

# COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HCV Qualitative Test, version 2.0

DESTINÉ AU DIAGNOSTIC *IN VITRO*.

COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HCV  
Qualitative Test, v2.0

HCVQLV2

72 Tests

P/N: 05480477 190

COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan®  
Wash Reagent

PG WR

5.1 Liters

P/N: 03587797 190

## Table des matières

<b>USAGE PRÉVU</b> .....	1
<b>RÉSUMÉ ET EXPLICATION DU TEST</b> .....	2
<b>PRINCIPES DE LA PROCÉDURE</b> .....	2
<b>RÉACTIFS</b> .....	4
<b>AVERTISSEMENTS ET PRÉCAUTIONS D'EMPLOI</b> .....	6
<b>CONDITIONS DE MANIPULATION ET DE STOCKAGE</b> .....	7
<b>MATÉRIEL FOURNI</b> .....	8
<b>MATÉRIEL NÉCESSAIRE MAIS NON FOURNI</b> .....	8
<b>PRÉLÈVEMENT, TRANSPORT ET CONSERVATION DES ÉCHANTILLONS</b> .....	9
<b>INSTRUCTIONS D'UTILISATION</b> .....	9
<b>CONTRÔLE QUALITÉ</b> .....	12
<b>RÉSULTATS</b> .....	13
<b>LIMITES DU TEST</b> .....	14
<b>SUBSTANCES INTERFÉRENTES</b> .....	15
<b>ÉVALUATION DES PERFORMANCES NON CLINIQUES</b> .....	16
<b>RÉFÉRENCES</b> .....	21

## USAGE PRÉVU

Le test qualitatif COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HCV, v2.0 est un test qualitatif *in vitro* d'amplification de l'acide nucléique destiné à la détection de l'ARN du virus de l'hépatite C (HCV) de génotype 1 à 6 dans le sérum ou le plasma EDTA humain à l'aide de l'appareil COBAS® AmpliPrep pour le traitement automatisé des échantillons et de l'analyseur COBAS® TaqMan® ou COBAS® TaqMan® 48 pour l'amplification et la détection automatisées. Le test qualitatif COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HCV, v2.0 est utilisé chez les patients présentant des signes cliniques et/ou biochimiques de maladie hépatique ou des anticorps anti-HCV, et chez lesquels on suppose une infection active par le HCV. Le test peut être utilisé pour confirmer la présence d'anticorps dans des échantillons. La détection de l'ARN du HCV indique la réplication du virus et confirme donc un cas d'infection active.

**Le test qualitatif COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HCV, v2.0 ne doit pas servir de test de dépistage du HCV dans le sang ou les produits sanguins.**

## RÉSUMÉ ET EXPLICATION DU TEST

Le virus de l'hépatite C est considéré comme le principal agent étiologique responsable des hépatites post-transfusionnelles (90 à 95 % des cas)<sup>1-4</sup>. Le HCV est un virus à ARN monocaténaire de sens positif dont le génome comporte environ 9 500 nucléotides codant 3 000 acides aminés. Virus à diffusion hémotogène, le HCV peut être transmis par le sang ou les produits sanguins. L'adoption courante de mesures de dépistage du HCV dans le sang a grandement diminué le risque d'hépatite associé aux transfusions. L'incidence d'infections au HCV est la plus élevée lorsqu'elle est associée à l'injection intraveineuse de drogues et, de façon moindre, à d'autres expositions percutanées<sup>4</sup>. La prévalence globale de l'infection au HCV, déterminée par des tests immunosérologiques, varie entre 0,6 % au Canada et 1,5 % au Japon<sup>3</sup>. Les taux de clairance virale spontanée chez les individus exposés sont très variables, 10 à 60 % ont été mesurés cliniquement par la normalisation des enzymes hépatiques et la clairance de l'ARN du HCV dans le plasma<sup>5</sup>.

Les particules virales du HCV ne peuvent pas être cultivées à partir d'échantillons sanguins infectés ; c'est pourquoi la présence d'anticorps anti-HCV chez les patients infectés par le HCV a conduit à développer des tests immunosérologiques spécifiques à ces anticorps. La présence d'anticorps anti-HCV indique qu'un patient a été exposé à une infection au HCV, mais elle ne peut pas être considérée comme indicatrice d'une infection active. Le dosage de l'alanine aminotransférase (ALT) est considéré comme un indicateur auxiliaire d'infection au HCV mais il ne constitue pas une mesure directe de virémie.

Alternativement, la détection de l'ARN du HCV par des tests d'acide nucléique peut servir à démontrer une infection actuelle. À l'aide de tests d'acide nucléique, il est possible de détecter la virémie du HCV avant la séroconversion immunologique<sup>6,7</sup>. Les tests d'acide nucléique étant capables de détecter directement l'ARN du HCV, c'est-à-dire indépendamment de l'état immunologique du patient, un test basé sur l'acide nucléique constitue une aide importante dans la détection de l'ARN du HCV chez les patients immunovulnérables<sup>8</sup>.

## PRINCIPES DE LA PROCÉDURE

Le test qualitatif COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HCV, v2.0 est un test d'amplification de l'acide nucléique pour la détection de l'ARN du virus de l'hépatite C (HCV) dans le sérum ou le plasma EDTA humain. La préparation des échantillons est automatisée au moyen de l'appareil COBAS® AmpliPrep, et l'amplification et la détection sont automatisées au moyen de l'analyseur COBAS® TaqMan® ou COBAS® TaqMan® 48.

Le test qualitatif COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HCV, v2.0 repose sur trois opérations principales : (1) la préparation des échantillons dans le but d'isoler l'ARN du HCV ; (2) la transcription inverse de l'ARN cible pour produire l'ADN complémentaire (ADNc) ; et (3) l'amplification par PCR de l'ADNc cible en même temps que la détection de sondes de détection d'oligonucléotides clivées, doublement marquées, spécifiques à la cible.

### Préparation des échantillons

Le test qualitatif COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HCV, v2.0 recourt à la préparation automatisée des échantillons sur l'appareil COBAS® AmpliPrep à l'aide d'une technique générique de capture basée sur silice. Le volume d'échantillon du test est de 650 µL et la procédure traite 500 µL de plasma EDTA ou de sérum. Les particules du virus du HCV sont lysées par incubation à une température élevée à l'aide d'un tampon de liaison/lyse chaotrope et protéatique qui libère des acides nucléiques et protège l'ARN du HCV libéré contre les RNases du plasma EDTA ou du sérum. La protéase et une quantité connue de molécules d'ARN de contrôle interne (CI) HCV sont introduites dans chaque échantillon avec le réactif de lyse et des particules magnétiques en verre. Ensuite, le mélange est incubé et l'ARN du HCV et l'ARN du CI de HCV sont liés à la surface des particules magnétiques en verre. Les substances non liées, telles que sels, protéines et autres impuretés cellulaires sont retirées par lavage des particules magnétiques de verre. Une fois les billes séparées et les étapes de lavage complétées, les acides nucléiques adsorbés sont élués à température élevée dans une solution aqueuse. L'échantillon traité, contenant l'ARN du HCV et l'ARN du CI de HCV libéré, est ajouté au mélange d'amplification et transféré sur l'analyseur COBAS® TaqMan® ou l'analyseur COBAS® TaqMan® 48.

## Transcription inverse et amplification par PCR

Le test qualitatif COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HCV, v2.0 s'appuie sur la transcription inverse de l'ARN du HCV pour produire de l'ADN complémentaire (ADNc) et sur l'amplification par PCR de l'ADNc à l'aide d'amorces définissant une séquence dans la région hautement conservée 5' non traduite du génome du HCV<sup>3</sup>. La séquence de nucléotides des amorces a été optimisée pour obtenir une amplification comparable des génotypes 1 à 6 du HCV. La transcription inverse et l'amplification par PCR sont réalisées au moyen d'un mélange optimisé d'enzymes thermostables recombinantes : ADN polymérase Z05 et Z05D. En présence de manganèse (Mn<sup>2+</sup>) et dans des conditions tampon appropriées, la Z05 et la Z05D ont à la fois une activité de transcriptase inverse et d'ADN polymérase. Cela permet à la transcription inverse et à l'amplification par PCR de se produire en même temps que la détection en temps réel des amplicons.

Les échantillons traités sont ajoutés au mélange d'amplification dans des tubes d'amplification (tubes K) dans lesquels s'effectuent la transcription inverse et l'amplification par PCR. Le mélange réactif est chauffé pour permettre à une amorce d'aval de se fixer spécifiquement à l'ARN cible du HCV et à l'ARN du CI de HCV. En présence de Mn<sup>2+</sup> et d'un excès de désoxynucléotides triphosphates (dNTP) (désoxyadénosine triphosphate, désoxyguanosine triphosphate, désoxycytidine triphosphate et désoxyuridine triphosphate), les polymérases Z05 et Z05D allongent l'amorce hybridée, produisant ainsi un brin d'ADN (ADNc) complémentaire de l'ARN cible.

### Amplification de la cible

Après la transcription inverse de l'ARN cible du HCV et de l'ARN du CI de HCV, le thermocycleur des analyseurs COBAS® TaqMan® ou COBAS® TaqMan® 48 chauffe le mélange réactionnel afin de dénaturer les hybrides ARN:ADNc et d'exposer les séquences cibles de l'amorce spécifique. Pendant que le mélange refroidit, les amorces s'hybrident à l'ADNc cible. Les ADN polymérases thermostables Z05 et Z05D, en présence de Mn<sup>2+</sup> et d'un excès de désoxynucléotides triphosphates (dNTP), permettent l'extension des amorces hybridées le long des modèles cibles, pour produire une molécule d'ADN bicaténaire appelée amplicon. L'analyseur COBAS® TaqMan® ou l'analyseur COBAS® TaqMan® 48 répète automatiquement cette opération pendant un nombre de cycles déterminé, chaque cycle doublant la quantité d'ADN d'amplicon. Le nombre de cycles nécessaires est préprogrammé dans l'analyseur COBAS® TaqMan® ou l'analyseur COBAS® TaqMan® 48. L'amplification n'a lieu que dans la région du génome du HCV située entre les amorces. Le génome du HCV n'est pas entièrement amplifié.

### Amplification sélective

L'amplification sélective de l'acide nucléique cible à partir de l'échantillon est réalisée grâce au test qualitatif COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HCV, v2.0 à l'aide de l'enzyme AmpErase (uracil-N-glycosylase) et du triphosphate de désoxyuridine (dUTP). L'enzyme AmpErase reconnaît et catalyse la destruction des brins d'ADN contenant de la désoxyuridine<sup>10</sup>, mais pas de l'ADN contenant de la désoxythymidine. L'ADN naturel ne contient pas de désoxyuridine, mais les amplicons en contiennent toujours du fait de l'utilisation de désoxyuridine triphosphate en tant que l'un des dNTP du mélange réactionnel ; ainsi, seuls les amplicons renferment de la désoxyuridine. La présence de désoxyuridine permet la destruction des amplicons contaminants par l'enzyme AmpErase avant l'amplification de l'ADN cible. De même, tout produit non spécifique formé après l'activation initiale du mélange réactionnel par manganèse est détruit par l'enzyme AmpErase. L'enzyme AmpErase, qui fait partie du mélange réactionnel, catalyse le clivage de tout ADN contenant de la désoxyuridine au niveau d'un résidu de désoxyuridine en ouvrant la chaîne de désoxyribose en position C1. Lorsqu'elle est chauffée au cours de la première étape du thermocyclage, la chaîne d'ADN de l'amplicon se casse au niveau de la désoxyuridine, ce qui rend l'ADN non amplifiable. L'enzyme AmpErase reste inactive pendant une période prolongée une fois qu'elle est exposée à des températures supérieures à 55 °C, c'est-à-dire pendant les étapes de thermocyclage, et ne détruit donc pas l'amplicon cible formé pendant la PCR.

## Détection de sondes clivées et doublement marquées et de l'ARN du HCV

Le test qualitatif COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HCV, v2.0 utilise la technologie d'amplification par PCR en temps réel<sup>14,15</sup>. L'utilisation de sondes doublement marquées par fluorescence permet une détection en temps réel de la quantité des produits de la PCR par contrôle de l'intensité d'émission des fluorophores rapporteurs libérés au cours du processus d'amplification. Les sondes sont des sondes oligonucléotidiques spécifiques au HCV et au CI de HCV avec un fluorophore rapporteur et un fluorophore quencher. Au cours du test qualitatif COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HCV, v2.0, les sondes HCV et du contrôle interne de HCV sont marquées avec des fluorophores rapporteurs fluorescents différents. Lorsque ces sondes sont intactes, la fluorescence du fluorophore rapporteur est supprimée du fait de la proximité du fluorophore quencher par suite des effets de transfert d'énergie de type Förster. Pendant la PCR, la sonde s'hybride à la séquence cible et est clivée par l'activité nucléase 5'→3' des ADN polymérases thermostables Z05 et Z05D. Quand le fluorophore rapporteur et le fluorophore quencher sont libérés et séparés, la neutralisation s'arrête et l'activité fluorescente du fluorophore rapporteur est augmentée. L'amplification de l'ARN du HCV et de l'ARN du CI de HCV est mesurée indépendamment à des longueurs d'ondes différentes. Ce processus est répété pour un nombre déterminé de cycles, chaque cycle augmentant efficacement l'intensité d'émission des fluorophores rapporteurs individuels permettant une identification indépendante de l'ARN du HCV et de l'ARN du CI de HCV.

Dans les processus d'amplification de l'acide nucléique, l'efficacité peut être amoindrie en présence d'inhibiteurs dans les échantillons. Le contrôle interne de HCV a été ajouté au test qualitatif COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HCV, v2.0 pour permettre l'identification d'échantillons traités contenant des substances pouvant interférer avec l'amplification PCR. Le CI de HCV est une construction d'Armored RNA (aRNA) non infectieux qui contient des séquences du HCV avec des sites de liaison aux amorces identiques à ceux de l'ARN cible du HCV et un site unique de liaison à la sonde qui permet de distinguer l'amplicon du CI de HCV de l'amplicon cible du HCV. Il sert de contrôle d'extraction et d'amplification pour chaque échantillon traité individuellement.

Pendant la phase d'extension de la PCR dans l'analyseur COBAS® TaqMan® ou l'analyseur COBAS® TaqMan® 48, les échantillons sont éclairés et excités par une lumière filtrée, et des données de fluorescence d'émission filtrée sont recueillies pour chaque échantillon. Les mesures pour chaque échantillon sont alors corrigées pour les fluctuations instrumentales. Ces mesures de fluorescence sont envoyées par l'appareil au logiciel AMPLILINK et stockées dans une base de données. Des vérifications préalables sont effectuées pour déterminer si les données de l'ARN du HCV et de l'ARN du CI de HCV représentent des ensembles valides, et des messages sont générés lorsque les données se trouvent hors des limites préétablies. Une fois que les vérifications préalables sont effectuées avec succès, les mesures de fluorescence sont traitées dans le but de générer des valeurs Ct de l'ARN du HCV et de l'ARN du CI de HCV. Les résultats sont relevés comme étant positifs ou négatifs.

## RÉACTIFS

### COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HCV

#### Qualitative Test, v2.0

(P/N : 05480477 190)

#### HCV QL v2.0 CS1

(Cassette de réactifs de particules magnétiques de verre HCV)

Particules magnétiques de verre

Tampon Tris

0,09 % d'azide de sodium

0,1 % de méthylparabène

<b>HCVQLV2</b>
----------------

**72 tests**

1 x 72 tests

1 x 7,0 mL

<b>HCV QL v2.0 CS2</b>	1 x 72 tests
(Cassette de réactif de lyse HCV)	1 x 78,0 mL
Citrate de sodium dihydraté	
42,5 % de thiocyanate de guanidine	
< 6 % de polydocanol	
0,9 % de dithiothréitol	
<b>HCV QL v2.0 CS3</b>	1 x 72 tests
Cassette de multi-réactifs HCV contenant :	
<b>Pase</b>	1 x 3,8 mL
(Solution de protéinase)	
Tampon Tris	
< 0,05 % d'EDTA	
Chlorure de calcium	
Acétate de calcium	
- 7,8 % de protéinase	
Glycérol	
<b>EB</b>	1 x 8,1 mL
(Tampon d'élu­tion)	
Tampon de base Tris	
0,09 % d'azide de sodium	
<b>HCV QL v2.0 CS4</b>	1 x 72 tests
Cassette de réactifs spécifiques au test HCV contenant :	
<b>IC</b>	1 x 3,6 mL
(Contrôle interne HCV)	
Tampon Tris	
EDTA	
< 0,002 % d'ARN Poly rA (synthétique)	
< 0,001 % d'Armored RNA du HCV contenant des	
séquences de liaisons aux amorces du HCV et un	
site unique de liaison à la sonde (ARN non	
infectieux dans du bactériophage MS2)	
0,05 % d'azide de sodium	
<b>MMX</b>	1 x 3,5 mL
(Mélange réactionnel HCV)	
Tampon tricine	
Acétate de potassium	
Hydroxyde de potassium	
< 20 % de sulfoxyde de diméthyle	
Glycérol	
< 0,004 % de dATP, dCTP, dGTP, dUTP	
< 0,002 % d'amorces d'amont et d'aval pour la région 5' UTR du HCV	
< 0,001 % de sondes oligonucléotidiques marquées par	
fluorescence spécifiques du HCV et du contrôle interne de HCV	
< 0,001 % d'aptamère d'oligonucléotide	
< 0,05 % d'ADN polymérase Z05 et Z05D (microbiennes)	
< 0,1 % d'enzyme (microbienne) AmpErase (uracil-N-glycosylase)	
0,09 % d'azide de sodium	
<b>Mn<sup>2+</sup></b>	1 x 19,8 mL
(Solution de manganèse COBAS <sup>®</sup> AmpliPrep/COBAS <sup>®</sup> TaqMan <sup>®</sup> )	
< 0,5 % d'acétate de manganèse	
Acide acétique glacial	
0,09 % d'azide de sodium	

**HCV (+) C, v2.0**

(Contrôle positif HCV)

6 x 0,85 mL

- < 0,001 % d'Armored RNA contenant des séquences de HCV (ARN non infectieux dans du bactériophage MS2)
- Plasma humain négatif, non réactif aux tests pour les anticorps HCV, les anticorps HIV-1 et HIV-2, l'antigène p24 du HIV et l'antigène AgHBs ; l'ARN du HIV-1, l'ARN du HCV et l'ADN du HBV ne peuvent pas être détectés par les méthodes PCR
- 0,1 % de conservateur ProClin® 300

**CTM (-) C**

[Contrôle négatif COBAS® TaqMan® (plasma humain)]

6 x 1,0 mL

- Plasma humain négatif, non réactif aux tests pour les anticorps HCV, les anticorps HIV-1 et HIV-2, l'antigène p24 du HIV et l'antigène AgHBs ; l'ARN du HIV-1, l'ARN du HCV et l'ADN du HBV ne peuvent pas être détectés par les méthodes PCR
- 0,1 % de conservateur ProClin® 300

**HCV (+) C, v2.0 Clip**

(Pince à code-barres du contrôle positif HCV)

1 x 6 pinces

**HCV (-) C, v2.0 Clip**

(Pince à code-barres du contrôle négatif HCV)

1 x 6 pinces

**COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® Wash Reagent**Réactif de lavage COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan®  
(P/N : 03587797 190)**PG WR**

1 x 5,1 L

**PG WR**(Réactif de lavage COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan®)  
Citrate de sodium dihydraté  
< 0,1 % de N-méthylisothiazolone-HCl**AVERTISSEMENTS ET PRÉCAUTIONS D'EMPLOI**

Comme pour toute procédure d'analyse, l'application des bonnes pratiques de laboratoire est essentielle au bon déroulement de ce test. Du fait de la sensibilité élevée de ce test, il est indispensable d'éviter toute contamination des réactifs et des mélanges d'amplification.

- DESTINÉ AU DIAGNOSTIC *IN VITRO*.
- Ce test doit servir pour l'analyse de plasma ou de sérum humain prélevé sur l'anticoagulant EDTA.
- Ne pas pipeter à la bouche.
- Ne pas manger, boire ou fumer dans les zones de travail du laboratoire. Porter des gants protecteurs jetables, des blouses de laboratoire et des protections pour les yeux lors de la manipulation des échantillons et des réactifs du kit. Bien se laver les mains après la manipulation des échantillons et des réactifs de test.
- Éviter la contamination des réactifs par des micro-organismes ou par la ribonucléase lors du prélèvement d'alliquots dans les flacons de contrôles.
- Il est conseillé d'utiliser des pipettes stériles jetables et des embouts de pipette exempts de RNase.
- Ne pas mélanger les contrôles de lots différents ou de flacons différents d'un même lot.
- Ne pas utiliser ensemble des cassettes de réactifs ou des contrôles provenant de kits différents.
- Ne pas ouvrir les cassettes COBAS® AmpliPrep, ni échanger, mélanger, retirer ou ajouter des flacons.

- J. Jeter les réactifs non utilisés, les déchets et les échantillons conformément à la réglementation locale, régionale, fédérale et nationale.
- K. Ne pas utiliser un kit après sa date de péremption.
- L. Les fiches de sécurité (ou SDS pour Safety Data Sheets) sont disponibles sur demande auprès de votre distributeur local Roche.
- M. Les échantillons et les contrôles doivent être manipulés comme s'ils étaient infectieux. Ils nécessitent les précautions d'usage, telles que celles mentionnées dans *Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories*<sup>11</sup> ainsi que dans le document M29-A3<sup>12</sup> du CLSI. Nettoyer et désinfecter soigneusement toutes les surfaces de travail avec une solution à 0,5 % d'hypochlorite de sodium préparée extemporanément avec de l'eau distillée ou déminéralisée.
- N. **CTM (-) C** et **HCV (+) C, v2.0** contiennent du plasma humain dérivé du sang humain. Le produit d'origine a été soumis à des tests et s'est avéré non réactif à la présence de l'antigène de surface du virus de l'hépatite B (AgHBs), des anticorps anti-HCV, des anticorps anti-HIV-1 et HIV-2 et de l'antigène p24 du HIV. Les tests PCR sur le plasma humain négatif indiquaient une absence de détection d'ARN du HIV-1, d'ARN du HCV et d'ADN du HBV. Toutefois, aucune méthode de test connue ne peut garantir avec une certitude absolue que des produits dérivés du sang humain sont exempts de tout risque de transmission d'agents infectieux. C'est pourquoi tout produit d'origine humaine, y compris **CTM (-) C** et **HCV (+) C, v2.0** doivent être considérés comme potentiellement infectieux.
- O. **MGP, EB, IC, Mn<sup>2+</sup>** et **MMX** contiennent de l'azide de sodium. L'azide de sodium peut réagir avec les conduits en plomb ou en cuivre pour former des azides métalliques très explosifs. Lors de l'élimination de solutions contenant de l'azide de sodium dans les évier de laboratoire, rincer abondamment les évacuations afin d'éviter la formation de ces azides.
- P. Porter des gants de protection jetables, une blouse de laboratoire et des lunettes de protection lors de la manipulation des réactifs. Éviter tout contact de ces produits avec la peau, les yeux ou les muqueuses. En cas de contact, rincer immédiatement et abondamment à l'eau. Sans traitement, des brûlures peuvent être occasionnées. Si un réactif s'est répandu, le diluer avec de l'eau avant d'essuyer.
- Q. Ne pas laisser le **HCV QL v2.0 CS2** et les déchets liquides, y compris les unités de traitement d'échantillons (SPU) usagées provenant de l'appareil COBAS® AmpliPrep, qui contiennent du thiocyanate de guanidine, entrer en contact avec la solution d'hypochlorite de sodium (eau de javel). Ces mélanges peuvent générer un gaz très toxique.

## CONDITIONS DE MANIPULATION ET DE STOCKAGE

- A. Avant utilisation, inspecter visuellement chaque cassette de réactif et chaque flacon de réactif pour détecter tout signe de fuite. En présence de fuite, ne pas utiliser ce matériel pour le test.
- B. Conserver les réactifs **HCV QL v2.0 CS1, HCV QL v2.0 CS2, HCV QL v2.0 CS3** et **HCV QL v2.0 CS4** à une température comprise entre 2 et 8 °C. Ces réactifs restent stables jusqu'à la date de péremption indiquée tant que leur flacon n'est pas ouvert. Après ouverture du flacon, ces réactifs restent stables pendant 70 jours à une température comprise entre 2 et 8 °C ou jusqu'à la date de péremption, selon la première date limite atteinte. **HCV QL v2.0 CS1, HCV QL v2.0 CS2, HCV QL v2.0 CS3** et **HCV QL v2.0 CS4** peuvent être utilisés jusqu'à 96 heures cumulées sur l'appareil COBAS® AmpliPrep. Les réactifs doivent être conservés à une température comprise entre 2 et 8 °C entre les cycles de l'appareil.
- C. Conserver **HCV (+) C, v2.0** et **CTM (-) C** à une température comprise entre 2 et 8 °C. Ces réactifs restent stables jusqu'à la date de péremption indiquée. Une fois ouverte, toute portion non utilisée doit être éliminée.
- D. Conserver les pinces à code-barres [**HCV (+) C, v2.0 Clip** et **HCV (-) C, v2.0 Clip**] à une température comprise entre 2 et 30 °C.
- E. Conserver le **PG WR** entre 2 et 30 °C. Le **PG WR** reste stable jusqu'à la date de péremption indiquée tant que le flacon n'est pas ouvert. Après ouverture du flacon, ce réactif reste stable pendant 28 jours à 2-30 °C ou jusqu'à la date de péremption, selon la première date limite atteinte.

## MATÉRIEL FOURNI

### COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HCV Qualitative Test, v2.0

HCVQLV2

#### HCV QL v2.0 CS1

(Cassette de réactifs de particules magnétiques de verre HCV)

#### HCV QL v2.0 CS2

(Cassette de réactif de lyse HCV)

#### HCV QL v2.0 CS3

(Cassette multi-réactifs HCV)

#### HCV QL v2.0 CS4

(Cassette de réactifs spécifiques au test HCV)

#### HCV (+) C, v2.0

(Contrôle positif HCV)

#### CTM (-) C

[Contrôle négatif COBAS® TaqMan® (plasma humain)]

#### HCV (+) C, v2.0 Clip

(Pince à code-barres du contrôle positif HCV)

#### HCV (-) C, v2.0 Clip

(Pince à code-barres du contrôle négatif HCV)

### COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® Wash Reagent

Réactif de lavage COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan®

PG WR

#### PG WR

(réactif de lavage COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan®)

## MATÉRIEL NÉCESSAIRE MAIS NON FOURNI

### Appareils et logiciel

- Appareil COBAS® AmpliPrep
  - Analyseur COBAS® TaqMan® ou analyseur COBAS® TaqMan® 48
  - Station d'amarrage (en option)
  - Instrument **cobas p** 630 (en option)
  - Logiciel AMPLILINK version 3.3 ou 3.4
  - Unité de contrôle du logiciel AMPLILINK, avec imprimante
  - Manuels de l'appareil et du logiciel :
    - Manuel de l'appareil COBAS® AmpliPrep à utiliser avec le logiciel AMPLILINK versions 3.3 et 3.4
    - Manuel de l'analyseur COBAS® TaqMan® à utiliser avec le logiciel AMPLILINK version 3.3 et 3.4
    - Manuel de l'analyseur COBAS® TaqMan® 48 à utiliser avec le logiciel AMPLILINK versions 3.3 et 3.4
    - Manuel d'application du logiciel AMPLILINK version 3.3 à utiliser avec l'appareil COBAS® AmpliPrep, l'analyseur COBAS® TaqMan®, l'analyseur COBAS® TaqMan® 48, l'analyseur COBAS® AMPLICOR et l'instrument **cobas p** 630
- ou
- Manuel d'application du logiciel AMPLILINK version 3.4
  - En option : manuel d'utilisation de l'instrument **cobas p** 630, logiciel version 2.2

- Fichier de définition de test (FDT). Reportez-vous à la carte d'informations sur les produits incluse dans le kit pour obtenir le nom et la version actuelle du FDT.

#### **Autre matériel**

- Portoir à échantillons (portoir SK 24)
- Portoir à réactifs
- Portoir pour unités de traitement des échantillons (SPU)
- Porteur K
- Transporteur de porteur K
- Portoir de porteur K
- Pipetteurs avec embouts à filtre (protection contre les aérosols) ou à déplacement positif, exempts de RNase (d'une capacité de 1 000 µL). Les pipetteurs doivent être précis à plus ou moins 3 % par rapport au volume indiqué. Utiliser des embouts à filtre de protection contre les aérosols ou à déplacement positif et exempts de RNase afin d'éviter toute contamination croisée entre les échantillons et les amplicons.
- Gants jetables, non poudrés
- Mélangeur Vortex

#### **Articles jetables**

- Unités de traitement des échantillons (SPU)
- Tube d'échantillon d'entrée (tubes S) à pinces à code-barres
- Portoir pour embouts K
- Coffret de 12 x 96 tubes K

### **PRÉLÈVEMENT, TRANSPORT ET CONSERVATION DES ÉCHANTILLONS**

**REMARQUE :** *manipuler tous les échantillons et contrôles comme s'ils étaient susceptibles de transmettre des agents infectieux.*

#### **Prélèvement et conservation des échantillons**

Le test qualitatif COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HCV, v2.0 doit être utilisé sur des échantillons de sérum ou de plasma EDTA. Le sang doit être prélevé dans des tubes SST® de séparation du sérum, dans des tubes BD Vacutainer® PPT™ pour les méthodes de tests de diagnostic moléculaire ou dans des tubes stériles avec de l'EDTA (bouchon de couleur lavande) comme anticoagulant. Suivre les instructions du fabricant pour le maniement des tubes de prélèvement. Les échantillons fraîchement prélevés (sang total) peuvent être conservés à une température comprise entre 2 et 25 °C jusqu'à 24 heures avant la centrifugation. Après centrifugation, transférer le sérum ou le plasma EDTA dans un tube stérile en polypropylène. Il est recommandé de conserver les échantillons sous forme de parties aliquotes d'environ 1 000 µL dans des tubes en polypropylène de 2,0 mL, stériles et à bouchon fileté (tels que les micro-tubes Sarstedt de 2 mL à bouchon fileté). Les échantillons de sérum ou de plasma EDTA peuvent être stockés :

- entre 2 et 8 °C jusqu'à 72 heures
- entre -20 °C et -80 °C jusqu'à 6 semaines

Les échantillons de sérum et de plasma EDTA peuvent être congelés et décongelés jusqu'à cinq fois sans entraîner une perte d'ARN du HCV.

#### **Transport des échantillons**

Le transport des échantillons de sang total, de sérum ou de plasma EDTA doit s'effectuer conformément aux règlements pour le transport d'agents pathogènes en vigueur aux niveaux local, fédéral et national<sup>13</sup>. Le sang total doit être transporté à une température comprise entre 2 et 25 °C et centrifugé dans les 24 heures suivant son prélèvement. Le plasma EDTA ou le sérum peuvent être transportés entre 2 et 8 °C ou congelés entre -20 °C et -80 °C.

## INSTRUCTIONS D'UTILISATION

Pour obtenir des instructions d'utilisation détaillées, une description exhaustive des différentes configurations possibles, des instructions sur l'impression des résultats, l'interprétation des messages, commentaires et messages d'erreur, consulter le manuel du logiciel AMPLILINK – version 3.3 ou 3.4, répertorié dans la rubrique « Appareils et logiciel ».

### Taille de la série et procédure de travail

Chaque kit contient des réactifs en quantité suffisante pour 72 tests, qui peuvent être effectués en séries de 12 à 24 tests. Au moins un contrôle de chaque test [**CTM (-) C** et **HCV (+) C, v2.0**] doit être inclus dans chaque série (voir la section « Contrôle qualité »). L'analyseur COBAS® TaqMan® ou COBAS® TaqMan® 48 doit effectuer l'analyse dans les 120 minutes qui suivent la préparation des échantillons et contrôles. **NE PAS CONGELER** ou **CONSERVER** les échantillons et les contrôles traités à 2-8 °C.

### Préparation des échantillons et des contrôles

Si des échantillons congelés sont utilisés, les mettre à température ambiante jusqu'à ce qu'ils soient complètement décongelés, puis les passer au vortex pendant 3 à 5 secondes avant de les utiliser. Les contrôles doivent être retirés de l'emplacement de conservation à 2-8 °C, mis à température ambiante et passés au vortex pendant 3 à 5 secondes avant utilisation.

Préparation de l'appareil COBAS® AmpliPrep

#### Partie A. Maintenance et préparation

- A1. L'appareil COBAS® AmpliPrep est prêt à fonctionner en mode veille.
- A2. Mettre l'unité de contrôle du logiciel AMPLILINK sous tension (**ON**). Préparer l'unité de contrôle de la façon suivante :
  1. Ouvrir une session sur le système d'exploitation Microsoft Windows.
  2. Double-cliquer sur l'icône du logiciel AMPLILINK.
  3. Ouvrir une session sur le logiciel AMPLILINK en entrant l'ID Utilisateur et le mot de passe attribués.
- A3. Vérifier la quantité de réactif de lavage (**PG WR**) dans l'écran **Status** et le remplacer si nécessaire.
- A4. Effectuer tout l'entretien décrit dans l'onglet **Due**. L'appareil COBAS® AmpliPrep amorce automatiquement le système.

#### Partie B. Chargement des cassettes de réactifs

**REMARQUE :** *toutes les cassettes de réactifs doivent être sorties de leur lieu de conservation à 2-8 °C, chargées immédiatement sur l'appareil COBAS® AmpliPrep et portées à température ambiante sur l'appareil au moins 30 minutes avant le traitement du premier échantillon. Ne pas laisser les cassettes de réactifs hors de l'appareil pendant leur accoutumance à la température ambiante car de la condensation peut se former sur les étiquettes à code-barres. Ne pas nettoyer la condensation si elle apparaît sur les étiquettes à code-barres.*

- B1. Placer le **HCV QL v2.0 CS1** sur un portoir à réactifs. Placer le **HCV QL v2.0 CS2**, le **HCV QL v2.0 CS3** et le **HCV QL v2.0 CS4** sur un portoir à réactifs différent.
- B2. Charger le portoir à réactifs contenant le **HCV QL v2.0 CS1** dans la position de portoir **A** de l'appareil COBAS® AmpliPrep.
- B3. Charger le portoir à réactifs contenant le **HCV QL v2.0 CS2**, le **HCV QL v2.0 CS3** et le **HCV QL v2.0 CS4** dans les positions de portoir **B**, **C**, **D** ou **E** de l'appareil COBAS® AmpliPrep (prière de se reporter aux manuels des appareils respectifs pour de plus amples informations).

## Partie C. Chargement des articles jetables

**REMARQUE :** *déterminer le nombre nécessaire de cassettes de réactifs COBAS® AmpliPrep, d'unités de traitement d'échantillon (SPU), de tubes d'échantillon d'entrée (tubes S), d'embouts K et de tubes K. Une SPU, un tube S d'entrée, un embout K et un tube K sont nécessaires pour chaque échantillon ou chaque contrôle.*

Il est possible d'utiliser des configurations multiples de l'appareil COBAS® AmpliPrep avec l'analyseur COBAS® TaqMan® ou l'analyseur COBAS® TaqMan® 48. En fonction de la configuration utilisée, charger le nombre approprié de portoirs à cassettes de réactifs, de portoirs à échantillons avec des tubes S d'entrées, de portoirs SPU, de portoirs d'embouts K, de portoirs de tubes K et de porteurs K sur des portoirs de porteurs K aux positions respectives de portoir de l'appareil COBAS® AmpliPrep.

- C1. Placer les SPU sur le ou les portoirs SPU et charger ceux-ci aux positions de portoir **J, K** ou **L** de l'appareil COBAS® AmpliPrep.
- C2. En fonction de la configuration utilisée, charger le nombre approprié de portoirs de tubes K complets aux positions de portoir **M, N, O** ou **P** de l'appareil COBAS® AmpliPrep.
- C3. Charger le nombre approprié de portoirs d'embouts K complets aux positions de portoir **M, N, O** ou **P** de l'appareil COBAS® AmpliPrep.
- C4. En fonction de la configuration utilisée, charger les porteurs K sur des portoirs de porteurs K aux positions de portoir **M, N, O** ou **P** de l'appareil COBAS® AmpliPrep.

## Partie D. Classification et chargement des échantillons

- D1. Préparer les portoirs d'échantillons de la façon suivante : fixer une pince à étiquette à code-barres sur chaque position de portoir d'échantillons où un échantillon (tube S) doit être placé. Fixer une des pinces à étiquette à code-barres spécifiques des contrôles **[CTM (-) C et HCV (+) C, v2.0]** sur chaque position de portoir d'échantillons où les contrôles (tube S) doivent être placés. Le numéro de lot de contrôle des pinces à étiquette à code-barres pour contrôles doit être le même que celui figurant sur les flacons de contrôles du kit. Veiller à assigner le contrôle correct à la position ayant la pince à code-barres de contrôle correspondante. Installer un tube S d'entrée dans chaque position contenant une pince à étiquette à code-barres.
- D2. À l'aide du logiciel AMPLILINK, créer des ordres d'échantillon pour chaque échantillon et contrôle de l'onglet **Sample** de la fenêtre **Orders**. Sélectionner le fichier de test approprié et terminer en sauvegardant.
- D3. Attribuer l'ordre des échantillons et des contrôles à des positions de portoir d'échantillons dans l'onglet **Sample Rack** de la fenêtre **Orders**. Le numéro du portoir d'échantillons doit être celui du portoir préparé à l'étape D1.
- D4. Imprimer le compte-rendu de **Sample Rack Order** à utiliser comme feuille de travail.
- D5. Préparer les portoirs à échantillons et à contrôles dans la zone désignée pour l'ajout d'échantillons et de contrôles comme suit : passer au vortex chaque échantillon et contrôle **[CTM (-) C et HCV (+) C, v2.0]** pendant 3 à 5 secondes. Éviter la contamination des gants lors de la manipulation des échantillons et des contrôles.
- D6. Au moyen d'une micropipette avec embout à filtre (protection contre les aérosols) ou à déplacement positif sans RNase, ajouter 650 µL de chaque échantillon et de chaque contrôle **[CTM (-) C et HCV (+) C, v2.0]** dans le tube S d'entrée portant l'étiquette à code-barres appropriée. **Éviter de transférer des particules et/ou des caillots fibreux de l'échantillon d'origine vers le tube S d'entrée.** Il convient de transférer les échantillons et les contrôles aux positions déterminées pour les tubes et enregistrées sur la feuille de travail à l'étape D4. Le numéro de lot de contrôle des pinces à étiquette à code-barres pour contrôles doit être le même que celui figurant sur les flacons de contrôles du kit. Assigner le contrôle correct à la position ayant la pince à code-barres de contrôle appropriée. **Éviter de contaminer la partie supérieure des tubes S avec des échantillons ou des contrôles.**
- D7. Si vous utilisez l'instrument **cobas p 630** pour la préparation d'échantillons, veuillez vous reporter au manuel d'utilisation de l'instrument **cobas p 630**.

- D8. En fonction de la configuration utilisée, charger le ou les portoirs contenant les tubes S d'entrée dans les positions de portoirs **F**, **G** ou **H** de l'appareil COBAS® AmpliPrep.
- D9. En fonction de la configuration utilisée, charger le ou les portoirs d'échantillons contenant les tubes S d'entrée et les tubes K (un par tube S d'entrée, chargé immédiatement à droite de celui-ci) aux positions de portoir **F**, **G** ou **H** de l'appareil COBAS® AmpliPrep.

#### **Partie E. Démarrage d'une analyse sur l'appareil COBAS® AmpliPrep**

- E1. Démarrer l'appareil COBAS® AmpliPrep à l'aide du logiciel AMPLILINK.

#### **Partie F. Fin d'une analyse sur l'appareil COBAS® AmpliPrep et transfert sur l'analyseur COBAS® TaqMan® ou l'analyseur COBAS® TaqMan® 48 (uniquement pour le transfert manuel)**

- F1. Vérifier la présence d'alertes ou de messages d'erreur.
- F2. Retirer les échantillons et contrôles traités de l'appareil COBAS® AmpliPrep soit sur des portoirs d'échantillons (pour l'analyseur COBAS® TaqMan® sans station d'amarrage), soit sur des portoirs de porteur K (pour l'analyseur COBAS® TaqMan® 48) selon la configuration.
- F3. Retirer les déchets de l'appareil COBAS® AmpliPrep.

**REMARQUE :** *les échantillons et contrôles traités ne doivent pas être exposés à la lumière après leur préparation.*

#### **Amplification et détection**

Préparation de l'analyseur COBAS® TaqMan® ou de l'analyseur COBAS® TaqMan® 48

L'analyseur COBAS® TaqMan® ou COBAS® TaqMan® 48 doit effectuer l'analyse dans les 120 minutes qui suivent la préparation des échantillons et contrôles. NE PAS CONGELER ou CONSERVER les échantillons et les contrôles traités à 2-8 °C.

#### **Partie G. Chargement des échantillons traités**

- G1. Effectuer les étapes appropriées à la configuration pour transférer les tubes K dans l'analyseur COBAS® TaqMan® ou COBAS® TaqMan® 48 :

#### **Partie H. Démarrage d'une analyse sur l'analyseur COBAS® TaqMan® ou sur l'analyseur COBAS® TaqMan® 48**

- H1. Démarrage d'une analyse sur l'analyseur COBAS® TaqMan® ou sur l'analyseur COBAS® TaqMan® 48 selon la configuration utilisée.

#### **Partie I. Fin d'une analyse sur l'analyseur COBAS® TaqMan® ou sur l'analyseur COBAS® TaqMan® 48**

- I1. À la fin de l'analyse sur l'analyseur COBAS® TaqMan® ou sur l'analyseur COBAS® TaqMan® 48, imprimer le compte-rendu des résultats obtenus. Vérifier la présence d'alertes ou de messages d'erreur dans le compte-rendu des résultats. Les échantillons accompagnés d'alertes et de commentaires doivent être interprétés comme décrit dans la section « Résultats ». Une fois qu'elles sont acceptées, archiver les données.
- I2. Retirer les tubes K usagés de l'analyseur COBAS® TaqMan® ou COBAS® TaqMan® 48.

#### **CONTRÔLE QUALITÉ**

Un contrôle négatif COBAS® TaqMan® et un contrôle positif pour le HCV doivent être inclus dans chaque série. La série est valide si aucune alerte n'apparaît pour les contrôles **[HCV (+) C, v2.0 et CTM (-) C]**.

Il n'existe pas de règles particulières concernant l'emplacement des contrôles sur le portoir d'échantillons.

Vérifier que les résultats imprimés ne contiennent ni message ni commentaire afin de s'assurer de la validité de la série.

## Contrôle négatif

Le **CTM (-) C** doit produire un résultat « Negative ». Si le **CTM (-) C** est accompagné d'un message d'alerte d'invalidité, alors la totalité de la série est invalide. Répéter tout le processus (préparation des échantillons et des contrôles, amplification et détection). Si les valeurs **CTM (-) C** sont toujours non valides sur plusieurs séries, contacter votre distributeur local Roche pour obtenir une assistance technique.

## Contrôle positif

Le **HCV (+) C, v2.0** doit produire un résultat « Positive ». Si le **HCV (+) C, v2.0** est accompagné d'un message d'alerte d'invalidité, alors la totalité de la série est invalide. Répéter tout le processus (préparation des échantillons et des contrôles, amplification et détection). Si les valeurs **HCV (+) C, v2.0** sont toujours non valides sur plusieurs séries, contacter votre distributeur local Roche pour obtenir une assistance technique.

## RÉSULTATS

**L'analyseur COBAS® TaqMan® ou l'analyseur COBAS® TaqMan® 48 détermine automatiquement la présence d'ARN du HCV dans les échantillons et les contrôles.**

### Le logiciel AMPLILINK :

- Détermine la valeur Ct de l'ARN du HCV et de l'ARN du CI de HCV.
- Détermine la présence de l'ARN du HCV et de l'ARN du CI de HCV d'après les valeurs Ct de l'ARN du HCV et de l'ARN du contrôle interne de HCV.

### Validation de la série :

Consulter la fenêtre des résultats du logiciel AMPLILINK ou l'impression pour vérifier la présence de messages et de commentaires afin de s'assurer de la validité de la série.

Pour les classes de contrôles, examiner si la valeur Ct du contrôle se situe dans son domaine théorique. Si la valeur Ct du contrôle se situe hors de son domaine, un message (FLAG) est généré indiquant que le contrôle a échoué.

La série est valide si aucune alerte n'apparaît pour les contrôles **[HCV (+) C, v2.0 et CTM (-) C]**.

La série n'est pas valide si un des messages suivants apparaît dans les contrôles HCV :

### Contrôle négatif :

Message	Résultat	Interprétation
NC_INVALID	Invalid	Résultat invalide ou le résultat du contrôle négatif n'est pas négatif.

### Contrôle positif HCV :

Message	Résultat	Interprétation
PC_INVALID	Invalid	Résultat invalide ou le résultat du contrôle positif n'est pas positif.

Si la série est non valide, il faut recommencer toute la série (préparation des échantillons et des contrôles, transcription inverse, amplification et détection).

## Interprétation des résultats :

Si la série est valide, vérifier la présence de messages ou de commentaires pour chaque échantillon sur les résultats imprimés.

⇒ Une série valide peut comprendre des résultats d'échantillons valides et non valides en fonction de la présence de messages et/ou de commentaires accompagnant les échantillons individuels.

## Les résultats des échantillons s'interprètent comme suit :

Résultat	Interprétation
Negative	La valeur Ct du HCV dépasse la limite du test ou aucune valeur Ct n'a été obtenue pour le HCV. Enregistrer les résultats comme suit : « ARN du HCV non détecté ».
Positive	Enregistrer les résultats comme suit : « ARN du HCV détecté ».

Si le résultat d'échantillon s'affiche comme « Failed », « Invalid » ou « Aborted », consulter le manuel d'application du logiciel AMPLILINK version 3.3 ou 3.4 répertorié dans la rubrique « Matériel nécessaire mais non fourni ».

## LIMITES DU TEST

1. Ce test a été validé exclusivement pour l'analyse de sérum ou plasma humain prélevé sur anticoagulant EDTA. L'analyse de types d'échantillons différents de ceux du type indiqué peut aboutir à des résultats inexacts.
2. Bien qu'il s'agisse d'un cas rare, des mutations au niveau des zones hautement conservées du génome viral couverte par les amorces et/ou la sonde du test risquent d'entraîner l'échec de la détection du virus.
3. La détection de l'ARN du HCV dépend du nombre de particules virales présentes dans l'échantillon et peut être affectée par les méthodes de collecte d'échantillons, les facteurs relatifs aux patients (par exemple, l'âge, la présence de symptômes) et/ou le stade de l'infection.
4. Pour que les résultats obtenus soient fiables, les échantillons doivent avoir été prélevés, transportés, conservés et traités de façon appropriée.
5. La présence de l'enzyme AmpErase dans le mélange réactionnel COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HCV réduit le risque de contamination par les amplicons. Cependant, une contamination par des contrôles ou par des échantillons cliniques HCV positifs ne peut être évitée que par de bonnes pratiques de laboratoire et un respect scrupuleux des consignes fournies dans cette notice d'utilisation.
6. Ce produit doit être réservé au personnel formé à l'utilisation de l'instrument **cobas p 630** (en option), de l'appareil COBAS® AmpliPrep et de l'analyseur COBAS® TaqMan® ou COBAS® TaqMan® 48. L'opérateur doit avoir une parfaite maîtrise des applications exécutées par l'appareil et doit observer de bonnes pratiques de laboratoire.
7. Ce produit doit être utilisé exclusivement avec l'instrument **cobas p 630** (en option), l'instrument COBAS® AmpliPrep et l'analyseur COBAS® TaqMan® ou COBAS® TaqMan® 48.
8. En raison des différences inhérentes à chaque technologie, il est recommandé aux utilisateurs, avant de passer d'une technologie à l'autre, de mener des études de corrélation de méthodes au sein de leur laboratoire afin d'évaluer les différences entre les diverses technologies.

## SUBSTANCES INTERFÉRENTES

Des niveaux élevés de triglycérides (3 300 mg/dL), de bilirubine conjuguée (25 mg/dL), de bilirubine non conjuguée (20 mg/dL), d'albumine (6 000 mg/dL), d'hémoglobine (200 mg/dL) et d'ADN humain (40 mg/dL) dans les échantillons de même que les maladies auto-immunes, telles que le lupus érythémateux systémique (LES), l'arthrite rhumatoïde (AR) et les anticorps antinucléaires (ANA) n'ont pas présenté d'interférences avec la détection de l'ARN du HCV par le test qualitatif COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HCV, v2.0.

Les composés médicamenteux suivants, testés au taux de plasma maximum ( $C_{max}$ ) et à 3 fois le  $C_{max}$  n'ont pas entraîné d'interférence avec la détection de l'ARN du HCV par le test qualitatif COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HCV, v2.0 :

<b>Inhibiteurs nucléotidiques de la transcriptase inverse et de l'ADN polymérase</b> Tenofovir Adefovir dipivoxil	<b>Inhibiteurs non nucléosidiques de la transcriptase inverse</b> Éfavirenz Névirapine
<b>Inhibiteurs de la protéase du HIV</b> Atazanavir Saquinavir Ritonavir Lopinavir/Ritonavir Nelfinavir Darunavir Tipranavir Fosamprenavir	<b>Inhibiteurs nucléosidiques de la transcriptase inverse</b> Lamivudine Zidovudine Stavudine Abacavir Didanosine Emtricitabine Entecavir Telbivudine
<b>Inhibiteur de fusion du HIV</b> Enfuvirtide	<b>Inhibiteur d'entrée du HIV</b> Maraviroc
<b>Composés pour le traitement de virus de l'herpès</b> Ganciclovir Valganciclovir Aciclovir	<b>Modulateurs de l'immunité</b> Peginterferon alpha-2b Ribavirine Peginterferon alpha-2a
<b>Inhibiteur de l'intégrase du HIV</b> Raltegravir	

## ÉVALUATION DES PERFORMANCES NON CLINIQUES

### A. Limite de détection

La limite de détection du test qualitatif COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HCV, v2.0, a été déterminée par l'analyse de dilutions en série du standard international de l'OMS pour l'ARN du virus de l'hépatite C pour les dosages de technologie d'amplification de l'acide nucléique, génotype 1a, obtenu auprès du NIBSC, dans le sérum ou le plasma EDTA humains HCV négatifs. Trois séries de dilution indépendantes ont été analysées pour chaque matrice. Un total de 252 copies par niveau de concentration ont été analysées pour chaque type de matrice. L'étude a été effectuée pour trois lots de réactifs du test qualitatif COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HCV, v2.0.

Les résultats pour le plasma EDTA et le sérum, indiqués dans les tableaux 1 et 2, prouvent que le test qualitatif COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HCV, v2.0 a détecté l'ARN du HCV à des concentrations supérieures ou égales à 15 UI/mL avec un taux de succès  $\geq$  95 %. Aucune différence significative de corrélation n'a été observée entre le sérum et le plasma EDTA.

**Tableau 1**

**Limite de détection dans le plasma EDTA déterminée selon le standard international de l'OMS pour l'ARN du virus de l'hépatite C pour les dosages de technologies d'amplification de l'acide nucléique**

Titre d'entrée (ARN du HCV en UI/mL)	Nombre de réplicats valides	Nombre de positifs	Taux de succès en %
50	314	314	100
25	314	313	100
15	314	308	98
10	315	291	92
5	315	228	72
2,5	314	157	50
0	313	0	0
<b>Limite de détection à un taux de succès de 95 % par PROBIT</b>	<b>12 UI/mL (intervalle de confiance à 95 % : 10 à 13 UI/mL)</b>		
<b>Limite de détection pour le taux de succès</b>	<b>15 UI/mL</b>		

**Tableau 2**

**Limite de détection dans le sérum déterminée selon le standard international de l'OMS pour l'ARN du virus de l'hépatite C pour les dosages de technologies d'amplification de l'acide nucléique**

<b>Titre d'entrée (ARN du HCV en UI/mL)</b>	<b>Nombre de réplicats valides</b>	<b>Nombre de positifs</b>	<b>Taux de succès en %</b>
50	251	251	100
25	251	250	100
15	252	248	98
10	252	232	92
5	252	185	73
2,5	252	116	46
0	251	0	0
<b>Limite de détection à un taux de succès de 95 % par PROBIT</b>	<b>11 UI/mL (intervalle de confiance à 95 % : 10 à 13 UI/mL)</b>		
<b>Limite de détection pour le taux de succès</b>	<b>15 UI/mL</b>		

## B. Précision

La précision du test qualitatif COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HCV, v2.0, a été déterminée par l'analyse de dilutions en série du standard international de l'OMS pour l'ARN du virus de l'hépatite C pour les dosages de technologie d'amplification de l'acide nucléique, dans le plasma EDTA humain HCV négatif ou le sérum.

Deux niveaux de concentration (5 UI/mL et 50 UI/mL) ont été testés dans 168 réplicats maximum, à raison de 12 analyses pendant 4 jours. Chaque échantillon a été soumis à toutes les étapes du test qualitatif COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HCV, v2.0 (préparation de l'échantillon, amplification et détection). L'étude a été effectuée pour trois lots de réactifs du test qualitatif COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HCV, v2.0. Toutes les données valides ont été évaluées en calculant le taux de succès en pourcentage pour chaque membre du panel par lot de réactifs (deux matrices combinées).

Le test qualitatif COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HCV, v2.0 démontre une performance continue à des niveaux de concentration de 5 UI/mL et 50 UI/mL pour les échantillons de sérum et de plasma prélevés sur EDTA sur les trois lots de réactifs testés (tableau 3).

**Tableau 3**

**Précision du test qualitatif COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HCV, v2.0  
(échantillons combinés de sérum et de plasma EDTA)**

<b>Concentration nominale [UI/mL]</b>	<b>Taux de succès en %</b>		
	<b>Lot n° 1</b>	<b>Lot n° 2</b>	<b>Lot n° 3</b>
5	74	70	74
50	100	100	100

### C. Inclusivité

La performance du test qualitatif COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HCV, v2.0 sur les génotypes HCV a été évaluée en vérifiant la limite de détection pour les génotypes 1 à 6.

Les échantillons cliniques d'ARN de HCV de 8 génotypes/sous-types différents (1a, 1b, 2a, 2b, 3, 4, 5 et 6) ont été dilués dans trois niveaux de concentration différents dans le plasma EDTA ou le sérum et le taux de succès a été évalué pour chaque niveau avec près de 63 réplicats. L'étude a été effectuée pour un seul lot de réactifs du test qualitatif COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HCV, v2.0.

Les résultats pour le plasma EDTA et le sérum, indiqués dans les tableaux 4 et 5, confirment que le test qualitatif COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HCV, v2.0 a détecté l'ARN du HCV pour 8 génotypes/sous-types différents à des concentrations supérieures ou égales à 15 UI/mL avec un taux de succès  $\geq 95\%$ . Aucune différence significative de corrélation n'a été observée entre le sérum et le plasma EDTA.

**Tableau 4**  
**Vérification de la limite de détection du génotype de l'ARN du HCV dans le plasma EDTA**

Génotype	5 UI/mL			15 UI/mL			45 UI/mL		
	Nombre de réplicats valides	Nombre de positifs	Taux de succès en %	Nombre de réplicats valides	Nombre de positifs	Taux de succès en %	Nombre de réplicats valides	Nombre de positifs	Taux de succès en %
1a	63	44	70	63	63	100	63	63	100
1b	63	47	75	63	62	98	63	63	100
2a	63	43	68	63	61	97	62	61	98
2b	62	57	92	62	62	100	62	62	100
3	62	58	94	63	63	100	62	62	100
4	63	43	68	63	62	98	63	63	100
5	63	46	73	62	62	100	62	62	100
6	63	54	86	62	62	100	63	63	100

**Tableau 5**  
**Vérification de la limite de détection du génotype de l'ARN du HCV dans le sérum**

Génotype	5 UI/mL			15 UI/mL			45 UI/mL		
	Nombre de réplicats valides	Nombre de positifs	Taux de succès en %	Nombre de réplicats valides	Nombre de positifs	Taux de succès en %	Nombre de réplicats valides	Nombre de positifs	Taux de succès en %
1a	63	45	71	62	62	100	63	63	100
1b	62	50	81	63	63	100	63	63	100
2a	62	47	76	61	60	98	63	63	100
2b	63	42	67	63	62	98	63	63	100
3	63	58	92	63	63	100	63	63	100
4	63	40	64	63	62	98	63	63	100
5	62	46	74	61	60	98	62	62	100
6	63	51	81	63	63	100	63	63	100

## D. Sensibilité diagnostique

La sensibilité diagnostique du test qualitatif COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HCV, v2.0 a été évaluée par l'analyse d'échantillons individuels de plasma EDTA ou de sérum d'ARN du HCV positifs (337 résultats totaux) avec deux lots de réactifs du test qualitatif COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HCV, v2.0. Tous les échantillons se sont révélés positifs en ARN du HCV. Au sein de ce panel, la sensibilité diagnostique du test qualitatif COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HCV, v2.0 est de 100 % (limite inférieure de confiance unilatérale à 95 % :  $\geq 99,1$  %).

De plus, la sensibilité diagnostique du test qualitatif COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HCV, v2.0 a été évaluée lors de la séroconversion. Les membres de 10 panels de séroconversion du HCV disponibles dans le commerce et prélevés sur des donneurs de plasma individuels lors d'une période de séroconversion aux anticorps du HCV ont été testés avec un lot de réactifs du test qualitatif COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HCV, v2.0. Comparé à la référence sérologique Abbott HCV EIA (tests immunoenzymatiques) 2.0, le test qualitatif COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HCV, v2.0 a détecté le HCV plus tôt dans 10 panels de séroconversion sur 10. Comparé à un autre test NAT, à savoir le test COBAS® AMPLICOR HCV, v2.0, le test qualitatif COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HCV, v2.0 a détecté l'ARN du HCV plus tôt (pour 2 panels sur 10) ou le même jour après le premier prélèvement de sang (pour 8 panels sur 10).

## E. Spécificité

La spécificité du test qualitatif COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HCV, v2.0 a été déterminée par l'analyse d'échantillons de plasma EDTA ou de sérum négatifs à l'ARN du HCV et séronégatifs en provenance de donneurs de sang. Les échantillons individuels de plasma EDTA et de sérum (500 résultats totaux) ont été testés avec deux lots de réactifs du test qualitatif COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HCV, v2.0. 499 échantillons se sont révélés négatifs en ARN du HCV. Au sein de ce panel, la spécificité du test qualitatif COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HCV, v2.0 est de 99,8 % (limite inférieure de confiance unilatérale de 95 % :  $\geq 99,1$  %).

## F. Spécificité analytique

La spécificité analytique du test qualitatif COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HCV, v2.0 a été évaluée par dilution de stocks de différents agents pathogènes de titre élevé (voir tableau 6) avec des échantillons cliniques de plasma EDTA d'ARN du HCV positifs et négatifs. Aucun des agents pathogènes non-HCV n'a provoqué d'interférence avec la réalisation du test ni engendré un résultat faussement positif du test qualitatif COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HCV, v2.0.

**Tableau 6**  
**Échantillons de spécificité analytique**

<b>Flavivirus HCV-négatifs</b> Virus du Nil Occidental Virus de l'encéphalite de St Louis Virus de l'encéphalite de Murray Valley Types 1, 2, 3 et 4 du virus de la dengue Virus de la fièvre jaune Virus Zika Virus de la méningo-encéphalite (souche HYPR)	<b>Virus</b> Adénovirus type 5 Cytomégalovirus Virus d'Epstein Barr Virus de l'hépatite B Virus de l'hépatite A HIV-1 Virus lymphotrope à cellules T humain de types 1 et 2 Virus de l'herpès humain de type 6 Virus de l'herpès simplex de types 1 et 2 Influenza A Papillomavirus humain Virus varicelle-zona
<b>Bactéries</b> <i>Propionibacterium acnes</i> <i>Staphylococcus aureus</i>	
<b>Levure</b> <i>Candida albicans</i>	

## **G. Performances comparées à celles du test COBAS® AMPLICOR HCV, v2.0**

Les performances du test qualitatif COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HCV, v2.0 et du test COBAS® AMPLICOR HCV, v2.0 ont fait l'objet d'une comparaison par analyse d'échantillons de sérum et de plasma EDTA prélevés sur des patients infectés par le HCV. Un total de 463 spécimens sur les génotypes 1 à 6 pour le plasma EDTA et les génotypes 1 à 4 pour le sérum a été analysé en double. Les résultats de 436 échantillons de plasma EDTA et de sérum se sont révélés positifs et à l'intérieur du domaine de détection des deux tests, menant à une corrélation positive de 100 % entre le test qualitatif COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HCV, v2.0 et le test COBAS® AMPLICOR HCV, v2.0. Les résultats des 27 échantillons ont été exclus de l'analyse des données car : 3 échantillons étaient d'un volume insuffisant pour être traités par le test COBAS® AMPLICOR HCV, v2.0, 4 échantillons ont donné des résultats « Target Not Detected » pour toutes les mesures conduites avec les deux tests, 8 échantillons ont donné des résultats incohérents entre les 2 réplicats avec chaque test, 12 échantillons ont donné des résultats incohérents entre les deux tests [justification de l'exclusion : la concentration en HCV de tous ces échantillons était inférieure à la LOD du test COBAS® AMPLICOR HCV, v2.0, LOD (taux de détection de 95 %) plasma : 50 UI/mL, LOD sérum : 60 UI/mL]. Tous les échantillons de plasma EDTA et de sérum négatifs testés (200 résultats au total) se sont avérés valides et ont présenté un résultat négatif, menant à une corrélation négative de 100 % entre le test qualitatif COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HCV, v2.0 et le test COBAS® AMPLICOR HCV, v2.0.

## RÉFÉRENCES

1. Choo Q-L., Kuo G, Weiner AJ, Overby LR., Bradley DW and Houghton M. 1989. Isolation of a cDNA clone derived from a blood-borne non-A, non-B viral hepatitis viral genome. *Science* **244**:359-362.
2. Armstrong GL, Wasley A, Simard EP et al. 2006. The prevalence of hepatitis C virus infection in the United States, 1999 through 2002. *Ann Intern Med* **144**:705-714.
3. Rustgi VK. 2007. The epidemiology of hepatitis C infection in the United States. *J Gastroenterol* **42**:513-521.
4. Lauer GM, Walker BD. 2001. Hepatitis C virus infection. *N Engl J Med* **345**:41-52.
5. Caruntu FA, Benea L. 2006. Acute hepatitis C virus infection: Diagnosis pathogenesis, treatment. *JGLD* **15**:249-256.
6. Gretch D, del la Rosa D, Corey L and Carithers R. 1996. Assessment of Hepatitis C viremia using molecular amplification technologies. *Viral Hepat Rev* **2**:85-96.
7. Young KKY, Resnick R and Myers TW. 1993. Detection of hepatitis C virus RNA by a combined reverse transcriptase-polymerase chain reaction assay. *J Clin Microbiol* **31**:882-886.
8. NIH. 1997. Management of Hepatitis C. National Institutes of Health Consensus Development Conference Statement #105.
9. Bukh J, Purcell RH and Miller RH. 1992. Sequence analysis of the 5' noncoding region of hepatitis C virus. *Proc Natl Acad Sci USA* **89**:4942-4946.
10. Longo MC, Berninger MS and Hartley JL. 1990. Use of uracil DNA glycosylase to control carry-over contamination in polymerase chain reactions. *Gene* **93**:125-128.
11. U.S. Department of Health and Human Services. *Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories*. 5<sup>th</sup> Edition, HHS Publication No. (CDC) 21-1112; December 2009.
12. Clinical and Laboratory Standards Institute. *Protection of Laboratory Workers from Occupationally Acquired Infections: Approved Guideline - 3<sup>rd</sup> Edition*. CLSI Document M29-A3. CLSI: Wayne, PA 2005.
13. International Air Transport Association. *Dangerous Goods Regulations*, 49th Edition. 2008.
14. Higuchi, R., Dollinger, G., Walsh, P.S., and Griffith, R. 1992. Simultaneous amplification and detection of specific DNA sequences. *Bio-Technology* **10**:413-417.
15. Heid, C.A., Stevens, J., Livak, J.K., and Williams, P.M. 1996. Real time quantitative PCR. *Genome Research* **6**:986-994.

<b>Informations sur la révision du document</b>	
Doc. Rev. 3.0 (Mfg-US) 02/2019	Mise à jour du numéro de l'organisme notifié sous le marquage CE. Veuillez contacter votre représentant local Roche si vous avez des questions.
Doc. Rev. 4.0 (Mfg-US) 09/2019	Mise à jour de la section <b>CONDITIONS DE MANIPULATION ET DE STOCKAGE</b> pour indiquer à l'utilisateur d'inspecter visuellement le produit pour déceler tout signe de fuite avant utilisation et de ne pas utiliser le produit en présence de fuite. Ajout de l'adresse du site Web de Roche <a href="http://www.roche.com">www.roche.com</a> . Mise à jour de la page des symboles harmonisés. Veuillez contacter votre représentant local Roche si vous avez des questions.



Roche Molecular Systems, Inc.  
1080 US Highway 202 South  
Branchburg, NJ 08876 USA  
[www.roche.com](http://www.roche.com)



Distributed by

Roche Diagnostics (Schweiz) AG  
Industriestrasse 7  
6343 Rotkreuz, Switzerland

Roche Diagnostics GmbH  
Sandhofer Strasse 116  
68305 Mannheim, Germany

Roche Diagnostics, SL  
Avda. Generalitat, 171-173  
E-08174 Sant Cugat del Vallès  
Barcelona, Spain

Roche Diagnostics  
201, boulevard Armand-Frappier  
H7V 4A2 Laval, Québec, Canada  
(For Technical Assistance call:  
Pour toute assistance technique,  
appeler le: 1-877-273-3433)

Roche Diagnostics  
2, Avenue du Vercors  
38240 Meylan, France

Distributore in Italia:  
Roche Diagnostics S.p.A.  
Viale G. B. Stucchi 110  
20052 Monza, Milano, Italy

Distribuidor em Portugal:  
Roche Sistemas de Diagnósticos Lda.  
Estrada Nacional, 249-1  
2720-413 Amadora, Portugal

Roche Diagnostica Brasil Ltda.  
Av. Engenheiro Billings, 1729  
Jaguará, Building 10  
05321-010 São Paulo, SP Brazil

#### Marques commerciales et brevets

Voir <http://www.roche-diagnostics.us/patents>

©2019 Roche Molecular Systems, Inc.

09/2019  
Doc Rev. 4.0 (Mfg-US)

07941706001-04



Roche Diagnostics GmbH  
Sandhofer Str. 116  
68305 Mannheim  
Germany



**Les symboles suivants sont utilisés dans toute la documentation accompagnant les produits de diagnostic par PCR de Roche.**



Logiciel auxiliaire



Code du lot



Mandataire dans la Communauté européenne



Risques biologiques



Fiche technique à codes-barres



Référence du catalogue



Consulter les instructions d'utilisation



Pour évaluation de performance IVD uniquement



Suffisant pour  $<n>$  tests



Limite inférieure de la plage assignée



Contenu du kit



Fabricant



Distributeur



Conserver dans un endroit sombre



Dispositif médical de diagnostic *in vitro*



Limites de température



Fichier de définition de tests



Date limite d'utilisation



Limite supérieure de la plage assignée



Code article international



Date de fabrication

Rx Only

États-Unis : la législation fédérale américaine limite la vente de ce dispositif aux professionnels de santé autorisés à exercer.



Ce produit répond aux exigences de la Directive européenne 98/79/CE concernant les dispositifs médicaux de diagnostic *in vitro*.