

cobas[®] HIV-1

Test quantitatif des acides nucléiques à utiliser avec les cobas[®] 5800/6800/8800 Systems

Pour une utilisation en diagnostic *in vitro*

cobas[®] HIV-1

P/N: 09040803190

cobas[®] HBV/HCV/HIV-1 Control Kit

P/N: 09040773190

cobas[®] NHP Negative Control Kit

P/N: 09051554190

Table des matières

Usage prévu	5
Résumé et explication du test.....	5
Réactifs et matériel	8
Réactifs et contrôles cobas® HIV-1	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 cobas® 5800 System	15
Matériel supplémentaire nécessaire pour les cobas® 6800/8800 Systems	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 de plasma.....	19
Échantillons de plasma EDTA.....	19
Échantillons de spots de plasma séché sur PSC	20
Instructions d'utilisation	22
Notes de procédure	22
Préparation des échantillons de spots de plasma séché sur PSC et procédure pré-analytique.....	22
Exécution du test cobas® HIV-1 sur le cobas® 5800 System	27
Exécution du test cobas® HIV-1 sur les cobas® 6800/8800 Systems	28

Résultats	30
Contrôle qualité et validité des résultats sur le cobas ® 5800 System.....	30
Résultats des contrôles sur le cobas ® 5800 System	30
Contrôle qualité et validité des résultats sur les cobas ® 6800/8800 Systems.....	31
Alertes de contrôle sur les cobas ® 6800/8800 Systems	31
Interprétation des résultats	32
Interprétation des résultats du cobas ® 5800 System	32
Interprétation des résultats sur les cobas ® 6800/8800 Systems	33
Limites du test.....	33
Évaluation des performances non cliniques	34
Principales caractéristiques de performance pour les échantillons de plasma EDTA sur les cobas ® 6800/8800 Systems.....	34
Limite de détection (LoD)	34
Domaine de linéarité	35
Précision - intra-laboratoire	37
Vérification de sous-type	38
Spécificité	40
Spécificité analytique	41
Spécificité analytique - substances interférentes	41
Corrélation de méthodes - Performances comparées au test COBAS® AmpliPrep/ COBAS® TaqMan® HIV-1, v2.0.....	42
Échec complet du système.....	43
Contamination croisée.....	43
Principales caractéristiques de performance pour les échantillons de spots de plasma séché sur PSC.....	44
Limite de détection (LoD) à l'aide d'échantillons de plasma séché sur PSC.....	44
Domaine de linéarité à l'aide de la PSC.....	45
Vérification des sous-types en utilisant la PSC.....	47
Spécificité en utilisant la PSC	47
Échec complet du système en utilisant la PSC.....	47
Performance des échantillons de spots de plasma séché sur PSC comparée à celle des échantillons de plasma	48

Évaluation des performances cliniques	49
Reproductibilité	49
Validation de la quantification de charge virale.....	50
Évaluation clinique.....	54
Conclusion	57
Équivalence des systèmes/comparaison des systèmes.....	57
Informations supplémentaires	58
Caractéristiques principales du test pour les échantillons de plasma EDTA	58
Caractéristiques principales du test pour les échantillons de spots de plasma séché sur PSC.....	58
Symboles	59
Assistance technique.....	60
Fabricant et importateur	60
Marques commerciales et brevets	60
Copyright.....	60
Références.....	61
Révision du document.....	63

Usage prévu

Le test **cobas**® HIV-1 est un test *in vitro* d'amplification des acides nucléiques pour le dosage quantitatif du virus de l'immunodéficience humaine de type 1 (VIH-1) dans du plasma EDTA ou à partir d'un spot de plasma séché provenant d'individus infectés par le VIH-1 et prélevé sur une **cobas**® Plasma Separation Card (PSC).

Ce test est destiné à être utilisé en complément du tableau clinique et d'autres marqueurs biologiques en vue du traitement clinique des patients infectés par le VIH-1. Ce test permet de confirmer l'infection au VIH-1 chez les individus réactifs aux tests anticorps et d'évaluer le pronostic du patient en déterminant le niveau de base de VIH-1, ou de suivre les effets du traitement antirétroviral en mesurant les variations du niveau d'ARN du VIH-1 tout au long du traitement antirétroviral.

Résumé et explication du test

Contexte

Le virus de l'immunodéficience humaine (VIH) est l'agent étiologique responsable du syndrome d'immunodéficience acquise (SIDA). Après la séroconversion, les sujets infectés entrent généralement dans une phase relativement asymptomatique et cliniquement stable pouvant durer des années. Cette période asymptomatique est caractérisée par la présence persistante d'une virémie dans le plasma dont le niveau est individu dépendant et par une déplétion graduelle des lymphocytes CD4+ T. Bien que le virus soit présent dans le sang circulant en quantité relativement faible au cours de la phase asymptomatique de l'infection, il s'avère que la réplication du virus et sa clairance constituent un processus dynamique au cours duquel les forts taux de production virale et d'infection des lymphocytes CD4+ sont compensés par des taux tout aussi élevés de clairance virale, de mort des cellules infectées et de renouvellement des lymphocytes CD4+, ce qui aboutit à des taux relativement stables de virémie plasmatique et de lymphocytes CD4+ pour une durée d'environ 8 ans chez un patient moyen infecté par le VIH.

Des déterminations quantitatives de la virémie VIH dans le plasma ont montré que des niveaux de virus élevés sont corrélés à une progression clinique plus rapide de la pathologie due au VIH.^{1,2} En outre, les recherches cliniques effectuées depuis près de vingt ans ont établi que la réduction des niveaux de virus dans le plasma à l'aide d'un traitement antirétroviral (ou ART pour AntiRetroviral Therapy) diminue significativement le risque de progression clinique, notamment la mort, l'apparition du SIDA, les infections opportunistes et la morbidité associée au VIH.³ La charge virale du VIH permet également de prédire le risque de transmission du VIH ; des essais cliniques contrôlés randomisés ont établi qu'un début précoce du traitement antirétroviral avec suppression de la charge virale réduit la transmission du VIH de 96 %.⁴

Pourquoi dépister le VIH-1 ?

Actuellement, de nombreux médicaments antirétroviraux sont disponibles. Ils ciblent la protéase virale, l'intégrase, l'enveloppe et la transcriptase inverse du virus. Des analyses génotypiques de virus de différents clades ont montré que des changements de nucléotides, des polymorphismes et des mutations secondaires ont lieu, de manière naturelle ou sous l'effet de médicaments, au sein des régions de transcriptase inverse, d'intégrase et de protéase du gène pol VIH-1. Le test de résistance est devenu un outil diagnostique important dans la gestion des infections au VIH-1. Il est effectué dès que la charge virale d'un patient atteint un niveau détectable par analyse de séquençage. Il a été démontré que le suivi de la charge virale réduit le risque de résistance aux médicaments. La charge virale est considérée cliniquement comme étant un indicateur sentinelle de la réplication virale active annonçant l'évolution virale chez les patients sous traitement.^{5,6}

De nombreuses directives nationales et internationales recommandent par conséquent de mesurer la charge virale du VIH-1.^{3, 7-9}

Durant plusieurs années, les directives ont indiqué que l'un des objectifs clés du traitement consiste à réduire la charge virale du VIH-1 jusqu'à ce qu'elle se situe au-dessous de la limite de détection d'un test (par exemple, 50 copies/mL). En 2011, les directives américaines ont commencé à indiquer que les résultats de charge virale inférieurs ou égaux à 200 copies/mL chez les patients sous traitement antirétroviral peuvent ne pas être indicateurs d'un échec de traitement car certains patients peuvent présenter une virémie de faible niveau sans percée virologique.³ En Europe, les directives continuent à indiquer que les résultats de charge virale doivent être réduits à un niveau se situant au-dessous de 50 copies/mL.⁷ Des différences pour les valeurs faibles entre les tests de charge virale peuvent entraîner des différences importantes dans l'interprétation clinique des résultats de charge virale lors du suivi de la réponse au traitement,^{10, 11} car l'objectif du traitement est la réduction du virus à un niveau au-dessous duquel la résistance aux médicaments est le moins probable, ce niveau n'ayant pas été clairement défini.¹² En juillet 2013, l'OMS a également commencé à recommander l'utilisation des tests de charge virale dans les milieux à ressources limitées, fixant à 1 000 copies/mL le seuil de définition de l'échec virologique nécessitant la prise de décisions thérapeutiques. L'OMS recommande aussi désormais l'utilisation d'échantillons de spots de sang séché afin d'étendre l'accessibilité des tests de charge virale dans les milieux à ressources limitées ayant un accès limité aux structures de soin ou ne disposant pas de capacités fiables de transport des échantillons de plasma EDTA.⁸ Un spot de plasma séché sur PSC, qui stabilise également l'ARN du VIH dans le plasma séché, peut améliorer la couverture des tests de la charge virale dans ces configurations en permettant le transport d'échantillons sur de plus longues distances et dans des conditions environnementales plus rudes qu'en cas d'utilisation de plasma EDTA.

Outre le suivi de la réponse au traitement, les directives recommandent l'utilisation de l'évaluation de la charge virale afin de déterminer si un patient dont le compte de cellules CD4+ est > 500 cellules/mm³ (charge virale > 100 000 copies/mL) doit commencer un traitement antirétroviral et afin de s'assurer du succès de la recherche de la résistance aux médicaments par séquençage chez les patients (patients avec une charge virale > 1 000 copies/mL ou une réponse de charge virale sous-optimale au traitement antirétroviral). L'évaluation de la charge virale doit avoir lieu au stade prénatal afin de déterminer si un accouchement par césarienne est nécessaire pour empêcher une transmission de l'infection au VIH de la mère à l'enfant (pour les femmes enceintes avec une charge virale > 1 000 copies/mL).

Explication du test

Le test cobas® HIV-1 est un test quantitatif réalisé sur le cobas® 5800 System, le cobas® 6800 System ou le cobas® 8800 System. Le test cobas® HIV-1 permet la détection et la quantification de l'ARN du VIH-1 dans le plasma EDTA ou à partir d'un spot de plasma séché sur PSC de patients infectés. Deux sondes sont utilisées pour la détection et la quantification. Elles ne permettent pas la discrimination des sous-types du groupe M du VIH-1 ou du VIH-1 groupe O et groupe N. La charge virale est quantifiée par rapport à un standard de quantification d'ARN encapsulé non VIH-1 (RNA-QS) qui est introduit dans chaque échantillon lors du traitement des échantillons. Le RNA-QS fonctionne en tant que contrôle interne et permet de surveiller l'ensemble du processus de préparation des échantillons et d'amplification par PCR. En outre, le test utilise trois contrôles : un contrôle positif de titre élevé, un contrôle positif de titre faible et un contrôle négatif. Les contrôles externes positif haut et positif bas sont obtenus par dilution à partir du matériel de stock avec un titre conforme au standard international de l'OMS pour le VIH-1. Chaque lot de kits d'amplification/de détection est calibré conformément au standard international de l'OMS pour le VIH-1.

Principes de la procédure

Le test **cobas**® HIV-1 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 **cobas**® 5800 System est conçu sous la forme d'un instrument intégré. 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 les logiciels **cobas**® 5800 ou **cobas**® 6800/8800, lesquels attribuent à chaque test l'un des résultats suivants : cible non détectée, < LLoQ (limite de quantification inférieure), > ULoQ (limite de quantification supérieure) ou ARN du VIH-1 détecté, valeur dans le domaine de linéarité $LLoQ < x < ULoQ$. 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, des contrôles et des molécules d'ARN encapsulé (RNA-QS) ajoutées est extrait simultanément. 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 du génome VIH-1. Le gène gag du VIH-1 et la région LTR du VIH-1 (double-cible) sont amplifiés par le **cobas**® HIV-1. L'amplification sélective du RNA-QS est effectuée à l'aide d'amorces sens et antisens spécifiques à la séquence, sélectionnées de manière à ne présenter aucune homologie avec le génome VIH-1. Une enzyme ADN polymérase thermostable est utilisée pour la transcription inverse et pour l'amplification par PCR. Les séquences cibles et RNA-QS 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 contient deux sondes de détection spécifiques aux séquences cibles de VIH-1 et une sonde spécifique au RNA-QS. Les sondes sont marquées au moyen de fluorophores rapporteurs spécifiques des cibles permettant la détection simultanée de cible de VIH-1 et de RNA-QS dans deux 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 RNA-QS, respectivement.

Réactifs et matériel

Réactifs et contrôles cobas® HIV-1

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

Tableau 1 cobas® HIV-1

cobas® HIV-1 Conserver à 2-8 °C Cassette de 192 tests (P/N 09040803190)		
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) EUH210 : Fiche de données de sécurité disponible sur demande. EUH208 : Contient de la subtilisine. Peut produire une réaction allergique.	22,3 mL
Standard de quantification d'ARN (RNA-QS)	Tampon Tris, < 0,05 % EDTA, < 0,001 % de construction d'ARN encapsulé non lié au VIH contenant des régions de séquence spécifiques aux amorces et à la sonde (ARN non infectieux dans le MS2 bactériophage), < 0,1 % d'azoture de sodium	21,2 mL
Tampon d'élution (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 (HIV-1 MMX-R2)	Tampon de tricine, acétate de potassium, 18 % de sulfoxyde de diméthyle, glycérol, < 0,1 % de Tween 20, EDTA, < 0,12 % de dATP, dCTP, dGTP, dUTPs, < 0,01 % d'amorces sens et antisens de VIH, < 0,01 % d'amorces sens et antisens de standard de quantification, < 0,01 % de sondes oligonucléotidiques marquées par fluorescence spécifiques au VIH et au standard de quantification VIH, < 0,01 % d'aptamère d'oligonucléotide, < 0,1 % d'ADN polymérase Z05D, < 0,10 % d'enzyme (microbienne) AmpErase (uracil-N-glycosylase), < 0,1 % d'azoture de sodium	9,7 mL

Tableau 2 cobas® HBV/HCV/HIV-1 Control Kit

cobas® HBV/HCV/HIV-1 Control Kit Conserver à 2-8 °C (P/N 09040773190)			
Composants du kit	Ingrédients du réactif	Quantité par kit	Symboles de sécurité et avertissements*
Contrôle positif bas de VHB/VHC/VIH-1 (HBV/HCV/HIV-1 L(+)C)	< 0,001 % d'ARN du VIH-1 groupe M encapsulé dans la protéine enveloppe bactériophage MS2, < 0,001 % d'ADN (plasmidique) synthétique du VHB encapsulé dans la protéine enveloppe bactériophage lambda, < 0,001 % d'ARN synthétique du VHC encapsulé dans la protéine enveloppe bactériophage MS2, plasma humain normal, non réactif aux tests agréés pour les anticorps anti-VHC, anticorps anti-VIH-1/2, AgHBs, anticorps anti-HBc ; ARN du VIH-1, ARN du VIH-2, ARN du VHC et ADN du VHB 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 haut de VHB/VHC/VIH-1 (HBV/HCV/HIV-1 H(+)C)	< 0,001 % d'ARN synthétique à titre élevé (encapsulé) du VIH-1 groupe M dans la protéine enveloppe bactériophage MS2, < 0,001 % d'ADN (plasmidique) synthétique du VHB encapsulé dans la protéine enveloppe bactériophage lambda, < 0,001 % d'ARN synthétique du VHC encapsulé dans la protéine enveloppe bactériophage MS2, plasma humain normal, non réactif aux tests agréés pour les anticorps anti-VHC, anticorps anti-VIH-1/2, AgHBs, anticorps anti-HBc ; ARN du VIH-1, ARN du VIH-2, ARN du VHC et ADN du VHB 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 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-VHC, anticorps anti-VIH-1/2, AgHBs, anticorps anti-HBc ; ARN du VIH-1, ARN du VIH-2, ARN du VHC et ADN du VHB 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 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**. Voir la liste du matériel supplémentaire nécessaire (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

Remarque : ce réactif est proposé en option et ne doit être utilisé qu'en association avec la PSC pour traiter les échantillons de spots de plasma séché. Voir la fiche méthodologique PSC Method Sheet ms_09411763190.

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)	  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

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

** Substance dangereuse.

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 utilisé dans la procédure de travail avec spots de plasma séché sur PSC doit être stocké et manipulé comme spécifié dans le Tableau 9. Les conditions de manipulation et de stockage des PSC sont décrites dans la fiche méthodologique **PSC Method Sheet ms_09411763190**.

Lorsque les réactifs ne sont pas chargés sur le **cobas®** 5800 System ou 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	2-8 °C
cobas® HBV/HCV/HIV-1 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 cobas® 5800 System

Les réactifs chargés sur le **cobas®** 5800 System 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 **cobas®** 5800 System.

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

Réactif	Date de péremption du kit	Stabilité de kit ouvert	Nombre de runs possibles avec ce kit	Stabilité à bord
cobas® HIV-1	Date non passée	90 jours à partir de la première utilisation	40 runs max.	36 jours max.*
cobas® HBV/HCV/HIV-1 Control Kit	Date non passée	Non applicable ^a	Non applicable	36 jours max.*
cobas® NHP Negative Control Kit	Date non passée	Non applicable ^a	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

^a Réactif à usage unique.

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

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

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 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 cobas® 6800/8800 Systems.

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

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	Date non passée	90 jours à partir de la première utilisation	40 runs max.	40 heures max.
cobas® HBV/HCV/HIV-1 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 cobas® 6800/8800 Systems.

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 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 cobas® 5800 System

Tableau 10 Matériel et consommables à utiliser sur le **cobas® 5800 System**

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 cobas® 6800/8800 Systems

Tableau 11 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 et réservoir à déchets solides ou Sac à déchets solides avec insert et kit tiroir	07435967001 et 07094361001 ou 08030073001 et 08387281001

Tableau 12 Autres matériels et consommables requis uniquement pour l'obtention des spots de plasma séché sur la PSC

Matériel
cobas® Plasma Separation Card (P/N 07963084190 ou P/N 09411763190)*
Pinces ou pincettes stériles ou jetables**
Tube capillaire de 140 µL (tube en plastique Vitrex, par exemple) avec distributeur compatible (support de pipette Vitrex, par exemple)*
Lancette à usage unique (Greiner Bio-one : MiniCollect® Safety Lancet profondeur de pénétration 2,00 mm, par exemple)*
Sac d'échantillon (en plastique transparent refermable Ziplock) et sachets déshydratants de gel de silice (pour un total de 4 grammes) (Pour obtenir de plus amples informations sur le stockage et le transport des PSC, voir la fiche méthodologique PSC Method Sheet ms_09411763190)
Sac de transport (Wicoseal 180 × 60 × 240 mm, par exemple)
Pipette (Multistepper, par exemple)
Thermomixer® Eppendorf (modèle R 5355 ou C ou équivalent, par exemple) avec Thermoblock pour 24 cryo tubes
Tubes, 5 mL, filetage interne, 12,5 mm de diamètre, polypropylène (Cryo.s™ de Greiner Bio-one) avec bouchons

* Voir la fiche méthodologique **PSC Method Sheet ms_09411763190** pour obtenir de plus amples informations sur le prélèvement des échantillons sur PSC.

** Pour éviter la contamination croisée, n'utiliser qu'une seule pince par patient. L'utilisation de pinces métalliques stérilisées par autoclave après usage unique est recommandée.

Instruments et logiciels nécessaires

Le logiciel **cobas®** 5800 System et les fichiers d'analyse **cobas®** HIV-1 pour le **cobas®** 5800 System doivent être installés sur le **cobas®** 5800 Instrument. Le logiciel Data Manager et le PC pour le **cobas®** 5800 System seront fournis avec le système.

Le logiciel **cobas®** 6800/8800 Systems et les fichiers d'analyse **cobas®** HIV-1 pour les **cobas®** 6800/8800 Systems doivent être installés sur le ou les instruments. Pour l'application de spots de plasma séché sur PSC sur les **cobas®** 6800/8800 Systems, le **cobas®** HIV-PSC ASAP (Assay Specific Analysis Package) doit être installé sur l'instrument ou les instruments. Le serveur IG (Instrument Gateway) est livré avec les systèmes.

Tableau 13 Instrumentation

Équipement	P/N
cobas® 5800 System	08707464001
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

Se reporter à l'Assistance Utilisateur et/ou au guide de l'utilisateur du **cobas®** 5800 System ou des **cobas®** 6800/8800 Systems pour obtenir plus d'informations.

Remarque : contacter le représentant Roche local pour obtenir une liste détaillée de références de racks 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*.
- L'utilisation du test **cobas® HIV-1** en tant que test de dépistage du VIH-1 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 et l'utilisation du test **cobas® HIV-1** et des **cobas® 5800/6800/8800 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 d'éclaboussures, désinfecter immédiatement avec une solution fraîchement préparée contenant 0,5 % d'hypochlorite de sodium dans de l'eau distillée ou déionisée (eau de javel ménagère diluée à 1:10) ou suivre les procédures locales appropriées.
 - En cas de déversement d'échantillons de spots de plasma séché sur PSC 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® HBV/HCV/HIV-1 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-VHC, anticorps anti-VIH-1/2, AgHBs et anticorps anti-HBc. 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), ARN du VIH-2, ARN du VHC ni ADN du VHB 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.
- Se reporter à la fiche méthodologique **PSC Method Sheet ms_09411763190** pour de plus amples informations quant aux avertissements et aux précautions d'emploi.
- **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 et réactif de lavage pour détecter tout signe de fuite. En présence de fuite, ne pas utiliser ce matériel pour le test.
- Le **cobas omni** Lysis Reagent contient 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 de test **cobas®** HIV-1, le **cobas omni** MGP Reagent et le **cobas omni** Specimen Diluent contiennent de l'azoture 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, 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 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 **cobas®** 5800 System 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 **cobas®** 6800/8800 Systems afin de nettoyer et de décontaminer correctement les surfaces du ou des instruments.

Prélèvement, transport et conservation des échantillons de plasma

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

Conserver tous les échantillons aux températures indiquées.

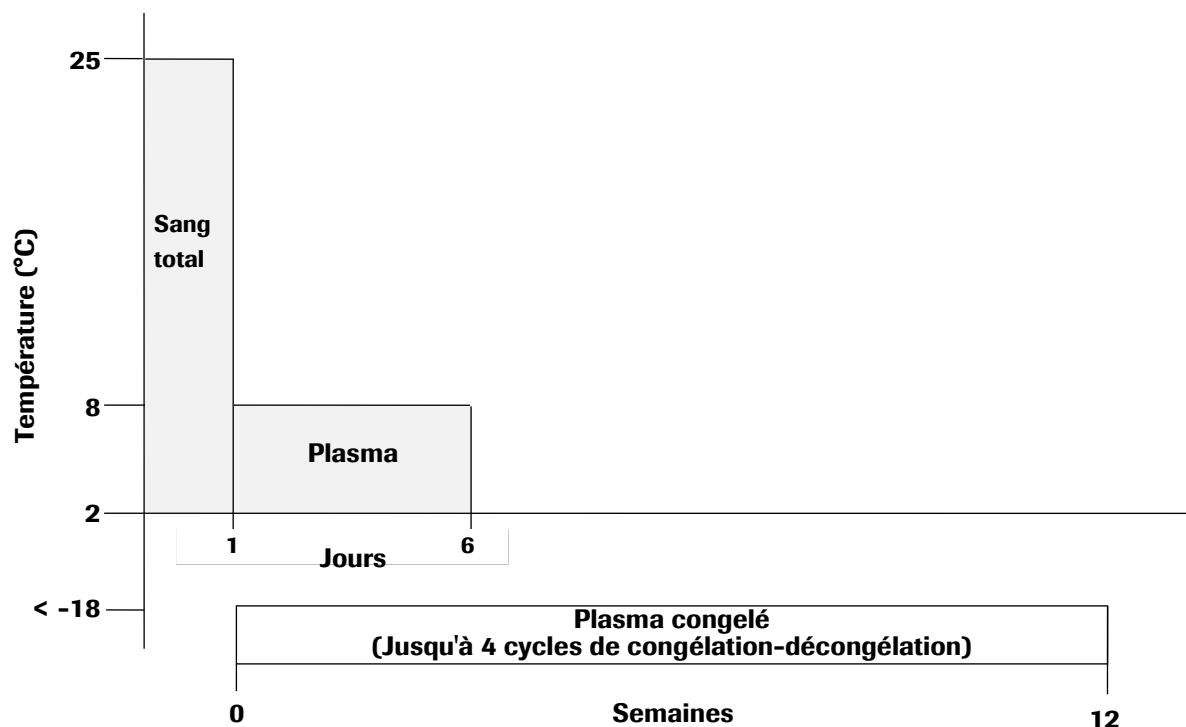
La stabilité des échantillons est affectée par les températures élevées.

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.

Remarque : après centrifugation, s'il existe une possibilité que des cellules aient été remises en suspension dans le plasma, envisager une recentrifugation avant d'effectuer le traitement sur l'instrument.

Échantillons de plasma EDTA

- Le sang total doit être prélevé 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. Consultez la Figure 1.
- Le sang total prélevé dans des tubes EDTA 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. La centrifugation doit être effectuée conformément aux instructions du fabricant.
- Après la séparation, les échantillons de plasma EDTA peuvent être conservés dans des tubes secondaires pendant 6 jours au maximum à une température comprise entre 2 °C et 8 °C ou pendant 12 semaines au maximum à une température ≤ -18 °C. Pour la conservation à long terme, des températures ≤ -60 °C sont recommandées.
- Les échantillons de plasma sont stables pendant un maximum de quatre cycles de congélation/décongélation lorsqu'ils sont conservés à une température ≤ -18 °C.

Figure 1 Conditions de stockage des échantillons de plasma EDTA

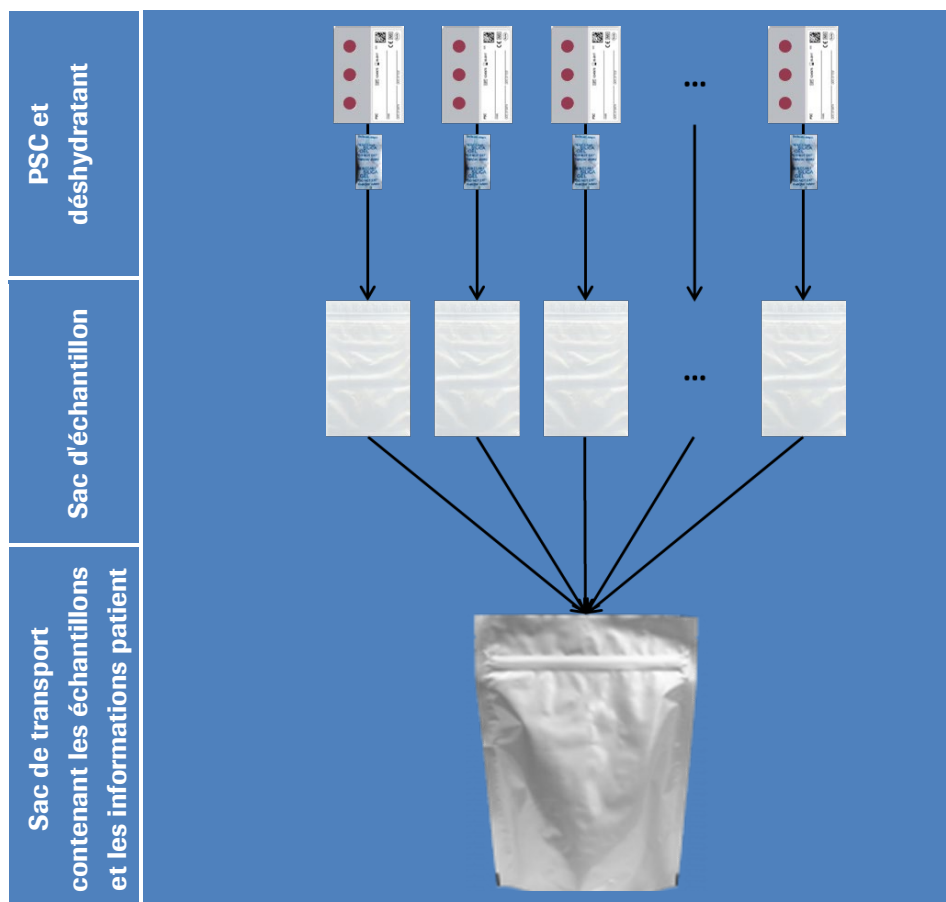
Si les échantillons sont expédiés, ils doivent être emballés et étiquetés conformément aux réglementations nationales et internationales sur le transport d'échantillons et d'agents étiologiques.

Échantillons de spots de plasma séché sur PSC

- Prélever les échantillons de spots de plasma séché sur PSC conformément aux procédures cliniques appropriées (voir la fiche méthodologique **PSC Method Sheet ms_09411763190**).
- Vérifier la date de péremption de la PSC et poursuivre uniquement si elle n'est pas dépassée.
- S'assurer que le sac dans lequel la PSC est scellée est intact et entièrement fermé.
- Étiqueter la PSC avec le nom du patient, sa date de naissance, la date et l'heure du prélèvement de l'échantillon.
- Au moyen d'un tube capillaire et d'une poire appropriés, appliquer 140 µL de sang total sur chaque cercle de la membrane de la PSC délimité par la face de collecte de la goutte de sang. Il est recommandé de remplir les trois cercles figurant sur la PSC afin de permettre des réanalyses.
- Ne pas appliquer d'échantillons de plusieurs patients sur une même PSC.
- Pendant cette procédure, veiller à éviter tout contact entre les membranes et les gants, des instruments ou toute autre surface potentiellement contaminée.
- S'assurer que les DEUX faces des spots PSC (avant : membrane contenant le sang ; arrière : spot contenant le plasma) sont saturées après 5 minutes. Contrôler la face arrière à travers le verso transparent de la carte.
- Laisser sécher la PSC à température ambiante pendant au moins 4 heures (ou une nuit au maximum) à l'abri de la lumière directe du soleil.
- Ne pas retirer la face de collecte de la goutte de sang. Cela sera effectué au laboratoire, avant l'extraction de l'échantillon.

- Après le séchage, conserver la PSC dans un sac d'échantillon individuel avec 4 grammes de déshydratant et fermer le sac hermétiquement. Les sacs d'échantillon doivent être placés dans un sac de transport avec les fiches d'information patient correspondantes. Il est recommandé de placer 25 PSC au maximum par sac de transport (voir la Figure 2 pour une description générale).

Figure 2 Description générale du conditionnement pour transport des PSC



- 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. Les PSC peuvent être transportées pendant 28 jours avant d'être analysées entre 18 et 45 °C à un taux d'humidité maximum de 85 %. Après le transport, les PSC contenues dans des sacs d'échantillons individuels avec 4 grammes de déshydratant peuvent être conservées dans un sac de transport à température ambiante (entre 18 et 30 °C), entre 2 et 8 °C ou à ≤ -10 °C pendant 56 jours au maximum (avec ou sans séparation des couches).

Instructions d'utilisation

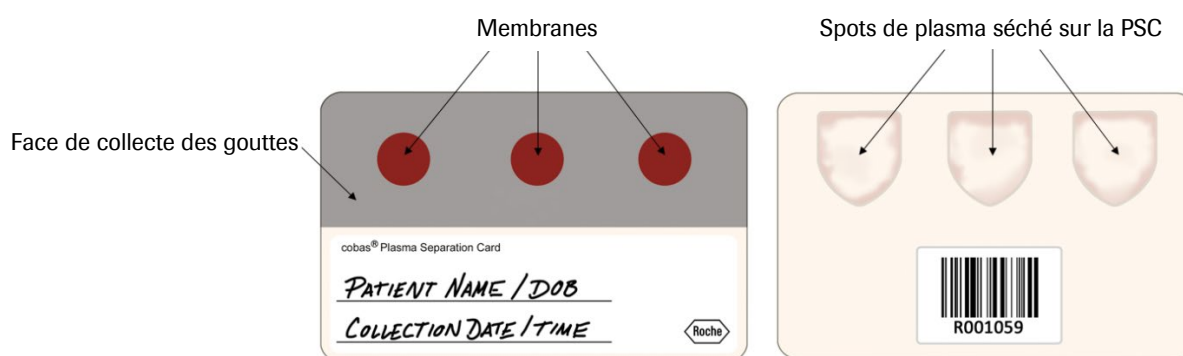
Notes de procédure

- Ne pas utiliser les réactifs du test **cobas® HIV-1**, le **cobas® HBV/HCV/HIV-1 Control Kit**, le **cobas® NHP Negative Control Kit** ni les réactifs **cobas omni** 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 **cobas® 5800 System** ou des **cobas® 6800/8800 Systems** pour obtenir des informations sur la bonne maintenance des instruments.

Préparation des échantillons de spots de plasma séché sur PSC et procédure pré-analytique

- Vérifier l'intégrité du sac de transport avant ouverture. Ne continuer que si le sac de transport est intact et entièrement fermé.
- Ouvrir le sac de transport et, pour chaque sac d'échantillon, ne poursuivre que si les critères suivants sont réunis :
 - Le formulaire de demande d'analyse de laboratoire est dûment rempli.
 - Les codes-barres du formulaire de demande d'analyse de laboratoire et de la PSC correspondent.
 - Le sac d'échantillon est entièrement fermé et contient une PSC ainsi que 4 grammes de déshydratant.
 - La date du prélèvement de l'échantillon est indiquée ; le prélèvement a été effectué il y a 28 jours au maximum et a eu lieu avant la date de péremption de la PSC (voir Figure 3).
 - La date de péremption de la PSC n'est pas dépassée.
 - Le spot de plasma séché sur la PSC semble homogène sur la face avant et entièrement recouvert de plasma vu de la face arrière de la carte (voir Figure 3).

Figure 3 Spots de plasma séché sur une PSC à traiter (à gauche : face avant ; à droite : face arrière)

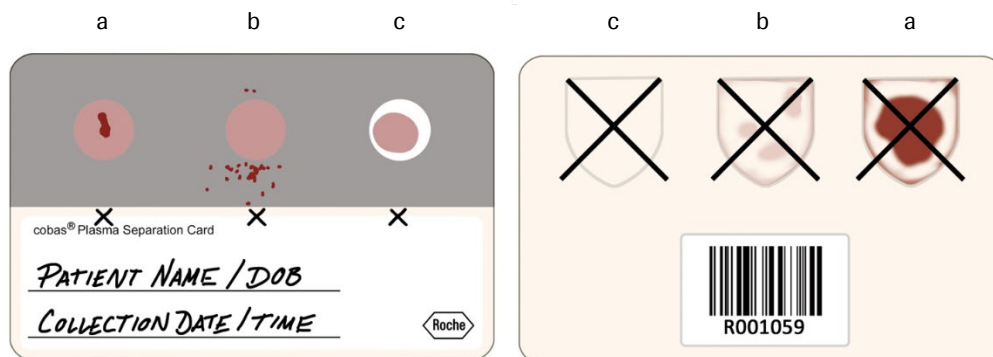


- Les spots de plasma séché sur la PSC devraient être identifiés et rejetés si :
 - des éclaboussures de sang sont visibles (Figure 4b) ou la membrane n'est pas complètement couverte de sang (Figure 4c) et, par conséquent, le spot sur la PSC contient une zone avant non homogène et/ou une face arrière n'est pas entièrement recouverte de plasma (visible à travers le support).

- la membrane est endommagée (Figure 4a) et, par conséquent, le spot sur la PSC n'est pas homogène sur la zone avant et est rouge foncé-brun sur la face arrière (visible à travers le support).

Remarque : les trois tâches sont prévues à des fins de réanalyses. Une PSC peut contenir un spot de mauvaise qualité, mais néanmoins inclure un échantillon approprié pour le test. Identifier correctement les spots ne remplissant pas les critères pour les reconnaître ultérieurement. Éviter de les identifier sur la face de collecte de la goutte de sang. Comparer toujours les trois spots les uns aux autres afin d'en évaluer la qualité.

Figure 4 Critères de rejet des spots sur la PSC (à gauche : face avant ; à droite : face arrière). Les spots présentant des éclaboussures (b), dont la membrane n'est pas recouverte (c) ou dont les membranes sont visiblement endommagées (a) ne devraient pas être traités. Si des spots sont rejetés, ils doivent être clairement identifiés

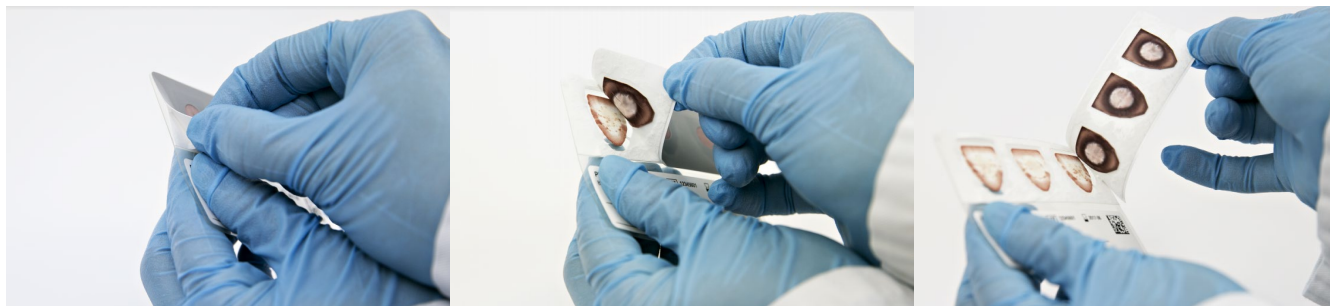


- Étiqueter un tube (5 mL, filetage interne, 12,5 mm de diamètre, polypropylène [Cryo.s™ de Greiner Bio-one]) pour chaque PSC avec le code-barres correspondant figurant sur le formulaire de demande d'analyse de laboratoire (Figure 5) et les placer sur un portoir. Transférer les tubes dans une hotte à flux laminaire avec les sacs d'échantillon contenant les PSC. Se reporter à l'Assistance Utilisateur et/ou au guide de l'utilisateur du **cobas® 5800** et des **cobas® 6800/8800 Systems** pour obtenir des informations sur l'étiquetage à code-barres.

Figure 5 Étiquetage du tube avec le code-barres correspondant de la PSC



- Déboucher les tubes dans la hotte à flux laminaire.
- Ouvrir le sac d'échantillon contenant la PSC à analyser et retirer la face de collecte de la goutte de sang (Figure 6).

Figure 6 Retrait de la face de collecte de la goutte de sang

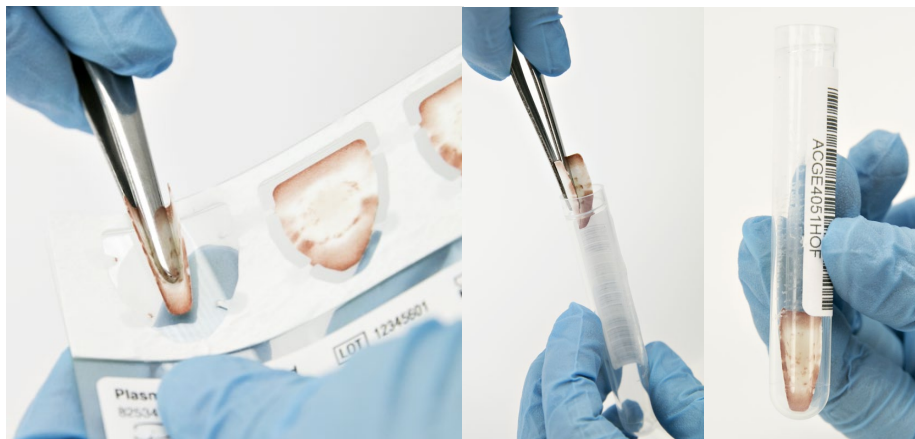
- Incurver légèrement la PSC et retirer un spot de plasma séché en le soulevant à l'aide d'une pince ou pincette stérile. Incurver le spot de plasma séché retiré de la PSC pour en faciliter l'insertion dans le tube (Figure 7). Utiliser une pince ou pincette par patient.

Remarque : les spots de plasma séché peuvent devenir friables pendant la conservation. Voir les conditions de conservation de la PSC. Il convient de procéder avec précaution lors de l'insertion dans le tube.

Figure 7 Retrait et incurvation du spot de plasma séché sur la PSC

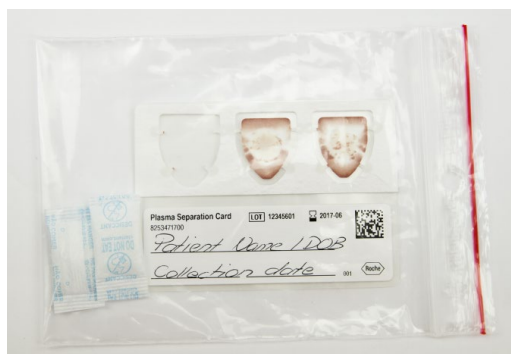
- Transférer un spot de plasma séché sur la PSC préalablement incurvé dans le tube correspondant de sorte que la pointe inférieure du spot de plasma séché sur la PSC atteigne le fond du tube et soit collée contre la paroi du tube afin d'éviter toute erreur de pipetage (Figure 8). Si nécessaire, ajuster la position du spot de plasma séché sur la PSC à l'aide d'un embout de pipette stérile. Vérifier que le tube et la PSC à partir de laquelle le spot de plasma séché a été transféré comportent le même code-barres.

Figure 8 Transfert du spot de plasma séché sur la PSC dans le tube



- Replacer la PSC contenant les spots de plasma séché restants dans son sac d'échantillon initial contenant 4 grammes de déshydratant frais en vue d'une éventuelle réanalyse (Figure 9). Les PSC peuvent être conservées pendant 56 jours au maximum après le transport séparées ou non de la face de collecte de la goutte de sang (entre 18 et 30 °C, ou entre 2 et 8 °C ou à ≤ -10 °C).

Figure 9 PSC dans le sac d'échantillon en vue d'une réanalyse potentielle



- Porter le **cobas**® Specimen Pre-Extraction Reagent (SPER) à température ambiante avant utilisation. Pipeter 1 300 µL de SPER dans les tubes contenant les spots de plasma séché sur la PSC (Figure 10) et fermer les tubes. Vérifier que les tubes sont bien refermés pour éviter toute évaporation.

Figure 10 Ajout de 1 300 µL de SPER



- Placer les tubes dans chacune des positions 1 à 24 sur un Thermomixer® (modèle R 5355 ou C 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 plasma séché (Figure 11). Commencer l'incubation immédiatement après l'ajout du SPER.

Figure 11 Incubation

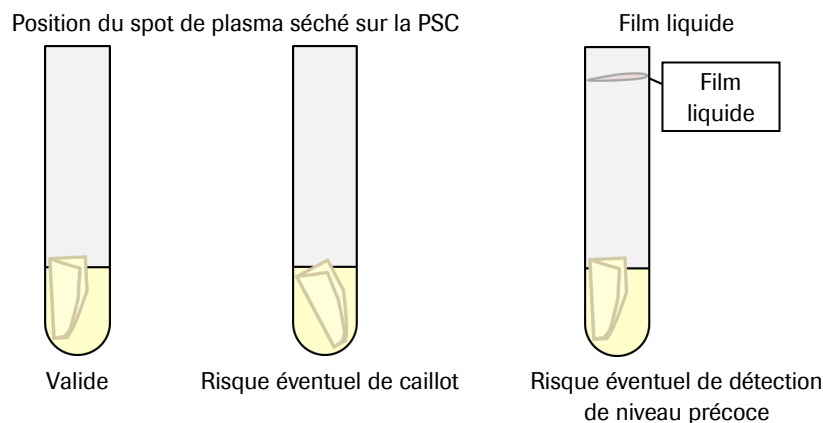


- Transférer les tubes sur un portoir d'échantillons et déboucher les tubes un à un afin de réduire le risque de contamination croisée (Figure 12). Changer de gants après avoir retiré les bouchons.

Figure 12 Débouchage des tubes



- Vérifier que le spot de plasma séché sur la PSC est bien placé le long des parois du tube (Figure 13) pour éviter les caillots d'échantillon. Si nécessaire, ajuster la position du spot de plasma séché sur la PSC à l'aide d'un embout de pipette stérile.
- Éliminer tout film liquide potentiellement situé au-dessus du niveau de liquide à l'aide d'un embout de pipette stérile (pour éviter la détection de niveau précoce).
- Charger les tubes sur le **cobas**® 5800 System ou les **cobas**® 6800/8800 Systems.

Figure 13 Préparation du spot de plasma séché sur la PSC avant la procédure de travail analytique

Remarque : s'assurer d'éliminer tout film liquide créé pendant le processus.

Exécution du test cobas® HIV-1 sur le cobas® 5800 System

Le test **cobas® HIV-1** peut être exécuté avec deux volumes d'échantillon minimum nécessaires : 350 µL (pour la procédure de travail avec échantillons de 200 µL) et 650 µL (pour la procédure de travail avec échantillons de 500 µL). La procédure de test est décrite en détail dans l'Assistance Utilisateur et/ou le guide de l'utilisateur du **cobas® 5800 System**. La Figure 14 ci-dessous résume la procédure.

Le test **cobas® HIV-1** peut être exécuté avec 1 300 µL de **cobas® Specimen Pre-Extraction Reagent** (pour la procédure de travail avec échantillons PSC de 850 µL). Il est à noter que la procédure de travail du test **cobas® HIV-1** utilisant la PSC peut être exécutée en mode de séries mixtes avec des échantillons de plasma ou de sérum et avec la procédure des spots de sang séché du test **cobas® HIV-1/ HIV-2 Qualitative**. La procédure de test est décrite en détail dans l'Assistance Utilisateur et/ou le guide de l'utilisateur du **cobas® 5800 System**. Figure 14 résume également la procédure pour les échantillons de spots de plasma séché sur PSC.

Vérifier que le bon type d'échantillon (**PSC**) et le bon ASAP sont utilisés (**cobas® HIV-PSC ASAP**) avant de démarrer la procédure de test.

Figure 14 cobas® HIV-1 : procédure du test sur le cobas® 5800 System

1	Se connecter au système
2	Chargement des échantillons sur le système : • 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 : • 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 : • 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 sur les cobas® 6800/8800 Systems

Le test cobas® HIV-1 peut être exécuté avec deux volumes d'échantillon minimum nécessaires : 350 µL (pour la procédure de travail avec échantillons de 200 µL) et 650 µL (pour la procédure de travail avec échantillons de 500 µL). La procédure de test est décrite en détail dans l'Assistance Utilisateur et/ou le guide de l'utilisateur des cobas® 6800/8800 Systems. La Figure 15 ci-dessous résume la procédure.

Le test **cobas®** HIV-1 peut être exécuté avec 1 300 µL de **cobas®** Specimen Pre-Extraction Reagent (pour la procédure de travail avec échantillons PSC de 850 µL). Il est à noter que la procédure de travail du test **cobas®** HIV-1 utilisant la PSC a été évaluée dans une fonctionnalité de série mixte uniquement avec la procédure de travail des spots de sang séché du test **cobas®** HIV-1/HIV-2 Qualitative. La procédure de test est décrite en détail dans l'Assistance Utilisateur et/ou le guide de l'utilisateur des **cobas®** 6800/8800 Systems. Figure 15 résume également la procédure pour les échantillons de spots de plasma séché sur PSC.

Vérifier que le bon type d'échantillon (**PSC**) et le bon ASAP sont utilisés (**cobas®** HIV-PSC ASAP) avant de démarrer la procédure de test.

Figure 15 **cobas®** HIV-1 : procédure du test sur les **cobas®** 6800/8800 Systems

1	Se connecter au système Appuyer sur « Démarrer » pour préparer le système Demander des tests
2	Recharger les réactifs et les consommables comme indiqué par le système • 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	Chargement des échantillons sur le système • 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	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
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 • Décharger les cassettes de contrôles vides • Vider le tiroir de plaques d'amplification • Vider les déchets liquides • Vider les déchets solides

Résultats

Le **cobas**® 5800 System et les **cobas**® 6800/8800 Systems déterminent automatiquement la concentration de l'ARN du VIH-1 dans les échantillons et les contrôles. La concentration de l'ARN du VIH-1 est exprimée en copies par millilitre (cp/mL) ou Unités internationales par millilitre (UI/mL). Le facteur de conversion pour le test **cobas**® HIV-1 est de 0,6 cp/UI.

Contrôle qualité et validité des résultats sur le cobas® 5800 System

- Un contrôle négatif [(-) C] et deux contrôles positifs, un contrôle positif bas [HIV-1 L(+)C] et un contrôle positif haut [HIV-1 H(+)C], sont traités au moins toutes les 72 heures ou 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 **cobas**® 5800 System 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, constitués d'un contrôle négatif et de deux contrôles positifs : HIV-1 L(+)C, HIV-1 H(+)C. Dans les résultats, le contrôle négatif s'affiche sous la forme (-) C et les contrôles positifs bas et fort s'affichent sous la forme HxV L(+)C et HxV H(+)C.

L'invalidation des résultats est effectuée automatiquement par le logiciel **cobas**® 5800 en fonction des échecs des contrôles négatifs ou positifs.

REMARQUE : à la livraison, le **cobas**® 5800 System est paramétré 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.

Résultats des contrôles sur le cobas® 5800 System

Les résultats des contrôles sont indiqués dans le logiciel **cobas**® 5800, dans l'application « Contrôles ».

- Les contrôles sont marqués par « Valide » 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 cobas® 6800/8800 Systems

- Un contrôle négatif (–) C et deux contrôles positifs, un contrôle positif bas HIV-1 L(+)C et un contrôle positif fort HIV-1 H(+)C, sont traités avec chaque série.
- 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, constitués d'un contrôle négatif et de deux contrôles positifs : HIV-1 L(+)C, HIV-1 H(+)C. Dans les résultats, le contrôle négatif s'affiche sous la forme (–) C et les contrôles positifs bas et fort s'affichent sous la forme HxV L(+)C et HxV H(+)C.

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 cobas® 6800/8800 Systems

Tableau 14 Alertes de contrôle pour les contrôles négatifs et positifs

Contrôle négatif	Alerte	Résultat	Interprétation
(–) C	Q02 (Échec de la série de contrôle)	Invalide	Résultat invalide ou le résultat de titre calculé pour le contrôle négatif n'est pas négatif.
Contrôle positif	Alerte	Résultat	Interprétation
HxV L(+)C	Q02 (Échec de la série de contrôle)	Invalide	Résultat invalide ou le résultat d'un titre calculé pour le contrôle positif bas se situe en dehors du domaine théorique.
HxV H(+)C	Q02 (Échec de la série de contrôle)	Invalide	Résultat invalide ou le résultat d'un titre calculé pour le contrôle positif haut se situe en dehors du domaine théorique.

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

HxV L(+)C correspond au contrôle positif bas de **cobas**® HBV/HCV/HIV-1 et HxV H(+)C correspond au contrôle positif haut de **cobas**® HBV/HCV/HIV-1 dans le logiciel **cobas**® 6800/8800.

Interprétation des résultats

Pour une série de contrôles valide, vérifier l'absence d'alerte pour chaque échantillon individuel dans les logiciels **cobas® 5800 System** et **cobas® 6800/8800 Systems** et/ou dans les rapports. Les résultats doivent être interprétés comme suit :

- une série valide peut comporter des résultats d'échantillon valides et invalides.

Tableau 15 Résultats cibles pour l'interprétation des résultats cibles individuels

Résultats	Interprétation
Target Not Detected	ARN du VIH non détecté. Enregistrer les résultats comme suit : « VIH non détecté ».
< Titer Min	Le titre calculé se situe sous la limite de quantification inférieure (LLOQ) du test. Enregistrer les résultats comme suit : « VIH détecté, inférieur à (titre min) ». Titre min = 20 cp/mL et 33 UI/mL (500 µL de plasma) Titre min = 50 cp/mL et 83 UI/mL (200 µL de plasma) Titre min = 790 cp/mL et 1 317 UI/mL (PSC)
Titer	Le titre calculé se situe dans le domaine de linéarité du test : supérieur ou égal au titre min. et inférieur ou égal au titre max. Enregistrer les résultats comme suit : « (Titre) de VIH-1 détecté ».
> Titer Max ^a	Le titre calculé se situe au-dessus de la limite de quantification supérieure (ULOQ) du test. Enregistrer les résultats comme suit : « VIH détecté, supérieur à (titre max) ». Titre max = 1,00E+07 cp/mL et 1,67E+07 UI/mL (500 µL, 200 µL et PSC)

^a Un résultat d'échantillon « > Titer Max » correspond à des échantillons positifs pour le VIH-1 détectés dont les titres sont supérieurs à la limite supérieure de quantification (ULOQ). Pour obtenir un résultat quantitatif, l'échantillon d'origine doit être dilué avec du plasma EDTA négatif pour le VIH-1, selon le type de l'échantillon d'origine, et le test doit être répété. Multiplier le résultat enregistré par le coefficient de dilution.

Interprétation des résultats du cobas® 5800 System

Les résultats des échantillons sont indiqués dans le logiciel **cobas® 5800**, dans l'application « Résultats ».

Pour une série de contrôles valide, vérifier l'absence d'alerte pour chaque échantillon individuel dans le logiciel **cobas® 5800** et/ou dans le rapport. Les résultats doivent être interprétés comme suit :

- 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 de cible d'échantillon individuel doivent être interprétées comme indiqué dans le Tableau 15 ci-dessus.

- Si une ou plusieurs cibles d'échantillon sont marquées par « Invalide », le logiciel **cobas**® 5800 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.

Interprétation des résultats sur les **cobas**® 6800/8800 Systems

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

- 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 résultat de cible d'échantillon individuel doivent être interprétées comme indiqué dans le Tableau 15 ci-dessus.

Limites du test

- La procédure de plasma du test **cobas**® HIV-1 a été évaluée uniquement pour être utilisée conjointement au **cobas**® HBV/HCV/HIV-1 Control Kit, au **cobas**® NHP Negative Control Kit, au **cobas omni** MGP Reagent, au **cobas omni** Lysis Reagent, au **cobas omni** Specimen Diluent et au **cobas omni** Wash Reagent sur les **cobas**® 5800/6800/8800 Systems.
- La fiabilité des résultats dépend du suivi correct des procédures de prélèvement, stockage et manipulation des échantillons.
- La quantification de l'ARN du VIH-1 dépend du nombre de particules virales présentes dans l'échantillon et peut être affectée par les méthodes de collecte d'échantillons, les facteurs relatifs aux patients (c'est-à-dire 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 peuvent affecter la liaison des amorces et/ou des sondes et entraîner une sous-quantification du virus ou 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 n'est pas destiné au dépistage du VIH-1 dans le sang ou les produits sanguins.

Évaluation des performances non cliniques

Principales caractéristiques de performance pour les échantillons de plasma EDTA sur les cobas® 6800/8800 Systems

Limite de détection (LoD)

Standard international de l'OMS

La limite de détection du test cobas® HIV-1 a été déterminée en analysant des dilutions en série du standard international de l'OMS pour l'ARN du VIH-1 pour les analyses utilisant la technologie d'amplification de l'acide nucléique (deuxième standard international de l'OMS), groupe M, sous-type B, obtenu auprès du NIBSC (National Institute for Biological Standards and Control), dans du plasma humain EDTA négatif pour le VIH, à l'aide de volumes de prise d'essai d'échantillon de 500 µL et 200 µL. Des panels de cinq niveaux de concentration plus un niveau de concentration négatif ont été testés sur trois lots de réactifs du test cobas® HIV-1, lors de plusieurs runs, pendant plusieurs jours, par plusieurs opérateurs et sur plusieurs instruments.

Les résultats pour le plasma EDTA des deux volumes de prise d'essai d'échantillon sont indiqués au Tableau 16 et au Tableau 17. L'étude démontre que le test cobas® HIV-1 a détecté l'ARN du VIH-1 à une concentration de 13,2 cp/mL (22,0 UI/mL), telle que déterminée par analyse Probit, avec un taux de succès de 95 % pour un volume de prise d'essai d'échantillon de 500 µL et à une concentration de 35,5 cp/mL (59,2 UI/mL) ou plus, telle que déterminée par analyse Probit, avec un taux de succès de 95 % pour un volume de prise d'essai d'échantillon de 200 µL.

Tableau 16 Limite de détection dans le plasma EDTA (500 µL)

Concentration de titre d'entrée (ARN du VIH-1 cp/mL)	Concentration de titre d'entrée (ARN du VIH-1, UI/mL)	Nb de réplicats valides	Nb de positifs	Taux de succès en %
40,0	66,7	189	189	100,0 %
20,0	33,3	189	186	98,4 %
10,0	16,7	189	171	90,5 %
5,0	8,3	189	125	66,1 %
2,5	4,2	189	67	35,4 %
0,0	0,0	189	0	0,0 %
Limite de détection à un taux de succès de 95 % par PROBIT		13,2 cp/mL ; intervalle de confiance à 95 % : 11,4-15,9 cp/mL 22,0 UI/mL ; intervalle de confiance à 95 % : 19,0-26,5 UI/mL		

Tableau 17 Limite de détection dans le plasma EDTA (200 µL)

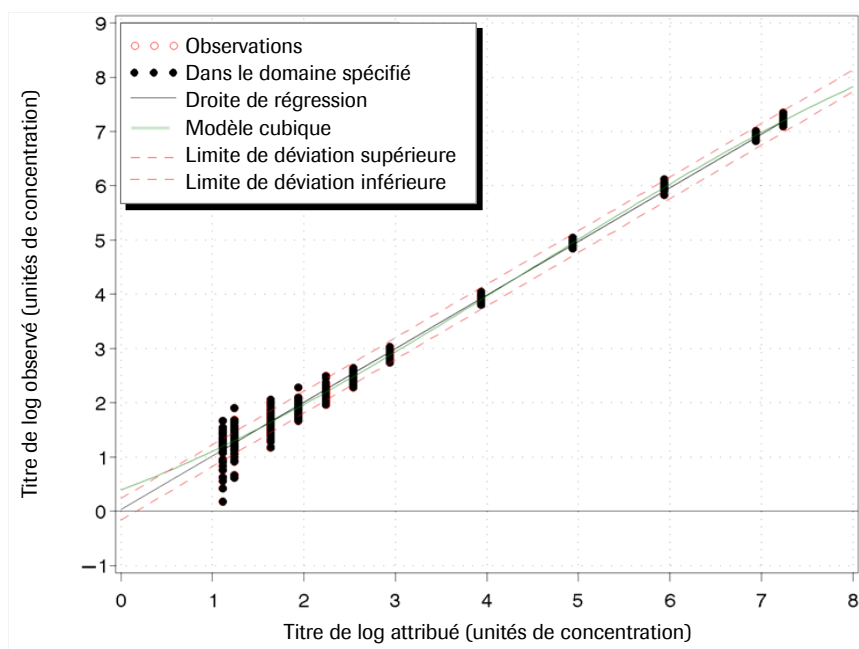
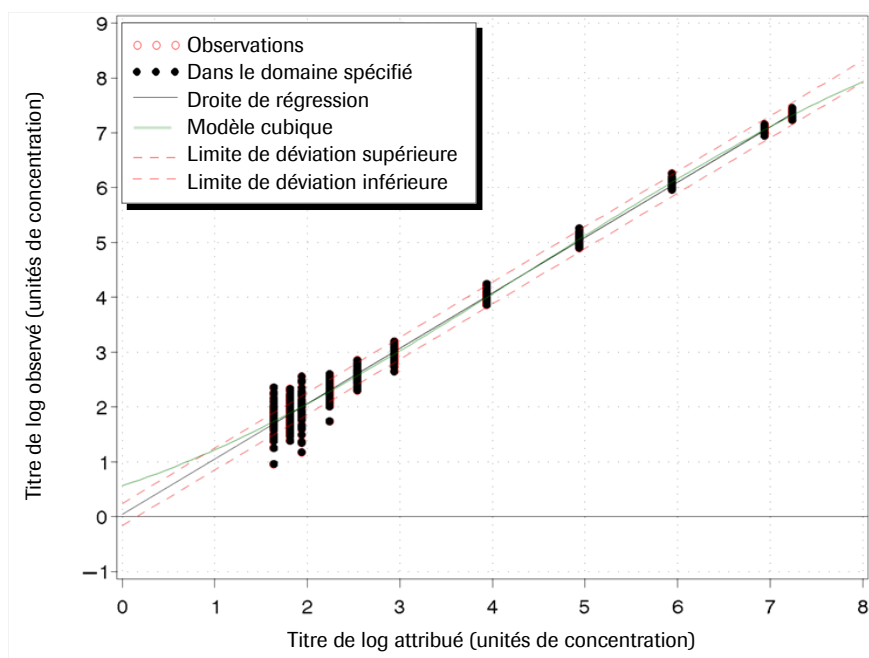
Concentration de titre d'entrée (ARN du VIH-1 cp/mL)	Concentration de titre d'entrée (ARN du VIH-1, UI/mL)	Nb de répliquats valides	Nb de positifs	Taux de succès en %
200,0	333,3	189	189	100,0 %
100,0	166,7	188	188	100,0 %
50,0	83,3	189	186	98,4 %
25,0	41,7	189	164	86,8 %
12,5	20,8	189	112	59,3 %
0,0	0,0	188	0	0,0 %
Limite de détection à un taux de succès de 95 % par PROBIT		35,5 cp/mL ; intervalle de confiance à 95 % : 30,8-43,2 cp/mL 59,2 UI/mL ; intervalle de confiance à 95 % : 51,3-72,0 UI/mL		

Domaine de linéarité

L'étude de linéarité du test **cobas**® HIV-1 a été effectuée avec une série de dilutions constituée de 12 membres de panels (volume de prise d'essai d'échantillon de 500 µL) et 11 membres de panel (volume de prise d'essai d'échantillon de 200 µL) couvrant le domaine de linéarité pour le VIH-1, groupe M, sous-type B, prédominant. Les membres de panel ont été préparés à partir d'un échantillon de surnageants de culture de cellules positives pour l'ARN du VIH-1 de titre élevé. L'évaluation a été effectuée conformément à la directive CLSI EP06-A.²⁰ Trois lots de réactifs ont été analysés sur trois **cobas**® 6800/8800 Systems, par trois opérateurs, sur un total de 16 répliquats par membre de panel et par lot, pendant quatre jours de tests (quatre répliquats par lot de kit par jour).

Avec le volume de prise d'essai de 500 µL, le test **cobas**® HIV-1 est linéaire de 20 cp/mL à 1,00E+07 cp/mL (de 33,3 UI/mL à 1,67E+07 UI/mL) et présente une déviation absolue par rapport à la régression non linéaire de meilleur ajustement de moins de $\pm 0,2 \log_{10}$ dans le plasma humain EDTA (voir Figure 16). Dans le domaine de linéarité, l'exactitude du test se situait à $\pm 0,2 \log_{10}$.

Avec le volume de prise d'essai de 200 µL, le test **cobas**® HIV-1 est linéaire de 50 cp/mL à 1,00E+07 cp/mL (de 83,3 UI/mL à 1,67E+07 UI/mL) et présente une déviation absolue par rapport à la régression non linéaire de meilleur ajustement de moins de $\pm 0,2 \log_{10}$ dans le plasma humain EDTA (voir Figure 17). Dans le domaine de linéarité, l'exactitude du test se situait à $\pm 0,2 \log_{10}$.

Figure 16 Détermination du domaine de linéarité dans le plasma EDTA (500 µL)**Figure 17** Détermination du domaine de linéarité dans le plasma EDTA (200 µL)

Précision - intra-laboratoire

La précision du test **cobas**® HIV-1 a été déterminée en analysant des dilutions en série d'un échantillon fortement positif pour le VIH-1 (groupe M, sous-type B ; virus en culture) dans du plasma EDTA négatif pour le VIH. Huit niveaux de dilution (volume de prise d'essai d'échantillon de 500 µL) et sept niveaux de dilution (volume de prise d'essai d'échantillon de 200 µL) ont été testés en 48 réplicats pour chaque niveau et volume de prise d'essai, sur trois lots de réactifs du test **cobas**® HIV-1, sur trois instruments et par trois opérateurs pendant 12 jours. Chaque échantillon a subi la procédure entière du test **cobas**® HIV-1 sur les **cobas**® 6800/8800 Systems entièrement automatisés. Les résultats de précision indiqués plus bas prennent donc en compte tous les aspects de la procédure de test. Les résultats sont présentés au Tableau 18 et au Tableau 19.

Le test **cobas**® HIV-1 a présenté une précision élevée pour trois lots de réactifs testés sur une plage de concentration de 1,00E+02 cp/mL à 1,00E+07 cp/mL avec un volume de prise d'essai d'échantillon de 500 µL et de 2,00E+02 cp/mL à 1,00E+07 cp/mL avec un volume de prise d'essai d'échantillon de 200 µL.

Tableau 18 Précision intra-laboratoire du test **cobas**® HIV-1 (échantillons de plasma EDTA - volume de prise d'essai de 500 µL)*

Concentration nominale (cp/mL)	Concentration attribuée (cp/mL)	Matériel source	Plasma EDTA			
			Lot n° 1	Lot n° 2	Lot n° 3	Tous les lots
			DS	DS	DS	DS globale
1,00E+07	8,67E+06	Culture de cellules	0,04	0,06	0,03	0,05
1,00E+06	8,67E+05	Culture de cellules	0,06	0,05	0,04	0,05
1,00E+05	8,67E+04	Culture de cellules	0,05	0,07	0,04	0,05
1,00E+04	8,67E+03	Culture de cellules	0,06	0,06	0,04	0,05
1,00E+03	8,67E+02	Culture de cellules	0,07	0,06	0,07	0,07
4,00E+02	3,47E+02	Culture de cellules	0,09	0,10	0,09	0,09
2,00E+02	1,73E+02	Culture de cellules	0,11	0,08	0,14	0,11
1,00E+02	8,67E+01	Culture de cellules	0,15	0,11	0,10	0,12

* Les données de titre sont considérées comme normalement réparties par log et sont analysées selon une transformation de log₁₀. Les colonnes d'écart-type (ET) présentent le total du titre après transformation de log pour chacun des trois lots de réactifs.

Tableau 19 Précision intra-laboratoire du test **cobas®** HIV-1 (échantillons de plasma EDTA - volume de prise d'essai de 200 µL)*

Concentration nominale (cp/mL)	Concentration attribuée (cp/mL)	Matériel source	Plasma EDTA			
			Lot n° 1	Lot n° 2	Lot n° 3	Tous les lots
			DS	DS	DS	DS globale
1,00E+07	8,67E+06	Virus en culture	0,04	0,05	0,04	0,04
1,00E+06	8,67E+05	Virus en culture	0,07	0,05	0,05	0,06
1,00E+05	8,67E+04	Virus en culture	0,07	0,07	0,06	0,07
1,00E+04	8,67E+03	Virus en culture	0,08	0,08	0,06	0,08
1,00E+03	8,67E+02	Virus en culture	0,12	0,12	0,08	0,11
4,00E+02	3,47E+02	Virus en culture	0,11	0,13	0,09	0,11
2,00E+02	1,73E+02	Virus en culture	0,20	0,12	0,15	0,16

* Les données de titre sont considérées comme normalement réparties par log et sont analysées selon une transformation de log₁₀. Les colonnes d'écart-type (ET) présentent le total du titre après transformation de log pour chacun des trois lots de réactifs.

Vérification de sous-type

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

- Vérification de la limite de détection pour les sous-types du groupe M, le groupe O et le groupe N
- Vérification de la linéarité pour les sous-types du groupe M, le groupe O et le groupe N
- Attribution de titre à l'aide du test **cobas®** HIV-1

Vérification de la limite de détection pour les sous-types du groupe M, le groupe O et le groupe N

Les échantillons de VIH-1 en culture pour VIH-1M (A, C, D, F, G, H, CRF01_AE, CRF02_AG), VIH-1O, VIH-1N ont été dilués à trois niveaux de concentration différents dans du plasma EDTA. Le taux de succès a été déterminé avec 63 réplicats pour chaque niveau. Les tests ont été effectués avec 1 lot de réactifs du test **cobas®** HIV-1. Les résultats obtenus avec 500 µL de plasma EDTA sont indiqués au Tableau 20. Ces résultats confirment que le test **cobas®** HIV-1 a détecté le VIH pour VIH-1M (A, C, D, F, G, H, CRF01_AE, CRF02_AG), VIH-1O et VIH-1N à la concentration déclarée de 20 cp/mL ou moins avec un intervalle de confiance à 95 % supérieur unilatéral, supérieur ou égal au taux de succès attendu de 95 %.

Tableau 20 Vérification de la limite de détection pour les sous-types du groupe M, le groupe O et le groupe N de VIH-1 dans 500 µL de plasma EDTA

Groupe	Sous-type	10 cp/mL			20 cp/mL			40 cp/mL		
		Nb de réplicats valides	Nb de positifs	Taux de succès en % (IC à 95 %*)	Nb de réplicats valides	Nb de positifs	Taux de succès en % (IC à 95 %*)	Nb de réplicats valides	Nb de positifs	Taux de succès en % (IC à 95 %*)
M	A	63	59	93,7 % (97,8%)	63	63	100 % (100 %)	63	63	100 % (100 %)
	C	63	51	81,0 % (88,6 %)	63	61	96,8 % (99,4 %)	63	63	100 % (100 %)
	D	63	48	76,2 % (84,7 %)	62	60	96,8 % (99,4 %)	63	63	100 % (100 %)
	F	63	59	93,7 % (97,8%)	63	63	100 % (100 %)	63	63	100 % (100 %)
	G	63	54	85,7 % (92,3 %)	63	63	100 % (100 %)	63	63	100 % (100 %)
	H	63	52	82,5 % (89,9 %)	63	63	100 % (100 %)	63	63	100 % (100 %)
	CRF01_AE	63	52	82,5 % (89,9 %)	63	62	98,4 % (99,9 %)	63	63	100 % (100 %)
	CRF02_AG	63	56	88,9 % (94,7 %)	63	62	98,4 % (99,9 %)	63	63	100 % (100 %)
	O	63	49	77,8 % (86,0 %)	63	57	90,5 % (95,8 %)	63	63	100 % (100 %)
	N	63	57	90,5 % (95,8 %)	63	63	100 % (100 %)	63	63	100 % (100 %)

* Intervalle de confiance à 95 % unilatéral supérieur

De la même manière, la limite de détection a été vérifiée pour les 10 sous-types testés avec un volume d'entrée de 200 µL. Les données sont résumées au Tableau 21. Ces résultats confirment que le test **cobas®** HIV-1 a détecté l'ARN du VIH pour VIH-1M (A, C, D, F, G, H, CRF01_AE, CRF02_AG) et VIH-1N à la concentration déclarée de 50 cp/mL ou moins avec un intervalle de confiance à 95 % supérieur unilatéral, supérieur ou égal au taux de succès attendu de 95 %. VIH-1O a été vérifié à 100 cp/mL.

Tableau 21 Vérification de la limite de détection pour les sous-types du groupe M, le groupe O et le groupe N de VIH-1 dans 200 µL de plasma EDTA

Groupe	Sous-type	25 cp/mL			50 cp/mL			100 cp/mL		
		Nb de réplicats valides	Nb de positifs	Taux de succès en % (IC à 95 %*)	Nb de réplicats valides	Nb de positifs	Taux de succès en % (IC à 95 %*)	Nb de réplicats valides	Nb de positifs	Taux de succès en % (IC à 95 %*)
M	A	63	54	85,7 % (92,3 %)	63	60	95,2 % (98,7 %)	63	63	100 % (100 %)
	C	63	50	79,4 % (87,3 %)	63	62	98,4 % (99,9 %)	63	63	100 % (100 %)
	D	63	51	81,0 % (88,6 %)	63	63	100 % (100 %)	63	63	100 % (100 %)
	F	63	56	88,9 % (94,7 %)	63	62	98,4 % (99,9 %)	63	63	100 % (100 %)
	G	63	52	82,5 % (89,9 %)	63	62	98,4 % (99,9 %)	63	63	100 % (100 %)
	H	63	61	96,8 % (99,4 %)	63	63	100 % (100 %)	63	63	100 % (100 %)
	CRF01_AE	63	53	84,1 % (91,1 %)	63	57	90,5 % (95,8 %)	63	63	100 % (100 %)
	CRF02_AG	63	49	77,8 % (86,0 %)	63	63	100 % (100 %)	63	63	100 % (100 %)
		63	44	69,8 % (79,3 %)	63	56	88,9 % (94,7 %)	63	63	100 % (100 %)
O		63	55	87,3 % (93,5 %)	63	63	100 % (100 %)	63	63	100 % (100 %)
N										

* Intervalle de confiance à 95 % unilatéral supérieur

Vérification du domaine de linéarité pour les sous-types du groupe M, le groupe O et le groupe N

Les séries de dilutions utilisées dans la vérification de l'étude de linéarité des sous-types du test **cobas**® HIV-1 sont constituées de sept membres de panel (volume de prise d'essai d'échantillon de 500 µL) et de six membres de panel (volume de prise d'essai d'échantillon de 200 µL) couvrant le domaine de linéarité. Les membres de panel ont été préparés à partir d'échantillons de surnageants de culture de cellules positives pour l'ARN du VIH-1 de titre élevé du sous-type respectif. Les tests ont été effectués avec deux lots de réactifs du test **cobas**® HIV-1 ; 14 réplicats par niveau ont été testés dans du plasma EDTA.

Le domaine de linéarité du test **cobas**® HIV-1 a été vérifié pour les sous-types du groupe M, le groupe O et le groupe N. La déviation maximale entre la régression linéaire et la régression non linéaire de meilleur ajustement était inférieure ou égale à 0,2 log₁₀.

Spécificité

La spécificité du test **cobas**® HIV-1 a été déterminée en analysant des échantillons de plasma EDTA négatifs pour VIH issus de donneurs individuels. Six cents échantillons de plasma EDTA individuels ont été testés avec deux lots de réactifs du test **cobas**® HIV-1. Tous les échantillons se sont révélés négatifs pour l'ARN du VIH-1. Dans le panel de test, la spécificité du test **cobas**® HIV-1 était de 100 % (limite de confiance à 95 % : ≥ 99,5 %).

Spécificité analytique

La spécificité analytique du test **cobas®** HIV-1 a été évaluée en diluant un panel de micro-organismes avec du plasma EDTA positif pour l'ARN du VIH et du plasma EDTA négatif pour l'ARN du VIH. Les micro-organismes ont été ajoutés à du plasma humain EDTA négatif et testés avec et sans ARN du VIH. Aucun des agents pathogènes non VIH n'a provoqué d'interférence avec les performances du test. Des résultats négatifs ont été obtenus avec le test **cobas®** HIV-1 sur tous les échantillons de micro-organismes sans cible VIH-1 et des résultats positifs ont été obtenus sur tous les échantillons de micro-organismes avec cible VIH-1. Le titre moyen $\log_{10}$ de chacun des échantillons positifs pour le VIH-1 contenant des organismes pouvant provoquer une réaction croisée était compris dans un intervalle de $\pm 0,3 \log_{10}$ du titre moyen $\log_{10}$ du contrôle dopé positif respectif.

Tableau 22 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 la méningo-encéphalite (souche HYPR)		
Virus de l'hépatite D	Virus influenza 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		

Spécificité analytique - substances interférentes

Des niveaux élevés de triglycérides (jusqu'à 34,5 g/L), de bilirubine conjuguée (0,25 g/L), de bilirubine non conjuguée (0,25 g/L), d'albumine (58,7 g/L), d'hémoglobine (2,9 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.

De plus, les composés médicamenteux répertoriés au Tableau 23 ont été testés à trois fois la $C_{\max}$ en présence et en l'absence d'ARN du VIH.

Aucune substance potentiellement interférente n'affecte les performances du test. Des résultats négatifs ont été obtenus avec le test **cobas®** HIV-1 sur tous les échantillons sans cible VIH et des résultats positifs ont été obtenus sur tous les échantillons avec cible VIH-1. Le titre moyen $\log_{10}$ de chacun des échantillons positifs pour le VIH-1 contenant des substances potentiellement interférentes était compris dans un intervalle de $\pm 0,3 \log_{10}$ du titre moyen $\log_{10}$ du contrôle dopé positif respectif.

Tableau 23 Composés médicamenteux dont l'interférence avec la quantification de l'ARN du VIH par le test **cobas® HIV-1**

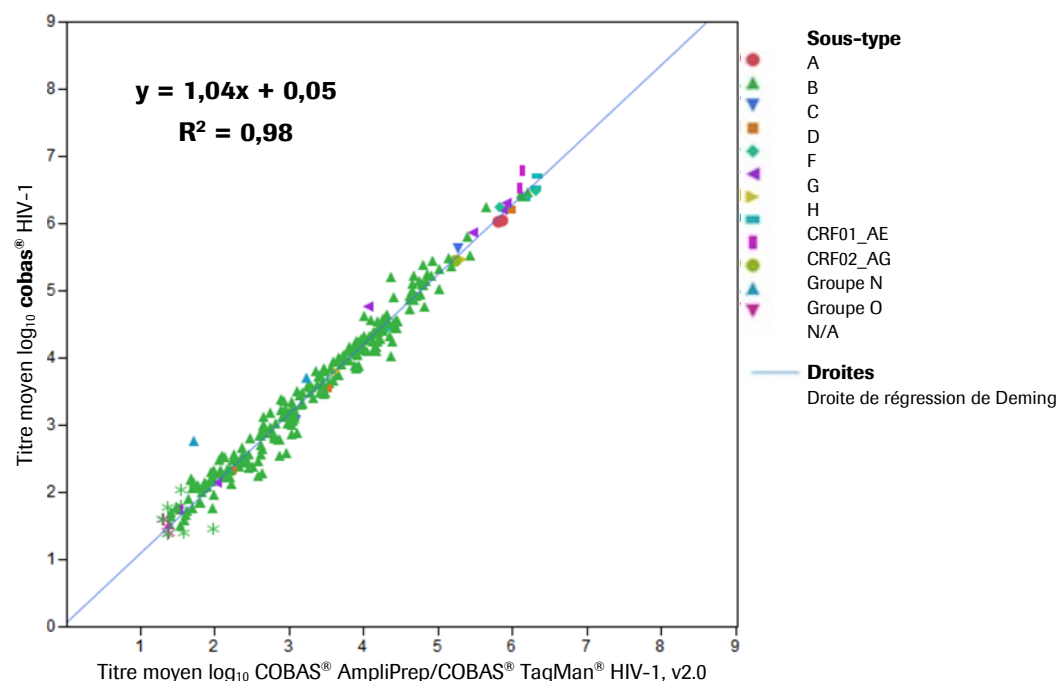
Catégorie de médicament	Nom du médicament générique	
Modulateurs de l'immunité	Peginterféron α -2a	Peginterféron α -2b
	Ribavirine	
Inhibiteur d'entrée du VIH	Maraviroc	
Inhibiteurs de l'intégrase du VIH	Elvitegravir/Cobicistat	Raltegravir
Inhibiteurs non nucléosidiques de la transcriptase inverse du VIH	Éfavirenz	Névirapine
	Étravirine	Rilpivirine
Inhibiteurs de la protéase du HIV	Atazanavir	Lopinavir
	Tipranavir	Nelfinavir
	Darunavir	Ritonavir
	Fosamprenavir	Saquinavir
Inhibiteurs de la protéase du VHC	Boceprevir	Telaprevir
	Simeprevir	
Inhibiteurs de la transcriptase inverse ou de l'ADN polymérase	Abacavir	Tenofovir
	Emtricitabine	Adefovir dipivoxil
	Entecavir	Telbivudine
	Foscarnet	Zidovudine
	Cidofovir	Aciclovir
	Lamivudine	Valganciclovir
	Ganciclovir	Sofosbuvir
Composés pour le traitement des infections opportunistes	Azithromycin	Pyrazinamide
	Clarithromycin	Rifabutine
	Ethambutol	Rifampicine
	Fluconazole	Sulfaméthoxazole
	Isoniazide	Triméthoprim

Corrélation de méthodes - Performances comparées au test COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HIV-1, v2.0

Les performances du test **cobas® HIV-1** et du test **COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HIV-1, v2.0** (test **TaqMan® HIV-1, v2.0**) ont été comparées par analyse de 251 échantillons de plasma EDTA issus de patients infectés au VIH-1 et par analyse de 16 surnageants dilués de culture de cellules. Les échantillons comprenaient notamment des échantillons de VIH-1M (A–D, F–H, CRF01_AE, CRF02_AG), VIH-1O et VIH-1N. Ils ont été testés en duplicats sur un site externe. Les titres inférieurs au domaine de quantification (< 20 cp/mL) ont été générés pour l'un des deux répliquats pour cinq échantillons sur le **COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® System** et sur les **cobas® 6800/8800 Systems**, et pour cinq échantillons sur le **COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® System** uniquement. Un échantillon sur le **COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan®** a généré un aliquot valide uniquement. Les titres inférieurs au domaine de quantification ont été exclus de l'analyse. La régression de Deming a été effectuée en tenant compte des titres après transformation de log. Pour les échantillons où les deux répliquats se trouvaient dans le domaine de quantification, le titre moyen $\log_{10}$ a été utilisé pour l'analyse.

Les résultats de la régression de Deming sont indiqués dans la Figure 18. Le symbole * dans la Figure 18 indique une détermination unique.

Figure 18 Analyse de régression comparative du test **cobas**® HIV-1 et du test TaqMan® HIV-1, v2.0 ; échantillons de plasma EDTA



Échec complet du système

Le taux d'échec complet du système pour le test **cobas**® HIV-1 a été déterminé en testant 100 répliquats de plasma EDTA dopés avec le VIH-1, groupe M, sous-type B. Ces échantillons ont été testés à une concentration cible d'environ 3 × la limite de détection (LoD).

D'après les résultats de cette étude, tous les répliquats étaient valides et positifs pour la cible VIH-1. Le taux d'échec complet du système est donc de 0 %. L'intervalle de confiance bilatéral exact à 95 % était de 0 % pour la limite inférieure et de 3,6 % pour la limite supérieure [0 % : 3,6 %].

Contamination croisée

Le taux de contamination croisée pour le test **cobas**® HIV-1 a été déterminé en testant 240 répliquats d'un échantillon de plasma humain EDTA négatif pour le VIH et 225 répliquats d'un échantillon de VIH-1 de titre élevé à 4,00E+06 cp/mL. L'étude a été réalisée à l'aide du **cobas**® 6800 System. 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 négatifs, soit un taux de contamination croisée de 0 %. L'intervalle de confiance bilatéral exact à 95 % était de 0 % pour la limite inférieure et de 1,5 % pour la limite supérieure [0 % : 1,5 %].

Principales caractéristiques de performance pour les échantillons de spots de plasma séché sur PSC

Limite de détection (LoD) à l'aide d'échantillons de plasma séché sur PSC

La limite de détection dans le plasma du test **cobas® HIV-1** en association avec la PSC a été déterminée en analysant des titres plasmatiques attribués à des dilutions en série de surnageant de culture de cellules de VIH-1 du groupe M dans du sang total humain négatif pour le VIH. Des panels de cinq niveaux de concentration plus un niveau de concentration négatif ont été testés sur trois lots de PSC et trois lots de réactifs du test **cobas® HIV-1**, lors de plusieurs runs, pendant plusieurs jours, par plusieurs opérateurs et sur plusieurs instruments. Les échantillons du membre le plus élevé ont été centrifugés et un titre a été attribué au plasma par la méthode d'encadrement de calibrateurs (*Calibrator Bracketing Method*, CBM) en utilisant le test **cobas® HIV-1** avec le 3^e standard international de l'OMS pour le VIH-1, VIH-1 groupe M, sous-type B, pour la préparation des calibrateurs supérieur et inférieur.

Les résultats combinés des trois lots de PSC, des donneurs négatifs et des séries de dilution avec les attributions individuelles de titres plasmatiques (CBM) sont présentés dans le Tableau 24. L'étude montre que le test **cobas® HIV-1** en association avec la PSC a détecté l'ARN du VIH-1 à une concentration de 790,2 cp/mL avec un taux de succès de 95 % tel que déterminé par l'analyse Probit.

Tableau 24 Limite de détection en association avec la PSC

Concentration de titre plasmatique attribué (ARN du VIH-1 : cp/mL)	Nb de réplicats valides	Nb de positifs	Taux de succès en %
1971,1	62	62	100,00
1925,3	63	63	100,00
1358,1	62	62	100,00
985,5	63	62	98,41
962,6	63	62	98,41
679	63	59	93,65
657	63	59	93,65
641,8	63	57	90,48
452,7	63	52	82,54
328,5	63	47	74,60
320,9	63	46	73,02
226,3	62	49	79,03
164,3	63	36	57,14
160,4	63	35	55,56
113,2	63	38	60,32
0	189	0	0,00
Limite de détection à un taux de succès de 95 % par PROBIT	790,2 cp/mL ; intervalle de confiance à 95 % : 658,9-1003,6 cp/mL 1317 UI/mL ; intervalle de confiance à 95 % : 1098,2-1672,7 UI/mL		

Estimation de la LoD dans le sang total

Les titres correspondants dans le sang total du même échantillon ne peuvent pas être déterminés avec exactitude dans la mesure où le sang total n'est pas un type d'échantillon utilisé pour la mesure de la charge virale. Les titres de sang total basés sur la quantité d'ARN du HIV-1 ajoutée dans des échantillons de sang total n'ont pas été utilisés pour estimer la LoD car la quantité d'ARN ajoutée ne correspond pas nécessairement à la quantité d'ARN dans le plasma. Même après centrifugation, l'ARN peut rester dans la couche leuco-plaquettaire ou associée à la fraction cellulaire du sang total. Néanmoins, comme les titres dans le sang total dopé ont été utilisés pour estimer la limite de détection dans le sang total d'autres technologies telles que les spots de sang séché, une estimation de la LoD dans le sang total PSC peut être obtenue en se fondant sur un facteur empirique que l'on suppose lié à la teneur moyenne en hématocrite (45 %) des échantillons (Tableau 25).

Les valeurs de la LoD dans le sang total correspondent à des estimations basées sur l'hypothèse suivante :

Estimation de la LoD dans le sang total = LoD dans le plasma PSC ÷ 1,8

Tableau 25 Estimation de la LoD dans le sang total

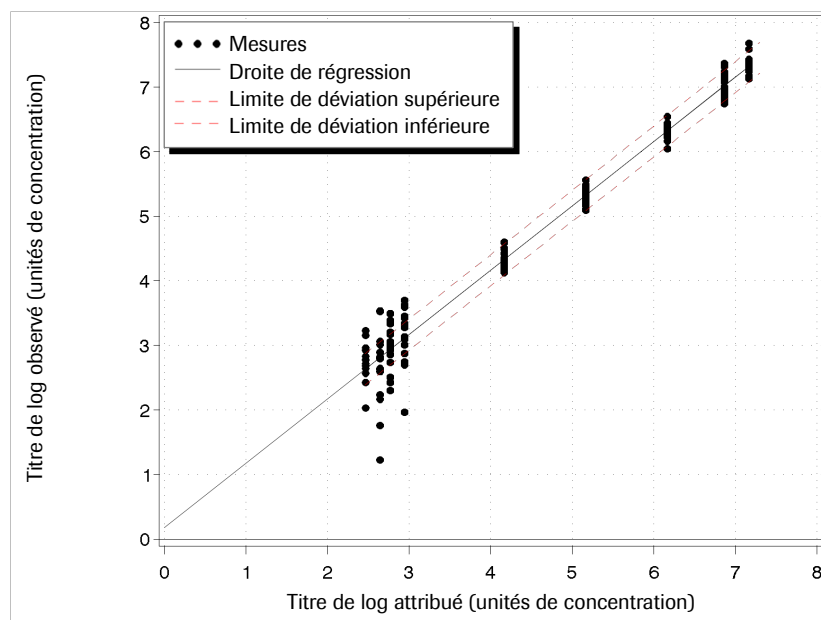
Limite de détection par analyse PROBIT (taux de succès de 95 %)	439,0 cp/mL
Intervalle de confiance à 95 %	366,1-557,6 cp/mL

Domaine de linéarité à l'aide de la PSC

L'étude de linéarité du test **cobas**® HIV-1 en association avec la PSC a été effectuée avec une série de dilutions constituée de 9 membres de panel couvrant le domaine de linéarité pour le VIH-1, groupe M, sous-type B, prédominant. Les membres de panel ont été préparés à partir d'un échantillon de surnageants de culture de cellules positives pour l'ARN du VIH-1 de titre élevé. L'évaluation a été effectuée conformément à la directive CLSI EP06-A.²⁰ Deux lots de PSC et deux lots de réactifs ont été analysés sur deux **cobas**® 6800/8800 Systems, par trois opérateurs, sur un total de 20 réplicats par membre de panel et par lot de réactifs/PSC.

Les échantillons d'un membre du panel ont été centrifugés et un titre a été attribué au plasma par la méthode d'encadrement de calibrateurs (calibrator bracketing method, CBM) en utilisant le test **cobas**® HIV-1 avec le 3^e standard international de l'OMS pour le VIH-1, VIH-1 groupe M, sous-type B, pour la préparation des calibrateurs supérieur et inférieur.

En association avec la PSC, le test **cobas**® HIV-1 est linéaire de 790 cp/mL à 1,00E+07 cp/mL et présente une déviation absolue par rapport à la régression non linéaire de meilleur ajustement de moins de ±0,24 log₁₀ avec la PSC (voir Figure 19). Dans le domaine de linéarité, l'exactitude du test se situait à ±0,3 log₁₀ par rapport à l'ajustement de la régression linéaire.

Figure 19 Détermination du domaine de linéarité en utilisant la PSC

Précision - intra-laboratoire en utilisant la PSC

La précision du test **cobas**® HIV-1 en association avec la PSC a été déterminée en analysant des dilutions en série d'un échantillon fortement positif pour le VIH-1 (échantillon de surnageants de culture de cellules positives pour l'ARN du VIH-1 de titre élevé) dans du sang total EDTA négatif pour le VIH. Cinq niveaux de dilution ont été testés en 48 réplicats pour chaque niveau et volume de prise d'essai sur deux lots de PSC et deux lots de réactifs du test **cobas**® HIV-1 par deux opérateurs, sur deux instruments, pendant 12 jours. Chaque échantillon a subi la procédure entière de travail de la PSC et la procédure complète du test **cobas**® HIV-1 sur les **cobas**® 6800/8800 Systems entièrement automatisés. Les résultats de précision indiqués plus bas prennent donc en compte tous les aspects de la procédure de test. Les résultats sont présentés dans le Tableau 26.

Le test **cobas**® HIV-1 en association avec la PSC a obtenu une précision élevée pour les deux lots de PSC et de réactifs testés sur une plage de concentration de 2,00E+03 cp/mL à 1,00E+07 cp/mL.

Tableau 26 Précision intra-laboratoire du test **cobas**® HIV-1 en association avec la PSC

Concentration mesurée (cp/mL dans le plasma EDTA centrifugé)	Matériel source	DS globale
1,02E+07	Culture de cellules	0,08
9,12E+05	Culture de cellules	0,08
8,32E+04	Culture de cellules	0,09
7,94E+03	Culture de cellules	0,13
2,00E+03	Culture de cellules	0,23

Vérification des sous-types en utilisant la PSC

Bien que le sous-type de VIH ne soit pas supposé altérer la performance de la PSC, des échantillons de VIH-1 mis en culture pour les sous-types communs VIH-1M (A, C et D) ont été dilués à un niveau de concentration dans du sang total. L'exactitude et la précision ont été déterminées en utilisant 12 réplicats par échantillon. Les tests ont été effectués avec 1 lot de PSC et 1 lot de réactifs du test **cobas**® HIV-1.

Chaque échantillon de sang total a été centrifugé et un titre a été attribué au plasma par la méthode d'encadrement de calibrateurs (calibrator bracketing method, CBM) en utilisant le test **cobas**® HIV-1 avec le 3ème standard international de l'OMS pour le VIH-1, VIH-1 groupe M, sous-type B, pour la préparation des calibrateurs supérieur et inférieur.

Les résultats sont présentés dans le Tableau 27. Ces résultats confirment que le test **cobas**® HIV-1 en association avec la PSC a détecté et quantifié correctement les sous-types A, C et D de VIH-1M.

Tableau 27 Vérification des sous-types A, C et D du VIH-1 groupe M

Sous-type du groupe M du HIV-1	Nb de réplicats valides	Exactitude	Précision	Équivalence plasma et plasma séché sur PSC
Sous-type A	12	-0,13	0,14	-0,20
Sous-type C	12	-0,08	0,12	-0,10
Sous-type D	12	-0,04	0,11	-0,10

Spécificité en utilisant la PSC

La spécificité du test **cobas**® HIV-1 en association avec la PSC a été déterminée en analysant des échantillons de sang total EDTA négatifs pour le VIH issus de donneurs individuels. Au total, 159 échantillons de sang total EDTA individuels ont été testés avec deux lots de PSC et deux lots de réactifs **cobas**® HIV-1. Tous les échantillons se sont révélés négatifs pour l'ARN du VIH-1. Dans le panel de test, la spécificité du test **cobas**® HIV-1 était de 100 % (limite de confiance à 95 % : $\geq 98,13$ %).

Échec complet du système en utilisant la PSC

Le taux d'échec complet du système pour le test **cobas**® HIV-1 en association avec la PSC a été déterminé en testant 100 réplicats de sang total EDTA dopés avec le VIH-1, groupe M, sous-type B. Ces échantillons ont été testés à une concentration cible d'environ $3 \times$ la limite de détection (LoD).

D'après les résultats de cette étude, tous les réplicats étaient valides et positifs pour la cible VIH-1. Le taux d'échec complet du système est donc de 0 %.

Performance des échantillons de spots de plasma séché sur PSC comparée à celle des échantillons de plasma

La performance des échantillons de spots de plasma séché sur PSC a été comparée à celle d'échantillons de plasma EDTA centrifugés en analysant 132 échantillons issus de patients infectés par le VIH-1 (PP = prélèvement prospectif, CV = test de charge virale, CD = échantillons restants de comptes de CD4). Un réplicat de chaque échantillon (spot de plasma séché sur PSC et plasma EDTA) a été testé sur un site externe. Les titres inférieurs au domaine de quantification ont été exclus de l'analyse. La régression de Deming a été effectuée en tenant compte des titres après transformation de log.

Les résultats de la régression de Deming sont indiqués dans la Figure 20. Les symboles * et • à la Figure 20 indiquent des déterminations uniques.

Figure 20 Régression de Deming

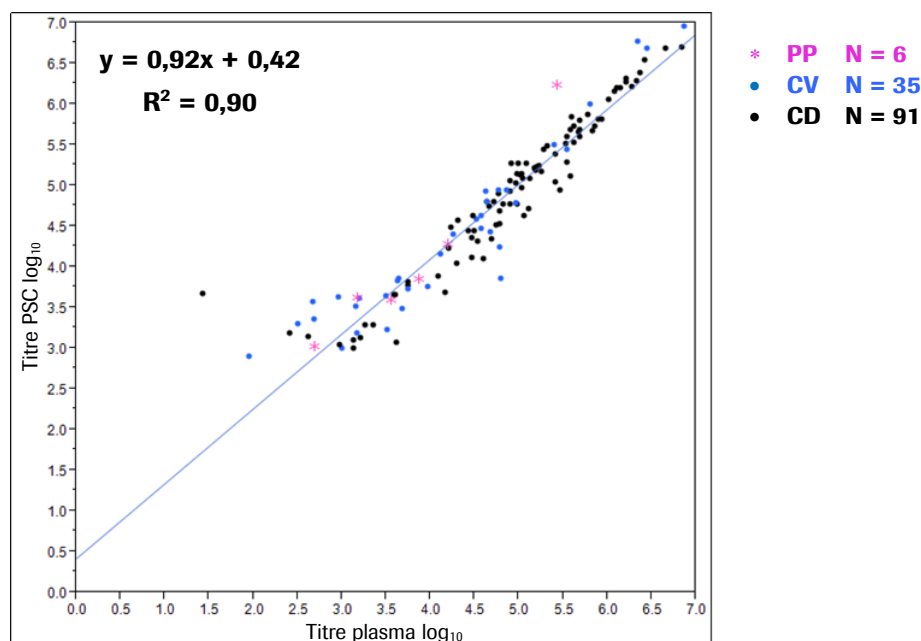


Tableau 28 Résumé des données statistiques

Équivalence de la matrice (type de plasma)	Nombre d'échantillons avec un titre valide	Analyse de Bland-Altman		Analyse de régression de Deming		
		Log ₁₀ de différence moyenne	IC à 95 % [inférieur/supérieur]	Pente	Ordonnée à l'origine	R-carré
PSC contre plasma liquide	132	0,05	[-0,01 ; 0,11]	0,92	0,42	0,90

Évaluation des performances cliniques

Reproductibilité

La reproductibilité du test **cobas® HIV-1** a été évaluée dans du plasma EDTA avec un volume de prise d'essai d'échantillon de 500 µL sur le **cobas® 6800 System**. L'étude a été menée sur des panels constitués d'un stock viral en culture bien caractérisé HIV-1 groupe M, sous-type B et de plasma EDTA négatif à l'ARN du HIV-1 et aux anticorps HIV-1/2. Le panel de 8 membres incluait un membre de panel négatif et 7 membres de panel positifs couvrant le domaine de linéarité du test **cobas® HIV-1** ainsi que les principaux points de décision médicale pour l'usage prévu, décrits par les Directives de 2015 du ministère américain de la santé et des services aux personnes (Department of Health and Human Services) pour l'utilisation d'agents antirétroviraux chez les adultes et adolescents infectés par le VIH-1.³ Les tests ont été réalisés avec trois réactifs, sur trois sites, avec deux opérateurs par site, à raison de deux runs par jour, 6 jours de test par lot de réactifs et trois réplicats par run. La reproductibilité a été évaluée à l'aide d'un modèle à effets aléatoires incluant lot, site, opérateur, jour, run et intra-run. Tableau 29 indique la variance totale, les ET de précision totale et les CV log-normal pour le test **cobas® HIV-1** comme déterminé par l'analyse de la variance. Le composant intra-run a davantage contribué à la variabilité que la majorité des autres membres de panel.

Tableau 29 Pourcentage attribuable de la variance totale, écart-type de précision totale et CV log-normal de quantification de l'ARN du VIH par membre de panel positif sur le **cobas® 6800 System** (reproductibilité)

Concentration d'ARN du VIH (log ₁₀ copies/mL)		Nb de tests ^c	Pourcentage de variance totale (CV (%))						Variance totale CV (%) ^d
Attendue	Moyenne ^a (ET) ^b		Lot	Site	Opérateur	Jour	Run	Intra-run	
1,70	1,69 (0,191)	323	17 % (18,23)	0 % (0,00)	0 % (0,00)	1 % (3,42)	5 % (9,66)	78 % (40,32)	46,25
2,30	2,22 (0,116)	321	32 % (15,15)	0 % (0,00)	1 % (2,26)	4 % (5,60)	0 % (0,00)	63 % (21,55)	27,27
2,60	2,48 (0,102)	323	34 % (13,84)	4 % (4,85)	3 % (3,75)	0 % (0,00)	1 % (2,74)	58 % (17,99)	23,86
3,00	2,84 (0,092)	324	39 % (13,30)	0 % (0,00)	1 % (2,01)	0 % (0,00)	7 % (5,67)	52 % (15,37)	21,33
4,00	3,86 (0,081)	324	43 % (12,33)	1 % (1,94)	3 % (3,34)	10 % (5,82)	6 % (4,54)	37 % (11,39)	18,85
5,00	4,92 (0,084)	324	43 % (12,64)	0 % (0,00)	3 % (3,56)	6 % (4,65)	6 % (4,52)	42 % (12,60)	19,44
6,70	6,63 (0,087)	324	45 % (13,60)	0 % (0,00)	2 % (3,00)	3 % (3,42)	0 % (0,00)	50 % (14,23)	20,32

Remarque : ce tableau inclut uniquement les résultats présentant une charge virale détectable.

^a Calculée à l'aide de la procédure SAS MIXED sur la base de mesures transformées de log₁₀.

^b Calculé à l'aide de la variabilité totale à partir de la procédure SAS MIXED sur la base de mesures transformées de log₁₀.

^c Nombre de tests valides avec charge virale détectable.

^d Modèle de log-normal utilisé pour le CV (%) = $\frac{\text{rac}(10^{[ET^2 \times \ln(10)]} - 1)}{10^{[ET^2 \times \ln(10)]}} \times 100$.

CV (%) = pourcentage de coefficient de variation ; VIH = virus de l'immunodéficience humaine ; Nb = nombre ; ARN = acide ribonucléique ; ET = écart-type ; rac = racine carrée.

Dans le Tableau 30 ci-dessous, le pourcentage de corrélation négative (PCN) pour le **cobas®** 6800 System à l'aide de tous les tests valides de membre de panel négatif était de 100 %.

Tableau 30 Pourcentage de corrélation négative à l'aide du membre de panel négatif

Concentration d'ARN de VIH attendue	Nb de tests	Résultats positifs	Résultats négatifs	Pourcentage de corrélation négative ^a	IC à 95 % ^b
Négatif	322	0	322	100,00	(98,86, 100,00)

^a PCN = (nombre de résultats négatifs ÷ nombre total de tests valides dans le membre de panel négatif) × 100.

^b Calculé à l'aide de la méthode d'intervalle de confiance binomial exact de Clopper-Pearson.

CI = intervalle de confiance ; VIH = virus de l'immunodéficience humaine ; Nb = nombre ; PCN = pourcentage de corrélation négative ; ARN = acide ribonucléique.

Validation de la quantification de charge virale

Les performances du test **cobas®** HIV-1 sur le **cobas®** 6800 System ont été comparées à celles du test COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HIV-1 v2.0 (TaqMan® HIV-1 Test, v2.0) approuvé par la FDA en analysant des échantillons de plasma EDTA appariés issus de 410 sujets présentant des charges virales de VIH-1 couvrant le domaine de linéarité des deux tests. Les caractéristiques démographiques des sujets sont présentées au Tableau 31.

Tableau 31 Résumé des caractéristiques démographiques

Caractéristiques démographiques	Statistiques
	(N = 410)
Âge (ans)	
Moyenne (ET)	41,8 (11)
Médiane	43
Intervalle	19-72
Sexe, n (%)	
Homme	321 (78,3 %)
Femme	89 (21,7 %)
Race, n (%)	
Asiatique	5 (1,2 %)
Noirs	163 (39,8 %)
Latino-américaine	17 (4,1 %)
Blanche	94 (22,9 %)
Autre	91 (22,2 %)
Inconnu	40 (9,8 %)
Ethnicité, n (%)	
Hispaniques	101 (24,6 %)
Non-Hispaniques	231 (56,3 %)
Inconnu	78 (19,0 %)
Traitement antiviral, n (%)	
Oui	208 (50,7 %)
Non	137 (33,4 %)
Inconnu	65 (15,9 %)
Compte de cellules CD4 (cellules/μL), n (%)	
N	391
Moyenne (ET)	438,1 (267,7)
Médiane	401
Intervalle	0-1548

ET = écart-type.

Sur 410 échantillons appariés testés, 305 échantillons appariés présentaient des mesures de charge virale se trouvant dans le domaine de linéarité des deux tests. Tableau 32 indique la différence moyenne appariée de charge virale entre le test cobas® HIV-1 et le test TaqMan® HIV-1, v2.0.

Tableau 32 Moyenne de différence appariée de charge virale entre le test cobas® HIV-1 et le test TaqMan® HIV-1, v2.0

Nombre d'échantillons appariés	Moyenne de différence appariée ($\log_{10}$ copies/mL)	Erreur standard pour moyenne de différence appariée	IC à 95 % pour moyenne de différence appariée
305	0,112	0,013	(0,086, 0,137)

IC = intervalle de confiance.

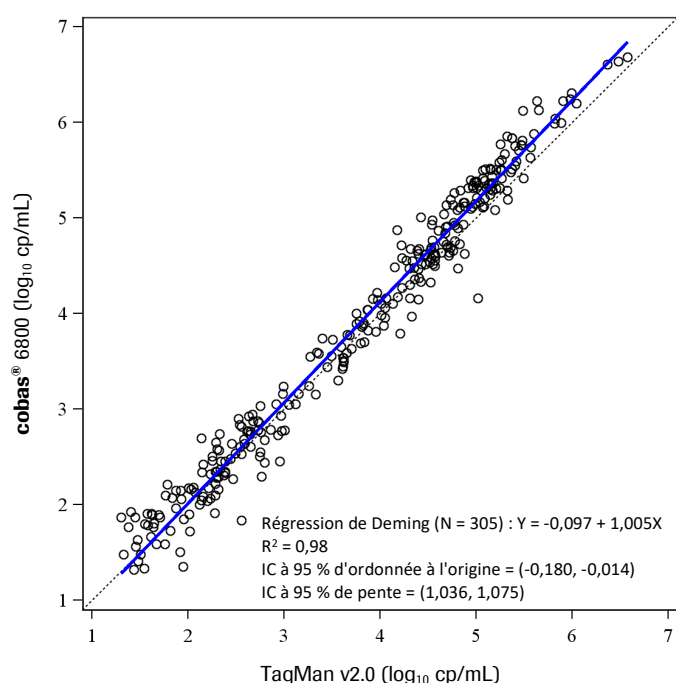
Les résultats d'analyse de régression de Deming entre le test **cobas**® HIV-1 et le test TaqMan® HIV-1, v2.0 sont indiqués au Tableau 33 et représentés graphiquement à la Figure 21. La ligne en pointillés indique une corrélation parfaite entre les deux méthodes de test.

Tableau 33 Estimations de paramètres d'analyse de régression de Deming entre le test **cobas**® HIV-1 sur le **cobas**® 6800 System et le test TaqMan® HIV-1, v2.0

Nombre d'échantillons appariés = 305				
Paramètre	Estimation de paramètres (log ₁₀ copies/mL)	Erreur standard	IC à 95 %	R ²
Ordonnée à l'origine	-0,097	0,042	(-0,180, -0,014)	0,98
Pente	1,055	0,010	(1,036, 1,075)	

IC = intervalle de confiance.

Figure 21 Analyse de régression de Deming entre le test **cobas**® HIV-1 sur le **cobas**® 6800 System et le test TaqMan® HIV-1, v2.0



Des sous-ensembles d'échantillons appariés ont également été testés pour comparer les résultats du test **cobas**® HIV-1 à l'aide de volumes de prise d'essai d'échantillon de 200 µL et de 500 µL à la fois sur les **cobas**® 6800 et **cobas**® 8800 Systems. Toutes les comparaisons ont montré une moyenne de différence appariée de moins de 0,095 log₁₀ copies/mL.

Concernant la comparaison entre volumes d'échantillon, le Tableau 34 indique la moyenne de différence appariée entre les résultats du test **cobas**® HIV-1 à l'aide des volumes de prise d'essai d'échantillon de 200 µL et de 500 µL sur le **cobas**® 6800 System.

Tableau 34 Moyenne de différence appariée de charge virale entre les volumes de prise d'essai d'échantillon de 200 µL et de 500 µL sur le **cobas**® 6800 System

Nombre d'échantillons appariés	Moyenne de différence appariée (log ₁₀ copies/mL)	Erreur standard pour moyenne de différence appariée	IC à 95 % pour moyenne de différence appariée
111	0,094	0,014	(0,067, 0,121)

IC = intervalle de confiance.

Tableau 35 indique la moyenne de différence appariée entre les résultats du test **cobas**® HIV-1 à l'aide des volumes de prise d'essai d'échantillon de 200 µL et de 500 µL sur le **cobas**® 8800 System.

Tableau 35 Moyenne de différence appariée de charge virale entre les volumes de prise d'essai d'échantillon de 200 µL et de 500 µL sur le **cobas**® 8800 System

Nombre d'échantillons appariés	Moyenne de différence appariée (log ₁₀ copies/mL)	Erreur standard pour moyenne de différence appariée	IC à 95 % pour moyenne de différence appariée
111	0,080	0,012	(0,056, 0,105)

IC = intervalle de confiance.

Concernant la comparaison entre les systèmes, le Tableau 36 indique la moyenne de différence appariée entre les résultats du test **cobas**® HIV-1 sur le **cobas**® 6800 System et le **cobas**® 8800 System avec un volume de prise d'essai d'échantillon de 200 µL.

Tableau 36 Moyenne de différence appariée de charge virale entre le **cobas**® 6800 System et le **cobas**® 8800 System à l'aide de 200 µL de volume de prise d'essai d'échantillon

Nombre d'échantillons appariés	Moyenne de différence appariée (log ₁₀ copies/mL)	Erreur standard pour moyenne de différence appariée	IC à 95 % pour moyenne de différence appariée
109	0,011	0,013	(-0,014, 0,036)

IC = intervalle de confiance.

La Tableau 37 indique la moyenne de différence appariée entre les résultats du test **cobas**® HIV-1 sur le **cobas**® 6800 System et le **cobas**® 8800 System avec un volume de prise d'essai d'échantillon de 500 µL.

Tableau 37 Moyenne de différence appariée de charge virale entre le **cobas**® 6800 System et le **cobas**® 8800 System avec un volume de prise d'essai de 500 µL

Nombre d'échantillons appariés	Moyenne de différence appariée (log ₁₀ copies/mL)	Erreur standard pour moyenne de différence appariée	IC à 95 % pour moyenne de différence appariée
123	-0,001	0,012	(-0,024, 0,022)

IC = intervalle de confiance.

Un sous-ensemble d'échantillons appariés couvrant le domaine de linéarité du test a également été testé afin de comparer les résultats du test **cobas**® HIV-1 issus de tubes de préparation du plasma BD Vacutainer® PPT™ pour les méthodes de tests de diagnostic moléculaire et de tubes de plasma EDTA plasma tubes sans gel séparateur. La comparaison a été réalisée à l'aide du **cobas**® 6800 System. Les résultats sont présentés dans le Tableau 38.

Tableau 38 Moyenne de différence appariée de charge virale entre les tubes de préparation du plasma BD Vacutainer® PPT™ et les tubes de plasma EDTA

Nombre d'échantillons appariés	Moyenne de différence appariée (log ₁₀ copies/mL)	Erreur standard pour moyenne de différence appariée	IC à 95 % pour moyenne de différence appariée
42	0,026	0,027	(-0,029, 0,081)

IC = intervalle de confiance.

Évaluation clinique

L'utilisation du test **cobas**® HIV-1 dans la surveillance de sujets infectés par le VIH-1 sous traitement antirétroviral a été examinée en testant des échantillons de participants d'un essai clinique de phase III réalisé par Boehringer Ingelheim Pharmaceuticals, Inc. (BI), numéro d'identification d'essai BI 1100.1486 (essai VERxVE) avec un volume de prise d'essai d'échantillon de 500 µL sur le **cobas**® 6800 System. Les sujets étaient inclus s'ils présentaient un volume d'échantillon suffisant jusqu'à 144 semaines de suivi pour le test **cobas**® HIV-1 et n'avaient pas interrompu l'essai VERxVE en raison d'effets indésirables. Les résultats de charge virale après 24 et 48 semaines de traitement avec un seuil de 50 copies/mL et un seuil de 200 copies/mL ont été comparés à une définition virologique d'échec de traitement. L'échec virologique a été défini comme une charge virale supérieure ou égale à 50 copies/mL lors de la dernière visite du sujet suite à un minimum de 48 semaines de traitement.

Tableau 39 présente les caractéristiques démographiques des 355 sujets ayant participé à l'étude.

Tableau 39 Caractéristiques démographiques

Caractéristiques démographiques	Statistiques
	(N = 355)
Âge (ans)	
Moyenne (ET)	38 (9,3)
Médiane	38
Intervalle	19-68
Sexe, n (%)	
Homme	322 (90,7 %)
Femme	33 (9,3 %)
Race/ethnicité, n (%)	
Asiatique	5 (1,4 %)
Noire/Afro-américaine	45 (12,7 %)
Blanche/Caucasienne	303 (85,4 %)
Autre	2 (0,6 %)
Compte CD4 au dépistage (cellules/μL), n (%)	
50 à < 200	117 (33,0 %)
200 à < 350	209 (58,9 %)
350 à < 400	17 (4,8 %)
$\geq$ 400	9 (2,5 %)
Inconnu	3 (0,8 %)

ET = écart-type.

Les résultats de comparaisons utilisant les seuils de 50 copies/mL et de 200 copies/mL à 24 et 48 semaines de traitement avec un échec virologique sont présentés au Tableau 40 et au Tableau 41.

Les analyses du seuil virologique de 50 copies/mL avec échec virologique (à la semaine 24 et à la semaine 48) sont présentées au Tableau 40. À la semaine 24, la VPP était de 15,6 % (10/64, IC à 95 % : 7,8 %, 26,9 %), et, à la semaine 48, la VPP était de 25,7 % (9/35, IC à 95 % : 12,5 %, 43,3 %). À la semaine 24, la VPN était de 90,9 % (251/276, IC à 95 % : 86,9 %, 94,1 %), et, à la semaine 48, la VPN était de 91,1 % (285/313, IC à 95 % : 87,3 %, 94 %). À la semaine 24, le RC était de 1,86 (IC à 95 % : 0,75, 4,29), et n'était pas statistiquement significatif ($p = 0,191$). À la semaine 48, le RC était de 3,51 (IC à 95 % : 1,31, 8,71), et était statistiquement significatif ($p = 0,012$).

Tableau 40 Comparaison d'un seuil virologique de 50 copies/mL avec un échec virologique

Visite pendant traitement	Seuil virologique	Échec virologique ^a		Total
		Oui	Non	
Semaine 24	≥ 50 cp/mL	10	54	64
	< 50 cp/mL	25	251	276
	Total	35	305	340 ⁺
Semaine 48	≥ 50 cp/mL	9	26	35
	< 50 cp/mL	28	285	313
	Total	37	311	348 ⁺

⁺ Résultats valides obtenus par le test cobas® HIV-1.

^a L'échec virologique est classé comme correspondant à « Oui » si la charge virale d'un échantillon s'est avérée supérieure ou égale à 50 cp/mL à la semaine 144 ou lors de la dernière visite en l'absence d'une visite lors de la semaine 144. La dernière visite doit avoir eu lieu lors de la semaine 48 ou ultérieurement.

Lors d'une utilisation de seuils de 200 cp/mL pour définir l'échec virologique comme indiqué au Tableau 41, à la semaine 24, la VPP était de 22,2 % (2/9, IC à 95 % : 2,8 %, 60 %), et, à la semaine 48, la VPP était montée à 100 % (2/2, IC à 95 % : 15,8 %, 100 %). À la semaine 24, la VPN était de 90,0 % (298/331, IC à 95 % : 86,3 %, 93 %), et, à la semaine 48, la VPN était de 89,9 % (311/346, IC à 95 % : 86,2 %, 92,9 %). À la semaine 24, le RC était de 2,57 (IC à 95 % : 0,25, 14,27), et n'était pas statistiquement significatif (p = 0,469). À la semaine 48, le RC était de 20,76 (IC à 95 % : 2,46, non calculable), et était statistiquement significatif (p = 0,022).

Tableau 41 Comparaison d'un seuil virologique de 200 copies/mL avec un échec virologique

Visite pendant traitement	Seuil virologique	Échec virologique ^a		Total
		Oui	Non	
Semaine 24	≥ 200 cp/mL	2	7	9
	< 200 cp/mL	33	298	331
	Total	35	305	340 ⁺
Semaine 48	≥ 200 cp/mL	2	0	2
	< 200 cp/mL	35	311	346
	Total	37	311	348 ⁺

⁺ Résultats valides obtenus par le test cobas® HIV-1.

^a L'échec virologique est classé comme correspondant à « Oui » si la charge virale d'un échantillon s'est avérée supérieure ou égale à 50 cp/mL à la semaine 144 ou lors de la dernière visite en l'absence d'une visite lors de la semaine 144. La dernière visite doit avoir eu lieu lors de la semaine 48 ou ultérieurement.

Tous les rapports de cote étaient supérieurs à 1 et ont augmenté entre les semaines 24 et 48 du traitement. Des rapports de cote statistiquement significatifs ont été observés pour les deux seuils à la semaine 48. Pour un seuil comme pour l'autre, la VPN élevée démontre la capacité du test à prédire les patients n'ayant pas interrompu leur traitement à chaque moment donné.

L'analyse des rapports de cotes a également démontré que les mesures de charge virale de patients sous traitement supérieures aux seuils définis sont davantage susceptibles de correspondre à un échec virologique ultérieur (valeur prédictive positive, ou VPP). Toutefois, le nombre infime d'échecs de traitement dans l'étude a permis de limiter l'analyse statistique de la VPP pour un échec virologique.

De plus, les performances cliniques du test **cobas**® HIV-1 avec le dispositif de prélèvement d'échantillons **cobas**® Plasma Separation Card (PSC) ont été évaluées dans le cadre d'études externes venant confirmer l'utilisation de la PSC pour obtenir une surveillance de la charge virale du VIH-1 précise, viable et fiable.²¹

Conclusion

Le test **cobas**® HIV-1 permet de quantifier le VIH-1 en toute fiabilité et de surveiller la réponse à un traitement antirétroviral. Les résultats de cette étude confirment l'utilité du test dans le traitement clinique des patients infectés par le VIH-1.

Équivalence des systèmes/comparaison des systèmes

L'équivalence des **cobas**® 5800, **cobas**® 6800 et **cobas**® 8800 Systems 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 principales du test pour les échantillons de plasma EDTA

Type d'échantillon	Plasma EDTA
Quantité d'échantillon minimale requise	650 µL ou 350 µL
Volume de prise d'essai d'échantillon	500 µL ou 200 µL
Sensibilité analytique	13,2 cp/mL (500 µL) 35,5 cp/mL (200 µL)
Domaine de linéarité	500 µL : 20 cp/mL - 1,0E+07 cp/mL
	200 µL : 50 cp/mL - 1,0E+07 cp/mL
Spécificité	100 % (intervalle de confiance à 95 % unilatéral : 99,5 %)
Génotypes détectés	VIH-1M (A-D, F-H, CRF01_AE, CRF02_AG), VIH-1O, VIH-1N

Caractéristiques principales du test pour les échantillons de spots de plasma séché sur PSC

Type d'échantillon	Spot de plasma séché provenant de la Plasma Separation Card
Quantité d'échantillon minimale requise	140 µL de sang total
Volume de prise d'essai d'échantillon	850 µL
Sensibilité analytique	790,2 cp/mL
Domaine de linéarité	790 cp/mL - 1,0E+07 cp/mL
Spécificité	100 % (intervalle de confiance à 95 % unilatéral : 98,3 %)

Symboles

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

Tableau 42 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.
 Logiciel auxiliaire	 Dispositif non adapté à l'auto-test	SN Numéro de série
Assigned Range [copies/mL] Plage assignée (copies/mL)	 Distributeur (Remarque : le pays/la région applicable peut être indiqué(e) sous le symbole.)	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
 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	 Fichier de définition de tests
REF Référence du catalogue	IVD Dispositif médical de diagnostic <i>in vitro</i>	 Orienté vers le haut
 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 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 43 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

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, AMPERASE, AMPLIPREP et TAQMAN 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.

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

©2022 Roche Molecular Systems, Inc.



Roche Diagnostics GmbH
 Sandhofer Str. 116
 68305 Mannheim
 Germany



Références

1. Mellors JW, Muñoz A, Giorgi JV, et al. Plasma viral load and CD4+ lymphocytes as prognostic markers of HIV-1 infection. *Ann Intern Med.* 1997;126:946-54. PMID: 9182471.
2. Mellors JW, Margolick JB, Phair JP, et al. Prognostic value of HIV-1 RNA, CD4 cell count, and CD4 Cell count slope for progression to AIDS and death in untreated HIV-1 infection. *JAMA.* 2007;297:2349-50. PMID: 17551128.
3. Department of Health and Human Services. Panel on Antiretroviral Guidelines for Adults and Adolescents. Guidelines for the Use of Antiretroviral Agents in Adults and Adolescents with HIV. <https://clinicalinfo.hiv.gov/sites/default/files/guidelines/documents/AdultandAdolescentGL.pdf>. Accessed December 3, 2020.
4. Cohen MS, Chen YQ, McCauley M, et al. Prevention of HIV-1 infection with early antiretroviral therapy. *N Engl J Med.* 2011;365:493-505. PMID: 21767103.
5. Phillips AN, Pillay D, Garnett G, et al. Effect on transmission of HIV-1 resistance of timing of implementation of viral load monitoring to determine switches from first to second-line antiretroviral regimens in resource-limited settings. *AIDS.* 2011;25:843-50. PMID: 21192233.
6. Sigaloff KC, Hamers RL, Wallis CL, et al. Unnecessary antiretroviral treatment switches and accumulation of HIV resistance mutations; two arguments for viral load monitoring in Africa. *J Acquir Immune Defic Syndr.* 2011;58:23-31. PMID: 21694603.
7. European AIDS Clinical Society. European AIDS Clinical Society 2017 Guidelines. https://www.eacsociety.org/files/guidelines_9.0-english.pdf. Accessed December 3, 2020.
8. World Health Organization. Consolidated Guidelines on the Use of Antiretroviral Drugs for Treating and Preventing HIV Infection – Recommendations for a Public Health Approach. <https://www.who.int/hiv/pub/arv/arv-2016/en/>. Accessed December 3, 2020.
9. Günthard HF, Aberg JA, Eron JJ, et al. Antiretroviral treatment of adult HIV infection: 2014 recommendations of the International Antiviral Society-USA Panel. *JAMA.* 2014;312:410-25. PMID: 25038359.
10. Do T, Duncan J, Butcher A, Liegler T. Comparative frequencies of HIV low-level viremia between real-time viral load assays at clinically relevant thresholds. *J Clin Virol.* 2011;52 Suppl 1:S83-9. PMID: 21995930.
11. Paba P, Fabeni L, Ciccozzi M, Perno CF, Ciotti M. Performance evaluation of the COBAS/TaqMan HIV-1 v2.0 in HIV-1 positive patients with low viral load: a comparative study. *J Virol Methods.* 2011;173:399-402. PMID: 21419171.
12. Deeks SG. Durable HIV treatment benefit despite low-level viremia: reassessing definitions of success or failure. *JAMA.* 2001;286:224-6. PMID: 11448286.
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.
20. Clinical and Laboratory Standards Institute. EP06-A. Evaluation of the Linearity of Quantitative Measurement Procedures: A Statistical Approach; Approved Guideline. https://clsi.org/media/1437/ep06a_sample.pdf. Accessed October 3, 2020.
21. Vubil A, Zicai AF, Siteo N, et al. Accurate HIV viral load measurement in primary health care settings using the **cobas**® plasma separation card. *PLoS One*. 2020;15:e0232122. PMID: 32374748.

Révision du document

Informations sur la révision du document	
Doc Rev. 2.0 07/2021	Ajout d'informations spécifiques au cobas® 5800. Ajout de l'adresse de l'importateur. Suppression de l'adresse des distributeurs. Mise à jour de la page des symboles harmonisés. Veillez contacter votre représentant local Roche si vous avez des questions.
Doc Rev. 3.0 01/2022	Mise à jour de la référence à la fiche méthodologique PSC Method Sheet ms_09411763190 pour refléter le nouveau M/N de la Card PSC. Mise à jour de la Figure 3 et de la Figure 4 dans un souci de conformité au document PSC ms_09411763190. Veillez contacter votre représentant local Roche si vous avez des questions.