

cobas[®] HIV-1/HIV-2 Qualitative

Test sur acides nucléiques à utiliser sur les systèmes cobas[®] 5800/6800/8800

Pour une utilisation en diagnostic *in vitro*

cobas[®] HIV-1/HIV-2 Qualitative	P/N: 09040528190
À utiliser avec le système cobas[®] 5800	
cobas[®] HIV-1/HIV-2 Qualitative Control Kit	P/N: 09040536190
cobas[®] NHP Negative Control Kit	P/N: 09051554190
À utiliser avec les systèmes cobas[®] 6800/8800	
cobas[®] HIV-1/HIV-2 Qualitative Control Kit	P/N: 07862091190 ou P/N: 09040536190
cobas[®] NHP Negative Control Kit	P/N: 07002220190 ou P/N: 09051554190
cobas[®] Specimen Pre-Extraction Reagent	P/N: 08064695190

Table des matières

Usage prévu	5
Résumé et explication du test.....	5
Réactifs et matériel	8
Réactifs et contrôles cobas ® HIV-1/HIV-2 Qualitative	8
Réactifs cobas omni pour préparation des échantillons.....	11
cobas ® Specimen Pre-Extraction Reagent	12
Conditions de conservation des réactifs.....	13
Matériel supplémentaire nécessaire pour le système cobas ® 5800.....	15
Matériel supplémentaire nécessaire pour les systèmes cobas ® 6800/8800.....	15
Instruments et logiciels nécessaires	16
Précautions et conditions de manipulation	17
Avertissements et précautions.....	17
Manipulation des réactifs.....	18
Bonnes pratiques de laboratoire.....	18
Prélèvement, transport et conservation des échantillons	19
Échantillons.....	19
Échantillons de plasma EDTA et de sérum.....	19
Spots de sang séché.....	20
Instructions d'utilisation	21
Notes de procédure	21
Préparation des échantillons de spot de sang séché.....	21
Exécution du test cobas ® HIV-1/HIV-2 Qualitative sur le système cobas ® 5800	22
Exécution du test cobas ® HIV-1/HIV-2 Qualitative sur les systèmes cobas ® 6800/8800	23

Résultats	24
Contrôle qualité et validité des résultats sur le système cobas ® 5800 et les systèmes cobas ® 6800/8800 avec la version du logiciel 2.0 ou supérieure	24
Résultat de contrôle sur le système cobas ® 5800 et les systèmes cobas ® 6800/8800 avec la version du logiciel 2.0 ou supérieure	24
Contrôle qualité et validité des résultats sur les systèmes cobas ® 6800/8800 avec la version du logiciel 1.4	25
Alertes de contrôle sur les systèmes cobas ® 6800/8800 avec la version du logiciel 1.4.....	25
Interprétation des résultats sur le système cobas ® 5800 et les systèmes cobas ® 6800/8800 avec la version du logiciel 2.0 ou supérieure.....	25
Interprétation des résultats sur les systèmes cobas ® 6800/8800 avec la version du logiciel 1.4	26
Limites du test.....	27
 Évaluation des performances non cliniques	 28
Principales caractéristiques de performance sur les systèmes cobas ® 6800/8800	28
Limite de détection (LoD)	28
Précision intra-laboratoire	31
Vérification de groupe/sous-type et inclusivité	33
Spécificité	36
Panels de séroconversion.....	36
Spécificité analytique.....	38
Spécificité analytique - substances interférentes	39
Corrélation de méthodes	40
Échec complet du système	41
Contamination croisée	41
 Évaluation des performances cliniques	 42
Reproductibilité.....	42
Comparaison des méthodes cliniques	43
Sensibilité clinique au VIH-1 et au VIH-2	43
Test des échantillons provenant de sujets infectés par le VIH-1	43
Test des échantillons provenant de sujets infectés par le VIH-2.....	44
Équivalence des systèmes/comparaison des systèmes.....	46

Informations supplémentaires	46
Caractéristiques clés du test	46
Symboles	47
Assistance technique	48
Fabricant et importateur	48
Marques commerciales et brevets	48
Copyright.....	48
Références.....	49
Révision du document	51

Usage prévu

Le test sur acides nucléiques **cobas**® HIV-1/HIV-2 Qualitative à utiliser sur les systèmes **cobas**® 5800/6800/8800 est un test *in vitro* d'amplification des acides nucléiques pour la détection qualitative et la différenciation du virus de l'immunodéficience humaine (VIH) de type 1 (VIH-1) et de type 2 (VIH-2) dans le sérum humain, le plasma et les spots de sang séché.

Le test est destiné à contribuer au diagnostic du VIH-1/VIH-2. La détection des acides nucléiques du VIH-1 ou du VIH-2 indique une infection par le VIH-1 ou le VIH-2, respectivement. La présence d'acides nucléiques du VIH-1 ou du VIH-2 dans le plasma ou le sérum des individus sans anticorps au VIH-1 ou VIH-2 indique une infection aiguë ou primaire. Chez les enfants nés de mères infectées par le VIH présentant des anticorps maternels anti-VIH-1 ou anti-VIH-2, la présence d'acides nucléiques du VIH indique une infection active. Le test **cobas**® HIV-1/HIV-2 Qualitative peut également être utilisé pour confirmer une infection par le VIH-1 ou le VIH-2 chez un individu présentant des échantillons réactifs aux antigènes ou anticorps anti-VIH-1 ou VIH-2.

Résumé et explication du test

Contexte

Le virus de l'immunodéficience humaine (VIH) est l'agent étiologique responsable du syndrome d'immunodéficience acquise (SIDA).¹ Le VIH-1 est la cause prédominante du SIDA dans le monde, avec plus de 35 millions de personnes infectées.² Après l'infection, les sujets infectés entrent généralement dans une phase relativement asymptomatique et cliniquement stable pouvant durer des années. Sans traitement antirétroviral, les individus progressent généralement vers le SIDA, qui est marqué par une diminution du système immunitaire des cellules CD4+, une susceptibilité aux infections opportunistes et, enfin, la mort.³ Le VIH-2, présent principalement en Afrique de l'Ouest, peut également causer le SIDA. Dans le monde, entre 1 et 2 millions de personnes seraient infectées par le VIH-2.

La distinction entre le VIH-1 et le VIH-2 est importante pour plusieurs raisons : (1) le VIH-2 semble moins virulent que le VIH-1, avec des charges virales inférieures, un rythme plus lent de perte de cellules CD4+ et une progression moins rapide des infections opportunistes ; (2) les charges virales du VIH-2 peuvent être quantifiées de manière incorrecte par les tests de charge virale du VIH-1 ; et (3) certains médicaments contre le VIH-1, notamment les inhibiteurs non nucléosidiques de la transcriptase inverse sont inefficaces contre le VIH-2.⁴ La co-infection par le VIH-1 et VIH-2 est également possible. Cette co-infection n'a aucun effet manifeste sur la vitesse de progression du SIDA chez les individus, mais elle complique la surveillance de la charge virale et le traitement antirétroviral.⁴ En raison de l'importance de la distinction entre l'infection par le VIH-1 et le VIH-2, les directives internationales comprennent le diagnostic et la différenciation du VIH-1 et du VIH-2 comme exigence pour le bon diagnostic d'une infection par le VIH.^{5,6}

Pourquoi avoir recours aux tests PCR ?

Historiquement, les tests du VIH se sont basés sur la réponse des anticorps des patients face au virus. Bien que les anticorps soient inefficaces pour lutter contre le virus, ils sont présents chez presque tous les patients atteints d'une infection chronique. La limite majeure des tests d'anticorps est la « période de latence » de plusieurs semaines au cours d'une infection aiguë avant l'apparition d'une réponse détectable des anticorps. Cette période de latence a été réduite par les tests immunologiques du VIH de « quatrième génération », qui détectent l'antigène p24 ainsi que les anticorps anti-VIH.⁷ Cependant, les tests d'amplification des acides nucléiques ont le potentiel de réduire la période de latence des tests

immunologiques de quatrième génération pour détecter l'infection par le VIH encore davantage, en raison de la sensibilité des méthodes PCR par rapport aux méthodes protéiques.⁷

Selon le risque d'infection par le VIH au sein de la population testée, la réduction de cette période de latence par rapport aux tests d'amplification des acides nucléiques peut être importante à la fois pour les individus et pour la communauté.⁸ Pour un individu, le diagnostic du VIH au cours du stade aigu de l'infection permet un traitement immédiat, qui peut potentiellement retarder la progression de la maladie en empêchant l'endommagement du système immunitaire et en préservant les réponses immunitaires anti-VIH des cellules. Un traitement précoce peut également limiter la taille et la diversité génétique du réservoir viral qui est établi et faciliter ainsi la mise en place d'un traitement fonctionnel chez les patients traités au cours d'une infection aiguë. Pour la communauté, les patients atteints d'une infection aiguë jouent un rôle majeur dans la transmission du VIH, car ces patients présentent généralement des charges virales très élevées et ignorent leur état infectieux. L'identification et le traitement de ces patients pourraient être cruciaux pour enrayer l'épidémie du VIH.^{9,10} La PCR représente déjà la norme de soin pour le diagnostic du VIH chez les nourrissons, et les niveaux élevés de sensibilité et de spécificité de la PCR permettraient non seulement la détection des infections aiguës chez les individus de tous âges, mais aussi la confirmation du diagnostic du VIH chez les sujets séropositifs ou sérologiquement indéterminés.^{11,12}

Explication du test

Le test **cobas**® HIV-1/HIV-2 Qualitative est un test quantitatif réalisé sur le système **cobas**® 5800, le système **cobas**® 6800 ou le système **cobas**® 8800. Le test **cobas**® HIV-1/HIV-2 Qualitative permet la détection et la différenciation simultanées des acides nucléiques du VIH-1 et du VIH-2 dans le plasma à acide éthylènediaminetétraacétique (EDTA), le sérum ou les spots de sang séché de patients infectés. Deux sondes sont utilisées pour détecter le VIH-1 ; elles ne permettent pas la discrimination des sous-types du VIH-1 groupe M ou du VIH-1 groupe O et groupe N. Une troisième sonde est utilisée pour détecter le VIH-2 ; elle ne permet pas la discrimination du VIH-2 groupe A et groupe B.

Principes de la procédure

Le test **cobas**® HIV-1/HIV-2 Qualitative repose sur la préparation entièrement automatisée des échantillons (extraction et purification des acides nucléiques) suivie de l'amplification et de la détection par PCR. Le système **cobas**® 5800 est conçu sous la forme d'un instrument intégré. Les systèmes **cobas**® 6800/8800 sont composés du module de chargement des échantillons, du module de transfert, du module de traitement et du module analytique. La gestion automatisée des données est réalisée par le logiciel des systèmes **cobas**® 5800 ou **cobas**® 6800/8800, lequel attribue le résultat non réactif, réactif ou invalide à chaque test. Les résultats peuvent être consultés directement sur l'écran du système, exportés ou imprimés sous forme de rapports PDF.

L'acide nucléique des échantillons de patient et les molécules d'ARN encapsulées du contrôle interne (CI) ajoutées (qui servent de contrôle pour la préparation des échantillons et le processus d'amplification/détection) sont extraits simultanément. En outre, le test utilise trois contrôles externes : deux contrôles positifs et un contrôle négatif. L'acide nucléique viral est libéré par l'ajout de protéinase et de réactif de lyse à l'échantillon. L'acide nucléique libéré se lie à la surface des particules magnétiques de verre (silice) ajoutées. Les substances non liées et les impuretés, telles que les protéines dénaturées, les débris cellulaires et les inhibiteurs potentiels de PCR sont éliminées lors des étapes de lavage suivantes, et l'acide nucléique purifié est séparé des particules magnétiques de verre à l'aide d'un tampon d'élution à température élevée.

L'amplification sélective de l'acide nucléique cible dans l'échantillon est effectuée à l'aide d'amorces sens et antisens spécifiques aux virus cibles, sélectionnées dans des régions hautement conservées des génomes du VIH-1 et du VIH-2. Le gène gag du VIH-1 et la région LTR du VIH-1 (double-cible pour le VIH-1) et la région LTR du VIH-2 sont amplifiés par le test **cobas**® HIV-1/HIV-2 Qualitative.

L'amplification sélective du CI est effectuée à l'aide d'amorces sens et antisens spécifiques à la séquence, sélectionnées de manière à ne présenter aucune homologie avec les génomes VIH-1 ou VIH-2. Une enzyme ADN polymérase thermostable est utilisée pour la transcription inverse et pour l'amplification par PCR. Les séquences cibles et CI sont amplifiées simultanément à l'aide d'un profil d'amplification par PCR universel composé de paliers de température et d'un nombre de cycles prédéfinis. Le master mix comprend de la désoxyuridine triphosphate (dUTP) à la place de la désoxythymidine triphosphate (dTTP), incorporée dans l'ADN nouvellement synthétisé (amplicon).¹³⁻¹⁵ Tout amplicon contaminant provenant de runs de PCR précédents est éliminé par l'enzyme AmpErase, laquelle est incluse dans le master mix de PCR au cours de la première étape de thermocyclage. Toutefois, les amplicons nouvellement formés ne sont pas éliminés, car l'enzyme AmpErase est désactivée une fois exposée à une température supérieure à 55 °C.

Le master mix **cobas**® HIV-1/HIV-2 Qualitative contient deux sondes de détection spécifiques pour les séquences cibles du VIH-1, l'une pour les séquences cibles du VIH-2 et l'autre pour le CI. Les sondes sont marquées au moyen de fluorophores rapporteurs spécifiques des cibles permettant la détection simultanée de cible de VIH-1, de cible de VIH-2 et de CI dans trois canaux cibles différents.^{16, 17} Le signal fluorescent des sondes intactes non liées à la séquence cible est supprimé par un fluorophore quencher. Lors de l'étape d'amplification par PCR, l'hybridation des sondes à la matrice d'ADN monocaténaire spécifique entraîne un clivage de la sonde par l'activité exonucléase 5' à 3' de l'ADN polymérase, ce qui conduit à une séparation du fluorophore rapporteur et du fluorophore quencher et à la génération d'un signal fluorescent. À chaque cycle PCR, des quantités croissantes de sondes clivées sont générées et le signal cumulatif du fluorophore rapporteur augmente simultanément. La détection et la discrimination en temps réel des produits PCR sont effectuées en mesurant la fluorescence des fluorophores rapporteurs libérés pour les cibles virales et le CI, respectivement.

Réactifs et matériel

Réactifs et contrôles cobas® HIV-1/HIV-2 Qualitative

Tout réactif ou contrôle non ouvert doit être stocké conformément aux recommandations décrites du Tableau 1 au Tableau 5.

Tableau 1 cobas® HIV-1/HIV-2 Qualitative

cobas® HIV-1/HIV-2 Qualitative Conserver à 2-8 °C Cassette de 192 tests (P/N 09040528190)		
Composants du kit	Ingrédients du réactif	Quantité par kit 192 tests
Solution de protéinase (PASE)	Tampon Tris, < 0,05 % d'EDTA, chlorure de calcium, acétate de calcium, 8 % de protéinase (m/v), glycérol EUH210 : Fiche de données de sécurité disponible sur demande. EUH208 : Contient de la subtilisine. Peut produire une réaction allergique.	22,3 mL
Contrôle interne (IC)	Tampon Tris, < 0,05 % d'EDTA, < 0,001 % de construction d'ARN encapsulé de contrôle interne (ARN non infectieux encapsulé dans du bactériophage MS2), < 0,002 % d'ARN Poly rA (synthétique), < 0,1 % d'azoture de sodium	21,2 mL
Tampon d'éluion (EB)	Tampon Tris, 0,2 % de 4-hydroxybenzoate de méthyle	21,2 mL
Réactif 1 de master mix (MMX-R1)	Acétate de manganèse, hydroxyde de potassium, < 0,1 % d'azoture de sodium	7,5 mL
Réactif 2 du master mix VIH-1/VIH-2 (HIV-1/HIV-2 MMX-R2)	Tampon tricine, acétate de potassium, 18 % de sulfoxyde de diméthyle, glycérol, Tween 20, EDTA, < 0,06 % de dATP, dCTP, dGTP, < 0,14 % de dUTP, < 0,01 % d'amorces sens et antisens de VIH-1, VIH-2 et de contrôle interne, < 0,01 % de sondes de VIH-1 et VIH-2 marquées par fluorescence, < 0,01 % de sonde de contrôle interne marquée par fluorescence, < 0,01 % d'aptamère d'oligonucléotide, < 0,01 % d'ADN polymérase Z05D, < 0,01 % d'enzyme (microbienne) AmpErase (uracil-N- glycosylase), < 0,1 % d'azoture de sodium	9,7 mL

Tableau 2 cobas® HIV-1/HIV-2 Qualitative Control Kit

cobas® HIV-1/HIV-2 Qualitative Control Kit			
Conserver à 2-8 °C			
À utiliser avec le système cobas® 5800 et les systèmes cobas® 6800/8800 avec la version du logiciel 2.0 ou supérieure (P/N 09040536190)			
À utiliser avec les systèmes cobas® 6800/8800 avec la version du logiciel 1.4 (P/N 07862091190 et P/N 09040536190)			
Composants du kit	Ingrédients du réactif	Quantité par kit	Symboles de sécurité et avertissements*
Contrôle positif de VIH-1M/VIH-2 (HIV-1M/HIV-2 (+)C)	< 0,001 % d'ARN (encapsulé) synthétique de VIH-1 groupe M encapsulé dans la protéine enveloppe bactériophage MS2, < 0,001 % d'ARN (encapsulé) synthétique de VIH-2 encapsulé dans la protéine enveloppe bactériophage MS2, plasma humain normal, non réactif aux tests agréés pour les anticorps anti-VIH-1/2 ; ARN du VIH-1 et ARN du VIH-2 non détectables par les méthodes de PCR 0,1 % de conservateur ProClin® 300**	5,2 mL (8 × 0,65 mL)	  AVERTISSEMENT H317 : Peut provoquer une allergie cutanée. H412 : Nocif pour les organismes aquatiques, entraîne des effets néfastes à long terme. P261 : Éviter de respirer les poussières/fumées/gaz/brouillards/vapeurs/aérosols. P273 : Éviter le rejet dans l'environnement. P280 : Porter des gants de protection. P333 + P313 : En cas d'irritation ou d'éruption cutanée : consulter un médecin. P362 + P364 : Enlever les vêtements contaminés et les laver avant réutilisation. P501 : Éliminer le contenu/récipient dans une installation d'élimination des déchets agréée. 55965-84-9 Masse réactionnelle de : 5-chloro-2-méthyl-4-isothiazolin-3-one [n° CE 247-500-7] et 2-méthyl-2H-isothiazol-3-one [n° CE 220-239-6] (3:1).
Contrôle positif de VIH-1O (HIV-1O (+)C)	< 0,001 % d'ARN (encapsulé) synthétique de VIH-1 groupe O encapsulé dans la protéine enveloppe bactériophage MS2, plasma humain normal, non réactif aux tests agréés pour les anticorps anti-VIH-1/2 ; ARN du VIH-1 et ARN du VIH-2 non détectables par les méthodes de PCR 0,1 % de conservateur ProClin® 300**	5,2 mL (8 × 0,65 mL)	  AVERTISSEMENT H317 : Peut provoquer une allergie cutanée. H412 : Nocif pour les organismes aquatiques, entraîne des effets néfastes à long terme. P261 : Éviter de respirer les poussières/fumées/gaz/brouillards/vapeurs/aérosols. P273 : Éviter le rejet dans l'environnement. P280 : Porter des gants de protection. P333 + P313 : En cas d'irritation ou d'éruption cutanée : consulter un médecin. P362 + P364 : Enlever les vêtements contaminés et les laver avant réutilisation. P501 : Éliminer le contenu/récipient dans une installation d'élimination des déchets agréée. 55965-84-9 Masse réactionnelle de : 5-chloro-2-méthyl-4-isothiazolin-3-one [n° CE 247-500-7] et 2-méthyl-2H-isothiazol-3-one [n° CE 220-239-6] (3:1).

* Les mentions de sécurité du produit sont conformes en premier lieu au SGH de l'UE.

** Substance dangereuse.

Tableau 3 cobas® NHP Negative Control Kit

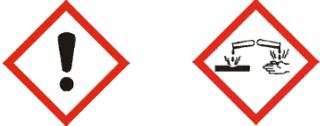
cobas® NHP Negative Control Kit			
Conserver à 2-8 °C À utiliser avec le système cobas® 5800 et les systèmes cobas® 6800/8800 avec la version du logiciel 2.0 ou supérieure (P/N 09051554190) À utiliser avec les systèmes cobas® 6800/8800 avec la version du logiciel 1.4 (P/N 07002220190 et P/N 09051554190)			
Composants du kit	Ingrédients du réactif	Quantité par kit	Symboles de sécurité et avertissements*
Contrôle négatif de plasma humain normal (NHP-NC)	Plasma humain normal, non réactif aux tests agréés pour les anticorps anti-VIH-1/2 ; ARN du VIH-1 et ARN du VIH-2 non détectables par les méthodes de PCR < 0,1 % de conservateur ProClin® 300**	16 mL (16 × 1 mL)	  AVERTISSEMENT H317 : Peut provoquer une allergie cutanée. P261 : Éviter de respirer les poussières/fumées/gaz/brouillards/vapeurs/aérosols. P272 : Les vêtements de travail contaminés ne doivent pas sortir du lieu de travail. P280 : Porter des gants de protection. P333 + P313 : En cas d'irritation ou d'éruption cutanée : consulter un médecin. P362 + P364 : Enlever les vêtements contaminés et les laver avant réutilisation. P501 : Éliminer le contenu/récipient dans une installation d'élimination des déchets agréée. 55965-84-9 Masse réactionnelle de : 5-chloro-2-méthyl-4-isothiazolin-3-one [n° CE 247-500-7] et 2-méthyl-2H-isothiazol-3-one [n° CE 220-239-6] (3:1).

* Les mentions de sécurité du produit sont conformes en premier lieu au SGH de l'UE.

** Substance dangereuse.

Réactifs cobas omni pour préparation des échantillons

Tableau 4 Réactifs **cobas omni** pour préparation des échantillons*

Réactifs	Ingrédients du réactif	Quantité par kit	Symboles de sécurité et avertissements**
cobas omni MGP Reagent (MGP) Conserver à 2-8 °C (P/N 06997546190)	Particules magnétiques de verre, tampon Tris, 0,1 % de 4-hydroxybenzoate de méthyle, < 0,1 % d'azoture de sodium	480 tests	Non applicable
cobas omni Specimen Diluent (SPEC DIL) Conserver à 2-8 °C (P/N 06997511190)	Tampon Tris, 0,1 % de 4-hydroxybenzoate de méthyle, < 0,1 % d'azoture de sodium	4 × 875 mL	Non applicable
cobas omni Lysis Reagent (LYS) Conserver à 2-8 °C (P/N 06997538190)	43 % (m/m) de thiocyanate de guanidine***, 5 % (m/v) de polidocanol***, 2 % (m/v) de dithiothréitol, citrate de sodium dihydraté	4 × 875 mL	 <p>DANGER</p> <p>H302 + H332 : Nocif en cas d'ingestion ou par inhalation. H314 : Provoque des brûlures de la peau et des graves lésions des yeux. H412 : Nocif pour les organismes aquatiques, entraîne des effets néfastes à long terme. EUH032 : Au contact d'un acide, dégage un gaz très toxique. P261 : Éviter de respirer les poussières/fumées/gaz/brouillards/vapeurs/aérosols. P273 : Éviter le rejet dans l'environnement. P280 : Porter un équipement de protection des yeux/du visage. P303 + P361 + P353 : EN CAS DE CONTACT AVEC LA PEAU (ou les cheveux) : enlever immédiatement tous les vêtements contaminés. Rincer la peau à l'eau. P304 + P340 + P310 : EN CAS D'INHALATION : transporter la personne à l'extérieur et la maintenir dans une position où elle peut confortablement respirer. appeler un CENTRE ANTIPOISON/un médecin en cas de malaise. P305 + P351 + P338 + P310 : EN CAS DE CONTACT AVEC LES YEUX : rincer avec précaution à l'eau pendant plusieurs minutes. Enlever les lentilles de contact si la victime en porte et si elles peuvent être facilement enlevées. Continuer à rincer. Appeler immédiatement un CENTRE ANTIPOISON/un médecin. 593-84-0 Thiocyanate de guanidinium 9002-92-0 Polidocanol 3483-12-3 (R*,R*)-1,4-dimercaptobutane-2,3-diol</p>
cobas omni Wash Reagent (WASH) Conserver à 15-30 °C (P/N 06997503190)	Citrate de sodium dihydraté, 0,1 % de 4-hydroxybenzoate de méthyle	4,2 L	Non applicable

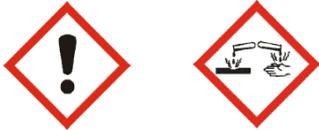
* Ces réactifs ne sont pas inclus dans le kit de test **cobas®** HIV-1/HIV-2 Qualitative. Voir la liste du matériel supplémentaire nécessaire (Tableau 11 et Tableau 12).

** Les mentions de sécurité du produit sont conformes en premier lieu au SGH de l'UE.

*** Substance dangereuse.

cobas® Specimen Pre-Extraction Reagent

Tableau 5 cobas® Specimen Pre-Extraction Reagent*

cobas® Specimen Pre-Extraction Reagent Conserver à 2-8 °C (P/N 08064695190)			
Réactif	Ingrédients du réactif	Quantité par kit	Symboles de sécurité et avertissements**
cobas® Specimen Pre-Extraction Reagent (SPER)	28 % (m/m) de thiocyanate de guanidinium, 6 % (m/v) de polidocanol, 1 % (m/v) de dithiothréitol, citrate de sodium dihydraté	600 mL (15 × 40 mL)	 <p>DANGER</p> <p>H302 : Nocif en cas d'ingestion.</p> <p>H314 Provoque des brûlures de la peau et de graves lésions oculaires.</p> <p>H412 : Nocif pour les organismes aquatiques, entraîne des effets néfastes à long terme.</p> <p>EUH032 : Au contact d'un acide, dégage un gaz très toxique.</p> <p>P273 : Éviter le rejet dans l'environnement.</p> <p>P280 : Porter un équipement de protection des yeux/ du visage.</p> <p>P301 + P330 + P331 : EN CAS D'INGESTION : Rincer la bouche. NE PAS faire vomir.</p> <p>P303 + P361 + P353 : EN CAS DE CONTACT AVEC LA PEAU (ou les cheveux) : enlever immédiatement tous les vêtements contaminés. Rincer la peau à l'eau.</p> <p>P304 + P340 + P310 : EN CAS D'INHALATION : transporter la personne à l'extérieur et la maintenir dans une position où elle peut confortablement respirer. Appeler immédiatement un CENTRE ANTIPOISON/un médecin.</p> <p>P305 + P351 + P338 + P310 : EN CAS DE CONTACT AVEC LES YEUX : rincer avec précaution à l'eau pendant plusieurs minutes. Enlever les lentilles de contact si la victime en porte et si elles peuvent être facilement enlevées. Continuer à rincer. Appeler immédiatement un CENTRE ANTIPOISON/un médecin.</p> <p>593-84-0 Thiocyanate de guanidinium 9002-92-0 Polidocanol</p>

* Ce réactif n'est pas inclus dans le kit de test cobas® HIV-1/HIV-2 Qualitative. Voir la liste du matériel supplémentaire nécessaire (Tableau 11 et Tableau 12).

** Les mentions de sécurité du produit sont conformes en premier lieu au SGH de l'UE.

Conditions de conservation des réactifs

Les réactifs doivent être stockés et manipulés comme spécifié dans le Tableau 6, le Tableau 7 et le Tableau 8. Le cobas® Specimen Pre-Extraction Reagent (SPER) utilisé dans la procédure de travail avec spots de sang séché doit être stocké et manipulé comme spécifié dans le Tableau 9 et le Tableau 10.

Lorsque les réactifs ne sont pas chargés sur le système cobas® 5800 ou les systèmes cobas® 6800/8800, ils doivent être stockés à la température spécifiée dans le Tableau 6.

Tableau 6 Stockage des réactifs (lorsque le réactif n'est pas sur le système)

Réactif	Température de stockage
cobas® HIV-1/HIV-2 Qualitative	2-8 °C
cobas® HIV-1/HIV-2 Qualitative Control Kit	2-8 °C
cobas® NHP Negative Control Kit	2-8 °C
cobas omni Lysis Reagent	2-8 °C
cobas omni MGP Reagent	2-8 °C
cobas omni Specimen Diluent	2-8 °C
cobas omni Wash Reagent	15-30 °C

Conditions de manipulation des réactifs pour le système cobas® 5800

Les réactifs chargés sur le système cobas® 5800 sont stockés à des températures appropriées et leur date de péremption est surveillée par le système. Le système ne permet l'utilisation des réactifs que si toutes les conditions indiquées dans le Tableau 7 sont remplies. Le système empêche automatiquement l'utilisation de réactifs périmés. Le Tableau 7 permet à l'utilisateur de comprendre les conditions de manipulation des réactifs appliquées par le système cobas® 5800.

Tableau 7 Conditions de péremption des réactifs appliquées par le système cobas® 5800

Réactif	Date de péremption du kit	Stabilité de kit ouvert	Nombre de runs possibles avec ce kit	Stabilité à bord
cobas® HIV-1/HIV-2 Qualitative	Date non passée	90 jours à partir de la première utilisation	40 runs max.	36 jours max.*
cobas® HIV-1/HIV-2 Qualitative Control Kit	Date non passée	Non applicable**	Non applicable	36 jours max.*
cobas® NHP Negative Control Kit	Date non passée	Non applicable**	Non applicable	36 jours max.*
cobas omni Lysis Reagent	Date non passée	30 jours à partir du chargement*	Non applicable	Non applicable
cobas omni MGP Reagent	Date non passée	30 jours à partir du chargement*	Non applicable	Non applicable
cobas omni Specimen Diluent	Date non passée	30 jours à partir du chargement*	Non applicable	Non applicable
cobas omni Wash Reagent	Date non passée	30 jours à partir du chargement*	Non applicable	Non applicable

* Durée mesurée à partir du premier chargement du réactif sur le système cobas® 5800.

** Réactif à usage unique.

Conditions de manipulation des réactifs pour les systèmes cobas® 6800/8800

Les réactifs chargés sur les systèmes cobas® 6800/8800 sont stockés à des températures appropriées et leur date de péremption est surveillée par le système. Les systèmes cobas® 6800/8800 ne permettent l'utilisation des réactifs que si toutes les conditions indiquées dans le Tableau 8 sont remplies. Le système empêche automatiquement l'utilisation de réactifs périmés. Tableau 8 permet à l'utilisateur de comprendre les conditions de manipulation des réactifs appliquées par les systèmes cobas® 6800/8800.

Tableau 8 Conditions de péremption des réactifs appliquées par les systèmes cobas® 6800/8800

Réactif	Date de péremption du kit	Stabilité de kit ouvert	Nombre de runs possibles avec ce kit	Stabilité à bord (cumul du temps à bord, en dehors du réfrigérateur)
cobas® HIV-1/HIV-2 Qualitative	Date non passée	90 jours à partir de la première utilisation	40 runs max.	40 heures max.
cobas® HIV-1/HIV-2 Qualitative Control Kit	Date non passée	Non applicable ^a	Non applicable	8 heures max.
cobas® NHP Negative Control Kit	Date non passée	Non applicable ^a	Non applicable	10 heures max.
cobas omni Lysis Reagent	Date non passée	30 jours à partir du chargement*	Non applicable	Non applicable
cobas omni MGP Reagent	Date non passée	30 jours à partir du chargement*	Non applicable	Non applicable
cobas omni Specimen Diluent	Date non passée	30 jours à partir du chargement*	Non applicable	Non applicable
cobas omni Wash Reagent	Date non passée	30 jours à partir du chargement*	Non applicable	Non applicable

^a Réactif à usage unique.

* Durée mesurée à partir du premier chargement du réactif sur les systèmes cobas® 6800/8800.

Stocker le cobas® Specimen Pre-Extraction Reagent (utilisé dans la procédure de travail avec spots de sang séché) à la température spécifiée dans le Tableau 9.

Tableau 9 Stockage du cobas® Specimen Pre-Extraction Reagent

Réactif	Température de stockage
cobas® Specimen Pre-Extraction Reagent	2-8 °C

Le cobas® Specimen Pre-Extraction Reagent est stable jusqu'à la date d'expiration indiquée. Une fois ouvert, ce réactif est stable pendant 30 jours lorsqu'il est stocké entre 2 et 8 °C, en incluant 13 heures cumulées à 30 °C, ou jusqu'à la date de péremption, selon la première date limite atteinte comme spécifié dans le Tableau 10.

Tableau 10 Conditions de péremption du cobas® Specimen Pre-Extraction Reagent

Réactif	Date de péremption du kit	Stabilité de kit ouvert	Nombre de runs possibles avec ce kit	Stabilité à 30 °C en dehors du réfrigérateur (durée cumulée)
cobas® Specimen Pre-Extraction Reagent	Date non passée	30 jours à partir de la première utilisation	Non applicable	13 heures max.

Matériel supplémentaire nécessaire pour le système cobas® 5800

Tableau 11 Matériel et consommables à utiliser sur le système **cobas® 5800**

Matériel	P/N
cobas omni Processing Plate 24	08413975001
cobas omni Amplification Plate 24	08499853001
cobas omni Liquid Waste Plate 24	08413983001
Embout CORE TIPS avec filtre, 1 mL	04639642001
Embout CORE TIPS avec filtre, 300 µL	07345607001
cobas omni Liquid Waste Container	07094388001
cobas omni Lysis Reagent	06997538190
cobas omni MGP Reagent	06997546190
cobas omni Specimen Diluent	06997511190
cobas omni Wash Reagent	06997503190
Sac à déchets solides ou Sac à déchets solides avec insert	07435967001 ou 08030073001

Matériel supplémentaire nécessaire pour les systèmes cobas® 6800/8800

Tableau 12 Matériel et consommables à utiliser sur les systèmes **cobas® 6800/8800**

Matériel	P/N
cobas omni Processing Plate	05534917001
cobas omni Amplification Plate	05534941001
cobas omni Pipette Tips	05534925001
cobas omni Liquid Waste Container	07094388001
cobas omni Lysis Reagent	06997538190
cobas omni MGP Reagent	06997546190
cobas omni Specimen Diluent	06997511190
cobas omni Wash Reagent	06997503190
Sac à déchets solides et réservoir à déchets solides ou Sac à déchets solides avec insert et kit tiroir	07435967001 et 07094361001 ou 08030073001 et 08387281001

Tableau 13 Autres matériels et consommables requis uniquement pour l'application des spots de sang séché

Matériel
Papier-filtre Whatman 903®, papier pour le prélèvement d'échantillons Munktell TFN ou équivalent (12-13 mm de diamètre de spot)
Tubes, 5 mL, filetage interne, 12,5 mm de diamètre, polypropylène (Cryo.s™) avec bouchons
Thermomixer Eppendorf (modèle R 5355 ou équivalent, par exemple) avec Thermoblock pour 24 cryo tubes
Pincettes ou pincettes stériles ou jetables
Sac refermable et sachets déshydratants (pour le stockage des spots de sang séché)

Instruments et logiciels nécessaires

Le logiciel du système **cobas**® 5800, le logiciel des systèmes **cobas**® 6800/8800 et les fichiers d'analyse **cobas**® HIV-1/HIV-2 Qualitative pour les systèmes **cobas**® 5800/6800/8800, le logiciel **cobas**® 5800 HIV-1/2 Qual-Serum/Plasma ASAP et/ou le logiciel **cobas**® 5800 HIV-1/2 Qual-DBS ASAP, doivent être installés.

Pour le système **cobas**® 5800 et les systèmes **cobas**® 6800/8800 avec la version de logiciel 2.0 ou supérieure, le logiciel x800 Data Manager et le PC (ou serveur) sont fournis avec le système.

Les systèmes **cobas**® 6800/8800 avec la version de logiciel 1.4 et le serveur IG (Instrument Gateway) seront fournis avec les systèmes.

Tableau 14 Instrumentation

Équipement	P/N
Système cobas ® 5800	08707464001
Système cobas ® 6800 (version mobile)	05524245001 et 06379672001
Système cobas ® 6800 (fixe)	05524245001, 06379664001 et 09575154001
Système cobas ® 8800	05412722001 et 09575146001
Module de chargement des échantillons	06301037001 et 09936882001

Se reporter à l'Assistance Utilisateur et/ou aux guides de l'utilisateur du système **cobas**® 5800 ou des systèmes **cobas**® 6800/8800 pour obtenir plus d'informations.

Remarque : contacter le représentant Roche local pour obtenir une liste détaillée de références de racks d'échantillons, racks pour embouts à filtre et plateaux de racks acceptés sur les instruments.

Précautions et conditions de manipulation

Avertissements et précautions

Comme pour le déroulement de tout test, de bonnes pratiques de laboratoire sont indispensables pour assurer la qualité de cette analyse. Du fait de la sensibilité élevée de ce test, il est indispensable d'éviter toute contamination des réactifs et des mélanges d'amplification.

- Destiné uniquement au diagnostic *in vitro*.
- Ce test n'est pas destiné à être utilisé pour le dépistage des donneurs de sang ou de plasma.
- Tous les échantillons de patient doivent être manipulés comme s'ils étaient infectieux, conformément aux bonnes pratiques de laboratoire, telles que celles mentionnées dans Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories ainsi que dans le document M29-A4 du CLSI.^{18, 19} Seul le personnel expert dans la manipulation du matériel présentant un risque biologique et l'utilisation du test **cobas**® HIV-1/HIV-2 Qualitative et des systèmes **cobas**® 5800/6800/8800 doit effectuer cette procédure.
- Tout produit d'origine humaine doit être considéré comme potentiellement infectieux et doit être manipulé selon les précautions universelles. En cas de déversement, désinfecter immédiatement en suivant les procédures locales appropriées.
 - En cas de déversement d'échantillons de spots de sang séché dans le **cobas**® Specimen Pre-Extraction Reagent (contenant du thiocyanate de guanidine), éviter de le mettre en contact avec de l'hypochlorite de sodium contenant des désinfectants tels que l'eau de Javel. Le mélange peut produire un gaz extrêmement toxique.
- Le **cobas**® HIV-1/HIV-2 Qualitative Control Kit et le **cobas**® NHP Negative Control Kit contiennent du plasma dérivé de sang humain. Le produit source a été testé non réactif aux tests agréés de détection des anticorps anti-VIH-1/2. Les tests de plasma humain normal à l'aide des méthodes de PCR ont indiqué qu'aucun ARN du VIH-1 (groupes M et O) ni ARN du VIH-2 n'étaient détectables. Toutefois, aucune méthode de test connue ne peut garantir avec une certitude absolue que des produits dérivés de sang humain sont exempts de tout risque de transmission d'agents infectieux.
- **Ne pas congeler le sang total ni tout échantillon stocké dans des tubes primaires.**
- Le **cobas**® Specimen Pre-Extraction Reagent est sensible à la lumière et est livré dans des bouteilles de protection opaques.
- Utiliser uniquement les consommables nécessaires fournis ou indiqués afin d'assurer des performances de test optimales.
- Les fiches de sécurité (ou SDS pour Safety Data Sheets) sont disponibles sur demande auprès de votre représentant Roche local.
- Suivre rigoureusement les procédures et les directives fournies pour assurer le bon déroulement du test. Toute déviation des procédures et directives peut affecter les performances du test.
- Il existe un risque de faux positifs si la contamination croisée des échantillons n'est pas correctement contrôlée lors de la manipulation et du traitement des échantillons.
- Informez votre autorité locale compétente au sujet de tout incident grave pouvant survenir lors de l'utilisation de ce test.

Manipulation des réactifs

- Manipuler tous les réactifs, contrôles et échantillons selon les bonnes pratiques de laboratoire afin d'éviter une contamination croisée des échantillons ou des contrôles.
- Avant utilisation, inspecter visuellement chaque cassette de réactifs, diluant, réactif de lyse, réactif de lavage et **cobas**® Specimen Pre-Extraction Reagent (requis uniquement pour l'utilisation sur spots de sang séché) pour détecter tout signe de fuite. En présence de fuite, ne pas utiliser ce matériel pour le test.
- Les **cobas omni** Lysis Reagent et **cobas**® Specimen Pre-Extraction Reagent contiennent du thiocyanate de guanidine, un produit chimique dangereux. Éviter tout contact des réactifs avec la peau, les yeux ou les muqueuses. En cas de contact, rincer immédiatement et abondamment à l'eau. Il existe sinon un risque de brûlure.
- Les kits **cobas**® HIV-1/HIV-2 Qualitative, le **cobas omni** MGP Reagent et le **cobas omni** Specimen Diluent contiennent de l'azoture de sodium en tant que conservateur. Éviter tout contact de ces réactifs avec la peau, les yeux ou les membranes muqueuses. En cas de contact, rincer immédiatement et abondamment à l'eau. Il existe sinon un risque de brûlure. Si ces réactifs sont renversés, diluer avec de l'eau avant d'essuyer.
- Éviter tout contact entre le **cobas omni** Lysis Reagent ou le **cobas**® Specimen Pre-Extraction Reagent, qui contient du thiocyanate de guanidine, et la solution d'hypochlorite de sodium (eau de Javel). Le mélange peut produire un gaz extrêmement toxique.
- Jeter tout le matériel qui a été en contact avec les échantillons et réactifs conformément à la réglementation nationale, fédérale, régionale et locale.

Bonnes pratiques de laboratoire

- Ne pas pipeter à la bouche.
- Ne pas manger, boire ou fumer dans les zones de travail désignées.
- Porter des gants de laboratoire, une blouse de laboratoire et des lunettes de protection lors de la manipulation d'échantillons et de réactifs. Les gants doivent être changés entre la manipulation d'échantillons et la manipulation de kits **cobas**® HIV-1/HIV-2 Qualitative et de réactifs **cobas omni** afin d'éviter toute contamination. Éviter la contamination des gants lors de la manipulation des échantillons et des contrôles.
- Bien se laver les mains après la manipulation d'échantillons et de réactifs de test, et après le retrait des gants.
- Nettoyer et désinfecter soigneusement tous les plans de travail du laboratoire avec une solution fraîchement préparée d'hypochlorite de sodium à 0,5 % dans de l'eau distillée ou déionisée (eau de javel ménagère diluée à 1:10), puis essuyer les surfaces avec de l'éthanol à 70 %.
- En cas d'éclaboussures sur le **cobas**® 5800 Instrument, suivre les instructions de l'Assistance Utilisateur et/ou du guide de l'utilisateur du système **cobas**® 5800 afin de nettoyer et de décontaminer correctement la surface du ou des instruments.
- En cas d'éclaboussures sur le **cobas**® 6800/8800 Instrument, suivre les instructions de l'Assistance Utilisateur et/ou du guide de l'utilisateur des systèmes **cobas**® 6800/8800 afin de nettoyer et de décontaminer correctement les surfaces du ou des instruments.

Prélèvement, transport et conservation des échantillons

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

Conserver tous les échantillons aux températures indiquées.

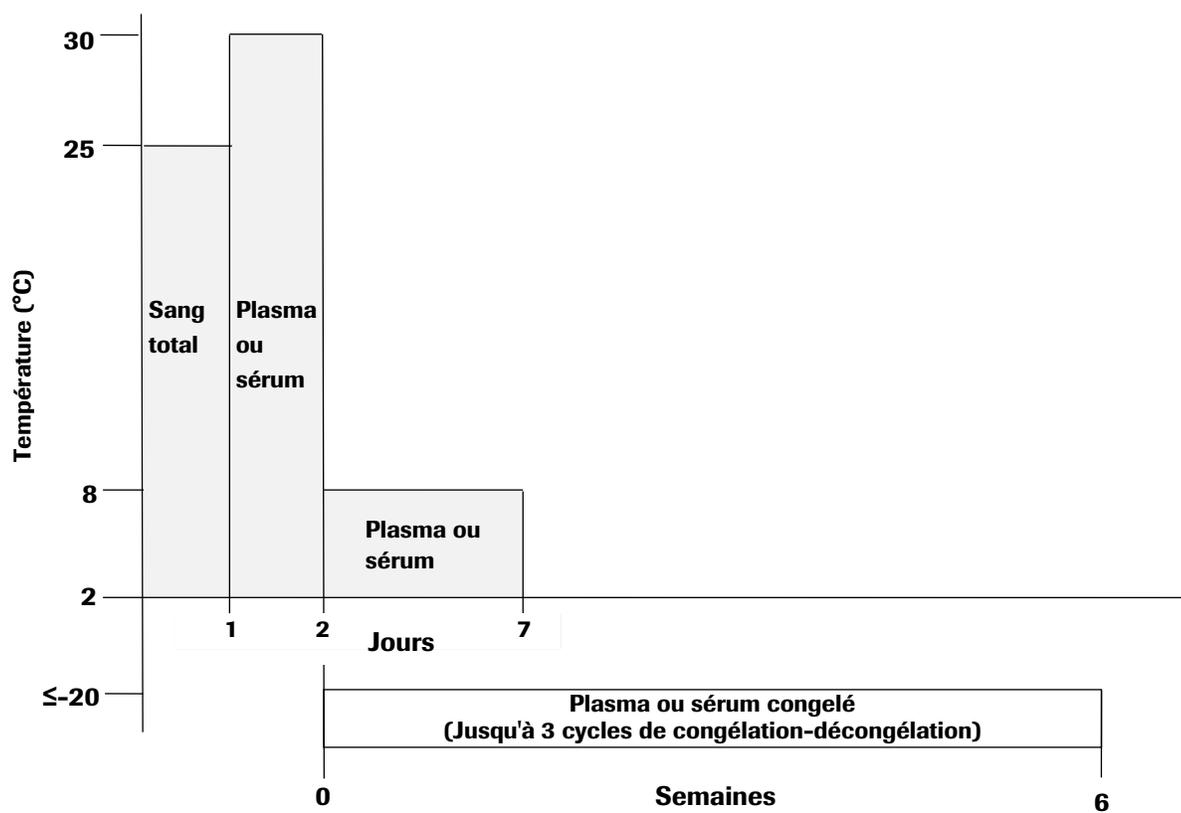
La stabilité des échantillons est affectée par les températures élevées.

En cas d'utilisation d'échantillons congelés dans des tubes secondaires, mettre les échantillons à température ambiante (15 à 30 °C) jusqu'à ce qu'ils soient complètement décongelés, puis les mélanger brièvement (par exemple agiter au vortex pendant 3 à 5 secondes) et les centrifuger pour regrouper le volume échantillon complet au fond du tube.

Échantillons

Échantillons de plasma EDTA et de sérum

- Le sang total doit être prélevé dans des tubes de séparation du sérum SST™, dans des tubes de préparation du plasma BD Vacutainer® PPT™ pour les méthodes de tests de diagnostic moléculaire ou dans des tubes stériles avec de l'EDTA comme anticoagulant. Suivre les instructions du fabricant des tubes de prélèvement d'échantillons.
- Le sang total prélevé dans des tubes de séparation du sérum SST™, dans des tubes de préparation du plasma BD Vacutainer® PPT™ pour les méthodes de tests de diagnostic moléculaire ou dans des tubes stériles avec de l'EDTA comme anticoagulant peut être conservé et/ou transporté à une température comprise entre 2 °C et 25 °C pendant 24 heures au maximum avant la préparation du plasma ou du sérum. La centrifugation doit être effectuée conformément aux instructions du fabricant.
- Après la séparation, les échantillons de plasma EDTA ou de sérum peuvent être conservés dans des tubes secondaires pendant 24 heures au maximum à 30 °C, puis pendant 5 jours au maximum à une température comprise entre 2 °C et 8 °C ou pendant 6 semaines au maximum à une température ≤ -20 °C. Pour la conservation à long terme, des températures ≤ -60 °C sont recommandées.
- Les échantillons de plasma et de sérum sont stables pendant un maximum de trois cycles de congélation/décongélation lorsqu'ils sont conservés à une température ≤ -20 °C.
- Se référer à la Figure 1 pour connaître les conditions de stockage des échantillons.

Figure 1 Conditions de stockage des échantillons de sang total, de plasma et de sérum

- Si les échantillons sont expédiés, ils doivent être emballés et étiquetés conformément aux réglementations nationales et internationales sur le transport d'échantillons et d'agents étiologiques.

Spots de sang séché

- Prélever les spots de sang séché en suivant les procédures cliniques adaptées.
- Il est recommandé d'appliquer un minimum de 70 µL de sang capillaire dans chaque cercle délimité sur le papier comportant les spots de sang séché.
- Vérifier que les DEUX côtés du papier sont saturés et remplissent entièrement le cercle délimité.
- Laisser sécher les spots de sang séché à température ambiante (entre 18 et 25 °C) pendant au moins 3 heures en protégeant le papier comportant ces spots de la lumière directe du soleil.
- Pour obtenir plus d'informations, consulter la notice relative à l'utilisation des papiers-filtres.
- Il est recommandé de préparer au moins 3 disques de papier par échantillon patient.
- Stocker les spots de sang séché dans des sacs refermables individuels en insérant un sachet déshydratant dans chaque sac.
- Les spots de sang séché peuvent être transportés ou stockés à une température comprise entre 15 et 30 °C pendant trois mois au maximum.
- Si les échantillons sont expédiés, ils doivent être emballés et étiquetés conformément aux réglementations nationales et internationales sur le transport d'échantillons et d'agents étiologiques.

Instructions d'utilisation

Notes de procédure

- Ne pas utiliser les réactifs du test **cobas**® HIV-1/HIV-2 Qualitative, le **cobas**® HIV-1/HIV-2 Qualitative Control Kit, le **cobas**® NHP Negative Control Kit, les réactifs **cobas** **omni** ou le **cobas**® Specimen Pre-Extraction Reagent après leur date de péremption.
- Ne pas réutiliser les consommables. Ils sont destinés à un usage unique.
- Se reporter à l'Assistance Utilisateur et/ou au guide de l'utilisateur du système **cobas**® 5800 ou des systèmes **cobas**® 6800/8800 pour obtenir des informations sur la bonne maintenance des instruments.

Préparation des échantillons de spot de sang séché

- Porter le **cobas**® Specimen Pre-Extraction Reagent (SPER) à température ambiante avant utilisation.
- Exciser un spot de sang séché du papier comportant le spot de sang séché.
- Transférer le spot dans un tube (5 mL, filetage interne, 12,5 mm de diamètre, polypropylène [Cryo.s™]) à l'aide de pinces ou de pincettes stériles ou jetables.
- Vérifier que le spot de sang séché est situé au fond du tube comme indiqué dans la Figure 2.
- Pipeter 1 150 µL de SPER dans le tube contenant le spot de sang séché et fermer le tube.
- Vérifier que le spot de sang séché est entièrement recouvert de SPER.
- Placer les tubes dans chacune des positions 1 à 24 sur un Thermomixer (modèle R 5355 ou équivalent, par exemple) Eppendorf préchauffé avec Thermoblock pour 24 cryo tubes et incuber pendant 10 minutes à 56 °C et 1 000 tr/m pour extraire le virus du sang total séché.
- Déboucher les tubes et vérifier que le spot de sang séché est fixé à la paroi du tube (Figure 3) pour éviter les caillots d'échantillon.
- Éliminer tout film liquide potentiellement situé au-dessus du niveau de liquide (Figure 4) à l'aide d'un embout de pipetage stérile (pour éviter la détection de niveau précoce).
- Transférer les tubes vers le système **cobas**® 5800 ou les systèmes **cobas**® 6800/8800.

Figure 2

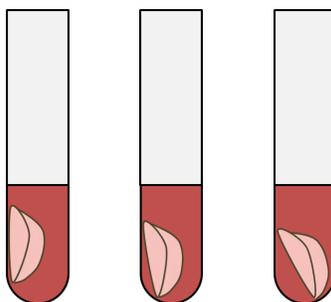
Spot de sang séché dans le tube



Valide

Figure 3

Emplacement du spot de sang séché



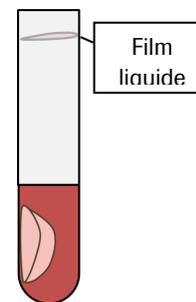
Valide

Valide

Risque
éventuel de
caillot

Figure 4

Film liquide



Risque éventuel de détection
de niveau précoce

Exécution du test cobas® HIV-1/HIV-2 Qualitative sur le système cobas® 5800

Le test cobas® HIV-1/HIV-2 Qualitative peut être exécuté avec un volume d'échantillon nécessaire de 650 µL (procédure de travail avec échantillons de plasma/sérum de 500 µL) ou de 1150 µL de cobas® Specimen Pre-Extraction Reagent (pour la procédure de travail avec échantillons de spot de sang séché de 850 µL). Il est à noter que les échantillons de spot de sang séché peuvent être analysés en mode de séries mixtes avec échantillons de plasma ou de sérum, ou avec les procédures de travail du test cobas® HIV-1 utilisant la PSC. La procédure de test est décrite en détail dans l'Assistance Utilisateur et/ou le guide de l'utilisateur du système cobas® 5800. La Figure 5 ci-dessous résume la procédure.

Figure 5 cobas® HIV-1/HIV-2 Qualitative : procédure du test sur le système cobas® 5800

1	Se connecter au système
2	Chargement des échantillons sur le système : <ul style="list-style-type: none"> • Charger les racks d'échantillons sur le système • Le système se prépare automatiquement • Demander des tests
3	Charger les réactifs et les consommables comme indiqué par le système : <ul style="list-style-type: none"> • Charger la ou les cassettes de réactifs spécifique(s) au test • Charger les mini-racks de contrôle • Charger les embouts de traitement • Charger les embouts d'élution • Charger les plaques de traitement • Charger les plaques à déchets liquides • Charger les plaques d'amplification • Charger la cassette MGP • Recharger le diluant d'échantillons • Recharger le réactif de lyse • Recharger le réactif de lavage
4	Démarrer le run en choisissant le bouton de démarrage du traitement sur l'interface utilisateur ; tous les runs suivants démarreront automatiquement s'ils ne sont pas reportés manuellement
5	Consulter et exporter les résultats
6	Retirer et boucher tous les tubes d'échantillon présentant le volume minimum requis s'ils doivent être réutilisés ultérieurement Nettoyer l'instrument : <ul style="list-style-type: none"> • Décharger les mini-racks de contrôle vides • Décharger la ou les cassettes de réactifs spécifique(s) au test vide(s) • Vider le tiroir de plaques d'amplification • Vider les déchets liquides • Vider les déchets solides

Exécution du test cobas® HIV-1/HIV-2 Qualitative sur les systèmes cobas® 6800/8800

Le test cobas® HIV-1/HIV-2 Qualitative peut être exécuté avec un volume d'échantillon minimum nécessaire de 650 µL (pour la procédure de travail avec échantillons de plasma ou de sérum de 500 µL) ou de 1 150 µL de cobas® Specimen Pre-Extraction Reagent (pour la procédure de travail avec échantillons de spot de sang séché de 850 µL). Il est à noter que la procédure de travail avec spots de sang séché du test cobas® HIV-1/HIV-2 Qualitative a été évaluée dans une fonctionnalité de série mixte uniquement avec la procédure de travail du test cobas® HIV-1 utilisant la PSC. La procédure de test est décrite en détail dans l'Assistance Utilisateur et/ou le guide de l'utilisateur des systèmes cobas® 6800/8800. La Figure 6 ci-dessous résume la procédure.

Figure 6 cobas® HIV-1/HIV-2 Qualitative : procédure du test sur les systèmes cobas® 6800/8800

1	<p>Se connecter au système</p> <p>Appuyer sur « Démarrer » pour préparer le système</p> <p>Demander des tests</p>
2	<p>Charger les réactifs et les consommables comme indiqué par le système :</p> <ul style="list-style-type: none"> • Charger la cassette de réactifs spécifique au test • Charger les cassettes de contrôles • Charger les embouts de pipette • Charger les plaques de traitement • Charger le réactif MGP • Charger les plaques d'amplification • Recharger le diluant d'échantillons • Recharger le réactif de lyse • Recharger le réactif de lavage
3	<p>Chargement des échantillons sur le système :</p> <ul style="list-style-type: none"> • Charger les racks d'échantillons et les racks pour embouts bouchés dans le module de chargement des échantillons • Confirmer que les échantillons ont été acceptés dans le module de transfert
4	<p>Démarrer le run en sélectionnant le bouton « Démarrer manuellement » sur l'interface utilisateur ou le faire démarrer automatiquement après 120 minutes ou si la série est pleine</p>
5	<p>Consulter et exporter les résultats</p>
6	<p>Retirer et boucher tous les tubes d'échantillon présentant le volume minimum requis s'ils doivent être réutilisés ultérieurement</p> <p>Nettoyer l'instrument :</p> <ul style="list-style-type: none"> • Décharger les cassettes de contrôles vides • Vider le tiroir de plaques d'amplification • Vider les déchets liquides • Vider les déchets solides

Résultats

Le système **cobas**® 5800 et les systèmes **cobas**® 6800/8800 détectent et discriminent automatiquement et simultanément le VIH-1 et le VIH-2 dans les échantillons et les contrôles, affichant la validité des tests, les résultats généraux, ainsi que les résultats des cibles individuelles.

Contrôle qualité et validité des résultats sur le système **cobas**® 5800 et les systèmes **cobas**® 6800/8800 avec la version du logiciel 2.0 ou supérieure

- Un contrôle négatif de plasma humain normal [(-) C] et deux contrôles positifs [HIV-1M/HIV-2 (+)C et HIV-1O (+)C] sont exécutés au moins une fois toutes les 72 heures avec chaque nouveau lot de kits. Des contrôles positifs et/ou négatifs plus fréquents peuvent être prévus en fonction des procédures de laboratoire et/ou de la réglementation locale.
- Dans le logiciel et/ou le rapport, consulter les alertes et les résultats correspondants pour s'assurer de la validité de la série (se référer à l'Assistance Utilisateur du x800 Data Manager pour une « Liste des codes d'alerte »).

L'invalidation des résultats est effectuée automatiquement par l'instrument en fonction des échecs des contrôles négatifs ou positifs.

REMARQUE : à la livraison, le système **cobas**® 5800 et les systèmes **cobas**® 6800/8800 avec la version du logiciel 2.0 ou supérieure sont paramétrés pour effectuer un ensemble de contrôles (positifs et négatifs) à chaque run, mais il est possible de configurer une fréquence inférieure allant jusqu'à toutes les 72 heures, en fonction des procédures de laboratoire et/ou de la réglementation locale. Merci de contacter votre ingénieur de service Roche et/ou l'assistance technique Roche pour plus d'informations.

Résultat de contrôle sur le système **cobas**® 5800 et les systèmes **cobas**® 6800/8800 avec la version du logiciel 2.0 ou supérieure

Les résultats des contrôles sont indiqués dans le logiciel, dans l'application « Contrôles ».

- Les contrôles sont marqués par « Valid » dans la colonne « Résultat du contrôle » si toutes les cibles du contrôle sont signalées valides. Les contrôles sont marqués par « Invalide » dans la colonne « Résultat du contrôle » si toutes les cibles ou une cible du contrôle sont signalées invalides.
- Les contrôles marqués par « Invalide » sont accompagnés d'un symbole d'alerte dans la colonne « Alertes ». L'affichage détaillé offre plus d'informations sur les raisons du signalement invalide du contrôle, notamment des informations sur les alertes.
- Si l'un des contrôles positifs est invalide, répéter le test pour tous les contrôles positifs et tous les échantillons associés. Si le contrôle négatif est invalide, répéter le test pour tous les contrôles et tous les échantillons associés.

Contrôle qualité et validité des résultats sur les systèmes cobas® 6800/8800 avec la version du logiciel 1.4

- Un contrôle négatif de plasma humain normal [(-) C] et deux contrôles positifs [HIV-1M/HIV-2 (+)C et HIV-1O (+)C] sont exécutés avec chaque lot.
- Dans le logiciel cobas® 6800/8800 et/ou dans le rapport, consulter les alertes et les résultats associés pour s'assurer de la validité de la série.
- La série est valide si aucune alerte n'apparaît pour les trois contrôles.

L'invalidation des résultats est effectuée automatiquement par le logiciel cobas® 6800/8800 en fonction des échecs des contrôles négatifs et positifs.

Alertes de contrôle sur les systèmes cobas® 6800/8800 avec la version du logiciel 1.4

Tableau 15 Alertes de contrôle pour les contrôles négatifs et positifs

Contrôle négatif	Alerte	Résultat	Interprétation
(-) C	Q02 (Échec de la série de contrôle)	Invalid	Le résultat invalide est attribué à la série complète si le résultat de (-) C est invalide.
Contrôle positif	Alerte	Résultat	Interprétation
HIV-1M/HIV-2 (+)C	Q02 (Échec de la série de contrôle)	Invalid	Le résultat invalide est attribué à la série complète si le résultat de HIV-1M/HIV-2 (+)C est invalide.
HIV-1O (+)C	Q02 (Échec de la série de contrôle)	Invalid	Le résultat invalide est attribué à la série complète si le résultat de HIV-1O (+)C est invalide.

Si la série est invalide, retester la série complète, y compris les échantillons et les contrôles.

(-) C correspond au contrôle négatif du NHP, HIV-1M/HIV-2 (+)C correspond au contrôle positif de cobas® HIV-1 M/HIV-2 et HIV-1O (+)C correspond au contrôle positif de cobas® HIV-1 O dans le logiciel cobas® 6800/8800.

Interprétation des résultats sur le système cobas® 5800 et les systèmes cobas® 6800/8800 avec la version du logiciel 2.0 ou supérieure

Les résultats des échantillons sont indiqués dans l'application « Résultats » du logiciel.

Pour une série de contrôles valide, vérifier l'absence d'alerte pour chaque échantillon individuel dans le logiciel et/ou dans le rapport. Les résultats doivent être interprétés comme suit :

- une série de contrôles valide peut comporter des résultats d'échantillon valides et invalides.
- Les échantillons associés à une série de contrôles valide sont marqués par « Valide » dans la colonne « Résultat du contrôle » si tous les résultats de cibles de contrôle sont signalés valides. Les échantillons associés à l'échec d'une série de contrôles sont marqués par « Invalide » dans la colonne « Résultat du contrôle » si tous les résultats de cibles de contrôle sont signalés invalides.
- Si les contrôles associés à un résultat d'échantillon sont invalides, une alerte spécifique est ajoutée au résultat d'échantillon comme suit :
 - Q05D : échec de validation de résultat en raison d'un contrôle positif invalide
 - Q06D : échec de validation de résultat en raison d'un contrôle négatif invalide

- Les valeurs de la colonne « Résultats » pour un résultat cible d'échantillon individuel doivent être interprétées comme indiqué dans le Tableau 16.
- Si une ou plusieurs cibles d'échantillon sont marquées par « Invalide », le logiciel indique une alerte dans la colonne « Alertes ». L'affichage détaillé offre plus d'informations sur les raisons du signalement invalide de la ou des cibles d'échantillon, notamment des informations sur les alertes.

Les résultats et l'interprétation correspondante pour détecter le VIH-1 et le VIH-2 sont indiqués ci-dessous dans le Tableau 16.

Tableau 16 Résultats pour l'interprétation des résultats cibles individuels sur le système **cobas® 5800** et les systèmes **cobas® 6800/8800** avec la version 2.0 ou supérieure du logiciel

Résultat		Interprétation
HIV-1 Reactive	HIV-2 Reactive	Tous les résultats requis étaient valides. Signal cible détecté pour le VIH-1 et le VIH-2.
HIV-1 Reactive	HIV-2 Non-Reactive	Tous les résultats requis étaient valides. Signal cible détecté pour le VIH-1. Aucun signal détecté pour le VIH-2.
HIV-1 Non-Reactive	HIV-2 Reactive	Tous les résultats requis étaient valides. Aucun signal détecté pour le VIH-1. Signal cible détecté pour le VIH-2.
HIV-1 Non-Reactive	HIV-2 Non-Reactive	Tous les résultats requis étaient valides. Aucun signal cible détecté pour le VIH-1 ou le VIH-2.
Invalid	Invalid	Les résultats de VIH-1 et de VIH-2 sont tous deux invalides. L'échantillon initial doit être retesté pour obtenir des résultats de VIH-1 et de VIH-2 valides. Si les résultats sont toujours invalides, un nouvel échantillon doit être obtenu.

Interprétation des résultats sur les systèmes **cobas® 6800/8800** avec la version du logiciel 1.4

Pour une série valide, vérifier l'absence d'alerte pour chaque échantillon individuel dans le logiciel des systèmes **cobas® 6800/8800** et/ou dans le rapport. Les résultats doivent être interprétés comme suit :

- Une série valide peut comporter des résultats d'échantillon valides et invalides.
- Les échantillons sont marqués d'un « Yes » dans la colonne « Valide » si tous les résultats demandés pour la cible ont donné des résultats valides. Les échantillons marqués d'un « No » dans la colonne « Valide » peuvent nécessiter une interprétation et une action supplémentaires.
- Les valeurs de la colonne « Résultat général » pour les échantillons individuels doivent être interprétés comme suit :
 - Reactive : tous les résultats requis sont réactifs ou l'un des résultats requis est réactif et l'autre est non réactif
 - Non-Reactive : tous les résultats requis sont non réactifs
 - Invalid : au moins un résultat requis est invalide
- Les résultats de la cible signalés pour les échantillons sont valides sauf mention contraire.

Les résultats et l'interprétation correspondante pour détecter le VIH-1 et le VIH-2 sont indiqués dans le Tableau 17.

Tableau 17 Résultats cibles pour l'interprétation des résultats cibles individuels sur les systèmes **cobas**® 6800/8800 avec la version du logiciel 1.4

Valide	Résultat général	Cible 1	Cible 2	Interprétation
Yes	Reactive	HIV-1 Reactive	HIV-2 Reactive	Tous les résultats requis étaient valides. Signal cible détecté pour le VIH-1 et le VIH-2.
Yes	Reactive	HIV-1 Reactive	HIV-2 Non-Reactive	Tous les résultats requis étaient valides. Signal cible détecté pour le VIH-1. Aucun signal détecté pour le VIH-2.
Yes	Reactive	HIV-1 Non-Reactive	HIV-2 Reactive	Tous les résultats requis étaient valides. Aucun signal détecté pour le VIH-1. Signal cible détecté pour le VIH-2.
Yes	Non-Reactive	HIV-1 Non-Reactive	HIV-2 Non-Reactive	Tous les résultats requis étaient valides. Aucun signal cible détecté pour le VIH-1 ou le VIH-2.
No	Invalid	Invalid	Invalid	Les résultats de VIH-1 et de VIH-2 sont tous deux invalides. L'échantillon initial doit être retesté pour obtenir des résultats de VIH-1 et de VIH-2 valides. Si les résultats sont toujours invalides, un nouvel échantillon doit être obtenu.

Limites du test

- Le test **cobas**® HIV-1/HIV-2 Qualitative a été évalué uniquement pour être utilisé conjointement au **cobas**® HIV-1/HIV-2 Qualitative Control Kit, au **cobas**® NHP Negative Control Kit, au **cobas omni** MGP Reagent, au **cobas omni** Lysis Reagent, au **cobas omni** Specimen Diluent, au **cobas omni** Wash Reagent et au **cobas**® Specimen Pre-Extraction Reagent (utilisé dans la procédure de travail avec spots de sang séché) sur les systèmes **cobas**® 5800/6800/8800.
- La précision des résultats dépend de la justesse du type d'échantillon (plasma EDTA ou sérum) et du prélèvement de l'échantillon, ainsi que du stockage et des procédures de manipulation. L'utilisation du test avec d'autres types d'échantillons peut entraîner des résultats imprécis.
- La détection des acides nucléiques du VIH-1 et du VIH-2 dépend du nombre de particules virales présentes dans l'échantillon et peut être affectée par le prélèvement, le stockage et la manipulation des échantillons, les facteurs relatifs aux patients (par exemple, l'âge, la présence de symptômes) et/ou le stade de l'infection.
- Bien qu'il s'agisse d'un cas rare, des mutations au niveau des régions hautement conservées d'un génome viral couvertes par le test **cobas**® HIV-1/HIV-2 Qualitative peuvent affecter la liaison des amorces et/ou des sondes et entraîner l'échec de la détection du virus.
- 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 de caractériser les différences entre les diverses technologies. Les utilisateurs doivent suivre leurs propres politiques/procédures.
- Le test **cobas**® HIV-1/HIV-2 Qualitative n'est pas destiné à être utilisé en tant que test de dépistage du VIH-1/VIH-2 dans le sang ou les produits sanguins issus de dons.

Évaluation des performances non cliniques

Principales caractéristiques de performance sur les systèmes cobas® 6800/8800

Limite de détection (LoD)

Standards internationaux de l'OMS/standards primaires Roche

La limite de détection du cobas® HIV-1/HIV-2 Qualitative a été déterminée à l'aide des standards suivants :

- 3^{ème} standard international de l'OMS pour l'ARN du VIH-1 groupe M (code NIBSC 10/152) pour les échantillons de plasma EDTA, de sérum et de spot de sang séché
- Standard international de l'OMS pour l'ARN du VIH-2 (code NIBSC 08/150) pour les échantillons de plasma et de sérum
- Standards primaires Roche pour l'ARN du VIH-2 pour les échantillons de spot de sang séché
- Standards primaires Roche pour l'ARN du VIH-1 groupe O pour les échantillons de plasma EDTA et de sérum

Aucun standard international n'est actuellement disponible pour l'ARN du VIH-1 groupe O. Le standard Roche pour l'ARN du VIH-1 groupe O est étalonné sur le lot 01 du panel de référence n° 1 de l'ARN du sous-type du VIH-1 CBER. Les standards primaires Roche pour l'ARN du VIH-1 groupe O sont dérivés de stocks viraux en culture disponibles à la vente, P/N 2420 (n° de réf. 500493, SeraCare Life Sciences). Le standard Roche pour l'ARN du VIH-2 est étalonné sur le standard international de l'OMS pour l'ARN du VIH-2 (code NIBSC 08/150). Les standards primaires Roche pour l'ARN du VIH-2 sont dérivés de stocks viraux en culture disponibles à la vente, P/N HIV-2 NIH-Z (n° de réf. 10-27-000, Applied Biotechnologies, Inc.). Une copie d'ARN du VIH-1 équivaut à 1,7 Unités Internationales (UI) et une copie d'ARN du VIH-2 équivaut à 0,2 UI.

Des dilutions en série des standards dans du plasma humain EDTA, du sérum, du sang total négatif au VIH pour des spots de sang séché ont été préparés. Des panels de cinq ou six niveaux de concentration positifs plus un échantillon négatif ont été testés sur trois lots de réactifs du test cobas® HIV-1/HIV-2 Qualitative, lors de plusieurs runs, pendant plusieurs jours, par plusieurs opérateurs et sur plusieurs instruments.

Pour chaque virus, l'analyse PROBIT à 95 % des données combinées des différentes séries de dilutions et des différents lots de réactifs a été utilisée pour estimer la LoD, ainsi que les limites inférieure et supérieure de l'intervalle de confiance à 95 % (Tableau 18). Les taux de réactivité observés dans les études de LoD pour chaque virus sont résumés dans du Tableau 19 au Tableau 21.

Tableau 18 Résultats de l'analyse PROBIT à 95 % des données de LoD collectées avec les standards viraux dans du plasma EDTA, du sérum et des spots de sang séché

Matrices	Analyte	Unités de mesure	LoD	Limite inférieure de confiance à 95 %	Limite supérieure de confiance à 95 %
Plasma EDTA	VIH-1 groupe M	copies/mL	12,6	10,9	15,2
	VIH-1 groupe O	copies/mL	14,8	12,8	17,7
	VIH-2	copies/mL	27,9	22,9	36,6
Sérum	VIH-1 groupe M	copies/mL	12,1	10,5	14,5
	VIH-1 groupe O	copies/mL	12,6	10,9	15,2
	VIH-2	copies/mL	23,4	19,6	29,7
Spots de sang séché	VIH-1 groupe M	copies/mL	255	224	299
	VIH-2	copies/mL	984	856	1169

Tableau 19 Résumé des taux de réactivité pour le VIH-1 groupe M dans le plasma EDTA, le sérum et les spots de sang séché

Matrices	Concentration de l'ARN du VIH-1 groupe M (cp/mL)	Nombre d'échantillons réactifs	Nb de réplicats valides	% réactifs
Plasma EDTA	40	189	189	100 %
	30	189	189	100 %
	20	187	189	99 %
	10	174	189	92 %
	5	124	189	66 %
	2,5	91	189	48 %
	0	0	189	0 %
Sérum	40	189	189	100 %
	30	189	189	100 %
	20	187	189	99 %
	10	176	189	93 %
	5	126	189	67 %
	2,5	86	189	46 %
	0	0	189	0 %
Spots de sang séché	750	252	252	100 %
	600	252	252	100 %
	360	246	250	98 %
	180	220	249	88 %
	90	163	252	65 %
	45	109	250	44 %
	0	0	107	0 %

Tableau 20 Résumé des taux de réactivité pour le VIH-1 groupe O dans le plasma EDTA et le sérum

Matrices	Concentration de l'ARN du VIH-1 groupe O (cp/mL)	Nombre d'échantillons réactifs	Nb de réplicats valides	% réactifs
Plasma EDTA	40	189	189	100 %
	30	189	189	100 %
	20	185	188	98 %
	10	163	189	86 %
	5	117	189	62 %
	2,5	78	189	41 %
	0	0	189	0 %
Sérum	40	189	189	100 %
	30	189	189	100 %
	20	186	189	98 %
	10	173	189	92 %
	5	132	189	70 %
	2,5	91	189	48 %
	0	0	189	0 %

Tableau 21 Résumé des taux de réactivité pour le VIH-2 dans le plasma EDTA, le sérum et les spots de sang séché

Matrices	Concentration de l'ARN du VIH-2 (cp/mL)	Nombre d'échantillons réactifs	Nb de réplicats valides	% réactifs
Plasma EDTA	80	126	126	100 %
	40	124	126	98 %
	20	115	126	91 %
	10	81	126	64 %
	5	61	126	48 %
	0	0	189	0 %
Sérum	80	126	126	100 %
	40	125	126	99 %
	20	114	126	90 %
	10	96	126	76 %
	5	49	126	39 %
	0	0	189	0 %
Spots de sang séché	3000	252	252	100 %
	1450	241	247	98 %
	725	226	246	92 %
	362	167	248	67 %
	181	103	250	41 %
	0	0	108	0 %

Précision intra-laboratoire

La précision du cobas® HIV-1/HIV-2 Qualitative a été déterminée à l'aide des standards suivants :

- standard secondaire Roche pour le VIH-1 groupe M
- standard primaire Roche pour le VIH-2

Deux panels de membres VIH-1 groupe M et de cible VIH-2 formulés individuellement, comprenant chacun 3 membres de panel à des concentrations d'environ $0,6 \times$, $1 \times$ et $3 \times$ la LoD du test cobas® HIV-1/HIV-2 Qualitative ont été testés dans cette étude. Les tests ont été effectués pour les composants de variabilité suivants :

- Variabilité d'un jour à un autre sur une période de 4 jours
- Variabilité entre les lots à l'aide de 3 lots de réactifs différents du test cobas® HIV-1/HIV-2 Qualitative
- Variabilité entre les instruments à l'aide de 3 systèmes cobas® 6800/8800 différents

Environ 84 réplicats ont été testés avec chacun des 3 membres du panel pour chaque lot de réactifs pour un total de 252 réplicats sur l'ensemble des lots de réactifs par cible. Les résultats de précision ont été évalués en calculant le pourcentage de résultats de test réactif à chaque niveau de concentration pour chacun des composants de variabilité analysés.

Les limites des intervalles de confiance bilatéraux à 95 % pour chaque taux réactif ont été calculées pour chacun des trois niveaux de VIH-1 groupe M et de VIH-2 testés sur 4 jours, sur 3 lots de réactifs et sur 3 systèmes cobas® 6800/8800. Le test cobas® HIV-1/HIV-2 Qualitative est reproductible sur plusieurs jours, plusieurs lots de réactifs et plusieurs instruments. Les résultats de la variabilité entre les lots de réactifs sont résumés au Tableau 22 et au Tableau 23.

Tableau 22 Résumé de la précision entre les lots de réactifs (plasma EDTA) du test cobas® HIV-1/HIV-2 Qualitative

Analyte	Concentration	Lot de réactifs	% réactifs (réactifs/réplicats valides)	Limite inférieure de l'intervalle de confiance à 95 %	Limite supérieure de l'intervalle de confiance à 95 %
VIH-1 groupe M	~3 × LoD	1	100 % (84/84)	95,7 %	100 %
		2	100 % (84/84)	95,7 %	100 %
		3	100 % (84/84)	95,7 %	100 %
	~1 × LoD	1	98,8 % (83/84)	93,5 %	100 %
		2	98,8 % (83/84)	93,5 %	100 %
		3	100 % (84/84)	95,7 %	100 %
	~0,6 × LoD	1	77,4 % (65/84)	67,0 %	85,8 %
		2	76,2 % (64/84)	65,7 %	84,8 %
		3	82,1 % (69/84)	72,3 %	89,6 %
VIH-2	~3 × LoD	1	98,8 % (83/84)	93,5 %	100 %
		2	96,4 % (81/84)	89,9 %	99,3 %
		3	100 % (84/84)	95,7 %	100 %
	~1 × LoD	1	98,8 % (83/84)	93,5 %	100 %
		2	98,8 % (83/84)	93,5 %	100 %
		3	97,6 % (82/84)	91,7 %	99,7 %
	~0,6 × LoD	1	66,7 % (56/84)	55,5 %	76,6 %
		2	69,0 % (58/84)	58,0 %	78,7 %
		3	69,0 % (58/84)	58,0 %	78,7 %

Tableau 23 Résumé de la précision entre les lots de réactifs (spots de sang séché) du test **cobas**® HIV-1/HIV-2 Qualitative

Analyte	Concentration	Lot de réactifs	% réactifs (réactifs/réplicats valides)	Limite inférieure de l'intervalle de confiance à 95 %	Limite supérieure de l'intervalle de confiance à 95 %
VIH-1 groupe M	~3 × LoD	1	100 % (84/84)	95,7 %	100 %
		2	100 % (83/83)	95,7 %	100 %
		3	97,6 % (82/84)	91,7 %	99,7 %
	~1 × LoD	1	96,4 % (81/84)	89,9 %	99,3 %
		2	96,4 % (81/84)	89,9 %	99,3 %
		3	95,2 % (80/84)	88,3 %	98,7 %
	~0,6 × LoD	1	88,0 % (73/83)	79,0 %	94,1 %
		2	83,3 % (70/84)	73,6 %	90,6 %
		3	88,1 % (74/84)	79,2 %	94,1 %
VIH-2	~3 × LoD	1	100 % (83/83)	95,7 %	100 %
		2	100 % (84/84)	95,7 %	100 %
		3	100 % (83/83)	95,7 %	100 %
	~1 × LoD	1	97,6 % (82/84)	91,7 %	99,7 %
		2	97,6 % (82/84)	91,7 %	99,7 %
		3	98,8 % (83/84)	93,5 %	100 %
	~0,6 × LoD	1	88,1 % (74/84)	79,2 %	94,1 %
		2	91,7 % (77/84)	83,6 %	96,6 %
		3	85,7 % (72/84)	76,4 %	92,4 %

Vérification de groupe/sous-type et inclusivité

Les performances du test **cobas**® HIV-1/HIV-2 Qualitative sur les sous-types du VIH-1 groupe M, groupe O et groupe N et sur le VIH-2 groupe B ont été évaluées par :

- Vérification de la limite de détection pour les sous-types du VIH-1 groupe M, groupe O (vérifié par dilution dans le sang total pour les spots de sang séché), groupe N et du VIH-2 groupe B
- Vérification de l'inclusivité pour les sous-types du VIH-1 groupe M, groupe O, groupe N et du VIH-2 groupe A et groupe B

Vérification de la limite de détection pour les sous-types du VIH-1 groupe M, groupe O, groupe N et du VIH-2 groupe B

Les échantillons cliniques ou en culture pour le VIH-1 groupe M (A, C, D, F, G, H) et les formes recombinantes circulantes (CRF01_AE, CRF02_AG), pour le VIH-1 groupe N et le VIH-2 groupe B ont été dilués dans du plasma EDTA, sérum ou du sang total pour les spots de sang séché, et aussi le VIH-1 groupe O dans le sang total pour les spots de sang séché, à la concentration de la LoD du groupe/sous-type prédominant (VIH-1 groupe M sous-type B ou VIH-2 groupe A) en fonction de la LoD déterminée par l'analyse PROBIT à 95 % sur l'ensemble des lots combinés. Le taux réactif a été déterminé avec 42 réplicats. Les tests ont été effectués avec un lot de réactifs du test **cobas**® HIV-1/HIV-2 Qualitative. Les résultats du VIH-1 sont indiqués dans le Tableau 24 et les résultats du VIH-2 sont indiqués dans le Tableau 25. Ces résultats confirment que le test **cobas**® HIV-1/HIV-2 Qualitative a détecté le VIH pour le VIH-1 groupe M (A, C, D, F, G, H, CRF01_AE, CRF02_AG), le VIH-1 groupe O, le VIH-1 groupe N et le VIH-2 groupe B à la concentration déclarée pour

chaque matrice ou moins avec un intervalle de confiance à 95 % supérieur unilatéral, supérieur ou égal au taux réactif attendu de 95 %.

Tableau 24 Vérification de la LoD pour les sous-types du VIH-1 groupe M, groupe O et groupe N dans le plasma EDTA, le sérum ou le sang total de spots de sang séché

Groupe	Sous-type	Plasma : 12,6 cp/mL			Sérum : 12,1 cp/mL			Spots de sang séché : 255 cp/mL		
		Nb de répliquats valides	Nombre d'échantillons réactifs	% réactifs (IC à 95 %*)	Nb de répliquats valides	Nombre d'échantillons réactifs	% réactifs (IC à 95 %*)	Nb de répliquats valides	Nombre d'échantillons réactifs	% réactifs (IC à 95 %*)
M	A	42	40	95 % (99 %)	42	40	95 % (99 %)	41	37	90 % (97 %)
	C	42	41	98 % (100 %)	42	42	100 % (99,4 %)	42	42	100 % (100 %)
	D	42	37	88 % (96 %)	42	37	88 % (96 %)	42	39	93 % (99 %)
	F	42	38	90 % (97 %)	42	38	90 % (97 %)	42	40	95 % (99 %)
	G	42	40	95 % (99 %)	42	39	93 % (99 %)	42	42	100 % (100 %)
	H	42	38	90 % (97 %)	42	41	98 % (100 %)	42	41	98 % (100 %)
	CRF01_AE	42	38	90 % (97 %)	42	38	90 % (97 %)	42	41	98 % (100 %)
	CRF02_AG	42	36	86 % (95 %)	42	39	93 % (99 %)	42	42	100 % (100 %)
O		N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	41	39	95 % (99 %)
N		42	39	93 % (99 %)	42	37	88 % (96 %)	41	40	98 % (100 %)

* Intervalle supérieur de confiance à 95 %

Tableau 25 Vérification de la LoD pour le VIH-2 groupe B dans le plasma EDTA, le sérum ou le sang total de spots de sang séché

Groupe	Plasma : 27,9 cp/mL			Sérum : 23,4 cp/mL			Spots de sang séché : 984 cp/mL		
	Nb de répliquats valides	Nombre d'échantillons réactifs	% réactifs (IC à 95 %*)	Nb de répliquats valides	Nombre d'échantillons réactifs	% réactifs (IC à 95 %*)	Nb de répliquats valides	Nombre d'échantillons réactifs	% réactifs (IC à 95 %*)
B	42	42	100 % (100 %)	42	42	100 % (100 %)	42	42	100 % (100 %)

* Intervalle supérieur de confiance à 95 %

Vérification de l'inclusivité pour les sous-types du VIH-1 groupe M, groupe O, groupe N et du VIH-2 groupe A et groupe B

Les performances du test cobas® HIV-1/HIV-2 Qualitative pour détecter les sous-types du VIH-1 groupe M (A, C, D, F, G, H, J, K) et les formes recombinantes circulantes (CRF01_AE, CRF02_AG, CRF12_BF, CRF14_BG), du VIH-1 groupe O, VIH-1 groupe N, du VIH-2 groupe A et du VIH-2 groupe B ont été déterminées en testant des échantillons cliniques uniques et/ou des cultures isolées pour chaque groupe ou sous-type dans le plasma EDTA ou le sérum.

VIH-1 groupe M

Un total de 105 échantillons cliniques uniques du VIH-1 groupe M présentant un sous-type du VIH-1 connu ont été testés purs (non dilués) et après une dilution à $\sim 5 \times$ la LoD du test cobas® HIV-1/HIV-2 Qualitative. Les 105 échantillons cliniques présentant des sous-types connus ont tous été détectés comme étant purs et à $\sim 5 \times$ la LoD (Tableau 26).

En outre, quatre échantillons cliniques de VIH-1 groupe M sous-type CRF12_BF et un échantillon clinique de VIH-1 groupe M sous-type CRF14_BG ont été testés après la préparation d'une série de dilution. Un réplicat de chacun des échantillons purs et un réplicat de chaque dilution de 1:1,0E+01 à 1:5,0E+02 (2 à 4 dilutions par échantillon) pour le VIH-1 groupe M sous-type CRF12_BF et de 1:2,0E+01 à 1:1,2E+02 (4 dilutions) pour le VIH-1 groupe M sous-type CRF14_BG ont été testés et tous ont produit des résultats réactifs. Tous les échantillons cliniques testés ont été détectés à $\leq 5 \times$ la LoD.

Tableau 26 Échantillons cliniques de VIH-1 groupe M

Sous-type/formes recombinantes circulantes	% réactifs (réactifs/échantillons testés) purs	% réactifs (réactifs/échantillons testés) dilués à $\sim 5 \times$ la LoD
A	100 % (10/10)	100 % (10/10)
C	100 % (10/10)	100 % (10/10)
D	100 % (10/10)	100 % (10/10)
F	100 % (10/10)	100 % (10/10)
G	100 % (10/10)	100 % (10/10)
H	100 % (10/10)	100 % (10/10)
J	100 % (5/5)	100 % (5/5)
K	100 % (9/9)	100 % (9/9)
CRF01_AE	100 % (10/10)	100 % (10/10)
CRF02_AG	100 % (10/10)	100 % (10/10)
CRF12_BF	100 % (2/2)	100 % (2/2)
CRF14_BG	100 % (9/9)	100 % (9/9)

VIH-1 groupe O et VIH-1 groupe N

Un total de 10 échantillons cliniques ou en culture pour le VIH-1 groupe O et un échantillon clinique ou en culture pour le VIH-1 groupe N ont été testés après la préparation d'une série de dilution. Deux réplicats de chacun des échantillons purs et quatre réplicats de chaque dilution de 1:1,0E+01 à 1:4,8E+05 (3 à 5 dilutions par échantillon) pour le VIH-1 groupe O ont été testés et tous ont produit des résultats réactifs. Deux réplicats d'échantillons purs et quatre réplicats de chaque dilution de 1:1,0E+04 à 1:1,4E+05 (5 dilutions) pour le VIH-1 groupe N ont été testés. Les échantillons purs et les dilutions de 1:1,0E+04 à 1:4,5E+04 ont produit 100 % de résultats réactifs, tandis que la dilution à 1:1,4E+05 a produit 50 % de résultats réactifs. Tous les échantillons testés ont été détectés à $\leq 3 \times$ la LoD.

VIH-2

Un total de 16 échantillons cliniques uniques ou en culture du VIH-2 groupe A et groupe B ont été testés purs (non dilués) et après une dilution à $\sim 5 \times$ la LoD du test **cobas**® HIV-1/HIV-2 Qualitative. Les 16 échantillons VIH-2 ont tous été détectés comme étant purs et à $\sim 5 \times$ la LoD (Tableau 27).

En outre, six échantillons cliniques de VIH-2 groupe A et quatre échantillons cliniques de VIH-2 groupe B ont été testés après la préparation d'une série de dilution. Un réplikat de chacun des échantillons purs et un réplikat de chaque dilution de 1:1,0E+01 à 1:9,0E+02 (2 à 5 dilutions par échantillon) pour le VIH-2 groupe A et de 1:2,0E+01 à 1:6,0E+01 (2 à 4 dilutions) pour le VIH-2 groupe B ont été testés et tous ont produit des résultats réactifs. Tous les échantillons cliniques testés ont été détectés à $\leq 3 \times$ la LoD.

Tableau 27 Échantillons de VIH-2 cliniques ou en culture

Sous-type	% réactifs (réactifs/échantillons testés) purs	% réactifs (réactifs/échantillons testés) dilués à $\sim 5 \times$ la LoD
A	100 % (4/4)	100 % (4/4)
B	100 % (6/6)	100 % (6/6)

Spécificité

La spécificité du test **cobas**® HIV-1/HIV-2 Qualitative a été déterminée en analysant des échantillons de plasma EDTA négatif au VIH, de sérum négatif au VIH et de spots de sang séché négatif au VIH provenant de donneurs de sang individuels. Un total de 613 échantillons individuels de plasma EDTA et de 607 échantillons individuels de sérum ont été testés à l'aide de deux lots de réactifs de test **cobas**® HIV-1/HIV-2 Qualitative. En outre, 604 échantillons individuels de spots de sang séché ont été testés à l'aide de trois lots de réactifs de test **cobas**® HIV-1/HIV-2 Qualitative. Tous les échantillons testés se sont révélés non réactifs pour le VIH-1 et le VIH-2. Dans chacun des échantillons de plasma EDTA, de sérum et de spot de sang séché, la spécificité du test **cobas**® HIV-1/HIV-2 Qualitative était de 100 % (limite de confiance à 95 % : $\geq 99,5$ %).

Panels de séroconversion

Les performances du test **cobas**® HIV-1/HIV-2 Qualitative ont été évaluées à l'aide de panels de séroconversion disponibles dans le commerce pour le VIH-1 groupe M.

Panels de séroconversion VIH-1 groupe M

Vingt-cinq panels de séroconversion disponibles dans le commerce ont été utilisés. Chaque membre du panel a été testé pur à l'aide du cobas® HIV-1/HIV-2 Qualitative et les résultats ont été comparés à ceux également testés purs, obtenus à l'aide d'un test sérologique HIV Ag/Ab de 4^{ème} génération agréé par la FDA et d'un test sur acides nucléiques de comparaison agréé par la FDA. Les résultats globaux de performances sont indiqués dans le Tableau 28.

Tableau 28 Performances du test cobas® HIV-1/HIV-2 Qualitative sur les panels de séroconversion VIH

Panel de séro-conversion VIH	Nombre de membres de panel testés	Nombre de membres de panel présentant un résultat réactif			Jours avant le premier résultat réactif			Jours d'avance de la détection avec le test cobas® HIV-1/HIV-2 Qualitative	
		cobas® HIV-1/HIV-2 Qualitative	Test de comparaison TAN	Test VIH Ag/Ab	cobas® HIV-1/HIV-2 Qualitative	Test de comparaison TAN	Test VIH Ag/Ab	Test de comparaison TAN	Test VIH Ag/Ab
HIV6243	10	6	6	4	18	18	25	0	7
HIV9011	11	3	3	2	30	30	38	0	8
HIV9012	8	5	5	3	9	7	16	-2	7
HIV9013	7	3	2	2	18	23	23	5	5
HIV9018	10	5	5	3	21	21	28	0	7
HIV9020	21	5	5	3	83	83	90	0	7
HIV9022	9	3	4	2	23	17	25	-6	2
HIV9030	16	6	5	3	40	40	47	0	7
HIV9031	19	8	6	4	120	131	146	11	26
HIV9034	13	4	4	3	41	41	46	0	5
HIV9076	9	3	3	3	66	66	66	0	0
HIV9089	6	5	5	3	7	7	16	0	9
HIV12008	13	7	7	5	21	21	28	0	7
PRB954	7	5	5	2	7	7	17	0	10
PRB956	5	4	4	2	40	40	47	0	7
PRB958	6	6	6	4	0	0	7	0	7
PRB961	9	4	4	2	19	19	27	0	8
PRB962	6	4	4	2	7	7	14	0	7
PRB963	7	4	5	2	9	7	17	-2	8
PRB967	6	5	5	3	3	3	17	0	14
PRB968	10	6	6	4	15	15	26	0	11
PRB969	10	7	6	3	53	53	70	0	17
PRB973	4	4	4	2	0	0	7	0	7
PRB976	4	4	4	2	0	0	7	0	7
PRB977	4	4	2	2	0	-*	13	-*	13
Total	230	120	115	70					

* Résultat invalide pour le test de comparaison NAT pour le premier membre du panel PRB977 où un résultat NAT réactif était attendu. Le panel (PRB977) n'a donc pas été inclus dans l'évaluation des résultats de test de comparaison NAT.

Spécificité analytique

La spécificité analytique du test **cobas**® HIV-1/HIV-2 Qualitative a été évaluée pour la réactivité croisée avec un panel de micro-organismes à 10^5 ou 10^6 particules, copies, ou PFU/mL, pour les isolats viraux et les souches bactériennes/isolats de levure, respectivement (Tableau 29). Les micro-organismes ont été ajoutés à du plasma EDTA humain négatif au VIH et testés avec et sans ajout de virus VIH-1 et VIH-2 à une concentration d'environ $3 \times$ la LoD du test **cobas**® HIV-1/HIV-2 Qualitative pour chaque virus. Des résultats non réactifs ont été obtenus avec le test **cobas**® HIV-1/HIV-2 Qualitative pour tous les échantillons de micro-organismes sans cible VIH-1 et VIH-2 et des résultats réactifs ont été obtenus pour tous les échantillons de micro-organismes avec cibles VIH-1 et VIH-2. Les micro-organismes testés n'entraînent pas de réaction croisée et n'interfèrent pas avec le test **cobas**® HIV-1/HIV-2 Qualitative.

Tableau 29 Micro-organismes dont la réactivité croisée a été testée

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

Des échantillons de plasma EDTA de chacun des états pathologiques (un de l'adénovirus de type 5 et dix de chacun des autres états pathologiques) répertoriés dans le Tableau 30 ont été testés avec et sans ajout de VIH-1 et VIH-2 à une concentration d'approximativement $3 \times$ la LoD du test **cobas**® HIV-1/HIV-2 Qualitative pour chaque virus. Ces états pathologiques n'entraînent pas de réaction croisée et n'interfèrent pas avec le test **cobas**® HIV-1/HIV-2 Qualitative.

Tableau 30 Échantillons pathologiques testés pour la spécificité analytique

Pathologie		
Adénovirus de type 5	Virus de l'hépatite B	Virus de l'herpès simplex de type 2
Cytomégalovirus	Virus de l'hépatite C	Virus lymphotrope humain à cellules T de type I
Virus de la dengue	Virus de l'hépatite E	Virus lymphotrope humain à cellules T de type II
Virus d'Epstein-Barr	Virus de l'herpès simplex de type 1	Virus du Nil Occidental

Spécificité analytique - substances interférentes

Des niveaux élevés de triglycérides (33 g/L), de bilirubine conjuguée (0,2 g/L), de bilirubine non conjuguée (0,2 g/L), d'albumine (60 g/L), d'hémoglobine (2 g/L) et d'ADN humain (2 mg/L) dans les échantillons, la présence de maladies auto-immunes, telles que le lupus érythémateux systémique (LES) et l'arthrite rhumatoïde (AR), ainsi que les anticorps antinucléaires (ANA) ont été testés en présence et en l'absence d'ARN du VIH-1 et du VIH-2.

De plus, les composés médicamenteux répertoriés au Tableau 31 ont été testés à trois fois la C_{max} en présence et en l'absence d'ARN du VIH-1 et du VIH-2.

Aucune substance potentiellement interférente n'affecte les performances du test, à l'exception des triglycérides et de l'ADN humain. En présence de triglycérides à des concentrations supérieures à 25 g/L et d'ADN humain à des concentrations supérieures à 1,5 mg/L, des résultats invalides peuvent être produits en raison d'une interférence. Des résultats non réactifs ont été obtenus avec le test **cobas**® HIV-1/HIV-2 Qualitative pour tous les échantillons sans cible VIH, et des résultats réactifs ont été obtenus sur tous les échantillons avec cibles VIH-1 et VIH-2.

Tableau 31 Composés médicamenteux dont l'interférence avec le test **cobas**® HIV-1/HIV-2 Qualitative a été testée

Catégorie de médicament	Nom du médicament générique	
Modulateurs de l'immunité	Peginterféron α -2a	Ribavirine
	Peginterféron α -2b	
Inhibiteurs du VHC	Simeprevir	Sofosbuvir
Inhibiteurs de la transcriptase inverse ou de l'ADN polymérase	Emtricitabine	Tenofovir
	Entecavir	Adefovir dipivoxil
	Foscarnet	Telbivudine
	Cidofovir	Aciclovir
	Lamivudine	Valganciclovir
	Ganciclovir	
Composés pour le traitement des infections opportunistes	Azithromycin	Pyrazinamide
	Clarithromycin	Rifabutine
	Ethambutol	Rifampicine
	Fluconazole	Sulfaméthoxazole
	Isoniazide	Triméthoprim
Statine	Atorvastatine	
Inhibiteur sélectif de la recapture de la sérotonine	Fluoxétine	Paroxétine
	Sertraline	
Antihistaminique	Loratadine	
Bêta-bloquant	Nadolol	
Décongestionnant	Phényléphrine HCl	
Anti-inflammatoire non stéroïdien	Naproxène	Ibuprofène
Antalgique	Acétaminophène	Acide acétylsalicylique
Vitamines	Acide ascorbique	

Corrélation de méthodes

Plasma EDTA et sérum

Les performances du test **cobas**® HIV-1/HIV-2 Qualitative ont été comparées à celles du test COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HIV-1 Qualitative, v2.0 (échantillons de plasma EDTA du VIH-1) et à un test de différenciation des anticorps du VIH-1/VIH-2 marqué CE (échantillons de plasma EDTA et de sérum du VIH-1 et du VIH-2).

Pour la corrélation avec le test COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HIV-1 Qualitative, v2.0, les échantillons cliniques de plasma EDTA ont été analysés sur un site externe. Pour les échantillons cliniques de plasma EDTA positifs au VIH-1 et négatifs au VIH-1, un pourcentage total de corrélation de 100 % a été démontré entre les deux tests, prouvant ainsi que les performances du test **cobas**® HIV-1/HIV-2 Qualitative et du test COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HIV-1 Qualitative, v2.0 sont équivalentes (Tableau 32).

Tableau 32 Résumé des résultats pour la corrélation de méthodes pour les échantillons de plasma EDTA de VIH-1

Corrélation de méthodes Échantillons de plasma EDTA du VIH-1		Test COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HIV-1 Qualitative, v2.0	
		Réactifs	Non réactifs
cobas ® HIV-1/HIV-2 Qualitative	Réactifs	68	0
	Non réactifs	0	80

Pour la comparaison avec un test de différenciation des anticorps du VIH-1/VIH-2 marqué CE, les échantillons cliniques de plasma EDTA ou de sérum ont été analysés sur un site externe. Pour les échantillons de plasma EDTA ou de sérum positifs au VIH-1 et négatifs au VIH-1, un pourcentage total de corrélation de 100 % entre les deux tests a été démontré. Pour les échantillons de plasma EDTA ou de sérum positifs au VIH-2 et négatifs au VIH-2, un pourcentage total de corrélation de 99,7 % entre les deux tests a été démontré. Cela prouve que les performances du test **cobas**® HIV-1/HIV-2 Qualitative et du test de différenciation des anticorps anti-VIH-1/VIH-2 marqué CE sont équivalentes (Tableau 33 et Tableau 34).

Tableau 33 Résumé des résultats pour la corrélation de méthodes pour les échantillons de plasma EDTA et de sérum du VIH-1

Corrélation de méthodes Échantillons de plasma EDTA et de sérum du VIH-1		Test de différenciation des anticorps VIH-1/VIH-2 marqué CE		
		Réactifs	Non réactifs	Indeterminate
cobas ® HIV-1/HIV-2 Qualitative	Réactifs	138	0	0
	Non réactifs	0	164	1*

* L'échantillon ayant indiqué un résultat non réactif au test **cobas**® HIV-1/HIV-2 Qualitative et un résultat indéterminé au test de différenciation des anticorps anti-VIH-1/VIH-2 marqué CE a été confirmé comme étant négatif par un test sérologique VIH Ag/Ab marqué CE de 4^{ème} génération.

Tableau 34 Résumé des résultats pour la corrélation de méthodes pour les échantillons de plasma EDTA et de sérum du VIH-2

Corrélation de méthodes Échantillons de plasma EDTA et de sérum du VIH-2		Test de différenciation des anticorps VIH-1/VIH-2 marqué CE		
		Réactifs	Non réactifs	Indeterminate
cobas® HIV-1/HIV-2 Qualitative	Réactifs	14	0	0
	Non réactifs	1	287	1*

* L'échantillon ayant indiqué un résultat non réactif au test cobas® HIV-1/HIV-2 Qualitative et un résultat indéterminé au test de différenciation des anticorps anti-VIH-1/VIH-2 marqué CE a été confirmé comme étant négatif par un test sérologique VIH Ag/Ab marqué CE de 4^{ème} génération.

Spots de sang séché

Les performances du test cobas® HIV-1/HIV-2 Qualitative ont été comparées à celles du test COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HIV-1 Qualitative, v2.0 en analysant les échantillons cliniques de spot de sang séché provenant de nourrissons sur un site externe. Pour les échantillons de spot de sang séché positifs au VIH-1 et négatifs au VIH-1, un pourcentage total de corrélation de 99,6 % a été démontré entre les deux tests, prouvant ainsi que les performances du test cobas® HIV-1/HIV-2 Qualitative et du test COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HIV-1 Qualitative, v2.0 sont équivalentes (Tableau 35).

Tableau 35 Résumé des résultats pour la corrélation de méthodes pour les échantillons de spot de sang séché du VIH-1

Corrélation de méthodes Échantillons de spot de sang séché du VIH-1		Test COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HIV-1 Qualitative, v2.0	
		Réactifs	Non réactifs
cobas® HIV-1/HIV-2 Qualitative	Réactifs	127	1*
	Non réactifs	0	151

* L'échantillon ayant indiqué un résultat réactif au test cobas® HIV-1/HIV-2 Qualitative et un résultat non réactif au test COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HIV-1 Qualitative, v2.0 a été confirmé comme étant positif au VIH-1 par la méthode de PCR nichée.

Échec complet du système

Le taux d'échec complet du système pour cobas® HIV-1/HIV-2 Qualitative a été déterminé en testant 100 répliquats de plasma EDTA et 100 répliquats de sang total pour les spots de sang séché dopés avec du VIH-1 groupe M sous-type B et VIH-2. Ces échantillons ont été testés à une concentration cible d'environ 3 × la LoD.

D'après les résultats de cette étude, tous les répliquats étaient valides et positifs pour les cibles VIH-1 et VIH-2. Le taux d'échec complet du système est donc de 0 % pour le plasma EDTA et les spots de sang séché. L'intervalle de confiance bilatéral exact à 95 % était de 0 % pour la limite inférieure et de 3,6 % pour la limite supérieure pour chaque cible et matrice.

Contamination croisée

Le taux de contamination croisée pour le test cobas® HIV-1/HIV-2 Qualitative a été déterminé en testant 240 répliquats d'un échantillon de spot de sang séché négatif au VIH et 225 répliquats d'un échantillon de spot de sang séché de VIH-1 de titre élevé à 2,0E+07 cp/mL. L'étude a été réalisée en suivant la procédure de travail avec des échantillons de spot de sang séché. Au total, cinq runs ont été exécutés avec des échantillons positifs et négatifs en configuration de damier.

Les 240 répliquats de l'échantillon négatif étaient tous non réactifs, soit un taux de contamination croisée de 0 %. L'intervalle de confiance à 95 % était de 0 % pour la limite inférieure et de 1,5 % pour la limite supérieure.

Évaluation des performances cliniques

Reproductibilité

La reproductibilité du test **cobas**® HIV-1/HIV-2 Qualitative a été évaluée dans du plasma EDTA pour l'ensemble du lot de réactifs, le site de test/système d'instruments, l'opérateur, les jours, la série et intra-série. Le test de reproductibilité a été effectué sur trois sites à l'aide de trois lots de réactifs, deux systèmes **cobas**® 6800 et un système **cobas**® 8800, par deux opérateurs sur 6 jours ; trois réplicats de chaque membre du panel ont été effectués pour chaque série. Chaque panel était composé d'un membre de panel négatif et de six membres de panel positifs. Le pourcentage de corrélation négative était estimé à 100 %, avec un IC exact à 95 % correspondant de (98,9 %, 100,0 %) et le pourcentage de corrélation positive était de 100 % pour chaque membre du panel pour le VIH-1 et le VIH-2.

Pour les membres du panel positifs au VIH-1, le coefficient de variation (CV (%)) pour tous les membres du panel était $\leq 1,9$ %, prouvant la très faible variabilité des résultats du test **cobas**® HIV-1/HIV-2 Qualitative entre les lots de réactifs, les sites/instruments, les jours, les opérateurs et les séries.

Tableau 36 Pourcentage attribuable de la variance totale, de l'écart-type de précision totale et du CV (%) des valeurs seuil du cycle des résultats réactifs au VIH-1 avec le test **cobas**® HIV-1/HIV-2 Qualitative par membre du panel positif au VIH-1

Membre du panel	N ^a	Lot ^b	Site ^b	Opérateur ^b	Jour ^b	Série ^b	Intra-série ^b	Écart-type de précision totale ^c	Précision totale CV (%) ^d
VIH-1 à $\sim 3 \times$ la LoD (3,78E1), VIH-2 négatif	324	0,0 % (0,0 %)	0,0 % (0,0 %)	2,2 % (0,3 %)	6,6 % (0,5 %)	0,0 % (0,0 %)	91,1 % (1,8 %)	0,69	1,9 %
VIH-1 à $> 3 \times$ la LoD (1,00E5), VIH-2 négatif	322	0,0 % (0,0 %)	15,5 % (0,4 %)	0,0 % (0,0 %)	33,1 % (0,5 %)	4,5 % (0,2 %)	46,9 % (0,6 %)	0,24	0,9 %
VIH-1 à $> 3 \times$ la LoD (1,00E5), VIH-2 à $\sim 3 \times$ la LoD (8,37E1)	323	0,0 % (0,0 %)	7,8 % (0,3 %)	0,0 % (0,0 %)	45,0 % (0,6 %)	10,9 % (0,3 %)	36,3 % (0,6 %)	0,25	1,0 %
VIH-1 à $\sim 3 \times$ la LoD (3,78E1), VIH-2 à $> 3 \times$ la LoD (1,00E5)	323	1,5 % (0,2 %)	0,0 % (0,0 %)	0,0 % (0,0 %)	0,0 % (0,0 %)	0,0 % (0,0 %)	98,5 % (1,8 %)	0,67	1,8 %

Remarque : le tableau inclut uniquement les résultats présentant un analyte détectable.

^a Nombre de tests valides avec analyte détectable.

^b Les cellules à l'intérieur des colonnes pour les composantes lot, site, opérateur, jour, série et intra-série affichent le pourcentage de la variance totale (%) et entre parenthèses le pourcentage du coefficient de variation (CV%) du composant.

^c Calculé à l'aide de la variabilité totale à partir de la procédure SAS MIXED.

^d CV (%) = (écart-type \div moyenne) \times 100 %.

Pour les membres du panel positifs au VIH-2, le coefficient de variation (CV (%)) pour tous les membres du panel était $\leq 1,7$ %, prouvant la très faible variabilité des résultats du test **cobas**® HIV-1/HIV-2 Qualitative entre les lots de réactifs, les sites/instruments, les jours, les opérateurs et les séries.

Tableau 37 Pourcentage attribuable de la variance totale, de l'écart-type de précision totale et du CV (%) des valeurs seuil du cycle des résultats réactifs au VIH-2 avec le test **cobas**® HIV-1/HIV-2 Qualitative par membre du panel positif au VIH-2

Membre du panel	N ^a	Lot ^b	Site ^b	Opérateur ^b	Jour ^b	Série ^b	Intra-série ^b	Écart-type de précision totale ^c	Précision totale CV (%) ^d
VIH-1 négatif VIH-2 à ~3 × la LoD (8,37E1)	324	60,0 % (1,3 %)	3,3 % (0,3 %)	0,0 % (0,0 %)	14,6 % (0,7 %)	4,5 % (0,4 %)	17,6 % (0,7 %)	0,59	1,7 %
VIH-1 négatif VIH-2 à > 3 × la LoD (1,00E5)	324	31,9 % (0,9 %)	10,0 % (0,5 %)	0,0 % (0,0 %)	32,9 % (1,0 %)	0,0 % (0,0 %)	25,1 % (0,8 %)	0,42	1,7 %
VIH-1 à >3 × la LoD (1,00E5), VIH-2 à ~3 × la LoD (8,37E1)	323	26,0 % (0,7 %)	4,0 % (0,3 %)	0,0 % (0,0 %)	9,9 % (0,4 %)	4,2 % (0,3 %)	55,9 % (1,0 %)	0,46	1,3 %
VIH-1 à ~3 × la LoD (3,78E1), VIH-2 à >3 × la LoD (1,00E5)	323	38,2 % (0,9 %)	8,2 % (0,4 %)	0,0 % (0,0 %)	24,7 % (0,8 %)	0,0 % (0,0 %)	28,9 % (0,8 %)	0,39	1,5 %

Remarque : le tableau inclut uniquement les résultats présentant un analyte détectable.

^a Nombre de tests valides avec analyte détectable.

^b Les cellules à l'intérieur des colonnes pour les composantes lot, site, opérateur, jour, série et intra-série affichent le pourcentage de la variance totale (%) et entre parenthèses le pourcentage du coefficient de variation (CV) du composant.

^c Calculé à l'aide de la variabilité totale à partir de la procédure SAS MIXED.

^d CV (%) = (écart-type ÷ moyenne) × 100 %.

Comparaison des méthodes cliniques

Sensibilité clinique au VIH-1 et au VIH-2

Les performances du test **cobas**® HIV-1/HIV-2 Qualitative sur les systèmes **cobas**® 6800/8800 ont été comparées à un autre TAN qualitatif du VIH-1 ou du VIH-2 chez des sujets connus pour être infectés par le virus de l'immunodéficience humaine de type 1 (VIH-1) ou le virus de l'immunodéficience humaine de type 2 (VIH-2).

Test des échantillons provenant de sujets infectés par le VIH-1

Au total, 1 030 échantillons ont été testés à partir de sujets connus pour être positifs au VIH-1 avec une charge virale de VIH-1 ≥ 100 copies/mL. Sur 1 030 échantillons évaluables pour l'analyse statistique, 537 (52,1 %) provenaient de sujets féminins, 752 (73,0 %) de sujets africains/afro-américains, et l'âge médian des sujets était de 37 ans (intervalle : 18 à 81 ans). Il y avait 736 échantillons de sous-type B du VIH-1 et 294 échantillons de sous-type non B du VIH-1.

La sensibilité au VIH-1 du test **cobas**® HIV-1/HIV-2 Qualitative était de 100 % (1030/1030, IC à 95 % : 99,6 % à 100 %).

La sensibilité concerne les échantillons dont la concentration d'ARN viral est égale ou supérieure à 100 copies/mL (Tableau 38). Des performances similaires ont été observées entre les échantillons de plasma et de sérum.

Tableau 38 Sensibilité au VIH-1 du test cobas® HIV-1/HIV-2 Qualitative pour la population connue positive au VIH-1

Population, type d'échantillon	Échantillons connus positifs totaux	Nombre de réactifs par test	Estimation de la sensibilité au VIH-1	IC exact à 95 %
VIH-1, global	1030	1030	100 %	(99,6 %, 100 %)
VIH-1, plasma	712	712	100 %	(99,5 %, 100 %)
VIH-1, sérum	318	318	100 %	(98,8 %, 100 %)

Test des échantillons provenant de sujets infectés par le VIH-2

Au total, 183 échantillons issus de sujets connus pour être positifs au VIH-2 avec une charge virale de VIH-2 ≥ 100 copies/mL par dosage quantitatif d'ARN plasmatique de VIH-2 ont été testés. Sur les 183 échantillons évaluables, 92 (50,3 %) provenaient de sujets masculins, tous étaient africains, et l'âge médian des sujets était de 50 ans (intervalle : 23 à 77 ans).

La sensibilité au VIH-2 du test cobas® HIV-1/HIV-2 Qualitative était de 99,5 % (182/183, IC à 95 % : 97,0 % à 99,99 %) (Tableau 39). La sensibilité concerne les échantillons dont la concentration d'ARN viral est égale ou supérieure à 100 copies/mL. Des performances similaires ont été observées entre les échantillons de plasma et de sérum.

Tableau 39 Sensibilité au VIH-2 du test cobas® HIV-1/HIV-2 Qualitative pour la population connue positive au VIH-2

Population, type d'échantillon	Échantillons connus positifs totaux	Nombre de réactifs par test	Estimation de la sensibilité au VIH-2	IC exact à 95 %
VIH-2, global	183	182	99,5 %	(97,0 %, 99,99 %)
VIH-2, plasma	115	115	100,0 %	(96,8 %, 100 %)
VIH-2, sérum	68	67	98,5 %	(92,1 %, 99,96 %)

Spécificité clinique

La spécificité clinique du test cobas® HIV-1/HIV-2 Qualitative sur les systèmes cobas® 6800/8800 a été déterminée par rapport à un algorithme clinique à l'aide de deux tests immunologiques suivis d'un TAN pour résoudre les résultats indéterminés au sein d'une population à faible risque d'infection par le VIH (algorithme de dépistage en laboratoire du VIH des centres de contrôle et de prévention des maladies aux États-Unis). La population à faible risque d'infection par le VIH se composait de 1988 donneurs de sang en bonne santé et de 3929 sujets à faible risque provenant d'une région où la prévalence du VIH est inférieure à 1 %. Sur 5 917 échantillons évaluables pour l'analyse statistique, 3 301 (55,8 %) provenaient de sujets féminins, 3 942 (66,6 %) de sujets blancs/caucasiens, et l'âge médian des sujets était de 36 ans (intervalle : 17 à 92 ans).

Les spécificités globales pour le VIH-1 et pour le VIH-2 du test cobas® HIV-1/HIV-2 Qualitative étaient de 100 %, sans différence entre les échantillons de plasma et de sérum (Tableau 40).

Tableau 40 Spécificité du test **cobas®** HIV-1/HIV-2 Qualitative par analyte cible au sein de la population à faible risque d'infection par le VIH

Analyte cible, type d'échantillon	Total des sujets non réactifs au test cobas® HIV-1/HIV-2 Qualitative	Sujets à statut négatif par algorithme de dépistage du VIH des CDC	Estimation de la spécificité	IC exact à 95 %
VIH-1, global ^a	5902	5902	100 %	(99,94 %, 100 %)
VIH-1, plasma ^a	3608	3608	100 %	(99,90 %, 100 %)
VIH-1, sérum ^a	2294	2294	100 %	(99,84 %, 100 %)
VIH-2, global ^b	5914	5914	100 %	(99,94 %, 100 %)
VIH-2, plasma ^b	3618	3618	100 %	(99,90 %, 100 %)
VIH-2, sérum ^b	2296	2296	100 %	(99,84 %, 100 %)

^a Quinze échantillons qui étaient positifs au VIH-1 selon l'algorithme de dépistage du VIH des CDC n'ont pas été inclus dans l'analyse de spécificité pour la cible du VIH-1 (10 étaient des échantillons de plasma et 5 des échantillons de sérum).

^b Trois échantillons de sérum n'ont pas été inclus car le résultat de l'algorithme de dépistage du VIH des CDC n'a pas été obtenu en raison d'un volume d'échantillon insuffisant pour le TAN du VIH-2.

Étude prospective de sujets à haut risque d'infection par le VIH-1

Les performances du **cobas®** HIV-1/HIV-2 Qualitative ont été comparées à un autre TAN qualitatif du VIH-1 chez des sujets à haut risque d'infection par le VIH-1. L'ensemble des 519 échantillons issus d'individus à haut risque d'infection par le VIH-1 provenaient de sujets présentant au moins 1 facteur de risque d'infection au VIH (consommateurs de drogues injectables (actuellement ou par le passé), relations sexuelles non protégées avec une personne infectée par le VIH (actuellement ou par le passé), diagnostiqués avec une maladie sexuellement transmissible au cours de l'année passée, partenaires sexuels multiples (plus d'un partenaire dans les 12 derniers mois), hommes ayant des relations sexuelles avec d'autres hommes (actuellement ou par le passé), relations sexuelles non protégées avec une personne diagnostiquée avec une maladie sexuellement transmissible au cours de l'année passée). Sur les 519 échantillons évaluables, 345 (66,5 %) provenaient de sujets masculins, 289 (55,7 %) étaient issus de sujets africains/afro-américains, et l'âge médian des sujets était de 39 ans (intervalle : 18 à 80 ans).

Le PCP pour le VIH-1 du test **cobas®** HIV-1/HIV-2 Qualitative était de 100 % (5/5), et le PCN était de 100 % (514/514, IC à 95 % : 99,3 % à 100 %). Des performances similaires ont été observées pour les échantillons de plasma et de sérum.

Étude prospective de sujets à haut risque d'infection par le VIH-2

Les performances du test **cobas®** HIV-1/HIV-2 Qualitative a été comparée à un algorithme clinique à l'aide de deux tests immunologiques suivi d'un TAN pour résoudre les résultats indéterminés chez des sujets à haut risque d'infection par le VIH-2 (algorithme de dépistage en laboratoire du VIH des centres de contrôle et de prévention des maladies aux États-Unis).

Tous les échantillons issus de sujets à haut risque d'infection par le VIH-2 provenaient d'une zone endémique du VIH-2 en Afrique de l'Ouest (c'est-à-dire Guinée-Bissau, Cameroun, Côte d'Ivoire). Sur les 499 échantillons évaluables, 366 (73,3 %) provenaient de sujets masculins, tous étaient africains, et l'âge médian des sujets était de 28 ans (intervalle : 19 à 66 ans).

Le PCP du test **cobas**® HIV-1/HIV-2 Qualitative pour le VIH-1 au sein de la population à haut risque d'infection par le VIH-2 était de 79,0 % (79/100 ; IC à 95 % : 69,7 % à 86,5 %), et le PCN était de 99,5 % (395/397 ; IC à 95 % : 98,2 % à 99,9 %). Le PCP du test **cobas**® HIV-1/HIV-2 Qualitative pour le VIH-2 au sein de la population à haut risque d'infection par le VIH-2 était de 44,4 % (4/9 ; IC à 95 % : 13,7 % à 78,8 %), et le PCN était de 100 % (490/490 ; IC à 95 % : 99,2 % à 100 %). Des performances similaires ont été observées pour les échantillons de plasma et de sérum.

Équivalence des systèmes/comparaison des systèmes

L'équivalence des **cobas**® 5800, **cobas**® 6800 et systèmes **cobas**® 8800 a été démontrée au moyen d'études de performances.

Les résultats présentés dans les instructions d'utilisation indiquent des performances équivalentes pour tous les systèmes.

Informations supplémentaires

Caractéristiques clés du test

Type d'échantillon	Plasma EDTA, sérum et spot de sang séché		
Quantité d'échantillon minimale requise	650 µL pour les échantillons de plasma EDTA et de sérum ou un échantillon de spot de sang séché (70 µL de sang séché par spot) dans 1150 µL de cobas ® Specimen Pre-Extraction Reagent (SPER)		
Volume de traitement des échantillons	500 µL pour les échantillons de plasma EDTA et de sérum ou 850 µL pour les échantillons de spot de sang séché		
Sensibilité analytique		<u>VIH-1M</u>	<u>VIH-2</u>
	Plasma EDTA	12,6 cp/mL	27,9 cp/mL
	Sérum	12,1 cp/mL	23,4 cp/mL
	Spots de sang séché	255 cp/mL	984 cp/mL
Spécificité	100 % (intervalle de confiance à 95 % unilatéral : 99,5 %) (plasma EDTA/sérum) 100 % (intervalle de confiance à 95 % unilatéral : 99,5 %) (spot de sang séché)		
Groupes/sous-types – inclusivité	VIH-1 M (A-D, F-H, J, K, CRF01_AE, CRF02_AG, CRF12_BF, CRF14_BG), VIH-1 O, VIH-1 N, VIH-2 (A et B)		

Symboles

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

Tableau 41 Symboles utilisés dans l'étiquetage des produits de diagnostic par PCR de Roche

 Age/DOB Âge ou date de naissance	 Dispositif non adapté aux tests à proximité du patient	 QS IU/PCR UI QS par réaction de PCR, utiliser les unités internationales (UI) QS par réaction de PCR pour le calcul des résultats.
 SW Logiciel auxiliaire	 Dispositif non adapté à l'auto-test	 SN Numéro de série
 Assigned Range [copies/mL] Plage assignée (copies/mL)	 Distributeur <i>(Remarque : le pays/la région applicable peut être indiqué(e) sous le symbole.)</i>	 Site Site
 Assigned Range [IU/mL] Plage assignée (UI/mL)	 Ne pas réutiliser	 Procedure Standard Procédure standard
 EC REP Mandataire dans la Communauté européenne	 Femme	 STERILE EO Stérilisé à l'aide d'oxyde d'éthylène
 BARCODE Fiche technique à code-barres	 Pour évaluation des performances DIV uniquement	 Conserver dans un endroit sombre
 LOT Code du lot	 GTIN Code article international	 Limites de température
 Risques biologiques	 Importateur	 TDF Fichier de définition de tests
 REF Référence du catalogue	 IVD Dispositif médical de diagnostic <i>in vitro</i>	 Orienté vers le haut
 CE Marquage CE de conformité ; ce dispositif est conforme aux exigences en vigueur concernant le marquage CE d'un dispositif médical de diagnostic <i>in vitro</i>	 LLR Limite inférieure de la plage assignée	 Procedure UltraSensitive Procédure ultrasensible
 Collect Date Date de collecte	 Homme	 UDI Identification de dispositif unique
 Consulter les instructions d'utilisation	 Fabricant	 ULR Limite supérieure de la plage assignée
 Suffisant pour <n> tests	 CONTROL - Contrôle négatif	 Urine Fill Line Ligne de remplissage d'urine
 CONTENT Contenu du kit	 NON STERILE Non stérile	 Rx Only États-Unis uniquement : la législation fédérale américaine limite la vente de ce dispositif aux professionnels de santé autorisés à exercer.
 CONTROL Contrôle	 ? Nom du patient	 Date limite d'utilisation
 Date de fabrication	 # Numéro patient	
 Dispositif pour tests à proximité du patient	 Retirer ici	
 Dispositif pour auto-test	 CONTROL + Contrôle positif	
	 QS copies / PCR Copies QS par réaction de PCR, utiliser les copies QS par réaction de PCR pour le calcul des résultats.	

Assistance technique

Pour bénéficier d'une assistance technique, merci de vous adresser à votre filiale locale :
https://www.roche.com/about/business/roche_worldwide.htm

Fabricant et importateur

Tableau 42 Fabricant et importateur



Roche Molecular Systems, Inc.
1080 US Highway 202 South
Branchburg, NJ 08876 USA
www.roche.com

Fabriqué aux États-Unis



Roche Diagnostics GmbH
Sandhofer Strasse 116
68305 Mannheim, Germany

Marques commerciales et brevets

Voir <https://diagnostics.roche.com/us/en/about-us/patents>

Copyright

©2024 Roche Molecular Systems, Inc.



Roche Diagnostics GmbH
Sandhofer Str. 116
68305 Mannheim
Germany



Références

1. American Academy of HIV Medicine. *Fundamentals of HIV Medicine for the HIV Specialist*. Washington, D.C.: American Academy of HIV Medicine, 2007.
2. UNAIDS. Global AIDS Update. Available at: https://www.unaids.org/sites/default/files/media_asset/global-AIDS-update-2016_en.pdf. Accessed December 6, 2020.
3. Hoover DR, Saah AJ, Bacellar H, et al. Clinical manifestations of AIDS in the era of pneumocystis prophylaxis. Multicenter AIDS Cohort Study. *N Engl J Med*. 1993;329:1922-6. PMID: 7902536.
4. Campbell-Yesufu OT, Gandhi RT. Update on human immunodeficiency virus (HIV)-2 infection. *Clin Infect Dis*. 2011;52:780-7. PMID: 21367732.
5. Centers for Disease Control and Prevention. Laboratory Testing for the Diagnosis of HIV Infection. Available at: <https://stacks.cdc.gov/view/cdc/23447>. Accessed December 6, 2020.
6. Gökengin D, Geretti AM, Begovac J, et al. 2014 European Guideline on HIV testing. *Int J STD AIDS*. 2014;25:695-704. PMID: 24759563.
7. Masciotra S, McDougal JS, Feldman J, et al. Evaluation of an alternative HIV diagnostic algorithm using specimens from seroconversion panels and persons with established HIV infections. *J Clin Virol*. 2011;52 Suppl 1:S17-22. PMID: 21981983.
8. O'Brien M, Markowitz M. Should we treat acute HIV infection? *Curr HIV/AIDS Rep*. 2012;9:101-10. PMID: 22415472.
9. Branson BM, Mermin J. Establishing the diagnosis of HIV infection: new tests and a new algorithm for the United States. *J Clin Virol*. 2011;52 Suppl 1:S3-4. PMID: 21993308.
10. Cohen MS, Shaw GM, McMichael AJ, Haynes BF. Acute HIV-1 Infection. *N Engl J Med*. 2011;364:1943-54. PMID: 21591946.
11. World Health Organization. WHO Recommendations on the Diagnosis of HIV Infection in Infants and Children. Available at: <https://www.who.int/hiv/pub/paediatric/diagnosis/en/>. Accessed December 6, 2020.
12. Wittek M, Stürmer M, Doerr HW, Berger A. Molecular assays for monitoring HIV infection and antiretroviral therapy. *Expert Rev Mol Diagn*. 2007;7:237-46. PMID: 17489731.
13. Longo MC, Berninger MS, Hartley JL. Use of uracil DNA glycosylase to control carry-over contamination in polymerase chain reactions. *Gene*. 1990;93:125-8. PMID: 2227421.
14. Savva R, McAuley-Hecht K, Brown T, Pearl L. The structural basis of specific base-excision repair by uracil-DNA glycosylase. *Nature*. 1995;373:487-93. PMID: 7845459.
15. Mol CD, Arvai AS, Slupphaug G, et al. Crystal structure and mutational analysis of human uracil-DNA glycosylase: structural basis for specificity and catalysis. *Cell*. 1995;80:869-78. PMID: 7697717.
16. Higuchi R, Dollinger G, Walsh PS, Griffith R. Simultaneous amplification and detection of specific DNA sequences. *Biotechnology (N Y)*. 1992;10:413-7. PMID: 1368485.

17. Heid CA, Stevens J, Livak KJ, Williams PM. Real time quantitative PCR. *Genome Res.* 1996;6:986-94. PMID: 8908518.
18. Centers for Disease Control and Prevention. Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories, 5th ed. <https://www.cdc.gov/labs/pdf/CDC-BiosafetyMicrobiologicalBiomedicalLaboratories-2009-P.PDF>. Accessed December 2, 2020.
19. Clinical and Laboratory Standards Institute. Protection of laboratory workers from occupationally acquired infections. Approved Guideline-Fourth Edition. https://clsi.org/media/1459/m29a4_sample.pdf. Accessed December 2, 2020.

Révision du document

Informations sur la révision du document	
Doc Rev. 3.0 09/2022	Mise à jour de la page de couverture et des tableaux 2 et 3 avec un P/N supplémentaire pour les kits de contrôle. Mise à jour de la section Marques commerciales et brevets , y compris du lien. Veuillez contacter votre représentant local Roche si vous avez des questions.
Doc Rev. 3.1 12/2024	Ajout d'informations relatives à la version du logiciel 2.0 pour les systèmes cobas® 6800/8800 . Veuillez contacter votre représentant local Roche si vous avez des questions.