

Aptima® CMV Quant Assay

Mode d'emploi

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
Résumé de la sécurité et des performances	3
Avertissements et précautions	3
Conditions de conservation et de manipulation des réactifs	8
Prélèvement et conservation des échantillons	9
Échantillons à bord du Panther System	12
Transport des échantillons	12
Panther System	13
Réactifs et matériels fournis	13
Matériel requis, mais disponible séparément	15
Matériel facultatif	16
Procédure de test pour le Panther System	16
Remarques concernant la procédure	24
Contrôle de qualité	25
Étalonnage du test	25
Contrôles négatifs et positifs	25
Calibrateur interne/Contrôle interne	25
Interprétation des résultats	27
Limites	29
Performance analytique	30
Limite de détection avec le 1er étalon de référence international de l'OMS	30
Limite de détection des génotypes de CMV et des mutants résistants aux médicaments	31
Plage linéaire	33
Linéarité pour les différents génotypes du CMV	35
Limite inférieure de quantification avec le 1er étalon de référence international de l'OMS	37
Détermination de la limite inférieure de quantification des génotypes de CMV et des mutants résistants aux médicaments	39
Traçabilité au 1er étalon de référence international de l'OMS	42
Substances potentiellement interférentes	45
Précision	44
Substances potentiellement interférentes	45
Spécificité	46
Spécificité analytique	47
Dilution de l'échantillon de plasma à l'aide du contrôle négatif CMV Aptima (1:3)	48
Confirmation du LoD et de la LLoQ à l'aide du 1er étalon international de l'OMS pour le CMV dilué dans le contrôle négatif CMV Aptima	49
Contamination de transfert	49
Corrélation de la méthode	50
Reproductibilité	52
Performance clinique	54
Concordance clinique	54
Comparaison des méthodes	60
Différence moyenne appariée	65
Biais à certains taux de charge virale	66
Différence totale admissible (DTA)	67
Bibliographie	72
Coordonnées et historique des révisions	73

Informations générales

Usage prévu

Le test Aptima® CMV Quant est un test d'amplification de l'acide nucléique in vitro conçu pour la quantification du DNA du cytomégalovirus 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 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.^{5,6,7,8} 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 cytomégalovirus humain.²¹

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 si le facteur de conversion de sang total est sélectionné sur le Panther System.

Résumé de la sécurité et des performances

Le SSP (Résumé de la sécurité et des performances) est disponible dans la base de données européenne sur les dispositifs médicaux (Eudamed) ; il est lié aux identifiants du dispositif (IUD-ID de base). Pour localiser le SSP du test Aptima CMV Quant, se reporter à l'identifiant de base unique du dispositif (Basic Unique Device Identifier ; BUDI) : **54200455DIAGAPTCMVAP**.

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 régionales.^{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. En cas de résultat non valide en raison d'une erreur ML2, ne testez pas à nouveau l'échantillon de plasma pur. Reportez-vous à *Procédure de test pour le Panther System*, étape E.5, de la notice du test pour savoir comment diluer l'échantillon de plasma.




Remarque : *En cas d'erreur ML2, reportez-vous au Manuel de l'opérateur du Panther/Panther Fusion System approprié pour les instructions de nettoyage du Mag Wash.*

- P. Ne pas utiliser le kit de réactifs, le calibrateur ou les contrôles après la date de péremption.
- Q. 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.
- R. Veiller à éviter de contaminer les réactifs par des agents microbiologiques ou des nucléases.
- S. 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.
- T. 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.
- U. 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.
- V. 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 des informations sur la signalisation des risques spécifiques à la région, consulter la FDS spécifique de la région dans sur la bibliothèque des fiches de données de sécurité à www.hologicds.com. Pour plus*

d'informations sur les symboles, consulter la légende des symboles à l'adresse <http://www.hologic.com/package-inserts>

Informations sur les dangers pour l'UE	
—	<p>Amplification Reagent <i>Chlorure de magnésium 65 - 70 %</i></p> <p>H412 - Nocif pour les organismes aquatiques, entraîne des effets néfastes à long terme. P273 - Éviter le rejet dans l'environnement. P501 - Éliminer le contenu/récipient dans une usine d'élimination des déchets homologuée.</p>
—	<p>Enzyme Reagent <i>Triton X-100 1 - 5 %</i> <i>HEPES 1 - 5 %</i></p> <p>H402 - Nocif pour les organismes aquatiques. P273 - Éviter le rejet dans l'environnement. P501 - Éliminer le contenu/récipient dans une usine d'élimination des déchets homologuée.</p>
—	<p>Enzyme Reconstitution Solution <i>Glycérine 20 - 25 %</i> <i>Triton X-100 5 - 10 %</i> <i>HEPES 1 - 5 %</i></p> <p>H402 - Nocif pour les organismes aquatiques. P273 - Éviter le rejet dans l'environnement. P501 - Éliminer le contenu/récipient dans une usine d'élimination des déchets homologuée.</p>
—	<p>Promoter Reagent <i>Chlorure de magnésium 55 - 60 %</i></p> <p>H412 - Nocif pour les organismes aquatiques, entraîne des effets néfastes à long terme. P273 - Éviter le rejet dans l'environnement. P501 - Éliminer le contenu/récipient dans une usine d'élimination des déchets homologuée.</p>
—	<p>Target Capture Reagent <i>HEPES 15 - 20 %</i> <i>Lauryl Sulfate Lithium Salt 5 - 10 %</i> <i>Succinic Acid 1 - 5 %</i> <i>Lithium Hydroxide, Monohydrate 1 - 5 %</i></p> <p>H402 - Nocif pour les organismes aquatiques. P273 - Éviter le rejet dans l'environnement. P501 - Éliminer le contenu/récipient dans une usine d'élimination des déchets homologuée.</p>

 	<p>Target Enhancer Reagent (TER) <i>Lithium Hydroxide, Monohydrate 5 - 10 %</i></p> <p>DANGER</p> <p>H302 - Nocif en cas d'ingestion. H314 - Provoque des brûlures de la peau et des lésions oculaires graves. P264 - Se laver le visage, les mains et toute surface de peau exposée soigneusement après manipulation. P270 - Ne pas manger, boire ou fumer en manipulant ce produit. P301 + P312 - EN CAS D'INGESTION : appeler un CENTRE ANTIPOISON ou un médecin en cas de malaise. P330 - Rincer la bouche. P501 - Éliminer le contenu/réceptacle dans une usine d'élimination des déchets homologuée. P260 - Ne pas respirer les poussières/fumées/gaz/brouillards/vapeurs/aérosols. P280 - Porter des gants de protection/des vêtements de protection/un équipement de protection des yeux/du visage. P301 + P330 + P331 - EN CAS D'INGESTION : rincer la bouche. NE PAS faire vomir. P303 + P361 + P353 - EN CAS DE CONTACT AVEC LA PEAU (ou les cheveux) : enlever immédiatement les vêtements contaminés. Rincer la peau à l'eau [ou se doucher]. P304 + P340 - EN CAS D'INHALATION : transporter la personne à l'extérieur et la maintenir dans une position où elle peut confortablement respirer. P305 + P351 + P338 - EN CAS DE CONTACT AVEC LES YEUX : rincer avec précaution à l'eau pendant plusieurs minutes. Enlever les lentilles de contact si la victime en porte et si elles peuvent être facilement enlevées. Continuer à rincer. P310 - Appeler immédiatement un CENTRE ANTIPOISON ou un médecin. P321 - Traitement spécifique (voir les instructions complémentaires de premier secours sur cette étiquette). P363 - Laver les vêtements contaminés avant réutilisation. P405 - Garder sous clef.</p>
	<p>CMV Kit Controls <i>Human Serum/Human Plasma 95 - 100 %</i> <i>Azoture de sodium < 1 %</i></p> <p>—</p> <p>H412 - Nocif pour les organismes aquatiques, entraîne des effets néfastes à long terme. P501 - Éliminer le contenu/réceptacle dans une usine d'élimination des déchets homologuée. P273 - Éviter le rejet dans l'environnement</p>
<p>—</p>	<p>Kit Calibrator <i>Lauryl Sulfate Lithium Salt 0 - 10 %</i> <i>Succinic Acid 0 - 10 %</i></p> <p>—</p> <p>H402 - Nocif pour les organismes aquatiques. P273 - Éviter le rejet dans l'environnement. P501 - Éliminer le contenu/réceptacle dans une usine d'élimination des déchets homologuée.</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. Veillez à ce que les précipités soient dissouts. N'utilisez pas un calibrateur si gélifié ou en cas de précipité ou de turbidité.
- 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.

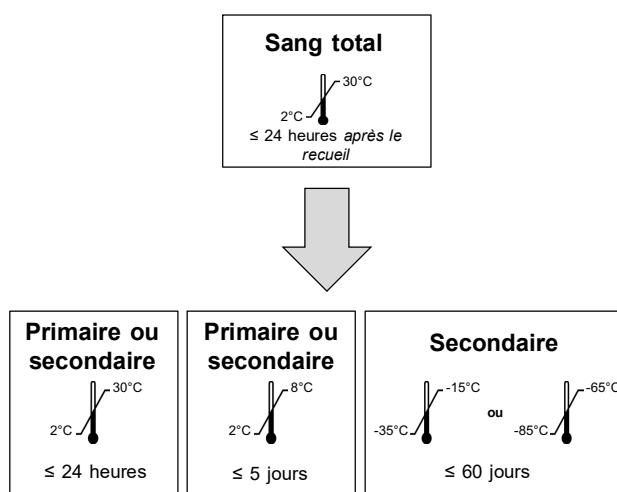


Figure 1. Conditions de conservation des tubes EDTA

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.

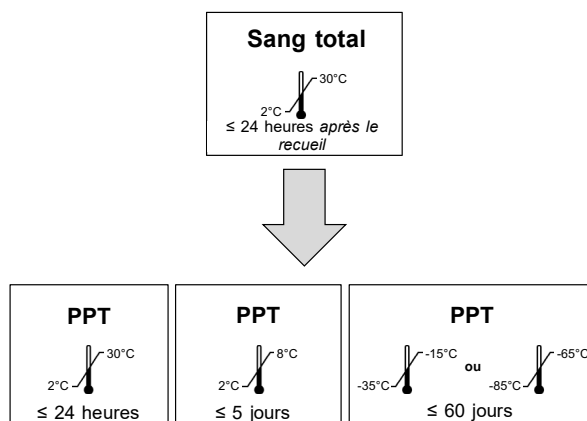


Figure 2. Conditions de conservation des tubes PPT

3. Dilution d'échantillons de plasma

Un échantillon de plasma peut être dilué dans le tube SAT ou dans un tube secondaire pour être testé sur le Panther System. Reportez-vous à la *Procédure de test pour le Panther System*, étape E.5 ci-dessous pour plus d'informations.

Remarque : dans le cas où un échantillon est dilué, il doit être analysé immédiatement après la dilution. Ne pas congeler un échantillon dilué.

4. 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.

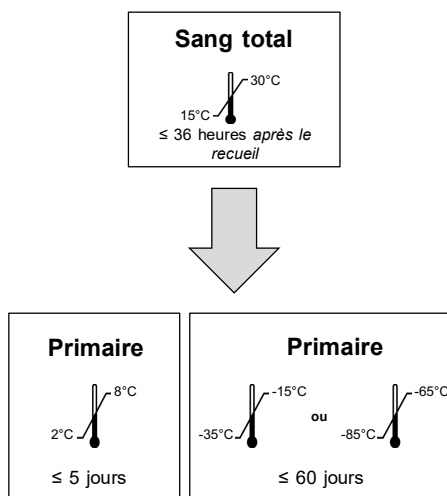


Figure 3. Conditions de conservation des échantillons de sang total

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 boîte de réactif activateur de cible, 1 kit de calibrateur et 1 kit de contrôles)

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

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

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	—

Matériel requis, mais disponible séparément

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

Matériel	Réf. N°.
Panther® System	303095
Panther Fusion® System	PRD-04172
Panther System, Liquides et déchets en continu (Panther Plus)	PRD-06067
Kit d'analyse Panther pour tests en temps réel (pour tests en temps réel uniquement)	PRD-03455 (5 000 tests)
<i>Kit de liquide pour test Aptima® (aussi connu sous le nom de Kit de liquide universel) 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, 1000 µL, avec filtre, conducteurs, détection de liquide et jetables	901121 (10612513 Tecan) 903031 (10612513 Tecan) MME-04134 (30180117 Tecan) MME-04128
<i>Tous les produits ne sont pas disponibles dans toutes les régions. Contacter le représentant pour obtenir des informations spécifiques à la région.</i>	
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>	CL0041 (100 bouchons)
<i>Flacon de TCR</i>	CL0040 (100 bouchons)
<i>Flacon de TER</i>	903302 (100 bouchons)
Protection de paillasse de laboratoire à envers plastifié	—
Chiffons non pelucheux	—
Pipette	—
Embouts	—

Matériel	Réf. N°.
Choix de tube de prélèvement primaire (EDTA et PPT) :	—
13 mm x 100 mm	
13 mm x 75 mm	
16 mm x 100 mm	
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>	FAB-18184
Bouchon pour tubes de transport (100/paquet)	504415
<i> bouchon pour tubes SAT</i>	
Diluant d'échantillon Aptima	PRD-03003
Kit de diluant d'échantillon Aptima	PRD-03503
<i> contient le diluant d'échantillon Aptima, 100 SAT et 100 bouchons</i>	
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
- 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 pailasse de laboratoire absorbantes à envers plastifié propres.
 - Nettoyer un plan de travail distinct sur lequel les échantillons seront préparés. Suivre la procédure décrite ci-dessus (étape A.1).
 - 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 :
- 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 calibre 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 calibre 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 dissout, 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 4, 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.

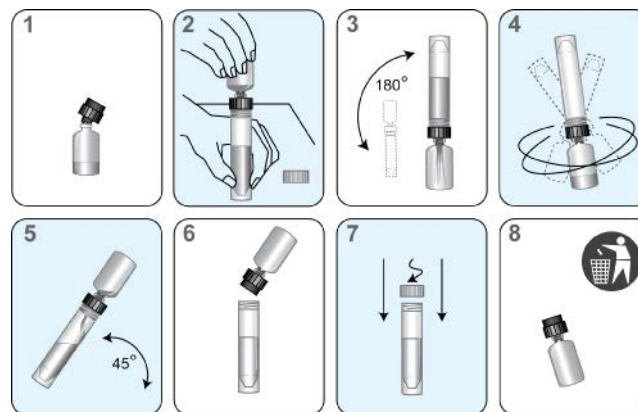


Figure 4. Procédure de reconstitution des réactifs

3. Retirer le réactif activateur de cible qCMV de son lieu de conservation (15 °C à 30 °C). Inscire 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. Assurez-vous que chaque tube de collecte principal contient jusqu'à 1 200 µL d'échantillon ou que chaque tube secondaire contient au moins 700 µL d'échantillon. Reportez-vous au tableau de la section *Prélèvement d'échantillon* pour les volumes morts nécessaires pour chaque type de tube primaire et secondaire. Si la dilution de l'échantillon de plasma est nécessaire, en cas de faible volume d'échantillon et/ou de répétition du test, voir l'étape E.5 ci-dessous pour plus d'informations.
5. Dilution de l'échantillon de plasma

Un échantillon de plasma peut être dilué à 1:3 dans un SAT ou un tube secondaire pour être testé sur le Panther System.

a. Décongeler le contrôle négatif au CMV Aptima

- i. Enlever un tube de contrôle négatif de son lieu de stockage (-15 °C à -35 °C) et le placer entre 15 °C et 30 °C. Tout au long de la décongélation, retourner délicatement le tube pour bien le mélanger. S'assurer que le contenu du tube est entièrement décongelé avant utilisation.

Option : le tube de contrôle peut être soigneusement mélangé dans un agitateur de tubes. S'assurer que le contenu du tube est entièrement décongelé avant utilisation.

- ii. Une fois le contenu du tube décongelé, séchez l'extérieur du tube avec un chiffon jetable propre et sec.
- iii. Pour éviter toute contamination, n'ouvrez pas le tube à ce moment.

b. Dilution de l'échantillon de plasma

Remarque : dans le cas où un échantillon est dilué, il doit être analysé immédiatement après la préparation de la dilution.

- i. Déposez 240 µL d'échantillon dans le tube SAT.
- ii. Ajoutez 480 µL de contrôle négatif.

- iii. Fermez le tube.
- iv. Retournez délicatement 5 fois pour le mélanger.

Les échantillons dilués à 1:3 peuvent être analysés à l'aide de l'option 1:3 du Panther System (voir le *Manuel de l'opérateur du Panther/Panther Fusion System* pour plus d'informations). Le logiciel signale automatiquement un résultat non dilué en appliquant le facteur de dilution. Ces échantillons sont signalés comme des échantillons dilués.

6. 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. Assurez-vous que les échantillons non traités dans les tubes primaires sont stockés correctement conformément à la section *Prélèvement et conservation des échantillons*.
2. Vérifier que les échantillons congelés soient entièrement décongelés. 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*.
3. 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.
4. 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 au vortex 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/Panther Fusion 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.

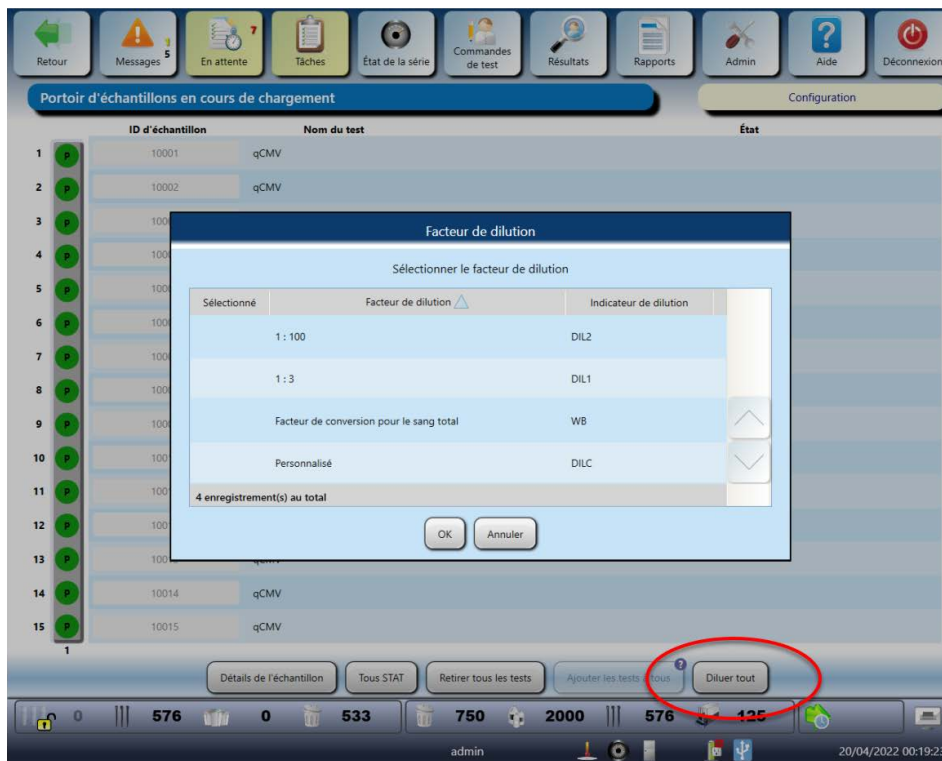


Figure 5. La fenêtre *Facteur de dilution* de l'écran *Chargement du portoir d'échantillons* (Exemple)

- 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 commande de test (voir 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**

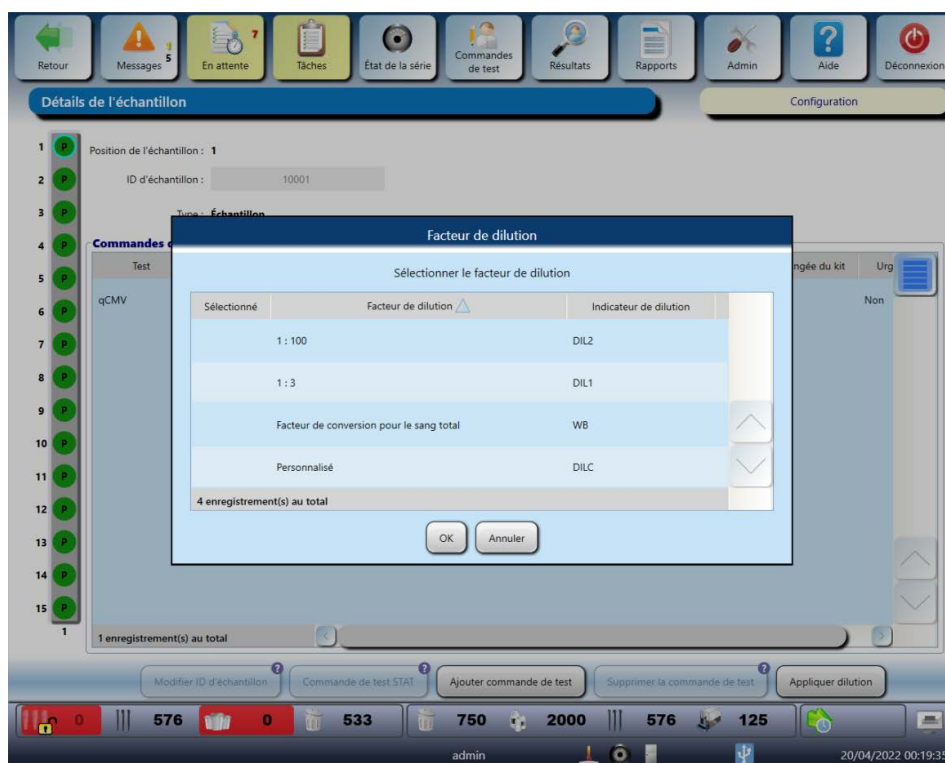


Figure 6. La fenêtre *Facteur de dilution* de l'écran *Détails de l'échantillon* (Exemple)

- 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.

En cas de résultat non valide en raison d'une erreur ML2, ne testez pas à nouveau l'échantillon de plasma pur. Reportez-vous à *Procédure de test pour le Panther System*, étape E.5, de la notice du test pour savoir comment diluer l'échantillon.

Remarque : *En cas d'erreur ML2, reportez-vous au Manuel de l'opérateur du Panther/Panther Fusion System approprié pour les instructions de nettoyage du Mag Wash.*

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 DNA de CMV dans les échantillons et les contrôles en comparant les résultats à une courbe de calibration. Les concentrations en DNA de CMV sont présentées en UI/mL et en \log_{10} UI/mL. L'interprétation des résultats est présentée dans le Tableau 1 et Tableau 2. Si l'option de dilution du sang total ou du plasma est utilisée sur le Panther System, le logiciel calcule automatiquement la concentration en DNA de CMV pour l'échantillon pur en multipliant la concentration diluée par le facteur de dilution, et les résultats de l'échantillon seront marqués.

Remarque : pour les échantillons de plasma dilués, les résultats indiqués comme « Non détecté » ou « < 53 détectés » peuvent être générés en diluant un échantillon à une concentration supérieure, mais près du LoD (seuil de détection) ou de la LLoQ (limite inférieure de quantification). Si un résultat quantitatif n'est pas obtenu, il est recommandé de prélever un nouvel échantillon et de l'analyser sans le diluer.

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 détectés	< 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 détectés	< 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.

Remarque : Pour les échantillons de plasma dilués, le Panther System rapporte des résultats supérieurs à la ULoQ (limite supérieure de quantification) en utilisant la notation scientifique si le résultat de l'échantillon dilué se situe dans la plage de dosage avant l'application du facteur de dilution.

Les critères d'acceptation pour chacun des contrôles du test Aptima CMV Quant Dx sont décrits au Tableau 3.

Remarque : La plage de récupération indiquée ci-dessous varie en fonction de la valeur attribuée à chaque lot spécifique. Reportez-vous à la concentration assignée figurant sur la fiche des codes à barres du contrôle fournie avec chaque boîte de contrôle.

Tableau 3: Critères d'acceptation de la plage de récupération pour le test Aptima CMV Quant

Composant	Plage de récupération pour les séries valides
Contrôle négatif	SO
Contrôle positif faible	+/- 0,6 log ₁₀ copies/mL
Contrôle positif fort	+/- 0,5 log ₁₀ copies/mL

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 analytique

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

Seuil de détection avec le premier étalon de référence international de l'OMS dans le plasma

Le LoD a été déterminé en testant des panels du 1^{er} étalon de référence international de l'OMS (code NIBSC 09/162)²¹ pour le CMV 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 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 40,7 UI/mL pour le plasma.

Tableau 4: Limite de détection pour le plasma avec le 1^{er} étalon de référence internationale 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

Seuil de détection avec le 1^{er} étalon international de l'OMS dans le sang total

La LoD a été déterminée en testant des panels du 1^{er} étalon de référence internationale 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 5 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 5: Seuil 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 des géotypes de CMV et des mutants résistants aux médicaments

Limite de détection des géotypes de CMV et des mutants résistants aux médicaments dans le plasma

Le LoD a été vérifié pour trois géotypes différents en fonction de la séquence de la glycoprotéine B⁷ (gB-2, gB-3, gB-4) et des mutations résistantes aux médicaments en testant différentes concentrations de CMV proches du LoD établi pour le plasma avec le 1^{er} étalon international de l'OMS (géotype gB-1). Les tests ont été effectués avec 30 réplicats par échantillon du panel et par lot de réactifs en utilisant deux lots de réactifs Aptima CMV Quant. Le LoD le plus élevé vérifié pour les trois géotypes et les mutants résistants aux médicaments était de 40 UI/mL, avec les deux lots de réactifs.

Remarque : La performance du dosage Aptima CMV Quant avec des mutations résistantes au médicament du CMV n'a été évaluée que sur des échantillons de plasma.

Tableau 6: Limite de détection des géotypes de CMV et des mutants résistants aux médicaments dans le plasma

Géotypes/mutants	Concentration (UI/mL)
gB-2	40
gB-3	40
gB-4	35
Mutant résistant aux médicaments UL54 et UL97*	35
Mutant résistant aux médicaments UL56**	35

*Les mutations du gène UL54 peuvent conduire à une résistance croisée à plusieurs antiviraux pour le traitement de l'infection par le CMV, comme le ganciclovir (GCV), le cidofovir (CDV) et le foscarnet (PFA). Les mutations du gène UL97 conduisent également à une résistance au ganciclovir (GCV).

**Les mutations du gène UL56 conduisent à une résistance au létermovir (LET).

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

Le LoD a été vérifié pour trois génotypes différents de glycoprotéine B (gB-2, gB-3 et gB-4) en testant différentes concentrations de CMV proches du LoD établi pour le sang total avec le 1er étalon international de l'OMS (génotype gB-1). Les tests ont été effectués avec 30 réplicats par échantillon du panel et par lot de réactifs en utilisant deux lots de réactifs Aptima CMV Quant. Le LoD le plus élevé vérifié pour les trois génotypes était de 150 UI/mL avec les deux lots de réactifs.

Tableau 7: 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 Log₁₀ IU/mL à 7,30 Log₁₀ IU/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 Log₁₀ IU/mL, comme indiqué dans la Figure 7.

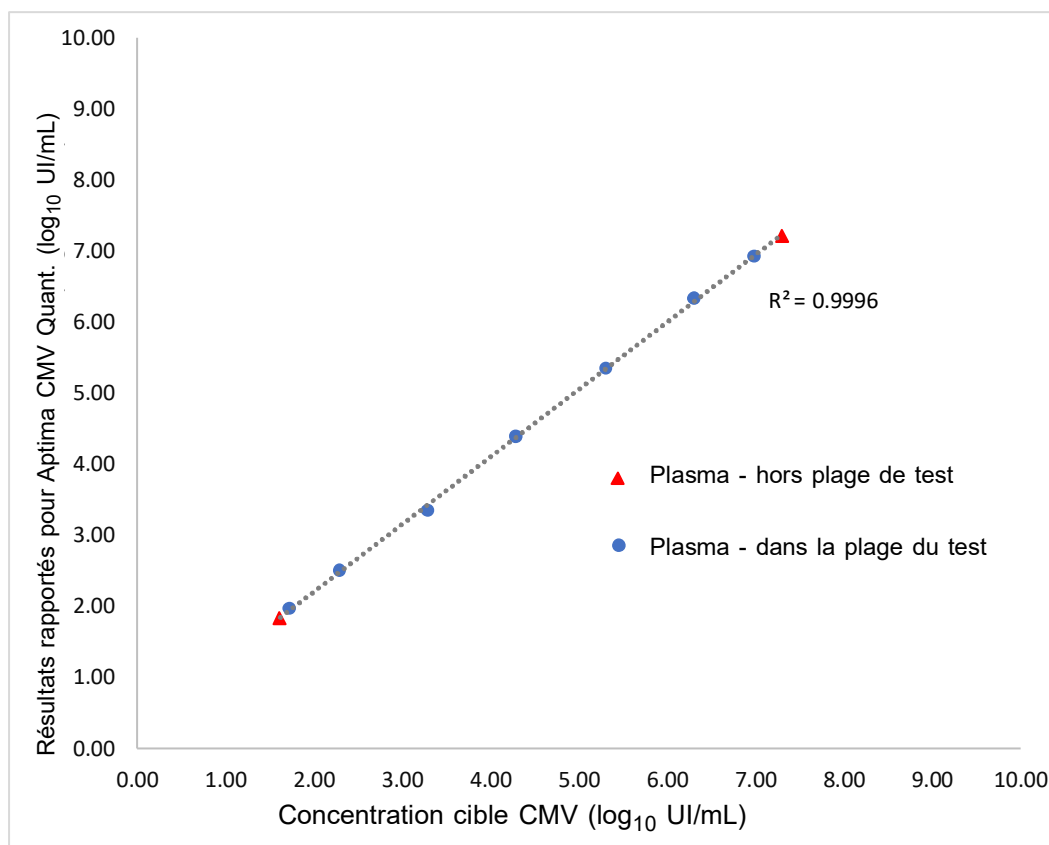


Figure 7. Linéarité dans le plasma

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 Log₁₀ IU/mL à 7,3 Log₁₀ IU/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 Log₁₀ IU/mL, comme indiqué dans la Figure 8.

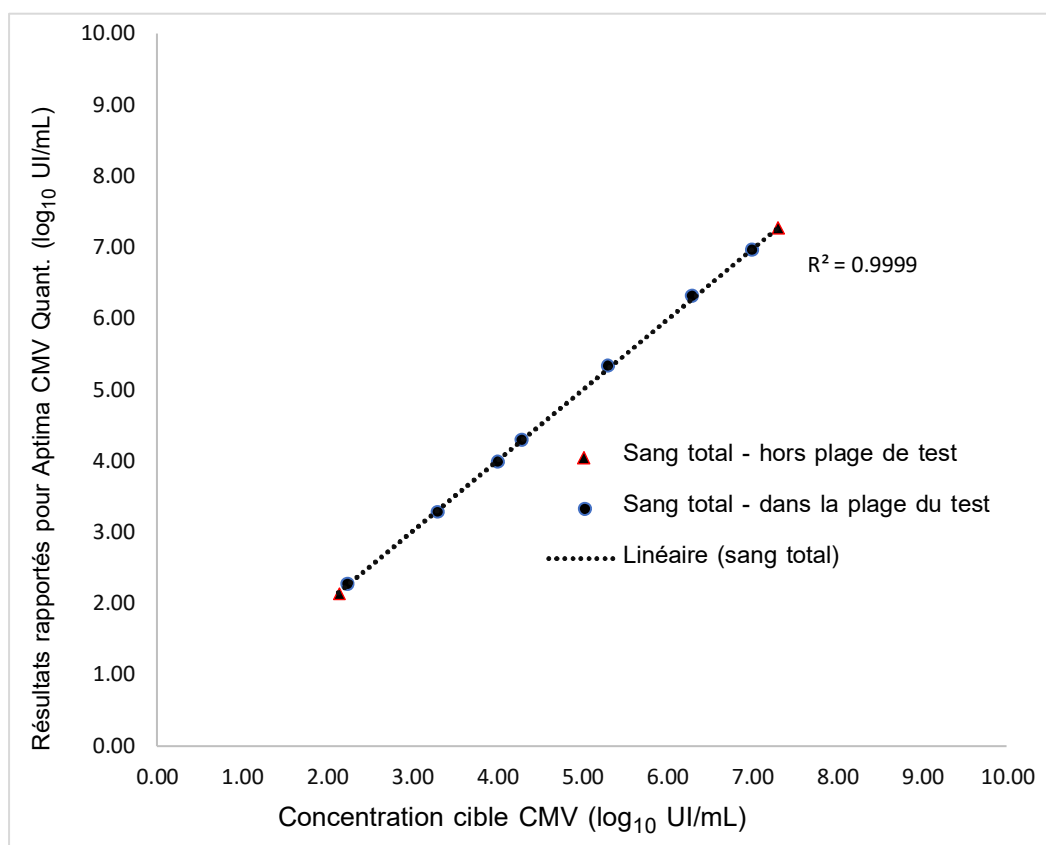


Figure 8. Linéarité dans le sang total

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 Log₁₀ IU/mL à 7,00 Log₁₀ IU/mL. La linéarité a été démontrée sur l'ensemble de la plage pour tous les génotypes testés, comme l'illustre la Figure 9.

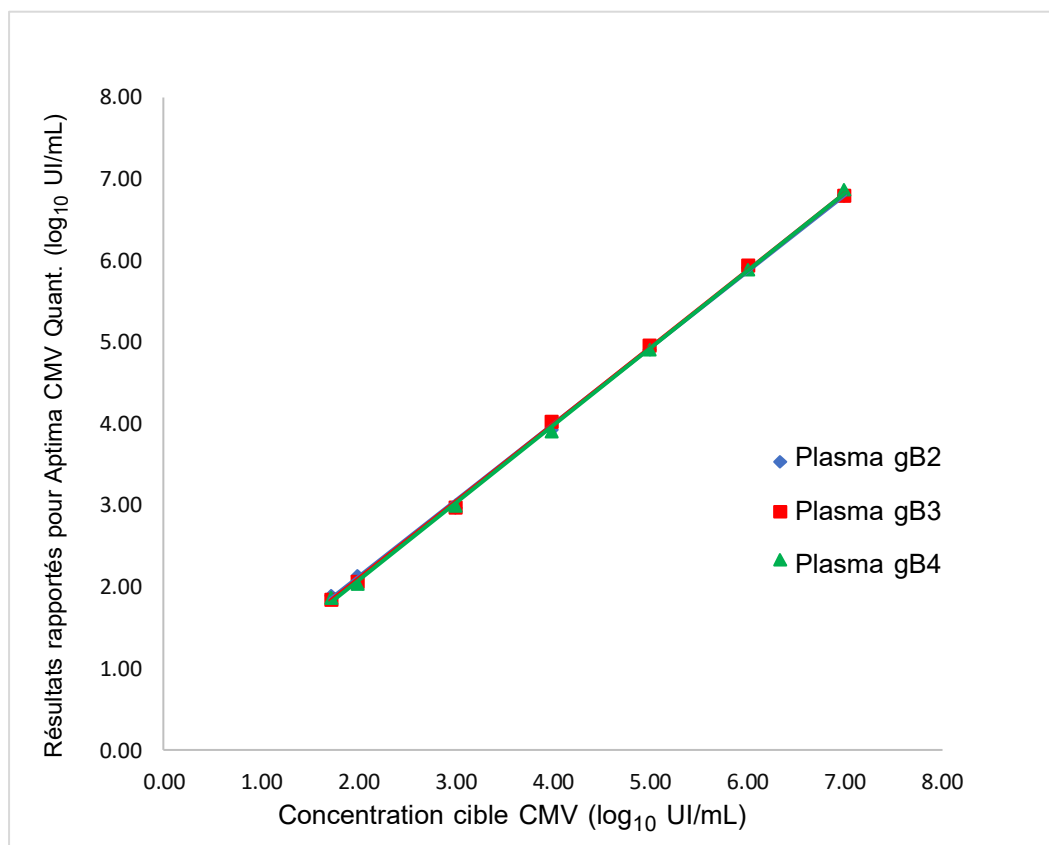


Figure 9. Linéarité pour les génotypes du CMV gB-2, gB-3 et gB-4 dans le plasma

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 Log₁₀ IU/mL à 7,00 Log₁₀ IU/mL. La linéarité a été démontrée sur l'ensemble de la plage pour les trois génotypes testés, comme l'illustre la Figure 10.

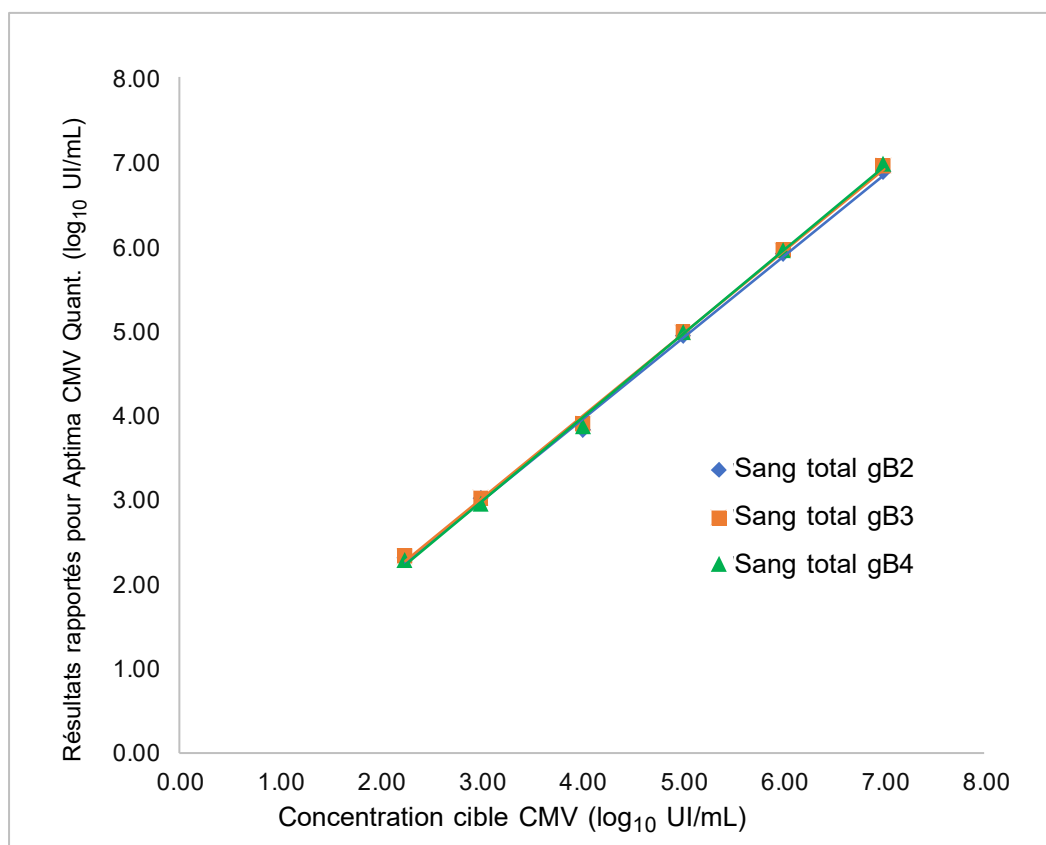


Figure 10. Linéarité pour les génotypes du CMV gB-2, gB-3 et gB-4 dans le sang total

Limite inférieure de quantification 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 log₁₀ UI/mL (c.-à-d. qu'à la LLoQ, une différence de plus de 1 log₁₀ UI/mL entre 2 mesures est statistiquement significative).

Limite inférieure de quantification avec le 1^{er} étalon de référence international de l'OMS dans le plasma

La LIDQ a été déterminée en testant des panels du 1^{er} étalon de référence international de l'OMS (code NIBSC 09/162, génotype gB-1)²¹ pour le DNA 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 8. Les résultats 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 9. 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 8: 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 ₁₀ UI/mL)	(log ₁₀ UI/mL)	(log ₁₀ UI/mL)	(log ₁₀ UI/mL)	(log ₁₀ UI/mL)
	60	56	1,48	1,64	0,36	0,16	0,87
1	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
	60	56	1,48	1,56	0,29	0,09	0,67
2	60	58	1,54	1,61	0,27	0,07	0,60
	60	58	1,60	1,69	0,28	0,09	0,64
	60	60	1,70	1,83	0,24	0,14	0,62
	60	56	1,48	1,67	0,26	0,19	0,71
3	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 ≥ 95 % pour les lots de réactifs 1, 2 et 3 sont grisés.

Tableau 9: 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 ₁₀ UI/mL)
1	53	1,72
2	41	1,61
3	47	1,67

Limite inférieure de quantification avec le 1^{er} étalon de référence international de l'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 10. Les résultats 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 11. 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 10: 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 Détecté	Concentration en cible	Aptima CMV Quant	ET	Biais	ET calculée
			(log ₁₀ UI/mL)	(log ₁₀ UI/mL)	(log ₁₀ UI/mL)	(log ₁₀ UI/mL)	(log ₁₀ 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 ≥ 95 % pour les lots de réactifs 1, 2 et 3 sont grisés.

Tableau 11: 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 ₁₀ UI/mL)
1	138	2,14
2	106	2,02
3	176	2,25

Détermination de la limite inférieure de quantification des géotypes de CMV et des mutants résistants aux médicaments

Limite inférieure de quantification des géotypes et des mutants résistants aux médicaments dans le plasma

La LLoQ établie avec le 1^{er} étalon international de l'OMS a été vérifiée en testant les dilutions des géotypes gB-2, gB-3 et gB-4 du CMV et les mutations résistantes aux médicaments dans du 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 12. La LLoQ calculée pour les géotypes gB-2, gB-3, gB-4 et les mutants résistants aux médicaments du lot de réactifs avec la concentration la plus élevée répondant aux exigences de la TE et ≥ 95 % de détection est résumée dans Tableau 12. La LLoQ globale pour le plasma dans ce dosage est de 53 UI/mL.

Remarque : La performance du dosage Aptima CMV Quant avec des mutations résistantes au médicament du CMV n'a été évaluée que sur des échantillons de plasma.

Tableau 12 : Détermination du LLoQ des géotypes et des mutants résistants aux médicaments dans le plasma

Géotypes/ mutants	N	% Détecté	Concentration	Aptima CMV	ET	Biais	ET calculée
			en cible	Quant			
			(log ₁₀ IU/mL)	(log ₁₀ IU/mL)	(log ₁₀ IU/mL)	(log ₁₀ IU/mL)	(log ₁₀ IU/mL)
gB-2	60	93,3	1,48	1,38	0,41	0,10	0,92
	60	96,7	1,54	1,39	0,39	0,16	0,95
	60	93,3	1,60	1,49	0,38	0,11	0,87
	60	96,7	1,65	1,70	0,24	0,04	0,51
	60	95,0	1,70	1,54	0,32	0,16	0,80
gB-3	60	91,7	1,48	1,27	0,38	0,20	0,97
	60	91,7	1,54	1,27	0,40	0,27	1,07
	60	88,3	1,60	1,31	0,47	0,29	1,23
	60	93,3	1,65	1,46	0,34	0,20	0,88
	60	91,7	1,70	1,57	0,29	0,13	0,71
	60	98,3	1,74	1,55	0,30	0,19	0,79

Tableau 12 : Détermination du LLoQ des géotypes et des mutants résistants aux médicaments dans le plasma (suite)

Géotypes/ mutants	N	% Détecté	Concentration en cible	Aptima CMV Quant	ET	Biais	ET calculée
			(log ₁₀ IU/mL)	(log ₁₀ IU/mL)	(log ₁₀ IU/mL)	(log ₁₀ IU/mL)	(log ₁₀ IU/mL)
gB-4	60	96,7	1,48	1,38	0,39	0,09	0,88
	60	98,3	1,54	1,51	0,33	0,03	0,69
	60	95,0	1,60	1,66	0,36	0,06	0,79
	60	98,3	1,65	1,66	0,29	0,01	0,59
	60	100,0	1,70	1,70	0,24	0,00	0,48
Mutant résistant aux médicaments (UL54 et UL97)	60	95,0	1,48	1,57	0,32	0,10	0,74
	60	98,3	1,54	1,58	0,32	0,04	0,68
	60	98,3	1,60	1,72	0,33	0,12	0,79
	60	100,0	1,65	1,74	0,22	0,08	0,51
	60	100,0	1,70	1,83	0,24	0,14	0,61
Mutant résistant aux médicaments (UL56)	60	95,0	1,48	1,54	0,28	0,07	0,64
	60	96,7	1,54	1,60	0,30	0,06	0,65
	60	100,0	1,60	1,69	0,26	0,08	0,60
	60	100,0	1,65	1,78	0,29	0,12	0,71
	60	100,0	1,70	1,74	0,27	0,05	0,58

ET = écart-type

Les échantillons du panel qui ont atteint l'objectif de précision (TE ≤ 1) et une détection ≥ 95 % pour les lots de réactifs 1, 2 et 3 sont ombrés.

Tableau 13: Résumé de la LLoQ des géotypes et des mutants résistants aux médicaments dans le plasma

Géotypes/mutants	LLoQ	
	(UI/mL)	(log ₁₀ IU/mL)
gB-2	50	1,70
gB-3	35	1,55
gB-4	24	1,38
Mutant résistant aux médicaments UL54 et UL97*	38	1,57
Mutant résistant aux médicaments UL56**	35	1,54

*Les mutations du gène UL54 peuvent conduire à une résistance croisée à plusieurs antiviraux pour le traitement de l'infection par le CMV, comme le ganciclovir (GCV), le cidofovir (CDV) et le foscarnet (PFA). Les mutations du gène UL97 conduisent également à une résistance au ganciclovir (GCV).

**Les mutations du gène UL56 conduisent à une résistance au létermovir (LET).

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

La LIDQ établie avec le 1^{er} étalon de référence international de l'OMS a été vérifiée en testant les dilutions des génotypes 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 14. La LLoQ 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 15. La LLoQ globale pour le sang total dans ce test est de 176 UI/mL.

Tableau 14 : Détermination de la LLoQ pour les différents génotypes dans le sang total

Génotype	N	N Détecté	Concentration en	Aptima CMV	ET	Biais	ET calculée
			cible	Quant	(log ₁₀ UI/mL)	(log ₁₀ UI/mL)	(log ₁₀ 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 15: Résumé de la LLoQ pour les différents génotypes dans le sang total

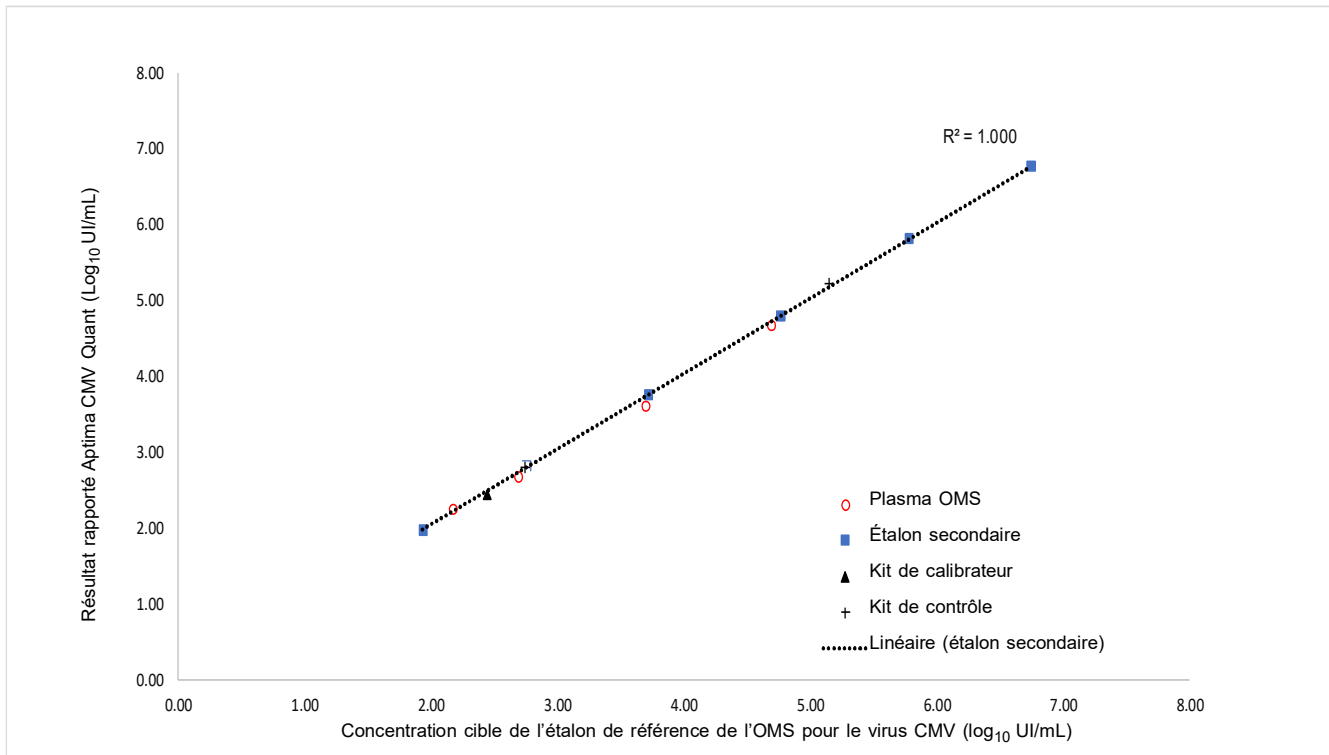
Génotype	LLoQ	
	(UI/mL)	(log ₁₀ UI/mL)
gB-2	129	2,11
gB-3	104	2,02
gB-4	93	1,97

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 par rapport au 1^{er} étalon international de l'OMS. Le 1^{er} étalon international de l'OMS du CMV a été dilué et testé avec les étalons secondaires et avec les contrôles et calibrateurs de test utilisés avec 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 par rapport au 1^{er} étalon international de l'OMS avec le plasma

Les concentrations testées pour le 1^{er} étalon international de l'OMS pour le virus 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 .



Traçabilité entre les concentrations cibles du 1er étalon international de l'OMS du CMV et les concentrations rapportées pour le test Aptima CMV Quant (étalon de l'OMS dilué dans du plasma)
Traçabilité par rapport au 1er étalon international de l'OMS avec le sang total

Les concentrations testées pour le 1er étalon international de l'OMS pour le virus CMV dans le sang total se situaient entre 2,70 et 4,70 log₁₀ UI/mL. Les panels de sang total avec les étalons de l'OMS, les étalons secondaires, les contrôles et les calibrateurs du test se sont rétablis comme prévu sur l'ensemble de la plage linéaire du test, comme l'illustre la Figure 11.

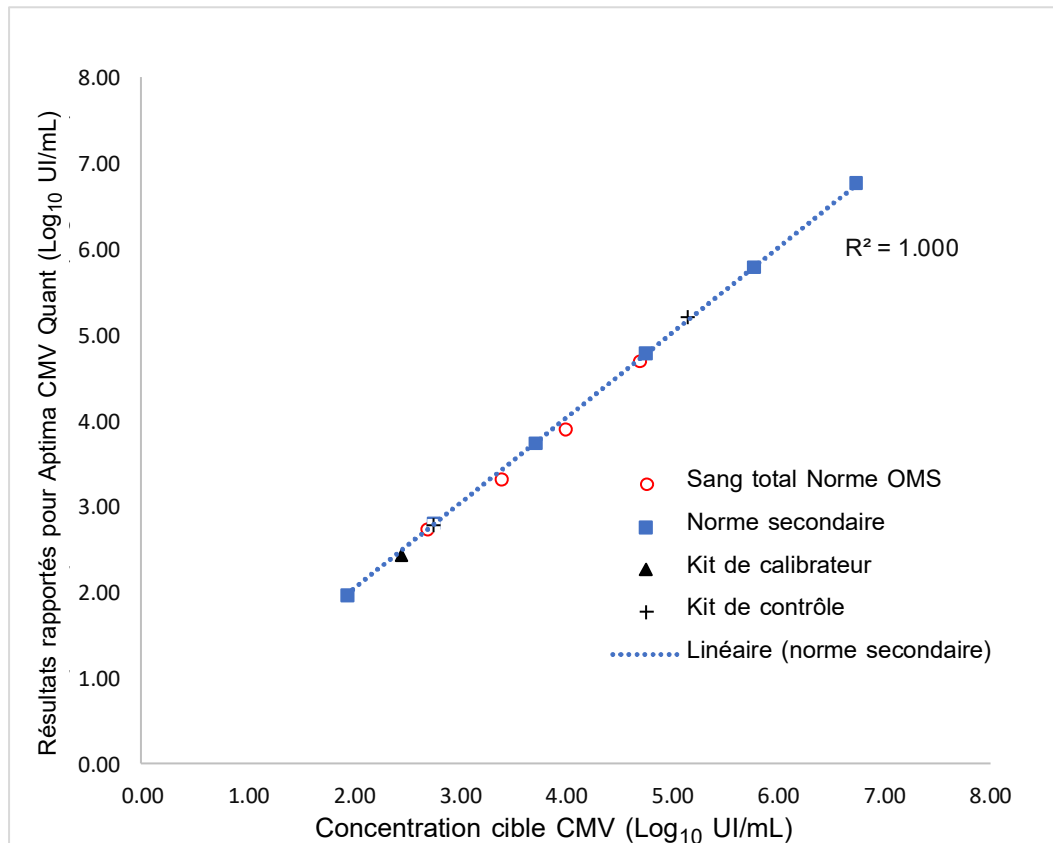


Figure 11. Traçabilité entre les concentrations cibles du 1er étalon international de l'OMS du CMV et les concentrations rapportées pour le test Aptima CMV Quant (étalon de l'OMS dilué dans le sang total)

Précision

Plasma

Pour évaluer la précision, un panel de 6 échantillons a été constitué en diluant des échantillons cliniques positifs pour le CMV ou du CMV cultivé dans du plasma négatif pour le CMV. Le panel a été analysé par trois opérateurs à l'aide de trois lots de réactifs sur trois Panther System sur un minimum de 20 tests par jours. Chaque opérateur a effectué deux séries par jour et chaque échantillon du panel a été testé en double dans chaque série. L'étude a été conçue et analysée conformément aux recommandations du CLSI EP-05-A3.¹⁷

Le Tableau 16 montre la précision des résultats du test (en \log_{10} UI/mL) entre les instruments, les opérateurs, les lots de réactifs, les séries, les jours, à l'intérieur des séries et globalement. La variabilité totale était principalement due à la variabilité intra-analyse (p. ex. erreur aléatoire).

Tableau 16 : Précision de l'Aptima CMV Quant Assay dans le plasma

N	Concentration moyenne (\log_{10} 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 précision, un panel de 6 échantillons a été constitué en diluant des échantillons cliniques positifs pour le CMV ou en inoculant du CMV de culture dans du sang total négatif pour le CMV. Le panel a été analysé par trois opérateurs à l'aide de trois lots de réactifs sur trois Panther System sur un minimum de 20 tests par jours. Chaque opérateur a effectué deux séries par jour et chaque échantillon du panel a été testé en double dans chaque série.

Le Tableau 17 montre la précision des résultats d'analyse (en \log_{10} UI/mL) entre les instruments, les opérateurs, les lots de réactifs, les analyses, les jours, à l'intérieur des analyses et globalement. La variabilité totale était principalement due à la variabilité intra-série (p. ex., erreur aléatoire).

Tableau 17 : Précision du test Aptima CMV Quant dans le sang total

N	Concentration moyenne (log ₁₀ 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 inoculés avec du CMV à une concentration de 2,22 log₁₀ UI/mL et 3,30 log₁₀ UI/mL ont été analysés. Des échantillons de sang total négatifs au CMV et des échantillons inoculés avec du CMV à une concentration de 2,72 log₁₀ UI/mL et 4,00 log₁₀ UI/mL en DNA 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 18 ont été analysés avec le test Aptima CMV Quant Assay. Aucune altération de performance du test n'a été observée.

Tableau 18: 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 19 à des concentrations d'au moins trois fois la C_{max} de médicaments dans le plasma humain.

Tableau 19: 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 20: 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 21 a été évaluée dans le plasma humain négatif pour le CMV en présence ou l'absence de $2,2 \log_{10}$ IU/mL et de $3,3 \log_{10}$ IU/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 $2,7 \log_{10}$ IU/mL et de $4,0 \log_{10}$ IU/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 21: 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			
<i>Clostridium perfringens</i>	1 000 000	UFC/mL			
<i>Corynebacterium diphtheriae</i>	1 000 000	UFC/mL			
<i>Enterococcus faecalis</i>	1 000 000	UFC/mL			
<i>Escherichia coli</i>	1 000 000	UFC/mL			
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	1 000 000	UFC/mL			
<i>Listeria monocytogenes</i>	1 000 000	UFC/mL			

^aTCID50/mL = unités de dose infectieuse de culture tissulaire par mL

^bcp/mL = copies virales par mL

^cIU/mL = unités internationales par mL

^dUFC/mL = unités de formation de colonies par mL

*testé avec l'échantillon de sang total

Dilution de l'échantillon de plasma à l'aide du contrôle négatif CMV Aptima (1:3)

Pour évaluer la précision de la quantification en DNA de CMV dans les échantillons de plasma dilués avec le contrôle négatif CMV Aptima, les échantillons dont les concentrations étaient réparties dans la plage linéaire ont été dilués à 1:3 avec le contrôle négatif CMV Aptima (240 uL d'échantillon combinés à 480 uL de contrôle négatif CMV Aptima). Les échantillons purs et dilués ont été testés en triple. Les tests ont été réalisés avec un lot de réactifs sur un Panther System et deux lots de contrôle négatif CMV Aptima. La différence entre les résultats des tests purs et dilués a été calculée pour chaque ensemble d'échantillons comme indiqué dans le Tableau 22. Les concentrations de l'échantillon ont été retrouvées avec précision dans les échantillons dilués après incorporation du facteur de dilution.

Tableau 22: Répétabilité des échantillons cliniques de plasma dilués dans le contrôle négatif

Échantillon de plasma pur Concentration moyenne rapportée (log ₁₀ UI/mL) n = 3	Échantillon de plasma dilué Concentration moyenne rapportée (log ₁₀ UI/mL) n = 6	Différence (log ₁₀ UI/mL)
2,30	2,42 ^a	0,12
2,50	2,60	0,11
3,03	3,02	-0,01
3,46	3,45	-0,01
3,29	3,29	0,00
4,64	4,43	-0,21
5,32	5,31	-0,01
6,43	6,44	0,01
6,91 ^b	6,95	0,05
> ULoQ ^c	7,41 ^d	SO

^aRésultat de deux répétitions. Quatre résultats ont été « détectés » mais non quantifiés.

^bRésultat de deux répétitions. Un résultat a été « détecté » mais n'a pas été quantifié parce qu'il était > ULoQ.

^cTrois résultats ont été « détectés » mais n'ont pas été quantifiés parce qu'ils étaient > ULoQ.

^dRésultat de quatre répétitions. Deux résultats ont été « détectés » mais n'ont pas été quantifiés parce qu'ils étaient > ULoQ.

Confirmation du LoD et de la LLoQ à l'aide du 1er étalon international de l'OMS pour le CMV dilué dans le contrôle négatif CMV Aptima

Le LoD et la LLoQ du test Aptima CMV Quant ont été confirmés avec le 1er étalon international de l'OMS pour le CMV (code NIBSC 09/162) dans le plasma, dilué à 1:3 à l'aide du contrôle négatif CMV Aptima. Les échantillons ont été préparés dans du plasma humain négatif pour le CMV avec des concentrations de CMV de 90, 105, 120, 135, 150 et 165 UI/mL. Chaque panel a été dilué à 1:3 dans le contrôle négatif CMV Aptima juste avant le test, à des concentrations finales d'environ 30, 35, 40, 45, 50 et 55 UI/mL. Un total de 60 réplicats de chaque échantillon du panel ont été testés avec un lot de réactifs, sur trois jours. L'erreur totale a été estimée à l'aide du modèle Westgard : Erreur totale (TE) = |biais| + 2ET. Tous les échantillons avec une concentration ≥ 45 UI/mL ont eu une détection ≥ 95 % et une erreur totale (TE) de $\leq 1 \log_{10}$ UI/mL comme indiqué dans le Tableau 23. Ceci confirme la LLoQ du CMV avec des échantillons dilués avec le contrôle négatif.

Tableau 23: LoD et LLoQ des échantillons de plasma dilués à 1:3 avec le contrôle négatif

N	% Déecté	Concentration cible après dilution 1:3	Concentration cible après dilution 1:3	Aptima		ET	Biais	TE calculée
				CMV Quant pour les échantillons dilués				
		(UI/mL)	(\log_{10} UI/mL)	(\log_{10} UI/mL)	(\log_{10} UI/mL)	(\log_{10} UI/mL)	(\log_{10} UI/mL)	(\log_{10} UI/mL)
60	98,3 %	45	1,65	1,73	0,22	0,08	0,53	

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 (test Aptima HIV-1 Quant Dx, test Aptima HCV Quant, test Aptima HBV Quant). 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 ($6 \log_{10}$ 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).

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 comparatif CMV en analysant des échantillons cliniques non dilués de patients infectés par le CMV et des échantillons contributifs élaborés à partir de différentes souches de virus de culture appartenant aux quatre génotypes inoculés dans le plasma négatif pour l'EDTA de donneur individuel. Un total de 160 échantillons cliniques et de 115 échantillons contributifs élaborés dans la plage linéaire commune aux deux tests ont été utilisés pour la régression de Deming, comme l'illustre la Figure 12.

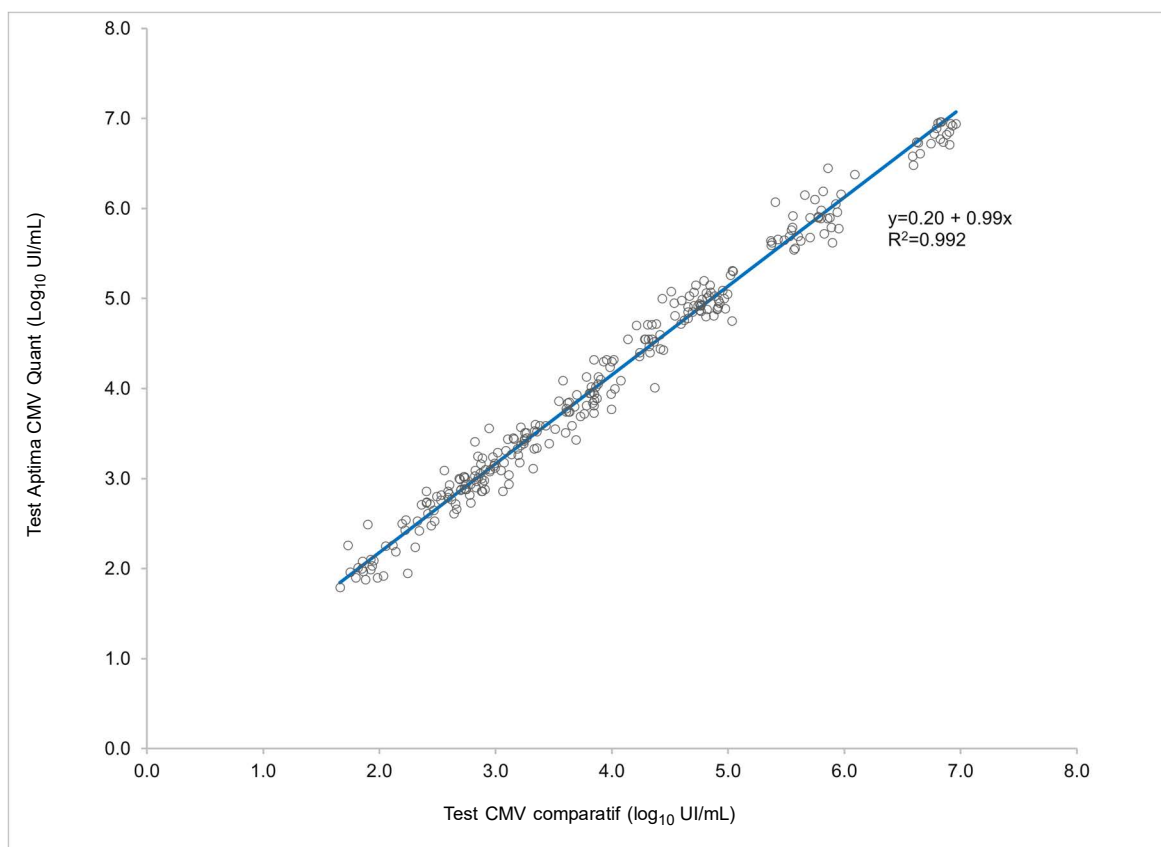


Figure 12. Corrélation entre la charge virale de CMV dans le test Aptima CMV Quant et le test comparatif CMV sur l'analyse d'échantillons de plasma

Corrélation de la méthode pour le sang total

La performance du test Aptima CMV Quant a été évaluée par rapport au test comparatif CMV en analysant des échantillons cliniques non dilués de patients infectés par le CMV et des échantillons contributifs élaborés à partir de virus de culture inoculés dans le sang total négatif pour l'EDTA de donneur individuel. Un total de 159 échantillons cliniques et de 83 échantillons contributifs élaborés dans la plage linéaire commune aux deux tests ont été utilisés pour la régression de Deming, comme l'illustre la Figure 13.

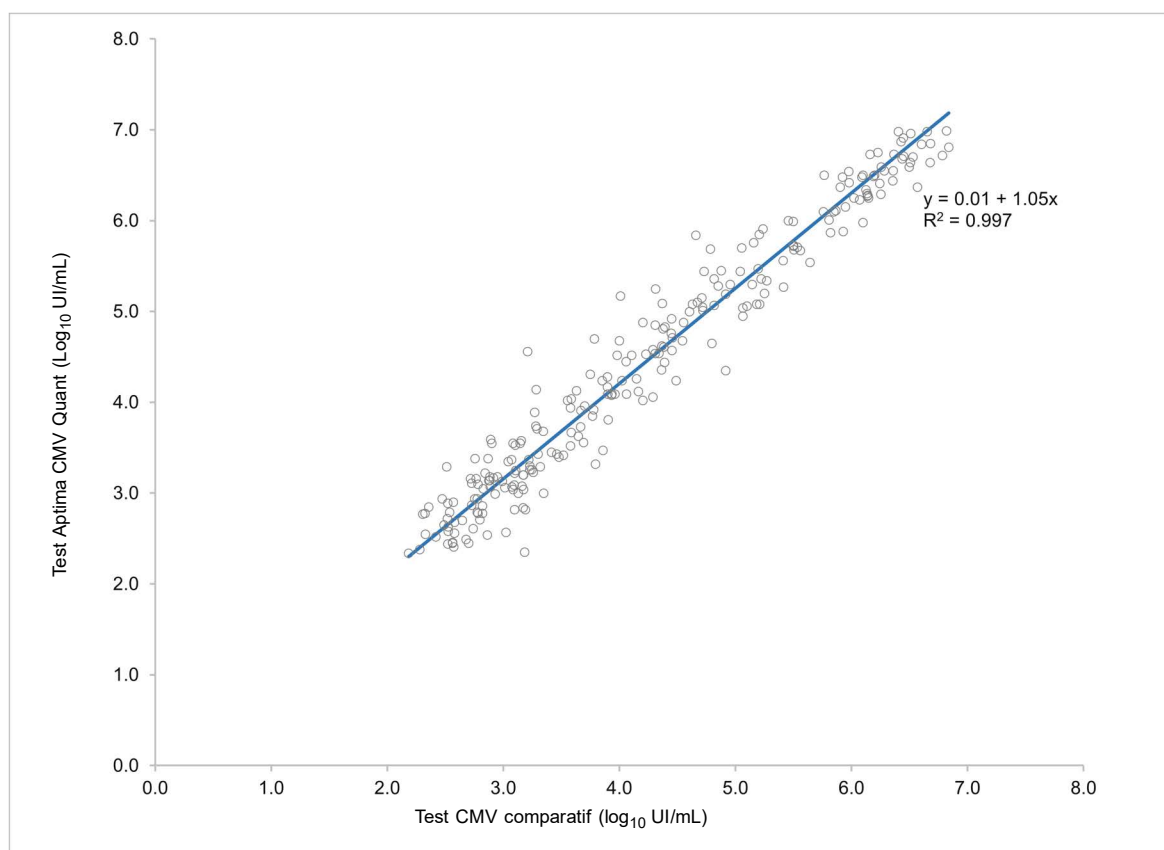


Figure 13. Corrélation entre la charge virale de CMV dans le test Aptima CMV Quant et dans le test CMV comparatif sur l'analyse d'échantillons de sang total

Reproductibilité

Reproductibilité dans les échantillons de plasma

La reproductibilité du test Aptima CMV Quant dans le plasma a été évaluée auprès de trois sites externes. Deux opérateurs ont effectué les tests à chaque site. Chaque opérateur a effectué une série par jour sur une période de 5 jours, avec un lots de réactifs par série. Chaque série a trois réplicats de chaque échantillon du panel.

La reproductibilité a été testée en utilisant des échantillon du panel préparés en diluant des échantillons cliniques positifs pour le CMV ou du CMV cultivé dans du plasma EDTA négatif pour le CMV. Les concentrations d'ADN du CMV s'étendaient sur la plage linéaire du test.

Le Tableau 24 présente la reproductibilité et la précision des résultats de test pour chaque échantillon positif du panel entre les sites, entre les opérateurs, entre les jours, entre les séries, dans les séries et dans l'ensemble. Le coefficient de variation a été calculé à l'aide de l'équation suivante, où σ^2 est la variance de l'échantillon des données après la transformation du \log_{10} .

$$\%CV = 100 \times \sqrt{10^{\sigma^2 \times \ln(10)} - 1}$$

Tableau 24: Reproductibilité des taux de DNA de CMV avec le test Aptima CMV Quant sur le Panther System dans les échantillons positifs du panel dans le plasma

N	Moyenne observée		Contribution à l'écart total ET (%CV ²)					Variance Totale ET (%CV)
	UI/mL	Log ₁₀ IU/mL	Entre Plateformes	Entre Opérateurs	Entre Jours	Entre les séries	Dans Séries	
90	198,33	2,26	0,05 (11,19)	0,00 (0)	0,06 (12,94)	0,00 (0)	0,17 (39,59)	0,18 (43,68)
90	603,27	2,76	0,02 (3,99)	< 0,01 (2,22)	0,07 (15,68)	0,04 (10,25)	0,12 (27,04)	0,14 (33,67)
90	2428,54	3,36	0,06 (12,83)	0,00 (0)	0,09 (21,42)	0,06 (12,83)	0,11 (24,69)	0,16 (38,27)
90	27623,02	4,42	0,07 (15,98)	0,00 (0)	0,04 (9,29)	0,06 (13,85)	0,08 (19,38)	0,13 (30,63)
90	284107,74	5,44	0,07 (15,58)	0,00 (0)	0,04 (10,22)	0,00 (0)	0,09 (21,66)	0,12 (28,90)
90	3821364,62	6,57	0,08 (19,12)	0,00 (0)	0,06 (14,22)	0,02 (4,02)	0,08 (17,45)	0,13 (30,25)

% ETR = écart-type relatif log-normal génotype, ET = écart-type (log₁₀ UI/mL)

Remarque : La variabilité de certains facteurs peut être numériquement négative. Cela peut se produire si la variabilité due à ces facteurs est très faible. Dans ces cas, les valeurs ET et CV sont indiquées comme 0.

Reproductibilité dans les échantillons de sang total

La reproductibilité du test Aptima CMV Quant dans le sang total a été évaluée sur trois sites externes. Deux opérateurs ont effectué les tests à chaque site. Chaque opérateur a effectué une série par jour sur une période de 5 jours, avec un lots de réactifs par série. Chaque série a trois réplicats de chaque échantillon du panel.

La reproductibilité a été testée en utilisant des échantillons du panel préparés en diluant des échantillons cliniques positifs pour le CMV ou du CMV cultivé dans du sang total EDTA négatif pour le CMV. Les concentrations d'ADN du CMV s'étendaient sur la plage linéaire du test.

Le Tableau 25 montre la reproductibilité et la précision des résultats d'une série pour chaque échantillon du panel positif entre les sites, entre les opérateurs, entre les jours, entre les séries, au sein des séries et globalement en excluant une valeur aberrante observée (0,2 %, 1/533). Le coefficient de variation a été calculé à l'aide de l'équation suivante, où σ^2 est la variance de l'échantillon des données après la transformation du \log_{10} .

$$\%CV = 100 \times \sqrt{10^{\sigma^2 \times \ln(10)} - 1}$$

Pour tous les échantillons du panel CMV positifs et CMV négatifs, les valeurs de concordance étaient de 100 %.

Tableau 25: Reproductibilité des taux de DNA de CMV avec le test Aptima CMV Quant sur le Panther System dans les échantillons positifs du panel dans le plasma

N	Moyenne observée		Contribution à l'écart total ET (%CV ²)					Variance Totale ET (%CV)
	UI/mL	Log ₁₀ IU/mL	Entre Plateformes	Entre Opérateurs	Entre Jours	Entre les séries	Dans Séries	
89	604,32	2,73	0,00 (0)	0,00 (0)	0,00 (0)	0,11 (25,39)	0,18 (43,23)	0,21 (51,32)
89	2188,59	3,32	< 0,01 (0)	0,00 (0)	0,00 (0)	0,07 (15,25)	0,11 (25,34)	0,13 (29,83) ^a
89	7830,84	3,87	0,04 (8,75)	0,04 (8,16)	0,00 (0)	0,08 (17,71)	0,13 (30,28)	0,16 (37,70)
88	48897,12	4,66	0,03 (7,11)	0,00 (0)	0,00 (0)	0,10 (22,47)	0,11 (24,99)	0,15 (34,89)
88	375626,91	5,56	0,04 (9,59)	0,04 (9,96)	0,00 (0)	0,05 (12,04)	0,09 (21,18)	0,12 (28,34)
89	4609046,44	6,64	0,08 (18,15)	0,00 (0)	0,05 (11,42)	0,03 (6,32)	0,10 (22,74)	0,14 (32,39)

% ETR = écart-type relatif log-normal génotype, ET = écart-type (\log_{10} UI/mL)

Remarque : La variabilité de certains facteurs peut être numériquement négative. Cela peut se produire si la variabilité due à ces facteurs est très faible. Dans ces cas, les valeurs ET et CV sont indiquées comme 0.

^a Résultat de la variance totale excluant la valeur aberrante qui pourrait potentiellement être le résultat d'un problème de préparation de l'échantillon.

Performance clinique

Concordance clinique

L'étude de performance clinique a été conçue pour évaluer la concordance clinique entre le test Aptima CMV Quant et un test comparatif approuvé. Au cours de l'étude multicentrique prospective menée dans huit sites cliniques, des échantillons de plasma ont été prélevés chez des patients ayant fait l'objet de transplantation d'organes solides (PTOS) et des patients ayant fait l'objet de transplantation de cellules souches hématopoïétiques (PTCSH) suivi pour la recherche de CMV dans le cadre de la surveillance clinique systématique. De plus, des échantillons congelés résiduels provenant de patients ayant fait l'objet de transplantation d'organes solides et de patients ayant fait l'objet de transplantation de cellules souches hématopoïétiques ont été obtenus auprès de fournisseurs d'échantillons cliniques.

Sur les 88 patients inclus dans l'étude prospective, six étaient non évaluables en raison de leur retrait (n = 5), ou de l'absence de résultats valides pour leurs échantillons avec le test Aptima CMV Quant et le test approuvé (n = 1). Le Tableau 26 présente les caractéristiques démographiques et cliniques au moment de l'inclusion des 82 patients évaluables.

Tableau 26: Données démographiques et caractéristiques cliniques générales et par type de transplantation des sujets évaluables, au moment de l'inclusion

Caractéristiques		PTOS	PTCSH	Tous
Total, N		62	20	82
Sexe, n (%)	Homme	28 (45,2)	14 (70,0)	42 (51,2)
	Femme	34 (54,8)	6 (30,0)	40 (48,8)
Âge (ans)	Moyenne ± (ET)	52,1 ± (12,93)	51,9 ± (14,60)	52,1 ± (13,27)
	Médiane	53,0	54,5	54,0
	Minimum	20	22	20
	Maximum	81	69	81
Origine ethnique, n (%)	Hispanique ou latino-américain	2 (3,2)	3 (15,0)	5 (6,1)
	Non hispanique ou non latino-américain	41 (66,1)	17 (85,0)	58 (70,7)
	Inconnu	19 (30,6)	0 (0)	19 (23,2)
Race, n (%)	Indien d'Amérique/Autochtones d'Alaska	0 (0)	0 (0)	0 (0)
	Asiatique	1 (1,6)	1 (5,0)	2 (2,4)
	Noir ou afro-américain	17 (27,4)	0 (0)	17 (20,7)
	Autochtones hawaïens ou des îles du Pacifique	0 (0)	0 (0)	0 (0)
	Blanc	37 (59,7)	18 (90,0)	55 (67,1)
	Autre	0 (0)	1 (5,0)	1 (1,2)
	Inconnu	7 (11,3)	0 (0)	7 (8,5)
Type d'organe, n (%)	Rein	25 (40,3)	--	--
	Foie	15 (24,2)	--	--
	Poumon	10 (16,1)	--	--
	Cœur	12 (19,4)	--	--

Tableau 26: Données démographiques et caractéristiques cliniques générales et par type de transplantation des sujets évaluable, au moment de l'inclusion (*suite*)

Caractéristiques		PTOS	PTCSH	Tous
Type de cellule souche, n (%)	Allogénique	--	18 (90,0)	--
	Autologue	--	2 (10,0)	--
État sérologique CMV, n (%)	Donneur positif et transplanté négatif	34 (54,8)	3 (15,0)	37 (45,1)
	Donneur négatif / transplanté positif	6 (9,7)	8 (40,0)	14 (17,1)
	Donneur positif / transplanté positif	22 (35,5)	9 (45,0)	31 (37,8)
Sous traitement antiviral		50 (80,6)	13 (65,0)	63 (76,8)
Nombre de jours de traitement antiviral contre le CMV jusqu'à l'inclusion				
	n	41	12	53
	Moyenne	13,6	13,3	13,5
	Médiane	11	9,5	11
	Minimum	1	1	1
	Maximum	47	45	47

PTOS = patients ayant fait l'objet de transplantation d'organes solides ; ET = écart-type ; PTCSH = patients ayant fait l'objet de transplantation de cellules souches hématopoïétiques

Dans l'étude prospective, 365 échantillons de plasma ont été prélevés chez les 82 patients évaluable. De plus, 261 échantillons congelés résiduels ont été obtenus auprès de fournisseurs d'échantillons cliniques. Sur les 626 échantillons cliniques de plasma (c.-à-d. les échantillons prélevés dans le cadre de l'étude prospective et les échantillons congelés résiduels), 597 échantillons cliniques de plasma appariés (c.-à-d. avec un résultat valide à la fois avec le test Aptima CMV Quant et le test approuvé) ont été inclus dans les analyses de concordance. Sur les 597 échantillons cliniques appariés, 339 échantillons ont été prélevés dans le cadre de l'étude prospective et 258 étaient des échantillons congelés résiduels. Des analyses de concordance ont été effectuées indépendamment sur 181 échantillons appariés prélevés chez des patients ayant débuté un traitement antiviral contre le CMV dans le cadre de leur prise en charge de routine pendant l'étude prospective.

Le Tableau 27 présente l'analyse de concordance et le pourcentage de concordance entre le test Aptima CMV Quant et le test approuvé à différents seuils (global et par groupe de transplantation). L'analyse de concordance à différents intervalles de charge virale (globale et par groupe de transplantation) est présentée dans le Tableau 28. Quatre des 597 résultats globaux étaient discordants dans plus d'une catégorie immédiatement adjacente, dont 3 provenaient de PTCSH.

Tableau 27: Analyse de concordance et pourcentage de concordance à différents seuils (global et par groupe de transplantation)

Seuil du groupe de transplantation	N°	Résultats du test comparatif ^a et du test Aptima CMV Quant				PCP % (n/N) [IC à 95 %] ^c	PCN % (n/N) [IC à 95 %] ^c
		Comp. ≥ ACMV ≥	Comp. < ACMV ≥	Comp. < ACMV <	Comp. ≥ ACMV <		
Globale							
CND	597	427	13	136	21	95,3 (427/448) [92,9 ; 96,9]	91,3 (136/149) [85,6 ; 94,8]
Détecté, < 2,1 log ₁₀ UI/mL (137 UI/mL) ^d	597	252	48	295	2	99,2 (252/254) [97,2 ; 99,8]	86,0 (295/343) [81,9 ; 89,3]
2,7 log ₁₀ UI/mL (500 UI/mL)	597	158	37	397	5	96,9 (158/163) [93,0 ; 98,7]	91,5 (397/434) [88,5 ; 93,8]
3,3 log ₁₀ UI/mL (1 800 UI/mL)	597	93	20	483	1	98,9 (93/94) [94,2 ; 99,8]	96,0 (483/503) [93,9 ; 97,4]
3,9 log ₁₀ UI/mL (7 943,3 UI/mL)	597	45	12	540	0	100 (45/45) [92,1 ; 100]	97,8 (540/552) [96,2 ; 98,8]
PTOS							
CND	403	295	9	85	14	95,5 (295/309) [92,5 ; 97,3]	90,4 (85/94) [82,8 ; 94,9]
Détecté, < 2,1 log ₁₀ UI/mL (137 UI/mL) ^d	403	197	26	178	2	99,0 (197/199) [96,4 ; 99,7]	87,3 (178/204) [82,0 ; 91,2]
2,7 log ₁₀ UI/mL (500 UI/mL)	403	129	25	245	4	97,0 (129/133) [92,5 ; 98,8]	90,7 (245/270) [86,7 ; 93,6]
3,3 log ₁₀ UI/mL (1 800 UI/mL)	403	78	16	308	1	98,7 (78/79) [93,2 ; 99,8]	95,1 (308/324) [92,1 ; 96,9]
3,9 log ₁₀ UI/mL (7 943,3 UI/mL)	403	41	10	352	0	100 (41/41) [91,4 ; 100]	97,2 (352/362) [95,0 ; 98,5]
PTCSH							
CND	194	132	4	51	7	95,0 (132/139) [90,0 ; 97,5]	92,7 (51/55) [82,7 ; 97,1]
Détecté, < 2,1 log ₁₀ UI/mL (137 UI/mL) ^d	194	55	22	117	0	100 (55/55) [93,5 ; 100]	84,2 (117/139) [77,2 ; 89,3]
2,7 log ₁₀ UI/mL (500 UI/mL)	194	29	12	152	1	96,7 (29/30) [83,3 ; 99,4]	92,7 (152/164) [87,6 ; 95,8]
3,3 log ₁₀ UI/mL (1 800 UI/mL)	194	15	4	175	0	100 (15/15) [79,6 ; 100]	97,8 (175/179) [94,4 ; 99,1]
3,9 log ₁₀ UI/mL (7 943,3 UI/mL)	194	4	2	188	0	100 (4/4) [51,0 ; 100]	98,9 (188/190) [96,2 ; 99,7]

ACMV = test Aptima CMV Quant ; IC = intervalle de confiance ; Comp. = test comparatif ; PTCSH = patient faisant l'objet d'une transplantation de cellules souches hématopoïétiques ; PCN = pourcentage de concordance négative ; PCP = pourcentage de concordance positive ; PTOS = patient faisant l'objet d'une transplantation d'organes solides ; CND = cible non détectée

Remarques :

≥ : le résultat est supérieur ou égal à la valeur de seuil donnée

< : le résultat est inférieur à la valeur de seuil donnée

Le PCP regroupe les résultats supérieurs ou égaux au seuil donné ; le PCN regroupe les résultats inférieurs au seuil donné.

^a Nombre d'échantillons cliniques appariés (échantillons prélevés dans le cadre de l'étude prospective et échantillons congelés résiduels obtenus auprès de fournisseurs d'échantillons cliniques).

^b Test approuvé

^c Score IC

^d LIDQ d'un autre test approuvé

Tableau 28: Analyse de concordance à différents intervalles de charge virale (globale et par groupe de transplantation)

Résultat du test Aptima CMV du groupe de transplantation	Résultat du test comparatif ^a (log ₁₀ UI/mL)						
	Total ^a , N	CND	Déecté, < 2,1	≥ 2,1 à < 2,7	≥ 2,7 à < 3,3	≥ 3,3 à < 3,9	≥ 3,9
Globale							
Nombre total d'échantillons appariés, N	597	149	194	91	69	49	45
CND	157	136	21	0	0	0	0
Déecté, < 2,1 log ₁₀ UI/mL ^c	140	13	125	2	0	0	0
≥ 2,1 à < 2,7 log ₁₀ UI/mL	105	0	46	54	5	0	0
≥ 2,7 à < 3,3 log ₁₀ UI/mL	82	0	2 ^d	34	45	1	0
≥ 3,3 à < 3,9 log ₁₀ UI/mL	56	0	0	1 ^d	18	37	0
≥ 3,9 log ₁₀ UI/mL	57	0	0	0	1 ^d	11	45
PTOS							
Nombre total d'échantillons appariés, N	403	94	110	66	54	38	41
CND	99	85	14	0	0	0	0
Déecté, < 2,1 log ₁₀ UI/mL ^c	81	9	70	2	0	0	0
≥ 2,1 à < 2,7 log ₁₀ UI/mL	69	0	26	39	4	0	0
≥ 2,7 à < 3,3 log ₁₀ UI/mL	60	0	0	25	34	1	0
≥ 3,3 à < 3,9 log ₁₀ UI/mL	43	0	0	0	15	28	0
≥ 3,9 log ₁₀ UI/mL	51	0	0	0	1 ^d	9	41
PTCSH							
Nombre total d'échantillons appariés, N	194	55	84	25	15	11	4
CND	58	51	7	0	0	0	0
Déecté, < 2,1 log ₁₀ UI/mL ^c	59	4	55	0	0	0	0
≥ 2,1 à < 2,7 log ₁₀ UI/mL	36	0	20	15	1	0	0
≥ 2,7 à < 3,3 log ₁₀ UI/mL	22	0	2 ^d	9	11	0	0
≥ 3,3 à < 3,9 log ₁₀ UI/mL	13	0	0	1 ^d	3	9	0
≥ 3,9 log ₁₀ UI/mL	6	0	0	0	0	2	4

PTCSH = patient faisant l'objet d'une transplantation de cellules souches hématopoïétiques ; PTOS = patient faisant l'objet d'une transplantation d'organes solides ; CND = cible non détectée

^a Nombre d'échantillons cliniques appariés (échantillons prélevés dans le cadre de l'étude prospective et échantillons congelés résiduels obtenus auprès de fournisseurs d'échantillons cliniques).

^b Test approuvé

^c LIDQ d'un autre test approuvé

^d 4 des 597 résultats globaux étaient discordants dans plus d'une catégorie immédiatement adjacente, 1 sur 4 provenait d'un PTOS et 3 sur 4 provenaient de PTCSH. Sur les 2 PTCSH dont les tests ont été effectués avec un autre NAAT, 1 concordait avec les résultats du test Aptima CMV Quant.

Tableau 29 présente l'analyse de concordance et le pourcentage de concordance à différents seuils (global et par groupe de transplantation) pour les échantillons prélevés sur des patients ayant débuté un traitement antiviral contre le CMV dans le cadre de leur prise en charge de routine pendant l'étude prospective. L'analyse de concordance à différents intervalles de charge virale en utilisant tous les temps après l'introduction du traitement (globale et par groupe de transplantation) est présentée dans le Tableau 30. Un des 181 résultats globaux était discordant dans plus d'une catégorie immédiatement adjacente ; il a été observé chez un PTOS.

Tableau 29: Analyse de concordance et pourcentage de concordance à différents seuils en utilisant tous les temps après l'introduction du traitement (global et par groupe de transplantation)

Seuil du groupe de transplantation	N°	Résultats du test comparatif ^a et du test Aptima CMV Quant				PCP % (n/N) [IC à 95 %] ^c	PCN % (n/N) [IC à 95 %] ^c
		Comp. ≥ ACMV ≥	Comp. < ACMV ≥	Comp. < ACMV <	Comp. ≥ ACMV <		
Globale							
CND	181	121	4	47	9	93,1 (121/130) [87,4 ; 96,3]	92,2 (47/51) [81,5 ; 96,9]
Déecté, < 2,1 log ₁₀ UI/mL (137 UI/mL) ^d	181	69	15	97	0	100 (69/69) [94,7 ; 100]	86,6 (97/112) [79,1 ; 91,7]
2,7 log ₁₀ UI/mL (500 UI/mL)	181	42	9	129	1	97,7 (42/43) [87,9 ; 99,6]	93,5 (129/138) [88,1 ; 96,5]
3,3 log ₁₀ UI/mL (1 800 UI/mL)	181	23	5	153	0	100 (23/23) [85,7 ; 100]	96,8 (153/158) [92,8 ; 98,6]
3,9 log ₁₀ UI/mL (7 943,3 UI/mL)	181	12	3	166	0	100 (12/12) [75,8 ; 100]	98,2 (166/169) [94,9 ; 99,4]
PTOS							
CND	136	102	2	26	6	94,4 (102/108) [88,4 ; 97,4]	92,9 (26/28) [77,4 ; 98,0]
Déecté, < 2,1 log ₁₀ UI/mL (137 UI/mL) ^d	136	57	15	64	0	100 (57/57) [93,7 ; 100]	81,0 (64/79) [71,0 ; 88,1]
2,7 log ₁₀ UI/mL (500 UI/mL)	136	34	8	93	1	97,1 (34/35) [85,5 ; 99,5]	92,1 (93/101) [85,1 ; 95,9]
3,3 log ₁₀ UI/mL (1 800 UI/mL)	136	18	5	113	0	100 (18/18) [82,4 ; 100]	95,8 (113/118) [90,5 ; 98,2]
3,9 log ₁₀ UI/mL (7 943,3 UI/mL)	136	10	3	123	0	100 (10/10) [72,2 ; 100]	97,6 (123/126) [93,2 ; 99,2]
PTCSH							
CND	45	19	2	21	3	86,4 (19/22) [66,7 ; 95,3]	91,3 (21/23) [73,2 ; 97,6]
Déecté, < 2,1 log ₁₀ UI/mL	45	12	0	33	0	100 (12/12) [75,8 ; 100]	100 (33/33) [89,6 ; 100]
2,7 log ₁₀ UI/mL (500 UI/mL)	45	8	1	36	0	100 (8/8) [67,6 ; 100]	97,3 (36/37) [86,2 ; 99,5]
3,3 log ₁₀ UI/mL (1 800 UI/mL)	45	5	0	40	0	100 (5/5) [56,6 ; 100]	100 (40/40) [91,2 ; 100]
3,9 log ₁₀ UI/mL (7 943,3 UI/mL)	45	2	0	43	0	100 (2/2) [34,2 ; 100]	100 (43/43) [91,8 ; 100]

ACMV = test Aptima CMV Quant ; IC = intervalle de confiance ; Comp. = test comparatif ; PTCSH = patient faisant l'objet d'une transplantation de cellules souches hématopoïétiques ; PCN = pourcentage de concordance négative ; PCP = pourcentage de concordance positive ; PTOS = patient faisant l'objet d'une transplantation d'organes solides ; CND = cible non détectée

Remarques :

- ≥ : le résultat est supérieur ou égal à la valeur de seuil donnée
- < : le résultat est inférieur à la valeur de seuil donnée
- Le PCP regroupe les résultats supérieurs ou égaux au seuil donné ; le PCN regroupe les résultats inférieurs au seuil donné.

^a Nombre d'échantillons appariés prélevés chez des patients sous traitement antiviral contre le CMV au moment de l'inclusion ou qui ont commencé un traitement antiviral contre le CMV pendant l'étude prospective.

^b Test approuvé

^c Score IC

^d LIDQ d'un autre test approuvé

Tableau 30: Analyse de concordance à différents intervalles de charge virale en utilisant tous les temps après l'introduction du traitement (global et par groupe de transplantation)

Résultat du test Aptima CMV Quant du groupe de transplantation	Résultat du test comparatif ^a (log ₁₀ UI/mL)						
	Total ^a , N	CND	Déecté, < 2,1	≥ 2,1 à < 2,7	≥ 2,7 à < 3,3	≥ 3,3 à < 3,9	≥ 3,9
Globale							
Nombre total d'échantillons appariés, N	181	51	61	26	20	11	12
CND	56	47	9	0	0	0	0
Déecté, < 2,1 log ₁₀ UI/mL ^c	41	4	37	0	0	0	0
≥ 2,1 à < 2,7 log ₁₀ UI/mL	33	0	15	17	1	0	0
≥ 2,7 à < 3,3 log ₁₀ UI/mL	23	0	0	9	14	0	0
≥ 3,3 à < 3,9 log ₁₀ UI/mL	13	0	0	0	4	9	0
≥ 3,9 log ₁₀ UI/mL	15	0	0	0	1 ^d	2	12
PTOS							
Nombre total d'échantillons appariés, N	136	28	51	22	17	8	10
CND	32	26	6	0	0	0	0
Déecté, < 2,1 log ₁₀ UI/mL ^c	32	2	30	0	0	0	0
≥ 2,1 à < 2,7 log ₁₀ UI/mL	30	0	15	14	1	0	0
≥ 2,7 à < 3,3 log ₁₀ UI/mL	19	0	0	8	11	0	0
≥ 3,3 à < 3,9 log ₁₀ UI/mL	10	0	0	0	4	6	0
≥ 3,9 log ₁₀ UI/mL	13	0	0	0	1 ^d	2	10
PTCSH							
Nombre total d'échantillons appariés, N	45	23	10	4	3	3	2
CND	24	21	3	0	0	0	0
Déecté, < 2,1 log ₁₀ UI/mL ^c	9	2	7	0	0	0	0
≥ 2,1 à < 2,7 log ₁₀ UI/mL	3	0	0	3	0	0	0
≥ 2,7 à < 3,3 log ₁₀ UI/mL	4	0	0	1	3	0	0
≥ 3,3 à < 3,9 log ₁₀ UI/mL	3	0	0	0	0	3	0
≥ 3,9 log ₁₀ UI/mL	2	0	0	0	0	0	2

PTCSH = patient faisant l'objet d'une transplantation de cellules souches hématopoïétiques ; PTOS = patient faisant l'objet d'une transplantation d'organes solides ; CND = cible non détectée

^a Nombre d'échantillons appariés prélevés chez des patients sous traitement antiviral contre le CMV au moment de l'inclusion ou qui ont commencé un traitement antiviral contre le CMV pendant l'étude prospective.

^b Test approuvé

^c LIDQ d'un autre test approuvé

^d 1 des 181 résultats globaux étaient discordants dans plus d'une catégorie immédiatement adjacente.

Comparaison des méthodes

L'étude de comparaison des méthodes a été réalisée pour évaluer la performance du test Aptima CMV Quant par rapport à un test approuvé. Au total, 309 échantillons cliniques appariés positifs pour le CMV, soit 165 échantillons prélevés dans le cadre de l'étude prospective et 144 échantillons congelés résiduels avec des résultats situés dans la plage linéaire commune pour les deux tests, ont été inclus dans les analyses de comparaison des méthodes. De plus, un total de 105 échantillons contributifs ont été préparés en inoculant le virus CMV de culture dans du plasma EDTA négatif pour le CMV, dont 103 se situaient dans la plage linéaire commune pour les deux tests. Les échantillons contributifs ont été analysés séparément.

Le Tableau 31 présente les estimations des paramètres de la régression de Deming (\log_{10} UI/mL). Les Figure 15 à Figure 18 présentent la régression Deming des résultats de charge virale (\log_{10} UI/mL) du test Aptima CMV Quant et du test approuvé.

Tableau 31: Estimation des paramètres de la régression de Deming par type d'échantillon et groupe de transplantation

Type d'échantillon	Groupe de transplantation	Unité de charge virale	Paramètre	N ^a	Estimation	Méthode Jackknife ^b		Méthode bootstrap ^c		r
						ES	IC à 95 %	ES	IC à 95 %	
Clinique	Globale	\log_{10} UI/mL	Ordonnée à l'origine	309	0,20	0,038	(0,12, 0,27)	0,021	(0,15, 0,24)	0,97
			Pente							
	PTOS	\log_{10} UI/mL	Ordonnée à l'origine	227	0,17	0,043	(0,09, 0,26)	0,025	(0,12, 0,22)	0,98
			Pente							
	PTCSH	\log_{10} UI/mL	Ordonnée à l'origine	82	0,16	0,101	(-0,04, 0,36)	0,048	(0,07, 0,26)	0,95
			Pente							
Contributif	s.o.	\log_{10} UI/mL	Ordonnée à l'origine	103	0,06	0,058	(-0,05, 0,18)	0,059	(-0,05, 0,18)	1,00
			Pente							

IC = intervalle de confiance ; PTCSH = patients ayant fait l'objet de transplantation de cellules souches hématopoïétiques ; r = coefficient de corrélation ; ES = erreur standard ; PTOS = patients ayant fait l'objet de transplantation d'organes solides

^a Nombre d'échantillons appariés avec des résultats dans la plage linéaire commune pour les deux tests.

^b Indépendance supposée entre tous les échantillons ; méthode de jackknife utilisée pour estimer l'ES et l'IC.

^c Les échantillons cliniques ont été ajustés en fonction de la corrélation intra-patient par la méthode de rééchantillonnage bootstrap, avec 500 itérations ; cette méthode a également été utilisée pour les échantillons contributifs, mais sans stratification par sujet.

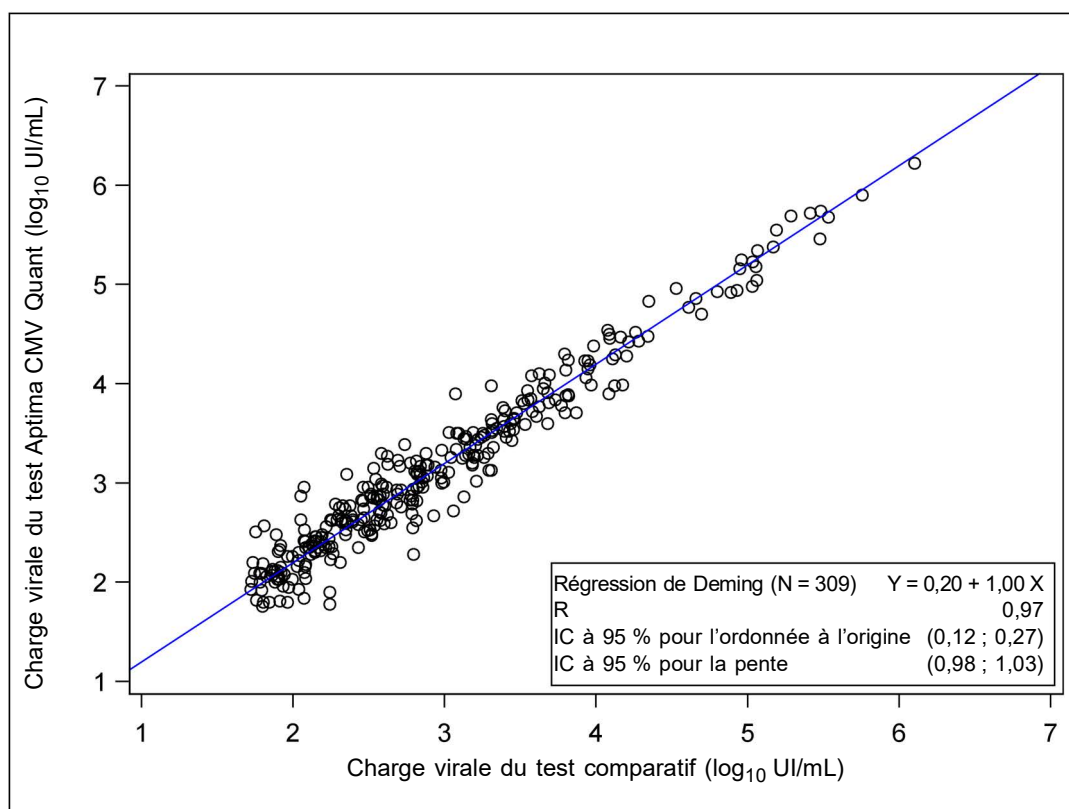


Figure 15. Graphique de la régression linéaire de Deming (échantillons cliniques : PTOS et PTSCH combinés)

IC = intervalle de confiance ; PTSCH = patients ayant fait l'objet de transplantation de cellules souches hématopoïétiques ; r = coefficient de corrélation ; PTOS = patients ayant fait l'objet de transplantation d'organes solides

Remarques :

- échantillons appariés avec des résultats dans la plage linéaire commune pour les deux tests inclus.
- Le modèle de régression de Deming suppose l'indépendance entre tous les échantillons ; la méthode de jackknife a été utilisée pour estimer les IC.

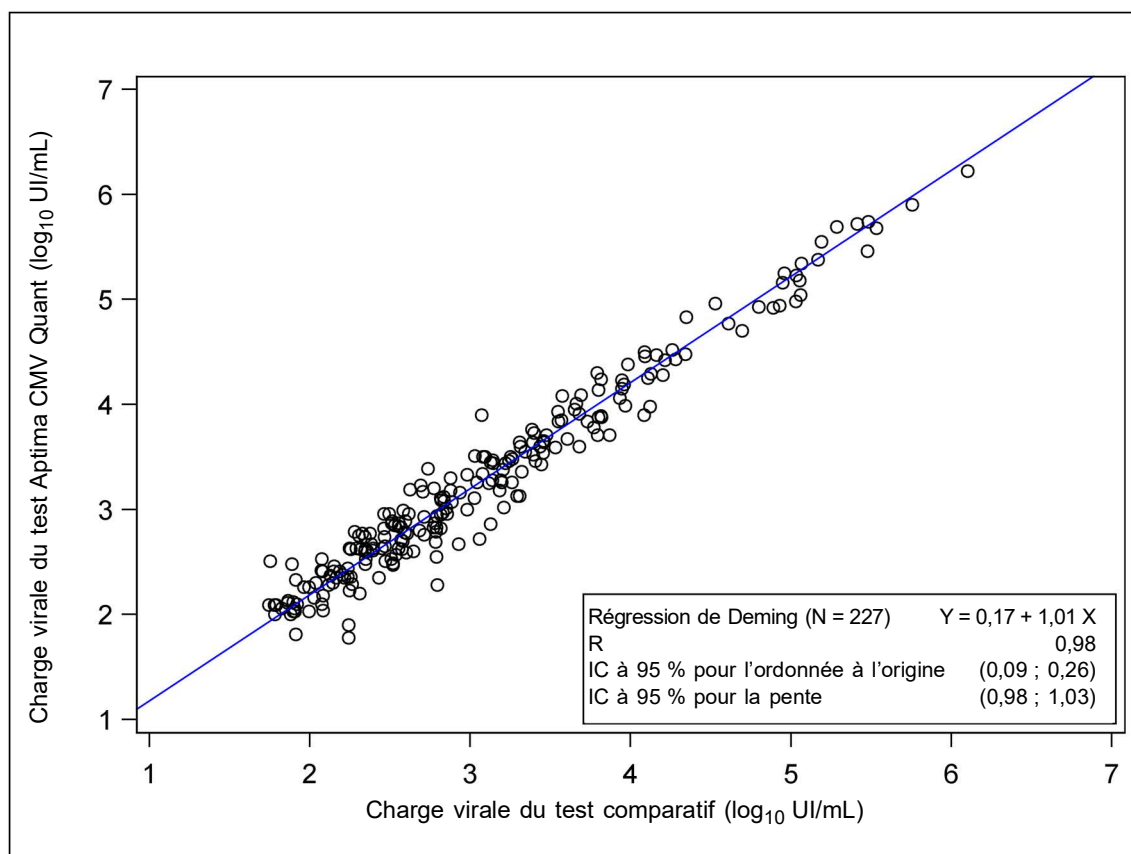


Figure 16. Graphique de la régression linéaire de Deming des charges virales (échantillons cliniques : PTOS uniquement)

IC = intervalle de confiance ; PTOS = patients ayant fait l'objet de transplantation d'organes solides ; r = coefficient de corrélation

Remarques :

- échantillons appariés avec des résultats dans la plage linéaire commune pour les deux tests inclus.
- Le modèle de régression de Deming suppose l'indépendance entre tous les échantillons ; la méthode de jackknife a été utilisée pour estimer les IC.

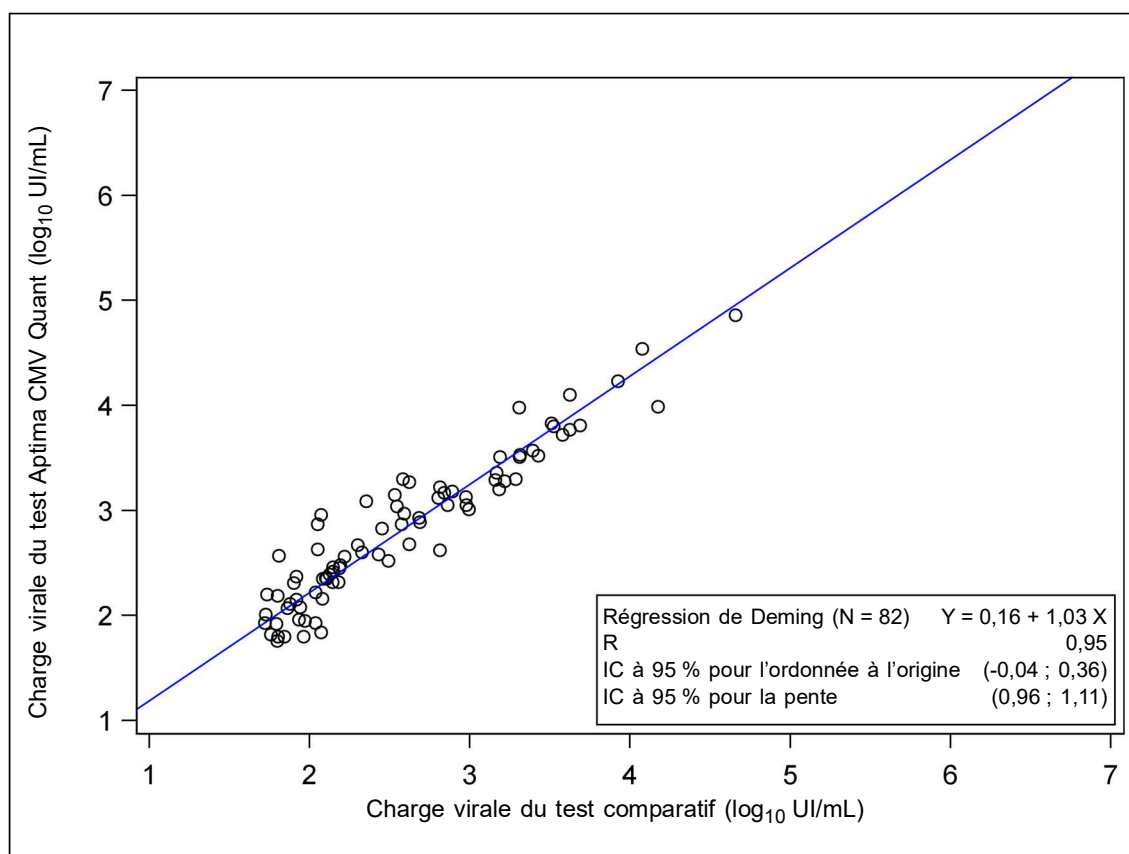


Figure 17. Graphique de la régression linéaire de Deming des charges virales (échantillons cliniques : PTCSH uniquement)

IC = intervalle de confiance ; PTCSH = patients ayant fait l'objet de transplantation de cellules souches ; r = coefficient de corrélation

Remarques :

- échantillons appariés avec des résultats dans la plage linéaire commune pour les deux tests inclus.
- Le modèle de régression de Deming suppose l'indépendance entre tous les échantillons ; la méthode de jackknife a été utilisée pour estimer les IC.

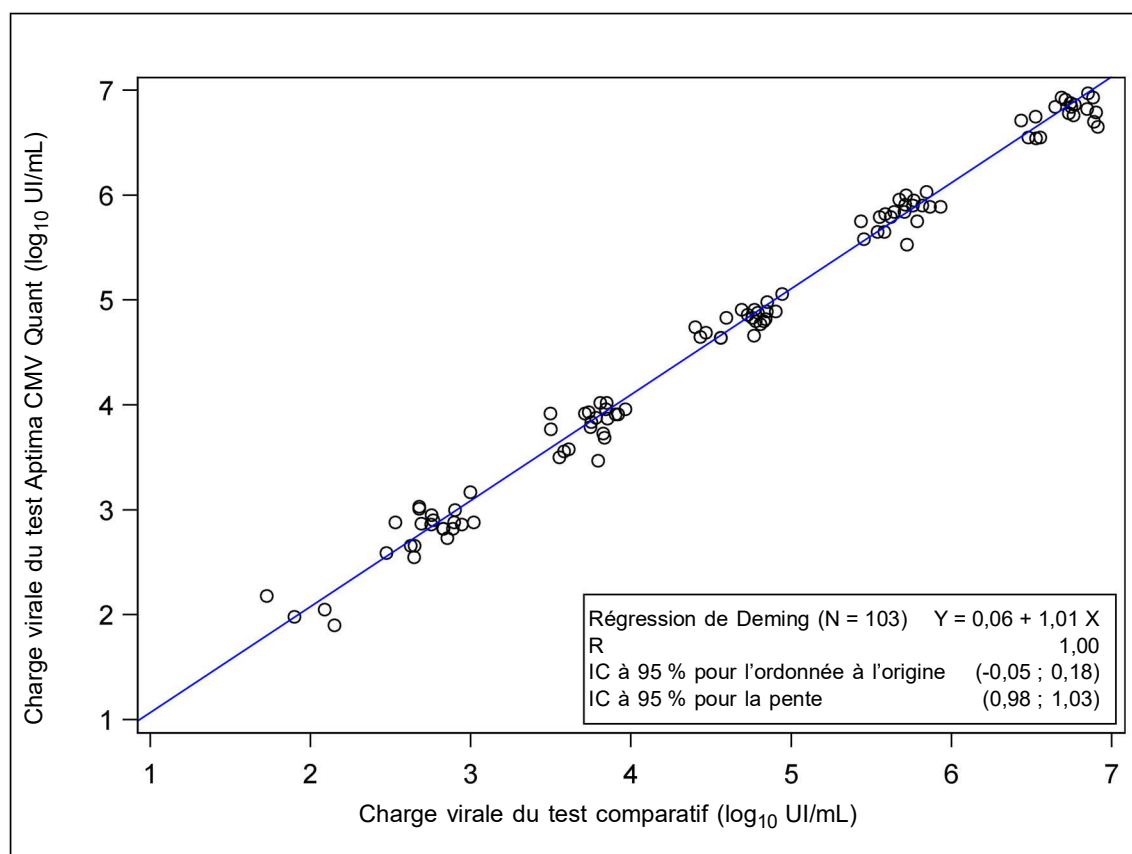


Figure 18. Graphique de la régression linéaire de Deming des charges virales (échantillons contributifs)

IC = intervalle de confiance ; R = coefficient de corrélation

Remarques :

- échantillons appariés avec des résultats dans la plage linéaire commune pour les deux tests inclus.
- Le modèle de régression de Deming suppose l'indépendance entre tous les échantillons ; la méthode de jackknife a été utilisée pour estimer les IC.

Différence moyenne appariée

Le Tableau 32 ci-dessous présente la différence moyenne entre le test Aptima CMV Quant et le test approuvé à des intervalles de décision représentatifs.

Tableau 32: Moyenne des différences de charge virale appariées à des intervalles de décision représentatifs par type d'échantillon et groupe de transplantation

Type d'échantillon	Groupe de transplantation	Intervalles de décision représentatifs ^a (log ₁₀ UI/mL)	Nombre total d'échantillons appariés ^b (N)	Moyenne (ES)	IC à 95 %
Clinique	Globale	Tous	254	0,20 (0,012)	(0,17, 0,22)
		≥ 2,1 à < 3,0	129	0,21 (0,018)	(0,18, 0,25)
		≥ 3,0 à < 4,0	87	0,19 (0,021)	(0,15, 0,23)
		≥ 4,0 à < 5,0	24	0,17 (0,039)	(0,09, 0,25)
		≥ 5,0	14	0,18 (0,037)	(0,10, 0,26)
	PTOS	Tous	199	0,18 (0,014)	(0,16, 0,21)
		≥ 2,1 à < 3,0	95	0,19 (0,021)	(0,14, 0,23)
		≥ 3,0 à < 4,0	69	0,18 (0,024)	(0,13, 0,23)
		≥ 4,0 à < 5,0	21	0,17 (0,038)	(0,09, 0,25)
		≥ 5,0	14	0,18 (0,037)	(0,10, 0,26)
	PTCSH	Tous	55	0,26 (0,026)	(0,20, 0,31)
		≥ 2,1 à < 3,0	34	0,29 (0,034)	(0,22, 0,36)
		≥ 3,0 à < 4,0	18	0,22 (0,039)	(0,13, 0,30)
		≥ 4,0 à < 5,0	3	0,16 (0,188)	(-0,65, 0,97)
		≥ 5,0	0	NC (NC)	NC
Contributif	s.o.	Tous	100	0,08 (0,014)	(0,05, 0,11)
		≥ 2,1 à < 3,0	20	0,07 (0,037)	(0,00, 0,15)
		≥ 3,0 à < 4,0	21	0,05 (0,036)	(-0,03, 0,12)
		≥ 4,0 à < 5,0	20	0,10 (0,025)	(0,04, 0,15)
		≥ 5,0	39	0,10 (0,022)	(0,06, 0,14)

IC = intervalle de confiance ; PTCSH = patients ayant fait l'objet de transplantation de cellules souches hématopoïétiques ; NC = non calculable ; ES = erreur standard ; PTOS = patients ayant fait l'objet de transplantation d'organes solides

^a Les échantillons appariés sont répartis dans des intervalles de décision en fonction du résultat du test approuvé.

^b Nombre d'échantillons appariés avec des résultats dans la plage linéaire commune pour les deux tests.

Biais à certains taux de charge virale

Le Tableau 33 ci-dessous présente le biais entre le test Aptima CMV Quant et le test approuvé à cinq taux de charge virale sélectionnés, de 2,1 log₁₀ UI/mL à 7,0 log₁₀ UI/mL, avec des équivalents non transformés associés.

Tableau 33: Biais/différence systématique à des taux de charge virale sélectionnés par type d'échantillon et groupe de transplantation

Type d'échantillon	Groupe de transplantation	Taux de charge virale sélectionnés log ₁₀ UI/mL (UI/mL)	Différence systématique ^a log ₁₀ UI/mL (UI/mL)
Clinique	Globale	2,1 (137)	0,20 (1 797,1)
		2,7 (500)	0,20 (1 948,2)
		3,3 (1 800)	0,21 (2 489,1)
		3,9 (7 943,3)	0,21 (5 045,3)
		7,0 (10 000 000)	0,22 (4 162 789,2)
	PTOS	2,1 (137)	0,18 (2251,8)
		2,7 (500)	0,19 (2 402,4)
		3,3 (1 800)	0,19 (2 941,7)
		3,9 (7 943,3)	0,19 (5 490,5)
		7,0 (10 000 000)	0,21 (4 151 107,2)
	PTCSH	2,1 (137)	0,23 (180,1)
		2,7 (500)	0,25 (430,5)
		3,3 (1 800)	0,27 (1 327,2)
		3,9 (7 943,3)	0,29 (5 564,7)
		7,0 (10 000 000)	0,40 (6 897 935,4)
Contributif	s.o.	2,1 (137)	0,07 (33 420,4)
		2,7 (500)	0,08 (33 467,9)
		3,3 (1 800)	0,08 (33 638,0)
		3,9 (7 943,3)	0,08 (34 442,0)
		7,0 (10 000 000)	0,10 (1 342 167,4)

PTCSH = patients ayant fait l'objet de transplantation de cellules souches hématopoïétiques ; PTOS = patients ayant fait l'objet de transplantation d'organes solides

^a La différence systématique est la différence entre la variable du résultat (Y) et la charge virale (X) dérivée à chacun des taux de charge virale sélectionnés avec les estimations de la régression de Deming pour la pente et l'ordonnée à l'origine.

Différence totale admissible (DTA)

Le Tableau 34 et les Figure s 19 à Figure 22 ci-dessous présentent les résultats de la DTA en utilisant les différences appariées entre le test Aptima CMV Quant et le test approuvé par rapport à leur moyenne, à des seuils représentatifs, ainsi que le pourcentage de résultats appariés dans la plage de DTA.

Tableau 34: Pourcentage de différences d'échantillons appariés dans la plage de différence totale admissible (DTA) à différents intervalles de charge virale en fonction du type d'échantillon et du groupe de transplantation

Type d'échantillon	Groupe de transplantation	Intervalles de charge virale ^a (log ₁₀ UI/mL)	N ^b	Différences d'échantillons appariés dans la plage de DTA				
				n (%)	Percentiles			
					2,5 %	5 %	95 %	97,5 %
Clinique	Globale	Tous	271	234 (86,3)	-0,19	-0,14	0,40	0,42
		Faible (≥ 2,1 à < 3,3)	171	147 (86,0)	-0,24	-0,16	0,41	0,44
		Moyenne (≥ 3,3 à < 3,9)	52	48 (92,3)	-0,08	-0,08	0,38	0,38
		Élevée (≥ 3,9 à < 7)	48	39 (81,3)	-0,18	-0,18	0,37	0,40
	PTOS	Tous	207	183 (88,4)	-0,19	-0,14	0,40	0,42
		Faible (≥ 2,1 à < 3,3)	123	109 (88,6)	-0,26	-0,18	0,41	0,44
		Moyenne (≥ 3,3 à < 3,9)	40	38 (95,0)	-0,16	-0,08	0,38	0,40
		Élevée (≥ 3,9 à < 7)	44	36 (81,8)	-0,18	-0,14	0,37	0,40
	PTCSH	Tous	64	51 (79,7)	-0,18	0,01	0,38	0,41
		Faible (≥ 2,1 à < 3,3)	48	38 (79,2)	-0,19	0,01	0,41	0,45
		Moyenne (≥ 3,3 à < 3,9)	12	10 (83,3)	0,09	0,09	0,32	0,32
		Élevée (≥ 3,9 à < 7)	4	3 (75,0)	-0,18	-0,18	0,31	0,31
Contributif	s.o.	Tous	99	96 (97,0)	-0,19	-0,14	0,29	0,34
		Faible (≥ 2,1 à < 3,3)	20	20 (100)	-0,14	-0,13	0,35	0,35
		Moyenne (≥ 3,3 à < 3,9)	14	13 (92,9)	-0,32	-0,32	0,27	0,27
		Élevée (≥ 3,9 à < 7)	65	63 (96,9)	-0,19	-0,11	0,24	0,29

PTCSH = patients ayant fait l'objet de transplantation de cellules souches hématopoïétiques ; PTOS = patients ayant fait l'objet de transplantation d'organes solides

^a Les échantillons appariés sont répartis dans des intervalles de décision en fonction du résultat du test approuvé.

^b Nombre d'échantillons appariés avec des résultats dans la plage linéaire commune pour les deux tests.

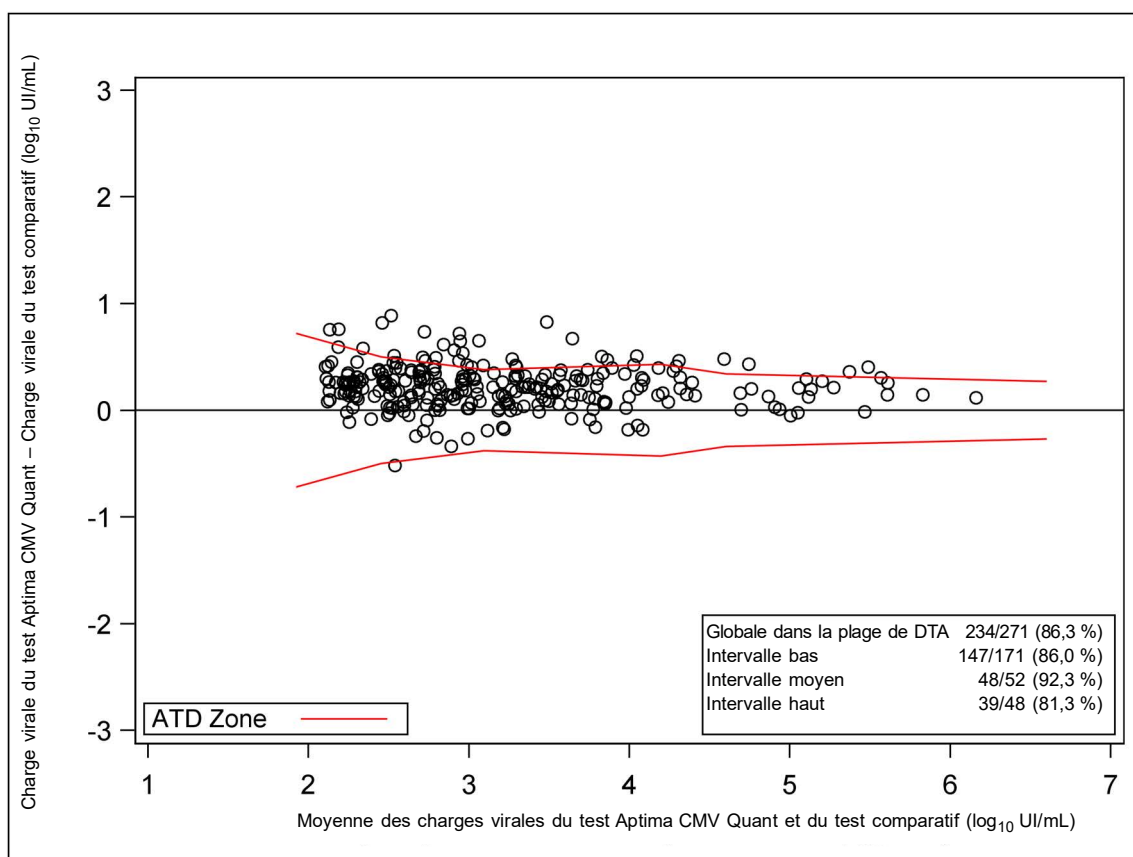


Figure 19. Graphique de la différence des échantillons appariés et de la plage de DTA (échantillons cliniques : PTOS et PTSCH combinés)

DTA = différence totale admissible ; PTSCH = patients ayant fait l'objet de transplantation de cellules souches hématopoïétiques ; PTOS = patients ayant fait l'objet de transplantation d'organes solides

Remarque : échantillons appariés avec des résultats dans la plage linéaire commune pour les deux tests inclus.

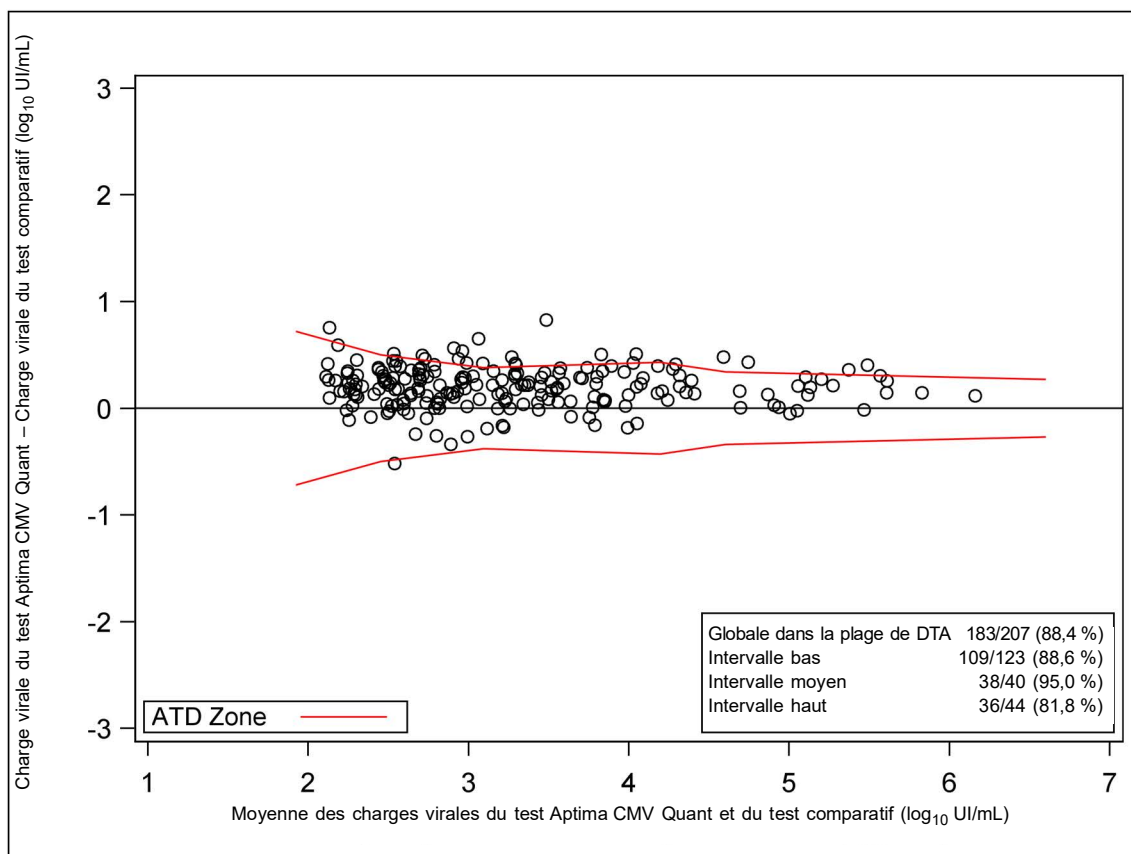


Figure 20. Graphique de la différence des échantillons appariés et de la plage de DTA (échantillons cliniques : PTOS uniquement)

DTA = Différence totale admissible ; PTOS = patients ayant fait l'objet de transplantation d'organes solides

Remarque : échantillons appariés avec des résultats dans la plage linéaire commune pour les deux tests inclus.

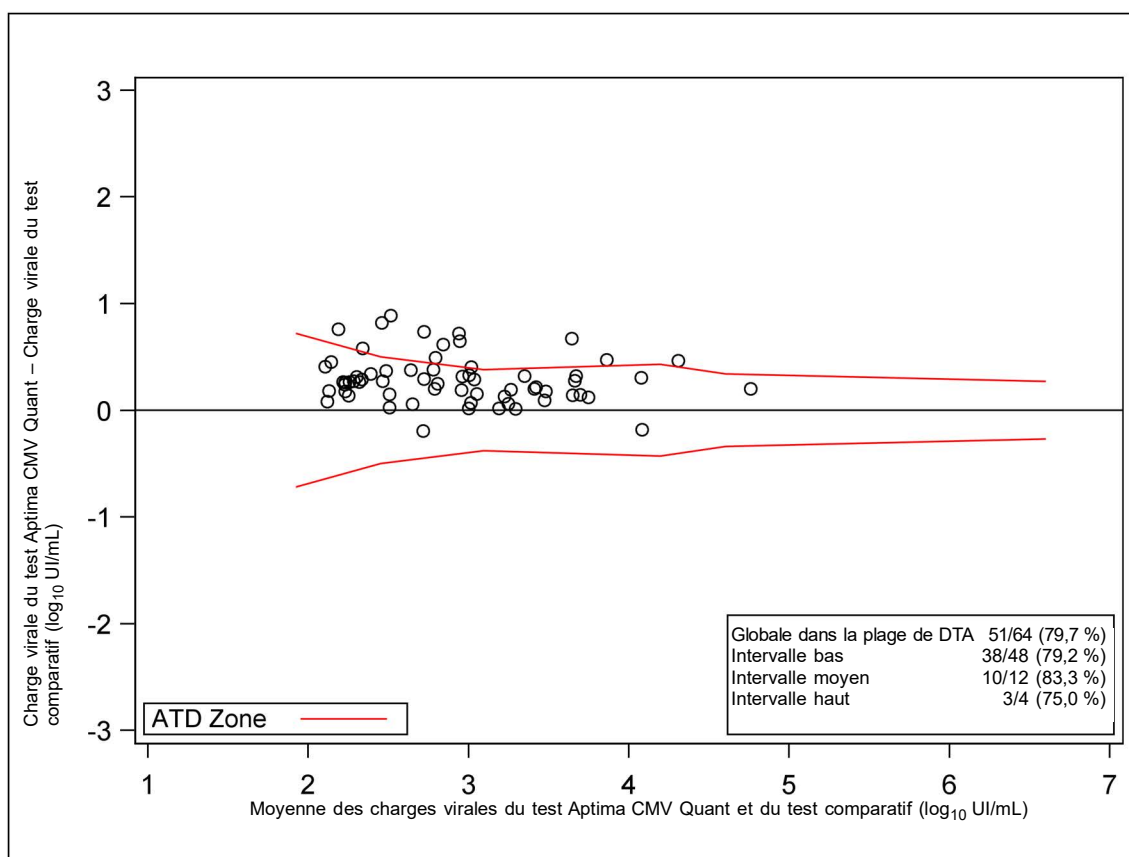


Figure 21. Graphique de la différence des échantillons appariés et de la plage de DTA (échantillons cliniques : PTCSH uniquement)

DTA = Différence totale admissible ; PTCSH = patients ayant fait l'objet de transplantation de cellules souches hématopoïétiques

Remarque : échantillons appariés avec des résultats dans la plage linéaire commune pour les deux tests inclus.

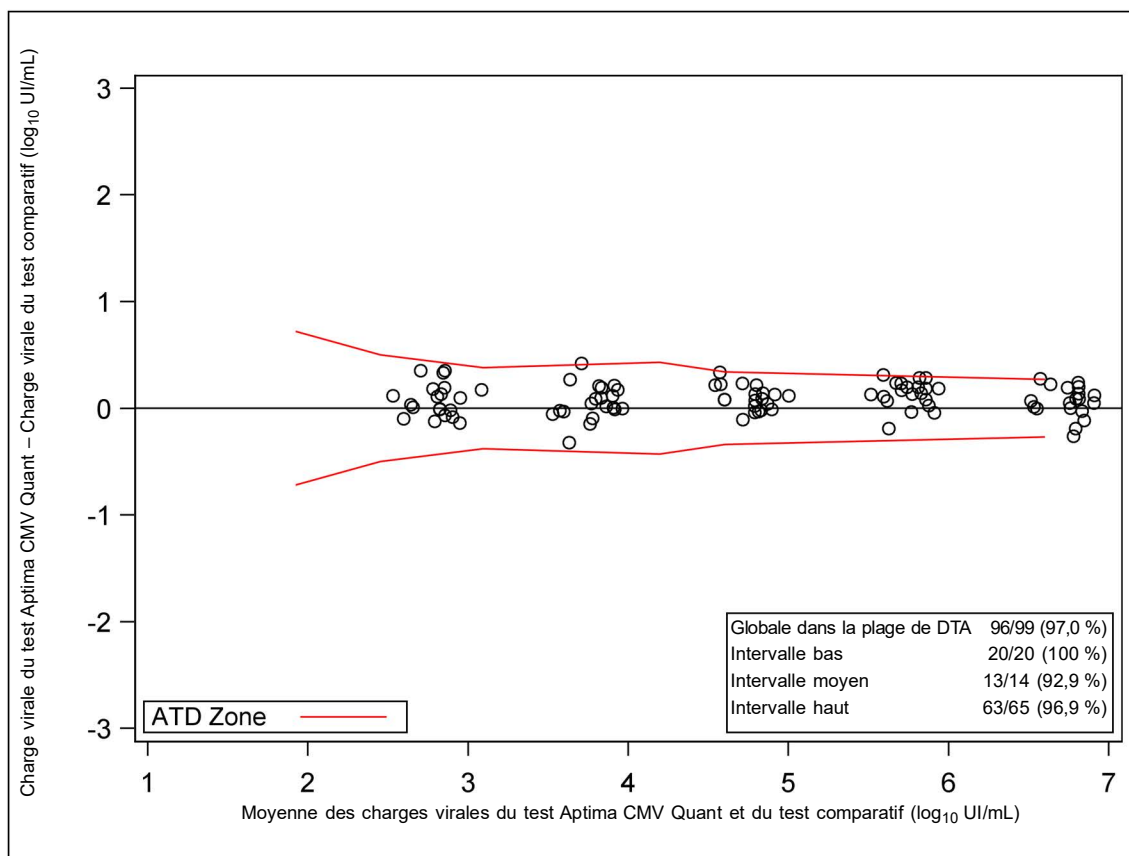


Figure 22. Graphique de la différence des échantillons appariés et de la plage de DTA (échantillons contributifs)

DTA = différence totale admissible

Remarque : échantillons appariés avec des résultats dans la plage linéaire commune pour les deux tests inclus.

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

Coordonnées et historique des révisions



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



Hologic BV
Da Vincilaan 5
1930 Zaventem
Belgium

Australian Sponsor

Hologic (Australia & New
Zealand) Pty Ltd.
Macquarie Park NSW 2113

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.

Les incidents graves survenus en relation avec l'appareil dans l'Union européenne doivent être signalés au fabricant et à l'autorité compétente de l'État membre dans lequel l'utilisateur et/ou le patient sont établis.

Hologic, Aptima et Panther Fusion sont des marques commerciales et/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.

© 2021-2024 Hologic, Inc. Tous droits réservés.

AW-27747-901 Rév. 003

2024-06

Historique des révisions	Date	Description
AW-27747 Rév. 001	Juin 2023	<ul style="list-style-type: none"> Création du mode d'emploi AW-27747 Rév. 001 pour le test Aptima CMV Quant à partir de la version AW-25509 Rév. 003 pour la conformité réglementaire au règlement des dispositifs de diagnostic in vitro. Ajout du résumé de la sécurité et des performances Mise à jour des informations générales Mise à jour des informations sur les dangers Mise à jour des sections sur la performance analytique, du tableau des matériaux fournis, Ajout de performance clinique : Concordance clinique, comparaison des méthodes, différence moyenne appariée, biais à certains taux de charge virale et différence totale admissible (DTA). Mise à jour des coordonnées, notamment : informations sur le représentant CE, le marquage CE, le représentant australien et l'assistance technique. Diverses mises à jour de style et de mise en forme.

Historique des révisions	Date	Description
AW-27747 Rév. 002	Mars 2024	<ul style="list-style-type: none">• Correction de la procédure de test pour le Panther System, section F, étape 4, partie c, pour indiquer que l'échantillon décongelé doit être agité au vortex. (Correction to the Panther System Test Procedure section F, step 4, part c, to state that the thawed specimen should be vortexed.)• Correction de l'unité de mesure de Copies/mL à UI/mL dans les tableaux 1 et 2. (Corrected the unit of measure from copies/mL to IU/mL in Tables 1 and 2.)
AW-27747 Rév. 003	Juin 2024	<ul style="list-style-type: none">• Révisé pour incorporer le flux de dilution des échantillons de plasma• Mise à jour des sections ci-dessous :<ul style="list-style-type: none">• Avertissements et précautions• Collecte et conservation des échantillons• Matériel requis mais disponible séparément• Procédure de test pour le Panther System• Interprétation des résultats• Spécificité analytique