

Dried Blood Spot (DBS) Supplement to the Aptima™ HIV-1 Quant Dx Assay

Pour diagnostic *in vitro*.

Réservé à l'exportation américaine.

Informations générales	2
Introduction	2
Usage prévu	2
Résumé et explication du test pour les échantillons DBS	3
Avertissements et précautions	3
Collecte et conservation des échantillons DBS	5
Échantillons placés à bord du Panther System	6
Transport des échantillons	6
Panther System	7
Matériel requis, mais disponible séparément pour les échantillons DBS	7
Procédure de test pour le Panther System	8
Remarques concernant la procédure pour les calibrateurs et les contrôles	11
Contrôle de la qualité	12
Calibration du test	12
Contrôles négatifs et positifs	12
Calibrateur interne/Contrôle interne	12
Interprétation des résultats pour les échantillons DBS	13
Limites	15
Performances pour les échantillons DBS	16
Seuil de détection (LoD) déterminé avec le 3e étalon de référence international de l'OMS pour le VIH-1	16
Plage linéaire	17
Précision	18
Substances potentiellement interférentes	19
Spécificité	19
Spécificité analytique	19
Performance clinique	20
Concordance diagnostique pour le diagnostic précoce chez le nourrisson	20
Corrélation de la méthode	20
Bibliographie	24

Informations générales

Introduction

Cette notice a pour objet de fournir des informations complémentaires à la notice du test *Aptima HIV-1 Quant Dx Assay* (AW-11853). Ce document offre des explications, des avertissements et des précautions, et des instructions relatives à la préparation et à l'analyse d'échantillons sous forme de goutte de sang séché (Dried Blood Spot, DBS) pour le suivi de la charge virale (CV) du VIH-1 et pour le diagnostic précoce chez le nourrisson à l'aide du test *Aptima HIV-1 Quant Dx Assay*. Pour des avertissements et précautions d'ordre général, ainsi que la préparation des réactifs du test *Aptima HIV-1 Quant Dx Assay*, reportez-vous à la notice AW-11853.

Usage prévu

Le test *Aptima HIV-1 Quant Dx Assay* est un test d'amplification de l'acide nucléique *in vitro* conçu pour détecter et quantifier l'ARN du virus de l'immunodéficience humaine de type 1 (VIH-1) des groupes M, N et O, à l'aide du Panther™ System entièrement automatisé. Il est destiné à être utilisé pour faciliter le diagnostic de l'infection par le VIH-1, pour confirmer une infection par le VIH-1 et pour aider à la prise en charge clinique de patients infectés par le VIH-1.

De plus, le test *Aptima HIV-1 Quant Dx Assay* peut être utilisé pour faciliter le diagnostic d'une infection aiguë ou primaire par le VIH-1. La présence de l'ARN du VIH-1 dans le plasma, le sérum ou le sang de patients chez qui des anticorps contre le VIH-1 ne sont pas détectés témoigne d'une infection aiguë ou primaire par le VIH-1. Le test *Aptima HIV-1 Quant Dx Assay* peut être utilisé comme test supplémentaire pour les échantillons qui présentent des résultats réactifs répétés avec des immunodosages approuvés pour le VIH. Si le résultat pour l'échantillon est positif (réactif) avec le test *Aptima HIV-1 Quant Dx Assay*, alors l'infection par le VIH-1 est confirmée.

En prenant en compte le tableau clinique et d'autres marqueurs biologiques, le test *Aptima HIV-1 Quant Dx Assay* peut également être utilisé pour établir un pronostic pour les patients infectés par le VIH-1. Le test *Aptima HIV-1 Quant Dx Assay* peut également être utilisé pour faciliter le diagnostic précoce du VIH-1 chez les nourrissons âgés de moins de 18 mois à partir d'échantillons sous forme de goutte de sang séché (échantillons DBS). Le test *Aptima HIV-1 Quant Dx Assay* peut être utilisé pour faciliter le suivi d'un traitement antirétroviral en mesurant les variations de la concentration en ARN du VIH-1 dans les échantillons de plasma et les échantillons DBS.

Lorsque le test *Aptima HIV-1 Quant Dx Assay* est utilisé pour faciliter le diagnostic d'une infection par le VIH-1, les performances qualitatives du test sont établies avec les échantillons de plasma et de sérum, ainsi qu'avec les échantillons DBS pour les nourrissons âgés de moins de 18 mois. Lorsque le test est utilisé pour faciliter le suivi des traitements antirétroviraux, les performances quantitatives du test sont établies avec les échantillons de plasma et les échantillons DBS uniquement. Les échantillons de sérum ne doivent pas être utilisés pour l'obtention de résultats quantitatifs.

Ce test n'est pas destiné à être utilisé pour le dépistage chez les donneurs de sang ou de plasma.

Résumé et explication du test pour les échantillons DBS

Les échantillons DBS peuvent être utilisés pour le suivi de la charge virale et la détection de l'échec virologique avec un seuil à 1000 copies/mL. (1) Les échantillons DBS peuvent également être utilisés pour faciliter le diagnostic précoce d'une infection par le VIH-1 chez les nourrissons âgés de moins de 18 mois. (2).

Les nourrissons infectés par le VIH sont exposés à un risque de mortalité élevé au cours de leur première année de vie et l'instauration rapide d'un traitement antirétroviral (TAR) réduit de manière significative la morbidité et la mortalité. Les tests sérologiques de dépistage du VIH ne sont pas recommandés chez le nourrisson à cause de la persistance d'anticorps IgG maternels — qui ont traversé la barrière placentaire — jusqu'à l'âge de 18 mois, entraînant d'éventuels résultats faussement positifs lors de la recherche d'anticorps contre le VIH. Pour le diagnostic d'une infection par le VIH-1 chez les enfants âgés de moins de 18 mois, il faut utiliser des tests permettant de détecter des composants du virus VIH-1, tels que l'ARN du VIH-1 ou l'antigène p24. Pour les nourrissons âgés de moins de 18 mois, l'OMS recommande l'utilisation de tests de détection de l'ADN du VIH-1, de l'ARN du VIH-1 ou de l'antigène p24 du VIH-1. Lorsqu'une méthode basée sur la détection de l'ARN du VIH est utilisée, le type d'échantillon recommandé pour le diagnostic précoce chez le nourrisson est la goutte de sang séché. (2,3)

Avertissements et précautions

Remarque: La signalisation des risques reflète les classifications des fiches de données de sécurité (FDS) de l'UE. Pour obtenir des informations sur les mentions de danger spécifiques à votre région, consultez la FDS spécifique à la région dans la Safety Data Sheet Library (Bibliothèque des fiches de données de sécurité) à l'adresse www.hologicds.com.

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

Recommandations concernant les échantillons DBS

- C. Les échantillons peuvent présenter un risque infectieux. Utilisez les précautions universelles (4,5,6) lors de la réalisation de ce test. Des méthodes de manipulation et d'élimination des déchets appropriées doivent être établies selon la réglementation locale en vigueur.(6) Cette procédure ne doit être réalisée que par du personnel dûment formé sur l'utilisation du test Aptima HIV-1 Quant Dx Assay et sur la manipulation de produits infectieux.
- D. Maintenez des conditions de stockage 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.
- E. 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 et lors de la manipulation des échantillons DBS. Les échantillons peuvent contenir des taux d'organismes très importants. Veillez à éviter tout contact entre les différents tubes d'échantillon et à ne pas passer au-dessus d'un récipient ouvert pour éliminer du matériel usagé. Changez de gants en cas de contact avec un échantillon.

- F. Recueillez et manipulez les échantillons de sang veineux (EDTA) — ou de sang par piqûre du talon ou du bout du doigt — utilisés pour préparer les gouttes de sang séché, ainsi que les buvards comportant les gouttes de sang séché (cartons DBS), conformément aux recommandations locales relatives à la prévention de la transmission de pathogènes à diffusion hématogène.
- G. Il est recommandé de préparer au moins trois gouttes de sang séché sur chaque buvard.
- H. Une préparation, un séchage, une conservation ou une manipulation inapproprié(e) des échantillons DBS peuvent entraîner des résultats de test erronés.
- I. Assurez-vous que les buvards DBS sont entièrement secs avant de les placer dans les sacs de type « zip lock » avec le sachet déshydratant. La stabilité d'échantillons DBS insuffisamment séchés peut être réduite et entraîner des résultats de test erronés.
- J. Assurez-vous que les buvards DBS non utilisés sont conservés et manipulés selon les instructions du fabricant.
- K. Pour plus d'informations sur la préparation et la manipulation des échantillons DBS, reportez-vous aux instructions du fabricant des buvards DBS.
- L. Pour éviter toute contamination par transfert, assurez-vous que les outils utilisés pour découper et manipuler les cercles de papier buvard contenant le sang séché sont décontaminés avant et après tout contact avec l'échantillon.
- M. Utilisez uniquement le tampon d'extraction Aptima DBS pour l'extraction des échantillons DBS. N'utilisez pas le diluant d'échantillon Aptima ou d'autres tampons pour l'extraction des échantillons DBS.
- N. Pour d'autres avertissements et précautions destinés aux laboratoires, reportez-vous à la notice du test *Aptima HIV-1 Quant Dx Assay* (AW-11853).

Recommandations concernant les tests

- O. Les résultats quantitatifs du test Aptima HIV-1 Quant Dx Assay ont été évalués avec des échantillons DBS et des échantillons de plasma. Le sérum ne doit pas être utilisé pour l'obtention de résultats quantitatifs. Les résultats qualitatifs ont été évalués avec des échantillons DBS, du plasma et du sérum. N'utilisez pas le kit de réactifs, le calibrateur ou les contrôles après la date de péremption.
- P. N'utilisez pas les buvards DBS après la date de péremption définie par le fabricant. N'échangez pas, ne mélangez pas et ne combinez pas les réactifs de test de kits portant différents numéros de lot de référence. Les liquides de test peuvent provenir de numéros de lots différents. Les contrôles et le calibrateur peuvent provenir de numéros de lots différents.
- Q. Veillez à éviter de contaminer les réactifs par des agents microbiologiques ou des nucléases.
- R. Fermez et conservez tous les réactifs de test aux températures indiquées. La performance du test peut être affectée par l'utilisation de réactifs de test mal conservés. Reportez-vous à la section *Procédure de test pour le Panther System* pour de plus amples informations.

- S. Ne combinez pas de réactifs de test ou de liquides de test sans consignes spécifiques. Ne rajoutez pas de réactif ou de liquide dans les flacons. Le Panther System vérifie le niveau des réactifs.
- T. Pour obtenir des informations sur les mentions de danger, reportez-vous à la notice du test *Aptima HIV-1 Quant Dx Assay* (AW-11853).

Collecte et conservation des échantillons DBS

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

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

Vous pouvez utiliser des échantillons de sang total avec EDTA ou des échantillons de sang capillaire recueillis par piqûre du talon ou du bout du doigt.

A. Collecte et préparation des échantillons DBS

- Une fois collecté dans des tubes de prélèvement appropriés, le sang total peut être conservé pendant 24 heures entre 2 °C et 30 °C avant d'être déposé sur les buvards. Avant de déposer le sang sur le buvard DBS, mélangez-le soigneusement. Du sang capillaire peut être recueilli par piqûre du talon ou du bout du doigt selon la procédure applicable ou la pratique locale.
- Déposez environ 70 µL de sang total au centre des cercles de 12 millimètres sur les buvards Ahlstrom/Munktel TFN ou équivalent (par exemple papier buvard Whatman 903). Si du sang recueilli par piqûre du talon ou du bout du doigt est utilisé, déposez environ 3 à 5 gouttes (environ 70 µL) dans chaque cercle, en vous assurant que la surface entière du cercle (des deux côtés du buvard) est saturée.
- Séchez les buvards DBS à l'air à température ambiante (15 °C à 30 °C) pendant 4 à 24 heures. Assurez-vous que les buvards DBS sont maintenus hors de la lumière directe du soleil, ne sont pas au contact les uns avec les autres, et sont complètement séchés avant de les emballer, de les stocker ou de les expédier.

Remarque: Les échantillons DBS préparés à partir d'une quantité de sang insuffisante, mal séchés et/ou manipulés ou conservés de manière inappropriée peuvent entraîner des résultats de test erronés.

B. Échantillons DBS

Avant de préparer les échantillons DBS, les tubes de prélèvement primaires contenant du sang total peuvent être entreposés entre 2 °C et 30 °C jusqu'à 24 heures après le prélèvement de l'échantillon (Figure 1, encadré supérieur).

Les échantillons DBS préparés peuvent être stockés dans l'une des conditions de conservation suivantes (Figure 1, encadrés inférieurs) :

- Buvard DBS entre 2 °C et 30 °C pendant jusqu'à 12 semaines au taux d'humidité ambiant, ou
- Buvard DBS entre -15 °C et -35 °C pendant jusqu'à 12 semaines, ou
- Buvard DBS à 40 °C pendant jusqu'à 2 semaines à 85 % d'humidité.

Avant d'être analysés, les échantillons DBS extraits dans les tubes d'aliquote d'échantillon Aptima (SAT) peuvent être conservés entre 15 °C et 30 °C pendant jusqu'à 24 heures.

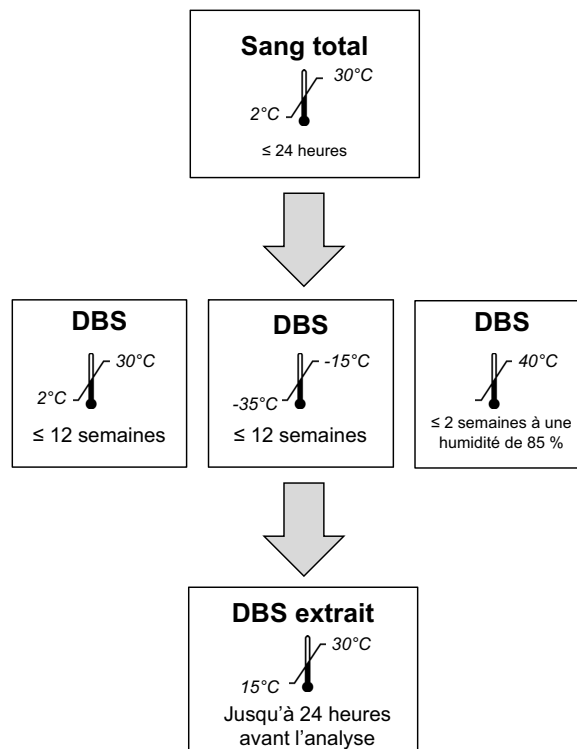


Figure 1. Conditions de conservation des échantillons DBS

Échantillons placés à bord du Panther System

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

Transport des échantillons

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

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

Panther System

Les réactifs pour utilisation avec le test Aptima HIV-1 Quant Dx Assay sur le Panther System sont indiqués dans la notice du test *Aptima HIV-1 Quant Dx Assay* (AW-11853).

Matériel requis, mais disponible séparément pour les échantillons DBS

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

Matériel	Réf
Tampon d'extraction Aptima DBS (100 mL)	PRD-04772
Tubes Aptima SAT (100/paquet)	503762
Bouchons pour tubes de transport (100/paquet) <i>Bouchons pour tubes SAT</i>	504415
Buvards DBS disponibles dans le commerce : <i>buvards Ahlstrom/Munktel TFN ou équivalent (p. ex. Whatman 903)</i>	—
Ciseaux, pince ou autres outils pour retirer la goutte de sang séché du buvard.	—
Embouts, 1 000 µL conducteurs, à détection de liquide	10612513 (Tecan)
Eau de Javel, solution d'hypochlorite de sodium 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)
Protecteur de paillasse de laboratoire à envers plastifié	—
Chiffons non pelucheux	—
Pipette	—
Embouts	—
Tube de prélèvement primaire (ACD, EDTA, PPT), dimensions possibles :	
13 mm x 100 mm	—
13 mm x 75 mm	—
16 mm x 100 mm	—
Centrifugeuse	—
Agitateur de tubes	—

Procédure de test pour le Panther System

A. Extraction des échantillons DBS

1. Laissez les échantillons atteindre une température entre 15 °C et 30 °C avant de procéder.
2. Ajoutez 1 mL de tampon d'extraction DBS dans le tube SAT.
3. À l'aide d'un outil décontaminé (un embout de pipette, une pince ou des ciseaux), transférez l'échantillon DBS dans un tube SAT contenant le tampon d'extraction DBS. Le diamètre de chaque échantillon DBS doit être d'environ 12 mm.

Remarque: *Pour les cartons DBS non perforés, assurez-vous que l'échantillon adhère à la paroi du tube SAT.*

4. Fermez hermétiquement les tubes SAT contenant les échantillons DBS et le tampon d'extraction DBS à l'aide de bouchons pour tubes de transport.
5. Placez les tubes sur un agitateur à bascule pour les agiter doucement pendant 30 minutes à température ambiante. Assurez-vous que le tampon d'extraction DBS circule sur et autour de l'échantillon DBS pendant l'agitation. Veillez à éviter la formation excessive de mousse.

Remarque: *Avant d'être analysés, les échantillons DBS extraits dans les tubes SAT peuvent être conservés jusqu'à 24 heures à une température entre 15 °C et 30 °C.*

6. Centrifugez le tube SAT contenant l'échantillon DBS extrait pendant 2 minutes à 3 000 g avant de charger le tube sur le Panther System.
7. Chargez le tube SAT contenant l'échantillon DBS sur le Panther System (l'échantillon DBS extrait peut être stocké sur le Panther System pendant un maximum de 8 heures).

Remarque: *Pour éviter toute contamination par transfert, assurez-vous que les outils utilisés pour la préparation et la manipulation de l'échantillon sont décontaminés entre chaque échantillon.*

Remarque: *La durée de 8 heures sur le Panther System et la durée de conservation de 24 heures après l'extraction ne sont pas cumulables.*

B. Préparation du système pour les échantillons DBS

1. Configurez le système selon les instructions fournies dans le *Manuel de l'opérateur du Panther System*.
2. Chargez le portoir d'échantillons.
3. **Appliquez le facteur de conversion pour goutte de sang séché** aux demandes de test pour les échantillons DBS.

Pour appliquer le facteur de conversion pour goutte de sang séché à un portoir entier d'échantillons DBS :

- a. Dans l'écran *Chargement du portoir d'échantillons*, sélectionnez le champ **Appliquer la dilution à tous**.

La fenêtre *Facteur de dilution* s'affiche.

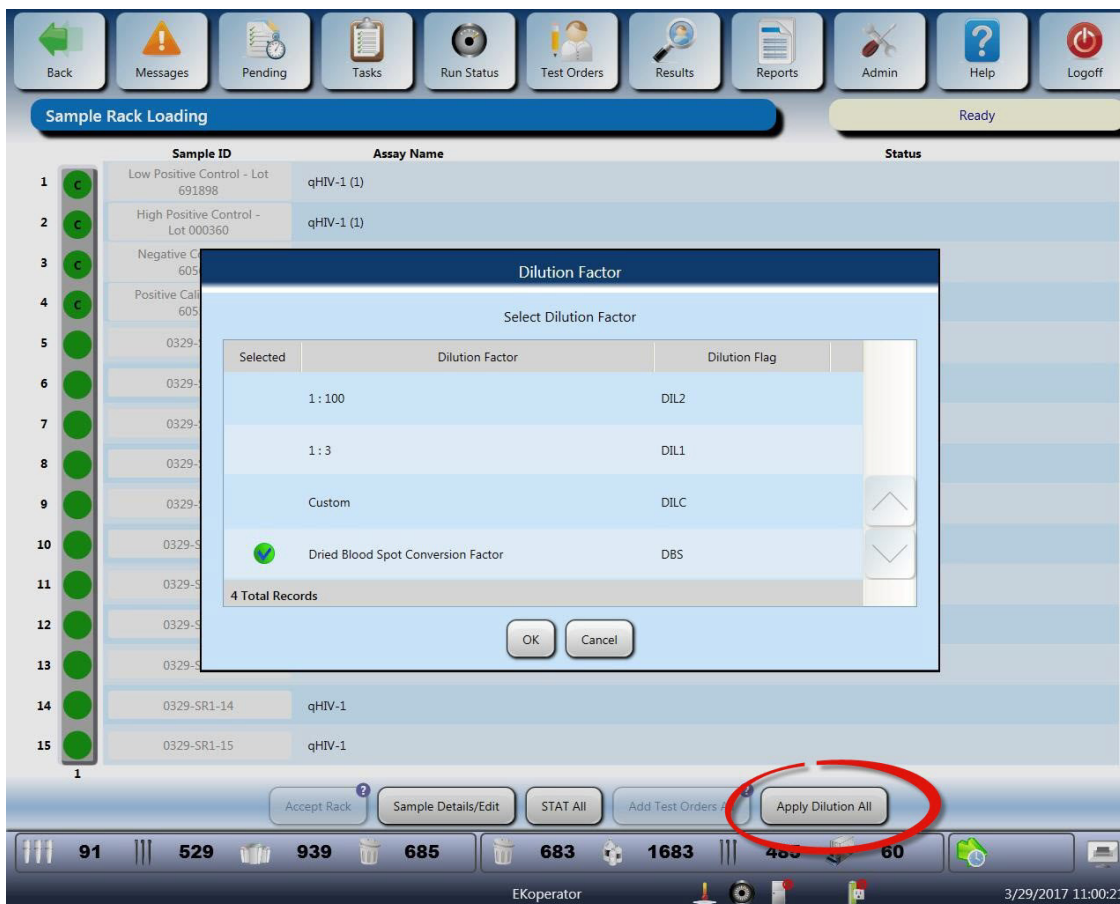


Figure 2. La fenêtre *Facteur de dilution* de l'écran *Chargement du portoir d'échantillons*

- b. Sélectionnez **Facteur de conversion pour goutte de sang séché**.
- c. Sélectionnez **OK**.
Une fenêtre *Définir le facteur de dilution pour le portoir* s'affiche.
- d. Sélectionnez **Oui** pour appliquer l'indicateur Facteur de conversion pour goutte de sang séché au portoir entier d'échantillons DBS.

Pour appliquer le Facteur de conversion pour goutte de sang séché à une seule demande de test (par exemple, le troisième échantillon du portoir), reportez-vous à l'illustration ci-dessous :

- a. Dans l'écran *Détails de l'échantillon*, sélectionnez la demande de test à traiter et sélectionner **Appliquer la dilution**.

La fenêtre *Facteur de dilution* s'affiche.

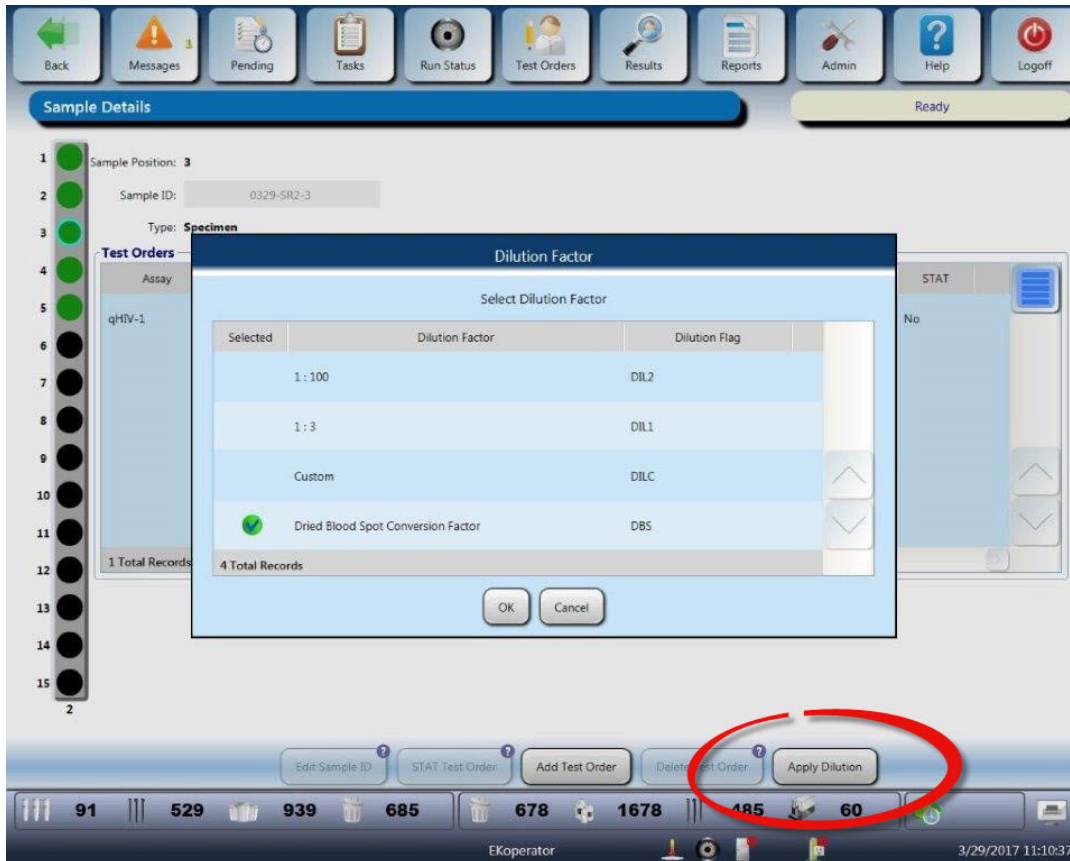


Figure 3. La fenêtre *Facteur de dilution* de l'écran *Détails de l'échantillon*

- b. Sélectionnez **Facteur de conversion pour goutte de sang séché**.
- c. Sélectionnez **OK** pour appliquer l'indicateur Facteur de conversion pour goutte de sang séché à toutes les demandes de test sélectionnées.

Si besoin, le facteur de conversion pour goutte de sang séché peut être supprimé des demandes de test avant le début du traitement de la demande.

Pour supprimer le facteur de conversion pour goutte de sang séché pour un portoir entier :

1. Dans l'écran *Compartiment du portoir d'échantillons*, double-cliquer sur le portoir chargé concerné.

L'écran *Chargement du portoir d'échantillons* s'affiche pour le portoir sélectionné.

2. Sélectionnez **Appliquer la dilution à tous**.

3. Dans la fenêtre *Facteur de Dilution*, désélectionnez **Facteur de conversion pour goutte de sang séché**.
4. Sélectionnez **OK**.
Une fenêtre *Définir le facteur de dilution pour le portoir* s'affiche.
5. Sélectionnez **Oui** pour supprimer le facteur de conversion pour goutte de sang séché pour un portoir entier.

Pour supprimer le facteur de conversion pour goutte de sang séché pour des commandes de test isolées :

1. Dans l'écran *Compartment du portoir d'échantillons*, double-cliquer sur le portoir chargé contenant le ou les échantillons d'intérêt.
L'écran *Chargement du portoir d'échantillons* s'affiche pour le portoir d'échantillons sélectionné.
2. Double-cliquez sur l'échantillon d'intérêt dans l'écran *Chargement du portoir d'échantillons*.
L'écran *Détails de l'échantillon* s'affiche et présente les demandes de test actuelles pour l'échantillon sélectionné.
3. Sélectionnez la commande de test d'intérêt dans le panneau *Commandes de test*.
4. Sélectionnez **Appliquer la dilution**.
5. Dans la fenêtre *Facteur de Dilution*, désélectionnez **Facteur de conversion pour goutte de sang séché**.
6. Sélectionnez **OK** pour supprimer le facteur de conversion pour goutte de sang séché pour la demande de test.

Remarques concernant la procédure pour les calibrateurs et les contrôles

Aucun contrôle DBS positif ou négatif n'est fourni pour les échantillons DBS. Les calibrateurs et contrôles à utiliser pour les échantillons DBS sont les mêmes que pour les échantillons sous forme de sérum ou de plasma. Reportez-vous à la notice AW-11853.

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

Les calibrateurs à utiliser pour les échantillons DBS sont les mêmes que pour les échantillons de sérum ou de plasma. Reportez-vous à la notice AW-11853.

Contrôles négatifs et positifs

Les contrôles à utiliser pour les échantillons DBS sont les mêmes que pour les échantillons sous forme de sérum ou de plasma. Reportez-vous à la notice AW-11853.

Calibrateur interne/Contrôle interne

Chaque échantillon contient un calibrateur interne/contrôle interne (CI). Reportez-vous à la notice AW-11853.

Interprétation des résultats pour les échantillons DBS

Le Panther System détermine automatiquement la concentration en ARN du VIH-1 dans les échantillons et les contrôles en comparant les résultats à une courbe de calibration. Pour les échantillons DBS analysés, le Panther System génère automatiquement les valeurs de copies/mL et de log₁₀ copies/mL pour l'ARN du VIH-1 sur la base d'un facteur de conversion pour goutte de sang séché. La conversion logarithmique du seuil de détection (Limit of detection, LoD) pour les échantillons DBS de 883 copies/mL est de 2,95 log copies/mL. L'interprétation des résultats de la charge virale est présentée dans le Tableau 1.

Le Panther System ne génère pas de résultat qualitatif (c.-à-d., « Réactif » ou « Non réactif ») à des fins diagnostiques (pour le diagnostic précoce chez le nourrisson). L'opérateur doit interpréter la concentration en ARN du VIH-1 rapportée pour en tirer un résultat qualitatif (reportez-vous au Tableau 2). Les échantillons dont les résultats sont signalés comme « Non détecté » sont non réactifs pour l'ARN du VIH-1. Les résultats d'échantillons signalés comme « < 883 copies détectées » ou qui se situent dans la plage linéaire indiquent que l'ARN du VIH-1 a été détecté et que ces échantillons sont réactifs pour l'ARN du VIH-1. Les échantillons dont les résultats sont inférieurs à 1 900 copies/mL doivent être réanalysés afin de confirmer la réactivité pour le diagnostic du VIH.

Tableau 1: Interprétation des résultats de charge virale pour les échantillons DBS

Résultat du test Aptima HIV-1 Quant Dx Assay		Interprétation de la concentration en ARN du VIH-1
Copies/mL	Valeur Log ₁₀ ^a	
Non détecté	Non détecté	ARN du VIH-1 non détecté.
< 883 copies détectées	< 2,95	L'ARN du VIH-1 est détecté, mais à une concentration inférieure à la limite inférieure de quantification (Lower limit of quantitation, LLoQ) pour les échantillons DBS (LLoQ de 883 copies/mL pour les échantillons DBS)
883 à 10 000 000	2,95 à 7,00	La concentration en ARN du VIH-1 se situe dans la plage linéaire du test pour les échantillons DBS (entre 883 et 10 000 000 copies/mL).
> 10 000 000	> 7,00	La concentration en ARN du VIH-1 est supérieure à la limite supérieure de quantification (Upper limit of quantitation, ULoQ).
Non valide ^c	Non valide ^c	Une erreur est survenue lors de la génération du résultat. L'échantillon doit être analysé à nouveau.

^a Valeur arrondie à deux décimales.

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

Tableau 2: Interprétation des résultats pour le diagnostic des échantillons DBS

Résultat du test Aptima HIV-1 Quant Dx Assay		Interprétation qualitative à des fins diagnostiques
Copies/mL	Valeur Log ₁₀ ^a	
Non détecté	Non détecté	ARN du VIH-1 non détecté.
< 883 copies détectées ou 883 à 1900	< 2,95 ou 2,95 à 3,28	Une nouvelle analyse est nécessaire pour confirmer un résultat diagnostique « réactif ». L'échantillon doit être considéré comme réactif seulement en cas de nouveau résultat positif. ^b
1901 à 10 000 000	3,28 à 7,00	Réactif pour l'ARN du VIH-1
> 10 000 000	> 7,00	Réactif pour l'ARN du VIH-1
Non valide ^c	Non valide ^c	Une erreur est survenue lors de la génération du résultat. L'échantillon doit être analysé à nouveau.

^a Valeur arrondie à deux décimales.

^b **Organisation Mondiale de la Santé, Document d'orientation.** Juillet 2018. Update on Antiretroviral Regimens for Treating and Preventing HIV Infection and Update on Early Infant Diagnosis. HIV Treatment—Interim Guidance. Genève, Suisse.

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

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. Assurez-vous que ce test est utilisé avec le logiciel du Panther System version 6.2 ou ultérieure.
- C. L'utilisation de différentes méthodologies de test peut aboutir à l'obtention de valeurs différentes. Pour réduire le risque d'une interprétation erronée des résultats lors de l'utilisation d'un nouveau test, il est conseillé de valider toute nouvelle méthodologie afin de déterminer les différences des résultats rapportés et prendre en compte ces différences.
- D. Le recueil, le transport, le stockage ou le traitement inapproprié des échantillons peut entraîner des résultats de test erronés.
- E. Ce test a été validé pour utilisation avec les buvards DBS Ahlstrom/Munktel TFN et Whatman 903. Assurez-vous que les buvards DBS sont validés afin de satisfaire aux exigences de votre laboratoire.
- F. Assurez-vous que les buvards DBS sont manipulés et stockés conformément aux instructions du fabricant.

Performances pour les échantillons DBS**Seuil de détection (LoD) déterminé avec le 3^e étalon de référence international de l'OMS pour le VIH-1**

Selon la norme EP17-A2 du CLSI, le seuil de détection (LoD) est défini comme la concentration en ARN du VIH-1 pour laquelle la probabilité de détection est égale ou supérieure à 95 % (7). Le LoD a été déterminé en analysant des panels comprenant des dilutions du 3^e étalon de référence international de l'OMS pour le VIH-1 (sous-type B, code NIBSC : 10/152) dans du sang total négatif pour le VIH-1. Trente réplicats de chaque dilution ont été analysés sur trois Panther System à l'aide de trois lots de réactifs, soit un total de 90 réplicats pour chaque dilution. Selon la norme EP17-A2 du CLSI, les résultats obtenus avec le lot de réactifs dont la concentration est la plus élevée pour le seuil de détection prévu sont définis comme le LoD et sont présentés dans le Tableau 3. Par une analyse Probit, il a été déterminé que le LoD du test Aptima HIV-1 Quant Dx Assay est de 873,88 copies/mL (intervalle de confiance à 95 % : 653,98 à 1311 copies/mL) ou de 2496,8 UI/mL (intervalle de confiance à 95 % : 1868,5 à 3745,72 UI/mL, 0,35 copie = 1 UI).

Tableau 3: LoD du test Aptima HIV-1 Quant Dx Assay pour les échantillons DBS déterminé avec le 3^e étalon de référence international de l'OMS pour le VIH-1

Seuil de détection prévu	Concentration (copies/mL)	Concentration (UI/mL)
10 %	49,21	140,60
20 %	75,61	216,01
30 %	103,05	294,42
40 %	134,26	383,60
50 %	171,93	491,22
60 %	220,17	629,04
70 %	286,86	819,58
80 %	390,97	1117,05
90 %	600,69	1716,24
95 %	873,88	2496,80

Plage linéaire

La plage linéaire du test Aptima HIV-1 Quant Dx Assay a été établie conformément à la norme EP06-A du CLSI (8) en analysant des panels comprenant un virus du VIH-1 de sous-type B cultivé dilué dans du sang total négatif pour le VIH-1. La concentration des panels allait de 2,70 à 7,60 log copies/mL. Les tests ont été effectués sur quatre Panther System avec deux lots de réactifs pour le test Aptima HIV-1 Quant Dx Assay. Comme l'illustre la Figure 4, la linéarité du test Aptima HIV-1 Quant Dx Assay a été démontrée sur l'ensemble de la plage testée.

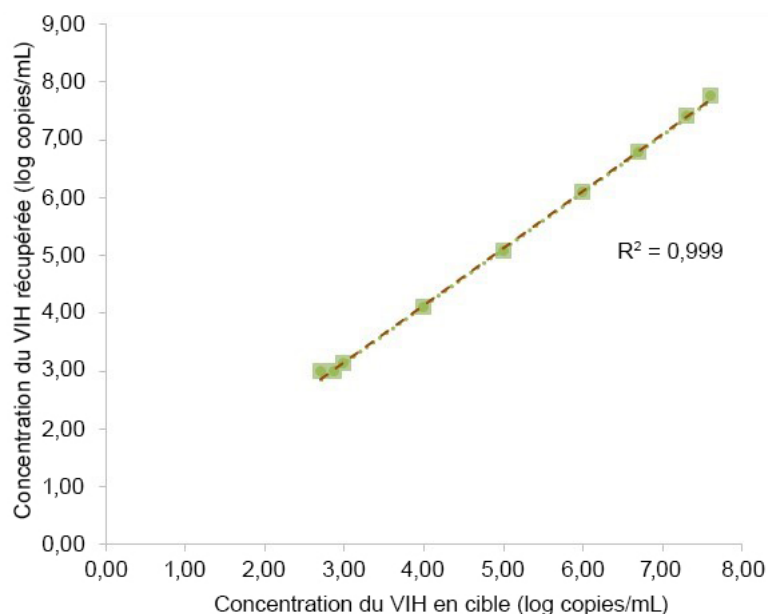


Figure 4. Linéarité du test Aptima HIV-1 Quant Dx Assay pour les échantillons DBS

Limite inférieure de quantification déterminée avec le 3^e étalon de référence international de l'OMS pour le VIH-1

La limite inférieure de quantification (LLoQ) est de 883 copies/mL. La LLoQ a été confirmée conformément à la norme EP-17-A2 du CLSI afin de satisfaire aux exigences relatives à la LLoQ, soit une réactivité > 95 % et une erreur totale ≤ 1 log copies/mL.

Tableau 4: Détermination de la limite inférieure de quantification avec des échantillons de type DBS à l'aide du 3^e étalon de référence international de l'OMS pour le VIH-1 avec 3 lots de réactifs

Lot de réactifs	% Positif	Concentration en Aptima HIV-1 Quant cible (log copies/mL)	Dx (log copies/mL)	ET (log copies/mL)	Biais (log copies/mL)	ET calculée à l'aide de Westgard (log copies/mL)
1	90 %	2,78	2,61	0,60	0,17	1,37
	93 %	2,85	2,66	0,54	0,18	1,26
	93 %	2,90	2,83	0,40	0,07	0,87
	97 %	2,95	2,90	0,18	0,06	0,43
	100 %	3,00	2,98	0,22	0,02	0,46
	100 %	3,08	3,03	0,22	0,05	0,48
2	93 %	2,78	2,57	0,59	0,20	1,38
	97 %	2,85	2,76	0,44	0,09	0,97
	93 %	2,90	2,66	0,54	0,24	1,32
	97 %	2,95	2,79	0,47	0,17	1,10
	97 %	3,00	2,78	0,46	0,22	1,15
	97 %	3,08	2,91	0,37	0,17	0,91
3	100 %	2,78	2,80	0,52	0,02	1,05
	100 %	2,85	2,83	0,36	0,01	0,74
	100 %	2,90	2,89	0,36	0,02	0,74
	100 %	2,95	2,94	0,50	0,02	1,01
	100 %	3,00	2,95	0,23	0,05	0,51
	97 %	3,08	3,07	0,16	0,01	0,33

Tableau 5: Résumé de la LLoQ

Lot de réactifs	LLoQ (log copies/mL)	LLoQ (copies/mL)
1	2,90	787
2	2,91	817
3	2,95	883

Précision

Pour évaluer la précision du test Aptima HIV-1 Quant Dx Assay, un panel a été constitué en ajoutant la culture d'un virus du VIH-1 de sous-type B à du sang total négatif pour le VIH-1. Les panels ont été analysés par trois opérateurs avec trois lots de réactifs et sur trois Panther System, sur une durée de 20 jours (reportez-vous au Tableau 6). Le panel comprenait un échantillon de panel négatif pour le VIH-1 et cinq échantillons de panel positifs pour le VIH-1. La concentration des échantillons cliniques ou de stocks de virus cultivé a été déterminée en testant des échantillons de type DBS avec le test Aptima HIV-1 Quant Dx Assay.

Tableau 6: Précision du test Aptima HIV-1 Quant Dx Assay pour les échantillons DBS

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	ET	ET	ET		
79	3,45	0,00	0,00	0,07	0,00	0,20	0,21
81	3,94	0,00	0,00	0,07	0,08	0,13	0,13
81	4,81	0,01	0,01	0,01	0,07	0,07	0,07
81	5,89	0,00	0,03	0,01	0,07	0,05	0,05
81	6,72	0,00	0,02	0,02	0,06	0,05	0,05

ET = écart-type

Remarque : La variabilité de certains facteurs peut être numériquement négative, ce qui peut survenir si la variabilité due à ces facteurs est très faible. Dans ce cas, ET = 0. Le nombre total de répliquats analysés pour chaque échantillon du panel était 81 ; seuls les répliquats avec des résultats quantifiables ont été utilisés pour l'évaluation de la précision.

Substances potentiellement interférentes

La sensibilité du test Aptima HIV-1 Quant Dx Assay à des interférences générées par des taux élevés d'hémoglobine ou d'ADN humain a été évaluée en analysant des échantillons DBS préparés à partir de sang total en absence du VIH-1 et en présence de 3,42 et 4,7 log copies/mL de VIH-1. Aucune interférence n'a été observée au niveau des performances du test en présence d'hémoglobine (5 mg/mL) et d'ADN génomique humain (2 µg/mL).

La sensibilité du test Aptima HIV-1 Quant Dx Assay aux interférences a également été évaluée pour les échantillons de plasma et aucune interférence n'a été observée au niveau des performances du test en présence de substances exogènes et endogènes. Pour la liste complète des substances potentiellement interférentes testées pour les échantillons de plasma, reportez-vous à la notice du test *Aptima HIV-1 Quant Dx Assay* (AW-11853).

Spécificité

La spécificité du test Aptima HIV-1 Quant Dx Assay a été déterminée en analysant des échantillons DBS préparés à partir du sang de 500 donneurs négatifs pour le VIH-1 sur trois lots de réactifs. La spécificité du test pour les échantillons DBS était de 99,6 % (intervalle de confiance à 95 % : 98,6% à 99,9 %).

Spécificité analytique

La réactivité croisée potentielle du test Aptima HIV-1 Quant Dx Assay avec des pathogènes présents dans le sang total a été évaluée en analysant des échantillons DBS préparés à partir de sang total auquel avait été rajouté 1e6 cellules/mL de chaque organisme en absence du VIH-1 et en présence de 3,42 et 4,7 log copies/mL de VIH-1. Aucune interférence n'a été observée au niveau des performances du test lors de l'analyse d'échantillons DBS contenant *Leishmania major*, *Trypanosoma gambiense*, *Babesia microti Gray*, *Plasmodium falciparum* et *Toxoplasma gondii* en présence et en absence du VIH-1.

La réactivité croisée du test Aptima HIV-1 Quant Dx Assay a également été évaluée pour les échantillons de plasma et aucune interférence n'a été observée au niveau des performances du test en présence de pathogènes. Pour la liste complète des pathogènes testés pour les échantillons de plasma, reportez-vous à la notice du test *Aptima HIV-1 Quant Dx Assay* (AW-11853).

Performance clinique

Concordance diagnostique pour le diagnostic précoce chez le nourrisson

Pour évaluer la concordance diagnostique, des échantillons DBS ont été préparés à partir de sang prélevé par piqûre au talon ou au bout du doigt chez des nourrissons âgés de ≤ 18 mois de mères positives pour le VIH-1, au Kenya, en Afrique. Un seul échantillon DBS a été analysé pour chaque nourrisson avec le test Aptima HIV-1 Quant Dx Assay et avec un autre test qualitatif comparatif pour le VIH-1 homologué CE. Comme indiqué dans le Tableau 7, 1 975 échantillons présentaient des résultats valides pour les deux tests. Pour le test qualitatif comparatif homologué CE, tous les échantillons présentant des résultats réactifs ont été testés à nouveau et seuls les résultats réactifs confirmés ont été classés dans la catégorie « Détecté ». Tous les échantillons avec des résultats non réactifs ont été classés dans la catégorie « Cible non détectée ». Les résultats du test Aptima interprétés comme équivoques (voir Tableau 2) ont été réanalysés. La concordance diagnostique entre les deux tests pour le diagnostic précoce chez le nourrisson était de 99,6 %.

Tableau 7: Concordance diagnostique entre le test Aptima HIV-1 Quant Dx Assay et le test comparatif

		Test comparatif homologué CE	
		Cible non détectée	Détecté
Aptima HIV-1 Quant Dx Assay	Cible non détectée	1888	4
	Détecté	3	80

Corrélation de la méthode

La performance du test Aptima HIV-1 Quant Dx Assay pour les échantillons DBS a été évaluée par comparaison des résultats obtenus avec des échantillons DBS et des échantillons de plasma du test Aptima. Pour cette étude, 258 patients infectés par le VIH-1 ont été recrutés dans 5 sites de prélèvement au Kenya, en Afrique. Pour chaque patient, des échantillons DBS ont été préparés à partir de sang capillaire (piqûre au bout du doigt) et de sang veineux. Du plasma a également été obtenu à partir du même patient. Tous les tests Aptima effectués sur les échantillons DBS et les échantillons de plasma ont été réalisés avec un seul lot de réactifs. Les résultats quantitatifs des échantillons de chaque type ont été analysés par régression linéaire selon la méthode des moindres carrés, comme illustré dans les Figures 5, 6 et 7.

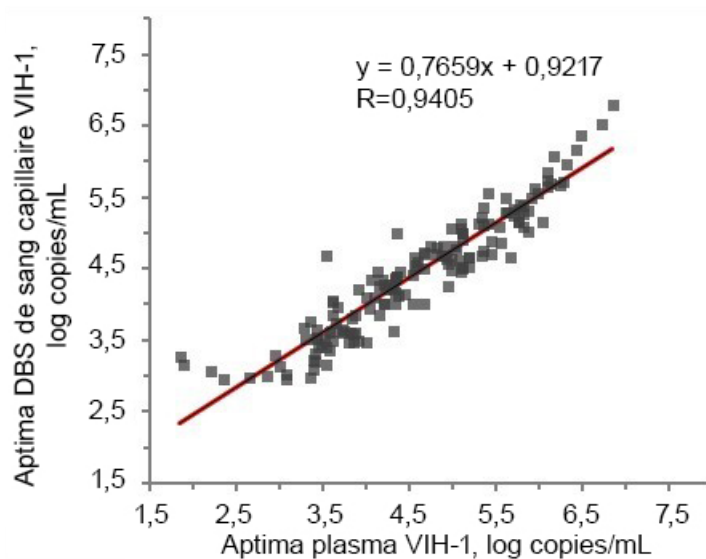


Figure 5. Corrélation entre les DBS de sang capillaire et le plasma

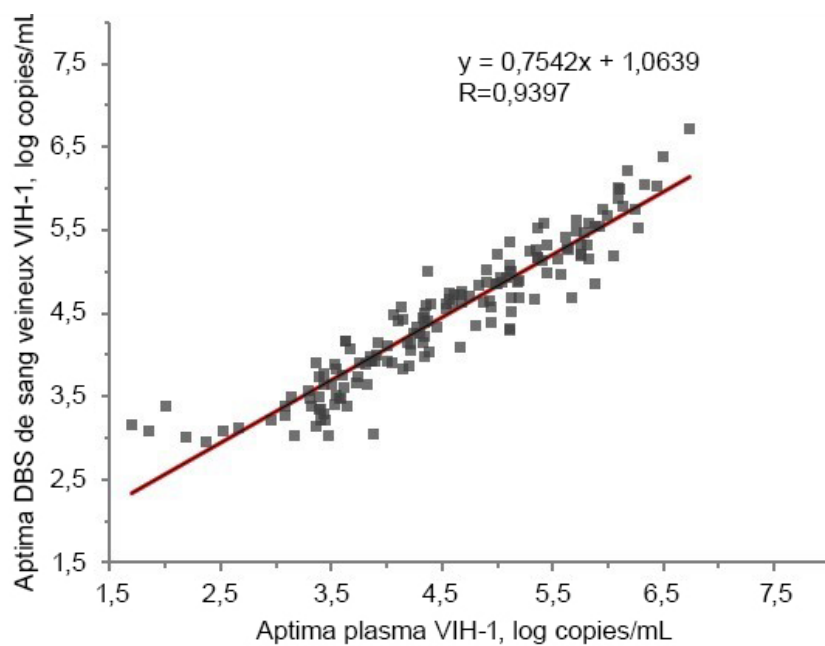


Figure 6. Corrélation entre les DBS de sang veineux et le plasma

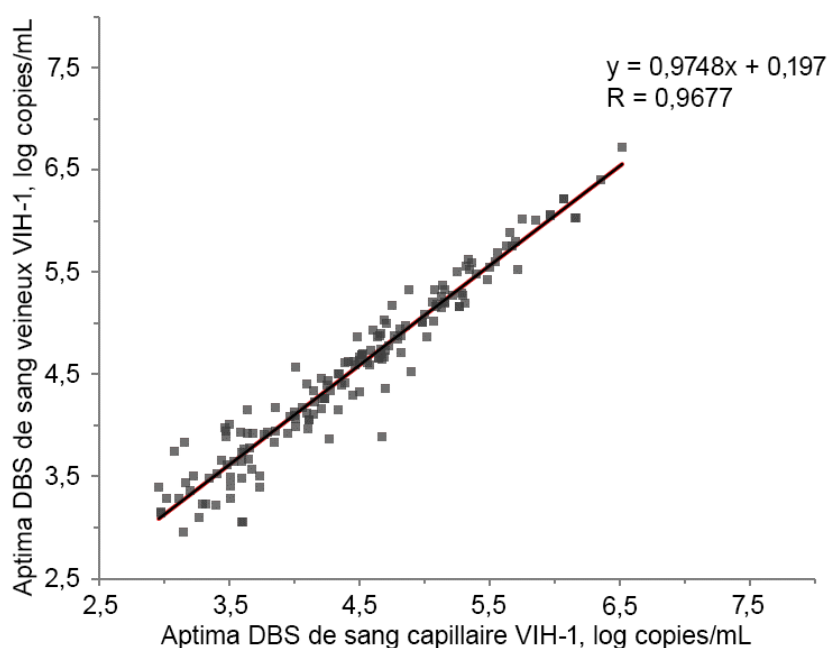


Figure 7. Corrélation entre les DBS de sang capillaire et les DBS de sang veineux

La concordance entre les résultats obtenus avec les échantillons DBS et les échantillons de plasma a également été évaluée à un seuil de 1 000 copies/mL. (Tableaux 8 et 9). Les concordances positive et négative entre les échantillons DBS de sang capillaire (bout du doigt) et les échantillons de plasma étaient respectivement de 92,95 % et 93,14 %. Les concordances positive et négative entre les échantillons DBS de sang veineux et les échantillons de plasma étaient respectivement de 96,15 % et 90,20 %. Les concordances positive et négative entre les échantillons DBS de sang veineux et les échantillons DBS de sang capillaire étaient respectivement de 91,25 % et 93,88 %. La concordance globale entre les résultats pour le VIH-1 obtenus avec le plasma et les résultats pour le VIH-1 obtenus avec les DBS de sang capillaire (bout du doigt) et les DBS de sang veineux étaient respectivement de 93,02 % et 93,80 %.

Tableau 8: Concordance entre les DBS de sang capillaire (bout du doigt) et le plasma avec le test Aptima HIV-1 Quant Dx Assay

		Aptima Plasma	
		< 1000	> 1000
Aptima DBS de sang capillaire (bout du doigt)	< 1000	95	11
	> 1000	7	145

Tableau 9: Concordance entre les DBS de sang veineux et le plasma avec le test Aptima HIV-1 Quant Dx Assay

		Aptima Plasma	
		< 1000	> 1000
Aptima DBS de sang veineux	< 1000	92	6
	> 1000	10	150

Tableau 10: Concordance entre les DBS de sang veineux et les DBS de sang capillaire avec le test Aptima HIV-1 Quant Dx Assay

		DBS de sang veineux avec Aptima	
		< 1000	> 1000
Aptima DBS de sang capillaire (bout du doigt)	< 1000	92	14
	> 1000	6	146

Bibliographie

1. **Organisation mondiale de la santé, Accès aux tests de diagnostic du VIH.** Juillet 2014. Technical and Operational Considerations for Implementing HIV Viral Load Testing: Interim Technical Update. Genève, Suisse. <http://www.who.int/HIV>.
2. **Organisation mondiale de la santé et Programme commun des Nations Unies sur le VIH/SIDA (UNAIDS).** 2010. WHO Recommendations on the Diagnosis of HIV Infection in Infants and Children. Genève, Suisse. <http://www.who.int/HIV>.
3. **Marston M et al.** Net Survival of Perinatally and Postnatally HIV-infected Children: a Pooled Analysis of Individual Data from Sub-Saharan Africa. International Journal of Epidemiology 2011; 40:385-396.
4. **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. **29 CFR Part 1910.1030.** Occupational Exposure to Bloodborne Pathogens ; version actuelle.
5. **Centers for Disease Control and Prevention/National Institutes of Health.** Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories (BMBL) ; version actuelle.
6. **Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI).** 2011. Clinical Laboratory Waste Management. CLSI Document GP05-A3. Wayne, PA.
7. **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.
8. **Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI).** 2003. Evaluation of the Linearity of Quantitative Measurement Procedures: A Statistical Approach; Approved Guideline. CLSI document EP06-A. Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne, PA.



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

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

Pour d'autres coordonnées, visitez le site www.hologic.com.

Hologic, Aptima, Panther et les logos correspondants sont des marques commerciales et/ou des marques commerciales déposées de Hologic, Inc. et/ou de ses filiales, aux États-Unis et/ou dans d'autres pays.
Armored RNA est une marque de commerce de Asuragen, Inc.

Toutes les autres marques commerciales qui peuvent apparaître dans cette notice sont des marques commerciales de leurs détenteurs respectifs.
Ce produit peut être couvert par un ou plusieurs brevets américains identifiés sur le site www.hologic.com/patents.

© 2018-2020 Hologic, Inc. Tous droits réservés.
AW-18108-901 Rev. 002
2020-07