

Test quant. Aptima® CMV

Pour diagnostic *in vitro*

Réservé à l'exportation américaine

| | |
|---|-----------|
| Informations générales | 2 |
| Usage prévu | 2 |
| Résumé et explication du test | 2 |
| Principe de la procédure | 2 |
| Avertissements et précautions | 3 |
| Conditions de conservation et de manipulation des réactifs | 6 |
| Prélèvement et conservation des échantillons | 8 |
| Échantillons à bord du Panther System | 11 |
| Transport des échantillons | 11 |
| Panther System | 12 |
| Réactifs et matériels fournis | 12 |
| Matériel requis, mais disponible séparément | 14 |
| Matériel facultatif | 15 |
| Procédure de test pour le Panther System | 15 |
| Remarques concernant la procédure | 22 |
| Contrôle de qualité | 23 |
| Étalonnage du test | 23 |
| Contrôles négatifs et positifs | 23 |
| Calibrateur interne/Contrôle interne | 23 |
| Interprétation des résultats | 24 |
| Limites | 25 |
| Performance | 26 |
| Limite de détection avec le 1er étalon de référence international de l'OMS | 26 |
| Limite de détection pour tous les génotypes du CMV | 28 |
| Plage linéaire | 29 |
| Linéarité pour les différents génotypes du CMV | 31 |
| Limite inférieure de quantification (LLoQ) avec le 1er étalon de référence international de l'OMS | 33 |
| Détermination de la limite inférieure de quantification pour tous les génotypes du CMV | 36 |
| Reproductibilité | 40 |
| Substances potentiellement interférentes | 41 |
| Spécificité | 42 |
| Spécificité analytique | 43 |
| Corrélation de la méthode | 44 |
| Contamination de transfert | 45 |
| Bibliographie | 46 |

Informations générales

Usage prévu

Le test Aptima CMV Quant est un test d'amplification de l'acide nucléique in vitro conçu pour la quantification de l'ADN du cytomegalovirus dans le plasma EDTA et le sang total humains sur le système entièrement automatisé Panther system.

Le test Aptima CMV Quant est prévu pour faciliter le diagnostic et la prise en charge des patients ayant fait l'objet d'une transplantation d'organes solides et d'une transplantation de cellules souches hématopoïétiques.

L'utilisation du test Aptima CMV Quant n'est pas indiquée pour le dépistage de la présence du CMV dans le sang ou les produits sanguins.

Résumé et explication du test

Le CMV humain est un virus ubiquitaire à ADN double brin linéaire de 240 kb qui appartient à la famille de l'herpès. Selon la population étudiée et la région géographique, la séroprévalence du CMV varie entre 45 et 100 % dans le monde.^{1,2} Chez les hôtes immunocompétents, l'infection à CMV est généralement asymptomatique et auto-limitée. Cependant, chez les personnes immuno-déprimées, comme les patients greffés et les personnes infectées par le virus de l'immunodéficience humaine, le CMV est une cause importante de morbidité et de mortalité.

Comme les autres virus de l'herpès, après la primo-infection, le CMV est responsable d'une infection latente à vie, qui peut se réactiver sporadiquement. Chez les patients greffés, le transfert du CMV latent dans le greffon ou la réactivation d'une infection latente à CMV dans l'hôte peut entraîner une réplication et une dissémination virale généralisée à plusieurs organes, souvent mortelles.³

Le test quantitatif d'amplification de l'acide nucléique constitue la meilleure méthode de surveillance de l'infection à CMV et de la maladie chez les patients greffés, car il est rapide et sensible.⁴ Les directives récentes recommandent une surveillance au moins hebdomadaire de la charge virale du CMV pour orienter la décision mise en place d'un traitement anti-CMV et pour surveiller la réponse au traitement.^{5,6,8} Les valeurs de charge virale plus élevées correspondent généralement à un risque accru de maladie à CMV.^{4,9} ; ainsi, la quantification de l'ADN du CMV associée au tableau clinique et à d'autres marqueurs biologiques est cruciale dans la prise en charge des patients atteints d'infection à CMV.

Principe de la procédure

Le test Aptima CMV Quant est un test d'amplification de l'acide nucléique in vitro qui utilise la technologie d'amplification médiée par la transcription (TMA) en temps réel sur le système Panther system* pour quantifier l'ADN du CMV, de génotypes 1, 2, 3 et 4. La conception de l'amorce cible le gène UL56 hautement conservé pour assurer une quantification précise de l'ADN du CMV. Le test est standardisé sur le 1^{er} étalon de référence international de l'OMS (code NIBSC : 09/162) pour le cytomegalovirus humain²¹.

Le test Aptima CMV Quant comporte trois étapes principales, qui ont toutes lieu dans un seul tube sur le système Panther system : capture de la cible, amplification de la cible par TMA et détection des produits d'amplification (amplicons) par des sondes marquées par fluorescence (torches moléculaires).

*y compris les variantes du système Panther System.

Lors de la capture de cible, l'ADN viral est isolé à partir des échantillons. L'échantillon est traité avec un détergent pour solubiliser l'enveloppe virale, dénaturer les protéines et libérer l'ADN génomique viral. Les oligonucléotides de capture s'hybrident à des régions hautement conservées de l'ADN du CMV, si celui-ci est présent dans l'échantillon testé. La cible ainsi hybridée est ensuite capturée par des microparticules magnétiques et séparée du reste de l'échantillon par l'application d'un champ magnétique. Les étapes de lavage permettent d'éliminer les composants exogènes du tube de réaction.

L'amplification de la cible est réalisée par TMA, une méthode d'amplification de l'acide nucléique médiée par la transcription employant deux enzymes, la transcriptase inverse du virus de la leucémie murine de Moloney (MMLV) et l'ARN polymérase lors du T7. La transcriptase inverse permet de générer une copie d'ADN de la séquence cible (contenant une séquence promotrice pour l'ARN polymérase lors du T7). L'ARN polymérase lors du T7 produit plusieurs copies de l'amplicon de l'ARN à partir de la matrice d'ADN.

La détection se déroule en temps réel par l'hybridation spécifique sur l'amplicon de torches moléculaires d'acide nucléique simple brin présentes pendant la phase d'amplification de la cible. Chaque torche moléculaire est munie d'un fluorophore et d'un suppresseur (quencher). Lorsque la torche moléculaire n'est pas hybridée à l'amplicon, le suppresseur se trouve proche du fluorophore et inhibe la fluorescence. Lorsque la torche moléculaire s'hybride à l'amplicon, la distance entre le suppresseur et le fluorophore augmente ce qui émet un signal de longueur d'onde spécifique après excitation par une source lumineuse. L'intensité du signal fluorescent augmente avec le nombre de torches moléculaires hybridées à l'amplicon. La durée nécessaire pour que le signal de fluorescence atteigne un seuil spécifique est proportionnelle à la concentration initiale en CMV. Chaque réaction comprend un calibrateur interne/contrôle interne (IC) qui détecte des différences lors du traitement des échantillons, d'amplification et de détection. La concentration d'un échantillon est calculée par le logiciel du Panther system à l'aide des signaux obtenus pour le CMV et l'IC pour chaque réaction et en les comparant aux données d'étalonnage.

Les résultats du test sont convertis de copies/mL en UI/mL grâce à une équation de facteur de conversion intégrée au logiciel Panther. L'équation de facteur de conversion est la même pour les échantillons de sang total et de plasma. Un facteur de dilution de 4 est appliqué aux résultats de charge virale en CMV pour les échantillons de sang total lorsque le facteur de conversion de sang total est sélectionné sur le système Panther.

Avertissements et précautions

- A. Pour diagnostic *in vitro*.
- B. Réservé aux professionnels.
- C. Pour réduire le risque d'obtention de résultats non valides, lire attentivement l'ensemble de la notice du test et le *Manuel de l'opérateur du Panther System* avant d'effectuer ce test.

Recommandations destinées aux laboratoires

- D. PRÉCAUTION : les contrôles de ce test contiennent du plasma humain. Le plasma est négatif pour l'antigène de surface de l'hépatite B (HBsAg), les anticorps contre le VHC, les anticorps contre le VIH-1 et le VIH-2, et l'antigène du VIH lorsque testé selon les procédures approuvées par la Food and Drug Administration des États-Unis. De plus, ce plasma est non réactif pour l'ADN du CMV, l'ADN du VHB, l'ARN du VHC et l'ARN du VIH-1 lorsqu'analysés sous la forme d'échantillons groupés avec des tests de détection de l'acide nucléique homologués. Tout produit dérivé du sang humain doit être considéré comme potentiellement infectieux et manipulé avec les précautions universelles.^{10,11,12}

- E. Cette procédure doit être réalisée uniquement par du personnel dûment formé à l'utilisation du test Aptima CMV Quant et à la manipulation de produits potentiellement infectieux. En cas de déversement, désinfecter immédiatement conformément aux procédures appropriées de l'établissement.
- F. N'utiliser que le matériel de laboratoire jetable fourni ou recommandé.
- G. Respecter les précautions de laboratoire habituelles. Ne pas pipeter avec la bouche. Ne pas manger, boire, ni fumer dans les zones de travail signalées. Porter des gants jetables sans poudre, des lunettes de protection et des blouses de laboratoire pour manipuler les échantillons et les réactifs du kit. Se laver soigneusement les mains après avoir manipulé les échantillons et les réactifs du kit.
- H. Les plans de travail, les pipettes et les autres matériels doivent être régulièrement décontaminés avec une solution d'hypochlorite de sodium entre 2,5 % et 3,5 % (0,35 M à 0,5 M).
- I. Jeter tout le matériel ayant été en contact avec des échantillons ou des réactifs conformément aux réglementations locales, régionales et nationales.^{10,11,12,13} Nettoyer et désinfecter soigneusement tous les plans de travail.
- J. Les contrôles contiennent de l'azoture de sodium comme conservateur. Ne pas utiliser de tubes métalliques pour le transfert des réactifs. Les solutions contenant de l'azoture de sodium évacuées par le réseau de canalisations doivent être diluées ; rincer abondamment à l'eau après leur évacuation. Le respect de ces précautions évite l'accumulation de dépôts dans les canalisations métalliques, laquelle pourrait favoriser la création de conditions explosives.
- K. La surveillance de l'environnement fait partie des bonnes pratiques classiques de laboratoires de biologie moléculaire. La procédure suivante est suggérée pour surveiller l'environnement d'un laboratoire :
1. Associer un écouvillon à embout de coton au tube d'aliquote d'échantillon (SAT) Aptima.
 2. Étiqueter chaque SAT correctement.
 3. Remplir chaque SAT avec 1 mL de diluant d'échantillon Aptima.
 4. Pour prélever les échantillons de surface, humidifier légèrement un écouvillon avec de l'eau désionisée exempte de nucléases.
 5. Écouvillonner la surface d'intérêt par un mouvement vertical de haut en bas. Pivoter l'écouvillon d'environ un demi-tour pendant l'écouvillonnage.
 6. Introduire immédiatement l'échantillon sur écouvillon dans le tube et le faire tourner doucement dans le diluant pour en extraire les matières potentiellement écouvillonnées. Presser l'écouvillon contre le bord du tube de transport pour en extraire le maximum de liquide. Jeter l'écouvillon et fermer le tube.
 7. Répéter ces étapes pour les autres échantillons sur écouvillon.
 8. Analyser l'écouvillon avec un test moléculaire.

Recommandations concernant les échantillons

- L. Les échantillons peuvent présenter un risque infectieux. Appliquer les précautions universelles^{10,11,12} pour réaliser ce test. Des méthodes appropriées de manipulation et d'élimination des déchets doivent être établies selon la réglementation locale en vigueur.¹¹ Cette procédure doit être réalisée uniquement par des membres du personnel dûment formés à l'utilisation du test Aptima CMV Quant et à la manipulation de produits potentiellement infectieux.
- M. Maintenir des conditions de conservation appropriées pendant le transport des échantillons pour préserver leur intégrité. La stabilité des échantillons dans des conditions de transport autres que celles recommandées n'a pas été évaluée.
- N. Éviter toute contamination croisée lors des étapes de manipulation des échantillons. Veiller particulièrement à éviter toute contamination par la diffusion d'aérosols lors du débouchage ou de l'ouverture des échantillons. Les échantillons peuvent contenir des taux d'organismes très importants. Veiller à éviter tout contact entre les différents tubes d'échantillon et à ne pas passer au-dessus d'un récipient ouvert pour éliminer du matériel usagé. Changer de gants en cas de contact avec un échantillon.

Recommandations concernant les tests

- O. Ne pas utiliser le kit de réactifs, le calibrateur ou les contrôles après la date de péremption.
- P. Ne pas échanger, ni mélanger ou combiner les réactifs de test issus de kits dont les numéros de lot de référence sont différents. Les liquides de test peuvent provenir de numéros de lots différents. Les contrôles et le calibrateur peuvent provenir de numéros de lots différents.
- Q. Veiller à éviter de contaminer les réactifs par des agents microbiologiques ou des nucléases.
- R. Fermer et conserver tous les réactifs de test aux températures indiquées. La performance du test peut être affectée par l'utilisation de réactifs de test mal conservés. Voir *Conditions de conservation et de manipulation des réactifs* et *Procédure de test pour le Panther System* pour plus d'information.
- S. Ne pas combiner de réactifs de test ou de liquides de test sans consignes spécifiques. Ne pas rajouter de réactif ou de liquide dans les flacons. Le Panther System vérifie le niveau des réactifs.
- T. Éviter tout contact du TER avec la peau, les yeux et les muqueuses. Laver à l'eau en cas de contact avec ce réactif. En cas de déversements de ce réactif, diluer avec de l'eau et suivre les procédures appropriées du site.
- U. Certains réactifs de ce kit sont marqués avec des symboles de risque et de sécurité.

Remarque: La signalisation des risques reflète les classifications des fiches de données de sécurité (FDS) de l'UE. Pour obtenir des informations sur les mentions de danger spécifiques à votre région, consulter la FDS spécifique à la région dans la Safety Data Sheet Library (Bibliothèque des fiches de données de sécurité) à l'adresse www.hologicds.com

| Informations de l'UE sur les dangers | |
|---|--|
|  | <p>Contrôles du kit CMV <i>Plasma humain 95 à 100 %</i> <i>Azoture de sodium < 1 %</i></p> |
|  | <p>ATTENTION H312 - Nocif par contact cutané 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 lunettes de protection ou un écran facial</p> |
|  | <p>Réactif activateur de cible (Target Enhancer Reagent, TER) <i>Hydroxyde de lithium monohydraté 5-10 %</i></p> |
|  | <p>DANGER H302 - Nocif en cas d'ingestion H314 - Provoque des brûlures de la peau et des lésions oculaires graves P260 - Ne pas respirer la poussière, la fumée, le gaz, le brouillard, les vapeurs ou les aérosols P280 - Porter des gants, des vêtements, des lunettes, un écran facial P303 + P361 + P353 - EN CAS DE CONTACT AVEC LA PEAU (ou les cheveux) : enlever immédiatement les vêtements contaminés. Rincer la peau à l'eau ou se doucher P305 + P351 + P338 - EN CAS DE CONTACT AVEC LES YEUX : rincer délicatement 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 P310 - Appeler immédiatement un CENTRE ANTI-POISON ou un médecin</p> |

Conditions de conservation et de manipulation des réactifs

- A. Le tableau suivant présente les conditions de conservation et de stabilité pour les réactifs, les contrôles et le calibrateur.

| Réactif | Conservation non ouvert | Kit ouvert (reconstitué) | |
|--|-------------------------|--------------------------|--|
| | | Conservation | Stabilité |
| Réactif d'amplification qCMV | 2 °C à 8 °C | | |
| Solution de reconstitution de l'amplification qCMV | 2 °C à 8 °C | 2 °C à 8 °C | 30 jours ^a |
| Réactif enzymatique qCMV | 2 °C à 8 °C | | |
| Solution de reconstitution enzymatique qCMV | 2 °C à 8 °C | 2 °C à 8 °C | 30 jours ^a |
| Réactif promoteur qCMV | 2 °C à 8 °C | | |
| Solution de reconstitution du promoteur qCMV | 2 °C à 8 °C | 2 °C à 8 °C | 30 jours ^a |
| Réactif de capture de cible qCMV | 2 °C à 8 °C | 2 °C à 8 °C | 30 jours ^a |
| PCAL (Calibrateur positif) qCMV | -15 °C à -35 °C | 15 °C à 30 °C | Flacon à usage unique Utiliser dans les 24 heures |
| NC CONTROL (Contrôle négatif) qCMV | -15 °C à -35 °C | 15 °C à 30 °C | Flacon à usage unique Utiliser dans les 24 heures |
| LPC CONTROL (Contrôle positif faible) qCMV | -15 °C à -35 °C | 15 °C à 30 °C | Flacon à usage unique Utiliser dans les 24 heures |
| HPC CONTROL (Contrôle positif fort) qCMV | -15 °C à -35 °C | 15 °C à 30 °C | Flacon à usage unique Utiliser dans les 24 heures |
| Réactif activateur de cible qCMV | 15 °C à 30 °C | 15 °C à 30 °C | 30 jours ^a |

^a Lorsque des réactifs sont retirés du système Panther, veiller à les entreposer immédiatement à la bonne température de conservation.

- B. Jeter tous les réactifs reconstitués, le réactif de capture de cible (TCR) et le réactif activateur de cible (TER) non utilisés après 30 jours ou après la date de péremption du lot de référence, la première échéance prévalant.
- C. Les réactifs conservés à bord du Panther system sont stables pendant 96 heures. Les réactifs peuvent être chargés jusqu'à 8 fois dans le système Panther system. Le système Panther system enregistre le nombre de chargements des réactifs.
- D. Après décongélation du calibrateur, la solution doit être transparente, c.-à-d., elle ne doit pas être trouble ou contenir des précipités.
- E. Le réactif promoteur lyophilisé et le réactif promoteur reconstitué sont photosensibles. Protéger ces réactifs de la lumière lors de leur conservation et pendant la préparation avant de les utiliser.
- F. Le réactif activateur de cible doit être amené entre 15 °C et 30 °C avant son utilisation.

Prélèvement et conservation des échantillons

Remarque: Manipuler tout échantillon comme s'il était susceptible de contenir des agents potentiellement infectieux. Respecter les précautions universelles.

Remarque: Veiller à éviter toute contamination croisée pendant les étapes de manipulation des échantillons. Par exemple, veiller à ne pas passer au-dessus de tubes ouverts lors de l'élimination de matériels usagés.

Remarque: Seuls des tubes secondaires en plastique sont recommandés pour le stockage des échantillons.

Des échantillons de sang total prélevés dans les tubes en verre ou en plastique suivants peuvent être utilisés pour préparer le plasma :

- Tubes contenant de l'anticoagulant EDTA
- Tubes de préparation du plasma (PPT)

A. Prélèvement d'échantillon

1. Plasma : Le sang total peut être entreposé entre 2 °C et 30 °C et doit être centrifugé dans les 24 heures suivant le prélèvement de l'échantillon. Séparer le plasma du culot de globules rouges en respectant les instructions du fabricant du tube utilisé. Le plasma peut être analysé sur le Panther System directement dans un tube primaire ou transféré dans un tube secondaire comme le tube d'aliquote d'échantillon Aptima(SAT). Pour obtenir un volume d'échantillon de 500 µL, le volume minimal de plasma des tubes de prélèvement principaux est de maximum 1200 µL. Pour les tubes secondaires, le volume minimal est de 700 µL pour obtenir un volume d'échantillon de 500 µL. Le tableau suivant présente les volumes morts nécessaires pour chaque type de tube, primaire et secondaire.

| Tube (taille et type) | Volume mort sur le Panther System |
|---|-----------------------------------|
| Tube d'aliquote d'échantillon Aptima (Sample Aliquot Tube, SAT) | 0,2 mL |
| 12 x 75 mm | 0,5 mL |
| 13 x 100 mm | 0,5 mL |
| 13 x 100 mm avec gel | 0,3 mL |
| 16 x 100 mm avec gel | 0,7 mL |

Si le plasma n'est pas analysé immédiatement, il peut être conservé dans les conditions suivantes. S'il a été transféré dans un tube secondaire, le plasma peut être congelé à -20 °C ou -70 °C. Ne pas dépasser 3 cycles de congélation/décongélation. Ne pas congeler les échantillons dans des tubes de prélèvement primaires EDTA.

2. Le sang total doit être analysé avec des tubes de diluant pour sang total pré-remplis avant d'être testé sur le système Panther system. Ne pas dépasser 3 cycles de congélation/décongélation pour les échantillons de sang total non analysés.

B. Conditions de conservation des échantillons

1. Échantillons de plasma EDTA

Le sang total peut être conservé entre 2 °C et 30 °C et doit être centrifugé dans les 24 heures suivant le prélèvement de l'échantillon. Le plasma peut ensuite être conservé dans l'une des conditions suivantes :

- Jusqu'à 24 heures dans le tube de prélèvement primaire ou le tube secondaire entre 2 °C et 30 °C,
- Jusqu'à 5 jours dans le tube de prélèvement primaire ou le tube secondaire entre 2 °C et 8 °C ou
- Jusqu'à 60 jours dans le tube secondaire à -20 °C ou -70 °C.

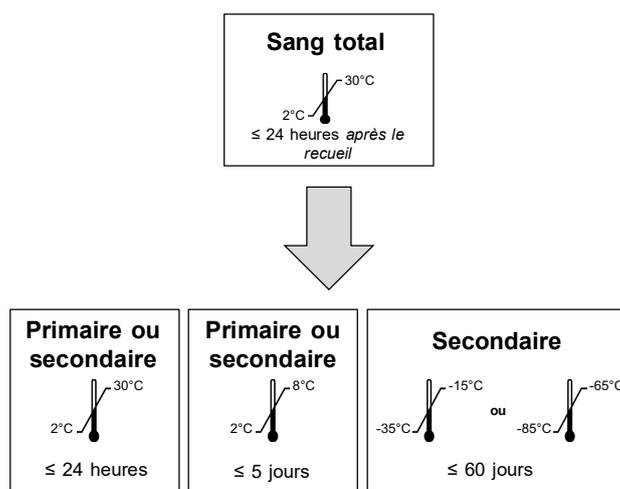


Figure 1. Conditions de conservation des tubes EDTA

2. Échantillons dans tubes PPT

Le sang total peut être conservé entre 2 °C et 30 °C et doit être centrifugé dans les 24 heures suivant le prélèvement de l'échantillon. Le plasma peut ensuite être conservé dans l'une des conditions suivantes :

- Jusqu'à 24 heures dans le tube PPT entre 2 °C et 30 °C,
- Jusqu'à 5 jours dans le tube PPT entre 2 °C et 8 °C, ou
- Jusqu'à 60 jours dans le tube PPT entre -20 °C ou -70 °C.

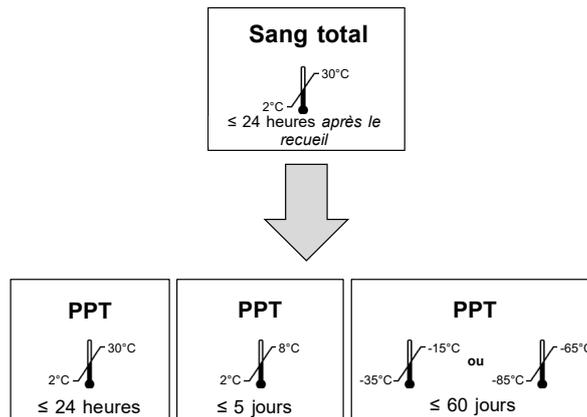


Figure 2. Conditions de conservation des tubes PPT

3. Échantillons de sang total

Le sang total peut être conservé entre 15 °C et 30 °C jusqu'à 36 heures suivant le prélèvement de l'échantillon. Le sang total prélevé peut être conservé dans l'une des conditions suivantes :

- Jusqu'à 5 jours dans le tube de prélèvement primaire entre 2 °C et 8 °C ou
- Jusqu'à 60 jours dans le tube de prélèvement primaire entre -20 °C et -70 °C.

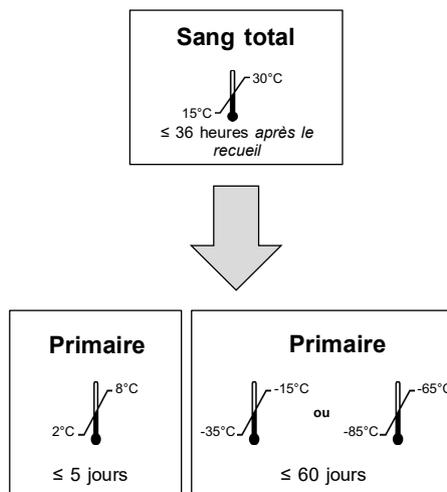


Figure 3. Conditions de conservation des échantillons de sang total

Échantillons à bord du Panther System

Les échantillons de plasma et de sang total analysés peuvent être laissés sans bouchon à bord du système Panther system pendant maximum 8 heures. Les échantillons peuvent être retirés du Panther System puis analysés tant que la durée totale à bord n'excède pas 8 heures avant le pipetage de l'échantillon par le Panther System.

Transport des échantillons

Respecter les conditions de conservation des échantillons décrites dans la section *Prélèvement et conservation des échantillons*.

Remarque: *L'expédition des échantillons doit s'effectuer conformément aux réglementations locales, nationales et internationales applicables en matière de transport.*

Panther System

Les réactifs du Panther system nécessaires au test Aptima CMV Quant sont présentés ci-dessous. Les symboles d'identification des réactifs sont également indiqués à côté du nom du réactif.

Réactifs et matériels fournis

Kit du test Aptima CMV Quant, 100 tests (Réf. No PRD-05074)

(1 boîte de test, 1 kit de calibration, 1 kit de contrôles et 1 boîte de réactif activateur de cible)

Boîte de réactifs de test Aptima CMV Quant

(conserver entre 2 °C et 8 °C dès réception)

| Symbole | Composant | Quantité |
|-------------|---|-------------|
| A | Réactif d'amplification qCMV <i>Acides nucléiques non infectieux lyophilisés dans une solution tamponnée.</i> | 1 flacon |
| E | Réactif enzymatique qCMV <i>Transcriptase inverse et RNA polymérase lyophilisées dans une solution tamponnée HEPES.</i> | 1 flacon |
| PRO | Réactif promoteur qCMV <i>Acides nucléiques non infectieux lyophilisés dans une solution tamponnée.</i> | 1 flacon |
| AR | Solution de reconstitution de l'amplification qCMV <i>Solution aqueuse contenant du glycérol et des conservateurs.</i> | 1 x 7,2 mL |
| ER | Solution de reconstitution enzymatique qCMV <i>Solution tamponnée HEPES contenant un surfactant et du glycérol.</i> | 1 x 5,8 mL |
| PROR | Solution de reconstitution du promoteur qCMV <i>Solution aqueuse contenant du glycérol et des conservateurs.</i> | 1 x 4,5 mL |
| TCR | Réactif de capture de cible qCMV <i>Acides nucléiques dans une solution saline tamponnée contenant des acides nucléiques non infectieux fixés sur une phase solide et un calibrateur interne.</i> | 1 x 72,0 mL |
| | Collets de reconstitution | 3 |
| | Fiche des codes à barres des lots de référence | 1 fiche |

Kit de calibrateur Aptima CMV Quant (Réf. No PRD-05075)

(conserver entre -15 °C et -35 °C dès réception)

| Symbole | Composant | Quantité |
|-------------|--|------------|
| PCAL | Calibrateur positif qCMV <i>ADN du plasmide dans une solution tamponnée.</i> | 5 x 2,5 mL |
| | Étiquette code à barres du calibrateur | — |

Kit de contrôles Aptima CMV Quant (Réf. No PRD-05076)
(conserver entre -15 °C et -35 °C dès réception)

| Symbole | Composant | Quantité |
|---------|---|------------|
| NC | Contrôle négatif qCMV <i>Plasma humain défibriné négatif pour le CMV contenant de la gentamicine et de l'azoture de sodium à 0,2 % comme conservateurs.</i> | 5 x 0,8 mL |
| LPC | Contrôle positif faible qCMV <i>CMV inactivé dans du plasma humain défibriné contenant de la gentamicine et de l'azoture de sodium à 0,2 % comme conservateurs.</i> | 5 x 0,8 mL |
| HPC | Contrôle positif fort qCMV <i>CMV inactivé dans du plasma humain défibriné contenant de la gentamicine et de l'azoture de sodium à 0,2 % comme conservateurs.</i> | 5 x 0,8 mL |
| | Étiquette code à barres des contrôles | — |

Boîte du Réactif activateur de cible Aptima CMV Quant
(conserver entre 15 °C et 30 °C dès réception)

| Symbole | Composant | Quantité |
|---------|---|-------------|
| TER | Réactif activateur de cible qCMV <i>Une solution concentrée d'hydroxyde de lithium.</i> | 1 x 46,0 mL |

Matériel requis, mais disponible séparément

Remarque: Les références du matériel disponible chez Hologic sont indiquées, sauf indication contraire.

| Matériel | Réf. N°. |
|--|---|
| Panther® System | — |
| Kit d'analyse Panther pour tests en temps réel (pour tests en temps réel uniquement) | PRD-03455 (5 000 tests) |
| <i>Kit de liquides pour tests Aptima® Assay (également connu sous le nom de kit de liquides universels) contient la solution de lavage Aptima, le tampon pour solution de désactivation Aptima, et le réactif huileux Aptima</i> | 303014 (1 000 tests) |
| <i>Unités multi-tube (MTUs)</i> | 104772-02 |
| <i>Assortiment de sacs pour déchets Panther</i> | 902731 |
| <i>Couvre-déchets Panther</i> | 504405 |
| Ou, kit d'analyse pour le système Panther System <i>(lors de la réalisation de tests TMA en temps différé parallèlement aux tests TMA en temps réel) contient des MTU, des sacs pour déchets, des couvre-déchets, un dispositif de détection automatique et des liquides pour tests</i> | 303096 (5 000 tests) |
| Tubes de diluant pour sang total (pour l'analyse des échantillons de sang total uniquement) | PRD-06783 (100 tubes pré-remplis par sachet) |
| Embouts, 1 000 µL conducteurs, à détection de liquide | 10612513 (Tecan) |
| Eau de Javel, solution d'hypochlorite de sodium de 5 % à 7 % (0,7 M à 1,0 M) | — |
| Gants jetables sans poudre | — |
| Bouchons non pénétrables de rechange | 103036A |
| Bouchons pleins Hologic de rechange (bouchon de tube à usage unique pour l'analyse du sang total) | PRD-06720 |
| Bouchons de rechange pour réactifs | |
| <i>Réactif d'amplification, réactif enzymatique et réactif promoteur Flacons de reconstitution</i> | <i>CL0041 (100 bouchons)</i> |
| <i>Flacon de TCR</i> | <i>CL0040 (100 bouchons)</i> |
| <i>Flacon de TER</i> | <i>903302 (100 bouchons)</i> |
| Protection de paillasse de laboratoire à envers plastifié | — |
| Chiffons non pelucheux | — |
| Pipette | — |
| Embouts | — |
| Choix de tube de prélèvement primaire (EDTA et PPT) : | — |
| <i>13 mm x 100 mm</i> | |
| <i>13 mm x 75 mm</i> | |
| <i>16 mm x 100 mm</i> | |
| Centrifugeuse | — |
| Vortexeur | — |

Matériel facultatif

| Matériel | Réf. N°. |
|---|----------|
| Choix de tubes secondaires : | |
| 12 mm x 75 mm | — |
| 13 mm x 100 mm | — |
| 16 mm x 100 mm | — |
| <i>Tubes d'aliquote d'échantillon Aptima (SAT) (100/paquet)</i> | 503762 |
| Bouchon pour tubes de transport (100/paquet) <i>bouchon pour tubes SAT</i> | 504415 |
| Diluant d'échantillon Aptima | 303563 |
| Kit de diluant d'échantillon Aptima <i>contient le diluant d'échantillon Aptima, 100 SAT et 100 bouchons</i> | 303593 |
| Pipettes de transfert | — |
| Écouvillons à embout de coton | — |
| Agitateur de tubes | — |

Procédure de test pour le Panther System

Remarque: Consulter le manuel de l'opérateur du Panther System ou du Panther Fusion System pour plus d'informations sur la procédure.

A. Préparation de la zone de travail

1. Nettoyer les plans de travail sur lesquels les réactifs seront préparés. Essuyer les plans de travail avec une solution d'hypochlorite de sodium de 2,5 % à 3,5 % (0,35 M à 0,5 M). Laisser la solution d'hypochlorite de sodium en contact avec les surfaces pendant au moins 1 minute, puis rincer avec de l'eau désionisée. Ne pas laisser sécher la solution d'hypochlorite de sodium. Couvrir la surface de travail avec des protections de paille de laboratoire absorbantes à envers plastifiées propres.
2. Nettoyer un plan de travail distinct sur lequel les échantillons seront préparés. Suivre la procédure décrite ci-dessus (étape A.1).
3. Nettoyer toutes les pipettes. Suivre la procédure de nettoyage décrite ci-dessus (étape A.1).

B. Préparation du calibrateur et des contrôles

Amener le calibrateur et les contrôles entre 15 °C et 30 °C avant de procéder comme suit :

1. Retirer le calibrateur et les contrôles de leur lieu de conservation (entre -15 °C et -35 °C) et les placer entre 15 °C et 30 °C. Tout au long de la décongélation, retourner délicatement chaque tube pour les mélanger complètement. Vérifier que le contenu des tubes est entièrement décongelé avant de l'utiliser.

Option. Les tubes de calibrateur et de contrôles peuvent être soigneusement mélangés dans un agitateur de tubes. Vérifier que le contenu des tubes est entièrement décongelé avant de l'utiliser.

Remarque: Éviter la formation excessive de mousse en mélangeant par inversion le calibrateur et les contrôles. La mousse interfère avec le détecteur de niveau du système Panther system.

2. Une fois le contenu des tubes décongelé, sécher l'extérieur des tubes avec un chiffon jetable propre et sec.
3. Pour éviter les contaminations, ne pas ouvrir les tubes à ce moment.

C. Reconstitution des réactifs/préparation d'un nouveau kit

Remarque: La reconstitution des réactifs doit être effectuée avant d'entreprendre toute tâche sur le système Panther System.

1. Pour préparer le réactif de capture de cible (TCR), procéder comme suit :
 - a. Retirer le TCR de son lieu de conservation (2 °C à 8 °C). Vérifier la correspondance entre le numéro de lot sur le flacon de TCR et le numéro de lot sur la fiche de codes à barres du lot de référence.
 - b. Agiter immédiatement le flacon de TCR vigoureusement 10 fois. Laisser le flacon de TCR se réchauffer entre 15 °C et 30 °C pendant au moins 45 minutes. Pendant cette période, faire tourner et retourner le flacon de TCR au moins toutes les 10 minutes.

Option. La préparation du flacon de TCR peut également s'effectuer avec un agitateur de tubes en respectant les instructions ci-dessous : Retirer le TCR de son lieu de conservation (2 °C à 8 °C) et agiter immédiatement le flacon de TCR vigoureusement 10 fois. Placer le flacon de TRC sur un agitateur de tubes et le laisser se réchauffer entre 15 °C et 30 °C pendant au moins 45 minutes.

- c. Vérifier que tout précipité a été dissous et que les particules magnétiques sont bien en suspension avant l'utilisation.
2. Pour reconstituer les réactifs d'amplification, enzymatique et promoteur, procéder comme suit :
 - a. Retirer les réactifs lyophilisés et les solutions de reconstitution correspondantes de leur lieu de conservation (2 °C à 8 °C). Associer chaque solution de reconstitution à son réactif lyophilisé.
 - b. Vérifier que les couleurs des étiquettes de la solution de reconstitution et du réactif lyophilisé correspondent. Vérifier les numéros de lot sur la fiche des codes à barres du lot de référence pour vous assurer que les réactifs appropriés sont appariés.
 - i. Ouvrir le flacon de réactif lyophilisé en enlevant l'opercule métallique et le bouchon en caoutchouc.
 - ii. Insérer fermement l'extrémité à encoche du collet de reconstitution (noir) sur le flacon (Figure 4, Étape 1).
 - iii. Ouvrir le flacon de solution de reconstitution correspondante et poser le bouchon sur un plan de travail propre et couvert.
 - iv. Placer le flacon de solution de reconstitution sur une surface stable (p. ex., une paillasse). Retourner ensuite le flacon de réactif lyophilisé au-dessus du flacon de solution de reconstitution et fixer solidement le collet au flacon de solution de reconstitution (Figure 4, Étape 2).
 - v. Retourner lentement les flacons assemblés (flacon fixé au flacon de solution) pour que la solution puisse s'écouler dans le flacon en verre (Figure 4, Étape 3).
 - vi. Soulever les flacons assemblés et les faire tourner pendant au moins 10 secondes (Figure 4, Étape 4).

- vii. Attendre au moins 30 minutes pour que le réactif lyophilisé soit complètement dissout.
- viii. Une fois le réactif lyophilisé dissous, faire tourner les flacons assemblés pendant au moins 10 secondes, puis balancer délicatement d'avant en arrière la solution dans le flacon en verre pour la mélanger complètement.
- c. Incliner lentement les flacons assemblés pour permettre à la totalité de la solution de s'écouler de nouveau dans le flacon de solution de reconstitution (Figure 4, Étape 5).
- d. Retirer avec précaution le collet de reconstitution et le flacon en verre (Figure 4, Étape 6).
- e. Reboucher le flacon. Enregistrer les initiales de l'opérateur ainsi que la date de reconstitution sur l'étiquette (Figure 4, Étape 7).
- f. Jeter le collet de reconstitution et le flacon en verre (Figure 5, Étape 8).

Avertissement: Éviter la formation excessive de mousse lors de la reconstitution des réactifs. La mousse interfère avec le détecteur de niveau du système Panther system.

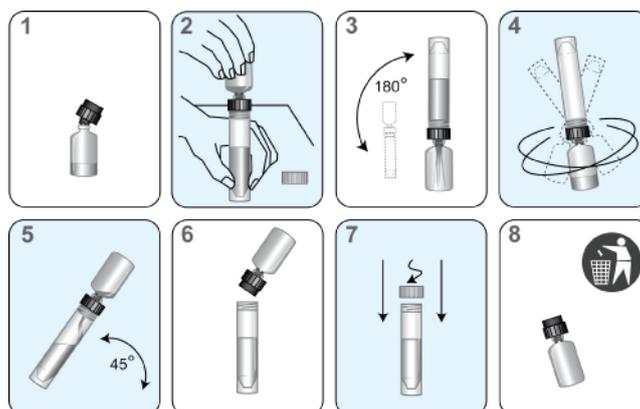


Figure 4. Procédure de reconstitution des réactifs

- 3. Retirer le réactif activateur de cible qCMV de son lieu de conservation (15 °C à 30 °C). Incrire les initiales de l'opérateur ainsi que la date de reconstitution sur l'étiquette. Vérifier la correspondance entre le numéro de lot sur le flacon de TER et le numéro de lot sur la fiche de codes à barres du lot de référence.
- D. Préparation des réactifs précédemment reconstitués
- 1. Retirer les réactifs précédemment reconstitués de leur lieu de conservation (2 °C à 8 °C). Les réactifs d'amplification, enzymatique et promoteur et le TCR précédemment reconstitués doivent atteindre une température entre 15 °C et 30 °C avant de commencer le test.
 - 2. Retirer le TER de son lieu de conservation (15 °C à 30 °C).
 - 3. Pour le TCR précédemment préparé, effectuer l'étape C.1 ci-dessus avant de le charger sur le système.
 - 4. Faire tourner et retourner les réactifs d'amplification, enzymatique et promoteur pour les mélanger complètement avant de les charger sur le système. Éviter la formation excessive de mousse lors du retournement des réactifs.

Option. La préparation des réactifs précédemment préparés peut également être réalisée avec un agitateur de tubes à rouleaux en respectant les instructions ci-dessous : Retirer les réactifs de leur lieu de conservation (2 °C à 8 °C). Placer les réactifs sur un agitateur de tubes à rouleaux et les laisser se réchauffer entre 15 °C et 30 °C pendant au moins 30 minutes.

5. Ne pas rajouter de réactif dans les flacons. Le Panther system reconnaît et rejette les flacons remplis à nouveau.

E. Manipulation des échantillons de plasma

1. Vérifier que les échantillons analysés dans les tubes primaires ou les échantillons non dilués dans des tubes secondaires ont été conservés de manière appropriée, conformément à la section *Prélèvement et conservation des échantillons*.
2. Vérifier que les échantillons congelés soient entièrement décongelés. Agiter les échantillons décongelés au vortex pendant 3 à 5 secondes pour les mélanger complètement.
3. Laisser tous les échantillons atteindre une température entre 15 °C et 30 °C avant de les analyser. Pour plus d'informations, consulter la section *Échantillons à bord du Panther System*.
4. Vérifier que chaque tube primaire contient maximum 1 200 µL d'échantillon ou que chaque SAT contient au moins 700 µL d'échantillon. Consulter le tableau de la section *Prélèvement d'échantillon* concernant les volumes morts nécessaires pour chaque type de tube primaire et secondaire.
5. Juste avant de charger les échantillons dans un portoir d'échantillons, centrifuger chaque échantillon entre 1 000 et 3 000 g pendant 10 minutes. Ne pas retirer les bouchons à cette étape.

Voir étape G.2 ci-dessous pour l'information sur le chargement du portoir et le retrait des bouchons.

F. Manipulation des échantillons de sang total

1. Vérifier que les échantillons analysés dans les tubes primaires ont été conservés de manière appropriée, conformément à la section *Prélèvement et conservation des échantillons*.
2. Vérifier que les échantillons congelés soient entièrement décongelés.
3. Laisser tous les échantillons atteindre une température entre 15 °C et 30 °C avant de les analyser. Pour plus d'informations, consulter la section *Échantillons à bord du Panther System*.
4. Retourner doucement les tubes de sang total au moins 3 fois, ou mélanger délicatement sur un agitateur à rouleaux, jusqu'à ce que le sang soit homogène.
5. Réaliser la procédure suivante sur chaque échantillon avant l'analyse.
 - a. Le sang des tubes primaires doit être soigneusement mélangé par inversion et l'échantillon doit être immédiatement transféré dans le tube contenant du diluant pour sang total.
 - b. Ajouter 500 µL d'échantillon de sang total dans le tube de diluant pour sang total pré-rempli.
 - c. Remplacer le bouchon et agiter l'échantillon pendant au moins 5 secondes.

Voir étape G.2 ci-dessous pour l'information sur le chargement du portoir et le retrait des bouchons.

G. Préparation du système

1. Configurer le système conformément aux instructions du *Manuel de l'opérateur du Panther/Panther Fusion System* et *Remarques concernant la procédure*. Vérifier que le format des portoirs de réactifs et des adaptateurs TCR utilisés soit correct.
2. Charger les échantillons dans le portoir d'échantillons. Effectuer les étapes suivantes pour chaque tube d'échantillon (échantillon et, le cas échéant, calibrateur et contrôles) :

- a. Desserrer le bouchon de l'un des tubes d'échantillon, sans l'enlever.

Remarque: Veiller particulièrement à éviter toute contamination par la diffusion d'aérosols. Desserrer délicatement les bouchons des échantillons.

- b. Charger le tube d'échantillon dans le portoir d'échantillons.
- c. Répéter les étapes 2.a et 2.b pour chaque échantillon restant.
- d. Une fois les échantillons chargés dans le portoir d'échantillons, enlever et jeter le bouchon de chaque tube d'échantillon dans l'un des portoirs d'échantillons. Pour éviter toute contamination, ne pas passer les bouchons au-dessus d'autres portoirs d'échantillons ou tubes d'échantillons.
- e. Utiliser une pipette de transfert jetable neuve pour éliminer les bulles ou la mousse, si nécessaire. La présence de bulles dans le tube empêche la détection du niveau par le système Panther System.
- f. Une fois le dernier bouchon retiré, charger le portoir d'échantillons dans le compartiment des échantillons.

Remarque: Si d'autres tests et types d'échantillons sont analysés en même temps, fixer le dispositif de rétention des échantillons avant de charger le portoir d'échantillons dans le compartiment des échantillons.

- g. Répéter les étapes 2.a à 2.f pour le portoir d'échantillons suivant.

H. Préparation du système - Application du facteur de conversion de l'échantillon de sang total

1. Configurer le système conformément aux instructions du *Manuel de l'opérateur du Panther System*.
2. Charger le portoir d'échantillons.
3. Appliquer le facteur de conversion pour sang total aux demandes de test pour les échantillons sang total.

Remarque: Le facteur de conversion de sang total peut être appliqué à un portoir entier ou à une seule commande de test.

Pour appliquer le facteur de conversion de sang total à un portoir entier d'échantillons de sang total :

- a. Dans l'écran *Compartiment du portoir d'échantillons*, double-cliquer sur le portoir chargé concerné. L'écran *Chargement du portoir d'échantillons* s'affiche pour le portoir sélectionné.
- b. Sélectionner **Tout diluer**.

La fenêtre Facteur de dilution s'affiche.

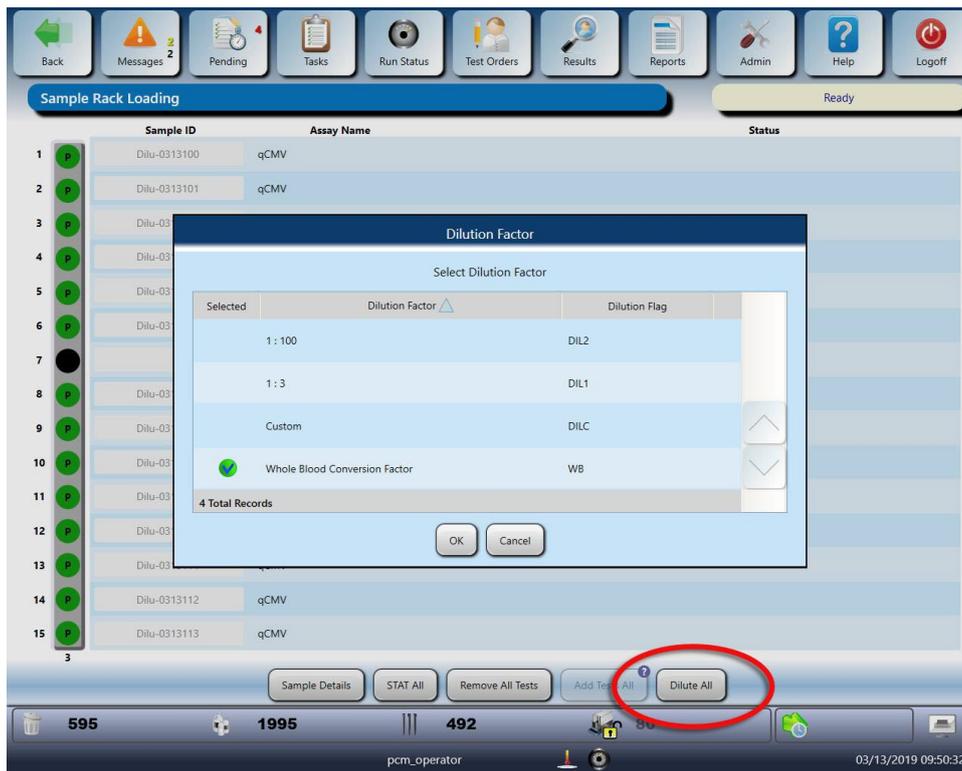


Figure 5. La fenêtre Facteur de dilution de l'écran Chargement du portoir d'échantillons

- c. Sélectionner **Facteur de conversion pour le sang total**.
- d. Sélectionner **OK**.
Une fenêtre *Définir le facteur de dilution pour le portoir* s'affiche.
- e. Sélectionner **Oui** pour appliquer l'indicateur Facteur de conversion du sang total au portoir entier d'échantillons de sang total.

Pour appliquer le facteur de conversion du sang total à une seule demandes de test (par exemple, le quatrième échantillon du portoir), consulter l'illustration ci-dessous :

- a. Dans l'écran *Compartiment du portoir d'échantillons*, double-cliquer sur le portoir chargé contenant les échantillons concernés.

L'écran *Chargement du portoir d'échantillons* s'affiche pour le portoir d'échantillons sélectionné.

- b. Double-cliquer sur l'échantillon concerné dans l'écran *Chargement du portoir d'échantillons*.

L'écran *Détails de l'échantillon* s'affiche et présente les commandes de test actuelles pour l'échantillon sélectionné.

- c. Sélectionner la demandes de test concernée dans le panneau *Demandes de test*.
- d. Sélectionner **Appliquer la dilution**

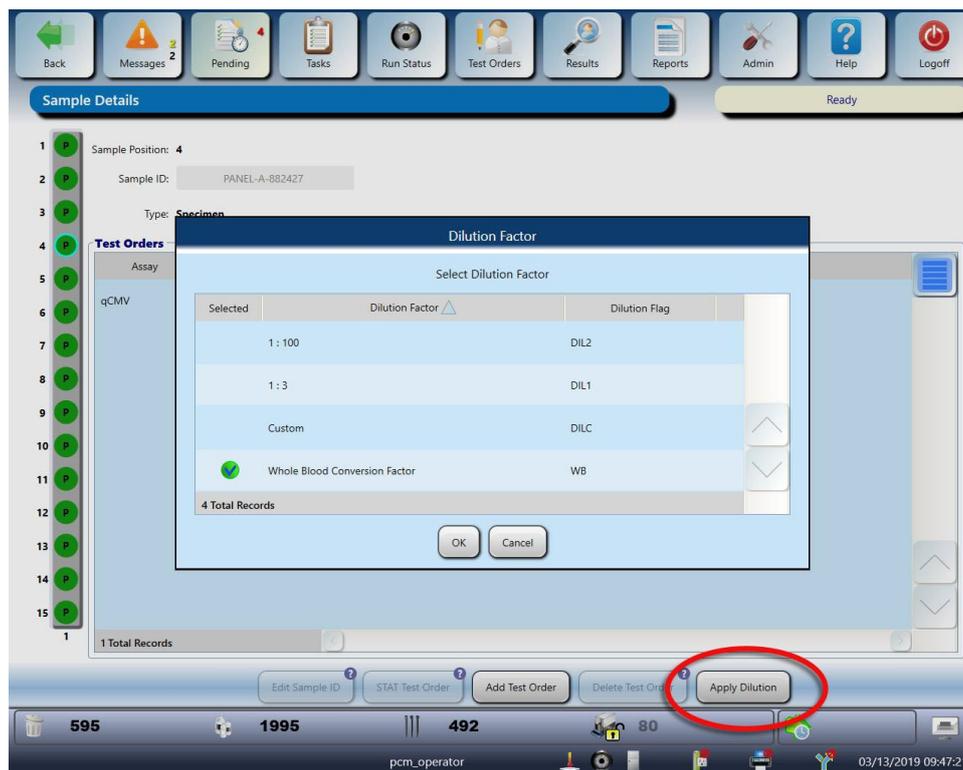


Figure 6. La fenêtre Facteur de dilution de l'écran Détails de l'échantillon

- e. Sélectionner **Facteur de conversion pour le sang total**.
 - f. Sélectionner **OK** pour appliquer l'indicateur Facteur de conversion du sang total à toutes les demandes de test sélectionnées.
4. Le facteur de conversion du sang total peut être supprimé des demandes de test avant le début de l'analyse, si nécessaire.

Pour supprimer le facteur de conversion du sang total d'un portoir entier :

1. Dans l'écran *Compartiment du portoir d'échantillons*, double-cliquer sur le portoir chargé concerné.
L'écran *Chargement du portoir d'échantillons* s'affiche pour le portoir sélectionné.
2. Sélectionner **Tout diluer**.
3. Dans la fenêtre *Facteur de Dilution*, désélectionner **Facteur de conversion du sang total**.
4. Sélectionner **OK**.
Une fenêtre *Définir le facteur de dilution pour le portoir* s'affiche.
5. Sélectionner **Oui** pour supprimer le facteur de conversion du sang total d'un portoir entier.

Pour supprimer le facteur de conversion du sang total des demandes de test distinctes :

1. Dans l'écran *Compartiment du portoir d'échantillons*, double-cliquer sur le portoir chargé contenant les échantillons concernés.

L'écran *Chargement du portoir d'échantillons* s'affiche pour le portoir d'échantillons sélectionné.

2. Double-cliquer sur l'échantillon concerné dans l'écran *Chargement du portoir d'échantillons*.

L'écran *Détails de l'échantillon* s'affiche et présente les demandes de test actuelles pour l'échantillon sélectionné.

3. Sélectionner la commande de test concernée dans le panneau *Demandes de test*.
4. Sélectionner **Appliquer la dilution**.
5. Dans la fenêtre *Facteur de Dilution*, désélectionner **Facteur de conversion du sang total**.
6. Sélectionner **OK** pour supprimer le facteur de conversion du sang total de la demande de test.

Remarques concernant la procédure

A. Calibrateur et contrôles

1. Les tubes de calibrateur positif qCMV, de contrôle positif faible qCMV, de contrôle positif fort qCMV et de contrôle négatif qCMV peuvent être chargés dans n'importe quelle position du portoir d'échantillons et dans n'importe quelle rangée du compartiment des échantillons du Panther system. Le pipetage des échantillons commence lorsque l'une des deux conditions suivantes est satisfaite :
 - a. Le calibrateur et les contrôles sont en cours de traitement par le système.
 - b. Les résultats valides du calibrateur et des contrôles sont enregistrés sur le système.
2. Une fois que les tubes de calibrateur et de contrôles ont été pipetés et sont analysés avec le kit de réactifs Aptima CMV Quant Assay, les échantillons peuvent alors être testés avec le kit reconstitué correspondant pendant 24 heures, **à moins que** :
 - a. Les résultats du calibrateur ou des contrôles ne soient pas valides.
 - b. Le kit de réactifs de test correspondant soit retiré du système.
 - c. Le kit de réactifs de test correspondant a dépassé les limites de stabilité.
3. Le calibrateur et chaque tube de contrôle ne peuvent être utilisés qu'une seule fois. Les tentatives d'utilisation multiples du tube peuvent entraîner des erreurs de traitement.

B. Poudre des gants

Comme avec tout système de réactifs, l'excès de poudre de certains gants peut contaminer les tubes ouverts. Il est recommandé d'utiliser des gants non poudrés.

Contrôle de qualité

Les résultats d'une série ou d'un échantillon peuvent être invalidés par un opérateur si des problèmes techniques, liés à l'appareil ou à l'opérateur sont observés et consignés lors de la réalisation du test. Dans ce cas, les échantillons doivent être analysés de nouveau.

Les échantillons dont les résultats ne sont pas valides doivent être analysés à nouveau pour obtenir un résultat valide.

Étalonnage du test

Pour obtenir des résultats valides, un étalonnage de test doit être réalisé. Un seul calibrateur positif est analysé en triplicat chaque fois qu'un kit de réactifs est chargé sur le système Panther System. Une fois établi, l'étalonnage est valide pour un maximum de 24 heures. Le logiciel du système Panther System signale à l'opérateur lorsqu'un étalonnage est requis. L'opérateur scanne un coefficient d'étalonnage sur la fiche des codes à barres du lot de référence fournie avec chaque kit de réactifs.

Le logiciel du système Panther System vérifie automatiquement les critères d'acceptation du calibrateur lors de son traitement. Si moins de deux des réplicats du calibrateur sont valides, alors la série est invalidée automatiquement par le logiciel. Les échantillons d'une série invalidée doivent être analysés de nouveau avec un calibrateur et des contrôles fraîchement préparés.

Contrôles négatifs et positifs

Pour obtenir des résultats valides, un jeu de contrôles de test doit être analysé. Un réplicat du contrôle négatif, du contrôle positif faible et du contrôle positif fort doit être analysé chaque fois qu'un kit de réactifs est chargé sur le système Panther System. Une fois établis, les contrôles sont valides pour un maximum de 24 heures. Le logiciel du système Panther System signale à l'opérateur lorsque des contrôles sont requis.

Le logiciel du système Panther System vérifie automatiquement les critères d'acceptation des contrôles lors de leur traitement. Pour obtenir des résultats valides, le résultat du contrôle négatif doit être « Non détecté » et les résultats des contrôles positifs doivent correspondre à la plage de paramètres prédéfinie. Si un résultat invalide est généré pour l'un des contrôles, le logiciel invalide alors automatiquement la série. Les échantillons d'une série invalidée doivent être analysés de nouveau avec un calibrateur et des contrôles fraîchement préparés.

Calibrateur interne/Contrôle interne

Chaque échantillon contient un calibrateur interne/contrôle interne (IC). Le logiciel du système Panther System vérifie automatiquement les critères d'acceptation de l'IC lors du traitement. Si un résultat d'IC est non valide, le résultat de l'échantillon est alors invalidé. Chaque échantillon dont le résultat de l'IC n'est pas valide doit être analysé de nouveau pour obtenir un résultat valide.

Le logiciel du système Panther System est conçu pour vérifier avec précision les processus lorsque les procédures sont exécutées en respectant les instructions fournies dans cette notice et dans le *Manuel de l'opérateur des systèmes Panther System ou Panther Fusion System*.

Interprétation des résultats

Le Panther system détermine automatiquement la concentration en ADN du CMV dans les échantillons et les contrôles en comparant les résultats à une courbe d'étalonnage. Les concentrations en ADN du CMV sont présentées en UI/mL et en \log_{10} UI/mL. L'interprétation des résultats est présentée dans les Tableau 1 et Tableau 2.

Tableau 1: Interprétation des résultats plasmatiques

| Résultat rapportés du test Aptima CMV Quant | | Interprétation |
|---|-------------------------|--|
| UI/mL | Valeurs \log_{10} | |
| Non détecté | Non détecté | ADN du CMV non détecté. |
| < 53 copies détectées | < 1,72 | L'ADN du CMV est détecté, mais à une concentration inférieure à la limite inférieure de quantification (LLoQ). |
| 53 à 10 000 000 | 1,72 à 7,00 | La concentration en ADN du CMV est dans la plage quantitative comprise entre la LLoQ et la ULoQ UI/mL. |
| > 10 000 000 | > 7,00 | La concentration en ADN du CMV est supérieure à la limite supérieure de quantification (ULoQ). |
| Non valide ^a | Non valide ^a | Une erreur est survenue lors de la génération du résultat. L'échantillon doit être analysé à nouveau. |

^a Les résultats non valides sont affichés dans une police de couleur bleue.

Tableau 2: Interprétation des résultats de sang total

| Résultat rapportés du test Aptima CMV Quant | | Interprétation |
|---|-------------------------|--|
| UI/mL | Valeurs \log_{10} | |
| Non détecté | Non détecté | ADN du CMV non détecté. |
| < 176 copies détectées | < 2,24 | L'ADN du CMV est détecté, mais à une concentration inférieure à la limite inférieure de quantification (LLoQ). |
| 176 à 10 000 000 | 2,24 à 7,00 | La concentration en ADN du CMV est dans la plage quantitative comprise entre la LLoQ et la ULoQ UI/mL. |
| > 10 000 000 | > 7,00 | La concentration en ADN du CMV est supérieure à la limite supérieure de quantification (ULoQ). |
| Non valide ^a | Non valide ^a | Une erreur est survenue lors de la génération du résultat. L'échantillon doit être analysé à nouveau. |

^a Les résultats non valides sont affichés dans une police de couleur bleue.

Limites

- A. L'utilisation de ce test est limitée au personnel ayant été formé à la procédure. Le non-respect des instructions figurant dans cette notice de test peut conduire à des résultats erronés.
- B. L'obtention de résultats fiables repose sur le prélèvement, le transport, la conservation et le traitement appropriés des échantillons.
- C. Bien que rares, des mutations au sein des régions hautement conservées du génome viral couvertes par les amorces ou les sondes du test Aptima CMV Quant peuvent aboutir à une sous-quantification ou à une absence de détection du virus.

Performance

Limite de détection avec le 1^{er} étalon de référence international de l'OMS

D'après le protocole EP17-A2 du CLSI, la limite de détection (LoD) du test est définie comme la concentration en ADN du CMV dont la probabilité de détection est égale ou supérieure à 95 %.¹⁴

Limite de détection avec les standard OMS dans le plasma

La LoD a été déterminée en testant des panels du 1^{er} étalon de référence international de l'OMS (code NIBSC 09/162) pour le CMV²¹ dilué dans du plasma humain négatif pour le CMV. 60 répliquats de chaque dilution ont été testés avec chacun des trois lots de réactifs pour un total de 180 répliquats par dilution. Une analyse Probit a été effectuée pour établir les limites de détection prévues. Les valeurs de LoD indiquées au Tableau 3 correspondent aux résultats obtenus avec le lot de réactifs doté de la limite de détection prévue la plus élevée. La LoD du test Aptima CMV Quant avec le 1^{er} étalon de référence internationale de l'OMS est de 40,7 UI/mL pour le plasma.

Tableau 3: Limite de détection pour le plasma avec le 1^{er} étalon de référence international de l'OMS pour le CMV

| Limite de détection prévue | Concentration (UI/mL) |
|-----------------------------------|------------------------------|
| 10 % | 1,9 |
| 20 % | 2,9 |
| 30 % | 4,0 |
| 40 % | 5,3 |
| 50 % | 6,9 |
| 60 % | 9,1 |
| 70 % | 12,2 |
| 80 % | 17,1 |
| 90 % | 27,5 |
| 95 % | 40,7 |

Limite de détection avec les standards OMS dans le sang total

La LoD a été déterminée en testant des panels du 1^{er} étalon de référence international de l'OMS pour le CMV dilué dans du sang total négatif pour le CMV. 60 répliquats de chaque dilution ont été testés avec chacun des trois lots de réactifs pour un total de 180 répliquats par dilution. Une analyse Probit a été effectuée pour établir les limites de détection prévues. Les valeurs de LoD indiquées au Tableau 4 correspondent aux résultats obtenus avec le lot de réactifs doté de la limite de détection prévue la plus élevée. La LoD du test Aptima CMV Quant avec le 1^{er} étalon de référence internationale de l'OMS est de 131,0 UI/mL pour le sang total.

Tableau 4: Limite de détection pour le sang total avec le 1^{er} étalon de référence international de l'OMS pour le CMV

| Limite de détection prévue | Concentration (UI/mL) |
|----------------------------|-----------------------|
| 10 % | 8,8 |
| 20 % | 13,2 |
| 30 % | 17,7 |
| 40 % | 22,7 |
| 50 % | 28,7 |
| 60 % | 36,2 |
| 70 % | 46,5 |
| 80 % | 62,4 |
| 90 % | 93,7 |
| 95 % | 131,0 |

Limite de détection pour tous les génotypes du CMV

Limite de détection pour tous les génotypes du CMV dans le plasma

La LoD a été vérifiée pour trois génotypes différents en fonction de la séquence de glycoprotéine B⁷ (gB-2, gB-3 et gB-4) en testant différentes concentrations de CMV autour de la LoD établie avec le standard OMS pour le plasma (génotype gB-1). Les tests ont été effectués avec 30 réplicats par échantillon du panel par lot de réactifs, en utilisant deux lots de réactifs pour le Quant d'Aptima CMV. La LoD la plus élevée vérifiée pour les trois génotypes était de 40 UI/mL avec les deux lots de réactifs.

Tableau 5: Limite de détection pour tous les génotypes du CMV dans le plasma

| Génotype | Concentration (UI/mL) |
|----------|-----------------------|
| gB-2 | 40 |
| gB-3 | 40 |
| gB-4 | 35 |

La LoD globale dans le plasma est de 40,7 UI/mL.

Limite de détection pour tous les génotypes du CMV dans le sang total

La LoD a été vérifiée pour trois génotypes différents de glycoprotéine B (gB-2, gB-3 et gB-4) en testant différentes concentrations de CMV autour de la LoD établie pour le sang total avec le standard OMS (génotype gB-1). Les tests ont été effectués avec 30 réplicats par échantillon du panel par lot de réactifs, en utilisant deux lots de réactifs pour le Quant d'Aptima CMV. La LoD la plus élevée vérifiée pour les trois génotypes était de 150 UI/mL avec les deux lots de réactifs.

Tableau 6: Limite de détection pour tous les génotypes du CMV dans le sang total

| Génotype | Concentration (UI/mL) |
|----------|-----------------------|
| gB-2 | 150 |
| gB-3 | 150 |
| gB-4 | 130 |

La LoD globale dans le sang total est de 150 UI/mL.

Plage linéaire

Plage linéaire dans le plasma

La plage linéaire a été établie en analysant des panels d'ADN du CMV dilué dans du plasma humain négatif pour le CMV conformément au protocole EP06-A du CLSI.¹⁵ La concentration des panels variait de 1,62 log UI/mL à 7,30 log UI/mL. La linéarité du test Aptima CMV Quant Assay a été démontrée sur l'ensemble de la plage testée. La limite supérieure de quantification (ULoQ) du test est de 7 Log UI/mL, comme indiqué dans la Figure 7.

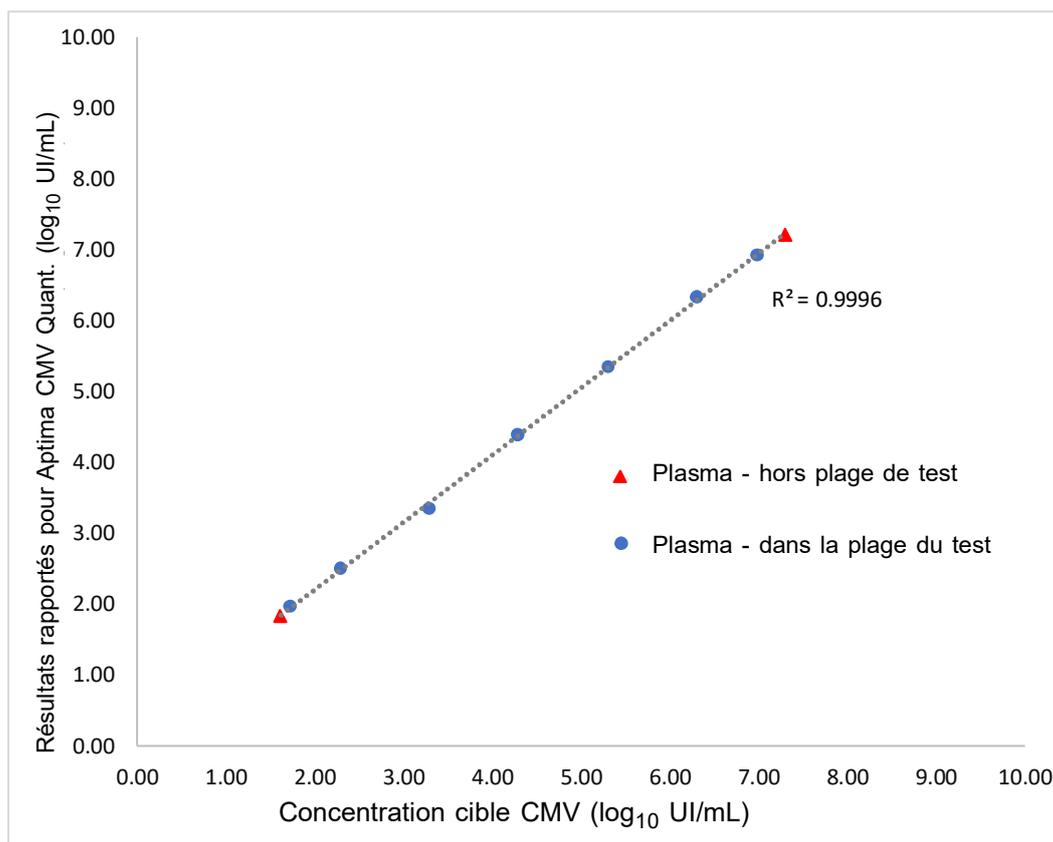


Figure 7. Linéarité dans le plasma

Plage linéaire dans le sang total

La plage linéaire a été établie en analysant des panels d'ADN du CMV dilué dans du sang total humain négatif pour le CMV conformément au protocole EP06-A du CLSI.¹⁵ La concentration des panels variait de 2,15 log UI/mL à 7,3 log UI/mL. La linéarité du test Aptima CMV Quant Assay a été démontrée sur l'ensemble de la plage testée. La limite supérieure de quantification (ULoQ) du test est de 7 log UI/mL, comme indiqué dans la Figure 8.

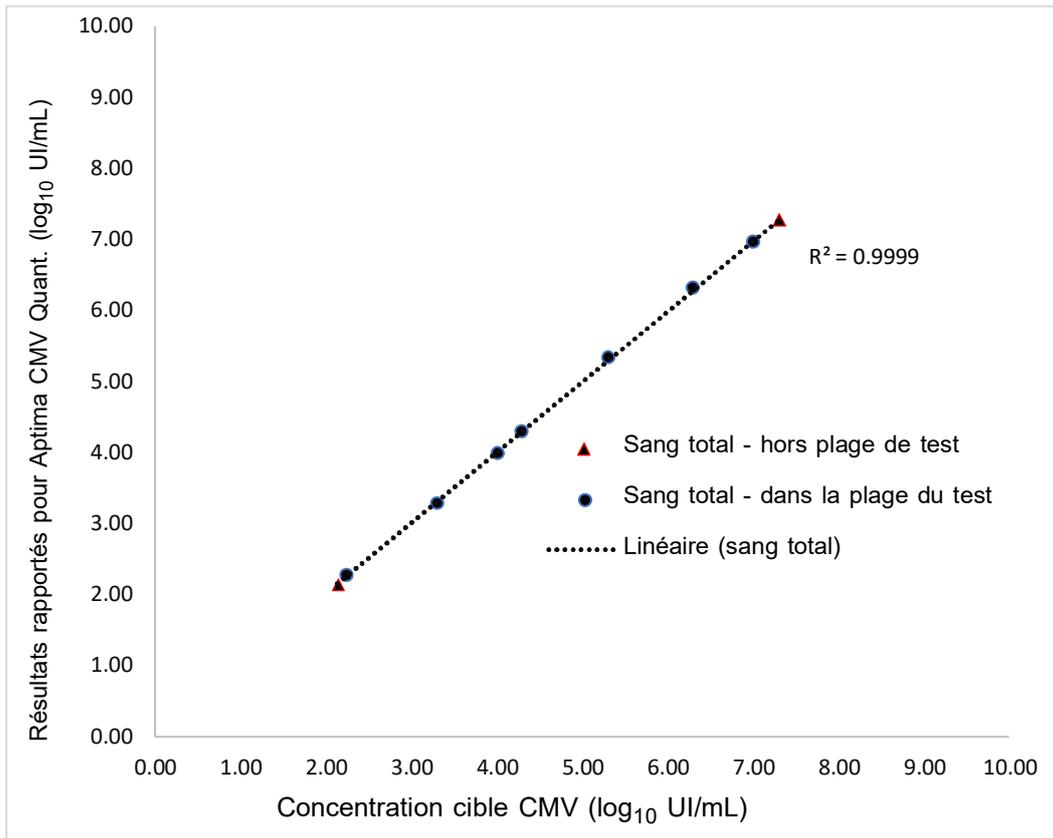


Figure 8. Linéarité dans le sang total

Linéarité pour les différents génotypes du CMV

Linéarité pour les différents génotypes du CMV dans le plasma

La linéarité pour les génotypes de la glycoprotéine gB-2, gB-3 et gB-4 a été confirmée par l'analyse de panels de CMV dilué dans du plasma négatif pour le CMV à des concentrations allant de 1,72 log UI/mL à 7,00 log UI/mL. La linéarité a été démontrée sur l'ensemble de la plage pour tous les génotypes testés, comme l'illustre la Figure 9.

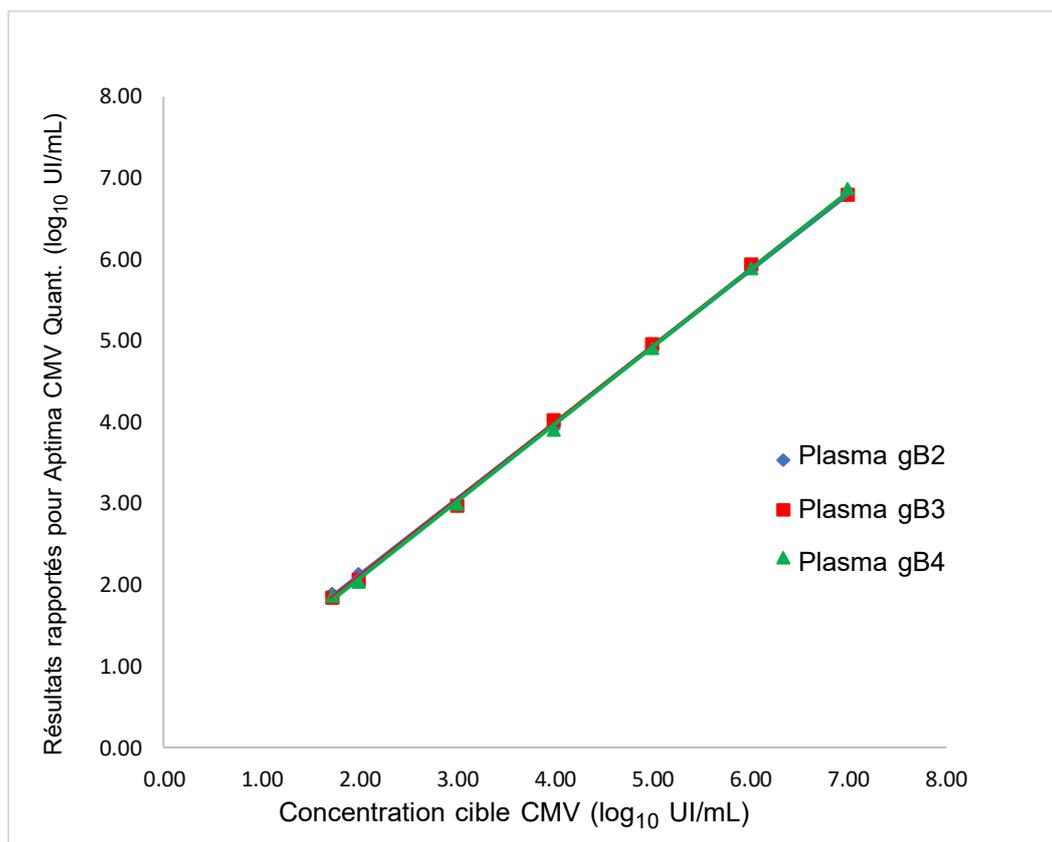


Figure 9. Linéarité pour les génotypes du CMV gB-2, gB-3 et gB-4 dans le plasma

Linéarité pour les différents génotypes du CMV dans le sang total

La réponse linéaire pour les génotypes de la glycoprotéine gB-2, gB-3 et gB-4 a été confirmée par l'analyse de panels de CMV dilué dans du sang total négatif pour le CMV à des concentrations allant de 2,25 log UI/mL à 7,00 log UI/mL. La linéarité a été démontrée sur l'ensemble de la plage pour les trois génotypes testés, comme l'illustre la Figure 10.

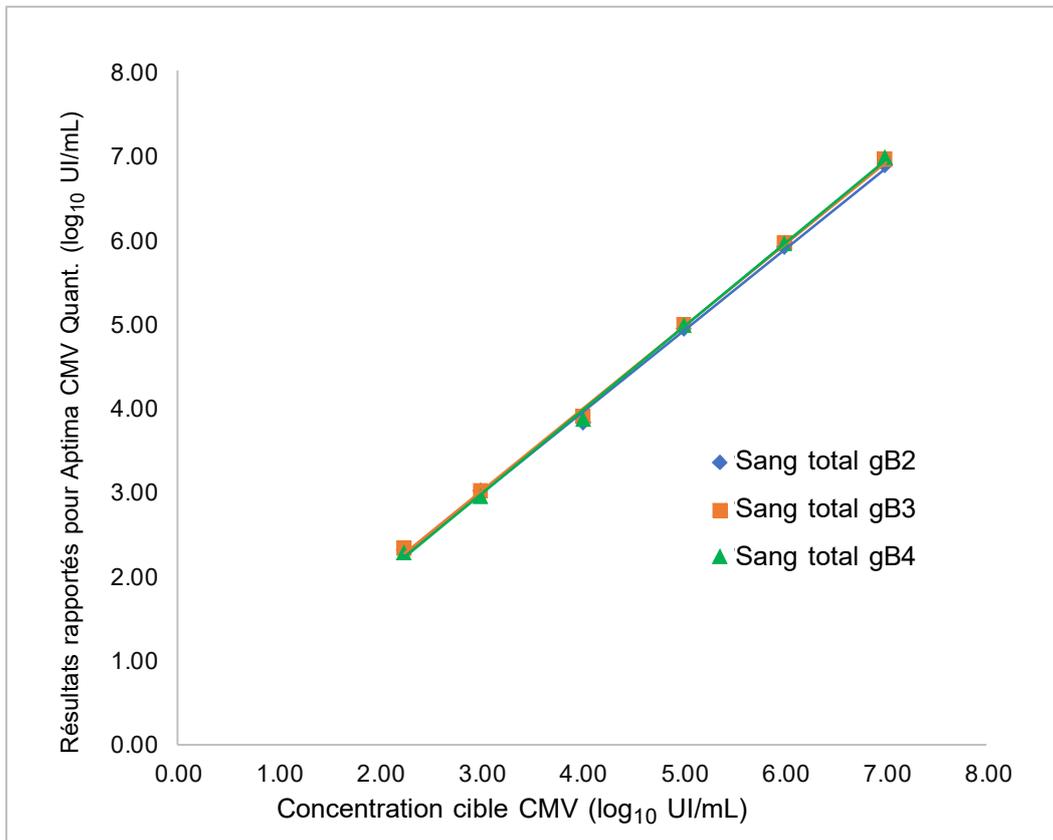


Figure 10. Linéarité pour les génotypes du CMV gB-2, gB-3 et gB-4 dans le sang total

Limite inférieure de quantification (LLOQ) avec le 1^{er} étalon de référence international de l'OMS

Selon la norme CLSI EP17-A2, la limite inférieure de quantification (LLOQ) est définie comme la concentration la plus faible à laquelle la quantification de l'ADN du CMV est fiable d'après le calcul d'une erreur totale.¹⁴ L'erreur totale a été estimée à l'aide du modèle Westgard : Erreur totale (ET) = |biais| + 2SD (écart-type). Pour garantir l'exactitude des mesures, l'erreur totale du test Aptima CMV Quant a été définie à 1 log UI/mL (c.-à-d. qu'à la LLOQ, une différence de plus de 1 log UI/mL entre 2 mesures est statistiquement significative).

Limite inférieure de quantification avec le standard OMS dans le plasma

La LLOQ a été déterminée en testant des panels du 1^{er} étalon de référence international de l'OMS (code NIBSC 09/162) pour l'ADN du CMV dilué dans du plasma humain négatif pour le CMV. 60 réplicats de chaque dilution ont été testés avec chacun des trois lots de réactifs pour un total de 180 réplicats par dilution. Les résultats de la LLOQ pour les trois lots de réactifs sont indiqués dans le Tableau 7. Les résultats provenant du lot de réactif avec la concentration la plus élevée répondant aux exigences de ET et $\geq 95\%$ de détection sont présentés dans le Tableau 8. La LLOQ générée avec le 1^{er} étalon de référence international de l'OMS pour le CMV dans le plasma est de 53 UI/mL.

Tableau 7: Détermination de la LLOQ avec le 1^{er} étalon de référence international de l'OMS pour le CMV dilué dans du Plasma

| Lot de réactifs | N | N Détecté | Concentration en cible | Aptima CMV Quant | ET | Biais | ET calculée |
|-----------------|----|-----------|------------------------|------------------|-------------|-------------|-------------|
| | | | (log UI/mL) | (log UI/mL) | (log UI/mL) | (log UI/mL) | (log UI/mL) |
| 1 | 60 | 56 | 1,48 | 1,64 | 0,36 | 0,16 | 0,87 |
| | 60 | 59 | 1,54 | 1,72 | 0,29 | 0,18 | 0,76 |
| | 60 | 59 | 1,60 | 1,74 | 0,28 | 0,14 | 0,70 |
| | 60 | 59 | 1,70 | 1,85 | 0,19 | 0,15 | 0,53 |
| 2 | 60 | 56 | 1,48 | 1,56 | 0,29 | 0,09 | 0,67 |
| | 60 | 58 | 1,54 | 1,61 | 0,27 | 0,07 | 0,60 |
| | 60 | 58 | 1,60 | 1,69 | 0,28 | 0,09 | 0,64 |
| 3 | 60 | 60 | 1,70 | 1,83 | 0,24 | 0,14 | 0,62 |
| | 60 | 56 | 1,48 | 1,67 | 0,26 | 0,19 | 0,71 |
| | 60 | 58 | 1,54 | 1,67 | 0,24 | 0,13 | 0,60 |
| | 60 | 60 | 1,60 | 1,78 | 0,19 | 0,18 | 0,55 |
| | 60 | 60 | 1,70 | 1,87 | 0,22 | 0,17 | 0,61 |

ET = écart-type

Les échantillons du panel qui ont atteint l'objectif de précision (ET ≤ 1) et une détection $\geq 95\%$ pour les lots de réactifs 1, 2 et 3 sont grisés.

Tableau 8: Résumé de la LLoQ pour le plasma avec le 1^{er} étalon de référence international de l'OMS pour le CMV

| Lot de réactifs | (UI/mL) | (log UI/mL) |
|-----------------|---------|-------------|
| 1 | 53 | 1,72 |
| 2 | 41 | 1,61 |
| 3 | 47 | 1,67 |

Limite inférieure de quantification avec le standard OMS dans le sang total

La LLoQ a été déterminée en testant des panels du 1^{er} étalon de référence international de l'OMS pour l'ADN du CMV dilué dans du sang total humain négatif pour le CMV. 60 réplicats de chaque dilution ont été testés avec chacun des trois lots de réactifs pour un total de 180 réplicats par dilution. Les résultats pour les trois lots de réactifs sont indiqués dans le Tableau 9. Les résultats provenant du lot de réactif avec la concentration la plus élevée répondant aux exigences de ET et $\geq 95\%$ de détection sont présentés dans le Tableau 10. La LLoQ générée avec le 1^{er} étalon de référence international de l'OMS pour le CMV dans le sang total est de 176 UI/mL.

Tableau 9: Détermination de la LLoQ avec le 1^{er} étalon de référence international de l'OMS pour le CMV dilué dans du sang total

| Lot de réactifs | N | N Déteçté | Concentration en cible | Aptima CMV Quant | ET | Biais | ET calculée |
|-----------------|----|-----------|------------------------|------------------|-------------|-------------|-------------|
| | | | (log UI/mL) | (log UI/mL) | (log UI/mL) | (log UI/mL) | (log UI/mL) |
| 1 | 60 | 58 | 2,11 | 2,06 | 0,47 | 0,06 | 1,00 |
| | 60 | 59 | 2,16 | 2,04 | 0,51 | 0,12 | 1,14 |
| | 60 | 60 | 2,20 | 2,14 | 0,44 | 0,06 | 0,94 |
| | 60 | 59 | 2,24 | 2,28 | 0,26 | 0,04 | 0,56 |
| 2 | 60 | 60 | 2,11 | 2,02 | 0,42 | 0,09 | 0,93 |
| | 60 | 60 | 2,16 | 2,12 | 0,26 | 0,04 | 0,56 |
| | 60 | 59 | 2,20 | 2,14 | 0,30 | 0,07 | 0,67 |
| | 60 | 60 | 2,24 | 2,26 | 0,26 | 0,02 | 0,53 |
| 3 | 60 | 59 | 2,11 | 2,25 | 0,43 | 0,13 | 1,00 |
| | 60 | 59 | 2,16 | 2,34 | 0,27 | 0,18 | 0,72 |
| | 60 | 60 | 2,20 | 2,38 | 0,30 | 0,17 | 0,77 |
| | 60 | 60 | 2,24 | 2,39 | 0,30 | 0,15 | 0,74 |

ET = écart-type

Les échantillons du panel qui ont atteint l'objectif de précision ($ET \leq 1$) et une détection $\geq 95\%$ pour les lots de réactifs 1, 2 et 3 sont grisés.

Tableau 10: Résumé de la LLoQ pour le sang total avec le 1^{er} étalon de référence international de l'OMS pour le CMV

| Lot de réactifs | (UI/mL) | (log UI/mL) |
|-----------------|---------|-------------|
| 1 | 138 | 2,14 |
| 2 | 106 | 2,02 |
| 3 | 176 | 2,25 |

Détermination de la limite inférieure de quantification pour tous les génotypes du CMV

Limite inférieure de quantification pour les différents génotypes dans le plasma

La LLoQ établie avec le standard OMS a été vérifiée en testant les dilutions des génotypes gB-2, gB-3 et gB-4 du CMV dans le plasma humain négatif pour le CMV. 60 réplicats de chaque échantillon du panel ont été testés avec un lot de réactifs. Les résultats sont présentés dans le Tableau 11. La LLoQ calculée pour les génotypes gB-2, gB-3, et gB-4 provenant du lot de réactif avec la concentration la plus élevée répondant aux exigences de ET et ≥ 95 % de détection sont présentés dans le Tableau 12. La LLoQ globale pour le plasma dans ce test est de 53 UI/mL.

Tableau 11: Détermination de la LLoQ pour les différents génotypes dans du plasma

| Génotype | N | N Détecté | Concentration en | Aptima CMV | ET | Biais | ET calculée |
|----------|----|-----------|------------------|-------------|-------------|-------------|-------------|
| | | | cible | Quant | | | |
| | | | (log UI/mL) | (log UI/mL) | (log UI/mL) | (log UI/mL) | (log UI/mL) |
| gB-2 | 60 | 56 | 1,48 | 1,38 | 0,41 | 0,10 | 0,92 |
| | 60 | 58 | 1,54 | 1,39 | 0,39 | 0,16 | 0,95 |
| | 60 | 56 | 1,60 | 1,49 | 0,38 | 0,11 | 0,87 |
| | 60 | 58 | 1,65 | 1,70 | 0,24 | 0,04 | 0,51 |
| | 60 | 57 | 1,70 | 1,54 | 0,32 | 0,16 | 0,80 |
| gB-3 | 60 | 55 | 1,48 | 1,27 | 0,38 | 0,20 | 0,97 |
| | 60 | 55 | 1,54 | 1,27 | 0,40 | 0,27 | 1,07 |
| | 60 | 53 | 1,60 | 1,31 | 0,47 | 0,29 | 1,23 |
| | 60 | 56 | 1,65 | 1,46 | 0,34 | 0,20 | 0,88 |
| | 60 | 55 | 1,70 | 1,57 | 0,29 | 0,13 | 0,71 |
| gB-4 | 60 | 59 | 1,74 | 1,55 | 0,30 | 0,19 | 0,79 |
| | 60 | 58 | 1,48 | 1,38 | 0,39 | 0,09 | 0,88 |
| | 60 | 59 | 1,54 | 1,51 | 0,33 | 0,03 | 0,69 |
| | 60 | 57 | 1,60 | 1,66 | 0,36 | 0,06 | 0,79 |
| | 60 | 59 | 1,65 | 1,66 | 0,29 | 0,01 | 0,59 |
| | 60 | 60 | 1,70 | 1,70 | 0,24 | 0,00 | 0,48 |

ET = écart-type

Les échantillons du panel qui ont atteint l'objectif de précision ($ET \leq 1$) et une détection ≥ 95 % pour les lots de réactifs 1, 2 et 3 sont grisés.

Tableau 12: Résumé de la LLoQ pour les différents génotypes dans le plasma

| Génotype | LLoQ | |
|----------|---------|-------------|
| | (UI/mL) | (log UI/mL) |
| gB-2 | 50 | 1,70 |
| gB-3 | 35 | 1,55 |
| gB-4 | 24 | 1,38 |

Limite inférieure de quantification pour les différents géotypes dans le sang total

La LLoQ établie avec le standard OMS a été vérifiée en testant les dilutions des géotypes gB-2, gB-3 et gB-4 du CMV dans le sang total humain négatif pour le CMV. 60 réplicats de chaque échantillon du panel ont été testés avec un lot de réactifs. Les résultats sont présentés dans le Tableau 13. La LLoQ pour les géotypes gB-2, gB-3, et gB-4 provenant du lot de réactif avec la concentration la plus élevée répondant aux exigences de ET et $\geq 95\%$ de détection sont présentés dans le Tableau 14. La LLoQ globale pour le sang total dans ce test est de 176 UI/mL.

Tableau 13: Détermination de la LLoQ pour les différents géotypes dans le sang total

| Géotype | N | N Détecté | Concentration en | Aptima CMV | ET | Biais | ET calculée |
|---------|----|-----------|------------------|-------------|-------------|-------------|-------------|
| | | | cible | Quant | | | |
| | | | (log UI/mL) | (log UI/mL) | (log UI/mL) | (log UI/mL) | (log UI/mL) |
| gB-2 | 60 | 56 | 2,08 | 1,77 | 0,43 | 0,30 | 1,16 |
| | 60 | 56 | 2,15 | 1,87 | 0,39 | 0,27 | 1,06 |
| | 60 | 56 | 2,20 | 1,80 | 0,59 | 0,40 | 1,58 |
| | 60 | 58 | 2,26 | 1,97 | 0,41 | 0,28 | 1,11 |
| | 60 | 59 | 2,30 | 2,06 | 0,50 | 0,24 | 1,24 |
| | 60 | 57 | 2,34 | 2,01 | 0,52 | 0,33 | 1,38 |
| | 60 | 59 | 2,38 | 2,11 | 0,36 | 0,27 | 1,00 |
| | 60 | 60 | 2,41 | 2,19 | 0,30 | 0,23 | 0,84 |
| gB-3 | 60 | 46 | 2,08 | 1,73 | 0,59 | 0,35 | 1,53 |
| | 60 | 54 | 2,15 | 1,78 | 0,50 | 0,36 | 1,37 |
| | 60 | 54 | 2,20 | 1,87 | 0,50 | 0,33 | 1,34 |
| | 60 | 58 | 2,26 | 2,02 | 0,52 | 0,23 | 1,27 |
| | 60 | 58 | 2,30 | 2,02 | 0,32 | 0,28 | 0,92 |
| gB-4 | 60 | 55 | 2,08 | 1,78 | 0,53 | 0,30 | 1,37 |
| | 60 | 57 | 2,15 | 1,97 | 0,40 | 0,18 | 0,97 |
| | 60 | 58 | 2,20 | 2,09 | 0,39 | 0,12 | 0,89 |

ET = écart-type

Tableau 14: Résumé de la LLoQ pour les différents géotypes dans le sang total

| Géotype | LLoQ | |
|---------|---------|-------------|
| | (UI/mL) | (log UI/mL) |
| gB-2 | 129 | 2,11 |
| gB-3 | 104 | 2,02 |
| gB-4 | 93 | 1,97 |

Traçabilité au 1^{er} étalon de référence international de l'OMS

Une série d'étalons secondaires avec des concentrations connues a été utilisée tout au long de l'élaboration et de la fabrication des produits pour établir la traçabilité au standard OMS. Le standard OMS du CMV a été dilué et testé avec les étalons secondaires et avec les contrôles du test et les calibrateurs utilisés dans le test Aptima CMV Quant pour évaluer la traçabilité conformément au protocole EP32-R du CLSI.¹⁶ Les concentrations des étalons secondaires variaient de 1,80 à 6,60 log₁₀ UI/mL.

Traçabilité au standard OMS avec le plasma

Les concentrations testées pour le standard OMS du CMV se situaient entre 2,18 et 4,70 log₁₀ UI/mL. Les panels de plasma de l'OMS, les étalons secondaires, les contrôles de test et les calibrateurs de test se sont rétablis comme prévu sur l'ensemble de la plage linéaire du test, comme l'illustre la Figure 11.

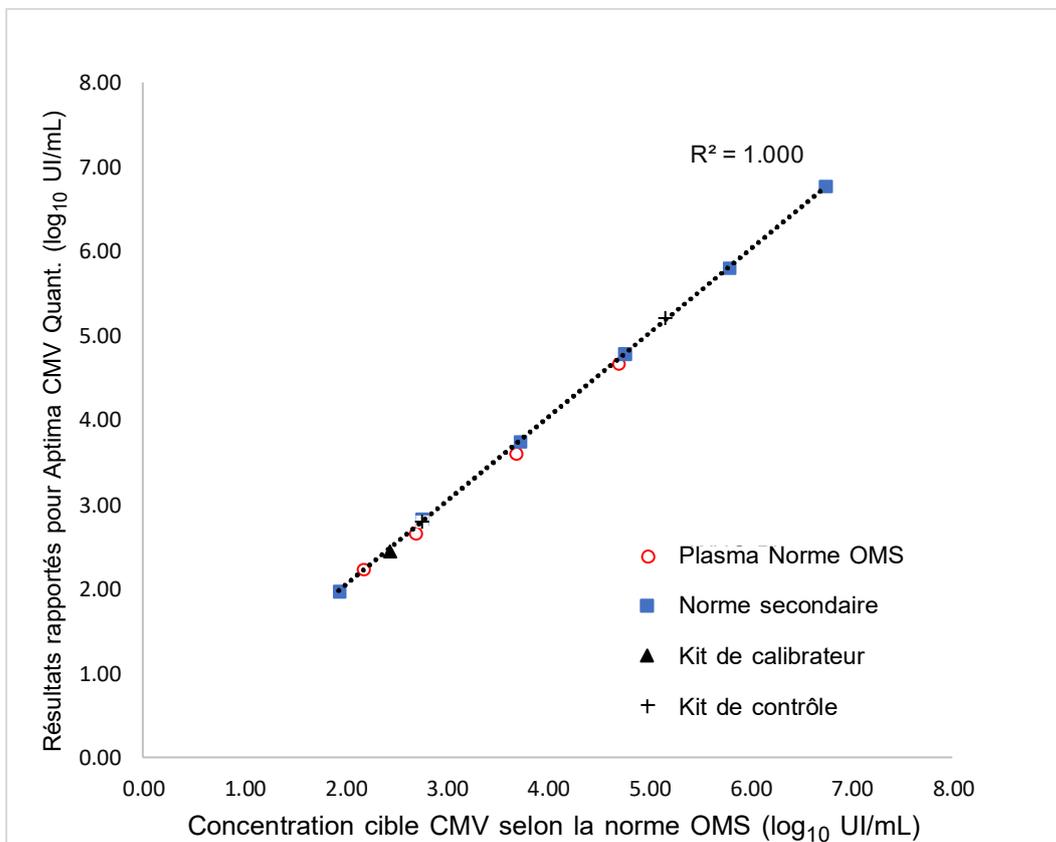


Figure 11. Traçabilité entre les concentrations cibles du 1^{er} standard OMS du CMV et les concentrations rapportées dans le test Aptima CMV Quant (standard OMS dilué dans du plasma)

Traçabilité au standard OMS avec le sang total

Les concentrations testées pour le standard OMS du CMV dans le sang total se situaient entre 2,70 et 4,70 log₁₀ UI/mL. Les panels de sang total avec les standards OMS, les étalons secondaires, les contrôles de test et les calibrateurs de test se sont rétablis comme prévu sur l'ensemble de la plage linéaire du test, comme l'illustre la Figure 12.

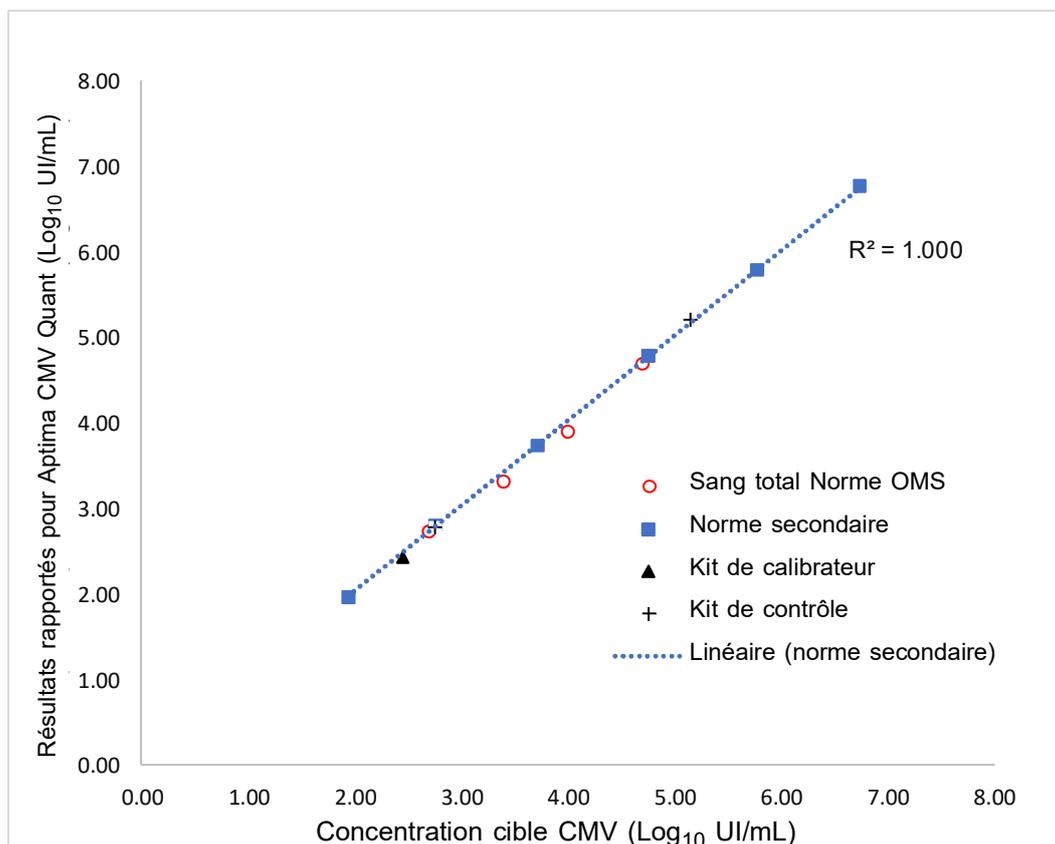


Figure 12. Traçabilité entre les concentrations cibles du 1^{er} standard OMS du CMV et les concentrations rapportées dans le test Aptima CMV Quant (standard OMS dilué dans le sang total)

Reproductibilité

Plasma

Pour évaluer la reproductibilité, un panel de 6 échantillons a été créé en diluant des échantillons cliniques positifs au CMV ou du CMV de culture dans du plasma négatif pour le CMV. Le panel a été analysé par trois opérateurs avec trois lots de réactifs sur trois Panther system et un minimum de 20 tests par jour. Chaque opérateur a effectué deux analyses par jour et chaque échantillon du panel a été testé en double dans chaque analyse. L'étude a été conçue et analysée conformément aux recommandations du protocole EP-05-A3 du CLSI.¹⁷

Le Tableau 15 indique la reproductibilité des résultats du test (en log UI/mL) entre les appareils, les opérateurs, les lots de réactif, les séries, les journées et en général. La variabilité totale était principalement due à la variabilité intra-série (p. ex., erreur aléatoire).

Tableau 15: Reproductibilité du test Aptima CMV Quant dans le Plasma

| N | Concentration moyenne (log UI/mL) | Inter-Lot ET | D'un appareil à l'autre ET | D'un opérateur à l'autre ET | Inter-Jour ET | Inter-Exécuter ET | Intra-Exécuter ET | Total ET |
|-----|--------------------------------------|-----------------|-------------------------------|--------------------------------|------------------|----------------------|----------------------|-------------|
| 108 | 2,28 | 0,02 | 0,04 | 0,00 | 0,00 | 0,06 | 0,16 | 0,18 |
| 108 | 2,82 | 0,06 | 0,00 | 0,00 | 0,04 | 0,07 | 0,11 | 0,14 |
| 108 | 3,49 | 0,07 | 0,00 | 0,01 | 0,06 | 0,06 | 0,11 | 0,15 |
| 108 | 4,53 | 0,04 | 0,02 | 0,04 | 0,00 | 0,07 | 0,07 | 0,11 |
| 108 | 5,57 | 0,06 | 0,00 | < 0,001 | 0,04 | 0,02 | 0,09 | 0,12 |
| 108 | 6,67 | 0,06 | 0,03 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,10 | 0,12 |

ET = écart-type

Remarque : la variabilité de certains facteurs peut être numériquement négative, si elle est très faible. Dans ce cas, l'ET apparaît comme 0.

Sang total

Pour évaluer la reproductibilité, un panel de 6 échantillons a été créé en diluant des échantillons cliniques positifs au CMV ou en ajoutant du CMV de culture dans du sang total négatif pour le CMV. Le panel a été analysé par trois opérateurs avec trois lots de réactifs sur trois Panther system et un minimum de 20 tests par jour. Chaque opérateur a effectué deux analyses par jour et chaque échantillon du panel a été testé en double dans chaque analyse

Le Tableau 16 indique la reproductibilité des résultats du test (en log UI/mL) entre les appareils, les opérateurs, les lots, les séries, les journées et en général. La variabilité totale était principalement due à la variabilité intra-série (p. ex., erreur aléatoire).

Tableau 16: Reproductibilité du test Aptima CMV Quant dans le sang total

| N | Concentration moyenne (log UI/mL) | Inter-Lot ET | D'un appareil à l'autre ET | D'un opérateur à l'autre ET | Inter-Jour ET | Inter-Exécuter ET | Intra-Exécuter ET | Total ET |
|-----|--------------------------------------|-----------------|-------------------------------|--------------------------------|------------------|----------------------|----------------------|-------------|
| 108 | 2,78 | 0,00 | 0,01 | 0,05 | 0,00 | 0,08 | 0,14 | 0,17 |
| 108 | 3,38 | 0,03 | 0,00 | 0,04 | 0,00 | 0,00 | 0,13 | 0,14 |
| 108 | 3,95 | 0,06 | 0,00 | 0,07 | 0,05 | 0,05 | 0,13 | 0,18 |
| 108 | 4,76 | 0,03 | 0,01 | 0,08 | 0,00 | 0,07 | 0,12 | 0,16 |
| 108 | 5,64 | 0,01 | 0,00 | 0,07 | 0,00 | 0,00 | 0,11 | 0,13 |
| 108 | 6,74 | 0,03 | 0,00 | 0,05 | 0,00 | 0,04 | 0,09 | 0,12 |

ET = écart-type

Remarque : la variabilité de certains facteurs peut être numériquement négative, si elle est très faible. Dans ce cas, l'ET apparaît comme 0.

Substances potentiellement interférentes

La sensibilité du test Aptima CMV Quant aux interférences générées par des taux élevés de substances endogènes, d'anticoagulants ou de médicaments fréquemment prescrits chez les patients greffés a été évaluée. Les concentrations du test pour chaque substance interférente ont été sélectionnées en fonction des références disponibles dans la littérature et des directives des protocoles EP07¹⁸ et EP37¹⁹ du CLSI. Des échantillons de plasma négatifs au CMV et des échantillons enrichis au CMV à une concentration de 2,22 log UI/mL et 3,30 log IU/mL ont été analysés. Des échantillons de sang total négatifs au CMV et des échantillons enrichis au CMV à une concentration de 2,72 log UI/mL et 4,00 log IU/mL d'ADN de CMV ont été analysés pour l'hémoglobine

Aucune altération de performance du test n'a été observée dans les échantillons de plasma en présence d'albumine (60 mg/mL), d'hémoglobine (10 mg/mL), de triglycérides (15 mg/mL), de bilirubine non conjuguée (0,4 mg/mL) ou d'ADN génomique humain (2 µg/mL). Aucune altération de performance du test n'a été observée dans les échantillons de sang total enrichis par 100 mg/mL d'hémoglobine.

Des échantillons cliniques de plasma prélevés chez des patients présentant des taux élevés de substances spécifiques ou chez des patients atteints d'affections listées dans le Tableau 17 ont été analysés avec le test Aptima CMV Quant Assay. Aucune altération de performance du test n'a été observée.

Tableau 17: Types d'échantillons cliniques testés

| | Types d'échantillons cliniques | Nombre d'échantillons cliniques testés |
|---|------------------------------------|--|
| 1 | Anticorps antinucléaire (AAN) | 10 |
| 2 | Lupus érythémateux disséminé (LED) | 10 |
| 3 | Polyarthrite rhumatoïde (PR) | 10 |

Aucune altération de performance du test n'a été observée en présence des substances exogènes présentées dans le Tableau 18 à des concentrations d'au moins trois fois la C_{max} de médicaments dans le plasma humain.

Tableau 18: Substances exogènes

| Groupe de substances exogènes | Substances exogènes testées |
|-------------------------------|--|
| 1 | Cefotétan, Clavulanate de potassium, Ticarcilline disodique, Vancomycine |
| 2 | Pipéracilline |
| 3 | Sulfaméthoxazole |
| 4 | Tazobactam sodique, Triméthoprim, Fluconazole |
| 5 | Ganciclovir, Valganciclovir, Cidofovir, Foscarnet, Valacyclovir, Acyclovir, Letermovir |
| 6 | Azathioprine, Cyclosporine, Mycophénolate mofétil, acide mycophénolique |
| 7 | Sirolimus, Tacrolimus, Prednisone, Évérolimus |
| 8 | Citrate de sodium, EDTA, héparine |

Spécificité

La spécificité a été déterminée avec 780 échantillons cliniques congelés négatifs au CMV. La spécificité a été calculée comme le pourcentage d'échantillons négatifs pour le CMV avec des résultats « non détecté » par rapport au nombre total d'échantillons testés pour chaque type d'échantillon.

L'ADN du CMV n'a pas été détecté dans 389 échantillons de plasma et dans 390 échantillons de sang total. La spécificité était de 99,7 % (389/390, IC à 95 % : 98,6 à 100 %) pour le plasma et 100 % (390/390, IC à 95 % : 99,3 à 100 %). La spécificité combinée du test Aptima CMV Quant pour le plasma et le sang total était de 99,9 % (779/780, IC à 95 % : 99,3 à 100 %).

Tableau 19: Spécificité dans les échantillons de plasma et de sang total

| | Plasma | Sang total | Plasma et sang total |
|-----------------------|------------|------------|----------------------|
| Réplicats valides (n) | 390 | 390 | 780 |
| Non détecté | 389 | 390 | 779 |
| Spécificité | 99,7 % | 100 % | 99,9 % |
| (IC à 95 %) | (98,6-100) | (99,3-100) | (99,3-100) |

IC = intervalle de confiance

Spécificité analytique

La réactivité croisée potentielle avec les agents pathogènes listés dans le Tableau 20 a été évaluée dans le plasma humain négatif pour le CMV en présence ou l'absence de 2,2 log IU/mL et de 3,3 log UI/mL de CMV. Trois parasites sanguins présents dans les échantillons de sang total ont également été évalués dans le sang total négatif pour le CMV en présence ou en l'absence de 2,7 log UI/mL et de 4,0 log UI/mL de CMV. Les agents pathogènes ont été testés à la plus forte concentration disponible. Aucune réactivité croisée ou interférence n'a été observée.

Tableau 20: Agents pathogènes testés pour la spécificité analytique

| Micro-organisme/agent pathogène | Concentration | | Micro-organisme/agent pathogène | Concentration | |
|-------------------------------------|---------------|------------------------|--|---------------|-------------|
| Adénovirus de type 4 | 1 886 | TCID50/mL ^a | <i>Mycobacterium intracellulare</i> | 1 000 000 | UFC/mL |
| Polyomavirus BK | 1 000 000 | cp/mL ^b | <i>Mycoplasma genitalium</i> | 1 000 000 | UFC/mL |
| Virus Epstein-Barr | 1 000 000 | cp/mL | <i>Mycoplasma pneumoniae</i> | 1 000 000 | UFC/mL |
| Virus de l'hépatite B | 1 000 000 | IU/mL ^c | <i>Neisseria gonorrhoeae</i> | 1 000 000 | UFC/mL |
| Virus de l'hépatite C | 1 000 000 | cp/mL | <i>Propionibacterium acnes</i> | 1 000 000 | UFC/mL |
| Virus de l'herpes simplex de type 1 | 1 428 571 | TCID50/mL | <i>Salmonella enterica</i> sérotype Typhimurium | 1 000 000 | UFC/mL |
| Virus de l'herpes simplex de type 2 | 147 143 | TCID50/mL | <i>Staphylococcus aureus</i> | 1 000 000 | UFC/mL |
| VIH-1 de sous-type B | 1 000 000 | cp/mL | <i>Staphylococcus epidermidis</i> | 1 000 000 | UFC/mL |
| Virus de l'herpès humain 6A | 1 000 000 | cp/mL | <i>Streptococcus agalactiae</i> | 1 000 000 | UFC/mL |
| Virus de l'herpès humain 7 | 1 428 571 | TCID50/mL | <i>Streptococcus pneumoniae</i> | 1 000 000 | UFC/mL |
| Virus de l'herpès humain 8 | 1 000 000 | cp/mL | <i>Streptococcus pyogenes</i> | 1 000 000 | UFC/mL |
| Métapneumovirus humain | 192 857 | TCID50/mL | <i>Aspergillus niger</i> | 485 000 | UFC/mL |
| Papillomavirus humain 18 | 1 000 000 | cp/mL | <i>Candida albicans</i> | 1 000 000 | UFC/mL |
| Virus parainfluenza humain | 944 | TCID50/mL | <i>Cryptococcus neoformans</i> | 1 000 000 | UFC/mL |
| Virus de la grippe | 3 857 | TCID50/mL | <i>Trichomonas vaginalis</i> | 1 000 000 | cellules/mL |
| Rhinovirus | 7 257 | TCID50/mL | <i>Leishmania Majeur</i> * | 1 000 000 | cellules/mL |
| Virus varicelle-zona | 1 000 000 | cp/mL | <i>Babesia microti</i> * | 1 000 000 | cellules/mL |
| Virus Zika | 29 286 | TCID50/mL | <i>Plasmodium falciparum</i> * | 1 000 000 | cellules/mL |
| <i>Chlamydia trachomatis</i> | 1 000 000 | UFC/mL ^d | ^a TCID50 U/mL = Unités de dose infectieuse de culture tissulaire par mL | | |
| <i>Clostridium perfringens</i> | 1 000 000 | UFC/mL | ^b cp/mL = copies virales par mL | | |
| <i>Corynebacterium diphtheriae</i> | 1 000 000 | UFC/mL | ^c UI/mL = unités internationales par mL | | |
| <i>Enterococcus faecalis</i> | 1 000 000 | UFC/mL | ^d UFC/mL = unités de formation de colonies par mL | | |
| <i>Escherichia coli</i> | 1 000 000 | UFC/mL | *testé avec un type d'échantillon de sang total | | |
| <i>Klebsiella pneumoniae</i> | 1 000 000 | UFC/mL | | | |
| <i>Listeria monocytogenes</i> | 1 000 000 | UFC/mL | | | |

Corrélation de la méthode

Cette étude a été conçue conformément au protocole EP09c du CLSI.¹⁹

Corrélation de la méthode pour le plasma

La performance du test Aptima CMV Quant a été évaluée par rapport au test Roche cobas® CMV sur le système Cobas® 6800 en analysant des échantillons cliniques non dilués de patients infectés par le CMV et des échantillons élaborés à partir de différentes souches de virus de culture appartenant aux quatre génotypes ajoutés au plasma négatif pour l'EDTA de donneur individuel. Un total de 160 échantillons cliniques et de 115 échantillons élaborés dans la plage linéaire commune aux deux tests ont été utilisés pour la régression de Deming, comme l'illustre la Figure 13.

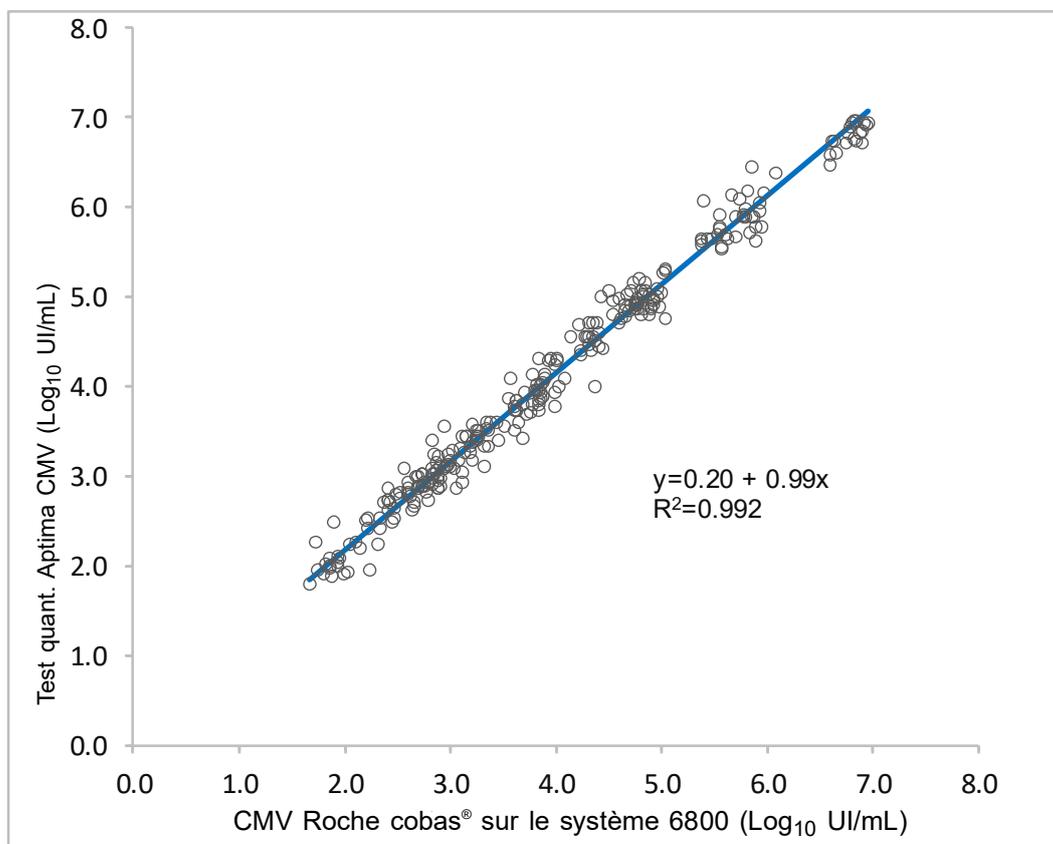


Figure 13. Corrélation entre la charge virale du CMV dans le test Aptima CMV Quant et dans le test Roche cobas® CMV sur l'analyse d'échantillons de plasma

Corrélation de la méthode pour le sang total

La performance du test Aptima CMV Quant a été évaluée par rapport au test en temps réel Abbott CMV RealTime sur la plate-forme m2000 en analysant des échantillons cliniques non dilués de patients infectés par le CMV et des échantillons élaborés à partir de virus de culture ajoutés au sang total négatif pour l'EDTA de donneur individuel. Un total de 159 échantillons cliniques et de 83 échantillons élaborés dans la plage linéaire commune aux deux tests ont été utilisés pour la régression de Deming, comme l'illustre la Figure 14.

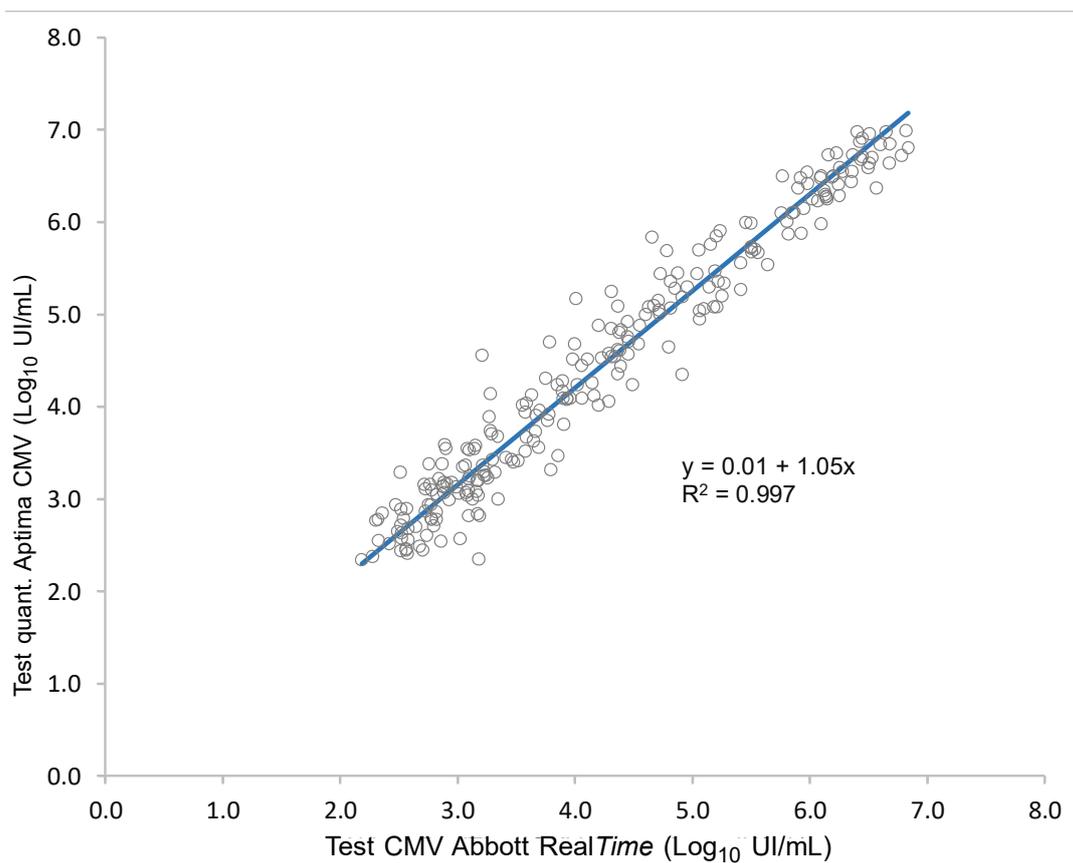


Figure 14. Corrélation entre la charge virale du CMV dans le test Aptima CMV Quant et dans le test en temps réel Abbott RealTime CMV sur l'analyse d'échantillons de sang total

Contamination de transfert

La contamination de transfert a été évaluée pour le système Panther System avec du plasma comme type d'échantillon et d'autres tests de charge virale (Aptima HIV-1 Quant Dx Assay, Aptima HCV Quant Assay, Aptima HBV Quant Assay). Aucune contamination de transfert n'a été observée au cours des analyses précédentes. Pour établir que le système Panther System limite le risque de résultats faussement positifs liés à une contamination de transfert des échantillons de type sang total, une étude a été menée sur trois systèmes Panther system avec des panels enrichis. La contamination de transfert a été évaluée avec des échantillons de sang total à titre élevé enrichis en ADN de CMV (6 log UI/mL) répartis entre des échantillons négatifs pour le CMV selon une configuration en damier. L'analyse a comporté douze séries. Le taux global de contamination de transfert était de 0,24 % (1/423).

Bibliographie

1. **Bate SL, Dollard SC, Cannon MJ.** Cytomegalovirus Seroprevalence in the United States: The National Health and Nutrition Examination Surveys, 1988-2004. *Clinical Infectious Diseases* 2010; 50:531-540.
2. **Cannon MJ, Schmid DS, Hyde TB.** Review of Cytomegalovirus Seroprevalence and Demographic Characteristics Associated with Infection. *Reviews in Medical Virology* 2010;20:202-213.
3. **Wills MR, Poole E, Lau B, Krishna B, Sinclair JH.** The immunology of human cytomegalovirus latency: could latent infection be cleared by novel immunotherapeutic strategies *Cell and Mol Immunol.* 2015;12:128-138.
4. **Kotton CN, Kumar D, Caliendo AM et al.** The Third International Consensus Guidelines on the Management of Cytomegalovirus in Solid Organ Transplantation. *Transplantation.* 2018;102(6):900-931.
5. **Emery VC, Sabin CA, Cope AV, et al.** Application of Viral-Load Kinetics to Identify Patients who Develop Cytomegalovirus Disease After Transplantation. *Lancet.* 2000; 10;355(9220):2032-6.
6. **Humar A, Gregson D, Caliendo AM, et al.** Clinical Utility of Quantitative Cytomegalovirus Viral Load Determination for Predicting Cytomegalovirus Disease in Liver Transplant Recipients. *Transplantation.* 1999; 15;68(9):1305-11.
7. **Humar A, Kumar D, Gilbert C, et al.** Cytomegalovirus (CMV) Glycoprotein B Genotypes and Response to Antiviral Therapy, in Solid-Organ–Transplant Recipients with CMV Disease. *The Journal of Infectious Diseases.* 2003;188(4):581–4,
8. **Razonable RR, Hayden RT.** Clinical Utility of Viral Load in Management of Cytomegalovirus Infection After Solid Organ Transplantation. *Clinical Microbiology Reviews.* 2013; 26(4):703-727.
9. **de la Cámara R.** CMV in Hematopoietic Stem Cell Transplantation. *Mediterranean Journal of Hematology and Infectious Diseases.* 2016; 20;8(1):e2016031.
10. **Clinical and Laboratory Standards Institute.** 2005. Collection, Transport, Preparation, and Storage of Specimens for Molecular Methods; Approved Guideline. CLSI Document MM13-A. Wayne, PA.
11. **29 CFR Part 1910.1030.** Occupational Exposure to Bloodborne Pathogens ; version actuelle.
12. **Centers for Disease Control and Prevention/National Institutes of Health.** Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories (BMBL) ; version actuelle.
13. **Clinical and Laboratory Standards Institute.** 2002. Clinical Laboratory Waste Management. CLSI Document GP5-A2. Villanova, PA.
14. **Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI).** 2012. Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures; Approved Guideline—Second Edition. CLSI Document EP17-A2. Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne, PA.
15. **Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI).** 2003. Evaluation of the Linearity of Quantitative Measurement Procedures: A Statistical Approach; Approved Guideline. CLSI document EP06-A. Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne, PA.
16. **Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI).** 2006. Metrological Traceability and Its Implementation; A Report. CLSI document EP32-R. Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne, PA.
17. **Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI).** 2014. Evaluation of Precision of Quantitative Measurement Procedures; Approved Guideline – Third Edition. CLSI document EO05-03. Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne, PA.
18. **Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI).** 2018. Interference testing in Clinical Chemistry – Third Edition. CLSI document EP07, 3rd Ed. Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne, PA.
19. **Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI).** 2018. Supplemental Tables for Interference Testing in Clinical Chemistry. CLSI document EP37, 1st Ed. Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne, PA.
20. **Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI).** 2018. Measurement Procedure Comparison and Bias Estimation Using Patient Samples. CLSI document EP09c, 3rd Ed. Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne, PA.
21. **1st WHO International Standard for Human Cytomegalovirus (HCMV) for Nucleic Acid Amplification Techniques (NIBSC 09/162),**Merlin strain



Hologic, Inc.
10210 Genetic Center Drive
San Diego, CA 92121 USA



Hologic BV
Da Vinciiaan 5
1930 Zaventem
Belgium

Pour obtenir l'adresse e-mail et le numéro de téléphone du service technique et du service client spécifiques à chaque pays, consultez le site Web www.hologic.com/support.

Hologic, Aptima et Panther sont des marques commerciales ou des marques déposées de Hologic, Inc. ou de ses filiales, aux États-Unis ou dans d'autres pays.

Toutes les autres marques commerciales qui peuvent apparaître dans cette notice sont des marques commerciales de leurs détenteurs respectifs.

Ce produit peut être couvert par un ou plusieurs brevets américains identifiés sur le site www.hologic.com/patents.

© 2021 Hologic, Inc. Tous droits réservés.

AW-21334-901 Rev. 001

2021-03