

**REF** 201500 NeuMoDx™ EBV Quant Test Strip**R only**

ATTENTION : pour exportation aux États-Unis uniquement

**IVD** Pour diagnostic *in vitro*, utiliser les NeuMoDx 288 et NeuMoDx 96 Molecular SystemsPour les mises à jour des encarts, accéder à : [www.qiagen.com/neumodx-ifu](http://www.qiagen.com/neumodx-ifu)

Pour des instructions détaillées, se reporter au Manuel d'utilisation du NeuMoDx 288 Molecular System ; réf. 40600108

Pour des instructions détaillées, se reporter au Manuel d'utilisation du NeuMoDx 96 Molecular System ; réf. 40600317

### UTILISATION PRÉVUE

Le NeuMoDx EBV Quant Assay est un test automatisé d'amplification d'acide nucléique *in vitro* destiné à la quantification de l'ADN du virus d'Epstein-Barr (EBV) humain dans le plasma. Le NeuMoDx EBV Quant Assay, qui s'effectue sur le NeuMoDx 288 Molecular System et le NeuMoDx 96 Molecular System (NeuMoDx System[s]), comprend une extraction d'ADN automatisée pour isoler l'acide nucléique cible du plasma et une réaction en chaîne par polymérase (Polymerase Chain Reaction, PCR) en temps réel ciblant deux régions hautement conservées du génome du virus d'Epstein-Barr.

Le NeuMoDx EBV Quant Assay est conçu pour la détection et la quantification *in vitro* de l'ADN du virus d'Epstein-Barr dans les échantillons frais et congelés de plasma humain à l'aide des NeuMoDx 288 et NeuMoDx 96 Molecular Systems. Le NeuMoDx EBV Assay est conçu pour une utilisation dans le diagnostic et la surveillance des infections à EBV. Ce dosage peut être utilisé pour mesurer les concentrations en ADN d'EBV afin d'évaluer la réponse au traitement antiviral. Ce dosage doit être utilisé en lien avec le tableau clinique et d'autres marqueurs de progression de la maladie pour la prise en charge et la surveillance cliniques de l'infection à EBV. Il ne peut pas être utilisé comme dosage de dépistage pour la présence d'EBV dans le sang ou les produits sanguins.

### RÉSUMÉ ET EXPLICATIONS

Le sang total humain prélevé dans des tubes à échantillon sanguin stériles contenant de l'EDTA comme agent anticoagulant peut être utilisé pour la préparation du plasma. Pour lancer le test, le plasma contenu dans un tube à échantillon compatible avec le NeuMoDx System est placé dans un porte-tubes à échantillon et chargé sur la table de travail du NeuMoDx System. Pour chaque échantillon, une aliquote de 250 µl de l'échantillon de plasma est mélangée avec le NeuMoDx Lysis Buffer 5 et le NeuMoDx System effectue automatiquement toutes les étapes nécessaires pour extraire l'acide nucléique cible, préparer l'ADN isolé pour l'amplification par PCR en temps réel et, s'il y en a, amplifier et détecter les produits de l'amplification (deux zones très bien préservées du génome du EBV). Le NeuMoDx EBV Quant Assay comprend un contrôle des processus de traitement d'échantillons (Sample Process Control, SPC1) d'ADN qui permet de contrôler la présence de substances potentiellement inhibitrices ainsi que les défaillances du NeuMoDx System ou des réactifs pouvant survenir durant le processus d'extraction et d'amplification.

L'EBV est un virus à ADN double brin courant de la famille des herpèsvirus humains qui infecte les individus de tous âges. On estime que plus de > 90 % des individus à travers le monde sont ou ont été infectés par l'EBV.<sup>1</sup> L'EBV se transmet par les liquides organiques, tels que la salive, le sang, le sperme, et par les greffes d'organes. Bon nombre de personnes sont infectées par l'EBV au cours de l'enfance. Ces personnes, bien qu'infectées par l'EBV, ne présentent en général aucun symptôme. Les personnes immunodéprimées peuvent développer des symptômes et des complications plus graves après une infection à EBV. Une infection à EBV latente constitue un risque majeur chez les patients ayant subi une greffe. Le syndrome lymphoprolifératif post-transplantation (SLPT) comprend la formation de tumeurs liées à EBV dans les lymphocytes B due à l'effet des immunosuppresseurs sur le contrôle immunitaire de l'EBV, l'une des principales causes de morbidité et mortalité chez les patients ayant subi une greffe d'organe.<sup>2</sup>

La surveillance de la charge virale EBV facilite le diagnostic et la prise en charge du SLPT lié à EBV. Pour autant, la détection de l'acide nucléique de l'EBV dans le sang ne suffit pas pour diagnostiquer un SLPT lié à EBV. Le test d'acide nucléique (Nucleic Acid Testing, NAT) ne doit être utilisé qu'avec un tableau clinique et d'autres marqueurs de progression de la maladie pour la prise en charge clinique et la surveillance des patients infectés par l'EBV. Les signes actuelles pour la prise en charge et le traitement des infections à EBV chez les patients immunodéprimés n'indiquent pas clairement *quand* démarrer le traitement antiviral, mais elles exigent toujours la surveillance constante de la charge virale une fois le traitement antiviral commencé afin d'atténuer les graves effets secondaires des médicaments chez ces patients.<sup>3,4</sup>

### PRINCIPES DE LA PROCÉDURE

Le NeuMoDx EBV Quant Assay sur le NeuMoDx System fait appel à la NeuMoDx EBV Quant Test Strip, aux NeuMoDx EBV Calibrators, aux NeuMoDx EBV External Controls, au NeuMoDx Lysis Buffer 5 et aux réactifs génériques de NeuMoDx pour réaliser l'analyse. Le NeuMoDx EBV Quant Assay combine l'extraction, l'amplification et la détection automatisées de l'ADN par PCR en temps réel. Les échantillons de sang total sont prélevés dans des tubes contenant de l'EDTA pour la préparation du plasma. L'échantillon de plasma contenu dans un tube à échantillon compatible avec le NeuMoDx System est placé dans un porte-tubes à échantillon qui est chargé sur la table de travail du NeuMoDx System pour le traitement. Aucune autre intervention de l'opérateur n'est nécessaire.

Les NeuMoDx Systems font appel à une association entre chaleur, enzyme lytique et réactifs d'extraction pour effectuer automatiquement la lyse cellulaire, l'extraction de l'ADN et l'élimination des inhibiteurs. Les acides nucléiques libérés sont capturés par des particules paramagnétiques. Les particules, ainsi que les acides nucléiques qui sont fixés dessus, sont chargées dans la NeuMoDx Cartridge où les composants non fixés et dépourvus d'ADN sont éliminés à l'aide du NeuMoDx Wash Reagent, tandis que l'ADN fixé est élué à l'aide du NeuMoDx Release Reagent. Les NeuMoDx Systems utilisent alors l'ADN élué pour réhydrater les réactifs d'amplification exclusifs NeuDry™ contenant tous les éléments nécessaires à l'amplification par PCR des cibles spécifiques à l'EBV et au SPC1. Après reconstitution des réactifs de PCR NeuDry, le NeuMoDx System transfère le mélange prêt pour la PCR dans la NeuMoDx Cartridge. L'amplification et la détection des séquences d'ADN du contrôle et de la cible (le cas échéant)

se produisent dans la chambre de PCR de la NeuMoDx Cartridge. La NeuMoDx Cartridge est conçue pour retenir l'amplicon suite à la PCR en temps réel, éliminant par là-même tout risque de contamination post-amplification.

Le NeuMoDx EBV Quant Assay cible deux régions hautement conservées, BALF5 et BXFL1, du génome de l'EBV. La conception double de la cible réduit le risque de faux négatifs en cas de mutation, cela renforce la fiabilité du dosage. Les cibles amplifiées sont détectées en temps réel grâce à des substances chimiques (sondes) impliquant une réaction d'hydrolyse (communément appelée « chimie TaqMan® »). Cela se produit à l'aide de molécules d'oligonucléotidique fluorogènes spécifiques aux amplicons pour leurs cibles respectives.

Les sondes TaqMan comportent un fluorophore lié par liaison covalente à l'extrémité 5' de la sonde oligonucléotidique et un quencher à l'extrémité 3'. Tant que la sonde est intacte, le fluorophore et le quencher sont à proximité l'un de l'autre, ce qui entraîne l'extinction par le quencher de la fluorescence émise par le fluorophore par le biais du mécanisme de transfert d'énergie entre molécules fluorescentes (Förster Resonance Energy Transfer, FRET).

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

Une sonde TaqMan marquée avec un fluorophore (490/521 nm) en 5' et un quencher non fluorescent en 3' est utilisée pour détecter l'ADN d'EBV. Pour la détection du SPC1, la sonde TaqMan est marquée avec un autre colorant fluorescent (535/556 nm) en 5' et un quencher non fluorescent en 3'. Le logiciel du NeuMoDx System contrôle le signal fluorescent émis par les sondes TaqMan à la fin de chaque cycle d'amplification. Une fois l'amplification terminée, le logiciel du NeuMoDx System analyse les données et rapporte un résultat (POSITIVE [Positif] / NEGATIVE [Négatif] / INDETERMINATE [Indéterminé] / UNRESOLVED [Non résolu]). Si un résultat est POSITIVE (Positif), le logiciel du NeuMoDx System fournit aussi une valeur quantitative associée avec l'échantillon ou indique si la concentration calculée est hors des limites de quantification.

### RÉACTIFS/CONSOMMABLES

#### Matériel fourni

RÉF.	Contenu	Tests par unité	Tests par paquet
201500	<b>NeuMoDx EBV Quant Test Strip</b> <i>Réactifs de PCR déshydratés contenant la sonde et les amorces TaqMan spécifiques à l'EBV et au SPC1.</i>	16	96

#### Matériel supplémentaire nécessaire, mais non fourni (disponible séparément auprès de NeuMoDx)

RÉF.	Contenu
100200	<b>NeuMoDx Extraction Plate</b> <i>Particules paramagnétiques, enzyme lytique et contrôles des processus de traitement d'échantillons déshydratés</i>
800500	<b>NeuMoDx EBV Calibrator</b> <i>Paires d'étalons d'EBV fortement et faiblement positifs à usage unique pour établir la validité de la courbe d'étalonnage</i>
900501	<b>NeuMoDx EBV External Controls</b> <i>Ensembles à usage unique de contrôles EBV positif et négatif pour établir la validité quotidienne du NeuMoDx EBV Quant Assay</i>
400900	<b>NeuMoDx Lysis Buffer 5</b>
400100	<b>NeuMoDx Wash Reagent</b>
400200	<b>NeuMoDx Release Reagent</b>
100100	<b>NeuMoDx Cartridge</b>
235903	<b>Pointes Hamilton CO-RE / CO-RE II (300 µl) avec filtres</b>
235905	<b>Pointes Hamilton CO-RE / CO-RE II (1000 µl) avec filtres</b>

#### Instruments requis

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

### AVERTISSEMENTS ET PRÉCAUTIONS

- Le NeuMoDx EBV Quant Assay est destiné à une utilisation pour le diagnostic *in vitro* avec les NeuMoDx Systems uniquement.
- Toujours manipuler les échantillons comme s'ils étaient infectieux et conformément aux procédures de sécurité des laboratoires, telles que décrites dans Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories<sup>5</sup> et dans la directive M29-A4 du CLSI.<sup>6</sup>
- Un résultat positif indique la présence de l'ADN d'EBV.

- Les performances du NeuMoDx EBV Quant Assay sont garanties uniquement pour une utilisation par un personnel formé à l'utilisation du NeuMoDx System et à la manipulation des matières infectieuses.
- Ne pas utiliser les réactifs ou les consommables après la date de péremption indiquée.
- Ne pas utiliser les réactifs si le sceau de sécurité est brisé ou si l'emballage est endommagé à réception.
- Ne pas utiliser de réactifs ou de consommables si l'enveloppe protectrice est ouverte ou brisée à réception.
- Un étalonnage de test valide (généralisé par le traitement des NeuMoDx EBV Calibrators fortement et faiblement positifs [RÉF 800500]) doit être disponible avant que les résultats de test puissent être générés pour les échantillons cliniques.
- Les NeuMoDx EBV External Controls [RÉF 900501] doivent être traités toutes les 24 heures tout au long des tests avec le NeuMoDx EBV Quant Assay.
- Le volume d'échantillon minimal des aliquotes secondaires dépend de la taille du tube/porte-tubes à prélèvement comme défini ci-dessous. Tout volume inférieur au minimum spécifié peut entraîner l'erreur suivante : « Quantity Not Sufficient » (Quantité insuffisante).
- L'utilisation d'échantillons conservés à des températures inappropriées ou plus longtemps que les durées de stockage spécifiées peut entraîner des résultats non valides ou erronés.
- Veiller à toujours éviter la contamination de tous les réactifs et consommables par des microbes ou de la désoxyribonucléase (ADNase). L'utilisation de pipettes de transfert jetables stériles sans ADNase est recommandée. Utiliser une nouvelle pipette pour chaque échantillon.
- Afin d'éviter la contamination, ne pas manipuler ou démonter la NeuMoDx Cartridge après amplification. Ne jamais récupérer de NeuMoDx Cartridges dans le récipient pour déchets à risque biologique (NeuMoDx 288 Molecular System) ni dans la poubelle pour déchets à risque biologique (NeuMoDx 96 Molecular System). La NeuMoDx Cartridge est conçue de façon à empêcher la contamination.
- Dans le cas où des tests de PCR à tube ouvert sont également effectués par le laboratoire, des précautions doivent être prises pour s'assurer que la NeuMoDx EBV Quant Test Strip, les consommables et les réactifs supplémentaires nécessaires pour le test, l'équipement de protection individuelle comme les gants et les blouses, et le NeuMoDx System ne sont pas contaminés.
- Des gants en nitrile sans poudre propres doivent être enfilés avant la manipulation des réactifs et consommables NeuMoDx. Prendre des précautions pour éviter de toucher la surface supérieure de la NeuMoDx Cartridge, la surface en aluminium de la NeuMoDx EBV Quant Test Strip ou de la NeuMoDx Extraction Plate, ou encore la surface supérieure du récipient de NeuMoDx Lysis Buffer 5. Manipuler les consommables et les réactifs en touchant uniquement les surfaces latérales.
- Les fiches de données de sécurité (FDS) sont disponibles sur demande.
- Se laver les mains soigneusement après avoir réalisé le test.
- Ne pas pipetter à la bouche. Ne pas fumer, manger ou boire dans les zones de manipulation des échantillons ou des réactifs.
- Jeter les réactifs inutilisés et les déchets conformément aux réglementations en vigueur (nationales, fédérales, locales, de la province et de l'État).

### STOCKAGE, MANIPULATION ET STABILITÉ DU PRODUIT

- Les NeuMoDx EBV Quant Test Strips sont stables dans leur emballage primaire jusqu'à la date de péremption indiquée sur l'étiquette lorsqu'elles sont conservées entre 18 et 23 °C.
- Ne pas utiliser les consommables ou réactifs après la date de péremption indiquée.
- Ne pas utiliser de produit de test si l'emballage primaire ou secondaire est visiblement dégradé.
- Ne pas recharger de produit de test précédemment chargé dans un autre NeuMoDx System.
- Une fois chargée, la NeuMoDx EBV Quant Test Strip peut rester à bord du NeuMoDx System pendant 14 jours. Le logiciel suit la durée de vie restante des bandelettes de test chargées et l'indique à l'utilisateur en temps réel. Le système invite l'utilisateur à retirer toute bandelette de test dont l'utilisation a dépassé la durée autorisée.
- Bien qu'ils ne soient pas infectieux, les NeuMoDx EBV Calibrators et les NeuMoDx EBV External Controls doivent être éliminés après utilisation dans les déchets à risque du laboratoire afin de limiter le risque de contamination par l'acide nucléique cible contenu.

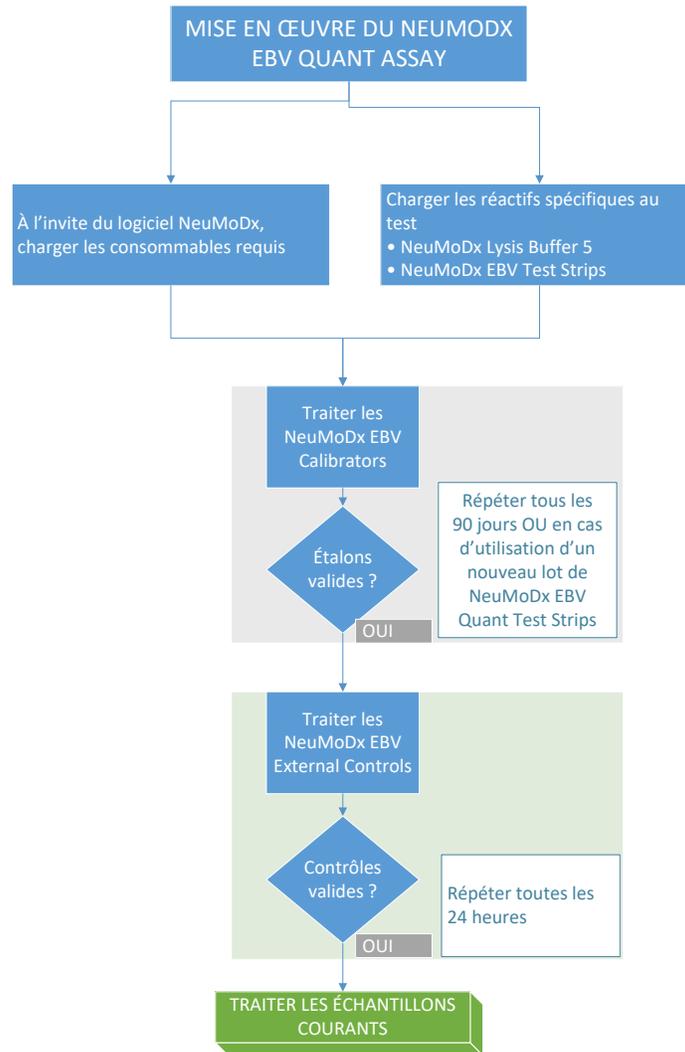
### PRÉLÈVEMENT, TRANSPORT ET STOCKAGE DES ÉCHANTILLONS

*Manipuler tous les échantillons comme s'ils pouvaient transmettre des agents infectieux.*

- Ne pas congeler d'échantillons de sang total ni aucun échantillon conservé dans des tubes primaires.
- Pour préparer des échantillons de plasma, le sang total doit être collecté dans des tubes stériles contenant de l'EDTA comme anticoagulant. Respecter les consignes du fabricant des tubes à échantillon d'échantillon.
- Le sang total prélevé dans les tubes indiqués précédemment peut être conservé et/ou transporté pendant 24 heures maximum entre 2 °C et 25 °C avant la préparation du plasma. La préparation du plasma doit être réalisée suivant les consignes du fabricant.
- Les échantillons de plasma préparés peuvent rester dans le NeuMoDx System jusqu'à 8 heures avant le traitement. Si vous devez les conserver plus longtemps, il est recommandé de placer les échantillons au réfrigérateur ou au congélateur.

- Les échantillons de plasma préparés doivent être conservés entre 2 et 8 °C pendant 7 jours maximum avant le test et pendant 8 heures maximum à température ambiante.
- Les échantillons de plasma préparés peuvent être conservés à < -20 °C pendant 8 semaines au maximum avant traitement ; les échantillons de plasma ne doivent pas subir plus de 2 cycles de congélation/décongélation avant utilisation.
  - Si les échantillons sont congelés, il faut les laisser se décongeler complètement à température ambiante (15 à 30 °C), puis les vortexer pour assurer leur homogénéité.
  - Lorsque des échantillons sont décongelés, le test doit intervenir dans les 8 heures.
- En cas de transport, les échantillons doivent être emballés et étiquetés conformément à la réglementation nationale et/ou internationale en vigueur.
- Marquer clairement les échantillons et indiquer lesquels sont destinés à un test EBV.
- Passer à la section Préparation du test.

Le processus complet de réalisation des tests avec le NeuMoDx EBV Quant Assay est résumé dans la *figure 1* ci-dessous.



**Figure 1** : Réalisation des tests avec le NeuMoDx EBV Quant Assay

### MODE D'EMPLOI

#### Préparation du test

1. Appliquer une étiquette code-barres pour échantillon sur un tube à échantillon compatible avec le NeuMoDx System.
2. Transférer une aliquote de plasma dans le tube de prélèvement à code-barres compatible avec le NeuMoDx System en respectant les volumes définis ci-dessous :
  - Porte-tubes à échantillon (32 tubes) : 11 à 14 mm de diamètre et 60 à 120 mm de hauteur ; volume de remplissage minimal  $\geq 400$  ml
  - Porte-tubes à échantillon (24 tubes) : 14,5 à 18 mm de diamètre et 60 à 120 mm de hauteur ; volume de remplissage minimal  $\geq 850$  ml

#### Fonctionnement du NeuMoDx System

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

1. Remplissez un ou plusieurs supports de bandelettes de test pour NeuMoDx System avec une ou plusieurs NeuMoDx EBV Quant Test Strip(s) et utilisez l'écran tactile pour charger les supports de bandelettes de test dans le NeuMoDx System.
2. À l'invite du logiciel du NeuMoDx System, ajoutez les consommables nécessaires dans les supports de consommables du NeuMoDx System et utilisez l'écran tactile pour charger les supports dans le NeuMoDx System.
3. À l'invite du logiciel du NeuMoDx System, remplacez le NeuMoDx Wash Reagent, le NeuMoDx Release Reagent, videz les déchets d'amorçage ou la poubelle pour déchets à risque biologique comme il convient.
4. À l'invite du logiciel du NeuMoDx System, traitez les Calibrators [RÉF 800500] et/ou les External Controls [RÉF 900501] comme il convient. Vous trouverez des informations supplémentaires sur les étalons et les contrôles dans la section *Traitement des résultats*.
5. Chargez les tubes à échantillon/étalon/contrôle dans un porte-tubes à 32 emplacements et veillez à ce que les bouchons aient été retirés de tous les tubes à échantillon.
6. Placez le porte-tubes à échantillons sur un emplacement vide de la tablette du chargeur automatique et utilisez l'écran tactile pour charger le porte-tubes à échantillon dans le NeuMoDx System. Cela permet de lancer le traitement des échantillons chargés pour les tests identifiés.

### LIMITATIONS

- La NeuMoDx EBV Quant Test Strip ne peut être utilisée que sur les NeuMoDx Systems.
- Les performances de la NeuMoDx EBV Quant Test Strip ont été établies pour des échantillons de plasma préparés avec du sang total prélevé avec de l'EDTA comme anticoagulant. L'utilisation de la NeuMoDx EBV Quant Test Strip avec d'autres types d'échantillons cliniques n'a pas été évaluée et les caractéristiques de performance de ce test ne sont pas connues pour d'autres types d'échantillons.
- La détection de l'EBV dépendant du nombre de virus présents dans l'échantillon, l'obtention de résultats fiables exige que la collecte, la manipulation et le stockage des échantillons soient effectués de façon appropriée.
- Les étalons et les contrôles externes doivent être traités comme recommandé dans la notice et à l'invite du logiciel du NeuMoDx System avant le traitement des échantillons cliniques courants.
- Des résultats erronés peuvent se produire en cas de prélèvement, de manipulation ou de stockage inapproprié(e) des échantillons, ou encore en cas d'erreur technique ou d'identification incorrecte du tube à échantillon. En outre, des faux négatifs peuvent se produire lorsque le nombre de particules virales présentes dans l'échantillon est inférieur à la limite de détection du NeuMoDx EBV Quant Assay.
- L'utilisation du NeuMoDx System est limitée au personnel formé à son utilisation.
- Si les cibles de l'EBV et du SPC1 ne sont pas amplifiées, le résultat est non valide (Indeterminate [Indéterminé] ou Unresolved [Non résolu]) et le test doit être répété.
- Si le résultat du NeuMoDx EBV Quant Assay est Positive (Positif), mais que la valeur de quantification est au-delà des limites de quantification, le NeuMoDx System indique si l'EBV détecté était *inférieure* à la limite de quantification inférieure (Lower Limit of Quantitation, LLoQ) ou *supérieure* à la limite de quantification supérieure (Upper Limit of Quantitation, ULoQ).
- Si l'EBV détecté était inférieur à la LLoQ, le NeuMoDx EBV Quant Assay peut être répété (si vous le souhaitez) avec une autre aliquote de l'échantillon.
- Si l'EBV détecté était supérieur à l'ULoQ, le NeuMoDx EBV Quant Assay peut être répété avec une aliquote diluée de l'échantillon d'origine. Une dilution de 1:100 ou 1:1 000 dans du plasma négatif à EBV ou dans du Basematrix 53 Diluent (Basematrix, SeraCare, Milford, MA) est recommandée. Le système calcule automatiquement la concentration de l'échantillon d'origine comme suit : Concentration de l'échantillon d'origine =  $\log_{10}$  (facteur de dilution) + concentration rapportée de l'échantillon dilué, à condition que le facteur de dilution ait été correctement sélectionné dans le logiciel avant la répétition.

- La présence éventuelle d'inhibiteurs de la PCR dans le plasma peut entraîner une erreur de quantification du système ; si cela se produit, il est recommandé de répéter le test avec le même échantillon dilué à 1:10 ou 1:100 dans du Basematrix.
- Un résultat positif n'indique pas nécessairement une infection virale active. Mais un résultat positif présuppose la présence d'ADN du virus d'Epstein-Barr.
- Même si elles sont peu probables, la délétion ou les mutations dans les deux régions conservées du génome de l'EBV ciblées par le NeuMoDx EBV Quant Assay peuvent affecter la détection ou entraîner un résultat erroné lors de l'utilisation de la NeuMoDx EBV Quant Test Strip.
- Les résultats du NeuMoDx EBV Quant Assay doivent être utilisés en complément des observations cliniques et des autres informations à la disposition du médecin ; le test n'est pas conçu pour diagnostiquer une infection.
- Il est recommandé d'observer les bonnes pratiques de laboratoire, comme le changement des gants entre chaque manipulation d'échantillons patient, afin d'éviter toute contamination.

### TRAITEMENT DES RÉSULTATS

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

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

**Tableau 1 : Algorithme de décision du NeuMoDx EBV Quant Assay**

Résultat	EBV	Contrôle des processus de traitement d'échantillons (Sample Process Control, SPC1)
<b>Positive (Positif)</b>	$[2 \leq Ct \leq 9 \text{ AND (ET) } EPR > 2 \text{ AND (ET) } EP \geq 1\ 500]$ OR (OU) $[9 \leq Ct \leq 38 \text{ AND (ET) } EP \geq 1\ 500]$	N/A (S.o.)
<b>Positive (Positif), au-dessus de la limite de quantification supérieure (<math>\log_{10}</math> UI/ml)</b>	$[CONC] > 8,0 \log_{10}$ UI/ml, NO QUANT (PAS DE QUANTIFICATION)	N/A (S.o.)
<b>Positive (Positif), au-dessous de la limite de quantification inférieure [LLOQ] (<math>\log_{10}</math> UI/ml)</b>	$[CONC] < 2,3 \log_{10}$ UI/ml, NO QUANT (PAS DE QUANTIFICATION)	N/A (S.o.)
<b>Negative (Négatif)</b>	S.O. OU $[2 \leq Ct < 9 \text{ AND (ET) } EPR \leq 2]$ OR (OU) $[9 \leq Ct \leq 38 \text{ AND (ET) } EP < 1\ 500]$ OR (OU) $Ct > 38$	AMPLIFIED (AMPLIFICATION) ( $29 \leq Ct \leq 35$ ) et $EP \geq 2\ 000$
<b>Indeterminate (Indéterminé)</b>	NOT AMPLIFIED/System Errors Noted (NON AMPLIFIÉ/Erreurs système remarquées)	
<b>Unresolved (Non résolu)</b>	NOT AMPLIFIED/No System Errors Noted (NON AMPLIFIÉ/Pas d'erreurs système remarquées)	

EP = End Point Fluorescence (Fluorescence au point final) après correction de la ligne de base ; EPR = End Point Fluorescence Ratio (Rapport de fluorescence au point final) ;  $C_t$  = Cycling Threshold (Cycle seuil) ;

Quant = quantité calculée d'EBV présent exprimée en  $\log_{10}$  UI/ml. Voir la section Calcul du test ci-dessous.

### Calcul du test

1. Pour les échantillons de la plage de quantification du NeuMoDx EBV Quant Assay, la concentration en ADN d'EBV dans les échantillons est calculée avec la courbe d'étalonnage enregistrée et avec le coefficient d'étalonnage.
  - a. Un coefficient d'étalonnage est calculé d'après les résultats des NeuMoDx EBV Calibrators traités pour établir la validité de la courbe d'étalonnage, pour un lot particulier de NeuMoDx EBV Quant Test Strips, sur un NeuMoDx System spécifique.
  - b. Le coefficient d'étalonnage est automatiquement intégré par le système dans la détermination finale de la concentration de l'ADN de l'EBV.
2. Les résultats du NeuMoDx EBV Quant Assay sont exprimés en  $\log_{10}$  UI/ml.

3. La quantification obtenue des échantillons inconnus est traçable au 1<sup>er</sup> étalon international de l'OMS pour le virus d'Epstein-Barr pour les techniques d'amplification d'acide nucléique.

### Étalonnage du test

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

### Étalons

1. Les NeuMoDx EBV Calibrators sont fournis dans un kit [RÉF 800500] ; ils contiennent une cible d'EBV non infectieux préparée dans du Basematrix.
2. Un ensemble d'étalons d'EBV doit être traité avec chaque nouveau lot de NeuMoDx EBV Quant Test Strips, ou si un nouveau fichier de définition du test de l'EBV est téléchargé dans le NeuMoDx System, si la période de validité de l'ensemble actuel d'étalons est dépassée (définie à 90 jours) ou si le logiciel du NeuMoDx System est modifié.
3. Le logiciel du NeuMoDx System indique à l'utilisateur quand il convient de traiter les étalons. Vous ne pouvez pas utiliser de nouveau lot de bandes de test tant que les étalons n'ont pas été correctement traités.
4. La validité de l'étalonnage est établie comme suit :
  - a) Un ensemble de deux étalons – fortement et faiblement positifs – doit être traité pour établir la validité.
  - b) Pour générer des résultats valides, au moins 2 réplicats sur 3 doivent donner des résultats conformes aux paramètres prédéfinis. La cible nominale de l'étalon faiblement positif est de  $4 \log_{10}$  UI/ml et la cible nominale de l'étalon fortement positif est de  $6 \log_{10}$  UI/ml.
  - c) Un coefficient d'étalonnage est calculé de façon à tenir compte de l'écart attendu entre les lots de bandes de test, ce coefficient permet de déterminer la concentration finale de l'EBV.
5. Si un étalon ou les deux échoue(nt) au contrôle de validité, répétez le traitement du ou des étalon(s) en question avec un nouveau flacon. Si un étalon échoue au contrôle de validité, il est possible de répéter uniquement celui-là car le système n'a pas besoin que l'utilisateur traite de nouveau les deux étalons.
6. Si le ou les étalon(s) échoue(nt) au contrôle de validité une seconde fois, contactez NeuMoDx Molecular, Inc.

### Contrôle de la qualité

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

### Contrôles externes

1. Les matériaux de contrôles externes, qui contiennent une cible d'EBV non infectieux dans du Basematrix pour les contrôles positifs, sont fournis par NeuMoDx Molecular, Inc. dans un kit contenant les NeuMoDx EBV External Controls [RÉF 900501].
2. Les contrôles externes positifs et négatifs doivent être traités une fois toutes les 24 heures. Si l'utilisateur ne dispose pas d'un ensemble de contrôles externes valides, le logiciel du NeuMoDx System l'invite à traiter ces contrôles avant que les résultats de l'échantillon soient rapportés.
3. Si des contrôles externes sont nécessaires, prenez un ensemble de contrôles externes dans le congélateur et laissez les flacons décongeler à température ambiante (15 à 30 °C). Vortexer doucement pour assurer l'homogénéité.
4. À l'aide de l'écran tactile et d'un porte-tubes à échantillon placé sur la tablette du chargeur automatique, charger les flacons de contrôle positif et négatif dans le NeuMoDx System. Le NeuMoDx System reconnaît le code-barres et commence le traitement des tubes à échantillon, sauf si les réactifs ou consommables nécessaires pour le test sont manquants.
5. Le NeuMoDx System évalue la validité des contrôles externes en fonction du résultat attendu. Le contrôle positif doit donner un résultat Positive (Positif) à EBV et le contrôle négatif un résultat Negative (Négatif) à EBV.
6. Les résultats discordants pour les contrôles externes doivent être traités comme suit :
  - a) Un résultat de test Positive (Positif) rapporté pour un échantillon de contrôle négatif indique un problème de contamination de l'échantillon.
  - b) Un résultat de test Negative (Négatif) rapporté pour un échantillon de contrôle positif peut indiquer qu'il y a un problème de réactif ou d'instrument.
  - c) Dans les cas ci-dessus, répétez le ou les NeuMoDx EBV External Controls dont le résultat est non conforme avec un flacon fraîchement décongelé des contrôles qui ont échoué au test de validité.
  - d) Si un NeuMoDx EBV External Control positif continue à donner un résultat Negative (Négatif), contactez le service clientèle NeuMoDx.
  - e) Si un NeuMoDx EBV External Control négatif continue à donner un résultat Positive (Positif), essayez d'éliminer toutes les sources de contamination potentielle, notamment en remplaçant TOUS les réactifs et consommables avant de contacter le service clientèle NeuMoDx.

### Contrôles (internes) des processus de traitement d'échantillons

Un contrôle des processus de traitement d'échantillons (Sample Process Control, SPC1) exogène est intégré à la NeuMoDx Extraction Plate ; il subit tout le processus d'extraction de l'acide nucléique et de son amplification par PCR en temps réel avec chaque échantillon. Les amorces et la sonde spécifiques au SPC1 sont également comprises dans chaque NeuMoDx EBV Quant Test Strip ; cela permet de détecter la présence du SPC1 et de l'ADN d'EBV cible (s'il est présent) grâce à la PCR en temps réel multiplex. La détection de l'amplification de SPC1 permet au logiciel du NeuMoDx System de contrôler l'efficacité des processus d'extraction de l'ADN et d'amplification par PCR.

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

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

Un résultat UNR (Non résolu) est rapporté si aucune amplification valide de l'ADN d'EBV ou du SPC1 n'est détectée ; cela indique une possible défaillance des réactifs ou la présence d'inhibiteurs. Dans le cas d'un résultat UNR (Non résolu), une répétition du test peut être effectuée avant toute chose. Si la répétition du test échoue, il est possible d'utiliser un échantillon dilué afin d'atténuer les effets de toute inhibition éventuelle.

### CARACTÉRISTIQUES DE PERFORMANCES

#### Sensibilité analytique – Limite de détection avec l'étalon de l'OMS

La sensibilité analytique du NeuMoDx EBV Quant Assay a été confirmée par le test d'échantillons de plasma négatif à EBV enrichis à l'aide d'une faible dilution du 1<sup>er</sup> étalon international de l'OMS pour l'EBV destiné aux techniques d'amplification d'acides nucléiques. Ce test de confirmation a été réalisé à la limite de détection (Limit of Detection, LoD) prévue du NeuMoDx EBV Quant Assay sur les NeuMoDx Systems à 200 UI/ml. La LoD a été définie comme le niveau cible minimal détecté à un taux  $\geq 95\%$ . L'étude a été réalisée sur plusieurs systèmes avec des lots de réactifs NeuMoDx utilisés. Les taux de détection sont représentés dans le *tableau 2*.

**Tableau 2** : détermination de la LoD pour le NeuMoDx EBV Quant Assay ; taux de détection positif pour les échantillons de plasma

Concentration de la cible [UI/ml]	PLASMA		
	Nombre de tests valides	Nombre de positifs	Taux de détection
200	120	117	97,5 %
0	60	0	0 %

#### Sensibilité analytique – Limite de quantification inférieure (Lower Limit of Quantitation, LLoQ)

La limite de quantification inférieure (Lower Limit of Quantitation, LLoQ) est définie comme le niveau cible minimal auquel la détection de  $> 95\%$  est obtenue ET le nombre total d'erreurs d'analyse (Total Analytical Error, TAE) est de  $\leq 1,0$ . Afin de confirmer que la valeur de la LoD et de la LLoQ pour le EBV Quant Assay était bien de 200 UI/ml, les résultats de l'étude du taux de succès ont été utilisés pour déterminer le TAE. Ce TAE calculé a été défini comme suit :

$$\text{TAE} = \text{biais} + 2 \cdot \text{ÉT} \text{ [statistique de Westgard]}$$

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

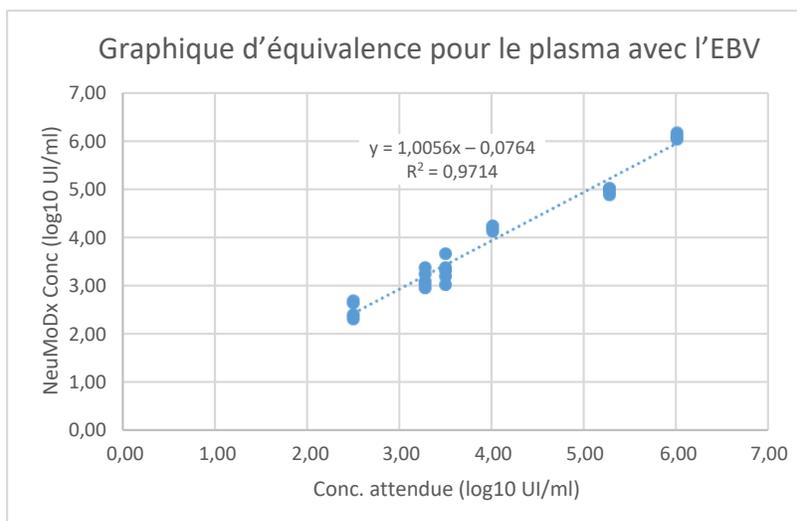
**Tableau 3** : LLoQ NeuMoDx EBV Quant Assay, avec le biais et le TAE

Conc. cible [UI/ml]	Conc. cible [ $\log_{10}$ UI/ml]	Plasma				
		Conc. moyenne [ $\log_{10}$ UI/ml]	Détection (%)	ÉT	Biais	TAE
200	2,30	2,35	97,5	0,28	0,05	0,61

D'après les résultats de ces études, la LoD et la LLoQ du NeuMoDx EBV Quant Assay ont été toutes deux déterminées comme étant de 200,0 UI/ml [ $2,30 \log_{10}$  UI/ml].

#### Linéarité et détermination de la limite de quantification supérieure (Upper Limit of Quantitation, ULoQ)

La linéarité et la limite de quantification supérieure (Upper Limit of Quantitation, ULoQ) du NeuMoDx EBV Quant Assay ont été établies dans le plasma en préparant une série de dilution avec la cible d'EBV NeuMoDx et l'Exact EBV Positive Control (Exact Diagnostics, Fort Worth, Texas) avec une traçabilité établie au 1<sup>er</sup> étalon international de l'OMS. Un panel de 10 échantillons a été préparé dans du plasma négatif à EBV poolé pour créer un panel susceptible de couvrir une plage de concentration de 2,0 à 8,0  $\log_{10}$  UI/ml. L'ULoQ du NeuMoDx EBV Quant Assay a été déterminée à 8,0  $\log_{10}$  UI/ml. Un panel de confirmation permettant d'évaluer la linéarité de la courbe d'étalonnage a été préparé, et les concentrations des dosages d'EBV rapportées par le NeuMoDx System comparées aux valeurs attendues sont présentées dans la *figure 2*.



**Figure 2 :** Linéarité du NeuMoDx EBV Quant Assay

### Spécificité analytique – Réactivité croisée

La spécificité analytique a été démontrée par le dépistage de 35 organismes susceptibles d'être présents dans les échantillons de sang/plasma ainsi que d'espèces phylogénétiquement équivalentes à l'EBV afin de tester la réactivité croisée. Les organismes à forte concentration ont été préparés dans des pools de 5 à 6 organismes. Les organismes testés figurent dans le *tableau 4*. Aucune réactivité croisée n'a été observée avec les organismes testés, confirmant une spécificité analytique de 100 % pour le NeuMoDx EBV Quant Assay.

**Tableau 4 :** Agents pathogènes utilisés pour démontrer la spécificité analytique

Organismes non cibles					
Polyomavirus BK	Adénovirus de type 5	Virus herpes simplex de type 1	<i>Clostridium perfringens</i>	<i>Mycoplasma pneumoniae</i>	<i>Streptococcus pneumoniae</i>
Cytomégalovirus	Virus de l'hépatite C	Virus herpes simplex de type 2	<i>Enterococcus faecalis</i>	<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	<i>Streptococcus pyogenes</i>
Herpèsvirus humain de type 6	Parvovirus B19	Virus de la varicelle et du zona	<i>Escherichia coli</i>	<i>Propionibacterium acnes</i>	<i>Aspergillus niger</i>
Herpèsvirus humain de type 7	Virus JC	VIH 1	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	<i>Salmonella typhimurium</i>	<i>Candida albicans</i>
Herpèsvirus humain de type 8	Papillomavirus humain 16	VIH 2	<i>Listeria monocytogenes</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Cryptococcus neoformans</i>
Virus de l'hépatite B	Papillomavirus humain 18	<i>Chlamydia trachomatis</i>	<i>Mycobacterium avium</i>	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	

### Spécificité analytique – Substances interférentes, organismes commensaux

Les interférences du NeuMoDx EBV Quant Assay ont été évaluées en présence d'organismes non cibles à l'aide des mêmes pools d'organismes préparés pour tester la réactivité croisée qui sont indiqués dans le *tableau 4*. Du plasma négatif à EBV a été enrichi avec des organismes poolés en groupes de 4 à 7 ; ces pools ont été enrichis avec une cible d'EBV à une concentration de 3 log<sub>10</sub> UI/ml. Aucune interférence notable n'a été observée en présence de ces organismes, comme l'indique l'écart minimal de quantification par rapport aux échantillons de contrôle qui ne contenaient aucun agent interférent.

### Spécificité analytique – Substances interférentes, substances endogènes et exogènes

Les performances du NeuMoDx EBV Quant Assay ont été évaluées en présence de substances interférentes endogènes et exogènes fréquemment observées dans les échantillons cliniques de plasma avec EBV. Ces substances comprenaient des composants sanguins à des taux anormalement élevés ainsi que des médicaments antiviraux et immunosuppresseurs courants, classés dans le *tableau 5*. Chaque substance a été ajoutée à du plasma humain testé négatif à EBV et enrichi avec 3 log<sub>10</sub> UI/ml d'EBV, puis les échantillons ont été analysés pour l'évaluation des interférences. En outre, un plasma à un stade classique de la maladie associée à une infection à EBV a été testé pour d'éventuelles interférences. La concentration moyenne et le biais de toutes les substances testées, par rapport aux échantillons de contrôles enrichis avec la même concentration d'EBV, sont indiqués dans le *tableau 6*. Aucune des substances exogènes et endogènes n'a affecté la spécificité du NeuMoDx EBV Quant Assay.

**Tableau 5 : Tests d'interférences – Agents exogènes (classifications des médicaments)**

Pool	Nom du médicament	Classification	Pool	Nom du médicament	Classification
Pool 1	Azathioprine	Immunosuppresseur	Pool 4	Triméthoprime	Antibiotique
	Cyclosporine	Immunosuppresseur		Vancomycine	Antibiotique
	Foscarnet	Antiviral (Herpèsvirus)		Tacrolimus	Immunosuppresseur
	Ganciclovir	Antiviral (EBV)		Évérolimus	Immunosuppresseur
	Chlorhydrate de valganciclovir	Antiviral (EBV)		Clavulanate de potassium	Antibiotique
Pool 2	Prednisone	Corticostéroïde/immunosuppresseur	Pool 5	Famotidine	Antagoniste du récepteur de l'histamine
	Cidofovir	Antiviral (EBV)		Sulfaméthoxazole	Antibiotique
	Céfotétan	Antibiotique (large spectre)		Valaciclovir	Antiviral (Herpèsvirus)
	Céfotaxime	Antibiotique (large spectre)		Létermovir	Antiviral (EBV)
	Fluconazole	Antifongique		Ticarilline disodique	Antibiotique
Pool 3	Mycophénolate mofétil	Immunosuppresseur	Léflunomide	Immunosuppresseur	
	Mycophénolate sodique	Immunosuppresseur			
	Pipéracilline	Antibiotique			
	Sirolimus/rapamycine	Immunosuppresseur			
	Tazobactam	Antibiotique modifié			

**Tableau 6 : Tests d'interférences – Agents exogènes et endogènes**

Endogènes	Conc. moyenne	Biais
	log <sub>10</sub> UI/ml	log <sub>10</sub> UI/ml
Hémoglobine	3,20	0,23
Triglycérides	3,15	0,28
Bilirubine	3,48	-0,05
Albumine	3,2	0,22
Exogènes (médicaments)	Conc. moyenne	Biais
	log <sub>10</sub> UI/ml	log <sub>10</sub> UI/ml
Pool 1 : azathioprine, cyclosporine, foscarnet, ganciclovir, chlorhydrate de valganciclovir	3,30	0,13
Pool 2 : prednisone, cidofovir, céfotétan, céfotaxime, fluconazole	3,22	0,21
Pool 3 : mycophénolate mofétil, mycophénolate sodique, pipéracilline, sirolimus/rapamycine, tazobactam	3,36	0,07
Pool 4 : triméthoprime, vancomycine, tacrolimus, évérolimus, clavulanate de potassium	3,32	0,11
Pool 5 : famotidine, sulfaméthoxazole, létermovir, valaciclovir, ticarilline disodique, léflunomide	3,47	-0,10
Stade de la maladie	Conc. moyenne	Biais
	log <sub>10</sub> UI/ml	log <sub>10</sub> UI/ml
Lupus érythémateux systémique (LES)	3,23	0,20
Anticorps antinucléaire (AAN)	3,33	0,10
Polyarthrite rhumatoïde (PAR)	3,19	0,24

### Précision intralaboratoire

Pour déterminer la précision du NeuMoDx EBV Quant Assay, 3 réplicats d'un panel de 4 échantillons d'EBV préparés avec l'EBV Positive Control (Exact Diagnostics, Fort Worth, Texas) ont été testés trois fois par jour, sur deux NeuMoDx 288 Systems et un NeuMoDx 96 System sur deux jours. Les précisions intra-analyse, intrajournalière et intrasystème ont été caractérisées, et un écart-type global  $\leq 0,33 \log_{10}$  UI/ml a été déterminé. Une excellente précision a été observée entre les systèmes, les jours et les analyses comme indiqué dans le *tableau 7*. La précision interopérateurs n'a pas été caractérisée, car l'opérateur ne joue pas un rôle prépondérant dans le traitement des échantillons avec le NeuMoDx System.

**Tableau 7 : Précision intralaboratoire – NeuMoDx EBV Quant Assay sur les NeuMoDx Systems**

Conc. EBV cible [ $\log_{10}$ UI/ml]	Conc. EBV moyenne [ $\log_{10}$ UI/ml]	ÉT intrasystème	ÉT intrajournalier	ÉT intra- analyse	ÉT global (intralaboratoire)
5,2	5,30	0,27	0,25	0,25	0,27
4,2	4,25	0,21	0,21	0,12	0,21
3,2	3,38	0,22	0,20	0,20	0,22
2,7	3,03	0,30	0,30	0,30	0,33

### Reproductibilité interlots

La reproductibilité interlots du NeuMoDx EBV Quant Assay a été déterminée en évaluant trois lots de réactifs essentiels – NeuMoDx EBV Quant Test Strips et Lysis Buffer 5 – dans le cadre du test de qualification (Qualification Testing, QT). Un panel de 4 échantillons de plasma positif à EBV a été utilisé pour évaluer les performances (*tableau 8*). La variation au sein des lots et entre les lots a été analysée et les résultats ont été présentés dans les *tableaux 8-9*. Le biais global maximal était de  $0,03 \log_{10}$  UI/ml et l'écart-type total maximal était de  $0,20 \log_{10}$  UI/ml pour les NeuMoDx EBV Quant Assay Test Strips. Le biais global maximal était de  $0,12 \log_{10}$  UI/ml et l'écart-type total maximal était de  $0,41 \log_{10}$  UI/ml pour le NeuMoDx Lysis Buffer 5. Des performances équivalentes ont été observées entre les lots, car la quantification de tous les éléments du panel était dans la spécification de tolérance.

**Tableau 8 : reproductibilité d'un lot à l'autre — NeuMoDx EBV Quant Assay, Test Strip**

Conc. EBV cible [UI/ml]	Conc. EBV moyenne [ $\log_{10}$ UI/ml]	N (résultats valides par lot)	Biais	ÉT interlots	ÉT intralot	ÉT global
5,0	4,98	18	0,02	0,06	0,08	0,10
4,0	3,98	18	0,02	0,08	0,09	0,12
3,0	3,02	18	0,02	0,06	0,10	0,12
2,0	2,03	18	0,03	0,05	0,20	0,20

**Tableau 9 : reproductibilité d'un lot à l'autre — NeuMoDx EBV Quant Assay, Lysis Buffer 5**

Conc. EBV cible [ $\log_{10}$ UI/ml]	Conc. EBV moyenne [ $\log_{10}$ UI/ml]	N (résultats valides par lot)	Biais	ÉT interlots	ÉT intralot	ÉT global
5,0	4,97	5	0,03	0,05	0,03	0,06
4,0	3,96	5	0,04	0,22	0,10	0,24
3,0	3,03	5	0,03	0,09	0,11	0,15
2,0	2,12	5	0,12	0,39	0,13	0,41

### Efficacité du contrôle des processus de traitement d'échantillons

Le contrôle des processus de traitement d'échantillons (Sample Process Control, SPC1) est inclus dans le NeuMoDx EBV Quant Assay pour mettre en évidence une éventuelle défaillance dans les étapes de traitement ou une inhibition compromettant les performances du dosage. En prenant le NeuMoDx CMV Quant Assay comme modèle, l'efficacité du SPC1 a été testée pour les échantillons de plasma dans des conditions représentatives des défaillances affectant les étapes de traitement critiques susceptibles de se produire lors du traitement de l'échantillon et qui *pourraient ne pas être détectées* par les capteurs de contrôle des performances du NeuMoDx System. Les échantillons positifs ( $3 \log_{10}$  UI/ml) et négatifs au cytomégalovirus ont été testés dans les conditions suivantes : présence d'inhibiteur, aucun lavage effectué et pas d'expulsion de la solution de lavage. Les inefficacités de traitement ayant eu un effet indésirable sur la détection/quantification de la cible virale ont été reflétées par les performances de la cible du SPC1, comme indiqué dans le *tableau 10*. Dans tous les cas testés, il a été démontré que soit le contrôle des processus de traitement d'échantillons permettait de détecter correctement les inefficacités du traitement et la présence d'inhibiteurs, soit que l'inefficacité anticipée du traitement n'avait aucun effet indésirable sur la détection du SPC1 ou sur la détection et la quantification de la cible virale. Par conséquent, l'efficacité du SPC1 a été démontrée pour le contrôle des performances du dosage sur le NeuMoDx System.

**Tableau 10 : Efficacité du contrôle des processus des échantillons pour l'ADN viral dans le plasma\***

Défaillance d'étape de traitement testée	Statut d'amplification du contrôle des processus de traitement d'échantillons 1	Statut d'amplification de la cible du CMV	Résultat du dosage
Presence of Inhibitor (Présence d'inhibiteur)	Not Amplified (Non amplifié)	Not Amplified (Non amplifié)	Unresolved (Non résolu)
No Wash Delivered (Aucun lavage effectué)	Not Amplified (Non amplifié)	Not Amplified (Non amplifié)	Unresolved (Non résolu)
No Wash Blowout (Pas d'expulsion de la solution de lavage)	Amplified (Amplifié)	Amplified (Amplifié)	Positive (Positif) avec une quantification à 0,3 log <sub>10</sub> UI/ml du contrôle

\*Le cytomégalovirus (CMV) dans des échantillons de plasma a été utilisé comme système de modèle pour l'évaluation de l'efficacité du contrôle des processus de traitement de l'échantillon.

### Contamination croisée

Le taux de contamination croisée pour les échantillons de plasma a été déterminé en traitant des échantillons fortement positifs et négatifs d'un virus à ADN à diffusion hématogène similaire, le cytomégalovirus (CMV). Trois séries de ces tests sur plaque de microtitration ont été effectuées avec un total de 108 réplicats de plasma négatif au CMV et 108 réplicats de plasma additionné de CMV à 6,0 log<sub>10</sub> UI/ml. Les 108 réplicats de l'échantillon négatif ont tous été négatifs, indiquant l'absence de contamination croisée lors du traitement de l'échantillon de plasma sur le NeuMoDx System.

### Équivalence des matrices d'échantillons

Des tests ont été effectués pour démontrer l'équivalence entre les échantillons de plasma frais et congelés en utilisant un virus à diffusion hématogène similaire, le CMV, comme modèle. Les échantillons frais ont été maintenus à 4 °C jusqu'à ce qu'on leur ajoute trois niveaux de CMV et que l'équivalence soit testée. Ensuite, les échantillons ont été congelés pendant au moins 24 heures à -20 °C. Après cette période de congélation, les échantillons ont été décongelés puis de nouveau testés. Les résultats des échantillons frais ont été comparés aux échantillons congelés de plasma pour déterminer l'équivalence par analyse de régression. Les données ont démontré une excellente équivalence entre les échantillons de plasma frais et congelés avec une pente de 1,0 et un biais très faible (ordonnée à l'origine), comme indiqué dans le *tableau 11* ci-dessous.

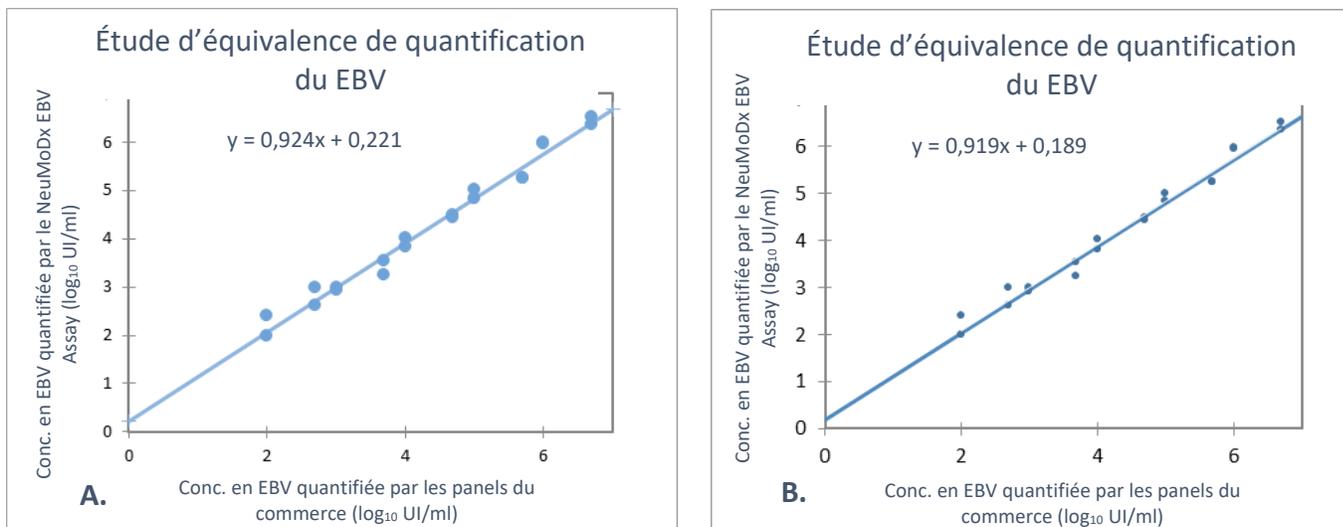
**Tableau 11 : Équivalence des matrices d'échantillons**

Paramètre requis	Frais vs congelé avec EDTA
Pente [0,9-1,1]	1,000
Ordonnée à l'origine < 0,5 log <sub>10</sub> UI/ml	0,020
Valeur <i>p</i> > 0,05	0,631

### Caractérisation des performances de quantification

Les performances quantitatives du NeuMoDx EBV Quant Assay ont été caractérisées en traitant deux panels de vérification d'EBV du commerce AcroMetrix et Exact Diagnostics (traçables au 1<sup>er</sup> étalon international de l'OMS pour l'EBV) sur les NeuMoDx Molecular Systems.

Une excellente corrélation a été obtenue entre le NeuMoDx EBV Quant Assay et les deux panels de vérification d'EBV du commerce (*Figure 3*) après analyse avec la courbe de régression de Deming (*Figure 3A*) ou la méthode de Passing-Bablok (*Figure 3B*).



**Figure 3. Graphique d'équivalence entre les panels de vérification AcroMetrix et Exact Diagnostics et le NeuMoDx EBV Quant Assay.**  
**A. Analyse de régression linéaire avec la méthode de Deming. B. Analyse de régression linéaire avec la méthode de Passing-Bablok.**

La qualité de la courbe de régression de Deming est illustrée par un coefficient de pente global de 0,92 et une ordonnée à l'origine (biais) de 0,22, ce qui prouve que les résultats de concentration obtenus entre le NeuMoDx EBV Quant Assay et les panels de vérification d'EBV sont fortement corrélés et présentent un biais acceptable. La courbe linéaire de Passing-Bablok confirme également l'importance de la corrélation entre les résultats obtenus avec le NeuMoDx EBV Quant Assay et les panels de vérification d'EBV avec un coefficient de pente global de 0,92 et une ordonnée à l'origine (biais) de 0,19. La valeur *p* de l'analyse de Passing-Bablok a été calculée pour être de 0,40.

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

Analyse de Deming		Analyse de Passing-Bablok	
Ordonnée à l'origine	Pente	Ordonnée à l'origine	Pente
0,22	0,92	0,19	0,92
IC à 95 % (-0,11, 0,55)	IC à 95 % (0,86, 0,99)	IC à 95 % (-0,08, 0,41)	IC à 95 % (0,87, 0,99)

### RÉFÉRENCES

1. Epstein-Barr virus infection. N Engl J Med. 2000 Aug 17;343(7):481-92.
2. Epstein-Barr Virus–Positive Posttransplant Lymphoproliferative Disease After Solid Organ Transplantation: Pathogenesis, Clinical Manifestations, Diagnosis, and Management. Transplant Direct. 2016 Jan; 2(1): e48.
3. Evidence based clinical practice guideline for management of EBV-associated post-transplant lymphoproliferative disease (PTLD) in solid organ transplant. Cincinnati Children's Hospital Medical Center. 2011- June, revised Jan, 2012.  
<https://www.guidelinecentral.com/summaries/evidence-based-clinical-practice-guideline-for-management-of-ebv-associated-post-transplant-lymphoproliferative-disease-ptld-in-solid-organ-transplant/>
4. Epstein-Barr Virus and Posttransplant Lymphoproliferative Disorder in Solid Organ Transplant Recipients. American Journal of Transplantation 2009; 9 (Suppl 4): S87–S96. doi: 10.1111/j.1600-6143.2009.02898.x
5. Centers for Disease Control and Prevention. Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories, 5th edition. HHS Publication No. (CDC) 21-1112, Revised December 2009.
6. Clinical And Laboratory Standards Institute (CLSI). Protection of Laboratory Workers From Occupationally Acquired Infections; Approved Guideline – Fourth Edition. CLSI document M29-A4; May 2014.

### MARQUES COMMERCIALES

NeuMoDx<sup>™</sup> est une marque commerciale de NeuMoDx Molecular, Inc.

NeuDry<sup>™</sup> est une marque commerciale de NeuMoDx Molecular, Inc.

TaqMan<sup>®</sup> est une marque déposée de Roche Molecular Systems, Inc.

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

### SYMBOLES

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



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

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



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



Support technique / Pour obtenir de l'aide : [support@qiagen.com](mailto:support@qiagen.com)

Brevet : [www.neumodx.com/patents](http://www.neumodx.com/patents)