1	1,5	0,0	0,0	0,0	0,6	0,0	0,5	0,0	1,0	0,1	1,2	0,1	2,3
5	108	5,7	0,1	1,3	0,0	0,0	0,0	0,2	0,0	0,9	0,0	0,8	0,1	1,2	0,1	2,1
6	108 <sup>d</sup>	6,7	0,1	0,8	0,0	0,0	0,0	0,3	0,0	0,4	0,1	1,0	0,1	0,8	0,1	1,6

ET = écart-type, ETR = écart-type relatif

<sup>a</sup> Nombre de résultats de test valides avec ARN du VIH-1 détectable.

<sup>b</sup> Inclus 22 réplicats signalés comme  $< 1,47$  log<sub>10</sub> copies/mL. Ces échantillons avaient des valeurs assignées de 1,176 log<sub>10</sub> copies/mL.

<sup>c</sup> Nombre de résultats valides dans la plage linéaire du test.

<sup>d</sup> Inclus 1 réplicat signalé comme  $> 7$  log<sub>10</sub> copies/mL. Cet échantillon avait une valeur assignée de 7,18 log<sub>10</sub> copies/mL.

**Remarque :** la variabilité de certains facteurs peut être numériquement négative, ce qui peut survenir si la variabilité due à ces facteurs est très minime (moins de 0,01). Dans ces cas, l'ET et l'ETR sont indiqués par 0.

**Bibliographie**

1. Barre-Sinoussi, F., J. C. Chermann, F. Rey, M. T. Nugeyre, S. Chamaret, J. Gruest, C. Dauguet, C. Axler-Blin, F. Vezinet-Brun, C. Rouziuz, W. Rozenbaum, and L. Montagnier. 1983. Isolation of a T-lymphotropic retrovirus from a patient at risk for Acquired Immune Deficiency Syndrome (AIDS). *Science* **220**:868–871.
2. Popovic, M., M. G. Sarngadharan, E. Read, and R. C. Gallo. 1984. Detection, isolation, and continuous production of cytopathic retroviruses (HTLV-III) from patients with AIDS and pre-AIDS. *Science* **224**:497–500.
3. Gallo R. C., S. Z. Salahuddin, M. Popovic, G. M. Streater, M. Kaplan, D. F. Haynas, T. J. Palker, R. Redfield, J. Oleske, B. Safai, G. White, P. Foster, and P. D. Markham. 1984. Frequent detection and isolation of cytopathic retroviruses (HTLV III) from patients with AIDS and at risk for AIDS. *Science* **224**:500–503.
4. Piot, P., F. A. Plummer, F. S. Mhalu, J.-L. Lamboray, J. Chin, and J. M. Mann. 1988. AIDS: An international perspective. *Science* **239**:573–579.
5. Sarngadharan, J. G., M. Popovic, L. Broch, J. Scupbach, and R. C. Gallo. 1984. Antibodies reactive with human T-lymphotropic retroviruses (HTLV-III) in the serum of patients with AIDS. *Science* **224**:506–508.
6. Gallo, D., J. S. Kimpton, and P. J. Dailey. 1987. Comparative studies on use of fresh and frozen peripheral blood lymphocyte specimens for isolation of human immunodeficiency virus and effects of cell lysis on isolation efficiency. *J. Clin. Microbiol.* **25**:1291–1294.
7. Clavel, F., D. Guetard, F. Brun-Vezinet, S. Chamaret, M. Rey, M. O. Santos-Ferraira, A. G. Laurent, C. Dauguet, C. Katlama, C. Rouzioux, D. Klatzmann, J. L. Champalimaud, and L. Montagnier. 1986. Isolation of a new human retrovirus from West African patients with AIDS. *Science* **233**:343–346.
8. DeCock, K.M., Jaffe, H.W., Curran, J.W. The evolving epidemiology of HIV/AIDS. *AIDS*, 2012.
9. Gaines, H., M. A. von Sydow, and L.V. von Stedingk. 1990. Immunological changes in primary HIV-1 infection. *AIDS* **4**:995–999.
10. Tindall, B., and D. A. Cooper. 1991. Primary HIV-1 infection: host responses and intervention strategies. *AIDS* **5**:1–14.
11. Daar, E. S., T. Moudgil, R. D. Meyer, and D. D. Ho. 1991. Transient high levels of viremia in patients with primary human immunodeficiency virus type 1 infection. *N. Engl. J. Med.* **324**:961–964.
12. Clark, S. J., M. S. Saag, and W. D. Decker. 1991. High titers of cytopathic virus in plasma of patients with symptomatic primary HIV-1 infection. *N. Engl. J. Medicine* **324**:954–960.
13. Albert J., B. Abrahamsson, K. Nagy, E. Aurelius, H. Gaines, G. Nystrom, and E. M. Fenyo. 1990. Rapid development of isolate-specific neutralizing antibodies after primary HIV-1 infection and consequent emergence of virus variants which resist neutralization by autologous sera. *AIDS* **4**:107–112.
14. Horsburgh, C. R. Jr., C. Y. Ou, J. Jason, S. D. Holmberg, I. M. Longini Jr., C. Schable, K. H. Mayer, A. R. Lifson, G. Schochetman, J. W. Ward, et al. 1989. Duration of human immunodeficiency virus infection before detection of antibody. *Lancet* **16**:637–640.
15. Schnittman, S. M., M. C. Psallidopoulos, H. C. Lane, L. Thompson, M. Baseler, F. Massari, C. H. Fox, N. P. Salzman, and A. S. Fauci. 1989. The reservoir for HIV-1 in human peripheral blood is a T cell that maintains expression of CD4. *Science* **245**:305–308. Erratum in: *Science* 1989 **245**, preceding 694.
16. Schnittman, S. M., J. J. Greenhouse, M. C. Psallidopoulos, M. Baseler, N. P. Salzman, A. S. Fauci, and H.C. Lane. 1990. Increasing viral burden in CD4+ T cells from patients with human immunodeficiency virus (HIV) infection reflects rapidly progressive immunosuppression and clinical disease. *Ann. Intern. Med.* **113**:438–443.
17. Pantaleo, G., C. Graziosi, and A. S. Fauci. 1993. New concepts in the immunopathogenesis of human immunodeficiency virus (HIV) infection. *N. Engl. J. Med.* **328**:327–335.
18. Piatak, M. Jr., M. S. Saag, L. C. Yang, S. J. Clark, J. C. Kappes, K. C. Luk, B. H. Hahn, G. M. Shaw, and J. D. Lifson. 1993. High levels of HIV-1 in plasma during all stages of infection determined by competitive PCR. *Science* **259**:1749–1754.
19. Fauci, A. S., S. M. Schnittman, G. Poli, S. Koenig, and G. Pantaleo. 1991. NIH conference: immunopathogenic mechanisms in human immunodeficiency virus (HIV) infection. *Ann. Intern. Med.* **114**:678–693.
20. Coffin, J. M. 1995. HIV-1 population dynamics in vivo: implications for genetic variation, pathogenesis, and therapy. *Science* **267**:483–489.
21. Ho, D. D., A. U. Neumann, A. S. Perelson, W. Chen, J. M. Leonard, and M. Markowitz. 1995. Rapid turnover of plasma virions and CD4 lymphocytes in HIV-1 infection. *Nature* **373**:123–126.
22. Wei, X., S. K. Ghosh, M. E. Taylor, V. A. Johnson, E. A. Emini, P. Deutsch, J. D. Lifson, S. Bonhoeffer, M. A. Nowak, B. H. Hahn et al. 1995. Viral dynamics in human immunodeficiency virus type 1 infection. *Nature* **373**:117–122.
23. O'Brien, W. A., P. M. Hartigan, D. Martin, J. Esinhart, A. Hill, S. Benoit, M. Rubin, M. S. Simberkoff, and J. D. Hamilton. 1996. Changes in plasma HIV-1 RNA and CD4 lymphocyte counts and the risk of progression to AIDS. Veterans Affairs Cooperative Study Group on AIDS. *N. Engl. J. Med.* **334**:426–431.
24. Welles, S. L., J. B. Jackson, B. Yen-Lieberman, L. Demeter, A. J. Japour, L. M. Smeaton, V. A. Johnson, D. R. Kuritzkes, R. T. D'Aquila, P. A. Reichelderfer, D. D. Richman, R. Reichman, M. Fischl, R. Dolin, R. W. Coombs, J. O. Kahn, C. McLaren, J. Todd, S. Kwok, and C. S. Crumpacker. 1996. Prognostic value of plasma Human Immunodeficiency Virus Type I (HIV-1) RNA levels in patients with advanced HIV-1 disease and with little or no zidovudine therapy. AIDS Clinical Trials Group Protocol 116A/116B/117 Team. *J. Infect. Dis.* **174**:696–703.

25. **Coombs, R. W., S. L. Welles, C. Hooper, P. S. Reichelderfer, R. T. D'Aquila, A. J. Japour, V. A. Johnson, D. R. Kuritzkes, D. D. Richman, S. Kwok, J. Todd, J. B. Jackson, V. DeGruttola, C. S. Crumpacker, and J. Kahn.** 1996. Association of plasma Human Immunodeficiency Virus Type 1 RNA level with risk of clinical progression in patients with advanced infection. AIDS Clinical Trials Group (ACTG) 116B/117 Study Team. ACTG Virology Committee Resistance and HIV-1 RNA Working Groups. *J. Infect. Dis.* **174**:704–712.
26. **Hammer, S., C. Crumpacker, R. D'Aquila, B. Jackson, J. Lathey, D. Livnat, and P. Reichelderfer.** 1993. Use of virologic assays for detection of human immunodeficiency virus in clinical trials: Recommendations of the AIDS Clinical Trials Group Virology Committee. *J. Clin. Microbiol.* **31**:2557–2564.
27. **Schochetman, G., and J. R. George,** ed. 1994. *AIDS Testing: A Comprehensive Guide To Technical, Medical, Social, Legal and Management Issues*, 2<sup>nd</sup> ed. Springer-Verlag, New York.
28. **Mulder, J., N. McKinney, C. Christopherson, J. Sninsky, L. Greenfield, and S. Kwok.** 1994. Rapid and simple PCR assay for quantitation of human immunodeficiency virus type 1 RNA in plasma: application to acute retroviral infection. *J. Clin. Microbiol.* **32**:292–300.
29. **Dewar, R. L., H. C. Highbarger, M. D. Sarmiento, J. A. Todd, M. B. Vasudevachari, R. T. Davey, Jr., J. A. Kovacs, N. P. Salzman, H. C. Lane, and M. S. Urdea.** 1994. Application of branched DNA signal amplification to monitor human immunodeficiency virus type 1 burden in human plasma. *J. Infect. Dis.* **170**:1172–1179.
30. **van Gemen, B., T. Kievits, R. Schukkink, D. van Strijp, L. T. Malek, R. Sooknanan, H. G. Huisman, and P. Lens.** 1993. Quantification of HIV-1 RNA in plasma using NASBA during HIV-1 primary infection. *J. Virol. Methods* **43**:177–187.
31. **Gill, P. and Ghaemi, A.** 2008. Nucleic acid isothermal amplification technologies: a review. *Nucleosides Nucleotides Nucleic Acids.* **27**(3):224-43.
32. **Hill, C.** 2001. Molecular diagnostic testing for infectious diseases using TMA technology. *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.* CLSI Document MM13-A. Wayne, PA.
34. **29 CFR Part 1910.1030.** Occupational Exposure to Bloodborne Pathogens; current version.
35. **Centers for Disease Control and Prevention/National Institutes of Health.** Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories (BMBL); current version.
36. **Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI).** 2002. *Clinical Laboratory Waste Management.* CLSI Document GP5-A2. Villanova, PA.
37. **Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI).** 2012. *Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures; Approved Guideline—Second Edition.* CLSI Document EP17-A2. Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne, PA.
38. **Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI).** 2003. *Evaluation of the Linearity of Quantitative Measurement Procedures: A Statistical Approach; Approved Guideline.* CLSI document EP06-A. Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne, PA.



Hologic, Inc.  
10210 Genetic Center Drive  
San Diego, CA 92121 É.-U.

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

Pour d'autres coordonnées, visitez le site [www.hologic.com](http://www.hologic.com).

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

Armored RNA est une marque de commerce de Asuragen, Inc.

Toutes les autres marques de commerce pouvant apparaître dans cette notice appartiennent à leurs propriétaires respectifs.

Ce produit peut être couvert par un ou plusieurs brevets américains identifiés sur le site [www.hologic.com/patents](http://www.hologic.com/patents).

© 2018 Hologic, Inc. Tous droits réservés.  
AW-15727-2201, Rév. 003  
2018-09