

REF 201400 NeuMoDx™ CMV Quant Test Strip

R only

ATTENTION : pour exportation aux États-Unis uniquement

IVD Pour une utilisation prévue pour le diagnostic *in vitro* avec les NeuMoDx 288 et NeuMoDx 96 Molecular Systems

 Pour les mises à jour des notices, consulter : www.qiagen.com/neumodx-ifu

Pour des instructions détaillées, se reporter au Manuel d'utilisation du NeuMoDx 288 Molecular System ; réf. 40600108 [RÉF 500100]

Pour des instructions détaillées, se reporter au Manuel d'utilisation du NeuMoDx 96 Molecular System ; réf. 40600317 [RÉF 500200] ou réf. 40600655 [RÉF 500201]

UTILISATION PRÉVUE

Le NeuMoDx CMV Quant Assay est un test automatisé d'amplification d'acides nucléiques *in vitro* pour la quantification de l'ADN du cytomégalo virus (CMV) dans les échantillons de plasma et de sérum humains provenant de patients infectés par le CMV des génotypes gB1 à gB4. Le NeuMoDx CMV Quant Assay qui est utilisé sur le NeuMoDx 288 Molecular System et le NeuMoDx 96 Molecular System (NeuMoDx Systems) comprend l'extraction automatisée de l'ADN pour isoler l'acide nucléique cible de l'échantillon et une réaction en chaîne par polymérase (PCR) en temps réel qui cible les séquences hautement conservées du génome du virus de l'hépatite C.

Le NeuMoDx CMV Quant Assay est conçu pour la quantification *in vitro* de l'ADN du cytomégalo virus (CMV) dans les échantillons frais et congelés de plasma humain à l'aide des NeuMoDx 288 et NeuMoDx 96 Molecular Systems. Ce dosage est destiné à être utilisé en conjonction avec la présentation clinique et d'autres marqueurs de laboratoire de la progression de la maladie pour la gestion clinique et l'analyse de l'infection par le CMV. Il ne peut pas être utilisé comme test de dépistage pour la présence de CMV dans le sang ou les produits sanguins.

RÉSUMÉ ET EXPLICATION

Le sang total humain prélevé dans des tubes de prélèvement d'échantillons sanguins stériles contenant de l'EDTA ou de l'ACD comme agent anticoagulant peut être utilisé pour la préparation du plasma. Pour préparer le test, le plasma, dans un tube à échantillon primaire compatible avec le NeuMoDx System, est placé dans le NeuMoDx System à l'aide d'un porte-tubes à échantillon désigné pour commencer le traitement. Pour chaque échantillon, une aliquote de 550 µl de l'échantillon de plasma est mélangée avec le NeuMoDx Lysis Buffer 1 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 (sections du génome du CMV ciblées dans des régions hautement conservées). Le NeuMoDx CMV Quant Assay inclut 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.

Le CMV est un virus à ADN double brin courant de la famille des herpès virus humains qui infecte les individus de tous âges. On estime qu'à l'âge de 40 ans, plus de la moitié de la population aura été infectée par le CMV.¹ Le CMV se transmet par les fluides corporels tels que la salive, l'urine, le sang, les larmes, le sperme et le lait maternel. Les personnes immunocompétentes infectées par le CMV sont généralement asymptomatiques, mais l'infection par le virus peut être grave chez les bébés et les personnes dont le système immunitaire est affaibli. Les femmes enceintes peuvent transmettre le CMV à leurs enfants à naître et provoquer un CMV congénital qui peut entraîner une perte d'audition ainsi que d'autres retards de développement et de motricité. Le CMV est un agent pathogène majeur pour les patients immunodéprimés, notamment les receveurs de greffes d'organes solides ou de cellules hématopoïétiques, les patients infectés par le VIH et les patients traités par des médicaments immunomodulateurs.² L'analyse de la charge virale du CMV est principalement utilisée dans ces populations immunodéprimées, où il provoque de nombreuses morbidités, notamment des pneumonies, des maladies du tractus gastro-intestinal, des hépatites et des encéphalites, tout en augmentant le risque de rejet d'organe et d'autres infections opportunistes.

Le diagnostic de l'infection par le CMV ne repose pas uniquement sur le test d'acide nucléique (Nucleic Acid Testing, NAT) ; le test NAT est utilisé en complément du test antigénique qui implique la coloration des leucocytes polymorphonucléaires (PMN) pour la protéine matricielle inférieure structurelle précoce du CMV ainsi que d'autres symptômes que le patient peut présenter. Le test de charge virale du CMV est systématiquement utilisé pour déterminer si un traitement antiviral est nécessaire et pour analyser l'efficacité de ces traitements.³ Les consignes actuelles pour la prise en charge et le traitement des infections à CMV 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.

PRINCIPES DE LA PROCÉDURE

Le NeuMoDx CMV Quant Assay sur le NeuMoDx System fait appel à la NeuMoDx CMV Quant Test Strip, aux NeuMoDx CMV Calibrators, aux NeuMoDx CMV External Controls, au NeuMoDx Lysis Buffer 1 et aux réactifs génériques de NeuMoDx pour réaliser l'analyse. Le NeuMoDx CMV Quant Assay associe l'extraction de l'ADN automatisée, l'amplification et la détection par PCR en temps réel. Les échantillons de sang total sont prélevés dans des tubes contenant de l'EDTA ou de l'ACD 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 alors chargé sur le NeuMoDx System pour le traitement. Aucune autre intervention de l'opérateur n'est nécessaire.

Les NeuMoDx Systems utilisent une combinaison de réactifs d'extraction, d'enzymes lytiques et de traitement thermique pour effectuer automatiquement la lyse cellulaire, l'extraction de l'ADN et la suppression des inhibiteurs. Les acides nucléiques libérés sont capturés par des particules paramagnétiques. Les particules, ainsi que les acides nucléiques qui sont fixés dessus, sont chargés 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 NeuDry™ exclusifs contenant tous les éléments nécessaires à l'amplification par PCR des cibles SPC1 et spécifiques au CMV. 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.

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 le quenching 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 hybridée à la matrice. La dégradation de la sonde libère le fluorophore et met fin à sa proximité avec le quencher, ce qui a pour effet de surmonter l'effet d'extinction causé par le mécanisme FRET et de permettre la détection de fluorescence du fluorophore. Le signal de fluorescence généré, qui est détecté dans le thermocycleur NeuMoDx System de PCR quantitative est directement proportionnel au fluorophore libéré, et peut être corrélé avec la quantité d'ADN cible présente.

Une sonde TaqMan marquée avec un fluorophore (excitation : 490 nm ; émission : 521 nm) en 5' et un quencher non fluorescent en 3' est utilisée pour détecter l'ADN de CMV. Pour la détection du SPC1, la sonde TaqMan est marquée avec un autre colorant fluorescent (excitation : 535 nm ; émission : 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 communique un résultat définitif (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 dans les limites de quantification.

RÉACTIFS/CONSOMMABLES

Matériel fourni

RÉF	Contenu	Tests par unité	Tests par paquet
201400	NeuMoDx CMV Quant Test Strip <i>Réactifs de PCR déshydratés contenant des sondes et des amorces TaqMan spécifiques à CMV, une sonde et des amorces TaqMan spécifiques au SPC1.</i>	16	96

Réactifs et consommables nécessaires, mais non fournis (disponibles séparément auprès de NeuMoDx)

RÉF	Contenu
100200	NeuMoDx Extraction Plate <i>Particules paramagnétiques déshydratées, enzyme lytique et contrôles des processus de traitement d'échantillons</i>
800400	NeuMoDx CMV Calibrators <i>Paires d'étalons de CMV fortement et faiblement positifs à usage unique pour établir la validité de la courbe d'étalonnage</i>
900401	NeuMoDx CMV External Controls <i>Ensembles à usage unique de contrôles CMV positifs et négatifs pour établir la validité quotidienne du NeuMoDx CMV Quant Assay</i>
400400	NeuMoDx Lysis Buffer 1
400100	NeuMoDx Wash Reagent
400200	NeuMoDx Release Reagent
100100	NeuMoDx Cartridge
235903	Pointes Hamilton CO-RE / CO-RE II (300 µl) avec filtres
235905	Pointes Hamilton CO-RE / CO-RE II (1 000 µl) avec filtres

Instruments requis

NeuMoDx 288 Molecular System [RÉF 500100] ou NeuMoDx 96 Molecular System [RÉF 500200 ou 500201]

AVERTISSEMENTS ET PRÉCAUTIONS

- La NeuMoDx CMV Quant Test Strip est réservée à une utilisation pour le diagnostic *in vitro* avec les NeuMoDx Systems uniquement.
- Ne pas utiliser les réactifs ou les consommables après la date de péremption indiquée.
- Ne pas utiliser les réactifs si le sceau de sécurité est brisé ou si l'emballage est endommagé à réception.
- Ne pas utiliser de réactifs ou de consommables si l'enveloppe protectrice est ouverte ou brisée à réception.
- Un étalonnage de test valide (généralisé par le traitement des NeuMoDx CMV Calibrators fortement et faiblement positifs [RÉF 800400]) doit être disponible avant que les résultats de test puissent être générés pour les échantillons cliniques.
- Les NeuMoDx CMV External Controls [RÉF 900401] doivent être traités toutes les 24 heures tout au long des tests avec le NeuMoDx CMV Quant Assay.
- Le volume d'échantillon minimal est de 1 ml de plasma avec EDTA/ACD pour le porte-tubes à 32 emplacements. Un volume inférieur à 1 ml peut engendrer une erreur du NeuMoDx System.
- La réalisation d'un dosage de CMV sur des échantillons conservés à des températures inadaptées ou au-delà des délais de conservation spécifiés peut donner des résultats non valides ou erronés avec la NeuMoDx CMV Quant Test Strip.
- Éviter la contamination de tous les réactifs et consommables par des microbes ou une désoxyribonucléase (ADNase) en toutes circonstances. 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 CMV Quant Test Strip, les consommables et les réactifs supplémentaires nécessaires pour le test, l'équipement de protection individuelle comme les gants et les blouses ainsi que 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 d'aluminium de la NeuMoDx CMV Quant Test Strip ou de la NeuMoDx Extraction Plate ou la surface supérieure du NeuMoDx Lysis Buffer 1. Manipuler les consommables et les réactifs en touchant uniquement les surfaces latérales.
- Les fiches de données de sécurité (FDS) sont disponibles à l'adresse www.qiagen.com/safety
- Se laver les mains soigneusement après avoir réalisé le test.
- Ne pas pipetter à la bouche. Ne pas fumer, manger ou boire dans les zones de manipulation des échantillons ou des réactifs.
- Toujours manipuler les échantillons comme s'ils étaient infectieux et conformément aux procédures de sécurité des laboratoires, comme celles décrites dans *Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories*⁴ et dans le document du CLSI M29-A4.⁵
- Jeter les réactifs inutilisés et les déchets conformément aux réglementations en vigueur (nationales, fédérales, locales, de la province et de l'État).
- Pour travailler avec des produits chimiques, il convient de toujours porter une blouse adaptée, des gants jetables et des lunettes de protection. Pour plus d'informations, consulter les fiches de données de sécurité (FDS) appropriées.

PRÉCAUTIONS

NeuMoDx CMV Quant Test Strip	
	<p>DANGER Contient : acide borique.</p> <p>Danger ! Peut nuire à la fertilité ou au fœtus.</p> <p>Consulter les instructions spéciales avant utilisation. Ne pas manipuler avant d'avoir lu et compris toutes les précautions de sécurité. Porter des gants de protection / des vêtements de protection / un équipement de protection des yeux / du visage. En cas d'exposition avérée ou présumée : consulter un médecin. Stocker sous clé. Éliminer le contenu/récipient dans une installation de traitement des déchets agréée conformément aux réglementations en vigueur (internationales, nationales, régionales, locales).</p>

Informations en cas d'urgence

CHEMTREC

En dehors des États-Unis et du Canada, +1 703-527-3887

Élimination

Éliminer comme un déchet dangereux conformément aux réglementations locales et nationales. Cela vaut également pour les produits non utilisés.

Suivre les recommandations de la fiche de données de sécurité (FDS).

STOCKAGE, MANIPULATION ET STABILITÉ DU PRODUIT

- Tous les réactifs et consommables NeuMoDx (à l'exception des contrôles externes et des étalons) sont stables dans leur emballage primaire entre 18 et 23 °C jusqu'à la date de péremption indiquée sur l'étiquette du produit immédiatement visible.
- Une NeuMoDx CMV Quant Test Strip chargée dans le NeuMoDx System est stable pendant 14 jours ; le logiciel du NeuMoDx System invite au retrait des bandelettes de test utilisées dans le NeuMoDx System depuis plus de 14 jours, et de nouvelles NeuMoDx CMV Quant Test Strips doivent être ouvertes et chargées dans le NeuMoDx System.
- Les étalons et les contrôles NeuMoDx Calibrators ne sont pas infectieux, mais doivent être éliminés avec les déchets à risque biologique du laboratoire après emploi, car ils contiennent un matériel cible après traitement dans le système susceptible de provoquer une contamination en cas de manipulation incorrecte.

PRÉLÈVEMENT, TRANSPORT ET STOCKAGE DES ÉCHANTILLONS

1. Manipuler tous les échantillons comme s'ils étaient susceptibles de transmettre des agents infectieux.
2. Ne pas congeler d'échantillons de sang total ni aucun échantillon conservé dans des tubes primaires.
3. Pour préparer des échantillons de plasma, le sang total doit être collecté dans des tubes stériles contenant de l'EDTA ou de l'ACD comme anticoagulant. Respecter les consignes du fabricant des tubes de prélèvement d'échantillons.
4. 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.
5. Les échantillons de plasma préparés peuvent rester dans le NeuMoDx System jusqu'à 8 heures avant le traitement. Pour une durée plus longue, il est recommandé de placer les échantillons au réfrigérateur ou au congélateur.
6. Les échantillons de plasma préparés doivent être conservés entre 2 et 8 °C pendant 7 jours maximum avant le test et pendant 8 heures maximum à température ambiante.
7. Les échantillons préparés peuvent être conservés à ≤ -20 °C pendant 26 semaines maximum avant le traitement ; les échantillons de plasma ne doivent pas subir plus de 2 cycles de congélation/décongélation avant utilisation.
 - a. Si les échantillons sont congelés, il faut les laisser se décongeler complètement à température ambiante (15 à 30 °C), puis les vortexer pour assurer leur homogénéité.
 - b. Lorsque des échantillons sont décongelés, le test doit intervenir dans les 8 heures.
8. En cas de transport, les échantillons doivent être emballés et étiquetés conformément à la réglementation nationale et/ou internationale en vigueur.
9. Marquer clairement les échantillons et indiquer lesquels sont destinés à un test CMV.
10. Passer à la section *Préparation du test*.

Le processus complet de mise en œuvre du NeuMoDx CMV Quant Assay est résumé ci-dessous, dans la *figure 1*.

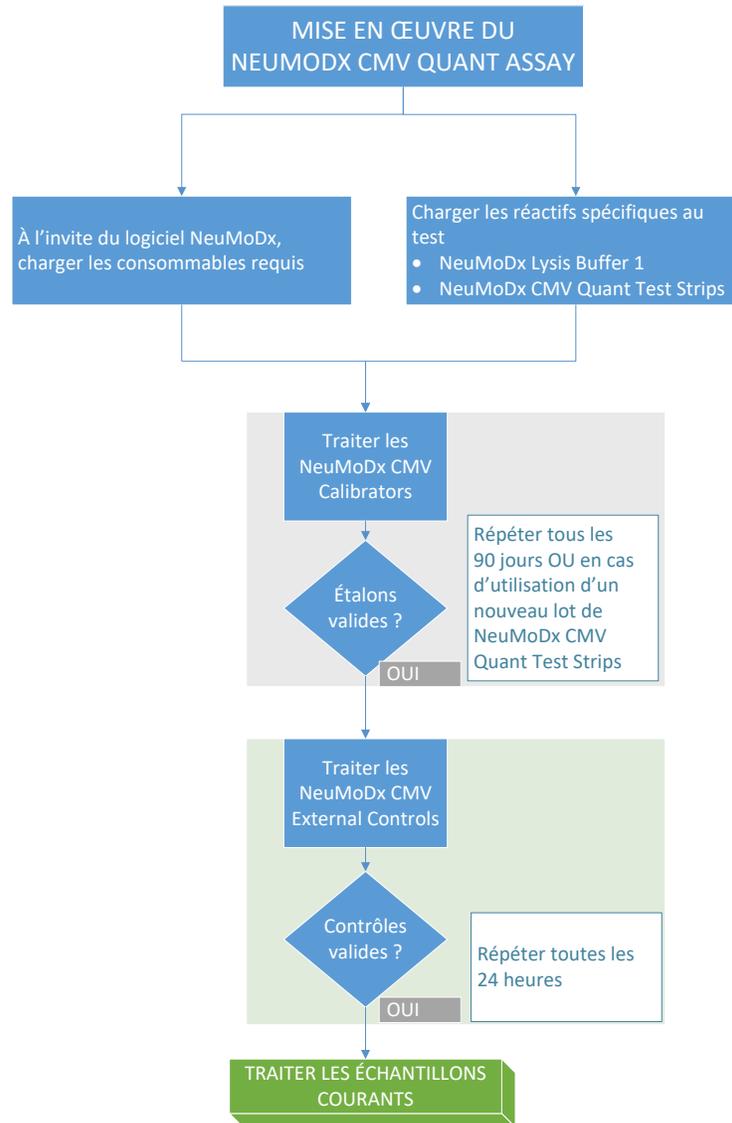


Figure 1 : Réalisation des tests avec le NeuMoDx CMV Quant Assay

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. À l'aide d'une pipette de transfert, transférer ≥ 1 ml de plasma dans le tube (secondaire) à échantillon porteur d'un code-barres en cas d'utilisation du porte-tubes à 32 emplacements ou > 2 ml en cas d'utilisation du porte-tubes à 24 emplacements. Veiller à ne pas transférer de caillots de l'échantillon de plasma dans le tube à échantillon. Utiliser une nouvelle pipette de transfert à chaque échantillon.
3. Le tube secondaire doit satisfaire aux spécifications suivantes en matière de tubes à échantillon compatibles avec le NeuMoDx System, en fonction du porte-tubes à échantillon qui sera utilisé pour le traitement.
 - Porte-tubes à 32 emplacements : entre 11 et 14 mm de diamètre et entre 60 et 120 mm de hauteur
 - Porte-tubes à 24 emplacements : entre 14,5 et 18 mm de diamètre et entre 60 et 120 mm de hauteur

Fonctionnement du NeuMoDx™ System

Pour des instructions détaillées, se reporter aux manuels d'utilisation des NeuMoDx 288 et 96 Molecular Systems (réf. 40600108 et 40600317/40600655)

1. Remplir un ou plusieurs supports de bandelettes de test pour NeuMoDx System Test Strip avec une ou plusieurs NeuMoDx CMV Quant Test Strips et utiliser l'écran tactile pour charger le ou les supports de bandelettes de test dans le NeuMoDx System.
2. À l'invite du logiciel du NeuMoDx System, ajouter les consommables nécessaires dans les supports de consommables du NeuMoDx System et utiliser l'écran tactile pour charger le ou les supports dans le NeuMoDx System.
3. À l'invite du logiciel du NeuMoDx System, remplacer le NeuMoDx Wash Reagent, le NeuMoDx Release Reagent, vider les déchets d'amorçage ou le récipient pour déchets à risque biologique, comme il convient.
4. À l'invite du logiciel du NeuMoDx System, traiter les Calibrators [RÉF 800400] et/ou les External Controls [RÉF 900401] comme il convient. Pour en savoir plus sur les étalons et les contrôles, consulter la section *Traitement des résultats*.
5. Charger les tubes à échantillon/étalon/contrôle dans un porte-tubes à 32 emplacements et veiller à ce que les bouchons aient été retirés de tous les tubes à échantillon.
6. Placer le porte-tubes à échantillon sur un emplacement vide de la tablette du chargeur automatique et utiliser l'écran tactile pour charger le porte-tubes à échantillon dans le NeuMoDx System. Cela déclenche le traitement des échantillons chargés pour les tests identifiés.

LIMITATIONS

- La NeuMoDx CMV Quant Test Strip peut être utilisée uniquement sur les NeuMoDx Systems.
- Les performances de la NeuMoDx CMV Quant Test Strip ont été établies pour les échantillons de plasma préparés à partir de sang total prélevé avec EDTA/ACD comme anticoagulant ; l'utilisation de la NeuMoDx CMV Quant Test Strip avec d'autres types d'échantillons cliniques n'a pas été évaluée et les caractéristiques de performance du test ne sont pas connues pour d'autres types d'échantillons.
- La détection du CMV dépendant du nombre d'organismes 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.
- La collecte, manipulation ou conservation inappropriée des échantillons, ainsi que les erreurs techniques ou les erreurs d'identification des tubes de prélèvement d'échantillons, peut entraîner des résultats erronés. 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 CMV Quant Assay.
- L'utilisation du NeuMoDx System est limitée au personnel formé à son utilisation.
- Si les cibles du CMV 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 CMV Quant Assay est Positive (Positif), mais que la valeur de quantification est au-delà des limites de quantification, le NeuMoDx System indique si le CMV détecté était *inférieur* à la limite de quantification inférieure (Lower Limit of Quantitation, LLoQ) ou *supérieur* à la limite de quantification supérieure (Upper Limit of Quantitation, ULoQ).
- Si le CMV détecté était inférieur à la LLoQ, le NeuMoDx CMV Quant Assay peut être répété (au choix) avec une autre aliquote de l'échantillon.
- Si le CMV détecté était supérieur à l'ULoQ, le NeuMoDx CMV 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 au CMV ou du diluant Basematrix 53 (Basematrix ; SeraCare, Milford, MA) est recommandée. La concentration de l'échantillon d'origine peut être calculée comme suit :

$$\text{Concentration de l'échantillon d'origine} = \log_{10}(\text{facteur de dilution}) + \text{concentration rapportée de l'échantillon dilué.}$$

- 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 la présence d'organismes viables. Mais la présence d'ADN du cytomégalo virus doit donner un résultat positif.
- Les délétions ou les mutations dans les régions conservées ciblées par le NeuMoDx CMV Quant Assay peuvent affecter la détection ou entraîner un résultat erroné lors de l'utilisation de la NeuMoDx CMV Quant Test Strip.
- Les résultats du NeuMoDx CMV 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 la 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 CMV 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 CMV (ADF du CMV). Un résultat du NeuMoDx CMV Quant Assay peut être rapporté comme Negative (Négatif), Positive (Positif) avec une concentration de CMV 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 CMV Quant Assay

Résultat	CMV	Contrôle des processus de traitement d'échantillons (Sample Process Control, SPC1)
Positive (Positif)	$[2 \leq Ct \leq 9 \text{ AND (ET) } EPR > 2 \text{ AND (ET) } EP \geq 1\,500]$ OR (OU) $[9 \leq Ct \leq 41 \text{ AND (ET) } EP \geq 1\,500]$	N/A (S.O.)
Positive (Positif), au-dessus de la limite de quantification supérieure [ULoQ] (\log_{10} UI/ml)	[CONC] > 8,0 \log_{10} UI/ml, NO QUANT (PAS DE QUANTIFICATION)	N/A (S.O.)
Positive (Positif), au-dessous de la limite de quantification inférieure [LLoQ] (\log_{10} UI/ml)	[CONC] < 1,3 \log_{10} UI/ml, NO QUANT (PAS DE QUANTIFICATION)	N/A (S.O.)
Negative (Négatif)	N/A (S.O.) OR (OU) $[2 \leq Ct < 9 \text{ AND (ET) } EPR \leq 2]$ OR (OU) $[9 \leq Ct \leq 41 \text{ AND (ET) } EP < 1\,500]$ OR (OU) $Ct > 41$	AMPLIFIED (AMPLIFIÉ) ($28 \leq Ct \leq 34$) and (et) $EP \geq 2\,000$
Indeterminate (Indéterminé)	NOT AMPLIFIED/System Errors Noted (NON AMPLIFIÉ/Erreurs système remarquées)	
Unresolved (Non résolu)	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 de CMV 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 CMV Quant Assay, la concentration en ADN de CMV 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 CMV Calibrators traités afin d'établir la validité de la courbe d'étalonnage pour un lot donné de NeuMoDx CMV Quant Test Strip sur un NeuMoDx System spécifique.
 - b. Le coefficient d'étalonnage est intégré dans la détermination finale de la concentration de l'ADN de CMV.
2. Les résultats du NeuMoDx CMV Quant Assay sont exprimés en \log_{10} UI/ml.
3. La quantification obtenue des échantillons inconnus est traçable au 1^{er} étalon international de l'OMS pour le CMV.

Étalonnage du test

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

Étalons externes

1. Les NeuMoDx CMV Calibrators sont fournis dans un kit [RÉF 800400] ; ils contiennent une cible de CMV non infectieux préparée dans du Basematrix.
2. Un ensemble d'étalons de CMV doit être traité avec chaque nouveau lot de NeuMoDx CMV Quant Test Strips, ou si un nouveau fichier de définition du test du CMV est téléchargé dans le NeuMoDx System, ou si la période de validité de l'ensemble actuel d'étalons est dépassée (actuellement 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. Il est impossible d'utiliser de nouveau lot de bandelettes de test tant que les étalons n'ont pas été correctement traités.
4. La validité de l'étalonnage est établie comme suit :
 - a) 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 $3 \log_{10}$ UI/ml et la cible nominale de l'étalon fortement positif est de $5 \log_{10}$ UI/ml.
 - c) Un coefficient d'étalonnage est calculé de façon à tenir compte de l'écart attendu entre les lots de bandelettes de test, ce coefficient permet de déterminer la concentration finale de CMV.
5. Si un étalon ou les deux échouent au contrôle de validité, répéter le traitement du ou des étalons en question avec un nouveau flacon. En cas d'échec du contrôle de validité pour un étalon, il est possible de répéter uniquement cet étalon, car le système ne nécessite pas que l'utilisateur traite de nouveau les deux étalons.
6. Si le ou les étalons échouent au contrôle de validité une seconde fois, contacter NeuMoDx Molecular, Inc.

Contrôle de la qualité

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

Contrôles externes

1. Les matériaux de contrôles externes, qui contiennent une cible de CMV non infectieux dans du Basematrix pour les contrôles positifs, sont fournis par NeuMoDx Molecular, Inc. dans un kit contenant les NeuMoDx CMV External Controls [RÉF 900401].
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, prendre l'ensemble de contrôles externes dans le congélateur et laisser les flacons à température ambiante (15 à 30 °C) jusqu'à leur décongélation totale. 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 CMV et le contrôle négatif un résultat Negative (Négatif) à CMV.
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, répéter le ou les NeuMoDx CMV 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 CMV External Control positif continue à donner un résultat Negative (Négatif), contacter le service clientèle NeuMoDx.
 - e) Si un NeuMoDx CMV External Control négatif continue de donner un résultat Positive (Positif), il faut essayer d'éliminer toutes les sources de contamination potentielle, notamment en remplaçant TOUS les réactifs 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 suit 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 CMV Quant Test Strip ; cela permet de détecter la présence du SPC1 et de l'ADN de CMV 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.

Résultats non valides

Si un NeuMoDx CMV 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) sera 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) sera rapporté si aucune amplification valide de l'ADN de CMV 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 CMV Quant Assay a été caractérisée en testant des échantillons négatifs et une série de dilutions conforme au 1^{er} étalon international de l'OMS pour le plasma humain négatif, afin de déterminer la limite de détection (Limit of Detection, LoD) sur les NeuMoDx Systems. La LoD a été définie comme le niveau cible minimal détecté à un taux de 95 % selon une analyse de type Probit. L'étude a été réalisée pendant 3 jours sur plusieurs systèmes avec plusieurs lots de réactifs NeuMoDx. Chaque système a traité 18 réplicats par jour à chaque niveau de dilution. Les taux de détection sont représentés dans le *tableau 2*.

Tableau 2 : Taux de détection positifs pour la détermination de la LoD du NeuMoDx CMV Quant Assay

Concentration de la cible [UI/ml]	Concentration de la cible [\log_{10} UI/ml]	PLASMA		
		Nombre de tests valides	Nombre de positifs	Taux de détection
50	1,70	108	108	100,0 %
30	1,48	108	107	99,1 %
25	1,40	108	106	98,1 %
20	1,30	108	105	97,2 %
15	1,18	108	99	91,7 %
NÉG	---	108	0	0,0 %

La LoD du NeuMoDx CMV Quant Assay dans le plasma pour le variant gB1 était de 17,7 UI/ml ($1,25 \log_{10}$ UI/ml) avec un intervalle de confiance à 95 % (IC) de 13,8 à 21,0 UI/ml, ($1,14$ à $1,32 \log_{10}$ UI/ml) [Figure 2]. La LoD entre les génotypes est de 20,0 UI/ml ($1,30 \log_{10}$ UI/ml) comme déterminé par l'analyse du taux de succès.

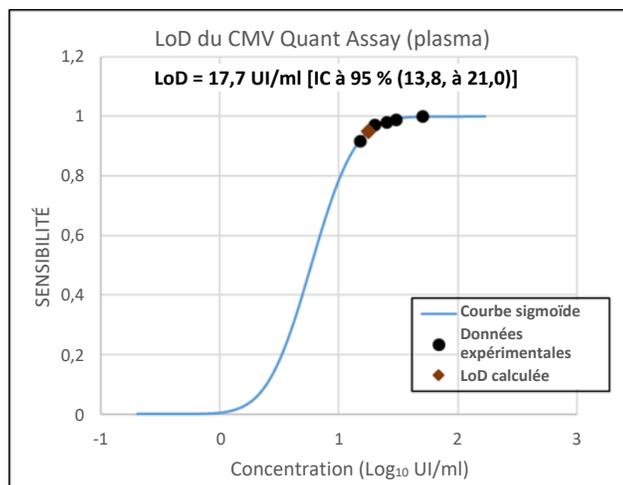


Figure 2 : Analyse de type Probit utilisée pour déterminer la LoD du NeuMoDx CMV Quant Assay dans les échantillons de plasma

Sensibilité analytique : limite de quantification – limite de quantification inférieure (LLOQ)

La limite de quantification inférieure (Lower Limit of Quantitation, LLOQ) est définie comme le niveau minimal de concentration en cible pour lequel la détection est > 95 % ET l'erreur analytique totale (Total Analytical Error, TAE) est $\leq 1,0$. Pour déterminer la LLOQ, l'erreur analytique totale (Total Analytical Error, TAE) a été calculée pour chacun des niveaux de concentration de la cible de CMV pour lesquels la détection était > 95 % lors du calcul de la LoD. La TAE est définie 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.

Les résultats compilés pour les 5 niveaux d'échantillons de plasma CMV (variant gB1) utilisés dans l'étude LLoQ sont présentés dans le *tableau 3*. Sur la base de cet ensemble de données et de la LoD déterminée précédemment, la LLoQ a été déterminée comme étant de 20,0 UI/ml (1,30 log₁₀ UI/ml) et confirmée pour l'ensemble des génotypes.

Tableau 3 : LLoQ NeuMoDx CMV Quant Assay, avec le biais et la TAE

Conc. de la cible [UI/ml]	Conc. de la cible [log ₁₀ UI/ml]	Plasma				
		Conc. moyenne [log ₁₀ UI/ml]	Détection (%)	ÉT	Biais	TAE
50	1,70	1,75	100,0	0,16	0,05	0,37
30	1,48	1,62	99,1	0,24	0,14	0,62
25	1,40	1,56	98,1	0,19	0,17	0,55
20	1,30	1,57	97,2	0,22	0,27	0,72
15	1,18	1,52	91,7	0,21	0,35	0,78

D'après les résultats de ces études, la LoD et la LLoQ du NeuMoDx CMV Quant Assay ont été toutes deux déterminées comme étant de 20,0 UI/ml [1,30 log₁₀ 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 CMV Quant Assay ont été établies dans le plasma en préparant une série de dilutions avec la cible de CMV NeuMoDx encapsulé et l'Exact CMV Positive Control (Exact Diagnostics, Fort Worth, Texas, TX) avec une traçabilité établie au 1^{er} étalon international de l'OMS. Un panel de 9 échantillons a été préparé dans du plasma négatif à CMV poolé pour créer un panel susceptible de couvrir une plage de concentration de 8 à 1,7 log₁₀ UI/ml. L'ULoQ du NeuMoDx CMV Quant Assay a été déterminée à 8,0 log₁₀ UI/ml. Les concentrations des dosages de CMV rapportées par le NeuMoDx System comparées aux valeurs attendues sont présentées sur la *figure 3*.

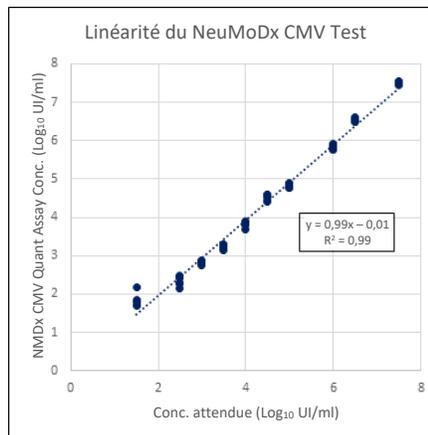


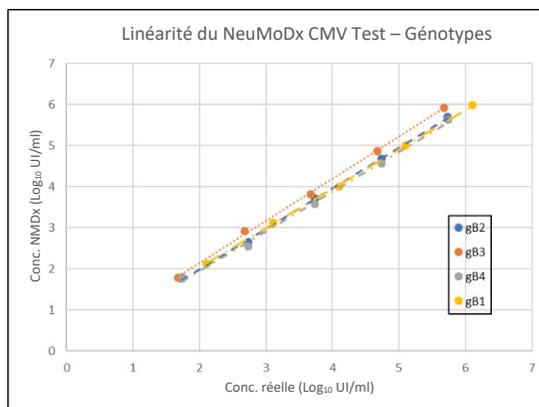
Figure 3 : Linéarité du NeuMoDx CMV Quant Assay

Linéarité selon les génotypes

La linéarité du test NeuMoDx CMV Quant Assay pour quatre génotypes de CMV (gB1, gB2, gB3 et gB4) a été caractérisée en testant cinq concentrations différentes de chaque génotype de CMV préparé dans un pool de plasma CMV-négatif. Les niveaux de concentration des cibles de CMV testées dans cette étude dépendaient de la concentration de l'échantillon source et étaient donc différents selon les génotypes. L'étude a été réalisée en testant 6 répétitions de chacun des 4 génotypes à 5 concentrations. La linéarité entre les quatre génotypes CMV est indiquée dans le *tableau 4* et sur la *figure 4*.

Tableau 4 : Linéarité du NeuMoDx CMV Quant Assay selon les génotypes

Génotype	Équation de linéarité y = quantification du NeuMoDx CMV Assay x = quantification attendue	R2
gB1	$y = 0,960x + 0,103$	0,994
gB2	$y = 0,989x + 0,009$	0,996
gB3	$y = 1,023x + 0,099$	0,967
gB4	$y = 0,968x + 0,004$	0,992


Figure 4 : linéarité du NeuMoDx CMV Quant Assay selon les génotypes

Spécificité analytique – Réactivité croisée

La spécificité analytique a été démontrée par le dépistage de 35 organismes fréquemment présents dans les échantillons de sang/plasma ainsi que d'espèces phylogénétiquement équivalentes au CMV pour la réactivité croisée. Les organismes ont été préparés en pools de 5 à 6 organismes et testés à une concentration élevée. Les organismes testés figurent dans la *tableau 5*. Aucune réactivité croisée n'a été observée avec les organismes testés, confirmant une spécificité analytique de 100 % pour le NeuMoDx CMV Quant Assay.

Tableau 5 : 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>
Virus d'Epstein-Barr	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 varicella-zoster	<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 CMV 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 ci-dessus dans la *tableau 5*. Les organismes regroupés ont été ajoutés par pools de 4 à 7 à du plasma négatif à CMV, et du plasma négatif cible de CMV a également été ajouté à une concentration de 3 log₁₀ UI/ml. Aucune interférence notable n'a été observée en présence de ces organismes commensaux, comme l'indique l'écart de quantification minimal par rapport aux échantillons de contrôle qui ne contenaient aucun agent interférent.

Spécificité analytique – Substances interférentes, substances endogènes et exogènes

Les performances du NeuMoDx CMV Quant Assay ont été évaluées en présence de substances interférentes endogènes et exogènes fréquemment observées dans les échantillons cliniques de plasma avec CMV. Il s'agit notamment de niveaux anormalement élevés de composants sanguins et de médicaments antiviraux courants, qui ont été classés dans la catégorie des médicaments à usage humain dans le *tableau 6*. Chaque substance a été ajoutée à du plasma humain testé négatif à CMV et enrichi avec $3 \log_{10}$ UI/ml de CMV, 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 par le CMV a été testé pour d'éventuelles interférences. La concentration moyenne et le biais de toutes les substances testées par rapport aux échantillons de contrôle dopés avec le même niveau de CMV sont indiqués dans le *tableau 7*. Aucune des substances exogènes et endogènes n'a affecté la spécificité du NeuMoDx CMV Quant Assay.

Tableau 6 : 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 (CMV)		Évérolimus	Immunosuppresseur
	Chlorhydrate de valganciclovir	Antiviral (CMV)		Clavulanate de potassium	Antibiotique
Pool 2	Prednisone	Corticostéroïde/ immunosuppresseur	Pool 5	Famotidine	Antagoniste du récepteur de l'histamine
	Cidofovir	Antiviral (CMV)		Sulfaméthoxazole	Antibiotique
	Céfotétan	Antibiotique (large spectre)		Valaciclovir	Antiviral (Herpèsvirus)
	Céfotaxime	Antibiotique (large spectre)		Létermovir	Antiviral (CMV)
	Fluconazole	Antifongique		Ticarilline disodique	Antibiotique
Pool 3	Mycophénolate mofétil	Immunosuppresseur		Léflunomide	Immunosuppresseur
	Mycophénolate sodique	Immunosuppresseur			
	Pipéracilline	Antibiotique			
	Sirolimus/ rapamycine	Immunosuppresseur			
	Tazobactam	Antibiotique modifié			

Tableau 7 : Tests d'interférences – Agents exogènes et endogènes

Endogènes	Conc. moyenne	Biais
	\log_{10} UI/ml	\log_{10} UI/ml
Hémoglobine	2,97	0,07
Triglycérides	3,03	0,13
Bilirubine	3,01	0,11
Albumine	2,88	-0,02
Exogènes (médicaments)	Conc. moyenne	Biais
	\log_{10} UI/ml	\log_{10} UI/ml
Pool 1 : azathioprine, cyclosporine, foscarnet, ganciclovir, chlorhydrate de valganciclovir	2,88	-0,02
Pool 2 : prednisone, cidofovir, céfotétan, céfotaxime, fluconazole	2,91	0,01
Pool 3 : mycophénolate mofétil, mycophénolate sodique, pipéracilline, sirolimus/rapamycine, tazobactam	2,98	0,08
Pool 4 : triméthoprime, vancomycine, tacrolimus, évérolimus, clavulanate de potassium	3,05	0,15
Pool 5 : famotidine, sulfaméthoxazole, létermovir, valacyclovir, ticarcilline disodique, léflunomide	2,87	-0,03
Stade de la maladie	Conc. moyenne	Biais
	\log_{10} UI/ml	\log_{10} UI/ml
Anticorps antinucléaire (AAN)	2,90	0,00
Lupus érythémateux systémique (LES)	3,04	0,14
Polyarthrite rhumatoïde	2,99	0,09

Précision intralaboratoire

Pour déterminer la précision du NeuMoDx CMV Quant Assay, 3 réplicats d'un panel de 4 échantillons de CMV préparés avec l'Exact CMV Positive Control (Exact Diagnostics, Fort Worth, Texas) ont été testés deux fois par jour, sur deux NeuMoDx 288 Systems et un NeuMoDx 96 System sur 12 jours. Les précisions intra-analyse, intrajournalière et intrasystème ont été caractérisées, et un écart-type global $\leq 0,15 \log_{10}$ UI/ml a été déterminé. Une excellente précision a été démontrée entre les systèmes, les jours ou les séries, comme le montre le *tableau 8*. 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 8 : Précision intralaboratoire – NeuMoDx CMV Quant Assay sur les NeuMoDx Systems

Conc. CMV cible [\log_{10} UI/ml]	Conc. CMV moyenne (\log_{10} UI/ml)	ÉT intrasystème	ÉT intra-journalier	ÉT intra- analyse	ÉT global (intralaboratoire)
5,7	5,64	0,09	0,09	0,07	0,13
4,7	4,58	0,10	0,10	0,08	0,14
3,7	3,60	0,09	0,09	0,07	0,12
2,7	2,62	0,13	0,13	0,10	0,15

Reproductibilité interlots

La reproductibilité interlots du NeuMoDx CMV Quant Assay a été déterminée à l'aide de trois lots différents de réactifs essentiels, à savoir le NeuMoDx Lysis Buffer 1, les NeuMoDx Extraction Plates et les NeuMoDx CMV Quant Test Strips. Les performances ont été évaluées par un panel de 4 échantillons de CMV préparés avec l'Exact CMV Control. Les tests ont été réalisés à l'aide de 3 lots de réactifs sur 3 systèmes pendant 6 jours. Les variations au sein des lots et entre les lots ont été analysées et les résultats présentés dans le *tableau 9*. Le biais global maximal était de $0,12 \log_{10}$ UI/ml et l'ÉT global maximal était de $0,39 \log_{10}$ UI/ml. 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 9 : Reproductibilité interlots – NeuMoDx CMV Quant Assay

Conc. CMV cible [log ₁₀ UI/ml]	Conc. CMV moyenne (log ₁₀ UI/ml)	N (résultats valides par lot)	Biais	ÉT interlots	ÉT intralot	ÉT global
5,7	5,65	36	0,05	0,27	0,15	0,31
4,7	4,63	36	0,07	0,22	0,13	0,26
3,7	3,58	36	0,12	0,34	0,18	0,39
2,7	2,64	36	0,06	0,12	0,14	0,18

Effacité du contrôle

SPC1 est inclus dans le NeuMoDx CMV Quant Assay pour repérer toute défaillance ou inhibition dans les étapes de traitement affectant les performances du dosage. L'efficacité a été testée dans des conditions représentatives des défaillances affectant les étapes de traitement critiques, qui sont susceptibles de se produire lors du traitement des échantillons et *de ne pas être détectées* par les capteurs de suivi des performances du NeuMoDx System. Des échantillons positifs (à 3 log₁₀ UI/ml) et négatifs ont été testés en présence d'un contrôle dans les conditions suivantes : présence d'inhibiteur, absence de distribution de réactif de lavage et absence d'expulsion de la solution de lavage. La performance de la cible SPC1 a reflété les inefficacités du processus qui ont eu un effet négatif sur la détection/quantification du CMV, comme le montre 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 l'inefficacité anticipée du traitement n'affectait aucunement ni la détection de SPC1 ni la détection et la quantification de CMV. 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 de traitement d'échantillons

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 ₁₀ UI/ml du contrôle

Taux de résultats valides

Une analyse rétrospective des données obtenues pendant l'évaluation des performances du NeuMoDx CMV Assay sur les NeuMoDx Systems a été utilisée pour déterminer le pourcentage de résultats valides. Les résultats de tests valides sont signalés comme Positive (Positif) ou Negative (Négatif) ; les résultats de tests non valides sont rapportés comme Indéterminés (Indeterminate, IND) ou non résolus (Unresolved, UNR) en fonction du statut d'amplification de la cible et du contrôle des processus de traitement d'échantillons. Un résultat IND (Indéterminé) est généralement dû à une erreur d'instrument entraînant un échec d'amplification de la cible et/ou du contrôle interne des processus. Un résultat UNR (Non résolu) est attribué aux échantillons lorsqu'il se produit un échec d'amplification de la cible et du contrôle interne des processus sans que soit détectée une défaillance de l'instrument. L'analyse rétrospective a porté sur 1 100 résultats individuels de NeuMoDx CMV Quant Assay, qui comprenaient des données obtenues sur les NeuMoDx 288 et NeuMoDx 96 Systems. Il a été déterminé un taux d'UNR (Non résolu) de 0,91 % (10/1100) et un taux d'IND (Indéterminé) de 0,36 % (4/1100), satisfaisant aux critères d'acceptation de l'analyse. Par conséquent, le taux de résultats valides du NeuMoDx CMV Assay pour l'ensemble des NeuMoDx Systems était de 98,7 % (IC à 95 % de 97,9 à 99,2).

Contamination croisée

Le taux de contamination croisée pour le NeuMoDx CMV Quant Assay a été déterminé en testant trois jeux d'échantillons de CMV avec une alternance d'échantillons positifs hauts et négatifs. Au total, les tests ont porté sur 108 réplicats de plasma négatif au CMV et 108 réplicats d'un plasma auquel était ajouté du CMV à 6,0 log₁₀ UI/ml. Les 108 réplicats de l'échantillon négatif ont tous été rapportés comme négatifs, démontrant l'absence de contamination croisée lors du traitement des échantillons sur le NeuMoDx System.

Équivalence des matrices d'échantillons

Des tests ont été effectués pour démontrer l'équivalence des matrices d'échantillons entre le sang total collecté dans des tubes de prélèvement contenant soit de l'EDTA (acide éthylène diamine tétra-acétique), soit de l'ACD (citrate-dextrose-acide) pour la préparation du plasma. Des tests supplémentaires ont été effectués pour déterminer l'équivalence entre les échantillons de plasma frais et congelés (prélevés dans les deux types de tubes). Les échantillons frais 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. L'équivalence a été déterminée par analyse de régression des résultats en comparant les échantillons de plasma frais avec les échantillons congelés, ainsi que les échantillons de plasma sur EDTA avec les échantillons de plasma sur ACD. Les données ont montré une excellente équivalence entre les échantillons de plasma sur EDTA et sur ACD, et entre les échantillons de plasma frais et congelés, avec des pentes comprises entre 0,02 et 1,0 et un très faible biais (ordonnée à l'origine), comme le montre le *tableau 11* ci-dessous.

Tableau 11 : Équivalence des matrices d'échantillons

Paramètre requis	ACD vs K2EDTA		Frais vs congelé	
	Frais	Congelé	ACD	EDTA
Pente [0,9 à 1,1]	1,000	0,982	1,014	1,000
Ordonnée à l'origine [$< 0,5 \log_{10}$ UI/ml]	-0,050	0,018	-0,061	0,020
Valeur $p > 0,05$	0,848	0,644	0,895	0,631

Comparaison des méthodes cliniques

Les performances quantitatives du NeuMoDx CMV Quant Assay ont été évaluées par rapport à des dosages de comparaison approuvés par la FDA/CE en testant des échantillons cliniques non dilués provenant de patients infectés par le CMV. Les tests ont été effectués en interne chez NeuMoDx dans une étude en simple insu à l'aide d'échantillons cliniques résiduels anonymisés obtenus auprès de quatre laboratoires de référence externes. Au total, 284 échantillons de plasma ont été traités à l'aide du NeuMoDx CMV Quant Assay en simple insu sur plusieurs NeuMoDx Molecular Systems.

Les erreurs de traitement et les erreurs système survenues sur les différents NeuMoDx Molecular Systems étaient minimales et répondaient aux critères. Au total, 3 résultats Indeterminate (Indéterminés, IND) ont été obtenus pour les échantillons, ce qui a donné un taux initial global IND de 1 % avec un IC à 95 % (0,27 à 3,32 %). Le volume était insuffisant pour retraiter ces 3 échantillons dans le cadre de la méthode normale. Dix résultats Unresolved (Non résolu, UNR) ont été obtenus initialement, mais en suivant la procédure recommandée pour le CMV Quant Assay, à savoir une dilution de 1:10 dans Basematrix pour les résultats UNR, des résultats valides ont été obtenus lors du nouveau test des dix échantillons UNR dilués de manière appropriée. Par conséquent, le taux d'erreur de traitement total était de 1,06 % avec un IC à 95 % (0,27 % à 3,3 %) en raison des résultats Indeterminate (Indéterminés) qui n'ont pas pu être testés à nouveau à cause d'un volume insuffisant.

Quatre échantillons ont généré un indicateur Quantitation Error (Erreur de quantification) et trois d'entre eux ont pu être testés à nouveau selon la procédure recommandée en utilisant une dilution de 1:10 de l'échantillon dans Basematrix afin d'obtenir un résultat quantitatif valide. Sur les 283 résultats valides obtenus dans l'étude, 129 échantillons ont été signalés Positive (Positifs) par le NeuMoDx CMV Assay avec les valeurs de concentration correspondantes attribuées par les tests de référence. Selon le test de référence, pour six de ces échantillons, cinq étaient inférieurs au LLoQ et un était supérieur à la ULoQ. Au total, 123 échantillons avaient donc des valeurs de concentration correspondantes attribuées à la fois par le NeuMoDx CMV Quant Assay et par les tests de CE-DIV de référence et ont été utilisés pour l'analyse de corrélation quantitative. Des analyses de régression de Deming et de Passing-Bablok ont été utilisées pour établir une corrélation entre les valeurs de concentration du NeuMoDx CMV Assay et les valeurs rapportées par les tests de référence.

Les graphiques d'équivalence ont été établis pour représenter la corrélation entre les concentrations du NeuMoDx CMV Quant Assay et les valeurs de concentration des tests de référence pour tous les échantillons testés à l'aide d'analyses de régression de Deming et de Passing-Bablok, et sont illustrés dans la *figure 5*.

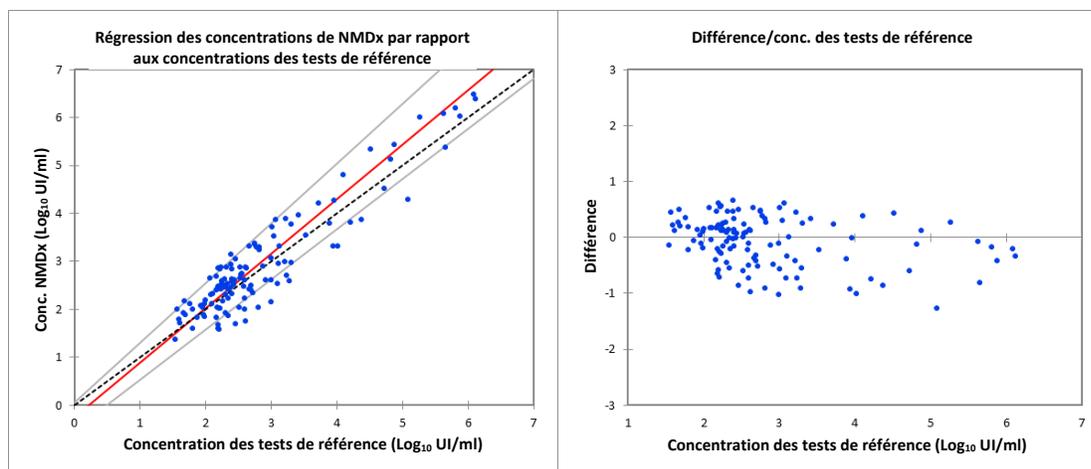


Figure 5 : Graphique d'équivalence (à gauche) et des différences (à droite) – Analyse cumulative (pour les deux NeuMoDx Systems) des résultats du NeuMoDx CMV Quant Assay comparés aux résultats des tests de référence pour TOUS les échantillons d'après l'analyse de régression de Passing-Bablok.

La qualité de la courbe de régression de Deming est indiquée par la pente de 1,1 avec un IC 95 % de (1,0, 1,2), ainsi que par l'ordonnée à l'origine (biais) de -0,18 avec un IC à 95 % de (-0,39, 0,03), démontrant le biais acceptable et la forte corrélation entre les résultats de concentration obtenus avec le NeuMoDx CMV Quant Assay et les tests de référence. La qualité de la courbe de régression de Passing-Bablok est indiquée par la pente de 1,1 avec un IC à 95 % de (1,0, 1,2), ainsi que par l'ordonnée à l'origine de (biais) de -0,24 avec un IC à 95 % de (-0,51, 0,06), démontrant le biais acceptable et la forte corrélation entre les résultats de concentration obtenus avec le NeuMoDx CMV Quant Assay et les tests de référence. Les analyses de régression sont résumées dans le *tableau 12*.

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
-0,18	1,1	-0,24	1,1
IC à 95 % (-0,39, 0,03)	IC à 95 % (1,0, 1,2)	IC à 95 % (-0,51, 0,06)	IC à 95 % (1,0, 1,2)

RÉFÉRENCES

- Centers for Disease Control (CDC). Cytomegalovirus (CMV) and Congenital CMV Infection. (2018). Retrieved from <https://www.cdc.gov/cm/clinical/features.html>
- Kraft, C. S., Armstrong, W. S., & Caliendo, A. M. (2012). Interpreting quantitative cytomegalovirus DNA testing: understanding the laboratory perspective. *Clinical infectious diseases*, 54(12), 1793-1797.
- A Ross, S., Novak, Z., Pati, S., & B Boppana, S. (2011). Overview of the diagnosis of cytomegalovirus infection. *Infectious Disorders-Drug Targets (Formerly Current Drug Targets-Infectious Disorders)*, 11(5), 466-474.
- Centers for Disease Control and Prevention. Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories, 6th edition. HHS Publication HHS Publication No. (CDC) 300859, Revised June 2020
- 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™ est une marque commerciale de NeuMoDx Molecular, Inc.
 NeuDry™ est une marque commerciale de NeuMoDx Molecular, Inc.
 TaqMan® est une marque déposée de Roche Molecular Systems, Inc.

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

SYMBOLES

Les symboles suivants peuvent apparaître dans le mode d'emploi ou sur l'emballage et l'étiquetage :

SYMBOLE	SIGNIFICATION
R only	Sur ordonnance uniquement
	Fabricant
IVD	Dispositif médical de diagnostic <i>in vitro</i>
EC REP	Représentant autorisé au sein de la Communauté européenne
REF	Numéro de référence
LOT	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
CE	Marquage CE
	Risque pour la santé
	Danger



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

Support technique/Pour obtenir de l'aide : support.qiagen.com
Brevet : www.neumodx.com/patents



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

