

cobas[®] HIV-1/HIV-2 Qualitative

**Test sur acides nucléiques
à utiliser avec les cobas[®] 6800/8800 Systems**

Destiné au diagnostic in vitro

cobas[®] HIV-1/HIV-2 Qualitative	P/N : 07862113190
cobas[®] HIV-1/HIV-2 Qualitative Control Kit	P/N : 07862091190
cobas[®] NHP Negative Control Kit	P/N : 07002220190
cobas[®] Specimen Pre-Extraction Reagent	P/N : 08064695190

Table des matières

Usage prévu	4
Résumé et explication du test.....	4
Réactifs et matériel.....	7
Réactifs et contrôles cobas® HIV-1/HIV-2 Qualitative	7
Réactifs cobas omni pour préparation des échantillons.....	9
cobas® Specimen Pre-Extraction Reagent	10
Conditions de manipulation et de stockage des réactifs	12
Matériel supplémentaire nécessaire.....	13
Instruments et logiciels nécessaires	14
Précautions et conditions de manipulation	14
Avertissements et précautions	14
Manipulation des réactifs.....	15
Bonnes pratiques de laboratoire.....	16
Prélèvement, transport et conservation des échantillons	16
Échantillons.....	16
Échantillons de plasma EDTA et de sérum.....	16
Taches de sang séché	17
Instructions d'utilisation	18
Notes de procédure	18
Préparation des échantillons de tache de sang séché.....	18
Exécution du test cobas® HIV-1/HIV-2 Qualitative.....	19
Résultats	20
Contrôle qualité et validité des résultats	20
Interprétation des résultats	21
Limites du test.....	22

Évaluation des performances non cliniques 23

Caractéristiques clés des performances	23
Limite de détection (LoD)	23
Précision intra-laboratoire	27
Vérification de groupe/sous-type et inclusivité	29
Spécificité	33
Panels de séroconversion	33
Spécificité analytique	35
Spécificité analytique – substances interférentes	36
Corrélation	37
Échec complet du système	38
Contamination croisée	39

Informations supplémentaires 39

Caractéristiques clés du test	39
Symboles	40
Fabricant et distributeurs	40
Marques commerciales et brevets	42
Copyright	42
Références	43
Révision du document	44

Usage prévu

Le test sur acides nucléiques **cobas**® HIV-1/HIV-2 Qualitative à utiliser avec les **cobas**® 6800/8800 Systems est un test *in vitro* d'amplification des acides nucléiques pour la détection qualitative et la différenciation du virus de l'immuno-déficience humaine (VIH) de type 1 (VIH-1) et de type 2 (VIH-2) dans le sérum humain, le plasma et les taches 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 au VIH-1 ou au 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 au VIH-1 ou VIH-2 chez un individu présentant des échantillons réactifs aux anticorps ou antigènes VIH-1 or 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 principale du SIDA dans le monde, avec plus de 35 millions de personnes infectées.² Suite à 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, qui se concentre principalement en Afrique de l'Ouest, peut également provoquer 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. La co-infection n'a pas d'effet évident sur le taux de progression des individus vers le SIDA, mais complique le suivi de la charge virale et le traitement antirétroviral.⁴ Puisqu'il est important de distinguer une infection au VIH-1 d'une infection au VIH-2, les directives nationales et internationales ont inclus le diagnostic et la différenciation du VIH-1 et du VIH-2 en tant qu'exigence dans le cadre d'un diagnostic adéquat d'une infection au 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. La période de latence a été réduite par les tests immunologiques du VIH de « quatrième génération », capables de détecter l'antigène p24 ainsi que les anticorps du VIH.⁷ Toutefois, les tests d'amplification des acides nucléiques peuvent potentiellement continuer à réduire la période de latence des tests immunologiques de quatrième génération, grâce à la sensibilité des méthodes de PCR par rapport aux méthodes basées sur les protéines.⁷

En fonction du risque d'infection au VIH au sein de la population testée, la réduction de la période de latence qui résulte des tests sur acides nucléiques peut être importante pour l'individu et pour la communauté.⁸ Pour un individu, le diagnostic du VIH au cours d'une infection aiguë offre l'opportunité d'un traitement immédiat pouvant potentiellement retarder la progression de la maladie en empêchant l'endommagement du système immunitaire et en préservant les réponses immunitaires cellulaires anti-VIH. 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 peut jouer un rôle critique pour stopper la propagation de 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 permettrait 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 qualitatif exécuté sur le **cobas**® 6800 System et le **cobas**® 8800 System. Le test **cobas**® HIV-1/HIV-2 Qualitative permet la détection et la discrimination simultanées des acides nucléiques du VIH-1 et du VIH-2 dans le plasma EDTA, le sérum et les taches de sang séché chez les 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. Les **cobas**® 6800/8800 Systems 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 **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.

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 d'étapes suivantes utilisant des réactifs de lavage, et l'acide nucléique purifié est séparé des particules magnétiques de verre à l'aide de 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 **cobas® HIV-1/HIV-2**. 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), laquelle est incorporée dans l'ADN nouvellement synthétisé (amplicon).¹³⁻¹⁵ Tout amplicon contaminant provenant de runs de PCR précédents est éliminé par l'enzyme AmpErase incluse dans le master mix de PCR, lors 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 de la cible permettant la détection simultanée de cibles du VIH-1, de la cible du VIH-2 et du 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 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 96 tests (P/N 07862113190)		
Composants du kit	Ingrédients du réactif	Quantité par kit 96 tests
Solution de protéinase (PASE)	Tampon Tris, < 0,05 % d'EDTA, chlorure de calcium, acétate de calcium, 8 % de protéinase (m/v) EUH210 : fiche de données de sécurité disponible sur demande. EUH208 : contient de la subtilisine. Peut produire une réaction allergique.	13 mL
Contrôle interne (CI)	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'azide de sodium	13 mL
Tampon d'élution (EB)	Tampon Tris, 0,2 % de 4-hydroxybenzoate de méthyle	13 mL
Réactif 1 de master mix (MMX-R1)	Acétate de manganèse, hydroxyde de potassium, < 0,1 % d'azide de sodium	5,5 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'azide de sodium	6 mL

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

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

Conserver à 2-8 °C

(P/N 07862091190)

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 synthétique (encapsulé) de VIH-1 groupe M encapsulé dans la protéine enveloppe bactériophage MS2, < 0,001 % d'ARN synthétique (encapsulé) 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. 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).
Contrôle positif de VIH-1O (HIV-1O (+)C)	< 0,001 % d'ARN synthétique (encapsulé) 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. 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.

Tableau 3 cobas® NHP Negative Control Kit**cobas® NHP Negative Control Kit**

Conserver à 2-8 °C

(P/N 07002220190)

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. 55965849 Mélange 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 guanidinium***, 5 % (m/v) de polidocanol***, 2 % (m/v) de dithiothréitol***, citrate de sodium dihydraté	4 × 875 mL	  DANGER 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 des gants de protection/des vêtements de protection/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 immédiatement un CENTRE ANTIPOISON/un médecin. 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
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 10 et Tableau 11).

** 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 guanidine***, 6 % (m/v) de polidocanol***, 1 % (m/v) de dithiothréitol, citrate de sodium dihydraté	600 mL (15 × 40 mL)	  DANGER H302 : Nocif en cas d'ingestion. 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. P273 : Éviter le rejet dans l'environnement. P280 : Porter des gants de protection/des vêtements de protection/un équipement de protection des yeux/du visage. P301 + P330 + P331 : EN CAS D'INGESTION : rincer la bouche. NE PAS faire vomir. 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 immédiatement un CENTRE ANTIPOISON/un médecin. 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

* 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 10 et Tableau 11).

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

*** Substance dangereuse.

Conditions de manipulation et de stockage des réactifs

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

Lorsque les réactifs ne sont pas chargés sur les **cobas**® 6800/8800 Systems, 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

Les réactifs chargés sur les **cobas**® 6800/8800 Systems sont stockés à des températures appropriées et leur date de péremption est surveillée par le système. Les **cobas**® 6800/8800 Systems ne permettent 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 les **cobas**® 6800/8800 Systems.

Tableau 7 Conditions de péremption des réactifs appliquées par les **cobas**® 6800/8800 Systems

Réactif	Date de péremption du kit	Stabilité du 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	30 jours à partir de la première utilisation	10 runs max.	8 heures max.
cobas ® HIV-1/HIV-2 Qualitative Control Kit	Date non passée	Non applicable	Non applicable	8 heures max.
cobas ® NHP Negative Control Kit	Date non passée	Non applicable	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

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

Stocker le **cobas®** Specimen Pre-Extraction Reagent (utilisé dans la procédure de travail avec taches de sang séché) à la température spécifiée dans le Tableau 8.

Tableau 8 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 9.

Tableau 9 Conditions de péremption du **cobas®** Specimen Pre-Extraction Reagent

Réactif	Date de péremption du kit	Stabilité du 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

Tableau 10 Matériel et consommables à utiliser sur les **cobas®** 6800/8800 Systems

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	07435967001
Réservoir à déchets solides	07094361001

Tableau 11 Autres matériels et consommables requis uniquement pour l'application des taches de sang séché

Matériel
Papier-filtre Whatman 903®, papier pour le prélèvement d'échantillons Munktel TFN ou équivalent (12-13 mm de diamètre de tache)
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 taches de sang séché)

Instruments et logiciels nécessaires

Le logiciel **cobas**® 6800/8800 et les fichiers d'analyse **cobas**® HIV-1/HIV-2 Qualitative, le **cobas**® HIV-1/2 Qual-Serum/Plasma ASAP et/ou le **cobas**® HIV-1/2 Qual-DBS ASAP, doivent être installés sur le ou les instruments. Le serveur IG (Instrument Gateway) est livré avec le système.

Tableau 12 Instruments

Équipement	P/N
cobas ® 6800 System (version mobile)	05524245001 et 06379672001
cobas ® 6800 System (fixe)	05524245001 et 06379664001
cobas ® 8800 System	05412722001
Module de chargement des échantillons	06301037001

Consulter le manuel d'utilisation des **cobas**® 6800/8800 Systems pour obtenir plus d'informations sur les tubes primaires et secondaires acceptés sur les instruments.

Remarque : contacter le représentant Roche local pour obtenir une liste d'ordre détaillée des racks d'échantillons, racks pour embouts bouchés 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 ce test. Du fait de la sensibilité élevée de ce test, il est indispensable d'éviter toute contamination des réactifs et des mélanges d'amplification.

- Destiné uniquement au diagnostic *in vitro*.
- L'utilisation du test **cobas**® HIV-1/HIV-2 Qualitative en tant que test de dépistage du VIH-1/VIH-2 dans le sang ou les produits sanguins n'a pas été évaluée.
- 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 ainsi que dans l'utilisation du test **cobas**® HIV-1/HIV-2 Qualitative et des **cobas**® 6800/8800 Systems 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 taches 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 données 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 maîtrisée lors de la manipulation et du traitement des échantillons.

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 taches 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'azide de sodium en tant que conservateur. 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. 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, des blouses 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), Essuyer ensuite les surfaces avec de l'éthanol à 70 %.
- En cas de déversement sur les **cobas® 6800/8800 Systems**, suivre les instructions du manuel d'utilisation des **cobas® 6800/8800 Systems** 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.

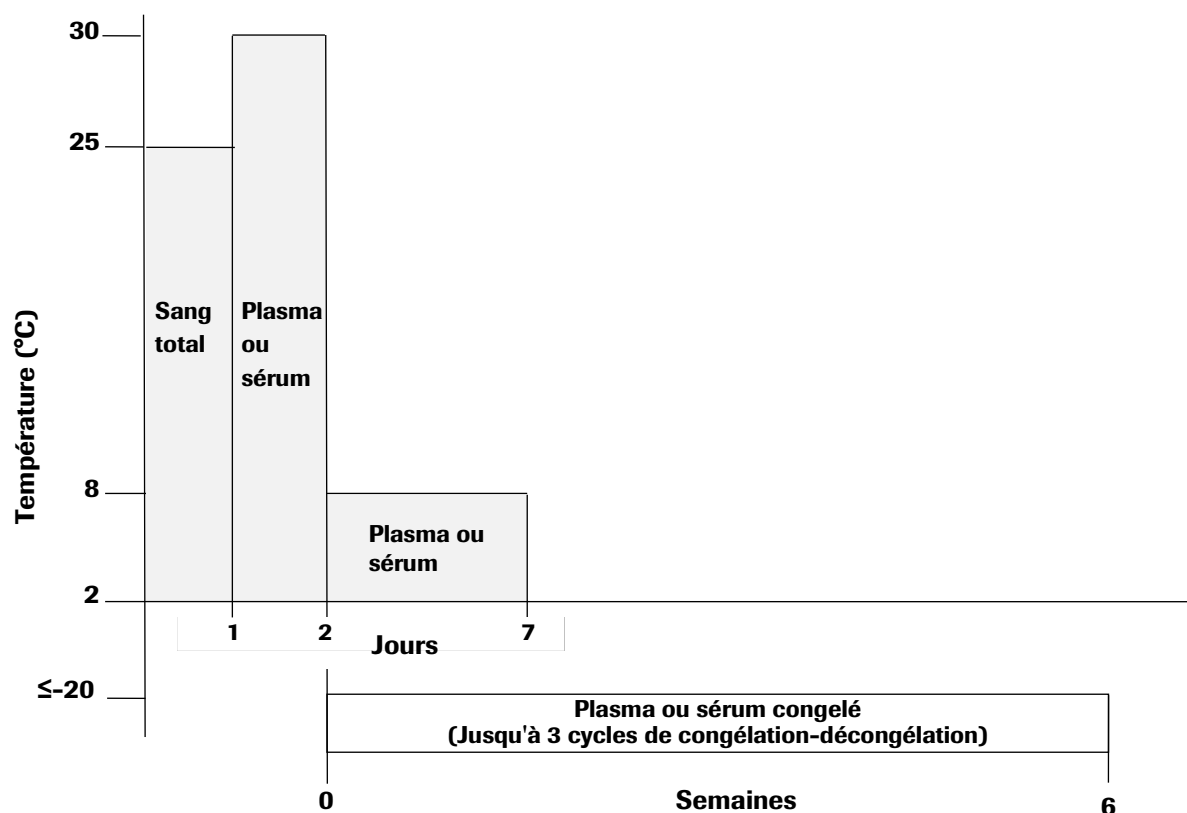
La stabilité des échantillons est affectée par les températures élevées.

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 passer 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 sont stables pendant un maximum de trois cycles de congélation/décongélation lorsqu'ils sont conservés à ≤ -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, plasma et 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.

Taches de sang séché

- Prélever les taches 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 taches de sang séché.
- Vérifier que les DEUX côtés du papier sont saturés et remplissent entièrement le cercle délimité.
- Laisser sécher les taches de sang séché à température ambiante (entre 18 et 25 °C) pendant au moins 3 heures en protégeant le papier comportant ces taches 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 taches de sang séché dans des sacs refermables individuels en insérant un sachet déshydratant dans chaque sac.
- Les taches de sang séché sont stockées 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 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.
- Consulter le manuel d'utilisation des **cobas**® 6800/8800 Systems pour obtenir des informations sur la bonne maintenance des instruments.

Préparation des échantillons de tache de sang séché

- Porter le **cobas**® Specimen Pre-Extraction Reagent (SPER) à température ambiante avant utilisation.
- Exciser une tache de sang séché du papier comportant la tache de sang séché.
- Transférer la tache 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 la tache de sang séché est située au fond du tube comme indiqué dans la Figure 2.
- Pipeter 1 150 µL de SPER dans le tube contenant la tache de sang séché et fermer le tube.
- Vérifier que la tache de sang séché est entièrement recouverte 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 pipette stérile (pour éviter la détection de niveau précoce).
- Transférer les tubes vers les **cobas**® 6800/8800 Systems.

Figure 2
Tache de sang séché dans le tube

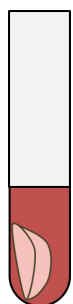


Valide

Figure 3
Emplacement de la
tache de sang séché



Valide

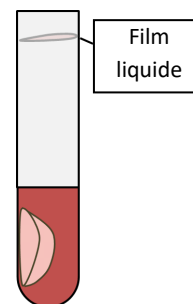


Valide



Risque
éventuel
de caillot

Figure 4
Film liquide

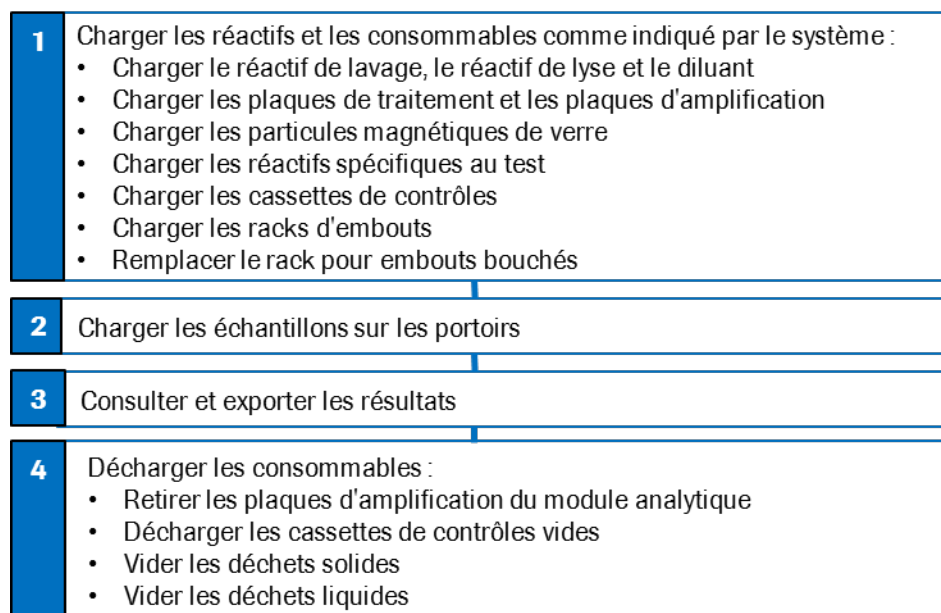


Risque éventuel de
détection de niveau précoce

Exécution du test cobas® HIV-1/HIV-2 Qualitative

Le test **cobas**® HIV-1/HIV-2 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 tache de sang séché de 850 µL). Il est à noter que les échantillons de tache de sang séché ne peuvent être analysés en mode de séries mixtes avec des échantillons de plasma ou de sérum. La procédure de test est décrite en détail dans le manuel d'utilisation des **cobas**® 6800/8800 Systems. La Figure 5 ci-dessous résume la procédure.

Figure 5 Procédure de test **cobas**® HIV-1/HIV-2 Qualitative



Résultats

Les **cobas**® 6800/8800 détectent et discriminent automatiquement et simultanément le VIH-1 et le VIH-2 pour les échantillons et les contrôles, l'affichage de la validité des tests, les résultats généraux, ainsi que les résultats des cibles individuelles.

Contrôle qualité et validité des résultats

- 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

Tableau 13 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.

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

Interprétation des résultats

Pour une série valide, vérifier l'absence d'alerte pour chaque échantillon individuel dans le logiciel **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 « Oui » dans la colonne « Valide » si tous les résultats demandés pour la cible ont donné des résultats valides. Les échantillons marqués d'un « Non » 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 ci-dessous dans le Tableau 14.

Tableau 14 Résultats cibles pour l'interprétation des résultats cibles individuels

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 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 taches de sang séché) sur les **cobas**® 6800/8800 Systems.
- La fiabilité des résultats dépend du suivi correct des procédures de prélèvement, stockage et manipulation des échantillons.
- 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.

Évaluation des performances non cliniques

Caractéristiques clés des performances

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 tache 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 tache 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 taches de sang séché ont été préparées. 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 15). Les taux de réactivité observés dans les études de LoD pour chaque virus sont résumés dans le Tableau 16 au Tableau 18.

Tableau 15 Résultats de l'analyse PROBIT à 95 % des données de LoD collectées avec les standards viraux dans du plasma EDTA, du sérum et des taches 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
Taches de sang séché	VIH-1 groupe M	copies/mL	255	224	299
	VIH-2	copies/mL	984	856	1169

Tableau 16 Résumé des taux de réactivité pour le VIH-1 groupe M dans le plasma EDTA, le sérum et les taches de sang séché

Matrices	Concentration de l'ARN du VIH-1 groupe M (cp/mL)	Nombre d'échantillons réactifs	Nombre 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 %
Taches 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 17 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	Nombre 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 18 Résumé des taux de réactivité pour le VIH-2 dans le plasma EDTA, le sérum et les taches de sang séché

Matrices	Concentration de l'ARN du VIH-2 (cp/mL)	Nombre d'échantillons réactifs	Nombre 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 %
Taches 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 x, 1 x et 3 x 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 **cobas**® 6800/8800 Systems 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 analysé.

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 **cobas**® 6800/8800 Systems. 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 19 et au Tableau 20.

Tableau 19 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 x LoD	1	100 % (84/84)	95,7 %	100 %
		2	100 % (84/84)	95,7 %	100 %
		3	100 % (84/84)	95,7 %	100 %
	~1 x 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 x 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 x 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 x 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 x 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 20 Résumé de la précision entre les lots de réactifs (taches 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 x 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 x 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 x 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 x LoD	1	100 % (83/83)	95,7 %	100 %
		2	100 % (84/84)	95,7 %	100 %
		3	100 % (83/83)	95,7 %	100 %
	~ 1 x 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 x 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 taches 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 taches de sang séché, et aussi le VIH-1 groupe O dans le sang total pour les taches 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 21 et les résultats du VIH-2 sont indiqués dans le Tableau 22. 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 21 Vérification de la limite de détection 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 taches de sang séché

Groupe Sous-type		Plasma : 12,6 cp/mL			Sérum : 12,1 cp/mL			Tache de sang séché : 255 cp/mL		
		Nombre de réplicats valides	Nombre d'échantillons réactifs	% réactifs (IC à 95 %*)	Nombre de réplicats valides	Nombre d'échantillons réactifs	% réactifs (IC à 95 %*)	Nombre de réplicats 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 22 Vérification de la limite de détection pour le VIH-2 groupe B dans le plasma EDTA, le sérum ou le sang total de taches de sang séché

Groupe		Plasma : 27,9 cp/mL			Sérum : 23,4 cp/mL			Tache de sang séché : 984 cp/mL		
		Nombre de réplicats valides	Nombre de positifs	% réactifs (IC à 95 %*)	Nombre de réplicats valides	Nombre de positifs	% réactifs (IC à 95 %*)	Nombre de réplicats valides	Nombre de positifs	% 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 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, groupe N VIH-1, 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 ~5 x 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 ~5 x la LoD (Tableau 23).

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 ≤ 5 x la LoD.

Tableau 23 Échantillons cliniques de VIH-1 groupe M

Sous-type / formes recombinantes circulantes	% réactifs (réactifs/échantillons testés) purs	% réactifs (réactifs/échantillons testés) dilués à ~5 x 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 24).

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 réplicat de chacun des échantillons purs et un réplicat 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 24 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 taches 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 taches 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 tache 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 VIH 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 25.

Tableau 25 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 UFP/mL, pour les isolats viraux et les souches bactériennes/isolats de levure, respectivement (Tableau 26). 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 x 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 26 Micro-organismes dont la réactivité croisée a été testée

Virus		Bactéries	Levure
Adénovirus de type 5	Virus varicelle-zona	Propionibacterium acnes	Candida albicans
Cytomégalovirus	Virus du Nil Occidental	Staphylococcus aureus	
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 27 ont été testés avec et sans ajout de VIH-1 et VIH-2 à une concentration d'approximativement 3 x 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 27 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 28 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 28 Composés médicamenteux dont l'interférence avec le test cobas® HIV-1/HIV-2 a été testée

Catégorie de médicament	Nom du médicament générique	
Modulateurs de l'immunité	Peginterféron $\pm$ 2a	Ribavirine
	Peginterféron $\pm$ 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

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 29).

Tableau 29 Résumé des résultats pour la corrélation de méthodes pour les échantillons de plasma EDTA du VIH-1

Corrélation de méthodes Échantillons de plasma EDTA du VIH-1		Test COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HIV-1 Qualitative, v2.0	
		Reactive	Non-reactive
cobas ® HIV-1/HIV-2 Qualitative	Reactive	68	0
	Non-reactive	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 VIH-1/VIH-2 marqué CE sont équivalentes (Tableau 30 et Tableau 31).

Tableau 30 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		
		Reactive	Non-reactive	Indeterminate
cobas ® HIV-1/HIV-2 Qualitative	Reactive	138	0	0
	Non-reactive	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 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 31 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		
		Reactive	Non-reactive	Indeterminate
cobas® HIV-1/HIV-2 Qualitative	Reactive	14	0	0
	Non-reactive	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 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.

Taches 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 tache de sang séché provenant de nourrissons sur un site externe. Pour les échantillons de tache de sang séché positifs au VIH-1 et négatifs au VIH-2, 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 32).

Tableau 32 Résumé des résultats pour la corrélation de méthodes pour les échantillons de tache de sang séché du VIH-1

Corrélation de méthodes Échantillons de tache de sang séché du VIH-1		Test COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HIV-1 Qualitative, v2.0	
		Reactive	Non-reactive
cobas® HIV-1/HIV-2 Qualitative	Reactive	127	1*
	Non-reactive	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 taches de sang séché dopées avec du VIH-1 groupe M sous-type B et VIH-2. Ces échantillons ont été testés à une concentration cible d'environ 3 x 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 taches 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 réplicats d'un échantillon de tache de sang séché négatifs au VIH et 225 réplicats d'un échantillon de tache de sang séché de VIH-1 de titre élevé à $2,0 \times 10^7$ cp/mL. L'étude a été réalisée en suivant la procédure de travail avec des échantillons de tache de sang séché. Au total, cinq runs ont été exécutés avec des échantillons positifs et négatifs en configuration de damier.

Les 240 réplicats 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.

Informations supplémentaires

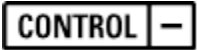
Caractéristiques clés du test

Type d'échantillon	Plasma EDTA, sérum et tache de sang séché		
Quantité d'échantillon minimale requise	650 µL pour les échantillons de plasma EDTA et de sérum ou un échantillon de tache de sang séché (70 µL de sang séché par tache) dans 1 150 µL de cobas ® Specimen Pre-Extraction Reagent (SPER)		
Volume de prise d'essai des échantillons	500 µL pour échantillons de plasma EDTA et de sérum ou 850 µL pour les échantillons de tache 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
	Taches 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 %) (tache de sang séché)		
Groupes/sous-types – inclusivité	VIH-1M (A–D, F–H, J, K, CRF01_AE, CRF02_AG, CRF12_BF, CRF14_BG), VIH-1O, VIH-1N, 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 33 Symboles utilisés dans l'étiquetage des produits de diagnostic par PCR de Roche

	Âge ou date de naissance		Date de fabrication
	Logiciel auxiliaire		Distributeur
	Plage assignée (copies/mL)		Ne pas réutiliser
	Plage assignée (UI/mL)		Femme
	Mandataire dans la Communauté européenne		Pour évaluation des performances DIV uniquement
	Fiche technique à code-barres		Code article international
	Code du lot		Dispositif médical de diagnostic <i>in vitro</i>
	Risques biologiques		Limite inférieure de la plage assignée
	Référence du catalogue		Homme
	Date de collecte		Fabricant
	Consulter les instructions d'utilisation		Contrôle négatif
	Suffisant pour $\langle n \rangle$ tests		Non stérile
	Contenu du kit		Numéro patient
	Contrôle		Nom du patient



Retirer ici



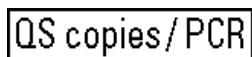
Contrôle positif



Orienté vers le haut



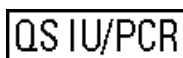
Identification de dispositif unique



Copies QS par réaction de PCR, utiliser les copies QS par réaction de PCR pour le calcul des résultats.



Procédure ultrasensible



UI QS par réaction de PCR, utiliser les unités internationales (UI) QS par réaction de PCR pour le calcul des résultats.



Limite supérieure de la plage assignée



Numéro de série



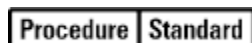
Ligne de remplissage d'urine



Site

Rx Only

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



Procédure standard



Stérilisé à l'aide d'oxyde d'éthylène



Date limite d'utilisation



Dispositif pour tests à proximité du patient



Conserver dans un endroit sombre



Dispositif non adapté aux tests à proximité du patient



Limites de température



Dispositif pour auto-test



Fichier de définition de tests



Dispositif non adapté à l'auto-test



Marquage CE de conformité ; ce dispositif est conforme aux exigences en vigueur concernant le marquage CE d'un dispositif médical de diagnostic *in vitro*

Assistance technique pour les clients aux États-Unis 1-800-526-1247

Fabricant et distributeurs

Tableau 34 Fabricant et distributeurs



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

Fabriqué aux États-Unis

Distributed by Roche Diagnostics
9115 Hague Road
Indianapolis, IN 46250-0457 USA
(For Technical Assistance call the
Roche Response Center
toll-free: 1-800-526-1247)

Roche Diagnostics GmbH
Sandhofer Strasse 116
68305 Mannheim, Germany

Marques commerciales et brevets

Ce produit est couvert par un ou plusieurs des brevets américains n° 8962293, 9102924, 8609340, 9234250, 8097717, 8192958, 10059993, 10358675, 8129118 et 6727067, ainsi que par les brevets étrangers équivalents respectifs.

COBAS, COBAS OMNI et AMPERASE sont des marques commerciales de Roche.

La marque commerciale « Armored RNA® » est détenue par Asuragen, Inc. et Cenetron Diagnostics, Ltd.

ProClin® est une marque déposée de Rohm and Haas Company.

Vacutainer® est une marque déposée de Becton Dickinson & Company.

Tous les autres noms de produit et marques commerciales sont la propriété de leurs titulaires respectifs.

La technologie de prévention de contamination croisée de l'enzyme AmpErase® est couverte par le brevet américain 7,687,247 détenu par Life Technologies ; son exploitation sous licence a été cédée à Roche Molecular Systems, Inc.

Certains composants de ce produit sont protégés par un ou plusieurs brevets américains et leurs équivalents étrangers délivrés à Novartis Vaccines and Diagnostics, Inc. et concédés sous licence à Roche Molecular Systems, Inc. et F. Hoffman-La Roche Ltd.

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

Copyright

©2021 Roche Molecular Systems, Inc.



Roche Diagnostics GmbH
Sandhofer Str. 116
68305 Mannheim
Germany



Références

1. AAHVM. Fundamentals of HIV Medicine. Washington, DC;2007.
2. UNAIDS. Global AIDS Update. Geneva;2016.
3. Hoover DR, Saah AJ, Bacellar H, et al. Clinical manifestations of AIDS in the era of pneumocystis prophylaxis. *N Engl J Med*. 1993;329(69):1922-6.
4. Campbell-Yesufu OT, Gandhi RT. Update on human immunodeficiency virus (HIV)-2 infection. *Clin Infect Dis*. 2011;52(6):780-7.
5. CDC. Laboratory Testing for the Diagnosis of HIV Infection. Atlanta, GA;2014.
6. Gökengin D, Geretti AM, Begovac J, et al. 2014 European Guideline on HIV testing. *Int J STD AIDS*. 2014;25(10):695-704.
7. Masciotra S, McDougal JS, Feldman J, Sprinkle P, Wesolowski L, Owen SM. 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.
8. O'Brien M, Markowitz M. Should we treat acute HIV infection? *Current HIV/AIDS Reports*. 2012;9(2):101-10.
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.
10. Cohen MS, Shaw GM, McMichael AJ, Haynes BF. Acute HIV-1 Infection. *N Engl J Med*. 2011;364(20):1943-54.
11. World Health Organization. Diagnosis of HIV infection in infants and children. Geneva, 2010.
12. Wittek M, Stürmer M, Doerr HW, Berger A. Molecular assays for monitoring HIV infection and antiretroviral therapy. *Expert Rev Mol Diagn*. 2007;7(3):237-46.
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.
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.
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.
16. Higuchi R, Dollinger G, Walsh PS, Griffith R. Simultaneous amplification and detection of specific DNA sequences. *Biotechnology (NY)*. 1992;10:413-7.
17. Heid CA, Stevens J, Livak JK, Williams PM. Real time quantitative PCR. *Genome Res*. 1996;6:986-94.
18. Center for Disease Control and Prevention. Biosafety in microbiological and biomedical laboratories, 5th ed. U.S. Department of Health and Human Services, Public Health Service, Centers for Disease Control and Prevention, National Institutes of Health HHS Publication No. (CDC) 21-1112, revised December 2009.
19. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Protection of laboratory workers from occupationally acquired infections. Approved Guideline-Fourth Edition. CLSI Document M29-A4:Wayne, PA;CLSI, 2014.

Révision du document

Informations sur la révision du document	
Doc Rev. 6.0 03/2021	Mise à jour des avertissements de danger. Mise à jour de la section Marques commerciales et brevets . Insertion du symbole « Rx Only » sur la première page. Ajout d'une déclaration de lieu de fabrication. Mise à jour de la page des symboles harmonisés. Veuillez contacter votre représentant local Roche si vous avez des questions.