

REF 300500 NeuMoDx™ HIV-1 Quant Test Strip**R only**

ATTENTION : pour exportation aux États-Unis uniquement

IVD Pour diagnostic *in vitro*, utiliser les NeuMoDx 288 et NeuMoDx 96 Molecular Systems*Pour les mises à jour des encarts, accéder à : www.qiagen.com/neumodx-ifu**Pour des instructions détaillées, se reporter au Manuel d'utilisation du NeuMoDx 288 Molecular System ; réf. 40600108**Pour des instructions détaillées, se reporter au Manuel d'utilisation du NeuMoDx 96 Molecular System ; réf. 40600317***UTILISATION PRÉVUE**

Le NeuMoDx HIV-1 Quant Assay, utilisé sur le NeuMoDx 96 Molecular System et le NeuMoDx 288 Molecular System (NeuMoDx System[s]), est un test automatisé, quantitatif et qualitatif d'amplification des acides nucléiques en diagnostic *in vitro* destiné à la quantification et la détection de l'ARN du virus de l'immunodéficience humaine de type 1 (VIH-1) dans le plasma humain.

Le NeuMoDx HIV-1 Quant Assay s'utilise en complément du tableau clinique et d'autres marqueurs de pronostic de la maladie pour la prise en charge clinique des patients infectés au VIH-1 et pour la surveillance des effets du traitement antirétroviral, évalués en fonction des variations du taux d'ARN du VIH-1 dans le plasma. Le dosage permet la quantification de l'ARN du VIH-1 sur la plage de 34,2 à $5,0 \times 10^7$ UI/ml (1,5-7,7 \log_{10} UI/ml). Le NeuMoDx HIV-1 Quant Assay est validé pour la quantification de l'ARN du VIH-1 groupe M (sous-types A, B, C, D, F, G, H, K, CRF01_AE, CRF02_AG) N, O et P.

Le NeuMoDx HIV-1 Quant Assay doit constituer une aide au diagnostic de l'infection au VIH-1, que ce soit une infection aiguë ou une primo-infection. La présence de l'ARN du VIH-1 dans le plasma des patients dépourvus d'anticorps au VIH-1 indique une infection aiguë ou une primo-infection au VIH-1. Le NeuMoDx HIV-1 Quant Assay peut être un test complémentaire pour les échantillons qui présentent de multiples résultats réactifs avec des immunodosages VIH approuvés et un test de confirmation de l'infection au VIH-1.

Le NeuMoDx HIV-1 Quant Assay ne peut être utilisé comme test de dépistage de donneur pour la présence du VIH-1 dans le sang ou les produits sanguins.

RÉSUMÉ ET EXPLICATIONS

Le sang total humain prélevé dans des tubes d'échantillon sanguin stériles contenant de l'acide éthylène diamine tétra acétique (Ethylenediaminetetraacetic Acid, EDTA) ou de l'acide citrate-dextrose (Acid Citrate-Dextrose, ACD) comme agent anticoagulant ou dans des tubes de préparation du plasma (Plasma Preparation Tube, PPT) peut être utilisé pour la préparation du plasma. Pour préparer le test, le plasma dans un tube à échantillon secondaire ou le sang fractionné dans un tube de prélèvement primaire compatible avec le NeuMoDx System est placé dans le NeuMoDx System à l'aide d'un porte-tubes à échantillon désigné pour commencer le traitement. Pour chaque échantillon, une aliquote de 600 µl de l'échantillon de plasma est mélangée avec le NeuMoDx Lysis Buffer 3 puis le NeuMoDx System effectue automatiquement toutes les étapes nécessaires pour extraire l'acide nucléique cible, préparer l'ARN isolé pour la réaction en chaîne par polymérase après transcription inverse (Reverse Transcription Polymerase Chain Reaction, RT-PCR) en temps réel et, s'il y en a, amplifier et détecter les produits de l'amplification (sections du génome du VIH-1 dans les zones bien préservées). Le NeuMoDx HIV-1 Quant Assay comprend un contrôle des processus de traitement des échantillons (Sample Process Control, SPC2) d'ARN qui aide à contrôler la présence de substances potentiellement inhibitrices ainsi que les échecs du NeuMoDx System ou des réactifs qui peuvent survenir durant le processus d'extraction et d'amplification.

Le virus de l'immunodéficience humaine (VIH) est l'agent causal du syndrome de l'immunodéficience acquise (SIDA), il se divise en deux types principaux, le plus courant et pathogène étant le VIH de type 1 (VIH-1). Le VIH-1 peut se transmettre par contact sexuel, par exposition à du sang ou des produits sanguins infectés, ou de la mère à l'enfant.¹⁻⁴ L'infection aiguë au VIH-1, caractérisée par des symptômes semblables à la grippe, se développe 3 à 5 semaines après l'infection initiale et est associée à des taux élevés de virémie. La réponse immunitaire spécifique du VIH-1 est détectable 4 à 6 semaines après l'apparition des symptômes.⁵⁻⁹

Lors de la séroconversion, la plupart des patients passent en phase asymptomatique, qui peut durer des années. La mesure quantitative des taux d'ARN du VIH-1 dans le sang périphérique a grandement contribué à la compréhension de la pathogenèse de l'infection au VIH-1 et s'est imposée comme un paramètre essentiel du pronostic et de la prise en charge des patients infectés au VIH-1.¹⁰⁻¹² Les décisions concernant le début ou les modifications du traitement antirétroviral sont mues par la surveillance des taux d'ARN du VIH-1 dans le plasma (charge virale), par la numération des lymphocytes CD4+ et par le tableau clinique du patient.¹²⁻¹⁷ Le traitement antirétroviral a pour but de supprimer la répllication du VIH-1 à des taux inférieurs aux taux détectables dans les tests de charge virale actuels. Les taux de virus dans le sang périphérique peuvent être quantifiés par la mesure de l'antigène p24 du VIH dans le sérum, par la culture quantitative du VIH dans le plasma ou par la mesure directe de l'ARN viral dans le plasma à l'aide des technologies d'amplification des acides nucléiques ou d'amplification du signal.⁹⁻¹¹ Des techniques moléculaires, telles que la réaction en chaîne par polymérase après transcription inverse, ont été largement utilisées pour amplifier les acides nucléiques.¹¹ Le NeuMoDx HIV-1 Quant Assay utilise la technologie de RT-PCR avec la détection par fluorescence homogène en temps réel. Le dosage comprend l'amplification et la détection de double cible, en ciblant deux régions distinctes du génome du VIH-1. En outre, la conception de dosage avec déclinaison permet la détection de divers sous-types du groupe M (A, B, C, D, F, G, H, K), y compris les formes recombinantes circulantes, ainsi que des groupes N, O et des isolats P. Les résultats du dosage sont exprimés en unités internationales par ml (UI/ml).

PRINCIPES DE LA PROCÉDURE

Le NeuMoDx HIV-1 Quant Assay associe l'extraction de l'ARN automatisée et l'amplification/la détection par RT-PCR en temps réel. Les échantillons de sang total sont prélevés dans des tubes contenant de l'EDTA, de l'ACD ou dans des tubes PPT pour la préparation du plasma. L'échantillon de sang primaire (fractionné) ou l'aliquote de plasma contenue dans un tube à échantillon secondaire compatible est muni(e) d'un code-barres puis placé(e) dans le NeuMoDx System. Le NeuMoDx System aspire automatiquement une aliquote du plasma pour la mélanger au NeuMoDx Lysis Buffer 3 et aux agents présents dans la NeuMoDx Extraction Plate avant de lancer le traitement. Le NeuMoDx System assure l'automatisation et l'intégration de l'extraction et de la concentration de l'ARN, de la préparation des réactifs ainsi que de l'amplification et de la détection des séquences cibles à l'aide de la RT-PCR en temps réel. Le contrôle des processus de traitement d'échantillons (Sample Process Control, SPC2) permet de contrôler la présence de substances inhibitrices ainsi que les défaillances du système, des processus ou des réactifs. Aucune intervention de l'opérateur n'est requise une fois l'échantillon chargé sur le NeuMoDx System.

Le NeuMoDx System fait appel à une association entre chaleur, enzyme lytique et réactifs d'extraction pour effectuer automatiquement la lyse, l'extraction de l'ARN et l'élimination des inhibiteurs. Les acides nucléiques libérés sont capturés par des particules paramagnétiques. Ces particules, sur lesquelles est fixé l'acide nucléique, sont chargées dans la NeuMoDx Cartridge où les éléments non fixés sont éliminés par rinçage avec le NeuMoDx Wash Reagent. L'ARN fixé est ensuite élué à l'aide de NeuMoDx Release Reagent. Le NeuMoDx System utilise l'ARN élué pour réhydrater les réactifs d'amplification exclusifs NeuDry™ contenant tous les éléments nécessaires à l'amplification des cibles du VIH-1 et du contrôle des processus de traitement d'échantillons (Sample Process Control, SPC2). Cela permet l'amplification et la détection simultanées des séquences d'ARN de la cible et du contrôle. Après reconstitution des réactifs de RT-PCR déshydratés, le NeuMoDx System distribue le mélange prêt pour la RT-PCR dans une chambre de PCR (une par échantillon) de la NeuMoDx Cartridge. La transcription inverse, l'amplification et la détection du contrôle et des séquences cibles (si elles sont présentes) s'effectuent dans la chambre de PCR. La NeuMoDx Cartridge est conçue pour contenir l'amplicon issu de la RT-PCR, éliminant pratiquement tout risque de contamination après l'amplification.

Les cibles amplifiées sont détectées en temps réel grâce à l'hydrolyse de sondes (un processus communément appelé « chimie TaqMan® ») constituées de molécules oligonucléotidiques fluorogènes spécifiques des amplicons de leurs cibles respectives. Les sondes TaqMan comportent un fluorophore lié par liaison covalente à l'extrémité 5' de la sonde oligonucléotidique et un quencher à l'extrémité 3'. Tant que la sonde est intacte, le fluorophore et le quencher sont à proximité l'un de l'autre, entraînant l'extinction par le quencher de la fluorescence émise par le fluorophore par transfert d'énergie entre molécules fluorescentes (Förster Resonance Energy Transfer, FRET).

Les sondes TaqMan sont conçues pour s'hybrider dans une région d'ADN amplifiée par un ensemble spécifique d'amorces. Au moment où la Taq ADN polymérase étend l'amorce et synthétise le nouveau brin, l'activité de l'exonucléase dans le sens 5' vers 3' de la Taq ADN polymérase dégrade la sonde qui s'est renaturée sur la matrice. La dégradation de la sonde libère le fluorophore et met fin à sa proximité avec le quencher, supprimant l'extinction due au FRET et permettant la détection du fluorophore. Le signal de fluorescence généré, qui est détecté dans le thermocycleur NeuMoDx System de RT-PCR quantitative est directement proportionnel au fluorophore libéré, et peut être corrélé avec la quantité de séquence cible présente.

Une sonde TaqMan marquée par un fluorophore (Excitation : 490 nm et Émission : 521 nm) à l'extrémité 5' et un quencher foncé à l'extrémité 3' est utilisée pour détecter l'ARN du VIH-1. Pour la détection du contrôle des processus de traitement d'échantillons (Sample Process Control, SPC2), la sonde TaqMan est marquée par un autre colorant fluorescent (Excitation : 535 nm et Émission : 556 nm) à l'extrémité 5' et un quencher foncé à l'extrémité 3'. Le logiciel du NeuMoDx System contrôle le signal fluorescent émis par les sondes TaqMan à la fin de chaque cycle d'amplification. Une fois l'amplification terminée, le logiciel du NeuMoDx System analyse les données et rapporte un résultat (POSITIVE [Positif] / NEGATIVE [Négatif] / INDETERMINATE [Indéterminé] / UNRESOLVED [Non résolu]). Si un résultat est positif et que la concentration calculée est dans les limites de quantification, le logiciel du NeuMoDx System fournit également une valeur quantitative associée à l'échantillon.

RÉACTIFS/CONSOMMABLES

Matériel fourni

RÉF.	Contenu	Tests par unité	Tests par paquet
300500	NeuMoDx HIV-1 Quant Test Strip Réactifs de RT-PCR <i>déshydratés</i> contenant la sonde et les amorces TaqMan spécifiques au VIH-1 et au contrôle des processus de traitement d'échantillons (Sample Process Control, SPC2).	16	96

Autre matériel requis (disponible séparément)

RÉF.	Contenu
100200	NeuMoDx Extraction Plate Particules paramagnétiques, enzyme lytique et contrôles des processus de traitement d'échantillons déshydratés
800304	NeuMoDx HIV-1 Calibrators Ensembles à usage unique d'étalons Haut et Bas du VIH-1 pour établir la validité de la courbe d'étalonnage
900301	NeuMoDx HIV-1 External Controls Ensembles à usage unique de contrôles Positif et Négatif du VIH-1
400600	NeuMoDx Lysis Buffer 3
400100	NeuMoDx Wash Reagent
400200	NeuMoDx Release Reagent
100100	NeuMoDx Cartridge
235903	Pointes Hamilton CO-RE / CO-RE II (300 µl) avec filtres
235905	Pointes Hamilton CO-RE / CO-RE II (1000 µl) avec filtres

Instruments requis

NeuMoDx 288 Molecular System [RÉF 500100] ou NeuMoDx 96 Molecular System [RÉF 500200]



AVERTISSEMENTS ET PRÉCAUTIONS

- La NeuMoDx HIV-1 Quant Test Strip est destinée à une utilisation pour le diagnostic *in vitro* avec les NeuMoDx Molecular Systems uniquement.
- Ne pas utiliser les réactifs ou les consommables après la date de péremption indiquée.
- Ne pas utiliser les réactifs si le sceau de sécurité est brisé ou si l'emballage est endommagé à réception.
- Ne pas utiliser de réactifs ou de consommables si l'enveloppe protectrice est ouverte ou brisée à réception.
- Un étalonnage de test valide (généralisé par le traitement des étalons haut et bas des NeuMoDx HIV-1 Calibrators [REF 800304]) doit être disponible avant que les résultats de test puissent être générés pour les échantillons cliniques.
- Des contrôles externes (provenant des NeuMoDx HIV-1 External Controls [REF 900301]) doivent être traités toutes les 24 heures tout au long du test avec le NeuMoDx HIV-1 Quant Assay.
- Le volume d'échantillon minimal des aliquotes secondaires dépend de la taille du tube et du porte-tubes à échantillon telle que définie ci-dessous. Tout volume inférieur au minimum spécifié peut entraîner l'erreur suivante : « Quantity Not Sufficient » (Quantité insuffisante).
- L'utilisation d'échantillons conservés à des températures inappropriées ou plus longtemps que les durées de stockage spécifiées peut entraîner des résultats non valides ou erronés.
- Éviter la contamination de tous les réactifs et consommables par des microbes ou une ribonucléase (ARNase). L'utilisation de pipettes de transfert jetables, stériles et exemptes d'ARNase est recommandée en cas d'utilisation de tubes secondaires. Utiliser une nouvelle pipette pour chaque échantillon.
- Afin d'éviter la contamination, ne pas manipuler ou démonter la NeuMoDx Cartridge après amplification. Ne jamais récupérer de NeuMoDx Cartridges dans le récipient pour déchets à risque biologique (NeuMoDx 288 Molecular System) ni dans la poubelle pour déchets à risque biologique (NeuMoDx 96 Molecular System). La NeuMoDx Cartridge est conçue de façon à empêcher la contamination.
- Dans le cas où des tests de PCR à tube ouvert sont également effectués par le laboratoire, des précautions doivent être prises pour s'assurer que la NeuMoDx HIV-1 Quant Test Strip, les consommables et les réactifs supplémentaires nécessaires pour le test, l'équipement de protection individuelle comme les gants et les blouses, et le NeuMoDx System ne sont pas contaminés.
- Des gants en nitrile sans poudre propres doivent être enfilés avant la manipulation des réactifs et consommables NeuMoDx. Des précautions doivent être prises pour ne pas toucher la surface supérieure de la NeuMoDx Cartridge, la surface d'étanchéité en aluminium de la NeuMoDx HIV-1 Quant Test Strip et de la NeuMoDx Extraction Plate, ou encore la surface supérieure du NeuMoDx Lysis Buffer 3. La manipulation des consommables et des réactifs doit se faire en touchant les surfaces latérales uniquement.
- Les fiches de données de sécurité (FDS) sont fournies pour chaque réactif (le cas échéant) sur www.qiagen.com/neumodx-ifu
- Se laver les mains soigneusement après avoir réalisé le test.
- Ne pas pipetter à la bouche. Ne pas fumer, manger ou boire dans les zones de manipulation des échantillons ou des réactifs.
- Toujours manipuler les échantillons comme s'ils étaient infectieux et conformément aux procédures de sécurité des laboratoires, telles que mentionnées dans *Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories*¹⁸ (Sécurité biologique au sein des laboratoires d'analyses microbiologiques et biomédicales) et dans le document du CLSI M29-A4.¹⁹
- Jeter les réactifs inutilisés et les déchets conformément aux réglementations en vigueur (nationales, fédérales, locales, de la province et de l'État).



STOCKAGE, MANIPULATION ET STABILITÉ DU PRODUIT

- Lorsqu'elles sont conservées entre 15 et 23 °C, les NeuMoDx HIV-1 Quant Test Strips sont stables dans leur emballage primaire jusqu'à la date de péremption indiquée sur l'étiquette du produit immédiatement lisible.
- Les NeuMoDx HIV-1 Quant Test Strips sont fournis dans un récipient isolé qui contient des paquets de gel de refroidissement.
- Ne pas utiliser les consommables ou réactifs après la date de péremption indiquée.
- Ne pas utiliser de produit de test si l'emballage primaire ou secondaire est visiblement dégradé.
- Ne pas recharger de produit de test précédemment chargé dans un autre NeuMoDx System.
- Une fois chargée, la NeuMoDx HIV-1 Quant Test Strip peut rester à bord du NeuMoDx System pendant sept (7) jours. Le logiciel suit la durée de vie restante des bandelettes de test chargées et l'indique à l'utilisateur en temps réel. Le système invite l'utilisateur à retirer toute bandelette de test dont l'utilisation a dépassé la durée autorisée.
- Après utilisation, mettez les étalons et contrôles externes NeuMoDx au rebut avec les déchets à risque biologique du laboratoire, même s'ils ne présentent pas de risque infectieux, afin de limiter le risque de contamination par l'acide nucléique cible qu'ils contiennent.

PRÉLÈVEMENT, TRANSPORT ET STOCKAGE DES ÉCHANTILLONS



1. Manipuler tous les échantillons, étalons et contrôles comme s'ils pouvaient transmettre des agents infectieux.
2. Ne pas congeler d'échantillons de sang total ni aucun échantillon conservé dans des tubes primaires.
3. Pour préparer des échantillons de plasma, le sang total doit être collecté dans des tubes stériles contenant de l'EDTA ou de l'ACD comme anticoagulant. Respecter les consignes du fabricant des tubes de prélèvement d'échantillons pour la préparation et le stockage.
4. Les échantillons peuvent être testés dans des tubes à échantillons primaires ou secondaires. Recommandations pour le test avec tube primaire : BD Vacutainer® Plus Plastic K₂EDTA Tube (BD n° 368589) ou BD Vacutainer PPT™ Plasma Preparation Tube (BD n° 362799).

5. Les échantillons de plasma préparés peuvent être stockés dans le NeuMoDx System jusqu'à 8 heures avant le traitement. Si vous devez les conserver plus longtemps, il est recommandé de placer les échantillons au réfrigérateur ou au congélateur sous forme d'aliquotes de plasma secondaires.
6. Les échantillons de plasma préparés doivent être conservés entre 2 et 8 °C pendant 7 jours maximum avant le test et pendant 8 heures maximum à température ambiante.
7. Les échantillons préparés peuvent être stockés à ≤ -20 °C pendant 8 semaines maximum pour le plasma avant traitement.
 - a. Si les échantillons sont congelés, il faut les laisser se décongeler complètement à température ambiante (15 à 30 °C), puis les vortexer pour assurer leur homogénéité.
 - b. Lorsque des échantillons sont décongelés, le test doit intervenir dans les 8 heures.
 - c. Les échantillons de plasma ne doivent pas être soumis à plus de 4 cycles de congélation/décongélation avant emploi.
8. En cas de transport, les échantillons doivent être emballés et étiquetés conformément à la réglementation nationale et/ou internationale en vigueur.
9. Étiquetez clairement les échantillons et indiquez ceux qui sont destinés à un test de VIH-1.
10. Passer à la section *Préparation du test*.

Le processus complet de dosage NeuMoDx HIV-1 est résumé sur l'organigramme de la *Figure 1* ci-dessous.

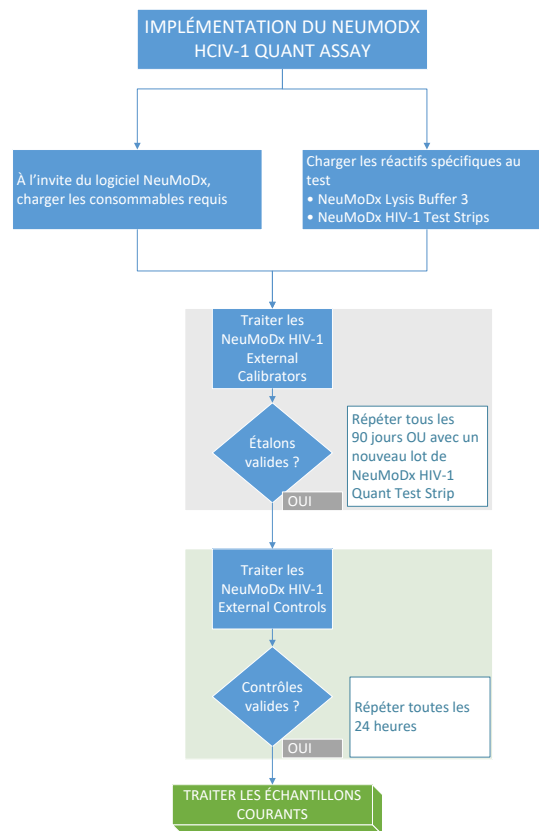


Figure 1 : procédure de test avec le NeuMoDx HIV-1 Quant Assay

MODE D'EMPLOI

Préparation du test

1. Appliquer une étiquette code-barres pour échantillon sur un tube à échantillon compatible avec le NeuMoDx System. Le tube à échantillon sanguin primaire peut être étiqueté puis placé directement dans un porte-tubes à échantillon pour 24 ou 32 tubes, après centrifugation comme indiqué par le fabricant. Il est aussi possible de transférer une aliquote de plasma dans un tube secondaire pour le traitement sur le NeuMoDx System.
2. En cas de test de l'échantillon dans le tube à échantillon primaire, placer le tube muni d'une étiquette code-barres dans un porte-tubes à échantillons et veiller à ce que le bouchon soit retiré avant le chargement sur le NeuMoDx System.
3. En cas d'utilisation d'un tube secondaire, transférer une aliquote de plasma dans le tube à échantillon muni de l'étiquette de code-barres compatible avec le NeuMoDx System en respectant les volumes définis ci-dessous :

- Porte-tubes à échantillon (32 tubes) : 11 à 14 mm de diamètre et 60 à 120 mm de hauteur ; volume de remplissage minimal $\geq 750 \mu\text{l}$
- Porte-tubes à échantillon (24 tubes) : 14,5 à 18 mm de diamètre et 60 à 120 mm de hauteur ; volume de remplissage minimal $\geq 1\,200 \mu\text{l}$
- Porte-tubes à échantillon faible volume (32 tubes) : tube de microcentrifugation de 1,5 ml à fond conique ; volume de remplissage minimal $\geq 700 \mu\text{l}$

Fonctionnement du NeuMoDx System

Pour des instructions détaillées, se reporter aux manuels d'utilisation des NeuMoDx 288 et 96 Molecular Systems (réf. 40600108 et 40600317)

1. Remplir un ou plusieurs supports de bandelettes de test pour NeuMoDx System Test Strip avec une ou plusieurs NeuMoDx HIV-1 Quant Test Strips et utiliser l'écran tactile pour charger le ou les supports de bandelettes de test dans le NeuMoDx System.
2. Le cas échéant, à l'invite du logiciel du NeuMoDx System, ajouter les consommables nécessaires dans les supports de consommables du NeuMoDx System et utiliser l'écran tactile pour charger le ou les supports dans le NeuMoDx System.
3. Le cas échéant, à l'invite du logiciel du NeuMoDx System, remplacer le NeuMoDx Wash Reagent et le NeuMoDx Release Reagent, vider les déchets d'amorçage, le récipient pour déchets à risque biologique (NeuMoDx 288 Molecular System uniquement), la poubelle pour pointes à risque biologique (NeuMoDx 96 Molecular System uniquement) ou la poubelle pour déchets à risque biologique (NeuMoDx 96 Molecular System uniquement).
4. À l'invite du logiciel du NeuMoDx System, traitez les NeuMoDx HIV-1 Calibrators [REF 800304] et/ou les NeuMoDx HIV-1 External Controls [REF 900301]. Vous trouverez des informations supplémentaires sur les étalons et les contrôles dans la section *Traitement des résultats*.
5. Charger les tubes à échantillons/étalons/contrôles dans un porte-tubes à échantillons en veillant à ce que les bouchons aient été retirés de tous les tubes.
6. Placer le ou les porte-tubes à échantillon sur la tablette du chargeur automatique et utiliser l'écran tactile pour les charger dans le NeuMoDx System. Cela déclenche le traitement des échantillons chargés pour les tests identifiés, à condition qu'une commande de test valide soit présente dans le système.

LIMITATIONS

1. La NeuMoDx HIV-1 Quant Test Strip ne peut être utilisée que sur les NeuMoDx Molecular Systems.
2. Les performances de la NeuMoDx HIV-1 Quant Test Strip ont été établies pour des échantillons de plasma préparés avec du sang total prélevé avec de l'EDTA/ACD comme anticoagulant. L'utilisation de la NeuMoDx HIV-1 Quant Test Strip avec d'autres sources n'a pas été évaluée et les caractéristiques de performance ne sont pas connues pour d'autres types d'échantillons.
3. Les performances de la NeuMoDx HIV-1 Quant Test Strip ont été établies pour le test avec tube primaire en plastique avec BD Vacutainer Plus Plastic K₂EDTA Tubes et BD Vacutainer PPT™ Plasma Preparation Tube.
4. Le NeuMoDx HIV-1 Quant Assay ne doit pas être utilisé avec des échantillons humains avec héparine.
5. Dans la mesure où la détection de HIV-1 dépend du nombre de particules virales présentes dans l'échantillon, l'obtention de résultats fiables dépend d'un échantillon, d'une manipulation et d'un stockage appropriés des échantillons.
6. Les NeuMoDx HIV-1 Calibrators et les NeuMoDx HIV-1 External Controls doivent être traités conformément à la notice suivant les indications du logiciel du NeuMoDx System avant le traitement des échantillons cliniques courants.
7. La collecte, manipulation ou conservation inappropriée des échantillons, ainsi que les erreurs techniques ou les erreurs d'identification des tubes à échantillons, peut entraîner des résultats erronés. En outre, des faux négatifs peuvent se produire lorsque le nombre de particules virales dans l'échantillon est inférieur à la limite de détection du NeuMoDx HIV-1 Quant Assay.
8. L'utilisation du NeuMoDx System est limitée au personnel formé à son utilisation.
9. Si les cibles de VIH-1 et de contrôle des processus de traitement d'échantillons (Sample Process Control, SPC2) ne sont pas amplifiées, cela donnera un résultat non valide (Indeterminate [Indéterminé] ou Unresolved [Non résolu]) et le test devra être répété.
10. Si le résultat du NeuMoDx HIV-1 Quant Assay est Positive (Positif), mais que la valeur de quantification soit au-delà des limites de quantification, le NeuMoDx System indique si le VIH-1 détecté était inférieur à la limite de quantification inférieure (Lower Limit of Quantitation, LLoQ) ou supérieur à la limite de quantification supérieure (Upper Limit of Quantitation, ULQ).
11. Si le VIH-1 détecté était inférieur à la limite de quantification inférieure (Lower Limit of Quantitation, LLoQ), le NeuMoDx HIV-1 Quant Assay peut être répété (si vous le souhaitez) avec une autre aliquote de l'échantillon.
12. Si le VIH-1 détecté était supérieur à la limite de quantification supérieure (Upper Limit of Quantitation, ULQ), le NeuMoDx HIV-1 Quant Assay peut être répété avec une aliquote diluée de l'échantillon d'origine. Une dilution de 1:100 ou 1:1 000 dans le plasma négatif au VIH-1 ou le Basematrix 53 Diluent (Basematrix) (SeraCare, Milford, MA) est recommandée. La concentration de l'échantillon d'origine peut être calculée comme suit :

$$\text{concentration de l'échantillon d'origine} = \log_{10}(\text{facteur de dilution}) + \text{concentration rapportée de l'échantillon dilué}$$
13. La présence éventuelle d'inhibiteurs de PCR dans le plasma peut engendrer une erreur de quantification du système. Le cas échéant, il est recommandé de répéter le test avec le même échantillon dilué dans du Basematrix à 1:10 ou 1:100.

14. Un résultat positif n'indique pas nécessairement la présence de VIH-1 viable. Mais un résultat positif présuppose la présence d'ARN du VIH-1.
15. Les délétions ou les mutations dans les régions préservées ciblées par le NeuMoDx HIV-1 Quant Assay peuvent affecter la détection et entraîner des résultats erronés.
16. Les résultats du NeuMoDx HIV-1 Quant Assay doivent être utilisés en complément des observations cliniques et des autres informations à la disposition du médecin.
17. Il est recommandé d'observer les bonnes pratiques de laboratoire, comme le changement des gants entre chaque manipulation d'échantillons patient, afin d'éviter toute contamination.

TRAITEMENT DES RÉSULTATS

Les résultats disponibles peuvent être consultés ou imprimés à partir de l'onglet « Results » (Résultats) de la fenêtre Results (Résultats) sur l'écran tactile du NeuMoDx System.

Les résultats du NeuMoDx HIV-1 Quant Assay sont générés automatiquement par le logiciel du NeuMoDx System à l'aide d'un algorithme décisionnel et des paramètres de traitement des résultats spécifiés dans le fichier de définition du test NeuMoDx HIV-1 (NeuMoDx HIV-1 Assay Definition File, HIV-1 ADF). Un résultat du NeuMoDx HIV-1 Quant Assay peut être indiqué Negative (Négatif), Positive (Positif) avec une concentration de VIH-1 rapportée, Positive (Positif) au-dessus de l'ULOQ, Positive (Positif) au-dessous de la LLOQ, Indeterminate (Indéterminé) ou Unresolved (Non résolu) selon le statut d'amplification de la cible et le contrôle des processus de traitement des échantillons. Les résultats sont rapportés en fonction de l'algorithme décisionnel de l'ADF, qui est résumé dans le *tableau 1* ci-dessous.

Tableau 1 : résumé de l'algorithme décisionnel HIV-1 Quant Assay

RÉSULTAT*	Cible(s) de VIH-1	Contrôle des processus de traitement d'échantillons (Sample Process Control, SPC2)
Positive (Positif) avec une concentration rapportée	Amplified (Amplifié), $1,5 \leq [\text{VIH-1}] \leq 7,7 \log_{10} \text{ UI/ml}$	Amplified (Amplifié) ou Not Amplified (Non amplifié)
Positive (Positif) supérieur à l'ULOQ	Amplified (Amplifié), $[\text{VIH-1}] > 7,7 \log_{10} \text{ UI/ml}$	Amplified (Amplifié) ou Not Amplified (Non amplifié)
Positive (Positif) inférieur à la LLOQ	Amplified (Amplifié), $[\text{VIH-1}] < 1,5 \log_{10} \text{ UI/ml}$	Amplified (Amplifié) ou Not Amplified (Non amplifié)
Negative (Négatif)	Not Amplified (Non amplifié)	Amplified (Amplifié)
Indeterminate (Indéterminé)	Not Amplified, System Error Detected (Non amplifié, erreur système détectée)	
Unresolved (Non résolu)	Not Amplified, No System Error Detected (Non amplifié, aucune erreur système détectée)	

*La plage de quantification du NeuMoDx HIV-1 Quant Assay est de 1,5 à 7,7 \log_{10} UI/ml. Un résultat POSITIVE (Positif) indique que l'ARN du VIH-1 est détecté et favorise le diagnostic de l'infection au VIH-1. Un résultat NEGATIVE (Négatif) indique l'absence d'ARN du VIH-1 ou une charge virale inférieure à la limite de détection. Un résultat de charge virale faux négatif ou faussement faible peut être dû à un échantillon ou à un stockage incorrect de l'échantillon. Les résultats doivent être interprétés dans le contexte des résultats cliniques et de laboratoire pertinents.

Calcul du test

1. Pour les échantillons de la plage de quantification du NeuMoDx HIV-1 Quant Assay, la concentration d'ARN du VIH-1 dans les échantillons est calculée avec la courbe d'étalonnage enregistrée et avec le coefficient d'étalonnage.
 - a. Un coefficient d'étalonnage est calculé d'après les résultats des NeuMoDx HIV-1 Calibrators traités pour établir la validité de la courbe d'étalonnage, pour un lot particulier de NeuMoDx HIV-1 Quant Test Strip, sur un NeuMoDx System spécifique.
 - b. Le coefficient d'étalonnage est intégré dans la détermination finale de la concentration de l'ARN du VIH-1.
2. Les résultats du NeuMoDx HIV-1 Quant Assay sont exprimés en \log_{10} UI/ml. Le facteur de conversion pour le NeuMoDx HIV-1 Quant Assay est de 0,75 copie/UI.
3. La quantification des échantillons inconnus est traçable grâce à un matériel de référence étalonné obtenu auprès de l'Institut national des normes et contrôles biologiques.

Étalonnage du test

Un étalonnage valide basé sur la courbe d'étalonnage est nécessaire pour quantifier l'ARN du VIH-1 dans les échantillons. Pour générer des résultats valides, il faut effectuer un étalonnage du test avec les étalons fournis par NeuMoDx Molecular, Inc.

Étalons

1. Les NeuMoDx HIV-1 Calibrators [REF 800304] contiennent une cible de VIH-1 non infectieux préparée dans du Basematrix.
2. Un ensemble d'étalons de VIH-1 doit être traité avec chaque nouveau lot de NeuMoDx HIV-1 Quant Test Strips, ou si un nouveau fichier de définition du test du VIH-1 est téléchargé dans le NeuMoDx System, si la période de validité de l'ensemble actuel d'étalons est dépassée (définie à 90 jours) ou si le logiciel du NeuMoDx System est modifié.

3. Le logiciel du NeuMoDx System indique à l'utilisateur quand il convient de traiter les étalons. Vous ne pouvez pas utiliser de nouveau lot de bandelettes de test tant que les étalons n'ont pas été correctement traités.
4. La validité de l'étalonnage est établie comme suit :
 - a) Une paire d'étalons – un (1) fortement positif et un (1) fortement négatif – doit être traitée pour établir la validité.
 - b) Au moins deux (2) répliqués sur trois (3) doivent donner des résultats conformes aux paramètres prédéfinis. La cible nominale de l'étalon faiblement positif est de $3 \log_{10}$ UI/ml et la cible nominale de l'étalon fortement positif est de $5 \log_{10}$ UI/ml.
 - c) Un coefficient d'étalonnage est calculé pour tenir compte de la variation prévue entre les lots de bandelettes de test. Ce coefficient permet de déterminer la concentration finale de VIH-1.
5. En cas d'échec du contrôle de validité pour un étalon ou les deux, il faut répéter le traitement du ou des étalons en question avec un nouveau flacon. En cas d'échec du contrôle de validité pour un étalon, il est possible de répéter uniquement cet étalon, car le système ne nécessite pas que l'utilisateur traite de nouveau les deux étalons.
6. En cas de deux échecs successifs du contrôle de validité pour un étalon ou les deux, il faut contacter NeuMoDx Molecular, Inc.

Contrôle de la qualité

Les réglementations locales spécifient normalement que le laboratoire a la responsabilité d'exécuter des procédures de contrôle permettant de vérifier l'exactitude et la précision de l'ensemble du processus d'analyse et qu'il doit établir le nombre, le type et la fréquence des tests de matériaux de contrôle en respectant les spécifications de performances approuvées pour un système de tests homologué et non modifié.

Contrôles externes

1. Les NeuMoDx HIV-1 External Controls [REF 900301] contiennent des contrôles positifs de cible de VIH-1 non infectieux préparée dans du Basematrix et des contrôles négatifs de Basematrix seulement.
2. Les contrôles externes positifs et négatifs doivent être traités toutes les 24 heures tout au long du test avec le NeuMoDx HIV-1 Quant Assay. Si l'utilisateur ne dispose pas d'un ensemble de résultats de contrôles externes valides, le logiciel du NeuMoDx System l'invite à traiter ces contrôles avant que les résultats de l'échantillon soient rapportés.
3. Le NeuMoDx System évalue la validité des contrôles externes en fonction du résultat attendu. Le contrôle positif doit donner un résultat Positive (Positif) au VIH-1 et le contrôle négatif un résultat Negative (Négatif) au VIH-1.
4. Les résultats discordants pour les contrôles externes doivent être traités comme suit :
 - a) Un résultat de test Positive (Positif) rapporté pour un échantillon de contrôle négatif indique un problème de contamination de l'échantillon.
 - b) Un résultat de test Negative (Négatif) rapporté pour un échantillon de contrôle positif peut indiquer qu'il y a un problème de réactif ou d'instrument.
 - c) Dans les cas ci-dessus ou en cas de résultat Indeterminate (Indéterminé, IND), répétez les NeuMoDx HIV-1 External Controls avec des flacons neufs des contrôles qui ont échoué au test de validité.
 - d) Si un NeuMoDx HIV-1 External Control positif continue à donner un résultat Negative (Négatif), contactez le service technique de NeuMoDx.
 - e) Si un NeuMoDx HIV-1 External Control négatif continue à donner un résultat Positive (Positif), essayez d'éliminer toutes les sources de contamination potentielle, notamment en remplaçant tous les réactifs avant de contacter le service technique de NeuMoDx.

Contrôles (internes) des processus de traitement d'échantillons

Un contrôle des processus de traitement d'échantillons (Sample Process Control, SPC2) exogène est intégré à la NeuMoDx Extraction Plate, et il subit tout le processus d'extraction de l'acide nucléique et d'amplification par RT-PCR en temps réel avec chaque échantillon. Les amorces et la sonde spécifiques au contrôle du traitement de l'échantillon SPC2 sont également incluses à chaque NeuMoDx HIV-1 Quant Test Strip, cela permet de détecter le SPC2 avec l'ARN du VIH-1 cible (le cas échéant) grâce à la RT-PCR multiplexe. La détection de l'amplification de SPC2 permet au logiciel du NeuMoDx System de contrôler l'efficacité des processus d'extraction de l'ARN et de son amplification par RT-PCR.

Résultats non valides

Si un NeuMoDx HIV-1 Quant Assay effectué sur le NeuMoDx System ne parvient pas à produire un résultat valide, ce résultat sera rapporté comme Indeterminate (IND) (Indéterminé) ou Unresolved (UNR) (Non résolu) selon le type d'erreur qui s'est produit.

Un résultat IND (Indéterminé) est rapporté si une erreur du NeuMoDx System est détectée pendant le traitement des échantillons. Dans le cas d'un résultat IND (Indéterminé), une répétition du test est recommandée.

Un résultat UNR (Non résolu) est rapporté si aucune amplification valide de l'ARN du VIH-1 ou du SPC2 n'est détectée, cela indique une possible défaillance des réactifs ou la présence d'inhibiteurs. En cas de résultat UNR (Non résolu), une répétition du test est recommandée avant toute chose. Si la répétition du test échoue, il est possible d'utiliser un échantillon dilué afin d'atténuer les effets de toute inhibition éventuelle.

CARACTÉRISTIQUES DE PERFORMANCES

Sensibilité analytique – Limite de détection

La sensibilité analytique du NeuMoDx HIV-1 Quant Assay a été obtenue en testant une série de dilution conformément au 3^e étalon international de l'OMS sur le VIH-1 dans du plasma avec EDTA négatif pour l'ARN du VIH-1 dépisté, afin de déterminer la limite de détection (Limit of Detection, LoD) sur les NeuMoDx Systems. La LoD a été définie comme le niveau cible minimal détecté à un taux de $\geq 95\%$ selon l'analyse Probit. L'étude a été réalisée sur trois (3) jours avec plusieurs systèmes, opérateurs, analyses et lots de réactifs NeuMoDx HIV-1 Quant Assay. Chaque système a traité 12 réplicats par jour à chaque niveau de dilution. Les taux de détection sont représentés dans le *tableau 2*.

Tableau 2 : taux de détection positifs pour la détermination de la LoD du NeuMoDx HIV-1 Quant Assay

Concentration de la cible (UI/ml)	Concentration de la cible (\log_{10} UI/ml)	Nombre de tests valides	Nombre de positifs	Taux de détection (%)
60	1,78	72	71	98,6 %
45	1,65	72	71	98,6 %
35	1,54	72	68	94,4 %
15	1,18	72	54	75,0 %
0	-	72	0	0 %

Conformément à l'analyse Probit, la LoD du NeuMoDx HIV-1 Quant Assay dans le plasma sur tous les génotypes a été déterminée à **334,2 UI/ml (1,5 \log_{10} UI/ml)** avec un intervalle de confiance (IC) à 95 % de 27,8 à 47,7 UI/ml (1,4–1,7 \log_{10} UI/ml) selon le test sur le NeuMoDx 288 Molecular System [Figure 2].

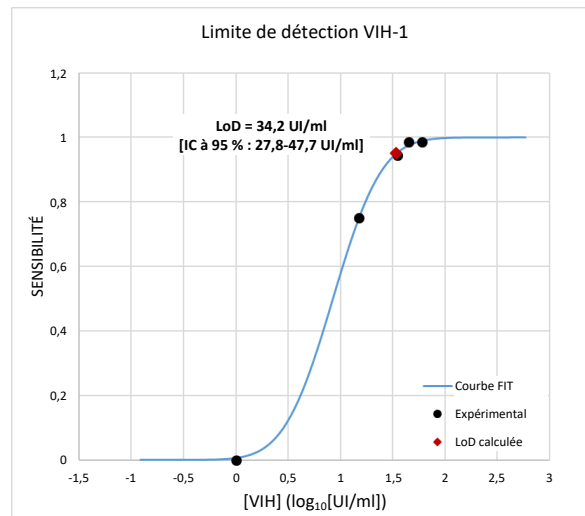


Figure 2 : analyse Probit de la limite de détection du NeuMoDx HIV-1 Quant Assay

Sensibilité analytique – Limite de quantification inférieure

La limite de quantification inférieure (Lower Limit of Quantitation, LLoQ) est définie comme le niveau cible minimal auquel la détection de $> 95\%$ est obtenue et le nombre total d'erreurs d'analyse est de ≤ 1 . Pour déterminer la LLoQ, le nombre total d'erreurs d'analyse (Total Analytical Error, TAE) a été calculé pour chaque niveau de cible du VIH-1 lors du calcul de la LoD. La TAE est définie comme suit :

$$\text{TAE} = \text{biais} + 2 \cdot \text{ÉT} \quad (\text{statistique de Westgard})$$

où

le **biais** est la valeur absolue de la différence entre la moyenne de la concentration calculée et la concentration attendue.
ÉT indique l'écart-type de la valeur quantifiée de l'échantillon.

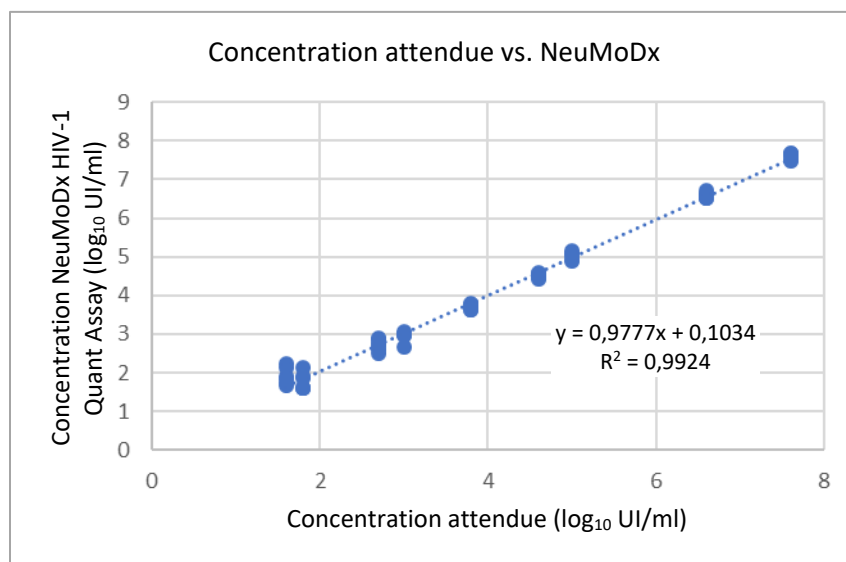
Les résultats compilés pour les quatre (4) niveaux d'échantillons de plasma de VIH-1 utilisés dans l'étude de la LLoQ en utilisant le sous-type B sont indiqués dans le *tableau 3*. Dans la mesure où le TAE calculé était de ≤ 1 aux niveaux de VIH-1 inférieurs à la LoD, le NeuMoDx HIV-1 Quant Assay a affiché une limite de quantification inférieure équivalente à la limite de détection : **34,2 UI/ml** (IC à 95 % de 27,8–47,7 UI/ml) ou **1,5 \log_{10} UI/ml** (IC à 95 % de 1,4–1,7 \log_{10} UI/ml).

Tableau 3 : NeuMoDx HIV-1 Quant Assay LLoQ, avec le biais et le TAE

Conc. cible (UI/ml)	Conc. cible (log ₁₀ UI/ml)	Conc. moyenne (log ₁₀ UI/ml)	Détection (%)	ÉT	Biais	TAE
60	1,78	1,76	99	0,28	0,02	0,59
45	1,65	1,82	99	0,30	0,17	0,78
35	1,54	1,69	94	0,39	0,15	0,93
15	1,18	1,52	75	0,54	0,34	1,44

Sensibilité analytique – Linéarité et détermination de la limite de quantification supérieure

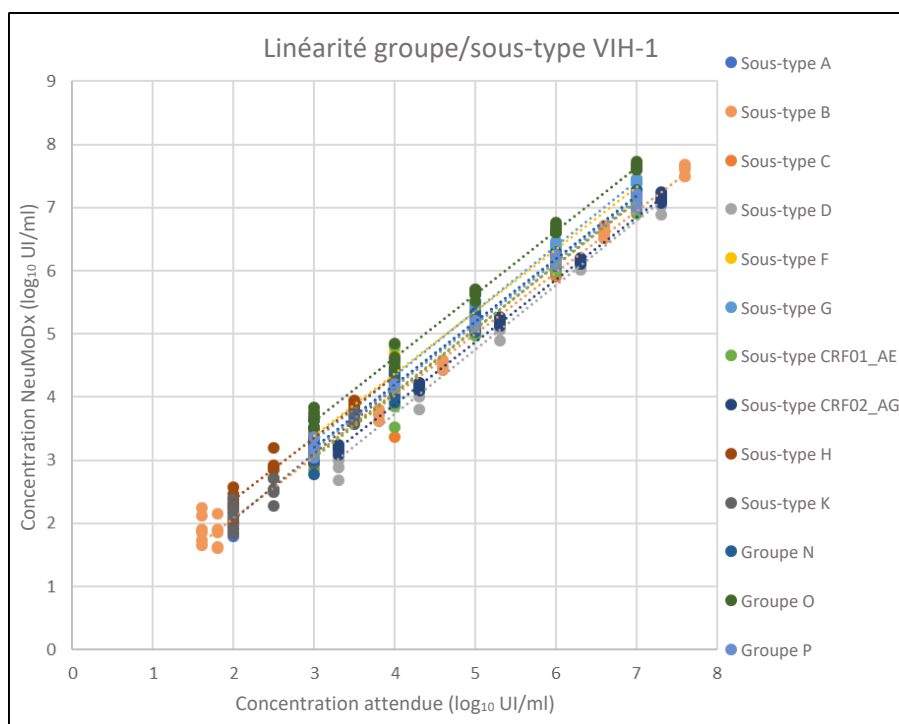
La linéarité et la limite de quantification supérieure (Upper Limit of Quantitation, ULoQ) du NeuMoDx HIV-1 Quant Assay ont été établies en préparant une série de dilution de VIH-1 issu du The External Quality Assurance Program Oversight Laboratory (Duke University, NC, États-Unis), AccuPlex™ Recombinant HIV/HCV Control (Seracare, MA, États-Unis) et HIV-1 RNA Working Reagent 2 pour dosages d'acide nucléique (Nucleic Acid Testing, NAT) (NIBSC). Un panel de neuf échantillons a été préparé dans du plasma avec EDTA négatif pour l'ARN du VIH-1 regroupé pour couvrir une plage de concentration de 7,70 à 1,70 log₁₀ UI/ml. Le NeuMoDx HIV-1 Quant Assay a prouvé sa capacité à quantifier le VIH-1 sur la plage linéaire de 6 log₁₀ avec une précision de ± 0,33 log₁₀ UI/ml d'après l'erreur type calculée par l'intervalle de confiance de 95 %. L'utilisation des courbes de régression de 2^e ou 3^e niveau n'a apporté aucun avantage notable. L'ULoQ a été déterminée avec les données issues de cette étude à **7,7 log₁₀ UI/ml**. Les concentrations des dosages de VIH-1 rapportées par le NeuMoDx System comparées aux valeurs attendues sont présentées sur la *figure 3*.


Figure 3 : plage linéaire du NeuMoDx HIV-1 Quant Assay
Sensibilité analytique – Linéarité pour les différents génotypes

La linéarité du NeuMoDx HIV-1 Quant Assay sur les groupes M (sous-types A, B, C, D, F, G, H, K, CRF01_AE, CRF02_AG), N, O et P du VIH-1 a été obtenue en testant au moins cinq (5) concentrations différentes de chaque groupe/sous-type de VIH-1 préparé dans du plasma avec EDTA négatif pour l'ARN du VIH-1 regroupé. Les niveaux de cible du VIH-1 testés dans cette étude dépendaient de la concentration de l'échantillon source et étaient donc différents selon les groupes/sous-types. Pour l'étude, chaque groupe/sous-type utilisait six (6) répliquats à chaque niveau. La linéarité a été démontrée sur les plages testées et est présentée dans le *tableau 4* et sur la *figure 4*.

Tableau 4 : linéarité du NeuMoDx HIV-1 Quant Assay sur les groupes M, N, O et P

Groupe	Sous-type	Équation de linéarité $y = \text{quantification du NeuMoDx HIV-1 Quant Assay (log}_{10} \text{ UI/ml)}$ $x = \text{quantification attendue (log}_{10} \text{ UI/ml)}$	R ²
M	A	$y = 1,0217x - 0,008$	0,9953
	B	$y = 0,9715x + 0,1442$	0,9933
	C	$y = 1,0055x + 0,0658$	0,9879
	D	$y = 1,0203x - 0,3554$	0,9941
	F	$y = 0,9872x + 0,4278$	0,9955
	G	$y = 1,0282x + 0,2223$	0,9970
	CRF01_AE	$y = 1,0163x - 0,0053$	0,9824
	CRF02_AG	$y = 0,99x - 0,0783$	0,9989
	H	$y = 0,9803x + 0,4187$	0,9730
	K	$y = 1,0441x - 0,0223$	0,9684
N		$y = 0,996x + 0,2117$	0,9876
O		$y = 1,0043x + 0,6167$	0,9942
P		$y = 0,9927x + 0,1903$	0,9974


Figure 4 : linéarité du NeuMoDx HIV-1 Quant Assay sur les sous-types

Spécificité analytique – Contaminants microbiens potentiellement interférents

La spécificité analytique du NeuMoDx HIV-1 Quant Assay a été évaluée en testant un panel de micro-organismes (*Tableau 5*) préparés dans du plasma avec EDTA négatif pour l'ARN du VIH-1 à des concentrations élevées pour la réactivité croisée. L'interférence potentielle a été évaluée avec le même panel de micro-organismes préparés dans du plasma avec EDTA ajouté de VIH-1 à 2,02 log₁₀ UI/ml. Aucune réactivité croisée n'a été observée, tous les échantillons microbiens négatifs au VIH-1 ayant donné des résultats négatifs. Tous les échantillons microbiens positifs au VIH-1 ont donné des résultats positifs, et aucune interférence notable n'a été observée dans ces échantillons comme l'a confirmé un écart minimal dans la quantification du VIH-1 rapportée par rapport aux échantillons de contrôle ne contenant aucun micro-organisme potentiellement interférent. Une autre réactivité croisée potentielle a été évaluée en comparant la séquence de nucléotides des séquences cibles du NeuMoDx HIV Quant Assay avec les génomes complets de 26 agents pathogènes supplémentaires (*Tableau 6*) à l'aide de l'outil Basic Local Alignment Search Tool (BLASTn) proposé par le Centre américain d'information sur la biotechnologie (National Center for Biotechnology Information, NCBI). L'analyse de comparaison de séquences n'a révélé aucune analogie entre les séquences cibles et les génomes examinés.

Tableau 5 : agents pathogènes testés pour la spécificité analytique

Micro-organisme potentiellement interférent
Virus de l'hépatite A
Virus de l'hépatite B
Virus de l'hépatite C
Virus du lymphome humain à cellules T de type 1 (HTLV-1)
Virus du lymphome humain à cellules T de type 2 (HTLV-2)
Virus de l'immunodéficience humaine de type 2 (VIH-2)
Virus de l'immunodéficience simienne (VIS)
Virus d'Epstein-Barr

Tableau 6 : micro-organismes inclus dans l'analyse d'alignement des séquences BLASTn

Micro-organisme	Numéro(s) d'accès	Micro-organisme	Numéro(s) d'accès
Adénovirus de type 12	X73487.1	Herpèsvirus humain 5	GQ221974.1 KR534211.1 GQ221975.1 NC_006273.2
Polyomavirus BK	AB369101.1 NC_001538.1 AB369092.1	Herpèsvirus humain 7	AF037218.1 NC_001716.2
<i>Chlamydia trachomatis</i>	CP018052.1 CP017731.1	Herpèsvirus humain 8	NC_009333.1
<i>Cutibacterium acnes</i>	NZ_CP006032.1	Papillomavirus humain de type 18	NC_001357.1 MF288723.1
Virus de la dengue	KR919821.1 KR052012.1	Papillomavirus humain de type 16	KY549222.1 KY549321.1
Virus herpes simplex de type 2	Z86099.2	Parvovirus humain B19	KX752821.1 MH201456.1
Adénovirus humain 2	J01917.1 AC_000007.1	Grippe A (tous segments)	MN253846.1 MH797924.1 MH842686.1 MN037420.1
Adénovirus humain 5	KX868466.2 AC_000008.1 AY601635.1	Virus JC	J02226.1 AB081030.1
Adénovirus humain C	AY339865.1	<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	CP034022.1 CP041586.1
Bêta-herpèsvirus humain 6A	NC_001664.4 X83413.2	<i>Propionibacterium acnes C1</i>	CP003877.1
Herpèsvirus humain 1	X14112.1 JQ780693.1	<i>Staphylococcus aureus</i>	AP017922.1
Herpèsvirus humain 2	LT797626.1 JN561323.2	<i>Staphylococcus saprophyticus</i>	AP008934.1
Herpèsvirus humain 3	DQ479962.1 KC847290.1	Virus du Nil occidental	M12294.2 MF797870.1

Spécificité analytique – Substances endogènes et exogènes potentiellement interférentes

Le NeuMoDx HIV-1 Quant Assay a été évalué pour sa sensibilité aux interférences des médicaments couramment prescrits aux patients infectés par le VIH-1, aux taux élevés de substances endogènes et à la présence de maladies auto-immunes. On a ajouté à du plasma avec EDTA négatif pour l'ARN du VIH-1 dépisté 3 log₁₀ UI/ml de VIH-1 et de l'albumine (120 mg/ml), de la bilirubine (0,03 mg/ml), de l'hémoglobine (3,5 mg/ml), des triglycérides (5,3 mg/ml) ainsi que des composants médicamenteux (Tableau 7) à trois fois la C_{max}. Le plasma au stade de la maladie pour le lupus érythémateux disséminé (LED), les anticorps antinucléaires (AAN) et la polyarthrite rhumatoïde (PR) ont également été dépistés comme négatifs et enrichis de 3 log₁₀ UI/ml de VIH-1 pour le test. Aucune interférence notable n'a été observée. Les résultats de l'étude sont présentés dans le tableau 8.

Tableau 7 : composants médicamenteux testés pour leur interférence

Classification du médicament	Nom du médicament
Immunomodulateur	Interféron alfa-2a, interféron alfa-2b, ribavirine
Antagoniste du CCR5	Maraviroc
Amplificateur pharmacocinétique	Cobicistat
Inhibiteur non nucléosidique de la transcriptase inverse (INNTI)	Doravirine, éfavirenz, névirapine, rilpivirine
Inhibiteur de protéase (IP)	Darunavir, amprénavir, ritonavir, saquinavir, siméprévir
Inhibiteur nucléosidique de la transcriptase inverse (INTI) ou inhibiteur de l'ADN polymérase	Cidofovir, lamivudine, ganciclovir, ténofovir disoproxil, zidovudine, valganciclovir, sulfate d'abacavir, emtricitabine, entécavir, foscarnet, sofosbuvir
Inhibiteur de l'intégrase	Raltégravir, dolutégravir
Inhibiteur de fusion	Enfuvirtide
Traitement d'infection opportuniste	Azithromycine, clarithromycine, fluconazole, sulfaméthoxazole, triméthoprime

Tableau 8 : résumé du test d'interférence – Agents exogènes et endogènes

Endogène	Moyenne [HIV-1] (log ₁₀ UI/ml)	Biais (log ₁₀ UI/ml)
Albumine	3,03	-0,11
Bilirubine	3,04	-0,09
Hémoglobine	3,04	-0,09
Triglycérides	3,14	0,01
Exogènes (médicaments)	Moyenne [HIV-1] (log ₁₀ UI/ml)	Biais (log ₁₀ UI/ml)
Pool 1 : Interféron alfa-2a, interféron alfa-2b, ribavirine, maraviroc, cobicistat	3,06	-0,07
Pool 2 : Raltégravir, dolutégravir, éfavirenz, névirapine, rilpivirine	3,04	-0,09
Pool 3 : Doravirine, darunavir, amprénavir, ritonavir, saquinavir	3,11	-0,02
Pool 4 : Siméprévir, enfuvirtide, sulfate d'abacavir, emtricitabine, entécavir, foscarnet	3,12	-0,01
Pool 5 : Cidofovir, lamivudine, ganciclovir, ténofovir disoproxil, zidovudine, valganciclovir	3,14	0,01
Pool 6 : Sofosbuvir, azithromycine, clarithromycine, fluconazole, sulfaméthoxazole, triméthoprime	3,13	0
Stade de la maladie	Moyenne [HIV-1] (log ₁₀ UI/ml)	Biais (log ₁₀ UI/ml)
Lupus érythémateux systémique (LES)	3,00	-0,13
Anticorps antinucléaire (AAN)	3,10	-0,03
Polyarthrite rhumatoïde (PAR)	3,25	0,12

Précision

La précision du NeuMoDx HIV-1 Quant Assay a été déterminée en testant un panel de quatre échantillons de VIH-1 préparés dans du plasma négatif au VIH-1 (comportant le sous-type B et le groupe O du VIH-1 de l'EQAPOL, Duke University) sur trois (3) NeuMoDx Systems pendant six (6) jours. Au total, 12 analyses ont été effectuées sur chaque système pour chaque niveau d'échantillon, donnant 216 réplicats par niveau sur l'ensemble du test. Les précisions intra-analyse, intrajournalière et intrasystème ont été caractérisées, et un écart-type global ≤ 0,15 log₁₀ UI/ml a été déterminé. Aucune différence notable n'a été observée en matière de performances entre les systèmes, les jours ou les analyses comme indiqué dans le tableau 9. La précision interopérateurs n'a pas été caractérisée, car l'opérateur ne joue pas un rôle prépondérant dans le traitement des échantillons avec le NeuMoDx System.

Tableau 9 : précision intralaboratoire – NeuMoDx HIV-1 Quant Assay sur les NeuMoDx Systems

	Conc. cible (log ₁₀ UI/ml)	Conc. moy. (log ₁₀ UI/ml)	ÉT intrasystème	ÉT intrajournalier	ÉT intra- analyse	ÉT (global) intralaboratoire
Sous-type B	5,7	5,62	0,09	0,09	0,09	0,10
	3,7	3,62	0,10	0,10	0,10	0,13
Groupe O	4,7	4,65	0,09	0,09	0,09	0,12
	2,7	2,66	0,13	0,13	0,12	0,15

Écart d'un lot à l'autre

La reproductibilité d'un lot à l'autre du NeuMoDx HIV-1 Quant Assay a été vérifiée par une analyse rétrospective des données du test de qualité pour trois (3) lots distincts de réactifs critiques. Ces données ont été générées par un test fonctionnel des réactifs sur un panel de trois échantillons de cible VIH (AccuPlex Recombinant HIV/HCV Control) dans du plasma négatif pour l'ARN du VIH-1, et avec des échantillons de plasma négatifs. Au total, 18 répliquats positifs et 14 négatifs ont été traités par lot de NeuMoDx HIV-1 Quant Test Strip. L'écart dans et entre les lots a été analysé et est présenté dans le *tableau 10*. Le biais absolu global ne dépassait pas 0,14 log₁₀ UI/ml et l'écart-type global était inférieur à 0,25 log₁₀ UI/ml. Aucune différence notable n'a été observée en matière de performances entre les lots, car la quantification de tous les éléments du panel était dans la spécification de tolérance.

Tableau 10 : Reproductibilité interlots – NeuMoDx HIV-1 Quant Assay

Conc. cible (log ₁₀ UI/ml)	Conc. moyenne Globale (log ₁₀ UI/ml)	Nombre de tests valides	Biais (log ₁₀ UI/ml)	ÉT interlots	ÉT intralot	ÉT global
5,00	4,96	18	0,04	0,08	0,08	0,12
3,00	2,86	17	0,14	0,12	0,18	0,22
2,00	1,92	18	0,08	0,17	0,14	0,22

Efficacité du contrôle

Un contrôle des processus de traitement des échantillons (Sample Process Control, SPC2) est inclus dans le NeuMoDx HIV-1 Quant Assay pour rapporter les défaillances de traitement et/ou d'amplification. L'efficacité de ce contrôle interne a été testée sur le NeuMoDx HCV Quant Assay analogue dans des conditions représentatives des défaillances affectant les étapes de traitement critiques susceptibles de se produire lors du traitement de l'échantillon et qui pourraient ne pas être détectées par les capteurs de contrôle des performances du NeuMoDx System. Des échantillons positifs modérés et négatifs ont été analysés pour tester le contrôle interne en présence d'inhibiteurs de réaction, sans NeuMoDx Wash Reagent et sans expulsion de la solution de lavage. Les conditions qui avaient un effet indésirable sur la détection de la cible apparaissaient également dans la détection du SPC2, comme indiqué ci-dessous dans le *tableau 11*. Tous les scénarios testés ont prouvé la capacité du contrôle des processus de traitement des échantillons (Sample Process Control, SPC) à surveiller correctement les défaillances ou à faire en sorte que les défaillances non détectées n'aient aucune incidence notable sur la détection et la quantification de la cible.

Tableau 11 : résumé de l'étude sur l'efficacité du contrôle des processus de traitement des échantillons

Condition de défaillance simulée	Statut d'amplification SPC2	Statut d'amplification de la cible	Résultat du dosage
Presence of Inhibitor (Présence d'inhibiteur)	Not Amplified (Non amplifié)	Not Amplified (Non amplifié)	Unresolved (Non résolu)
No Wash Reagent Delivered (Pas d'expulsion de réactif de lavage)	Not Amplified (Non amplifié)	Not Amplified (Non amplifié)	Unresolved (Non résolu)
No Wash Blowout (Pas d'expulsion de la solution de lavage)	Amplified (Amplifié)	Amplified (Amplifié)	Positive, ± 0.3 log ₁₀ UI/ml of Control (Positif, ± 0,3 log ₁₀ UI/ml de contrôle)

Contamination croisée

Le taux de contamination croisée pour le NeuMoDx HIV-1 Quant Assay a été déterminé en réalisant six (6) analyses alternant des échantillons de VIH-1 fortement positifs et négatifs. Au total, 36 répliquats négatifs et 36 répliquats de VIH-1 fortement positifs à 6,0 log₁₀ UI/ml ont été traités sur une plaque de microtitration. Les répliquats des échantillons négatifs ont tous été négatifs, indiquant l'absence de contamination croisée lors du traitement des échantillons sur le NeuMoDx System.

Équivalence des matrices d'échantillons

Des tests ont été effectués pour démontrer l'équivalence de la matrice des échantillons entre le sang total prélevé dans des tubes d'échantillon contenant de l'EDTA et de l'ACD pour la préparation du plasma. Des tests supplémentaires ont été effectués pour déterminer l'équivalence entre les échantillons de plasma frais et congelés (prélevés dans les deux types de tubes). Les échantillons frais étaient conservés entre 2 et 4 °C avant qu'on y ajoute quatre niveaux de VIH-1 (y compris un niveau négatif) pour couvrir la plage quantitative du NeuMoDx HIV-1 Quant Assay puis testés pour l'équivalence. Ensuite, les échantillons ont été congelés pendant au moins 24 heures à ≤ -20 °C. Après cette congélation, les échantillons ont été décongelés puis de nouveau testés. Les résultats des échantillons EDTA vs ACD et frais vs congelés de plasma ont été comparés pour déterminer l'équivalence par analyse de régression. Les résultats de l'analyse des données de régression linéaire n'ont révélé aucune différence importante de valeurs entre les échantillons de plasma avec EDTA et ACD ou entre les échantillons frais et congelés testés avec le NeuMoDx HIV-1 Quant Assay.

Des tests supplémentaires ont été réalisés pour démontrer l'équivalence des performances du NeuMoDx HIV-1 Quant Assay sur les échantillons primaires vs secondaires. Des panels d'échantillons de donneur négatif au VIH-1 ajoutés de cible de VIH-1 (AccuPlex Recombinant HIV/HCV Control) et d'échantillons de donneur positif au VIH-1 ont d'abord été traités dans des tubes de prélèvement primaires. Après ce traitement, le plasma restant de chaque échantillon a été aliquoté dans un tube à échantillon secondaire puis retraité. Aucune différence notable n'a été observée dans les résultats entre le traitement du plasma dans un tube primaire et dans un tube secondaire.

Comparaison des méthodes cliniques

Les performances qualitatives et quantitatives du NeuMoDx HIV-1 Quant Assay ont été comparées à celles d'un dosage comparable autorisé par la FDA/portant le marquage CE-IVD. Les tests internes ont été réalisés dans une étude en simple aveugle d'échantillons de plasma restant anonymisés, obtenus auprès d'un fournisseur déclaré à la FDA. Au total, 723 échantillons de plasma ont été traités avec le NeuMoDx HIV-1 Quant Assay sur plusieurs NeuMoDx Systems. Tous les échantillons qui avaient d'abord donné un résultat non valide ont été de nouveau traités avec succès, tous les échantillons de l'étude ont ainsi donné des résultats valides.

Les erreurs de traitement et de système rencontrées au cours des tests étaient minimales et demeuraient dans les critères d'acceptation. Au total, douze (12) résultats indéterminés (IND) et sept (7) non résolus (UNR) ont donné un taux de résultat indéterminé de 1,48 % (IC à 95 % : 0,85-2,57 %) et un taux de résultat non résolu de 0,86 % (IC à 95 % : 0,42-1,77 %). Le taux de résultat valide total était de 97,7 % (IC à 95 % : 96,4-98,5 %).

Sur les 723 résultats valides obtenus, 165 ont été positifs sur le NeuMoDx HIV-1 Quant Assay avec des valeurs de concentration correspondantes attribuées par les tests de référence. Les analyses de régression de Deming et de Passing-Bablok ont permis de corréler les valeurs de concentration fournies par le NeuMoDx HIV-1 Quant Assay avec les valeurs fournies par les tests de référence.

Les graphiques de régression et de résiduel ont été générés pour représenter la corrélation entre les concentrations du NeuMoDx HIV-1 Quant Assay et les valeurs de concentrations des tests de référence pour tous les échantillons testés avec les concentrations attribuées par les deux. Les graphiques générés avec l'analyse de Deming et l'analyse de Passing-Bablok apparaissent sur les *figures 5 et 6*, respectivement. La qualité de la courbe de régression de Deming est illustrée par un coefficient de pente de 0,975 (IC à 95 % : 0,939, 1,011) et un point d'intersection (biais) de -0,121 (IC à 95 % : -0,276, 0,033), démontrant ainsi que les résultats de concentration obtenus avec le NeuMoDx HIV-1 Quant Assay et les tests de référence sont fortement corrélés avec un biais acceptable. La qualité de la courbe linéaire de Passing-Bablok est illustrée par un coefficient de pente de 0,981 (IC à 95 % : 0,950, 1,012) et un point d'intersection (biais) de -0,167 (IC à 95 % : -0,288, -0,036), démontrant également que les résultats de concentration obtenus entre le NeuMoDx HIV-1 Quant Assay et les tests de référence sont fortement corrélés avec un biais acceptable. Les résultats des analyses de Deming et de Passing-Bablok sont présentés ci-dessous dans le *tableau 12*.

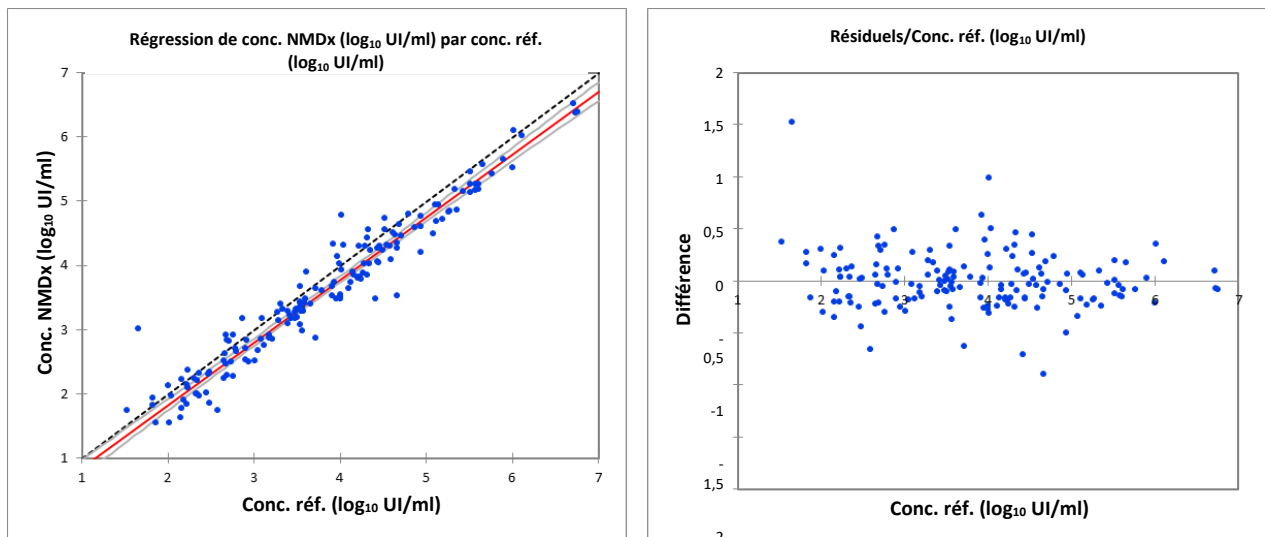


Figure 5 : graphiques d'équivalence (à gauche) et de résiduel (à droite) – Analyse cumulative du NeuMoDx HIV-1 Quant Assay vs tests de référence – Analyse de Deming

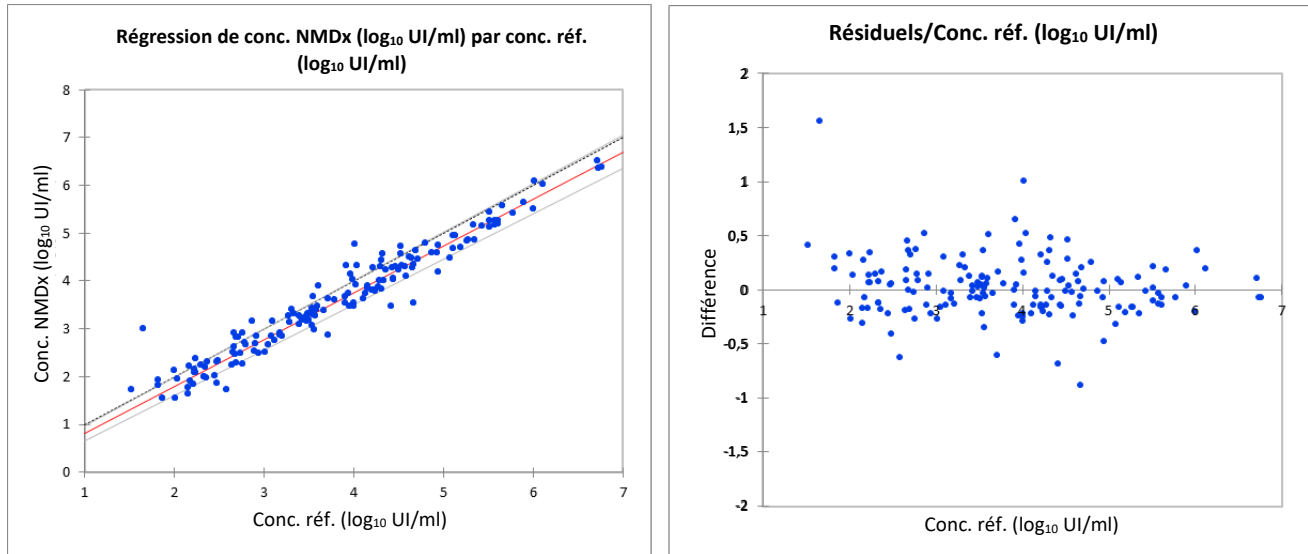


Figure 6 : graphiques d'équivalence (à gauche) et de résiduel (à droite) – Analyse cumulative du NeuMoDx HIV-1 Quant Assay vs tests de référence – Analyse de Passing-Bablok

Tableau 12 : Synthèse des analyses de régression linéaire de Deming et de Passing-Bablok

Analyse de Deming		Analyse de Passing-Bablok	
Ordonnée à l'origine	Pente	Ordonnée à l'origine	Pente
-0,121	0,975	-0,167	0,981
IC à 95 % (-0,276, 0,033)	IC à 95 % (0,939, 1,011)	IC à 95 % (-0,288, -0,036)	IC à 95 % (0,950, 1,012)

Sur les 723 résultats valides obtenus avec le NeuMoDx HIV-1 Quant Assay, 171 ont été rapportés positifs par les tests de référence et 552 ont été rapportés négatifs. La sensibilité et la spécificité du NeuMoDx HIV-1 Quant Assay ont été calculées par rapport aux tests de référence et sont présentées ci-dessous dans le *tableau 13*. Sur les 171 échantillons positifs testés, 165 ont aussi été rapportés positifs par le NeuMoDx HIV-1 Quant Assay, donnant une sensibilité de 96,5 % (IC à 95 % : 92,6-98,4 %). Sur les 552 échantillons négatifs testés, 551 ont été rapportés négatifs par le NeuMoDx HIV-1 Quant Assay, donnant une sensibilité de 99,8 % (IC à 95 % : 99,0-100 %).

Tableau 13 : résultats de la comparaison des méthodes qualitatives pour le NeuMoDx HIV-1 Quant Assay vs tests de référence

		Test de référence			
		HIV-1	Positive (Positif)	Negative (Négatif)	Total
NeuMoDx	Positive (Positif)		165	1	166
	Negative (Négatif)		6	551	557
	Total		171	552	723
		Sensibilité = 96,5 % (IC à 95 % 92,6–98,4 %)			
		Spécificité = 99,8 % (IC à 95 % 99,0–100 %)			

De plus, un total de 12 panels de séroconversion du commerce, dont 75 échantillons de plasma individuels, ont été traités avec le NeuMoDx HIV-1 Quant Assay afin de démontrer la détection de l'ARN du VIH-1 avant celle des anticorps/antigènes avec des tests du commerce. Des éléments du panel de pré-séroconversion, de séroconversion précoce et de séroconversion ont été intégrés à l'analyse. L'analyse a été effectuée pour comparer le premier échantillon dans lequel l'ARN du VIH-1 est détecté par le NeuMoDx HIV-1 Quant Assay avec le premier échantillon positif pour les anticorps/antigènes du VIH-1 (Ab/Ag) rapporté par des tests sanguins autorisés par la FDA/marqués CE-IVD. Pour tous les panels testés, le NeuMoDx HIV-1 Quant Assay a détecté l'ARN du VIH-1 au moins un échantillon plus tôt que les tests sanguins de détection des anticorps/antigènes. Les résultats sont présentés dans le *tableau 14*.

Tableau 14 : comparaison des panels de séroconversion – NeuMoDx HIV-1 Quant Assay vs test sanguin pour Ab/Ag VIH-1

ID du panel	Jour d'échantillon avec premier résultat positif	
	NeuMoDx HIV-1 Quant Assay	Test sanguin pour Ab/Ag VIH-1
PRB969	4	7
PRB968	5	7
0600-0230	2	4
0600-0270	2	3
0600-0258	2	3
0600-0244 (PRB962)	3	5
0600-0272	3	4
PRB967	2	4
PRB964	3	6
PRB963	4	6
0600-0263	5	7
PRB956	2	4

D'autres analyses ont été effectuées pour comparer le premier échantillon dans lequel l'ARN du VIH-1 est détecté par le NeuMoDx HIV-1 Quant Assay avec le premier échantillon positif pour l'ARN du VIH-1 rapporté par des tests d'acide nucléique (Nucleic Acid Testing, NAT) autorisés par la FDA/marqués CE-IVD. Pour tous les panels testés, le NeuMoDx HIV-1 Quant Assay a détecté l'ARN du VIH-1 dans le même échantillon que les tests NAT de détection de l'ARN du VIH-1. Dans deux panels, le NeuMoDx HIV-1 Quant Assay a détecté l'ARN du VIH-1 un échantillon plus tôt que les tests NAT. Les résultats sont présentés dans le *tableau 15*.

Tableau 15 : comparaison des panels de séroconversion – NeuMoDx HIV-1 Quant Assay vs test NAT pour l'ARN du VIH-1

ID du panel	Jour d'échantillon avec premier résultat positif	
	NeuMoDx HIV-1 Quant Assay	NAT de référence
PRB969	4	4
PRB968	5	5
0600-0230	2	2
0600-0270	2	2
0600-0258	2	2
0600-0244 (PRB962)	3	3
0600-0272	3	3
PRB967	2	2
PRB964	3	4
PRB963	4	5
0600-0263	5	5
PRB956	2	2

RÉFÉRENCES

1. Barré-sinoussi F, Ross AL, Delfraissy JF. Past, present and future: 30 years of HIV research. *Nat Rev Microbiol.* 2013;11(12):877-83.
2. Piot P, Plummer FA, Mhalu FS, Lamboray JL, Chin J, Mann JM. AIDS: an international perspective. *Science.* 1988;239(4840):573-9.
3. Acheson ED. AIDS: a challenge for the public health. *Lancet.* 1986;1(8482):662-6.
4. De Cock KM, Jaffe HW, Curran JW. The evolving epidemiology of HIV/AIDS. *AIDS.* 2012;26(10):1205-13.
5. Gaines H, Von sydow MA, Von stedingk LV, et al. Immunological changes in primary HIV-1 infection. *AIDS.* 1990;4(10):995-9.
6. Pantaleo G, Graziosi C, Fauci AS. The immunopathogenesis of human immunodeficiency virus infection. *N Engl J Med.* 1993;328(5):327-35.
7. Daar ES, Moudgil T, Meyer RD, Ho DD. Transient high levels of viremia in patients with primary human immunodeficiency virus type 1 infection. *N Engl J Med.* 1991;324(14):961-4.
8. Clark SJ, Saag MS, Decker WD, et al. High titers of cytopathic virus in plasma of patients with symptomatic primary HIV-1 infection. *N Engl J Med.* 1991;324(14):954-60.
9. Coombs RW, Collier AC, Allain JP, et al. Plasma viremia in human immunodeficiency virus infection. *N Engl J Med.* 1989;321(24):1626-31.
10. Horsburgh CR, Ou CY, Jason J, et al. Duration of human immunodeficiency virus infection before detection of antibody. *Lancet.* 1989;2(8664):637-40.
11. Piatak M, Saag MS, Yang LC, et al. High levels of HIV-1 in plasma during all stages of infection determined by competitive PCR. *Science.* 1993;259(5102):1749-54.
12. 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(21):2349-50.
13. Panel on Antiretroviral Guidelines for Adults and Adolescents. Guidelines for the Use of Antiretroviral Agents in Adults and Adolescents with HIV. Department of Health and Human Services. Available at <http://www.aidsinfo.nih.gov/ContentFiles/AdultandAdolescentGL.pdf>. Updated December 18, 2019.
14. Cohen MS, Chen YQ, Mccauley M, et al. Prevention of HIV-1 infection with early antiretroviral therapy. *N Engl J Med.* 2011;365(6):493-505.
15. Ho DD, Neumann AU, Perelson AS, Chen W, Leonard JM, Markowitz M. Rapid turnover of plasma virions and CD4 lymphocytes in HIV-1 infection. *Nature.* 1995;373(6510):123-6.
16. Wei X, Ghosh SK, Taylor ME, et al. Viral dynamics in human immunodeficiency virus type 1 infection. *Nature.* 1995;373(6510):117-22.
17. Dimitrov DS, Martin MA. HIV results in the frame. CD4+ cell turnover. *Nature.* 1995;375(6528):194-5.
18. Centers for Disease Control and Prevention. Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories, 5th edition. HHS Publication No. (CDC) 21-1112, Revised December 2009.
19. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Protection of Laboratory Workers from Occupationally Acquired Infections; Approved Guideline – Fourth Edition. CLSI document M29-A4; May 2014.

MARQUES COMMERCIALES

NeuMoDx™ et NeuDry™ sont des marques commerciales de NeuMoDx Molecular, Inc.

AccuPlex™ est une marque de commerce de SeraCare Life Sciences, Inc.



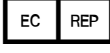











BD Vacutainer® est une marque déposée de Becton, Dickinson and Company

BD et PPT™ sont des marques de commerce de Becton, Dickinson and Company

TaqMan® est une marque déposée de Roche Molecular Systems, Inc.

Tous les autres noms de produits, marques commerciales et marques déposées pouvant figurer dans ce document appartiennent à leurs propriétaires respectifs.

SYMBOLES

SYMBOLE	SIGNIFICATION
R only	Sur ordonnance uniquement
	Fabricant
	Dispositif médical de diagnostic <i>in vitro</i>
	Représentant autorisé au sein de la Communauté européenne
	Numéro de référence
	Code de lot
	À utiliser avant
	Limite de température
	Limites d'humidité
	Ne pas réutiliser
	Contient des éléments suffisants pour <n> tests
	Consulter le mode d'emploi
	Attention
	Risques biologiques
	Marquage CE

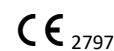


NeuMoDx Molecular, Inc.
1250 Eisenhower Place
Ann Arbor, MI 48108, USA

Promoteur (AUS) :
QIAGEN Pty Ltd
Level 2 Chadstone Place
1341 Dandenong Rd
Chadstone VIC 3148
Australie



Emergo Europe B.V.
Westervoortsedijk 60
6827 AT Arnhem
The Netherlands



Support technique / Pour obtenir de l'aide : support@qiagen.com

Brevet : www.neumodx.com/patents