

## Aptima™ CMV Quant Assay

À usage diagnostique *in vitro*

Réservé à l'exportation américaine

### CONTENU

<b>Renseignements généraux</b>	<b>2</b>
Usage prévu	2
Résumé et explication du test	2
Principes de la procédure	2
Avertissements et précautions	3
Conditions d'entreposage et de manipulation des réactifs	7
Prélèvement et entreposage des échantillons	8
Échantillons placés à bord du Panther System	10
Transport des spécimens	10
<b>Panther™ System</b>	<b>11</b>
Réactifs et matériel fournis	11
Matériel requis mais disponible séparément	13
Matériel facultatif	14
Procédure de test pour le Panther System	14
Remarques concernant la procédure	22
<b>Contrôle qualité</b>	<b>23</b>
Calibration du test	23
Témoins négatifs et positifs	23
Étalon interne/témoin interne	23
<b>Interprétation des résultats</b>	<b>24</b>
<b>Limites</b>	<b>26</b>
<b>Performances analytiques</b>	<b>27</b>
Limite de détection à l'aide de la 1ère norme internationale de l'OMS	27
Limite de détection des génotypes du CMV et des mutants résistants aux médicaments	28
Plage linéaire	30
Linéarité pour les différents génotypes du CMV	32
Limite inférieure de quantification (LIQ) en ayant recours la 1ère norme internationale de l'OMS	34
Détermination de la limite inférieure de quantification des génotypes du CMV et des mutants résistants aux médicaments	36
Précision	41
Substances potentiellement interférentes	42
Spécificité	43
Spécificité analytique	44
Dilution d'échantillons de plasma à l'aide du témoin négatif Aptima CMV (1:3)	45
Confirmation de la LD et de la LIQ à l'aide du 1er standard international de l'OMS pour le CMV dilué dans le témoin négatif Aptima CMV	46
Contamination par transfert	46
Corrélation de la méthode	47
Reproductibilité	49
<b>Bibliographie</b>	<b>51</b>
<b>Coordonnées</b>	<b>52</b>

## **Renseignements généraux**

### **Usage prévu**

Le test Aptima™ CMV Quant Assay est un test d'amplification des acides nucléiques in vitro pour la quantification de l'ADN du cytomégalovirus humain dans le plasma recueilli sur EDTA et le sang total humains sur le système entièrement automatisé « Panther™ System ».

Le test Aptima CMV Quant assay est destiné à faciliter la prise en charge des patients ayant subi une transplantation d'organe solide et des receveurs de cellules souches hématopoïétiques.

Le test Aptima CMV Quant assay n'est pas destiné à être utilisé comme test de dépistage utilisé pour la détection du CMV dans le sang ou dans 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 à l'étude et la région géographique, la séroprévalence du CMV varie de 45 à 100 % dans le monde.<sup>1,2</sup> Chez les sujets immunocompétents, l'infection à CMV est généralement asymptomatique et spontanément résolutive. Toutefois, chez les personnes immunodéprimées, 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 pour les autres virus de l'herpès, après une infection primaire, le CMV crée une infection latente qui perdure toute la vie et 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 chez le sujet peut entraîner une poussée de réplication virale étendue et une dissémination à un ou plusieurs organes, mettant souvent la vie du patient en danger.<sup>3</sup>

Les tests quantitatifs d'amplification de l'acide nucléique constituent la méthode privilégiée pour surveiller l'infection et la maladie à CMV chez les patients greffés, car elle est rapide et sensible.<sup>4</sup> Les lignes directrices récentes recommandent de surveiller au moins une fois par semaine la charge virale du CMV afin de guider les décisions de commencer un traitement anti-CMV et de surveiller la réponse au traitement.<sup>5,6,8</sup> En règle générale, des valeurs de charge virale plus élevées sont corrélées avec un risque accru de maladie à CMV.<sup>4,9</sup> Ainsi, la quantification de l'ADN du CMV en conjonction avec la présentation clinique et d'autres marqueurs biologiques est cruciale dans la prise en charge des patients présentant une infection à CMV.

### **Principes de la procédure**

Le test Aptima CMV Quant Assay est un test d'amplification in vitro de l'acide nucléique qui utilise la technologie d'amplification médiée par la transcription (TMA) en temps réel sur le Panther System\* pour quantifier l'ADN du CMV, génotypes 1, 2, 3 et 4. La conception des amorces ciblant le gène UL56 hautement conservé assure une quantification précise de l'ADN du CMV. Le test est conforme à la 1<sup>ère</sup> norme internationale de l'OMS (code NIBSC : 09/162) pour détecter les infections au cytomégalovirus humain<sup>21</sup>.

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

---

\*Y compris des variantes du Panther System.

Lors de la capture de la cible, l'ADN viral est isolé à partir des échantillons. L'échantillon est traité avec un détergent afin de solubiliser l'enveloppe virale, dénaturer les protéines et libérer l'ADN génomique viral. Les oligonucléotides de capture s'hybrident à des régions hautement conservées du génome 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 servent à éliminer les composants exogènes du tube réactionnel.

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 T7. La transcriptase inverse permet de générer une copie d'ADN de la séquence cible (contenant une séquence promotrice pour l'ARN polymérase T7). L'ARN polymérase T7 produit plusieurs copies d'amplicons d'ARN à partir de la matrice d'ADN complémentaire.

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. 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, qui émettra un signal à une longueur d'onde spécifique après excitation par une source de lumière. L'intensité du signal de fluorescence augmente avec le nombre de torches moléculaires hybridées à des amplicons. 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 étalon interne/témoin interne (TI) qui permet de détecter des différences de traitement des échantillons, d'amplification et de détection. La concentration d'un échantillon est calculée par le logiciel du Panther System en utilisant les signaux obtenus pour le CMV et le TI pour chaque réaction et en les comparant aux données de calibration.

Les résultats du test de dépistage sont convertis de copies/ml à IU/ml en utilisant une équation du facteur de conversion intégrée au logiciel Panther. La même équation du facteur de conversion est utilisée pour les spécimens de sang total et de plasma. Un facteur de dilution de 4 est appliqué aux résultats de charge virale du CMV pour les spécimens de sang total lorsque le facteur de conversion pour sang total est sélectionné sur le système Panther.

## Avertissements et précautions

- A. Destiné à une utilisation diagnostique *in vitro*.
- B. Afin de réduire le risque d'obtention de résultats invalides, lisez attentivement l'ensemble de la notice et le *Manuel de l'opérateur du système Panther/Panther Fusion™* avant de réaliser ce test.

## Recommandations concernant les laboratoires

- C. MISE EN GARDE : les témoins 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. Par ailleurs, le plasma est non réactif pour l'ADN du CMV, l'ADN du VHB, l'ARN du VHC et l'ARN du VIH-1 lorsque celui-ci testé sous la forme d'échantillons groupés à l'aide de tests de détection de l'acide nucléique approuvés. Tout produit dérivé du sang humain doit être considéré comme potentiellement infectieux et manipulé avec les précautions universelles.<sup>10,11,12</sup>

- D. Cette procédure ne doit être réalisée que par du personnel dûment formé sur l'utilisation du test Aptima CMV Quant Assay et sur la manipulation de produits potentiellement infectieux. En cas de déversement, désinfectez immédiatement en suivant les procédures appropriées de l'établissement.
- E. N'utilisez que le matériel de laboratoire jetable fourni ou recommandé.
- F. Appliquez les précautions de laboratoire habituelles. Ne pipettez pas avec la bouche. Ne mangez, ne buvez ou ne fumez pas dans les zones de travail signalées. Portez des gants jetables sans poudre, des lunettes de protection et une blouse de laboratoire pour manipuler les échantillons et les réactifs de la trousse. Lavez-vous bien les mains après avoir manipulé les échantillons et les réactifs de la trousse.
- G. Les plans de travail, les pipettes et le matériel utilisé doivent être régulièrement décontaminés à l'aide d'une solution d'hypochlorite de sodium de 2,5 % à 3,5 % (0,35 M à 0,5 M).
- H. Jetez tout le matériel ayant été en contact avec des échantillons ou des réactifs selon la réglementation locale, provinciale et fédérale.<sup>10,11,12,13</sup> Nettoyez et désinfectez soigneusement tous les plans de travail.
- I. Les témoins contiennent de l'azoture de sodium comme conservateur. N'utilisez pas de tubes métalliques pour le transfert des réactifs. En cas d'élimination de solutions contenant de l'azoture de sodium par le réseau de plomberie, veillez à les diluer et à faire couler d'importantes quantités d'eau en même temps. Il est conseillé de respecter ces précautions pour éviter toute accumulation de dépôts dans les canalisations en métal, laquelle pourrait favoriser la création de conditions explosives.
- J. Les bonnes pratiques normales pour les laboratoires de biologie moléculaire incluent la surveillance de l'environnement. La procédure suivante est suggérée pour surveiller l'environnement d'un laboratoire :
1. Munissez-vous d'un écouvillon à embout de coton et faites-le correspondre au tube d'aliquote d'échantillon (SAT) Aptima.
  2. Étiquetez chaque SAT de manière appropriée.
  3. Remplissez chaque SAT avec 1 mL de diluant d'échantillon Aptima.
  4. Pour prélever les échantillons de surface, humidifiez légèrement un écouvillon avec de l'eau désionisée exempte de nucléases.
  5. Écouvillonnez la surface d'intérêt en effectuant un mouvement vertical de haut en bas. Faites tourner l'écouvillon d'environ un demi-tour pendant l'écouvillonnage.
  6. Introduisez immédiatement l'échantillon sur écouvillon dans le tube et faites-le tourner doucement dans le diluant afin d'en extraire les matières potentiellement écouvillonnées. Pressez l'écouvillon contre le bord du tube de transport pour en extraire le maximum de liquide. Jetez l'écouvillon et fermez le tube.
  7. Répétez ces étapes pour les autres échantillons sur écouvillon.
  8. Analysez l'écouvillon à l'aide d'un test moléculaire.

### Recommandations concernant les échantillons

- K. Les échantillons peuvent être infectieux. Appliquez les précautions universelles<sup>10,11,12</sup> lors de la réalisation de ce test. Des méthodes de manipulation et d'élimination des déchets appropriées doivent être établies selon la réglementation locale en vigueur.<sup>11</sup> Cette procédure ne doit être réalisée que par du personnel dûment formé sur l'utilisation du test Aptima CMV Quant Assay et sur la manipulation de produits infectieux.

- L. Observez des conditions de conservation adéquates 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.
- M. Évitez toute contamination croisée lors des étapes de manipulation des échantillons. Veillez 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. Veillez à éviter tout contact entre les différents récipients d'échantillons et à ne pas passer au-dessus d'un récipient ouvert en jetant le matériel usagé. Changez de gants en cas de contact avec l'échantillon.

### Recommandations concernant les tests

- N. En cas de résultat non valide dû à une alerte ML2, ne pas retester l'échantillon de plasma non dilué avec le test Aptima CMV Quant assay. Se reporter à la *Procédure de test pour le Panther System*, étape E.5, de cette notice pour savoir comment diluer l'échantillon de plasma.  
**Remarque :** *En cas d'alerte ML2, se reporter au manuel de l'opérateur du système Panther/Panther Fusion approprié pour les instructions de nettoyage du Mag Wash.*
- O. N'utilisez pas la trousse de réactifs, l'étalon ou les témoins après la date de péremption.
- P. N'échangez, ne mélangez ou ne combinez les réactifs de test des trousse portant différents numéros de lot de référence. Les liquides de test peuvent provenir de numéros de lots différents. Les témoins et l'étalon peuvent provenir de numéros de lots différents.
- Q. Évitez de contaminer les réactifs par des agents microbiologiques ou des nucléases.
- R. Fermez et entreposez tous les réactifs de test aux températures indiquées. La performance du test peut être affectée par l'utilisation de réactifs de test mal entreposés. Voir *Conditions d'entreposage et de manipulation des réactifs* et *Procédure de test pour le Panther System* pour plus d'information.
- S. Ne combinez pas de réactifs de test ou de liquides de test sans consignes spécifiques. Ne rajoutez pas de réactif ou de liquide dans les flacons. Le Panther System vérifie le niveau des réactifs.
- T. Évitez tout contact du réactif activateur de cible (Target Enhancer Reagent ou « TER ») avec la peau, les yeux et les muqueuses. Lavez avec de l'eau en cas de contact avec ce réactif. En cas de déversement de ce réactif, diluez avec de l'eau et suivez les procédures appropriées du site.
- U. L'étiquette de certains réactifs dans cette trousse porte des symboles de risque et de sécurité.

**Remarque :** *Pour obtenir des informations sur les mentions de danger et de mise en garde pouvant être associées aux réactifs, consultez la bibliothèque de fiches de données de sécurité sur la page [www.hologicds.com](http://www.hologicds.com). Pour plus d'informations sur les symboles, reportez-vous à la légende des symboles sur [www.hologic.com/package-inserts](http://www.hologic.com/package-inserts).*

**Informations du gouvernement canadien concernant l'exposition aux substances dangereuses**



**Témoins faisant partie de la trousse CMV**

*Sérum humain/plasma humain de 95 à 100 %*

*Azide de sodium < 1 %*

—

EUH032 – Au contact d'un acide, dégage un gaz très toxique



**Réactif activateur de cible ou « Target Enhancer Reagent » (TER)**

*Hydroxyde de lithium monohydraté de 5 à 10 %*



**DANGER**

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 lors de l'utilisation de ce produit

P301 + P312 – EN CAS D'INGESTION : appeler un CENTRE ANTIPOISON ou un médecin en cas de malaise P330 - Se rincer la bouche

P501 – Éliminer le contenu/récipient dans une installation d'élimination des déchets agréée P260 - Ne pas respirer les poussières ou les brouillards

P280 – Porter des gants de protection/des vêtements de protection/un équipement de protection des yeux/du visage

P301 + P330 + P331 – EN CAS D'INGESTION : rincer la bouche. NE PAS faire vomir

P303 + P361 + P353 – EN CAS DE CONTACT AVEC LA PEAU (ou les cheveux) : enlever immédiatement tous les vêtements contaminés. Rincer la peau à l'eau/se doucher

P304 + P340 – EN CAS D'INHALATION : déplacer la personne à l'air frais 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 de premiers soins supplémentaires sur cette étiquette)

P363 – Laver les vêtements contaminés avant réutilisation

P405 – Garder sous clef

P280 – Porter une protection oculaire/ faciale

## Conditions d'entreposage et de manipulation des réactifs

- A. Le tableau suivant présente les conditions d'entreposage et de stabilité pour les réactifs, les témoins et l'étalon.

Réactif	Entreposage intact (scellé)	Trousse ouverte (reconstituée)	
		Conservation	Stabilité
Réactif d'amplification du qCMV	2 °C à 8 °C		
Solution de reconstitution de l'amplification du qCMV	2 °C à 8 °C	2 °C à 8 °C	30 jours <sup>a</sup>
Réactif enzymatique du qCMV	2 °C à 8 °C		
Solution de reconstitution enzymatique du qCMV	2 °C à 8 °C	2 °C à 8 °C	30 jours <sup>a</sup>
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 <sup>a</sup>
Réactif de capture de cible du qCMV	2 °C à 8 °C	2 °C à 8 °C	30 jours <sup>a</sup>
qCMV PCAL (Étalon positif)	-15 °C à -35 °C	15 °C à 30 °C	Flacon à usage unique Utiliser dans les 24 heures
qCMV NC CONTROL – (Témoin négatif)	-15 °C à -35 °C	15 °C à 30 °C	Flacon à usage unique Utiliser dans les 24 heures
qCMV LPC CONTROL + (Témoin positif faible)	-15 °C à -35 °C	15 °C à 30 °C	Flacon à usage unique Utiliser dans les 24 heures
qCMV HPC CONTROL + (Témoin positif fort)	-15 °C à -35 °C	15 °C à 30 °C	Flacon à usage unique Utiliser dans les 24 heures
Réactif activateur de cible du qCMV	15 °C à 30 °C	15 °C à 30 °C	30 jours <sup>a</sup>

<sup>a</sup> Lorsque des réactifs sont retirés du Panther System, veillez à les remettre immédiatement à leurs températures d'entreposage appropriées.

- B. Éliminez tous les réactifs reconstitués, le réactif de capture de cible (Target Capture Reagent ou « TCR ») et le réactif activateur de cible (Target Enhancer Reagent ou « TER ») inutilisés après 30 jours ou après la date de péremption du lot de référence, selon la première éventualité.
- C. Les réactifs entreposés dans le Panther System sont stables pendant 96 heures. Vous pouvez charger les réactifs dans le Panther System jusqu'à 8 fois. Le Panther System enregistre le nombre de chargements des réactifs.
- D. Après décongélation de l'étalon, la solution doit être transparente, c.-à-d., elle ne doit pas être trouble ou contenir des précipités. Assurez-vous que les précipités sont dissous. N'utilisez pas l'étalon tant qu'il y a présence de gélification, de précipitation ou de turbidité.
- E. Le réactif promoteur et le réactif promoteur reconstitué lyophilisés sont photosensibles. Protégez ces réactifs de la lumière lors de leur entreposage et pendant la préparation avant de les utiliser.
- F. Le réactif activateur de cible qCMV doit être entreposé à une température entre 15 °C et 30 °C avant son utilisation.

## Prélèvement et entreposage des échantillons

**Remarque :** manipulez tous les spécimens comme s'ils contenaient des agents potentiellement infectieux. Utilisez les précautions universelles.

**Remarque :** veillez à éviter toute contamination croisée pendant les étapes de manipulation des échantillons. Par exemple, éliminer le matériel utilisé sans passer au-dessus des tubes ouverts.

**Remarque :** les tubes secondaires en plastique constituent le seul récipient d'entreposage d'échantillons recommandé.

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

- Tubes contenant des anticoagulants EDTA
- Tubes de préparation du plasma (PPT)

### A. Prélèvement des échantillons

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 du spécimen. Séparez le plasma du culot de globules rouges en suivant les instructions du fabricant du tube utilisé. Le plasma peut être analysé directement par le Panther System dans un tube primaire ou transféré dans un tube secondaire, par exemple dans un tube d'aliquote d'échantillon Aptima (Specimen Aliquot Tube ou « SAT »). Pour obtenir un volume d'échantillons de 500 µL, le volume minimum de plasma pour les tubes de prélèvement primaires est de 1 200 µL. Pour les tubes secondaires, le volume minimum est de 700 µl pour obtenir le volume d'échantillon de 500 µl. Le tableau suivant identifie le volume mort minimum pour chaque type de tube primaire et secondaire.

Tube (taille et type)	Volume mort sur le Panther System
Tube d'aliquote d'échantillon Aptima (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

Dans le cas où le plasma n'est pas analysé immédiatement, il peut être entreposé selon les spécifications suivantes. S'il est transféré dans un tube secondaire, le plasma peut être congelé à -20 °C ou -70 °C. Ne dépassez pas 3 cycles de congélation/décongélation. Ne congelez pas de spécimens de plasma dans des tubes de prélèvement primaires d'EDTA.

2. Le sang total doit être traité à l'aide de tubes de diluant pour sang total pré-remplis avant d'être testé sur le Panther System. Ne dépassez pas 3 cycles de congélation/décongélation pour les échantillons de sang total non traités.

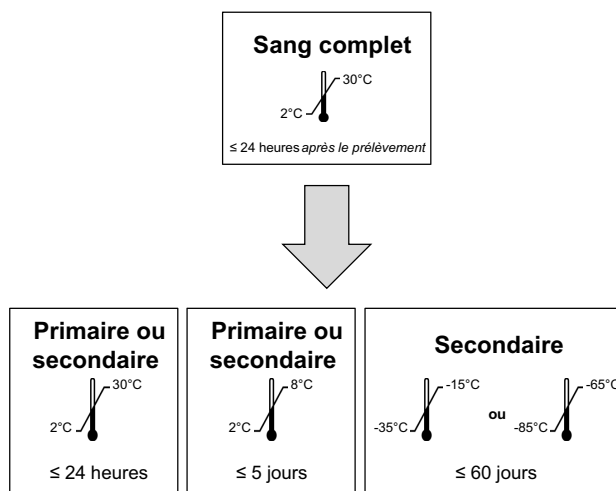
### B. Conditions d'entreposage des échantillons

#### 1. Échantillons de plasma d'EDTA

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



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

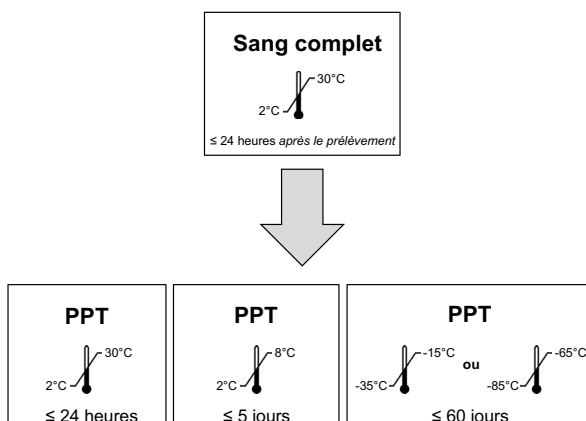


**Figure 1 Conditions d'entreposage pour les tubes d'EDTA**

## 2. Spécimens dans le tube PPT

Le sang total peut être entreposé entre 2 °C et 30 °C et doit être centrifugé dans les 24 heures suivant le prélèvement du spécimen. Le plasma peut ensuite être entreposé 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
- Jusqu'à 60 jours dans le tube PPT à -20 °C ou à -70 °C



**Figure 2 Conditions d'entreposage pour les tubes PPT**

### 3. Dilution des échantillons de plasma

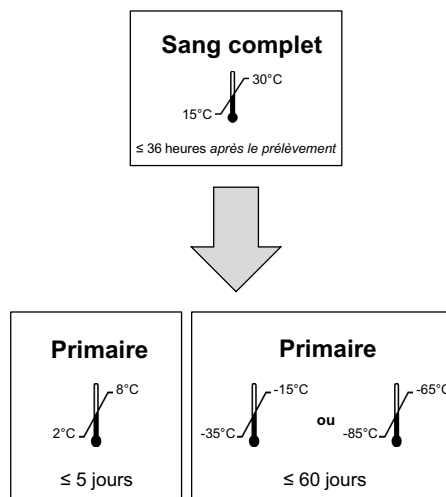
Les échantillons de plasma peuvent être dilués dans un tube SAT ou un tube secondaire pour être testés sur le système Panther. Voir la *procédure de test du système Panther*, étape E.5 ci-dessous pour plus d'informations.

**Remarque :** Si un échantillon est dilué, il doit être analysé immédiatement après la dilution. Ne pas congeler un échantillon dilué.

### 4. Spécimens de sang total

Le sang total peut être entreposé entre 15 °C et 30 °C jusqu'à 36 heures après le prélèvement de l'échantillon. Le sang total prélevé peut être entreposé 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 secondaire à -20 °C ou à -70 °C.



**Figure 3 Conditions de stockage pour les échantillons de sang total**

## Échantillons placés à bord du Panther System

Les échantillons de plasma et de sang total traité peuvent être laissés sur le système Panther sans bouchon pendant 8 heures maximum, à l'exception des échantillons de plasma dilués devant être testés immédiatement après la dilution. Les échantillons peuvent être retirés du système Panther et analysés tant que la durée totale de leur séjour à bord du système n'excède pas 8 heures avant le pipetage de l'échantillon par ce dernier.

## Transport des spécimens

Maintenez les conditions d'entreposage des échantillons comme décrites dans la section *Prélèvement et entreposage des échantillons*.

**Remarque :** l'expédition des spécimens doit s'effectuer conformément à la réglementation locale, nationale et internationale applicable concernant le transport.

**Panther™ System**

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

**Réactifs et matériel fournis**

**Trousse pour le test Aptima CMV Quant Assay**, 100 tests (N° n° PRD-05074)  
(1 boîte de tests, 1 boîte de réactif activateur de cible, 1 trousse d'étalons et 1 trousse de témoins)

**Boîte du test Aptima CMV Quant Assay**  
(entreposer entre 2 °C et 8 °C dès réception)

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

**Boîte du réactif activateur de cible du test Aptima CMV Quant**  
(entreposer entre 15 °C et 30 °C dès réception)

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

**Trousse de calibrateurs du test Aptima CMV Quant** (Cat. N° PRD-05075)  
(entreposer entre -15 °C et -35 °C dès réception)

Symbole	Composant	Quantité
PCAL	<b>Étalon positif du qCMV</b> <i>ADN du plasmide dans une solution tamponnée.</i>	5 x 2,5 mL
	<b>Étiquette à code-barres de l'étalon</b>	—

**Trousse de témoins du test Aptima CMV Quant** (Cat. N° PRD-05076)  
(entreposer entre -15 °C et -35 °C dès réception)

Symbole	Composant	Quantité
NC	<b>Témoin négatif du qCMV</b> <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	<b>Contrôle positif faible qCMV</b> <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	<b>Témoin positif fort qHBV</b> <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
	<b>Étiquette à code-barres des témoins</b>	—

**Matériel requis mais disponible séparément**

**Remarque :** les références du matériel vendu par Hologic sont indiquées, sauf indication contraire.

Matériau	N° de cat.
Panther™ System	303095
Système Panther Fusion	PRD-04172
Module « Continuous Fluids » et module « Continuous Waste » du Panther System (Panther Plus)	PRD-06067
Trousse d'analyse Panther pour les tests en - temps réel (tests en temps réel seulement)	PRD-03455 (5 000 tests)
<i>Trousse de liquides pour le test Aptima™ (ou trousse de liquides universelle) contient la solution de lavage Aptima, le tampon pour solution de désactivation Aptima et le réactif huileux Aptima</i>	303014 (1000 tests)
<i>Unités multi-tubes (Multi-Tube units, MTU)</i>	104772-02
<i>Trousse de sacs pour déchets Panther</i>	902731
<i>Couvre-déchets Panther</i>	504405
Trousse d'analyse du Panther System <i>(lors de la réalisation de tests TMA en temps différé parallèlement à des tests TMA en temps réel) contient des MTU, des sacs à rebuts, des couvercles de poubelles à rebuts, des solutions d'Autodetect et une trousse de liquides universelle</i>	303096 (5 000 tests)
Tubes de diluant pour sang total (pour le traitement des échantillons de sang total uniquement)	PRD-06783 (100 tubes pré-remplis par sachet)
Embouts, 1 000 µL filtrés, conducteurs, à détection de liquide et jetables  <i>Les produits mentionnés ne sont pas forcément tous disponibles dans toutes les régions. Communiquez avec votre représentant pour obtenir des informations spécifiques à votre région</i>	901121 (10612513 Tecan) 903031 (10612513 Tecan) MME-04128 MME-04134 (30180117 Tecan)
Eau de Javel, solution d'hypochlorite de sodium dosée de 5 % à 8,25 % (0,7 M à 1,16 M)	—
Gants jetables sans poudre	—
Bouchons non pénétrables de remplacement	103036A
Bouchons de rechange rigides Hologic (bouchon pour tube à usage unique pour le traitement du sang total)	PRD-06720
Bouchons de rechange pour réactifs <i>Flacons de reconstitution de réactif d'amplification, enzymatique et promoteur</i>	<i>CL0041 (100 bouchons)</i>
<i>Flacon TCR</i>	<i>CL0040 (100 bouchons)</i>
<i>Flacon TER</i>	<i>903302 (100 bouchons)</i>
Protecteur de paillasse de laboratoire à envers plastifié	—
Chiffons non pelucheux	—
Pipette	—
Embouts	—

Matériau	N° de cat.
Options pour les tubes de prélèvement primaire (EDTA et PPT) :	—
13 mm x 100 mm	
13 mm x 75 mm	
16 mm x 100 mm	
Centrifugeuse	—
Agitateur-mélangeur vortex	—

### Matériel facultatif

Matériau	N° de cat.
Options pour le tube secondaire :	
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 (paquet de 100) <i>bouchon pour SAT</i>	504415
Diluant d'échantillon Aptima	PRD-03003
Trousse de diluant d'échantillon Aptima <i>contient du diluant d'échantillon Aptima, 100 tubes SAT et 100 bouchons</i>	PRD-03503
Pipettes de transfert	—
Écouvillons à embout de coton	—
Agitateur à bascule pour tubes	—

### Procédure de test pour le Panther System

**Remarque** : pour de plus amples renseignements, consultez les Manuel de l'opérateur du système Panther/Panther Fusion.

#### A. Préparation de la zone de travail

1. Nettoyez les plans de travail sur lesquels les réactifs seront préparés. Essuyez les plans de travail à l'aide d'une solution d'hypochlorite de sodium de 2,5 % à 3,5 % (0,35 M à 0,5 M). Laissez la solution d'hypochlorite de sodium en contact avec les surfaces pendant au moins 1 minute, puis rincez avec de l'eau désionisée. Ne laissez pas sécher la solution d'hypochlorite de sodium. Recouvrez la surface du banc avec des housses absorbantes à dos plastifié bien propres spécialement adaptées pour les bancs de laboratoire.
2. Nettoyez un plan de travail distinct sur lequel les échantillons seront préparés. Suivez la procédure décrite ci-dessus (Étape A.1).
3. Nettoyez toutes les pipettes. Suivez la procédure de nettoyage décrite ci-dessus (Étape A.1).

#### B. Préparation de l'étalon et des témoins

Laissez l'étalon et les témoins atteindre entre 15 °C et 30 °C avant de procéder comme suit :

1. Retirez l'étalon et les témoins de leur lieu d'entreposage (entre -15 °C et -35 °C) et placez-les entre 15 °C et 30 °C. Tout au long de la décongélation, retournez délicatement chaque tube pour les mélanger complètement. Assurez-vous que le contenu des tubes est entièrement décongelé avant de l'utiliser.

**Option.** les tubes de l'étalon et des témoins peuvent être mis dans un agitateur à tubes afin de les mélanger complètement. Assurez-vous que le contenu des tubes est entièrement décongelé avant de l'utiliser.

**Remarque :** évitez toute formation excessive de mousse en mélangeant par inversion l'étalon et les témoins. La mousse interfère avec le détecteur de niveau du Panther System.

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

#### C. Reconstitution des réactifs/préparation d'une nouvelle trousse

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

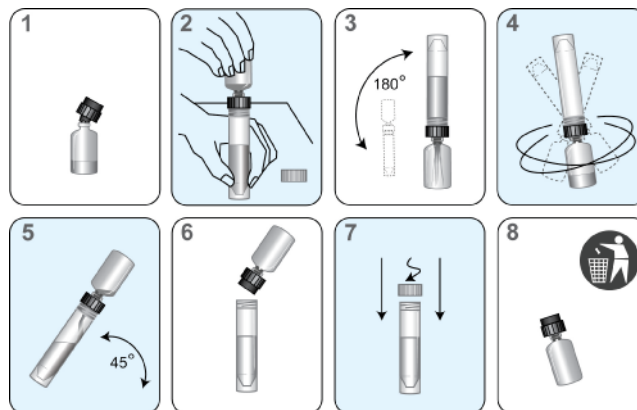
1. Pour préparer le réactif de capture de cible (TCR), procédez comme suit :
  - a. Retirez le TCR de son lieu d'entreposage (2 °C à 8 °C). Vérifiez la correspondance entre le numéro de lot sur le flacon de TCR et le numéro de lot sur la fiche de codes à barres du lot de référence.
  - b. Agitez immédiatement le flacon de TCR vigoureusement 10 fois. Laissez le flacon de TCR se réchauffer entre 15 °C et 30 °C pendant au moins 45 minutes. Pendant cette période, faites tourner et retournez le flacon de TCR au moins toutes les 10 minutes.

**Option.** La préparation du flacon de TCR peut également s'effectuer à l'aide d'un agitateur de tubes en suivant les instructions ci-dessous : retirez le TCR de son lieu d'entreposage (2 °C à 8 °C) et agitez immédiatement le flacon de TCR vigoureusement 10 fois. Placez le flacon de TRC sur un agitateur à tubes et laissez-le se réchauffer entre 15 °C et 30 °C pendant au moins 45 minutes.

- c. Assurez-vous 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, procédez comme suit :
    - a. Retirez les réactifs lyophilisés et les solutions de reconstitution correspondantes de leur lieu d'entreposage (2 °C à 8 °C). Faites correspondre chaque solution de reconstitution avec son réactif lyophilisé.
    - b. Assurez-vous que les couleurs des étiquettes de la solution de reconstitution et du réactif lyophilisé correspondent. Vérifier les numéros de lot sur la fiche de code-barres du lot de référence pour s'assurer que les réactifs sont associés correctement.
      - i. Ouvrez le flacon de réactif lyophilisé en enlevant l'opercule métallique et le bouchon en caoutchouc.
      - ii. Insérez fermement l'extrémité à encoche du collet de reconstitution (noir) sur le flacon (Figure 4, Étape 1).
      - iii. Ouvrez le flacon de solution de reconstitution correspondante et déposez le bouchon sur un plan de travail propre et couvert.

- iv. Placez le flacon de solution de reconstitution sur une surface stable (p. ex, une paille). Retournez ensuite le flacon de réactif lyophilisé au-dessus du flacon de solution de reconstitution et fixez le collet solidement au flacon de la solution de reconstitution (Figure 4, Étape 2).
- v. Retournez 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. Soulevez les flacons assemblés et faites-les tourner pendant au moins 10 secondes (Figure 4, Étape 4).
- vii. Attendez au moins 30 minutes pour que le réactif lyophilisé se dissolve entièrement.
- viii. Une fois le réactif lyophilisé dissous, faites tourner les flacons assemblés pendant au moins 10 secondes, puis balancez délicatement d'avant en arrière la solution dans le flacon en verre pour la mélanger complètement.
- c. Inclinez 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. Retirez avec précaution le collet de reconstitution et le flacon en verre (Figure 4, Étape 6).
- e. Rebouchez le flacon. Notez les initiales de l'utilisateur et la date de reconstitution sur l'étiquette (Figure 4, Étape 7).
- f. Jetez le collier de reconstitution et le flacon en verre (Figure 5, Étape 8).

**Avertissement :** évitez la formation excessive de mousse lors de la reconstitution des réactifs. La mousse interfère avec le détecteur de niveau du Panther System.



**Figure 4** Procédure de reconstitution des réactifs

3. Retirez le réactif activateur de cible qCMV de son lieu d'entreposage (15 °C à 30 °C). Inscrivez les initiales de l'opérateur et la date d'ouverture sur l'étiquette. Vérifiez 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. Retirez les réactifs précédemment reconstitués de leur lieu d'entreposage (2 °C à 8 °C). Les réactifs d'amplification, enzymatique et promoteur et le TCR précédemment reconstitués doivent atteindre entre 15 °C et 30 °C avant de commencer le test.
  2. Retirez le TER de son lieu d'entreposage (15 °C à 30 °C).



3. Pour le TCR précédemment préparé, effectuez l'Étape C.1 ci-dessus avant de le charger sur le système.
4. Faites tourner et retournez les réactifs d'amplification, enzymatique et promoteur afin de les mélanger complètement avant de les charger sur le système. Évitez la formation excessive de mousse lors du retournement des réactifs.  
**Option.** Les réactifs précédemment préparés peuvent également être préparés à l'aide d'un agitateur de tubes en suivant les instructions ci-dessous : Retirez les réactifs de leur lieu d'entreposage (2 °C à 8 °C). Placez les réactifs sur un agitateur à tubes et laissez-les dans cet état entre 15 °C et 30 °C pendant au moins 30 minutes.
5. N'ajoutez pas davantage de réactif dans les flacons de réactif. Le Panther System détecte et rejette les flacons dans lesquels plus de réactif a été ajouté.

#### E. Manipulation des échantillons de plasma

1. Vérifiez que les échantillons traités dans des tubes primaires et les échantillons non dilués dans des tubes secondaires sont entreposés conformément à la section *Prélèvement et entreposage des échantillons*
2. Assurez-vous que les échantillons congelés sont entièrement décongelés. Agitez les échantillons décongelés au vortex pendant 3 à 5 secondes afin de les mélanger complètement.
3. Laissez tous les échantillons atteindre entre 15 °C et 30 °C avant de procéder. Reportez-vous à la section *Échantillons placés à bord du Panther System* pour plus d'information sur la mise à bord.
4. Vérifiez que chaque tube de prélèvement primaire contient jusqu'à 1 200 µL de spécimens, ou que chaque tube contient au moins 700 µL de spécimens. Consultez le tableau dans la section *Prélèvement des échantillons* pour identifier le volume mort minimum pour chaque type de tube primaire et secondaire. Si une dilution des échantillons 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. Échantillon de plasma dilué

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

##### a. Décongélation du témoin négatif Aptima CMV

- i. Retirez un tube de témoin négatif du lieu d'entreposage (entre -15 °C et -35 °C) et placez-le à 15 °C et 30 °C. Pendant le processus de décongélation, inversez doucement le tube pour bien mélanger. Assurez-vous que le contenu du tube est complètement décongelé avant utilisation.

**Option :** Les tubes de témoins peuvent être mis sur un agitateur à tubes afin de les mélanger complètement. Assurez-vous que le contenu du tube est entièrement décongelé avant de l'utiliser.

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

##### b. Échantillon de plasma dilué

**Remarque:** Si 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 témoin négatif.

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

Les échantillons dilués au 1:3 peuvent être analysés à l'aide de l'option 1:3 du système Panther (voir le *Manuel de l'opérateur du système Panther/Panther Fusion* pour plus de renseignements). Le logiciel indique 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, centrifugez chaque spécimen entre 1 000 et 3 000 g pendant 10 minutes. Ne retirez pas les bouchons à cette étape.

Reportez-vous à l'étape G.2 ci-dessous pour obtenir de l'information sur le chargement du portoir et le retrait des bouchons.

#### F. Manipulation des échantillons de sang total

1. Vérifiez que les échantillons non traités dans des tubes primaires sont stockés correctement conformément à la section *Prélèvement et entreposage des échantillons*.
2. Assurez-vous que les échantillons congelés sont entièrement décongelés. Laissez tous les échantillons atteindre entre 15 °C et 30 °C avant de procéder. Reportez-vous à la section *Échantillons placés à bord du Panther System* pour plus d'information sur la mise à bord.
3. Retournez doucement les tubes de sang total au moins 3 fois, ou mélangez doucement sur un agitateur, jusqu'à ce que le sang soit homogène.
4. Avant le traitement des échantillons, effectuez la procédure suivante sur chaque spécimen.
  - a. Le sang dans les tubes primaires doit être mélangé complètement par inversion, et l'échantillon devra être immédiatement transféré dans le tube contenant du diluant pour sang total.
  - b. Ajoutez 500 µl de spécimens de sang total dans le tube de diluant pour sang total pré-rempli.
  - c. Remettez le bouchon en place et passez l'échantillon au vortex pendant au moins 5 secondes.

Reportez-vous à l'étape G.2 ci-dessous pour obtenir de l'information sur le chargement du portoir et le retrait des bouchons.

#### G. Préparation du système

1. Configurez le système conformément aux instructions du *Manuel de l'opérateur du système Panther/Panther Fusion* et aux *Remarques concernant la procédure*. Veillez à ce que des portoirs à réactifs et des adaptateurs TCR de taille appropriée soient utilisés.
2. Chargez les échantillons dans le portoir d'échantillons. Effectuez les étapes suivantes pour chaque tube d'échantillon (échantillon et, le cas échéant, étalon et témoins) :
  - a. Desserrez le bouchon de l'un des tubes d'échantillon, sans l'enlever.

**Remarque :** *veillez particulièrement à éviter toute contamination par la diffusion d'aérosols. Desserrez délicatement les bouchons des échantillons.*
  - b. Chargez le tube d'échantillon dans le portoir d'échantillons.
  - c. Répétez les étapes 2.a et 2.b pour chaque échantillon restant.
  - d. Une fois les échantillons chargés dans le portoir d'échantillons, enlevez et jetez le bouchon de chaque tube d'échantillon dans l'un des portoirs d'échantillons. Pour éviter toute contamination, ne passez pas les bouchons au-dessus d'autres portoirs d'échantillons ou tubes d'échantillons.

- e. Au besoin, utilisez une pipette de transfert jetable neuve pour éliminer les bulles ou la mousse. La présence de bulles dans le tube empêche la détection du niveau par le Panther System.
- f. Une fois le dernier bouchon retiré, chargez le portoir d'échantillons dans le compartiment à échantillons.

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

- g. Répétez 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

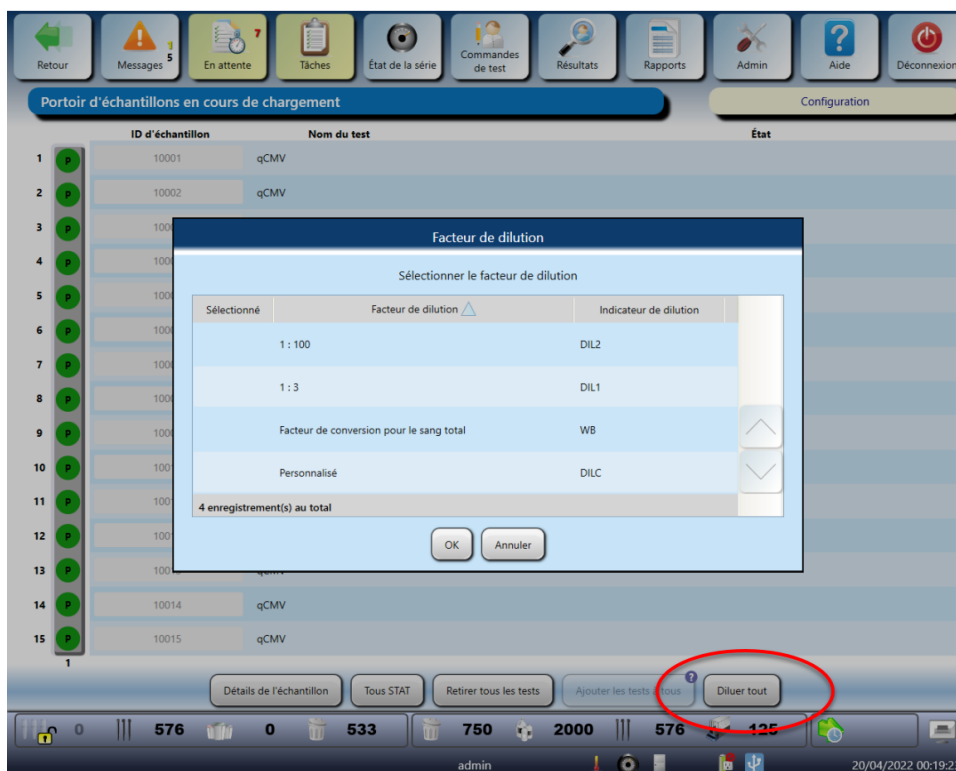
1. Configurez le système conformément aux instructions du *Manuel de l'opérateur du système Panther/Panther Fusion*.
2. Chargez le portoir à échantillons.
3. Appliquez le facteur de conversion du sang total aux séquençages de test de dépistage pour les échantillons de sang total.

**Remarque :** le facteur de conversion du sang total peut être appliqué à un portoir entier ou à un seul séquençage de test.

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

- a. Dans l'écran *Sample Rack Bay (Compartiment du portoir à échantillons)*, double-cliquez sur le portoir chargé qui vous intéresse. L'écran *Sample Rack Loading (Chargement du portoir à échantillons)* s'affiche pour le portoir sélectionné.
- b. Sélectionnez **Dilute All (Diluer tout)**.

La fenêtre facteur de dilution s'affiche.

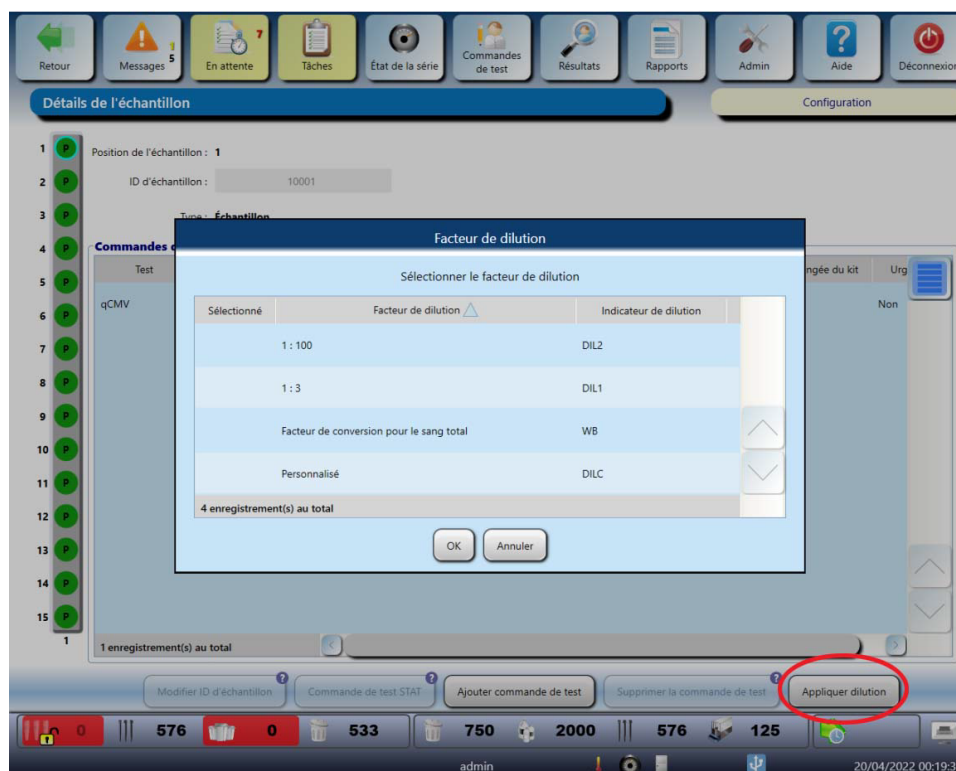


**Figure 5** La fenêtre du facteur de dilution dans l'écran Sample Rack Loading (Chargement du portoir à échantillons)

- c. Sélectionnez **Whole Blood Conversion Factor (Facteur de conversion du sang total)**.
- d. Sélectionnez **OK**.  
La fenêtre *Set Dilution Factor for Rack (Définir le facteur de dilution pour le portoir)* s'affiche.
- e. Sélectionnez **Yes** pour appliquer la balise du facteur de conversion du sang total à un portoir entier d'échantillons de sang total

Pour appliquer le facteur de conversion du sang total à un seul séquençage de test (par exemple, le quatrième échantillon dans le portoir; voir l'illustration ci-dessous) :

- a. Dans l'écran Sample Rack Bay (Compartiment du portoir à échantillons), double-cliquez sur le portoir chargé avec le ou les échantillons qui vous intéressent.  
L'écran *Sample Rack Loading (Chargement du portoir à échantillons)* s'affiche pour le portoir d'échantillons sélectionné.
- b. Dans l'écran *Sample Rack Loading (Chargement du portoir à échantillons)*, double-cliquez sur le spécimen qui vous intéresse.  
L'écran *Sample Details (Détails des échantillons)* s'affiche avec les séquençages de test en cours pour le spécimen sélectionné.
- c. Sélectionnez le séquençage du test qui vous intéresse dans le panneau *Test Orders (Séquençages du test)*.
- d. Sélectionnez **Apply Dilution (Appliquer la dilution)**



**Figure 6** La fenêtre *Dilution Factor (Facteur de dilution)* dans l'écran *Sample Details (Détails des échantillons)*

- e. Sélectionnez **Whole Blood Conversion Factor (Facteur de conversion du sang total)**.
  - f. Sélectionnez **OK** pour appliquer la balise du facteur de conversion du sang total à tous les séquençages de test sélectionnés.
4. Au besoin, le facteur sang total peut être retiré des séquençages de test avant le début du traitement.

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

1. Dans l'écran *Sample Rack Bay (Compartiment du portoir à échantillons)*, double-cliquez sur le portoir chargé qui vous intéresse.

L'écran *Sample Rack Loading (Chargement du portoir à échantillons)* s'affiche pour le portoir sélectionné.

2. Sélectionnez **Dilute All (Diluer tout)**.
3. Dans la fenêtre *Dilution Factor (Facteur de dilution)*, désélectionnez **Whole Blood Conversion Factor (Facteur de conversion du sang total)**.
4. Sélectionnez **OK**.

La fenêtre *Set Dilution Factor for Rack (Définir le facteur de dilution pour le portoir)* s'affiche.

5. Sélectionnez **Yes** pour supprimer le facteur de conversion de sang total d'un portoir entier.

Pour supprimer les séquençages du test du facteur de conversion du sang total :

1. Dans l'écran *Sample Rack Bay* (Compartiment du portoir à échantillons), double-cliquez sur le portoir chargé avec le ou les échantillons qui vous intéressent.

L'écran *Sample Rack Loading* (*Chargement du portoir à échantillons*) s'affiche pour le portoir d'échantillons sélectionné.

2. Dans l'écran *Sample Rack Loading* (*Chargement du portoir à échantillons*), double-cliquez sur le spécimen qui vous intéresse.

L'écran *Sample Details* (*Détails des échantillons*) s'affiche avec les séquençages de test en cours pour le spécimen sélectionné.

3. Sélectionnez le séquençage du test qui vous intéresse dans le panneau *Test Orders* (*Séquençages du test*).
4. Sélectionnez **Apply Dilution** (**Appliquer la dilution**).
5. Dans la fenêtre *Dilution Factor* (*Facteur de dilution*), désélectionnez **Whole Blood Conversion Factor** (**Facteur de conversion du sang total**).
6. Sélectionnez **OK** pour supprimer le facteur de conversion de sang total d'un séquençage de test.

## Remarques concernant la procédure

### A. Étalon et témoins

1. L'étalon positif qCMV, ainsi que les tubes de témoin positif faible qCMV, de témoin positif fort qCMV et de témoin négatif qCMV peuvent être chargés dans n'importe quelle position dans le portoir d'échantillons et dans n'importe quelle rangée du compartiment à échantillons du Panther System. Le pipetage des spécimens commencera lorsque l'une des deux conditions suivantes est remplie :
  - a. L'étalon et les témoins sont en cours de traitement par le système.
  - b. Les résultats valides de l'étalon et des témoins sont enregistrés sur le système.
2. Une fois que l'étalon et les tubes de témoins ont été pipetés et sont en traitement avec la trousse de réactifs Aptima CMV Quant Assay, des échantillons peuvent alors être testés pendant 24 heures avec la trousse reconstituée correspondante, **à moins que** :
  - a. Les résultats de l'étalon ou des témoins soient invalides.
  - b. La trousse de réactifs du test associé est retirée du système.
  - c. La durée de stabilité de la trousse de réactifs associée aux témoins a été dépassée.
3. L'étalon et chaque tube de témoins ne peut être utilisé qu'une seule fois. Les tentatives d'utilisation du tube plus d'une fois peuvent entraîner des erreurs de traitement.

### B. Poudre pour gants

Comme avec tout système de réactif, l'excès de poudre sur certains gants peut entraîner la contamination des tubes ouverts. Il est recommandé d'utiliser des gants sans poudre.

## Contrôle qualité

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

Les spécimens avec des résultats invalides doivent être analysés de nouveau afin d'obtenir un résultat valide.

En cas de résultat non valide dû à une alerte ML2, ne pas retester l'échantillon de plasma non dilué avec le test Aptima CMV Quant. Se reporter à la *Procédure de test pour le Panther System*, étape E.5, de cette notice pour savoir comment diluer l'échantillon.

**Remarque :** *En cas d'alerte ML2, se reporter au manuel de l'opérateur du système Panther/Panther Fusion approprié pour les instructions de nettoyage du Mag Wash.*

## Calibration du test

Afin de produire des résultats valides, il faut procéder à la calibration du test. Un seul étalon positif est analysé en triplicat chaque fois qu'une trousse de réactifs est chargée sur le Panther System. Une fois établie, la calibration est valide pour un maximum de 24 heures. Le logiciel du Panther System signale à l'opérateur lorsqu'une calibration est requise. L'opérateur balaye un coefficient de calibration qui se trouve sur la fiche des codes à barres du lot de référence fournie avec chaque trousse de réactifs.

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

## Témoins négatifs et positifs

Pour générer des résultats valides, un ensemble de témoins de tests de dépistage devra être testé. Un répliquat du témoin négatif, du témoin positif faible et du témoin positif fort doit être analysé chaque fois qu'une trousse de réactifs est chargée sur le Panther System. Une fois établis, les témoins sont valides pour un maximum de 24 heures. Le logiciel du Panther System signale à l'opérateur lorsque des témoins sont requis.

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

## Étalon interne/témoin interne

Chaque échantillon contient un étalon interne/témoin interne (TI). Le logiciel du Panther System vérifie automatiquement les critères d'acceptation du TI lors du traitement. Si un résultat du TI est invalide, le résultat de l'échantillon est alors invalidé. Chaque échantillon dont le résultat du TI est invalide doit être analysé de nouveau afin d'obtenir un résultat valide.

Le logiciel du Panther System est conçu pour vérifier avec précision les processus lorsque les procédures sont effectuées suivant les instructions fournies dans cette notice et le *Manuel de l'opérateur du système Panther/Panther Fusion*.

## Interprétation des résultats

Le Panther System détermine automatiquement la concentration d'ADN du CMV dans les échantillons et les témoins en comparant les résultats à une courbe de calibration. Les concentrations d'ADN du CMV sont présentées en IU/mL et en  $\log_{10}$  IU/mL. L'interprétation des résultats est présentée aux Tableau 1 et Tableau 2. Si l'option de dilution de sang total ou de plasma est utilisée sur le système Panther/Panther Fusion, il calcule automatiquement la concentration en ADN CMV pour le spécimen pur en multipliant la concentration diluée par le facteur de dilution, et les résultats de l'échantillon seront signalés.

**Remarque :** Pour les échantillons de plasma dilués, les résultats indiqués comme « Non détecté » ou « < 53 détectés » peuvent être générés en diluant un échantillon avec une concentration supérieure, mais près de la LD (limite de détection) ou de la LIQ (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 pour le plasma

Résultat signalé du test Aptima CMV Quant Assay		Interprétation
IU/mL	Log <sub>10</sub> Valeur	
Non détecté	Non détecté	ADN du CMV non détecté.
< 53 détectés	< 1,72	L'ADN du CMV est détecté mais à une concentration inférieure En dessous de la limite inférieure de quantification (LIQ).
53 à 10 000 000	1,72 à 7,00	La concentration d'ADN du CMV se situe se situe dans la plage quantitative comprise entre la LIQ et la LSQ IU/mL.
> 10 000 000	> 7,00	La concentration en ADN du CMV excède la limite supérieure de quantification (LSQ).
Invalide <sup>a</sup>	Invalide <sup>a</sup>	Une erreur est survenue lors de la génération du résultat. L'échantillon doit être analysé de nouveau.

<sup>a</sup> Les résultats invalides sont affichés dans une police de caractère de couleur bleue.



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

Tableau 2 Interprétation des résultats du sang total

Résultat signalé du test Aptima CMV Quant Assay		Interprétation
IU/mL	Log <sub>10</sub> Valeur	
Non détecté	Non détecté	ADN du CMV non détecté.
< 176 détectés	< 2,24	L'ADN du CMV est détecté mais à une concentration inférieure En dessous de la limite inférieure de quantification (LIQ).
176 à 10 000 000	2,24 à 7,00	La concentration d'ADN du CMV se situe se situe dans la plage quantitative comprise entre la LIQ et la LSQ IU/mL.
> 10 000 000	> 7,00	La concentration en ADN du CMV excède la limite supérieure de quantification (LSQ).
Invalide <sup>a</sup>	Invalide <sup>a</sup>	Une erreur est survenue lors de la génération du résultat. L'échantillon doit être analysé de nouveau.

<sup>a</sup> Les résultats invalides sont affichés dans une police de caractère de couleur bleue.

Les critères d'acceptation pour chacun des témoins quantitatifs du test Aptima CMV Quant Assay sont décrits dans le Tableau 3.

**Remarque :** La plage de récupération indiquée ci-dessous varie en fonction de la valeur attribuée à chaque lot spécifique. Se reporter à la concentration assignée figurant sur la feuille de code-barres du témoin fournie avec chaque boîte de témoin.

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

Composant	Plage de récupération pour les séries d'analyses valides
Témoin négatif	S.O.
Témoin positif bas	+/- 0,6 Log <sub>10</sub> UI/mL
Témoin positif haut	+/- 0,5 Log <sub>10</sub> UI/mL

**Limites**

- A. L'utilisation de ce test est réservée au personnel ayant été formé sur la procédure. Le non-respect des instructions figurant dans cette notice peut donner lieu à des résultats erronés.
- B. La fiabilité des résultats dépend de la collecte, du transport, de la conservation et du traitement adéquats des spécimens.
- C. Bien que rares, des mutations au sein des régions hautement conservées du génome viral couvertes par les amorces et/ou les sondes du test Aptima CMV Quant Assay peuvent entraîner une sous-quantification ou une absence de détection du virus.
- D. La surveillance de la charge virale devra être effectuée en utilisant le même type d'échantillon lors de la surveillance de la réponse au traitement antiviral chez le même patient au fil du temps.

## Performances analytiques

### Limite de détection à l'aide de la 1<sup>ère</sup> norme internationale de l'OMS

Selon la norme CLSI EP17-A2, la limite de détection (LoD) est définie comme la concentration d'ADN du CMV dont la probabilité de détection est égale ou supérieure à 95 %.<sup>14</sup>

### Limite de détection en ayant recours au 1er standard international de l'OMS dans le plasma

La LoD a été déterminée par le test de panels de la 1<sup>ère</sup> norme internationale de l'OMS (NIBSC code 09/162)<sup>21</sup> pour détecter le CMV dilué dans du plasma humain négatifs pour le CMV. 60 répliquats de chaque dilution ont été analysés avec chacun des trois lots de réactifs pour un total de 180 répliquats par dilution. Une analyse Probit a été effectuée afin de générer les limites de détection prévues. Les valeurs de LoD indiquées au Tableau 4 sont les résultats obtenus avec le lot de réactifs doté de la limite de détection prévue la plus élevée. La LoD pour le test Aptima CMV Quant Assay avec la 1<sup>ère</sup> norme internationale de l'OMS est de 40,7 IU/mL pour le plasma.

Tableau 4 Limite de détection pour le plasma en ayant recours à la 1<sup>ère</sup> norme internationale de l'OMS pour détecter les infections à CMV

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

### Limite de détection en ayant recours au 1er standard international de l'OMS dans le sang total

La LoD a été déterminée par le test de panels de la 1<sup>ère</sup> norme internationale de l'OMS pour détecter les infections à CMV dilués dans du sang total négatifs pour le CMV. 60 répliquats de chaque dilution ont été analysés avec chacun des trois lots de réactifs pour un total de 180 répliquats par dilution. Une analyse Probit a été effectuée afin de générer les limites de détection prévues. Les valeurs de LoD indiquées au Tableau 5 sont les résultats obtenus avec le lot de réactifs doté de la limite de détection prévue la plus élevée. La LoD pour le test Aptima CMV Quant Assay en ayant recours à la 1<sup>ère</sup> norme internationale de l'OMS est de 131,0 IU/mL pour le sang total.

Tableau 5 Limite de détection pour le sang total en ayant recours à la 1ère norme internationale de l'OMS pour détecter les infections à CMV

Limite de détection prévue	Concentration (IU/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 génotypes du CMV et des mutants résistants aux médicaments

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

La LD a été vérifiée pour trois génotypes différents basés sur la séquence<sup>7</sup> de la glycoprotéine B (gB-2, gB-3, gB-4) et des mutants résistants aux médicaments en testant diverses concentrations de CMV autour de la LD établie pour le plasma en ayant recours au 1er standard international de l'OMS pour détecter les infections à CMV (génotype gB-1). Les tests ont été effectués avec 30 réplicats par échantillon du panel par lot de réactifs, en utilisant deux lots de réactif Aptima CMV Quant. La LD la plus élevée vérifiée pour les trois génotypes et les mutants résistants aux médicaments était de 40 IU/ml en utilisant les deux lots de réactifs.

**Remarque :** La performance du test Aptima CMV Quant Assay avec des échantillons de CMV comportant des mutations de résistance au médicament n'a été évaluée que dans des spécimens de plasma.

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

Génotypes/mutants	Concentration (IU/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 d'autres antiviraux pour le traitement de l'infection par le CMV, comme le ganciclovir (GCV), cidofovir (CDV) et 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 IU/mL.

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

La LD a été vérifiée pour trois génotypes différents de la glycoprotéine B (gB-2, gB-3, and gB-4) en testant diverses concentrations de CMV autour de la LD établie pour le sang total en ayant recours au 1er standard international de l'OMS pour le CMV (génotype gB-1). Les tests ont été effectués avec 30 réplicats par échantillon du panel par lot de réactifs, en utilisant deux lots de réactif Aptima CMV Quant. La LD la plus élevée vérifiée pour les trois génotypes était de 150 IU/ml en utilisant les deux lots de réactifs.

*Tableau 7 Limite de détection pour tous les génotypes du CMV dans du sang total*

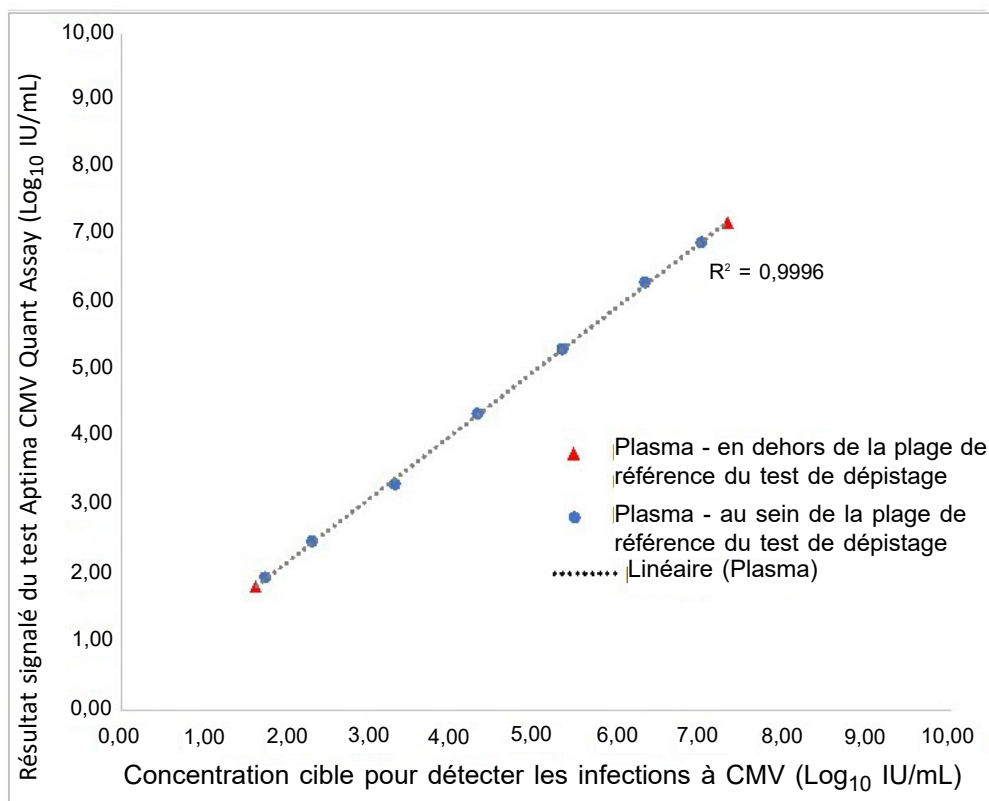
<b>Génotype</b>	<b>Concentration (IU/mL)</b>
gB-2	150
gB-3	150
gB-4	130

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

## Plage linéaire

### Plage linéaire dans le plasma

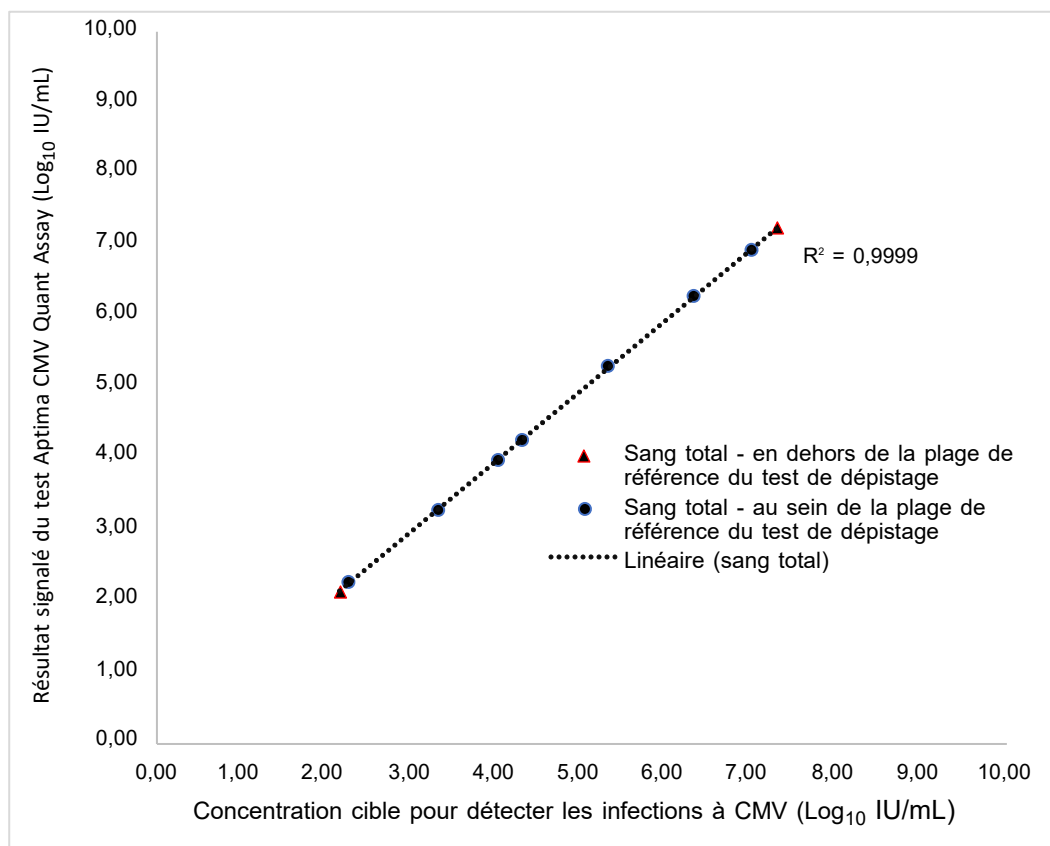
La plage linéaire a été établie en analysant des panels d'ADN du CMV dilué dans du plasma humain négatifs pour le CMV conformément à la norme CLSI EP06-A.<sup>15</sup> La concentration des panels allait de 1,62 log<sub>10</sub> IU/mL à 7,30 log<sub>10</sub> IU/mL. Le test Aptima CMV Quant Assay a démontré une linéarité sur l'ensemble de la plage testée. La limite supérieure de quantification (LSQ) du test de dépistage est de 7 Log<sub>10</sub> IU/mL, comme l'illustre 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 à la norme CLSI EP06-A.<sup>15</sup> La concentration des panels allait de 2,15 Log<sub>10</sub> IU/mL à 7,3 Log<sub>10</sub> IU/mL pour le sang total. Le test Aptima CMV Quant Assay a démontré une linéarité sur l'ensemble de la plage testée. La limite supérieure de quantification (LSQ) du test de dépistage est de 7 Log<sub>10</sub> IU/mL, comme l'illustre la Figure 8.

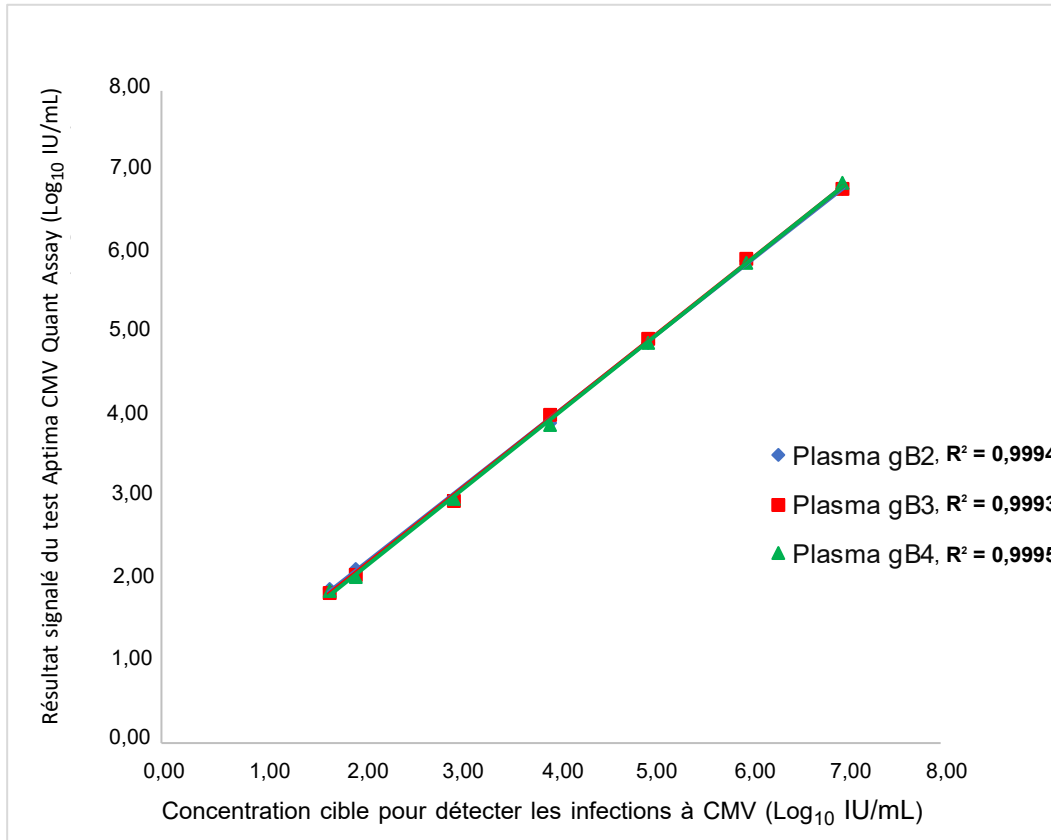


**Figure 8 Linéarité dans le sang total**

## Linéarité pour les différents génotypes du CMV

### Linéarité pour les différents génotypes du CMV dans du plasma

La linéarité des génotypes des glycoprotéines gB-2, gB-3 et gB-4 a été vérifiée en analysant des panels d'ADN du CMV dilué dans du plasma négatif à des concentrations allant de 1,72 Log<sub>10</sub> IU/mL à 7,00 Log<sub>10</sub> 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 entre les génotypes CMV gB-2, gB-3 et gB-4 dans du plasma



### Linéarité entre les génotypes CMV dans du sang total

La linéarité de la réponse pour les génotypes des glycoprotéines gB-2, gB-3 et gB-4 a été vérifiée en analysant des panels d'ADN du CMV dilué dans du sang total négatif à des concentrations allant de 2,25 Log<sub>10</sub> IU/mL à 7,00 Log<sub>10</sub> IU/mL. La linéarité a été démontrée sur l'ensemble de la plage pour tous les trois génotypes testés, comme l'illustre la Figure 10.

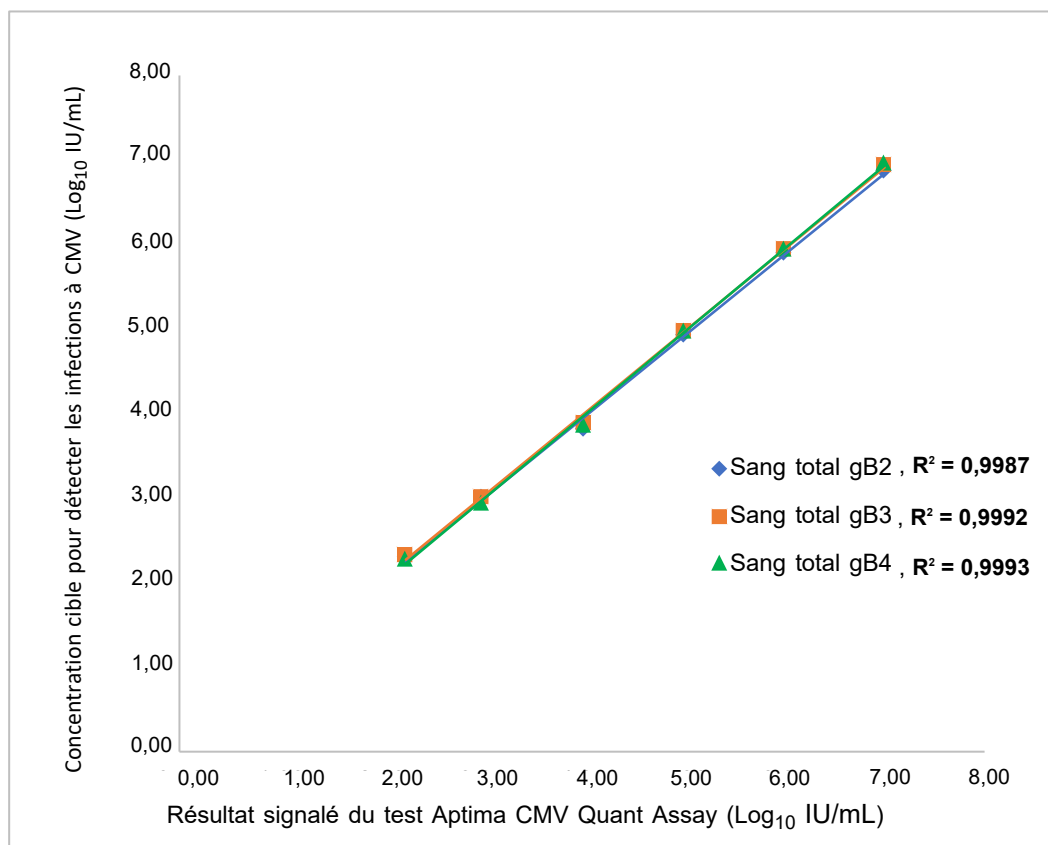


Figure 10 Linéarité entre les génotypes CMV gB-2, gB-3 et gB-4 dans du sang total

## Limite inférieure de quantification (LIQ) en ayant recours la 1<sup>ère</sup> norme internationale de l'OMS

Selon la norme CLSI EP17-A2, la limite inférieure de quantification (LIQ) est définie comme la concentration la plus faible à laquelle la quantification de l'ADN du CMV est fiable dans les limites d'une erreur totale.<sup>14</sup> L'erreur totale a été estimée à l'aide du modèle Westgard : Erreur totale (TE) = |bias| + 2SD. Afin de s'assurer de l'exactitude des mesures, l'erreur totale du test Aptima CMV Quant Assay était définie comme 1 Log<sub>10</sub> IU/mL (c.-à-d., au niveau de la LIQ, une différence de plus de 1 Log<sub>10</sub> IU/mL entre deux mesures est statistiquement significative).

### Limite inférieure de quantification avec le 1er standard international de l'OMS dans le plasma

La LIQ a été déterminée par le test de panels de la 1<sup>ère</sup> norme internationale de l'OMS (NIBSC code 09/162, génotype gB-1)<sup>21</sup> pour des panels d'ADN du CMV dilués dans du plasma humain négatifs pour le CMV. 60 réplicats de chaque dilution ont été analysés avec chacun des trois lots de réactifs pour un total de 180 réplicats par dilution. Les résultats de la LIQ pour les trois lots de réactifs sont indiqués dans le Tableau 8. Les résultats du lot de réactifs doté de la concentration la plus élevée conforme aux exigences de l'ET et la détection de ≥ 95 % sont résumés dans le Tableau 9. La LIQ générée avec la 1<sup>ère</sup> norme internationale de l'OMS pour le CMV dans le plasma est de 53 IU/mL.

Tableau 8 Détermination de la LIQ en ayant recours à la 1<sup>ère</sup> norme internationale de l'OMS pour détecter le CMV dilué dans du plasma

Lot de réactifs	N	N détecté	Concentration cible	Aptima CMV Quant	ET	Biais	Calculé ET
			(log <sub>10</sub> IU/mL)	(log <sub>10</sub> IU/mL)	(log <sub>10</sub> IU/mL)	(log <sub>10</sub> IU/mL)	(log <sub>10</sub> IU/mL)
1	60	56	1,48	1,64	0,36	0,16	0,87
	60	59	1,54	1,72	0,29	0,18	0,76
	60	59	1,60	1,74	0,28	0,14	0,70
	60	59	1,70	1,85	0,19	0,15	0,53
2	60	56	1,48	1,56	0,29	0,09	0,67
	60	58	1,54	1,61	0,27	0,07	0,60
	60	58	1,60	1,69	0,28	0,09	0,64
	60	60	1,70	1,83	0,24	0,14	0,62
3	60	56	1,48	1,67	0,26	0,19	0,71
	60	58	1,54	1,67	0,24	0,13	0,60
	60	60	1,60	1,78	0,19	0,18	0,55
	60	60	1,70	1,87	0,22	0,17	0,61

ET = écart-type

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

Tableau 9 Résumé de la LIQ pour le plasma en ayant recours à la 1<sup>ère</sup> norme internationale de l'OMS pour détecter les infections à CMV

Lot de réactifs	(IU/mL)	(log <sub>10</sub> IU/mL)
1	53	1,72
2	41	1,61
3	47	1,67

### Limite inférieure de quantification avec le 1<sup>er</sup> standard international de l'OMS dans le sang total

a été déterminée par le test de panels de la 1<sup>ère</sup> norme internationale de l'OMS pour détecter l'ADN du CMV dilué dans du sang total humain négatif pour le CMV. 60 réplicats de chaque dilution ont été analysés 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 du lot de réactifs doté de la concentration la plus élevée conforme aux exigences de l'ET et la détection de ≥ 95 % sont résumés dans le Tableau 11. La LIQ générée avec la 1<sup>ère</sup> norme internationale de l'OMS pour le CMV dans le sang total est de 176 IU/mL.

Tableau 10 Détermination de la LIQ en ayant recours à la 1<sup>ère</sup> norme internationale de l'OMS pour détecter le CMV dilué dans du sang total

Lot de réactifs	N	N détecté	Concentration cible	Aptima CMV Quant	ET	Biais	ET calculée
			(log <sub>10</sub> IU/mL)	(log <sub>10</sub> IU/mL)	(log <sub>10</sub> IU/mL)	(log <sub>10</sub> IU/mL)	(log <sub>10</sub> IU/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 ≤ 1) et une détection de ≥ 95 % pour les lots de réactifs 1, 2 et 3 sont ombrés.

Tableau 11 Résumé de la LIQ pour le sang total en ayant recours à la 1ère norme internationale de l’OMS pour détecter les infections à CMV

Lot de réactifs	(IU/mL)	(log <sub>10</sub> IU/mL)
1	138	2,14
2	106	2,02
3	176	2,25

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

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

La LIQ établie en ayant recours au 1er standard international de l’OMS a été vérifiée en analysant des dilutions de géotypes gB-2, gB-3 et gB-4 du CMV et des mutants résistants aux médicaments dans du plasma humain négatif au CMV. 60 réplicats de chaque échantillon du panel ont été testés avec un lot de réactifs. Les résultats sont indiqués dans le Tableau 12. La LIQ calculée pour les géotypes gB-2, gB-3 et gB-4 et les mutants résistants aux médicaments du lot de réactifs avec la concentration la plus élevée répondant aux exigences de l’ET et la détection de ≥ 95 % est résumée dans le Tableau 13. La LIQ globale pour le plasma dans ce test de dépistage est de 53 IU/mL.

**Remarque :** La performance du test Aptima CMV Quant Assay avec des échantillons de CMV comportant des mutations de résistance au médicament n’a été évaluée que dans des spécimens de plasma.

Tableau 12 Détermination de la LIQ des géotypes et des mutants résistants aux médicaments dans le plasma

Géotypes/ mutants	N	% détecté	Concentration	Aptima CMV	ET	Biais	ET calculée
			cible	Quant			
			(log <sub>10</sub> IU/mL)	(log <sub>10</sub> IU/mL)	(log <sub>10</sub> IU/mL)	(log <sub>10</sub> IU/mL)	(log <sub>10</sub> 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 de la LIQ des géotypes et des mutants résistants aux médicaments dans le plasma

Géotypes/ mutants	N	% détecté	Concentration	Aptima CMV	ET	Biais	ET calculée
			cible	Quant	(log <sub>10</sub> IU/mL)	(log <sub>10</sub> IU/mL)	(log <sub>10</sub> 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 (ET ≤ 1) et une détection de ≥ 95 % pour les lots de réactifs 1, 2 et 3 sont ombrés.

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

Géotypes/mutants	LIQ	
	(IU/mL)	(log <sub>10</sub> 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 d'autres antiviraux pour le traitement de l'infection par le CMV, comme le ganciclovir (GCV), cidofovir (CDV) et 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 des génotypes dans le sang total**

La LIQ établie à l'aide du 1er standard international de l'OMS a été vérifiée en analysant des dilutions de génotypes gB-2, gB-3 et gB-4 du CMV dans du sang total humain négatif au CMV. 60 réplicats de chaque échantillon du panel ont été testés avec un lot de réactifs. Les résultats sont indiqués dans le Tableau 14. La LIQ pour les génotypes gB-2, gB-3 et gB-4 du lot de réactifs avec la concentration la plus élevée répondant aux exigences de l'ET et la détection de  $\geq 95\%$  est résumée dans le Tableau 15. La LIQ globale pour le sang total dans ce test de dépistage est de 176 IU/mL.

Tableau 14 Détermination de la LIQ pour les différents génotypes dans du sang total

Génotype	N	N détecté	Concentration cible	Aptima CMV Quant	ET	Biais	ET calculée
			(log <sub>10</sub> IU/mL)	(log <sub>10</sub> IU/mL)	(log <sub>10</sub> IU/mL)	(log <sub>10</sub> IU/mL)	(log <sub>10</sub> IU/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 LIQ pour les différents génotypes dans du sang total

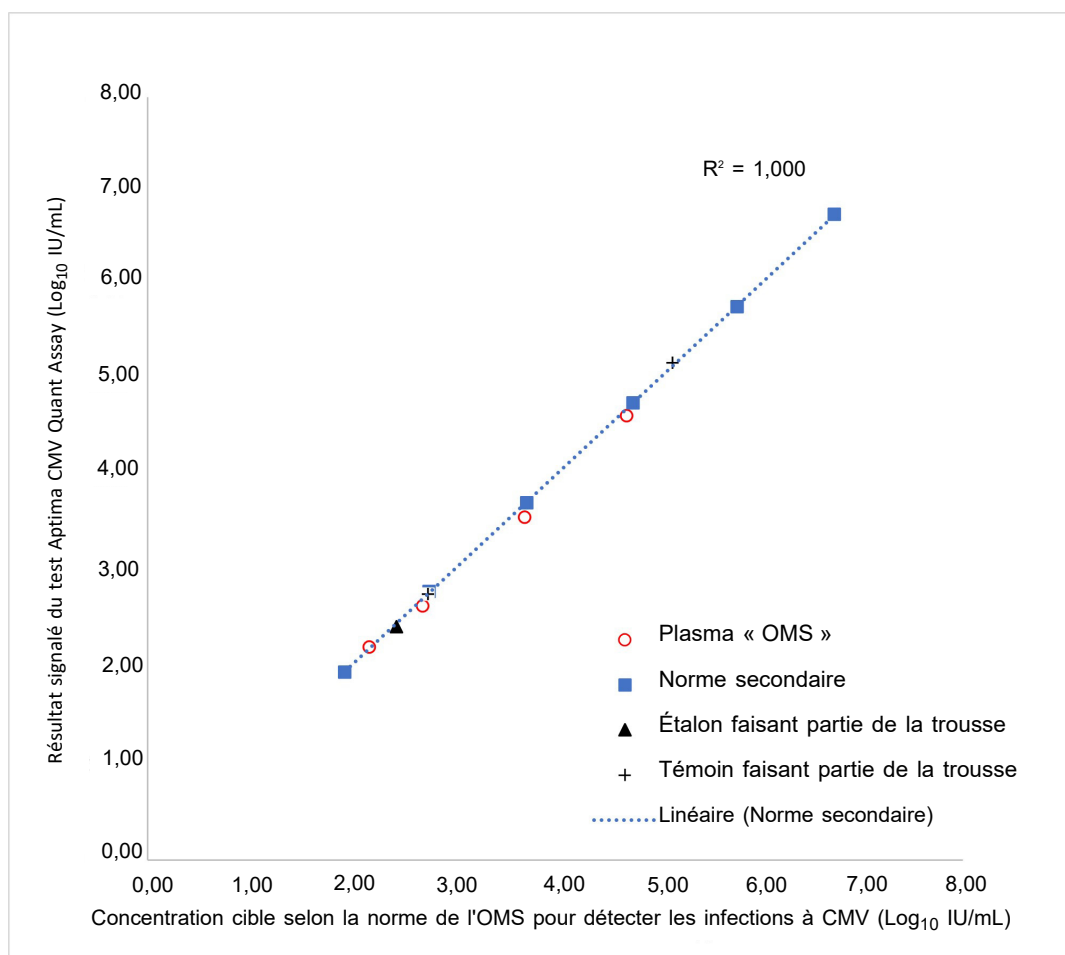
Génotype	LIQ	
	(IU/mL)	(log <sub>10</sub> IU/mL)
gB-2	129	2,11
gB-3	104	2,02
gB-4	93	1,97

## Traçabilité selon la 1ère norme internationale de l'OMS

Une série de standards secondaires avec des concentrations connues ont été utilisés tout au long du développement et de la fabrication du produit pour établir la traçabilité par rapport au 1er standard international de l'OMS. Le 1er standard international de l'OMS pour le CMV a été dilué et testé avec les standards secondaires, ainsi qu'avec les témoins et les étalons du test utilisés pour le test Aptima CMV Quant Assay pour évaluer la traçabilité conformément à la norme CLSI EP32-R.<sup>16</sup> Les concentrations des standards secondaires variaient de 1,80 à 6,60 log<sub>10</sub> IU/ml.

### Traçabilité par rapport au 1er standard international de l'OMS utilisant du plasma

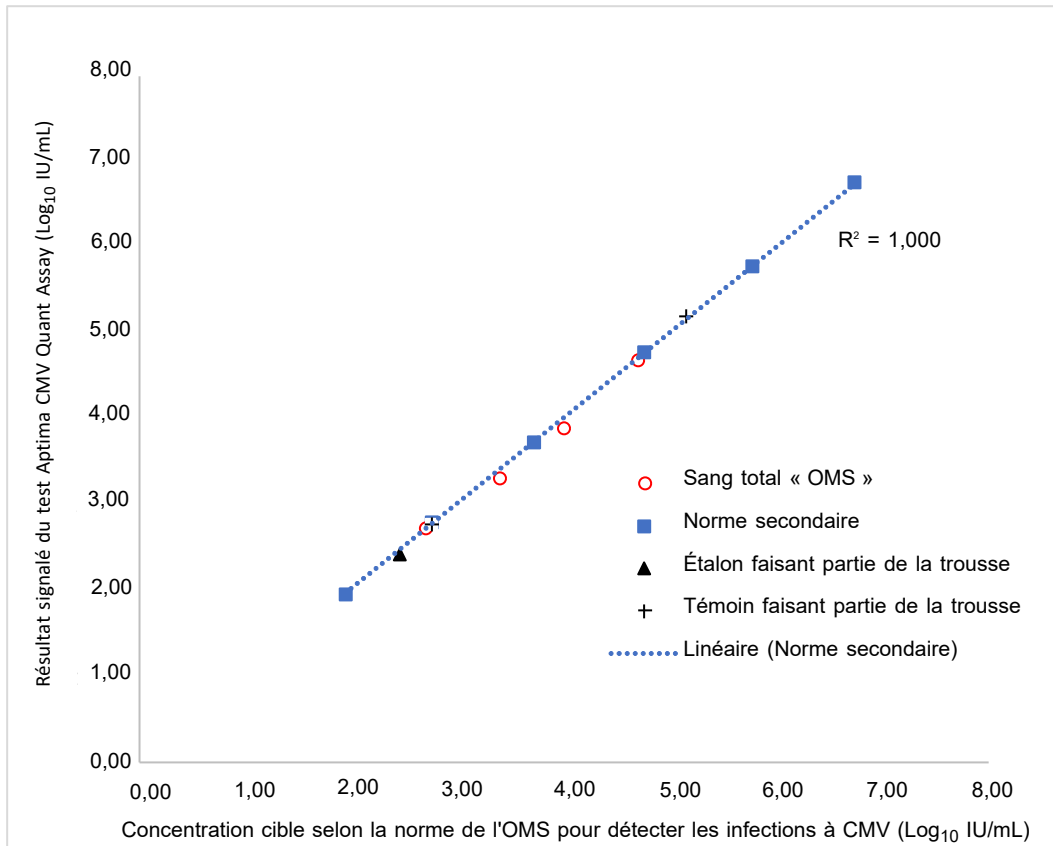
Les concentrations testées pour le 1er standard international de l'OMS pour le CMV se situaient entre 2,18 et 4,70 log<sub>10</sub> IU/ml. Les panels de plasma OMS, les standards secondaires, les témoins du test de dépistage et les étalons du test de dépistage ont récupéré comme prévu sur l'ensemble de la plage linéaire du test de dépistage, comme on peut le voir dans la Figure 11.



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

### Traçabilité par rapport au 1er standard international de l'OMS utilisant du sang total

Les concentrations testées pour le 1er standard international de l'OMS pour le CMV dans du sang total se situaient entre 2,70 et 4,70 log<sub>10</sub> IU/ml. Les panels de sang total avec les 1er standards internationaux de l'OMS, les standards secondaires, les témoins du test de dépistage et les étalons du test de dépistage ont récupéré comme prévu sur l'ensemble de la plage linéaire du test de dépistage, comme on peut le voir dans la Figure 12.



**Figure 12 Traçabilité entre les concentrations cibles du 1er standard international de l'OMS pour le CMV et les concentrations rapportées dans le test Aptima CMV Quant Assay (standard OMS dilué dans du sang total)**



## Précision

### Plasma

Pour évaluer la précision, un panel de 6 échantillons a été réalisé en diluant des échantillons cliniques positifs pour le CMV ou en cultivant du CMV 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 Systems sur une période de 20 jours ou plus. Chaque opérateur a réalisé deux analyses 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.<sup>17</sup>

Le Tableau 16 indique la précision des résultats du test de dépistage (en log<sub>10</sub> IU/mL) entre les appareils, entre les opérateurs, les lots de réactifs, les séries, les jours, au sein des séries et en général. La variabilité totale était principalement due à la variabilité intra-série (c.-à-d., erreur aléatoire).

Tableau 16 Précision du test Aptima CMV Quant Assay dans du plasma

N	Concentration moyenne (log <sub>10</sub> IU/mL)	Inter-Lot ET	D'un appareil à l'autre ET	D'un opérateur à l'autre ET	Inter-Day (Jour) ET	Inter-Run. (Série.) ET	Intra-Run. (Série.) 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 découlant de certains facteurs peut être numériquement négative, phénomène pouvant survenir si la variabilité due à ces facteurs est très faible. Lorsque cela se produit, l'ET est indiqués par un « 0 ».

### Sang complet

Pour évaluer la précision, un panel de 6 échantillons a été réalisé en diluant des échantillons cliniques positifs pour le CMV ou en cultivant du CMV enrichi dans du sang complet négatif pour le CMV. Le panel a été analysé par trois opérateurs à l'aide de trois lots de réactifs sur trois Panther Systems sur une période de 20 jours ou plus. Chaque opérateur a effectué deux analyses par jour et chaque échantillon du panel a été testé en double dans chaque série

Le Tableau 17 indique la précision des résultats du test de dépistage (en log<sub>10</sub> IU/mL) entre les appareils, entre les opérateurs, les lots, les séries, les jours, au sein des séries et en général. La variabilité totale était principalement due à la variabilité intra-série (c.-à-d., erreur aléatoire).

Tableau 17 Précision du test Aptima CMV Quant Assay dans du sang total

N	Concentration moyenne (log <sub>10</sub> IU/mL)	Inter-Lot ET	D'un appareil à l'autre ET	D'un opérateur à l'autre ET	Inter-Day (Jour) ET	Inter-Run. (Série.) ET	Intra-Run. (Série.) 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 découlant de certains facteurs peut être numériquement négative, phénomène pouvant survenir si la variabilité due à ces facteurs est très faible. Lorsque cela se produit, l'ET est indiqués par un « 0 ».

## Substances potentiellement interférentes

La susceptibilité du test Aptima CMV Quant Assay aux interférences générées par des taux élevés de substances endogènes, d'anticoagulants et de médicaments couramment prescrits chez les patients ayant subi une transplantation d'organe a été évaluée. Les concentrations d'essai pour chacune des substances interférentes ont été sélectionnées en fonction des références et des directives de la littérature disponibles fournies par les CLSI EP07<sup>18</sup> et EP37<sup>19</sup>. Des échantillons de plasma négatifs pour le CMV et des échantillons auxquels a été ajouté une concentration de 2,22 log<sub>10</sub> IU/mL et de 3,30 log<sub>10</sub> IU/mL ont été analysés. Des échantillons de sang total négatifs pour le CMV et des échantillons auxquels a été ajouté du CMV à une concentration de 2,72 et de 4,00 log<sub>10</sub> IU/mL ont été analysés pour chercher le taux d'hémoglobine.

Aucune altération de la 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 interférence dans les échantillons de sang total dans la performance du test de dépistage n'a été observée en présence de 100 mg/ml d'hémoglobine enrichie dans des échantillons de sang total.

Des échantillons cliniques de plasma prélevés chez des patients présentant des taux élevés des substances spécifiques ou chez des patients souffrant des maladies citées au Tableau 18 ont été analysés avec le test Aptima CMV Quant Assay. Aucune altération de la 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 systémique (LES)	10
3	Polyarthrite rhumatoïde (PR)	10

Aucune altération de la performance du test n'a été observée en présence des substances exogènes présentées au Tableau 19 à des concentrations d'au moins trois fois la  $C_{\max}$  de médicaments dans du plasma humain.

Tableau 19 Substances exogènes

Groupe de substances exogènes	Substances exogènes testées
1	Cefotétan, clavulanate de potassium, Ticarcillin disodium, vancomycine
2	Pipéracilline
3	Sulfaméthoxazole
4	Tazobactam sodium, 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 en testant 780 spécimens cliniques congelés négatifs pour le CMV. La spécificité a été calculée comme étant le pourcentage d'échantillons négatifs pour le CMV avec des résultats de « 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, TI à 95 % : 98,6 -100 %) pour le plasma et 100 % (390/390, TI à 95 % : 99,3 - 100 %). La spécificité combinée du test Aptima CMV Quant Assay pour le plasma et le sang total était de 99,9 % (779/780, TI à 95 % : 99,3 - 100 %).

Tableau 20 Spécificité dans les échantillons de sang total

	Plasma	Sang complet	Plasma et sang total
Réplicats valides (n)	390	390	780
Non détecté	389	390	779
<b>Spécificité</b>	99,7 %	100 %	99,9 %
<b>(TI à 95 %)</b>	(98,6-100)	(99,3-100)	(99,3-100)

TI = intervalle de confiance

## Spécificité analytique

La réactivité croisée potentielle avec les agents pathogènes énumérés au Tableau 21 a été évaluée en la présence ou l'absence de 2,2 log<sub>10</sub> IU/mL et de 3,3 log<sub>10</sub> IU/mL de CMV dans du plasma humain négatif pour le CMV. Trois parasites du sang trouvés dans des échantillons de sang total ont également été évalués dans le sang total négatif au CMV en présence ou en l'absence de 2,7 log<sub>10</sub> IU/mL et de 4,0 log<sub>10</sub> 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

Microorganisme/Agent pathogène	Concentration		Microorganisme/Agent pathogène	Concentration	
Adénovirus type 4	1 886	TCID50/mL <sup>a</sup>	<i>Mycobacterium intracellulare</i>	1 000 000	CFU/mL
BK Polyomavirus	1 000 000	cp/mL <sup>b</sup>	<i>Mycoplasma genitalium</i>	1 000 000	CFU/mL
Virus Epstein-Barr	1 000 000	cp/mL	<i>Mycoplasma pneumoniae</i>	1 000 000	CFU/mL
Virus de l'hépatite B	1 000 000	IU/mL <sup>c</sup>	<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	1 000 000	CFU/mL
Virus de l'hépatite C	1 000 000	cp/mL	<i>Propionibacterium acnes</i>	1 000 000	CFU/mL
Virus herpès simplex de type 1	1 428 571	DICT50/mL	<i>Salmonella enterica</i> sérovar Typhimurium	1 000 000	CFU/mL
Virus herpès simplex de type 2	147 143	DICT50/mL	<i>Staphylococcus aureus</i>	1 000 000	CFU/mL
VIH-1 sous-type B	1 000 000	cp/mL	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	1 000 000	CFU/mL
Virus de l'herpès humain de type 6A	1 000 000	cp/mL	<i>Streptococcus agalactiae</i>	1 000 000	CFU/mL
Virus de l'herpès humain 7	1 428 571	DICT50/mL	<i>Streptococcus pneumoniae</i>	1 000 000	CFU/mL
Virus de l'herpès humain 8	1 000 000	cp/mL	<i>Streptococcus pyogenes</i>	1 000 000	CFU/mL
Métapneumovirus humain	192 857	DICT50/mL	<i>Aspergillus niger</i>	485 000	CFU/mL
Human Papillomavirus Type 18 (Virus du papillome humain de type 18)	1 000 000	cp/mL	<i>Candida albicans</i>	1 000 000	CFU/mL
Virus de la grippe humaine	944	DICT50/mL	<i>Cryptococcus neoformans</i>	1 000 000	CFU/mL
Virus de la grippe	3 857	DICT50/mL	<i>Trichomonas vaginalis</i>	1 000 000	Cellules/mL
Rhinovirus	7 257	DICT50/mL	<i>Leishmania Major*</i>	1 000 000	Cellules/mL
Virus de la varicelle et du zona	1 000 000	cp/mL	<i>Babesia microti*</i>	1 000 000	Cellules/mL
Virus Zika	29 286	DICT50/mL	<i>Plasmodium falciparum*</i>	1 000 000	Cellules/mL
<i>Chlamydia trachomatis</i>	1 000 000	CFU/mL <sup>d</sup>			
<i>Clostridium perfringens</i>	1 000 000	CFU/mL			
<i>Corynebacterium diphtheriae</i>	1 000 000	CFU/mL			
<i>Enterococcus faecalis</i>	1 000 000	CFU/mL			
<i>Escherichia coli</i>	1 000 000	CFU/mL			
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	1 000 000	CFU/mL			
<i>Listeria monocytogenes</i>	1 000 000	CFU/mL			

<sup>a</sup>TCID50/mL = Unités de dose infectieuse de culture tissulaire par mL

<sup>b</sup>cp/mL = Copies virales par mL

<sup>c</sup>IU/mL = Unités internationales par mL

<sup>d</sup>CFU/mL = Unités formant colonie par mL

\* Testé avec le type d'échantillon de sang total

### Dilution d'échantillons de plasma à l'aide du témoin négatif Aptima CMV (1:3)

Pour évaluer la précision de la quantification de l'ADN du CMV dans les échantillons de plasma dilués avec le témoin négatif Aptima CMV, les échantillons dont les concentrations étaient réparties dans la plage linéaire ont été dilués au 1:3 avec le témoin négatif Aptima CMV (240 µl d'échantillon combinés à 480 µL de témoin négatif Aptima CMV). Les échantillons non dilués et dilués ont été testés en triplicat. Les analyses ont été effectuées en utilisant un seul lot de réactifs sur un système Panther avec deux lots de témoins négatifs Aptima CMV. La différence entre les résultats des tests non dilués et dilués a été calculée pour chaque série d'échantillons comme indiqué dans le Tableau 22. Les concentrations des échantillons ont été récupérées avec précision dans les échantillons dilués après incorporation du facteur de dilution.

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

Concentration moyenne rapportée d'échantillons de plasma non dilués (log <sub>10</sub> IU/ml) n=3	Concentration moyenne rapportée d'échantillons de plasma dilués (log <sub>10</sub> IU/ml) n=6	Différence (log <sub>10</sub> IU/ml)
2,30	2,42 <sup>a</sup>	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 <sup>b</sup>	6,95	0,05
>LSQ <sup>c</sup>	7,41 <sup>d</sup>	S.O.

<sup>a</sup>Résultat de deux répliqués. Quatre résultats ont été « détectés », mais non quantifiés.

<sup>b</sup>Résultat de deux répliqués. Un résultat a été « détecté », mais n'a pas été quantifié parce qu'il était >LSQ.

<sup>c</sup>Trois résultats ont été « détectés », mais n'ont pas été quantifiés parce qu'ils étaient >LSQ.

<sup>d</sup>Résultat de quatre répliqués. Deux résultats ont été « détectés », mais n'ont pas été quantifiés parce qu'ils étaient >LSQ.

### Confirmation de la LD et de la LIQ à l'aide du 1er standard international de l'OMS pour le CMV dilué dans le témoin négatif Aptima CMV

La LD et la LIQ du test Aptima CMV Quant Assay ont été confirmées avec le 1er standard international de l'OMS pour le CMV (code NIBSC 09/162) dans le plasma, dilué au 1:3 en utilisant le témoin négatif Aptima CMV. Les échantillons ont été préparés dans du plasma humain CMV négatif avec des concentrations de CMV de 90, 105, 120, 135, 150 et 165 UI/ml. Chaque panel a été dilué au 1:3 dans le témoin négatif Aptima CMV 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 analysés avec un seul lot de réactifs sur trois jours. L'erreur totale a été estimée à l'aide du modèle Westgard : Erreur totale (TE) = |bias| + 2SD. Tous les échantillons avec une concentration  $\geq 45$  UI/ml ont eu une détection  $\geq 95$  % et une erreur totale (TE) de  $\leq 1 \log_{10}$  UI/ml comme indiqué dans le Tableau 23. Cela confirme la LIQ du CMV avec des échantillons dilués avec le témoin négatif.

Tableau 23 LD et LIQ des échantillons de plasma dilués au 1:3 en utilisant le témoin négatif

N	% détecté	Concentration cible après dilution au 1:3	Concentration cible après dilution au 1:3	Test Aptima CMV Quant pour un échantillon dilué	ET	Biais	TE calculée
		(UI/ml)	( $\log_{10}$ IU/ml)	( $\log_{10}$ IU/ml)			
60	98,3 %	45	1,65	1,73	0,22	0,08	0,53

### Contamination par transfert

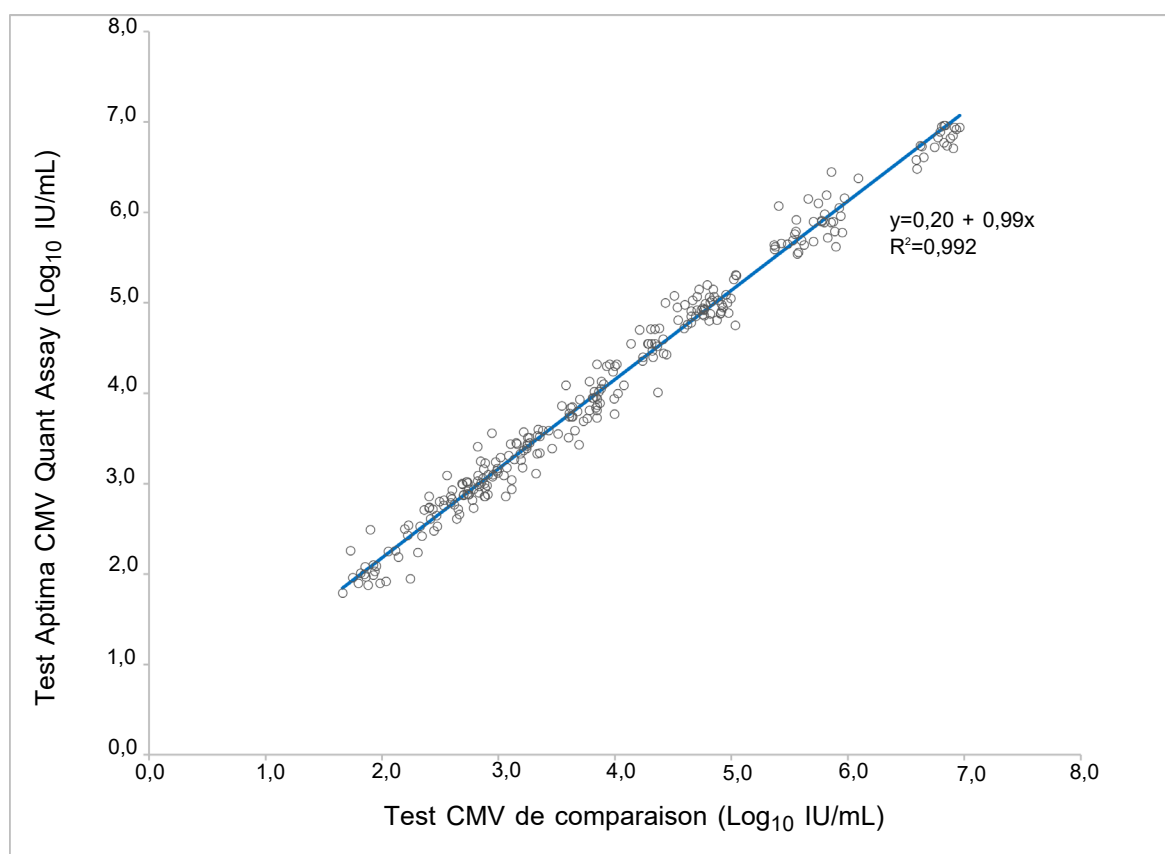
La contamination par transfert a été évaluée pour le Panther System en utilisant le plasma comme type d'échantillon en ayant recours à d'autres tests de dépistage de la charge virale (Aptima HIV-1 Quant Dx Assay, Aptima HCV Quant Assay, Aptima HBV Quant Assay). Aucune contamination par transfert n'a été observée dans les tests précédents. Pour établir que le Panther System minimise le risque de résultats faussement positifs par contamination de transfert dans le type d'échantillon de sang total, une étude a été menée sur trois Panther Systems avec des échantillons enrichis. La contamination par transfert a été évaluée à l'aide d'échantillons de sang total à titre élevé enrichis en ADN du CMV ( $6 \log_{10}$  IU/mL) répartis entre des échantillons négatifs pour le CMV selon un motif en damier. Les tests ont comporté un ensemble de douze séries. Le taux de contamination de transfert global était de 0,24% (1/423).

## Corrélation de la méthode

Cette étude a été conçue conformément à la norme CLSI EP09c.<sup>19</sup>

### Corrélation de la méthode du plasma

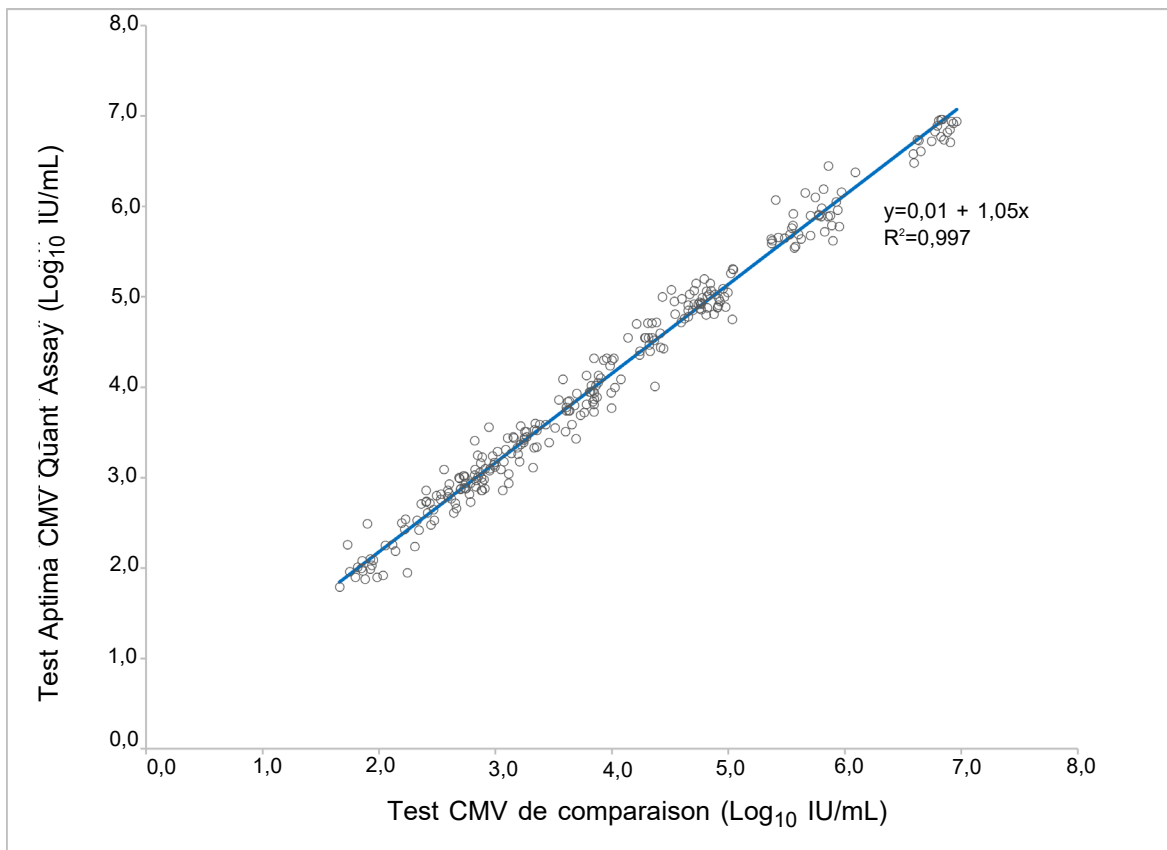
Les performances du test Aptima CMV Quant ont été évaluées par rapport à un test CMV de comparaison en analysant des échantillons cliniques non dilués issus de patients positifs au CMV, ainsi que des spécimens artificiels préparés à partir de diverses souches du virus en culture et appartenant aux quatre génotypes, puis ajoutés à des échantillons de plasma sur EDTA issus de donneurs individuels négatifs au CMV. Un total de 160 spécimens cliniques et 115 spécimens artificiels dans la gamme linéaire commune aux deux tests ont été utilisés pour la régression linéaire, comme l'illustre la Figure 13.



**Figure 13** Corrélation entre la charge virale du CMV dans le test Aptima CMV Quant Assay et le test CMV de comparaison lors des tests sur des échantillons de plasma

### Corrélation de la méthode du sang total

La performance du test Aptima CMV Quant Assay a été évaluée par rapport au test CMV de comparaison en analysant des échantillons cliniques non dilués issus de patients positifs au CMV, ainsi que des spécimens artificiels préparés à partir de cultures virales, puis ajoutés à des échantillons de sang total sur EDTA issus de donneurs individuels négatifs au CMV. Un total de 159 spécimens cliniques et 83 spécimens artificiels dans la gamme linéaire commune aux deux tests ont été utilisés pour la régression linéaire, comme l'illustre la Figure 14.



**Figure 14** Corrélation entre la charge virale du CMV dans le test Aptima CMV Quant Assay et le test CMV de comparaison lors des tests sur des échantillons de sang total



## Reproductibilité

### Reproductibilité dans les échantillons de plasma

La reproductibilité du test Aptima CMV Quant Assay dans le plasma a été évaluée sur trois sites externes. Deux opérateurs ont réalisé des tests sur chaque site. Chaque opérateur a effectué une série par jour sur 5 jours, en utilisant un lot de réactifs au cours des tests. Chaque série comportait trois réplicats de chaque échantillon du panel.

La reproductibilité a été testée à l'aide d'échantillons du panel préparés en diluant des spécimens cliniques positifs pour le CMV ou en cultivant du CMV dans du plasma négatif pour le CMV recueilli sur EDTA. Les concentrations d'ADN du CMV couvraient la plage linéaire du test de dépistage.

Le Tableau 24 indique la reproductibilité et la précision des résultats du test de dépistage pour chaque échantillon positif du panel entre les sites, entre les opérateurs, entre les jours, entre les séries, au sein des séries et en général. Le coefficient de variation a été calculé en ayant recours à l'équation suivante, où  $\sigma^2$  est la variation 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 niveaux d'ADN du CMV du test Aptima CMV Quant Assay sur le Panther System dans les échantillons positifs du panel dans le plasma

N	Moyenne observée		Contribution à la variation totale ET (%CV <sup>2</sup> )					Variation totale ET (%CV)
	IU/mL	Log <sub>10</sub> IU/mL	Entre sites	Entre utilisateurs	Entre Jours	Entre les séries	Dans une 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)

%CV = log-normal coefficient de variation, ET=écart-type (log<sub>10</sub> IU/mL)

**Remarque** : en raison de certains facteurs, la variabilité peut être négative numériquement. Cela peut survenir si la variabilité, en raison de ces facteurs, est très petite. Dans ces cas, l'ET et le % CV sont indiqués par 0.

### Reproductibilité dans les échantillons de sang total

La reproductibilité du test Aptima CMV Quant Assay dans le sang total a été évaluée sur trois sites externes. Deux opérateurs ont réalisé des tests sur chaque site. Chaque opérateur a effectué une série par jour sur 5 jours, en utilisant un lot de réactifs au cours des tests. Chaque série comportait trois réplicats de chaque échantillon du panel.

La reproductibilité a été testée à l'aide d'échantillons du panel préparés en diluant des spécimens cliniques positifs pour le CMV ou en cultivant du CMV dans du sang total négatif pour le CMV recueilli sur EDTA. Les concentrations d'ADN du CMV couvraient la plage linéaire du test de dépistage.

Le Tableau 25 indique la reproductibilité et la précision des résultats du test de dépistage pour chaque échantillon positif du panel entre les sites, entre les opérateurs, entre les jours, entre les séries, au sein des séries et en général à l'exclusion d'une valeur aberrante observée (0,2 %, 1/533). Le coefficient de variation a été calculé en ayant recours à l'équation suivante, où  $\sigma^2$  est la variation 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 positifs CMV et négatifs au CMV, les valeurs concordantes étaient de 100 %.

Tableau 25 Reproductibilité des niveaux d'ADN du CMV du test Aptima CMV Quant Assay sur le Panther System dans les échantillons positifs du panel dans le sang total

N	Moyenne observée		Contribution à la variation totale ET (% CV <sup>2</sup> )					Variation totale ET (% CV)
	IU/mL	Log <sub>10</sub> IU/mL	Entre sites	Entre utilisateurs	Entre Jours	Entre les séries	Dans une 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) <sup>a</sup>
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)

%CV = log-normal coefficient de variation, ET = écart-type (log<sub>10</sub> IU/mL)

**Remarque :** en raison de certains facteurs, la variabilité peut être négative numériquement. Cela peut survenir si la variabilité, en raison de ces facteurs, est très petite. Dans ces cas, l'ET et le % CV sont indiqués par 0.

<sup>a</sup> Variance totale excluant la valeur aberrante qui pourrait être le résultat d'un problème survenu lors de préparation de l'échantillon.

## **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; current version.
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 EP05-03. 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, 3<sup>rd</sup> 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, 1<sup>st</sup> 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, 3<sup>rd</sup> 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**

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



Pour obtenir l'adresse de courriel et le numéro de téléphone du Service technique et du Service à la clientèle spécifiques à chaque pays, visitez le site [www.hologic.com/support](http://www.hologic.com/support).

Hologic, Aptima, Panther et Panther Fusion sont des marques de commerce et/ou déposées de Hologic, Inc. et/ou ses filiales aux États-Unis et/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](http://www.hologic.com/patents).

© 2022-2024 Hologic, Inc. Tous droits réservés.

AW-26381-2201 Rév. 002

2024-11