

## **cobas**<sup>®</sup> **CMV**

**Test quantitatif sur acides nucléiques  
à utiliser avec le cobas<sup>®</sup> 4800 System**

*Destiné au diagnostic in vitro*

<b>cobas<sup>®</sup> CMV</b>	120 Tests	P/N : 07865970190
<b>cobas<sup>®</sup> CMV Control Kit</b>	10 Sets	P/N : 07865988190
<b>cobas<sup>®</sup> 4800 System Sample Preparation Kit 2</b>	240 Tests 960 Tests	P/N : 06979513190 P/N : 06979521190
<b>cobas<sup>®</sup> 4800 System Wash Buffer Kit</b>	240 Tests 960 Tests	P/N : 05235863190 P/N : 05235871190
<b>cobas<sup>®</sup> 4800 System Lysis Kit 2</b>	240 Tests 960 Tests	P/N : 06979530190 P/N : 06979548190

## TABLE DES MATIÈRES

### Usage prévu

#### Résumé et explication du test

Contexte.....	4
Pourquoi employer les tests d'amplification génétique du CMV ? .....	5
Explication du test.....	5
Principes de la procédure .....	5

#### Matériel et réactifs

Réactifs.....	7
Conditions de manipulation et de stockage des réactifs.....	12
Matériel supplémentaire nécessaire.....	12
Instruments et logiciels nécessaires mais non fournis .....	12
Tubes échantillon manquants .....	13

#### Précautions et conditions de manipulation

Avertissements et précautions.....	13
Bonnes pratiques de laboratoire.....	14
Manipulation des réactifs .....	14
Contamination.....	15
Intégrité.....	15
Élimination des déchets.....	15
Éclaboussures et nettoyage.....	15

#### Prélèvement, transport et conservation des échantillons

Prélèvement des échantillons.....	16
Conservation et stabilité des échantillons lors du transport .....	16

#### Instructions d'utilisation

Exécution du test .....	17
Taille des runs .....	17
Procédure de travail .....	18

#### Résultats

Contrôle qualité et validité des résultats .....	20
Interprétation des résultats des contrôles .....	20
Interprétation des résultats .....	21
Liste des messages .....	22
Limites du test.....	23

**Évaluation des performances non cliniques**

Caractéristiques clés des performances.....	24
Limite de détection (LoD).....	24
Standard international de l'OMS .....	24
Domaine de linéarité.....	24
Précision intra-laboratoire.....	26
Inclusivité .....	26
Vérification de la limite de détection pour les géotypes de la glycoprotéine B gB-2, gB-3 et gB-4.....	26
Vérification du domaine de linéarité pour les géotypes gB-2, gB-3 et gB-4 de la glycoprotéine B.....	27
Vérification des échantillons du CMV résistants aux médicaments .....	27
Vérification de la limite de détection pour les échantillons du CMV résistants aux médicaments (foscarnet ou ganciclovir, valganciclovir et cidofovir).....	27
Vérification du domaine de linéarité pour les échantillons du CMV résistants aux médicaments (foscarnet ou ganciclovir, valganciclovir et cidofovir).....	27
Spécificité analytique .....	28
Spécificité analytique – substances interférentes.....	29
Échec complet du système .....	29
Contamination croisée .....	29

**Évaluation des performances cliniques**

Corrélation de la méthode .....	30
Spécificité.....	30

**Informations supplémentaires**

Caractéristiques clés du test.....	31
Symboles.....	32
Assistance technique.....	33
Fabricant et importateur .....	33
Marques commerciales et brevets.....	33
Copyright.....	33
Références.....	34
Révision du document.....	36

## Usage prévu

**cobas® CMV** est un test *in vitro* d'amplification des acides nucléiques pour la détermination quantitative de l'ADN du cytomégalo­virus (CMV) dans le plasma EDTA humain. **cobas® CMV** est prévu pour contribuer au diagnostic et à la gestion du CMV chez les patients receveurs de greffe d'organe solide et chez les patients receveurs de greffe de cellules souches hématopoïétiques. Le test peut être utilisé pour évaluer la nécessité de mettre en place un traitement antiviral chez ces patients. Chez les patients recevant un traitement anti-CMV, des mesures d'ADN en série peuvent être effectuées pour évaluer la réponse virale au traitement. Les résultats du test **cobas® CMV** doivent être interprétés en tenant compte de tous les résultats cliniques et de laboratoire pertinents.

## Résumé et explication du test

### Contexte

Le cytomégalo­virus humain (CMV) est un agent pathogène viral humain appartenant à la famille des herpès­virus, rencontré chez tous les types de populations, partout dans le monde.<sup>1,2</sup> Chez les hôtes immunocompétents, les infections au CMV sont souvent asymptomatiques mais les infections primaires peuvent se présenter sous la forme d'un syndrome de type mononucléosique. Une fois acquis, le CMV persiste généralement sous la forme d'une infection latente à vie pouvant se réactiver par intermittence. Les cellules mononuclées de sang périphérique de la lignée myéloïde (mais pas les lymphocytes) et les cellules endothéliales semblent être les principaux sites d'infection au CMV.<sup>3</sup> Chez les humains, le CMV reste au stade latent dans les monocytes/macrophages.<sup>2</sup> Les individus porteurs d'une infection latente peuvent excréter des fluides corporels contenant le virus (par exemple, de l'urine, de la salive) de manière asymptomatique et ainsi infecter d'autres personnes. Le risque de développement d'une infection primaire sévère au CMV ou de réactivations du CMV latent pouvant conduire à un taux élevé de morbidité et de mortalité est élevé chez les individus immunodéprimés, y compris les nouveau-nés, les patients greffés et les patients atteints du SIDA.<sup>4</sup> Les manifestations sévères de la maladie à CMV comprennent la rétinite, la polyradiculopathie, la gastroentérite, l'hépatite, l'encéphalite, l'œsophagite, l'entérocolite, la pancréatite, la néphrite, le rejet de l'organe greffé, la pneumonite et le syndrome viral du CMV.<sup>2,5,6</sup>

Les connaissances actuelles concernant les seuils cliniquement pertinents de développement de la maladie à CMV sont issues de nombreuses études reposant sur des technologies, des populations d'étude et des points finaux différents.<sup>7-14</sup> En général, les charges virales élevées sont plus étroitement associées au risque de développement de la maladie à CMV. La relation entre virémie et maladie est sigmoïde, ce qui signifie que le risque de maladie à CMV augmente significativement une fois que la charge virale du CMV a atteint un « seuil critique ». Par exemple, lorsqu'un test d'ADN du CMV de sang total développé en laboratoire a été utilisé pour tester des receveurs de greffe du foie, le seuil critique était  $\geq 5 \log_{10}$  copies/mL d'ADN du CMV.<sup>12</sup> Chez les patients atteints du VIH/SIDA, les niveaux d'ADN du CMV ont été corrélés au risque de maladie à CMV et à une mortalité globale.<sup>13-18</sup>

Cependant, les méthodes actuelles de quantification de l'ADN du CMV développées en laboratoire sont limitées par le manque de résultats standardisés, lequel peut entraîner une variabilité inter-laboratoire et inter-analyse élevée.<sup>17</sup> La validation de la reproductibilité de la charge virale de l'ADN du CMV est critique pour assurer la constance des résultats et pour la gestion des patients atteints par la maladie à CMV. Les directives actuelles s'appuyant sur la précision des tests PCR suggèrent que les variations dans les mesures en série de charges virales devraient être au moins triples ( $0,5 \log_{10}$  copies/mL) pour représenter des changements biologiquement importants. Étant donné que la variabilité est à son maximum lorsque les concentrations sont faibles, les variations de charge virale peuvent devoir être quintuples ( $0,7 \log_{10}$ ) lorsque les valeurs de titre sont proches de la limite de quantification inférieure du dosage pour pouvoir être considérées comme significatives.<sup>9,19</sup>

Bien que le seuil exact soit toujours sujet à débat en raison de la variabilité inter-analyse, le concept de seuil critique semble valide et a été rapporté dans des études de l'histoire naturelle démontrant que les valeurs élevées de charge virale sont corrélées à un risque accru de développement de la maladie à CMV.<sup>7-12</sup> Une étude utilisant le test COBAS® AMPLICOR CMV MONITOR (test CACM, test réservé à la recherche aux États-Unis et approuvé CE-IVD) a établi un seuil de prédiction de la maladie situé entre 2 000 et 5 000 copies/mL chez les receveurs de greffe du foie séropositifs au CMV.<sup>8</sup>

## Pourquoi employer les tests d'amplification génétique du CMV ?

Les méthodes de laboratoire pour diagnostiquer une infection disséminée et une maladie viscérale active pour le CMV humain comprennent l'isolation du virus par culture à partir de leucocytes du sang périphérique (ou PBL pour peripheral blood leukocytes), l'histologie des biopsies, les méthodes sérologiques, la mesure de l'antigénémie pp65 et la détection de l'ADN du CMV par PCR (polymerase chain reaction)<sup>18</sup>. La sérologie n'a de valeur que pour déterminer si un patient a déjà été infecté par le CMV et s'il présente un risque de réactivation. Les méthodes de culture présentent une faible valeur prédictive, nécessitent un temps de rendu des résultats de plus de 48 heures et sont d'une utilisation limitée chez les patients immunodéprimés. Le test d'antigénémie pp65 demande beaucoup de travail et nécessite un traitement du sang dans les 6 heures suivant le prélèvement en raison de la diminution de l'antigénémie pendant la conservation.<sup>20</sup> Le test du gène pp65 est également difficile à effectuer sur des patients neutropéniques. La détection directe de l'ADN du CMV par les méthodes de PCR en temps réel, par exemple, peut offrir un large domaine de linéarité, ainsi qu'une précision et une sensibilité élevées.

## Explication du test

Le test **cobas**® CMV est un test quantitatif exécuté sur le **cobas**® 4800 System. Le test **cobas**® CMV permet la détection et la quantification de l'ADN du CMV conformément au premier standard international de l'OMS pour le CMV humain dans le plasma EDTA de patients infectés. La charge virale est quantifiée par rapport à un standard de quantification d'ADN non-CMV (DNA QS) qui est introduit dans chaque échantillon lors de la préparation des échantillons. Le DNA QS permet également de surveiller l'ensemble du processus de préparation des échantillons et d'amplification par PCR. En outre, le test utilise trois contrôles : un contrôle positif de titre élevé, un contrôle positif de titre faible et un contrôle négatif. Les contrôles externes positif haut et positif bas sont obtenus par dilution à partir du matériel de stock avec un titre conforme au standard international de l'OMS pour le CMV. Chaque lot de kits d'amplification/détection est calibré conformément au standard international de l'OMS pour le CMV.

## Principes de la procédure

**cobas**® CMV repose sur la préparation entièrement automatisée des échantillons (extraction et purification des acides nucléiques) suivie de l'amplification et de la détection par PCR. Le **cobas**® 4800 System comprend le **cobas x 480** instrument et le **cobas z 480 analyzer**. La gestion automatisée des données est réalisée par le **cobas**® 4800 software, lequel attribue à chaque test l'un des résultats suivants : cible non détectée, < LLoQ (en dessous de la limite inférieure de quantification), > ULoQ (au-dessus de la limite supérieure de quantification) ou ADN du CMV détecté, valeur dans le domaine de linéarité  $LLoQ \leq x \leq ULoQ$ . Les résultats peuvent être consultés directement sur l'écran du système, exportés ou imprimés sous forme de rapports.

Les acides nucléiques des échantillons de patient, des contrôles externes et des molécules de standard de quantification d'ADN lambda (DNA QS) ajoutées sont extraits simultanément. Les acides nucléiques viraux sont libérés par l'ajout de protéinase et de réactif de lyse à l'échantillon. Les acides nucléiques libérés se lient à la surface siliciée des particules magnétiques de verre ajoutées. Les substances non liées et les impuretés, telles que les protéines dénaturées, les débris cellulaires et les inhibiteurs potentiels de la PCR, sont éliminées lors des étapes de tampon de lavage suivantes, et les acides nucléiques purifiés sont séparés des particules magnétiques de verre à l'aide de tampon d'éluion à température élevée.

L'amplification sélective de l'acide nucléique cible dans l'échantillon est effectuée à l'aide d'amorces sens et antisens spécifiques aux virus cibles, sélectionnées dans des régions hautement conservées du gène de l'ADN polymérase du CMV (UL54). L'amplification sélective du QS ADN est effectuée à l'aide d'amorces sens et antisens spécifiques à la séquence, sélectionnées de manière à ne présenter aucune homologie avec le génome du CMV. Une enzyme ADN polymérase thermostable est utilisée pour l'amplification. Les séquences cibles et DNA QS sont amplifiées simultanément à l'aide d'un profil d'amplification par PCR universel composé de paliers de température et d'un nombre de cycles prédéfinis. Le master mix comprend de la désoxyuridine triphosphate (dUTP) à la place de la désoxythymidine triphosphate (dTTP), incorporée dans l'ADN nouvellement synthétisé (amplicon). Tout amplicon contaminant provenant de runs de PCR précédents est éliminé par l'enzyme AmpErase, laquelle est incluse dans le mélange PCR, lorsqu'il est chauffé au cours de la première étape de thermocyclage.<sup>21-23</sup> Toutefois, les amplicons nouvellement formés ne sont pas éliminés, car l'enzyme AmpErase est désactivée une fois exposée à une température supérieure à 55 °C.



Le master mix **cobas**® CMV contient une sonde de détection spécifique aux séquences cibles de CMV et une sonde spécifique au DNA QS. Les sondes sont marquées au moyen de fluorophores rapporteurs fluorescents spécifiques aux cibles permettant la détection simultanée de cible de CMV et de DNA QS dans deux canaux de détection différents.<sup>24, 25</sup> Les signaux fluorescents des sondes intactes non liées à la séquence cible sont supprimés par un fluorophore quencher. Lors de l'étape d'amplification par PCR, l'hybridation des sondes à la matrice d'ADN monocaténaire spécifique entraîne un clivage de la sonde par l'activité nucléase 5' à 3' de l'ADN polymérase, ce qui conduit à une séparation du fluorophore rapporteur et du fluorophore quencher et à la génération d'un signal fluorescent. À chaque cycle PCR, des quantités croissantes de sondes clivées sont générées et le signal cumulatif du fluorophore rapporteur augmente simultanément. La détection et la discrimination en temps réel des produits PCR sont effectuées en mesurant la fluorescence des fluorophores rapporteurs libérés pour les cibles virales et le DNA QS.

## Matériel et réactifs

### Réactifs


Tous les réactifs et contrôles non ouverts doivent être conservés selon les recommandations du tableau Conditions de manipulation et de stockage des réactifs.

Kit	Composants et ingrédients des réactifs	Quantité par kit	Symboles de sécurité et avertissements
cobas® CMV 120 tests (P/N : 07865970190)	<b>MMX R1</b> (Réactif de master mix 1 cobas®) Acétate de manganèse, hydroxyde de potassium, < 0,1 % d'azide de sodium	10 × 1,75 mL	N/A
	<b>CMV MMX R2</b> (Réactif de master mix 2 cobas® CMV) Tampon de tricine, acétate de potassium, 18 % de sulfoxyde de diméthyle, glycérol, < 0,1 % de Tween 20, EDTA, < 0,12 % de dATP, dCTP, dGTP, dUTP, < 0,01 % d'amorces sens et antisens de CMV, < 0,01 % d'amorces sens et antisens de standard de quantification, < 0,01 % de sondes oligonucléotidiques marquées par fluorescence spécifiques au CMV et au standard de quantification, < 0,01 % d'aptamère d'oligonucléotide, < 0,01 % d'ADN polymérase Z05D (microbienne), < 0,01% d'enzyme (microbienne) AmpErase (uracil-N-glycosylase), < 0,1 % d'azide de sodium	10 × 0,5 mL	N/A
	<b>QS ADN</b> (ADN du standard de quantification cobas®) Tampon Tris, < 0,05 % d'EDTA, < 0,001 % de construction d'ADN non-CMV contenant un site de liaison aux amorces non-CMV et un site unique de liaison à la sonde (ADN non infectieux), 0,002 % d'ARN Poly rA (synthétique), < 0,1 % d'azide de sodium	10 × 1,75 mL	N/A


Kit	Composants et ingrédients des réactifs	Quantité par kit	Symboles de sécurité et avertissements <sup>a</sup>
<b>cobas® CMV Control Kit</b> 10 sets (P/N : 07865988190)	<b>CMV L(+)<b>C</b></b> (Contrôle faiblement positif <b>cobas®</b> CMV) < 0,001 % d'ADN (plasmidique) synthétique de CMV encapsulé dans la protéine enveloppe bactériophage lambda, plasma humain normal, non réactif aux tests agréés pour les anticorps anti-VHC, anticorps anti-VIH-1/2, AgHBs, anticorps anti-HBc ; ARN du VIH-1, ARN du VIH-2, ARN du VHC, ADN du VHB, ARN du VHE, ARN du WNV et ADN du CMV non détectables par les méthodes de PCR. 0,1 % de conservateur ProClin® 300	10 × 0,75 mL	  <b>ATTENTION</b> H317 : Peut provoquer une allergie cutanée. P261 : Éviter de respirer les poussières/fumées/gaz/brouillards/vapeurs/aérosols. P272 : Les vêtements de travail contaminés ne devraient pas sortir du lieu de travail. P280 : porter des gants de protection. P333 + P313 : En cas d'irritation ou d'éruption cutanée : consulter un médecin. P362 + P364 : Enlever les vêtements contaminés et les laver avant réutilisation. P501 : Éliminer le contenu/récipient dans une installation d'élimination des déchets agréée.
	<b>CMV H(+)<b>C</b></b> (Contrôle fortement positif <b>cobas®</b> CMV) < 0,001 % d'ADN (plasmidique) synthétique à titre élevé de CMV encapsulé dans la protéine enveloppe bactériophage lambda, plasma humain normal, non réactif aux tests agréés pour les anticorps anti-VHC, anticorps anti-VIH-1/2, AgHBs, anticorps anti-HBc ; ARN du VIH-1, ARN du VIH-2, ARN du VHC, ADN du VHB, ARN du VHE, ARN du WNV et ADN du CMV non détectables par les méthodes de PCR. 0,1 % de conservateur ProClin® 300	10 × 0,75 mL	
	<b>(-)<b>C</b>2</b> (Contrôle négatif 2 <b>cobas®</b> ) Plasma humain normal, non réactif aux tests agréés pour les anticorps anti-VHC, anticorps anti-VIH-1/2, AgHBs, anticorps anti-HBc ; ARN du VIH-1, ARN du VIH-2, ARN du VHC, ADN du VHB, ARN du VHE, ARN du WNV et ADN du CMV non détectables par les méthodes de PCR. < 0,1 % de conservateur ProClin® 300	10 × 0,75 mL	

<sup>a</sup> Les mentions de sécurité du produit sont conformes en premier lieu au SGH de l'UE.

Kit	Composants et ingrédients des réactifs	Quantité par kit	Symboles de sécurité et avertissements
<b>cobas® 4800 System</b> Sample Preparation Kit 2 (Kit de préparation des échantillons 2 du <b>cobas® 4800 System</b> ) 240 tests (P/N : 06979513190)	<b>MGP 2</b> (Réactif 2 <b>cobas® 4800 MGP</b> ) Particules magnétiques de verre, tampon Tris, 0,1 % de 4-hydroxybenzoate de méthyle, < 0,1 % d'azide de sodium	10 × 8 mL	N/A
	<b>EB 2</b> (Tampon d'élution 2 <b>cobas® 4800</b> ) Tampon Tris, 0,2 % de 4-hydroxybenzoate de méthyle	10 × 17 mL	
<b>cobas® 4800 System</b> Sample Preparation Kit 2 (Kit de préparation des échantillons 2 du <b>cobas® 4800 System</b> ) 960 tests (P/N : 06979521190)	<b>MGP 2</b> (Réactif 2 <b>cobas® 4800 MGP</b> ) Particules magnétiques de verre, tampon Tris, 0,1 % de 4-hydroxybenzoate de méthyle, < 0,1 % d'azide de sodium	10 × 16 mL	N/A
	<b>EB 2</b> (Tampon d'élution 2 <b>cobas® 4800</b> ) Tampon Tris, 0,2 % de 4-hydroxybenzoate de méthyle	10 × 17 mL	
<b>cobas® 4800 System</b> Wash Buffer Kit (Kit de tampons de lavage du <b>cobas® 4800 System</b> ) 240 tests (P/N : 05235863190)	<b>WB</b> Citrate de sodium dihydraté, 0,05 % de N-Méthylisothiazolone-HCl	10 × 55 mL	N/A
<b>cobas® 4800 System</b> Wash Buffer Kit (Kit de tampons de lavage du <b>cobas® 4800 System</b> ) 960 tests (P/N : 05235871190)	<b>WB</b> Citrate de sodium dihydraté, 0,05 % de N-Méthylisothiazolone-HCl	10 × 200 mL	N/A

Kit	Composants et ingrédients des réactifs	Quantité par kit	Symboles de sécurité et avertissements <sup>a</sup>
<b>cobas® 4800 System</b> Lysis Kit 2 (Kit de lyse 2 du <b>cobas®</b> 4800 System) 240 tests (P/N : 06979530190)	<b>P 2</b> (Protéase 2 <b>cobas®</b> 4800) Tampon Tris, < 0,05 % d'EDTA, chlorure de calcium, acétate de calcium, 8 % de protéinase (m/v)	10 × 1,0 mL	 <b>DANGER</b> H302 + H332 : Nocif en cas d'ingestion ou par inhalation. H317 : Peut provoquer une allergie cutanée. H318 : Provoque des lésions oculaires graves. H334 : Peut provoquer des symptômes allergiques ou d'asthme ou des difficultés respiratoires par inhalation.
	<b>LYS 2</b> ( <b>cobas®</b> 4800 Lysis Buffer 2) 43 % (m/m) de thiocyanate de guanidine, 5 % (m/v) de polidocanol, 2 % (m/v) de dithiothréitol, citrate de sodium dihydraté	10 × 27 mL	H412 : Nocif pour les organismes aquatiques, entraîne des effets néfastes à long terme. EUH032 : Au contact d'un acide, dégage un gaz très toxique. P261 : Éviter de respirer les poussières/fumées/gaz/brouillards/vapeurs/aérosols. P280 : Porter des gants de protection/un équipement de protection des yeux/du visage. P284 Porter un équipement de protection respiratoire. P304 + P340 + P312 : EN CAS D'INHALATION : transporter la personne à l'extérieur et la maintenir dans une position où elle peut confortablement respirer. Appeler un CENTRE ANTIPOISON ou un médecin en cas de malaise. P305 + P351 + P338 + P310 : EN CAS DE CONTACT AVEC LES YEUX : rincer avec précaution à l'eau pendant plusieurs minutes. Enlever les lentilles de contact si la victime en porte et si elles peuvent être facilement enlevées. Continuer à rincer. Appeler immédiatement un CENTRE ANTIPOISON/un médecin. P342 + P311 : En cas de symptômes respiratoires : Appeler un CENTRE ANTIPOISON/un médecin.

<sup>a</sup> Les mentions de sécurité du produit sont conformes en premier lieu au SGH de l'UE.

Kit	Composants et ingrédients des réactifs	Quantité par test	Symboles de sécurité et avertissements <sup>a</sup>
<b>cobas® 4800 System</b> Lysis Kit 2 (Kit de lyse 2 du <b>cobas®</b> 4800 System) 960 tests (P/N : 06979548190)	<b>P 2</b> (Protéase 2 <b>cobas®</b> 4800) Tampon Tris, < 0,05 % d'EDTA, chlorure de calcium, acétate de calcium, 8 % de protéinase (m/v)	10 × 1,0 mL	 <p><b>DANGER</b></p> <p>H302 + H332 : Nocif en cas d'ingestion ou par inhalation.</p> <p>H317 : Peut provoquer une allergie cutanée.</p> <p>H318 : Provoque des lésions oculaires graves.</p> <p>H334 : Peut provoquer des symptômes allergiques ou d'asthme ou des difficultés respiratoires par inhalation.</p> <p>H412 : Nocif pour les organismes aquatiques, entraîne des effets néfastes à long terme.</p>
	<b>LYS 2</b> ( <b>cobas®</b> 4800 Lysis Buffer 2) 43 % (m/m) de thiocyanate de guanidine, 5 % (m/v) de polidocanol, 2 % (m/v) de dithiothréitol, citrate de sodium dihydraté	10 × 84 mL	<p>EUH032 : Au contact d'un acide, dégage un gaz très toxique.</p> <p>P261 : Éviter de respirer les poussières/fumées/gaz/brouillards/vapeurs/aérosols.</p> <p>P280 : Porter des gants de protection/ un équipement de protection des yeux/ du visage.</p> <p>P284 : Porter un équipement de protection respiratoire.</p> <p>P304 + P340 + P312 : EN CAS D'INHALATION : transporter la personne à l'extérieur et la maintenir dans une position où elle peut confortablement respirer. Appeler un CENTRE ANTI-POISON ou un médecin en cas de malaise.</p> <p>P305 + P351 + P338 + P310 : EN CAS DE CONTACT AVEC LES YEUX : rincer avec précaution à l'eau pendant plusieurs minutes. Enlever les lentilles de contact si la victime en porte et si elles peuvent être facilement enlevées. Continuer à rincer. Appeler immédiatement un CENTRE ANTIPOISON/un médecin.</p> <p>P342 + P311 : En cas de symptômes respiratoires : Appeler un CENTRE ANTIPOISON/un médecin.</p>

<sup>a</sup> Les mentions de sécurité du produit sont conformes en premier lieu au SGH de l'UE.

## Conditions de manipulation et de stockage des réactifs

Réactif	Température de conservation	Durée de conservation
<b>cobas</b> ® CMV	2–8 °C	Stable jusqu'à la date d'expiration mentionnée
<b>cobas</b> ® CMV Control Kit*	2–8 °C	Stable jusqu'à la date d'expiration mentionnée
<b>cobas</b> ® 4800 System Sample Preparation Kit 2	2–8 °C	Stable jusqu'à la date d'expiration mentionnée
<b>cobas</b> ® 4800 System Wash Buffer Kit	15–25 °C	Stable jusqu'à la date d'expiration mentionnée
<b>cobas</b> ® 4800 System Lysis Kit 2	2–8 °C	Stable jusqu'à la date d'expiration mentionnée

\* Conserver la boîte de kit de contrôles en position verticale.

Ne pas congeler les réactifs.

## Matériel supplémentaire nécessaire

Matériel	P/N
Plaque d'extraction (à puits profonds) de 2,0 mL du <b>cobas</b> ® 4800 System	06884008001
Plaque AD (à micropuits) de 0,3 mL du <b>cobas</b> ® 4800 System	05232724001
Applicateur pour film d'étanchéité	04900383001
Embouts CO-RE, 1 000 µL, rack de 96	04639642001
Réservoir de réactifs 200 mL	05232759001
Réservoir de réactifs 50 mL	05232732001
Portoir à 24 emplacements	04639502001
Portoir à 32 emplacements	04639529001
Sac à déchets solide	05530873001 (petit) ou 04691989001 (grand)
Dévidoir à déchets Hamilton STAR	04639669001
Gants jetables, non poudrés	Tous les gants jetables non poudrés sont acceptables.
Mélangeur Vortex (tube unique)	Tous les mélangeurs Vortex sont acceptables.
Centrifugeuse équipée d'un rotor à godet mobile avec une FCR minimale de 1500	Toutes les centrifugeuses appropriées sont acceptables.

Pour de plus amples informations sur le matériel vendu séparément, veuillez vous adresser à votre représentant local Roche.

## Instruments et logiciels nécessaires mais non fournis

Instruments et logiciels nécessaires, non fournis
<b>cobas</b> ® 4800 System <b>cobas x</b> 480 instrument <b>cobas z</b> 480 analyzer Unité de contrôle
Logiciel d'application (Core) version 2.2 ou ultérieure pour le <b>cobas</b> ® 4800 System
<b>cobas</b> ® CMV AP v1.2.0 ou ultérieure pour le <b>cobas</b> ® 4800 System

**Remarque :** contacter le représentant Roche local pour obtenir une liste d'ordre détaillée des racks d'échantillons, racks d'embouts, portoirs de réactifs et portoirs de plaques acceptés sur les instruments.

## Tubes échantillon manquants

Le test accepte les tubes échantillon primaires et secondaires couramment utilisés.

Les tubes échantillon suivants sont pris en charge :

### Tubes primaires (volume de traitement de 400 µL)

Diamètre nominal (mm)	Volume d'échantillon – sang total (centrifugé) traité	Tube de plasma EDTA
11-14	1 800 µL ou plus	Avec ou sans gel
14,5-16	Plus de 4 000 µL	Avec ou sans gel

Pour obtenir des informations relatives à des demandes de tubes échantillon spécifiques et prendre connaissance des volumes d'échantillon minimum pour des tubes primaires spécifiques, contactez votre représentant Roche local.

### Tubes secondaires (volume de traitement de 400 µL)

Diamètre nominal (mm)	Volume d'échantillon
11-16	1 000 µL ou plus (les tubes secondaires spécifiques présentent un volume minimum de moins de 1 000 µL)

Pour obtenir des informations relatives à des demandes de tubes échantillon spécifiques et prendre connaissance des volumes d'échantillon minimum pour des tubes secondaires spécifiques, contactez votre représentant Roche local.

## Précautions et conditions de manipulation

### Avertissements et précautions

De bonnes pratiques de laboratoire sont indispensables pour assurer la qualité de ce test. Du fait de la sensibilité analytique élevée de ce test, il est indispensable d'éviter toute contamination des réactifs, des échantillons et des mélanges d'amplification.

- Destiné uniquement au diagnostic *in vitro*.
- L'utilisation de **cobas**® CMV pour le dépistage du CMV dans le sang ou les produits sanguins n'a pas été évaluée.
- Tous les échantillons de patient doivent être manipulés comme s'ils étaient infectieux, conformément aux bonnes pratiques de laboratoire, telles que celles mentionnées dans Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories ainsi que dans le document M29-A4 du CLSI.<sup>26,27</sup> Seul le personnel expert dans la manipulation du matériel présentant un risque biologique ainsi que dans l'utilisation du test **cobas**® CMV et du **cobas**® 4800 System doit effectuer cette procédure.
- Tout produit d'origine humaine doit être considéré comme potentiellement infectieux et doit être manipulé selon les précautions universelles. **cobas**® CMV Control Kit contient du plasma dérivé de sang humain. Le produit source a été testé non réactif aux tests agréés de détection des anticorps anti-VHC, anticorps anti-VIH-1/2, AgHBs et anticorps anti-HBc. Les tests de plasma humain normal à l'aide des méthodes de PCR ont indiqué qu'aucun ARN du VIH-1 (groupes M et O), ARN du VIH-2, ARN du VHC, ADN du VHB, ARN du HEV, ARN du WNV ni ADN du CMV n'étaient détectables. Toutefois, aucune méthode de test connue ne peut garantir avec une certitude absolue que des produits dérivés de sang humain sont exempts de tout risque de transmission d'agents infectieux.
- Éviter l'exposition de MGP à des sources de champs magnétiques.
- **Ne pas congeler le sang total ni tout échantillon stocké dans des tubes primaires.**

- Utiliser uniquement les consommables nécessaires fournis ou indiqués afin d'assurer des performances de test optimales.
- Les fiches de données de sécurité (ou SDS pour Safety Data Sheets) sont disponibles sur demande auprès de votre représentant Roche local.
- Suivre rigoureusement les procédures et les directives fournies pour assurer le bon déroulement du test. Toute déviation des procédures et directives peut affecter les performances du test.
- Conserver la boîte de kit de contrôles **cobas**® CMV en position verticale.
- Il existe un risque de faux positifs si la contamination croisée des échantillons n'est pas correctement maîtrisée lors de la manipulation et du traitement des échantillons.
- Pour plus d'informations sur les avertissements, précautions et procédures visant à réduire le risque de contamination pour le **cobas** x 480 instrument ou le **cobas** z 480 analyzer, consulter l'Assistance Utilisateur du **cobas**® 4800 System (version actuelle du « Manuel d'utilisation du système »). Si une contamination est suspectée, effectuer un nettoyage et une maintenance hebdomadaire comme décrit dans l'Assistance Utilisateur du **cobas**® 4800 System.
- Informez votre autorité locale compétente au sujet de tout incident grave pouvant survenir lors de l'utilisation de ce test.

*Remarque : pour des instructions spécifiques, voir « Prélèvement, transport et conservation des échantillons ».*

## Bonnes pratiques de laboratoire

- Ne pas pipeter à la bouche.
- Ne pas manger, boire ou fumer dans les zones de travail du laboratoire.
- Bien se laver les mains après la manipulation d'échantillons et de réactifs du kit, et après le retrait des gants.
- Porter des gants de laboratoire, une blouse de laboratoire et des lunettes de protection lors de la manipulation des réactifs. Éviter tout contact de ces produits avec la peau, les yeux ou les muqueuses. En cas de contact, rincer immédiatement et abondamment à l'eau. Sans traitement, des brûlures peuvent être occasionnées. En cas de déversement de réactif, diluer avec de l'eau avant d'essuyer.
- Nettoyer et désinfecter soigneusement tous les plans de travail du laboratoire avec une solution fraîchement préparée d'hypochlorite de sodium à 0,5 % dans de l'eau distillée ou déionisée (eau de Javel ménagère diluée à 1:10). Essuyer ensuite les surfaces avec de l'éthanol à 70 %.
- Maintenez une température constante dans le laboratoire qui se conforme aux spécifications environnementales du système, telles qu'elles sont fournies dans l'Assistance Utilisateur du **cobas**® 4800 System.

## Manipulation des réactifs

- Manipuler tous les réactifs, contrôles et échantillons selon les bonnes pratiques de laboratoire afin d'éviter une contamination croisée des échantillons ou des contrôles.
- Avant utilisation, inspecter visuellement chaque bouteille et chaque flacon de réactif pour détecter tout signe de fuite. En présence de fuite, ne pas utiliser ce matériel pour le test.
- Le tampon de lyse 2 **cobas**® 4800 contient du thiocyanate de guanidine, un produit chimique dangereux. Éviter tout contact des réactifs avec la peau, les yeux ou les muqueuses. En cas de contact, rincer immédiatement et abondamment à l'eau. Il existe sinon un risque de brûlure.
- Les **cobas**® CMV et **cobas**® 4800 Sample Preparation Kit 2 contiennent de l'azide de sodium comme conservateur. Éviter tout contact des réactifs avec la peau, les yeux ou les muqueuses. En cas de contact, rincer immédiatement et abondamment à l'eau. Il existe sinon un risque de brûlure. Si ces réactifs sont renversés, diluer avec de l'eau avant d'essuyer.

- Éviter tout contact entre le tampon de lyse 2 **cobas**® 4800, qui contient du thiocyanate de guanidine, et la solution d'hypochlorite de sodium (eau de javel). Le mélange peut produire un gaz extrêmement toxique.

## Contamination

- Il est indispensable de porter des gants et de les changer entre les manipulations d'échantillons et de réactifs de **cobas**® CMV afin d'éviter toute contamination. Éviter la contamination des gants lors de la manipulation des échantillons et des contrôles. Porter des gants de laboratoire, des blouses de laboratoire et des lunettes de protection lors de la manipulation d'échantillons et de kit de réactifs.
- Éviter la contamination des réactifs par des micro-organismes ou par des ribonucléases.
- Il existe un risque de faux positifs si la contamination croisée des échantillons n'est pas évitée lors de la manipulation et du traitement des échantillons.

## Intégrité

- Ne pas utiliser les kits après leur date limite d'utilisation.
- Ne pas mélanger les réactifs.
- Ne pas utiliser les articles jetables après leur date de péremption.
- Tous les articles jetables sont à usage unique. Ne pas réutiliser.
- Tout le matériel doit être entretenu correctement, conformément aux instructions du fabricant.

## Élimination des déchets

- Les **cobas**® CMV et **cobas**® 4800 System Sample Preparation Kit 2 contiennent de l'azide de sodium (voir « **Avertissements et précautions** »). L'azide de sodium peut réagir avec les conduits en plomb ou en cuivre pour former des azides métalliques très explosifs. Lors de l'élimination des solutions contenant de l'azide de sodium dans les éviers du laboratoire, il convient de rincer la tuyauterie abondamment avec de l'eau froide afin d'éviter la formation d'azides.
- Éliminer les réactifs inutilisés et les déchets conformément à la réglementation nationale et locale applicable.

*Remarque : pour l'élimination de déchets liquides, voir l'Assistance Utilisateur du **cobas**® 4800 System.*

## Éclaboussures et nettoyage

- Le tampon de lyse 2 **cobas**® 4800 contient du thiocyanate de guanidine. En cas de déversement de liquide contenant du thiocyanate de guanidine, nettoyer avec du détergent de laboratoire adéquat et de l'eau. Si le liquide déversé contient des agents potentiellement infectieux, nettoyer la zone affectée D'ABORD avec du détergent de laboratoire et de l'eau, puis avec de l'hypochlorite de sodium à 0,5 %.
- En cas d'éclaboussures sur le **cobas x 480** instrument, suivre les instructions de nettoyage de l'Assistance Utilisateur du **cobas**® 4800 System.
- Ne pas utiliser de solution d'hypochlorite de sodium (eau de Javel) pour nettoyer le **cobas x 480** instrument ou le **cobas z 480 analyzer**. Nettoyer le **cobas x 480** instrument ou le **cobas z 480 analyzer** en suivant les procédures détaillées dans l'Assistance Utilisateur du **cobas**® 4800 System.

## Prélèvement, transport et conservation des échantillons

- Conserver tous les échantillons aux températures indiquées.
- La stabilité des échantillons est affectée par les températures élevées.
- En cas d'utilisation d'échantillons congelés dans des tubes secondaires, mettre les échantillons à température ambiante (15 à 30 °C) jusqu'à ce qu'ils soient complètement décongelés, puis les mélanger brièvement (par exemple passer au vortex pendant 3 à 5 secondes) et les centrifuger pour regrouper le volume échantillon complet au fond du tube.

**Remarque :** *manipuler tous les échantillons comme s'ils pouvaient tous potentiellement transmettre des agents infectieux.*

### Prélèvement des échantillons

Le sang doit être prélevé dans des tubes BD Vacutainer® PPT™ de préparation du plasma ou des tubes à bouchon lavande pour les méthodes de tests de diagnostic moléculaire ou dans des tubes stériles avec de l'EDTA comme anticoagulant.

**Remarque :** *l'utilisateur doit suivre la procédure indiquée par le fabricant de tubes pour la préparation de plasma.*

### Conservation et stabilité des échantillons lors du transport

- Le sang total prélevé dans des tubes de préparation du plasma BD Vacutainer® PPT™ ou des tubes à bouchon lavande ou dans des tubes stériles avec de l'EDTA comme anticoagulant pour les méthodes de tests de diagnostic moléculaire peut être conservé et/ou transporté à une température comprise entre 2 °C et 25 °C pendant 36 heures maximum avant la centrifugation et les tests ultérieurs.
- Les échantillons de plasma peuvent également être conservés dans des tubes primaires pendant 36 heures au maximum à une température comprise entre 2 °C et 25 °C ou pendant 6 jours à une température comprise entre 2 °C et 8 °C.
- Les échantillons de plasma peuvent être conservés dans des tubes secondaires jusqu'à 36 heures à une température comprise entre 2 °C et 30 °C, jusqu'à 6 jours entre 2 °C et 8 °C ou jusqu'à 6 semaines à une température comprise entre -15 °C et -25 °C. Les échantillons de plasma séparés dans les tubes secondaires sont stables jusqu'à trois cycles de congélation/décongélation lorsqu'ils sont congelés à une température comprise entre -15 °C et -25 °C.
- Si les échantillons sont expédiés, ils doivent être emballés et étiquetés conformément aux réglementations nationales et internationales sur le transport d'échantillons et d'agents étiologiques.

# Instructions d'utilisation

## Exécution du test

Le volume d'échantillon par défaut pour le cobas® CMV est de 400 µL.

**Figure 1 :** Procédure de travail cobas® CMV

1	Démarrer le système
2	Procéder aux tâches de maintenance de l'instrument
3	Retirer les échantillons et réactifs du lieu de conservation
4	Lancer le run
5	Scanner les cartes de paramètre
6	Charger les échantillons
7	Avec SIL : confirmer l'ordre de travail Sans SIL : établir l'ordre de travail
8	Charger les consommables (plaque à puits profonds, plaque à micropuits, racks d'embouts)
9	Charger les réactifs
10	Démarrer le run de préparation des échantillons
11	Décharger et sceller la plaque à micropuits
12	Charger la plaque à micropuits sur l'analyseur
13	Retirer les échantillons, les réactifs usagés et la plaque à puits profonds
14	Examiner les résultats
15	Avec SIL : envoyer les résultats au SIL
16	Décharger l'analyseur

**Remarque :** se référer à l'Assistance Utilisateur du cobas® 4800 System pour obtenir des instructions d'utilisation détaillées.

## Taille des runs

Les réactifs génériques de préparation des échantillons (cobas® 4800 System Sample Preparation Kit 2, cobas® 4800 System Lysis Kit 2 et cobas® 4800 System Wash Buffer Kit) sont disponibles en deux tailles de kit, chacun suffisant pour 10 runs de 24 ou 96 échantillons en incluant les contrôles et les échantillons à analyser. cobas® CMV est disponible en une taille de kit unique, suffisante pour effectuer jusqu'à 120 (10 × 12) tests, incluant contrôles et échantillons. Le kit de contrôle cobas® CMV est disponible en une taille de kit unique et prend en charge toutes les configurations de run. Un contrôle faiblement positif au CMV, un contrôle fortement positif au CMV et un contrôle négatif sont nécessaires pour chaque série de tests. Pour un seul run de test, le nombre maximal d'échantillons autorisé est de 93 échantillons et 3 contrôles.

La Figure 1 résume la procédure.

**Remarque :** pour une utilisation optimale des réactifs, les réactifs génériques de préparation d'échantillons peuvent être utilisés pour un run contenant 1 à 21 échantillons au total (taille de kit 10 × 24 tests) ou 1 à 93 (taille de kit de 10 × 96 tests). Toutefois, il n'est pas possible de combiner différentes tailles du kit de tampons de lavage du cobas® 4800 System, du kit de préparation des échantillons 2 du cobas® 4800 System et du kit de lyse 2 du cobas® 4800 System. Par exemple, si un flacon de tampon de lavage pour 96 tests est scanné au début du run, des réactifs de taille 96 tests des autres kits de réactifs de préparation des échantillons doivent aussi être utilisés.

## Procédure de travail

**cobas**® CMV est exécuté en suivant la procédure de travail complète du **cobas**® 4800 software. Celle-ci comprend la préparation des échantillons sur le **cobas x 480** instrument suivie de l'amplification/la détection sur le **cobas z 480 analyzer**. **cobas**® CMV peut être exécuté seul ou en mode de séries mixtes avec des tests partageant le même processus d'extraction automatisé des échantillons et le même profil de PCR pour l'amplification et la détection. Lors de l'étape de sélection du test, le logiciel affiche les tests compatibles aux séries mixtes avec **cobas**® CMV. Se référer à l'Assistance Utilisateur du **cobas**® 4800 System pour obtenir des instructions détaillées.

1. Procéder au démarrage du système en suivant les instructions de l'Assistance Utilisateur du **cobas**® 4800 System.
2. Effectuer les procédures de maintenance en suivant les instructions de l'Assistance Utilisateur du **cobas**® 4800 System.
3. Préparer tous les réactifs et consommables requis. À l'exception de CMV MMX R2 et MMX R1, tous les réactifs doivent être à température ambiante avant d'être chargés sur le **cobas x 480** instrument. Les réactifs CMV MMX R2 et MMX R1 peuvent être sortis directement de leur emplacement de conservation compris entre 2 et 8 °C car ils seront portés à température ambiante une fois chargés sur le **cobas x 480** instrument avant d'être utilisés dans le processus.

**Remarque :** *tous les réactifs et réservoirs de réactifs sont munis de codes-barres et sont destinés à un usage unique. Le **cobas**® 4800 software suit l'utilisation des réactifs et des réservoirs de réactifs et rejette les réactifs ou réservoirs de réactifs précédemment utilisés.*

4. Démarrer un nouveau run et sélectionner le type de procédure de travail CMV. Pour effectuer un run de séries mixtes, sélectionner d'autres types de procédure de travail applicables (c'est-à-dire HIV-1, HCV ou HCV GT) en plus de CMV.
5. Suivre l'assistant du logiciel et scanner le code-barres situé sur les cartes de paramètre des plages de contrôle et des coefficients de calibration.

**Remarque :** *scanner les cartes de paramètre des réactifs non périmés. Le logiciel ne vérifie pas les dates de péremption dans les cartes de paramètre. Vérifier la date de péremption imprimée sur la carte de paramètre ou dans les kits de réactifs avant de scanner l'ID de code-barres correspondant.*

6. Charger les échantillons. Les tubes échantillon primaires et secondaires peuvent être chargés et le volume d'échantillon minimum dépend du type et de la taille de tube.
7. Créer l'ordre de travail. Il existe trois façons de créer un ordre de travail :
  - En utilisant l'éditeur d'échantillons avant le chargement du rack d'échantillons sur le **cobas x 480** instrument (bouton « Editor » sur la droite du menu principal). Les ordres de travail peuvent être enregistrés, édités et rechargés si nécessaire.  
Lors de la sélection des résultats souhaités, cocher « CMV ».
  - En suivant l'assistant du logiciel pour le nouveau run et en chargeant les échantillons sur le **cobas x 480** instrument lorsque l'on vous y invite. Les codes-barres seront automatiquement scannés et les résultats demandés pour chaque échantillon doivent être définis.  
Lors de la sélection des résultats souhaités, cocher « CMV ».
  - En utilisant le SIL de votre établissement.

Se référer à l'Assistance Utilisateur du **cobas**® 4800 System pour obtenir des instructions détaillées. Charger les échantillons et définir/sélectionner l'ordre de travail ou utiliser le SIL de façon appropriée.

8. Charger les consommables en suivant les instructions de l'assistant du logiciel. Ne pas charger ou retirer les embouts individuels sur un rack d'embouts partiellement utilisé car le logiciel effectue le suivi du nombre d'embouts restant. Si le nombre d'embouts n'est pas suffisant pour effectuer le run, le logiciel en avertira l'utilisateur.

## 9. Charger les réactifs.

Charger les réactifs de préparation des échantillons dans les réservoirs de réactifs à code-barres. Les réservoirs de réactifs sont disponibles en deux tailles : 200 mL et 50 mL. Suivre l'assistant du logiciel pour sélectionner les bonnes tailles de réservoir de réactifs. Les codes-barres du réservoir de réactifs doivent être alignés à droite du portoir. Utiliser la méthode « double-scan-versement-mise en place » pour charger les réactifs de préparation des échantillons :

- Scanner le code-barres du flacon de réactif
- Scanner le code-barres du réservoir de réactifs
- Verser le réactif dans le réservoir
- Placer le réservoir de réactifs rempli dans la position correspondante du portoir de réactifs

**Remarque :** *le cobas® 4800 System possède une horloge interne pour surveiller la durée des réactifs sur le système. Une fois que LYS 2 ou WB est scanné, le système laisse une heure pour terminer le processus de chargement et cliquer sur le bouton « Start ». Un compte à rebours s'affiche dans l'onglet « Workplace ». Le système n'autorisera pas le run à démarrer si le temps sur le système a expiré.*

**Remarque :** *pour garantir un transfert correct de MGP, passer au vortex ou agiter vigoureusement le flacon de MGP immédiatement avant de le verser dans le réservoir de réactifs.*

10. Charger les flacons de réactifs d'amplification/de détection (CMV MMX R2, MMX R1 et QS ADN), les flacons de contrôle [CMV L(+)C, CMV H(+)C et (-)C] et les flacons de réactifs génériques (P2 si nécessaire) directement sur le portoir de réactifs.

**Remarque :** *pour éviter toute interruption de run superflue et toute contamination, il est nécessaire de tapoter légèrement les flacons de réactifs de manière à éviter la formation de bulles/films liquides. Les contrôles doivent être ouverts en commençant par ceux qui sont les plus proches de vous (de la position 24 à la position 1). Changer de gants après la manipulation des contrôles positifs.*

11. Démarrer le run de préparation des échantillons. Une fois le run de préparation des échantillons correctement effectué, les boutons « Sample Preparation results » et « Unload » deviennent disponibles. Il est possible de sélectionner le bouton « Sample Preparation results » pour examiner les résultats avant de sélectionner « Unload » pour décharger les portoirs de plaques. Il est également possible de sélectionner « Unload » pour décharger les portoirs de plaques sans examiner les résultats. Voir l'Assistance Utilisateur du cobas® 4800 System.
12. Après le déchargement de la plaque à micropuits, suivre les instructions de l'Assistance Utilisateur du cobas® 4800 System relatives au scellement et au transfert de la plaque du cobas z 480 analyzer.
13. Charger la plaque de micropuits dans l'analyseur et démarrer le run d'amplification et de détection en suivant les instructions de l'Assistance Utilisateur du cobas® 4800 System.

**Remarque :** *le cobas® 4800 System possède une horloge interne pour surveiller la durée après l'ajout des échantillons préparés au master mix activé. L'amplification et la détection doivent être démarrées le plus tôt possible mais pas plus tard que 40 minutes après la fin du run du cobas x 480 instrument. Un compte à rebours s'affiche dans l'onglet « Workplace ». Le système interrompra le run si l'horloge a expiré.*

14. Retirer les échantillons, les réactifs utilisés et la plaque à puits profonds en suivant les instructions de l'Assistance Utilisateur du cobas® 4800 System.
15. Après le run d'amplification et de détection, suivre les instructions du logiciel de l'Assistance Utilisateur du cobas® 4800 System pour examiner et accepter les résultats.
16. En cas d'utilisation d'un SIL, envoyer les résultats au SIL.
17. Suivre les instructions de l'Assistance Utilisateur du cobas® 4800 System pour décharger la plaque de micropuits du cobas z 480 analyzer.

## Résultats

Le **cobas**® 4800 System détermine automatiquement la concentration de l'ADN du CMV dans les échantillons et les contrôles. La concentration d'ADN du CMV est exprimée en Unités Internationales par millilitre (UI/mL).

### Contrôle qualité et validité des résultats

- Un contrôle négatif (-)C2 et deux contrôles positifs, un contrôle faiblement positif CMV L(+)C et un contrôle fortement positif CMV H(+)C, sont traités avec chaque série.
- Dans le **cobas**® 4800 software et/ou dans le rapport, vérifier la validité de la série.
- L'invalidation des résultats est effectuée automatiquement par le **cobas**® 4800 software en fonction des échecs des contrôles négatifs et positifs.

### Interprétation des résultats des contrôles

**Tableau 1 :** Interprétation des résultats des contrôles négatifs et positifs

Contrôle négatif	Résultat	Interprétation
(-)C2	Target Not Detected	Le contrôle est valide. ADN de CMV non détecté.
	Invalid	Résultat invalide ou le résultat de titre calculé pour le contrôle négatif n'est pas négatif.
Contrôle positif	Résultat	Interprétation
CMV L(+)C	Titre	Le contrôle est valide. Le titre calculé se situe dans la plage de contrôle.
	Invalid	Résultat invalide ou le résultat d'un titre calculé pour le contrôle faiblement positif se situe en dehors du domaine théorique.
CMV H(+)C	Titre	Le contrôle est valide. Le titre calculé se situe dans la plage de contrôle.
	Invalid	Résultat invalide ou le résultat d'un titre calculé pour le contrôle fortement positif se situe en dehors du domaine théorique.

## Interprétation des résultats

**Remarque :** l'ensemble des validations de séries et d'analyses est déterminé par le cobas® 4800 software.

**Remarque :** une série valide peut comporter des résultats d'échantillons valides et invalides.

Pour une série valide, les résultats d'échantillons sont interprétés comme illustré dans le Tableau 2.

**Tableau 2:** Résultats cibles pour l'interprétation des résultats cibles individuels

cobas® CMV	Rapport et interprétation des résultats
Target Not Detected	ADN de CMV non détecté. Enregistrer les résultats comme suit : « CMV non détecté ».
< Titer Min	Le titre calculé se situe sous la limite inférieure de quantification (LLoQ) du test. Enregistrer les résultats comme suit : « CMV détecté, inférieur à (titre min) ». Titre min = 3,45E+01 UI/mL
Titer	Le titre calculé se situe dans le domaine de linéarité du test : supérieur ou égal au titre min. et inférieur ou égal au titre max. Enregistrer les résultats comme suit : « (Titre) de CMV détecté ».
> Titer Max <sup>a</sup>	Le titre calculé se situe au-dessus de la limite supérieure de quantification (ULoQ) du test. Enregistrer les résultats comme suit : « CMV détecté, supérieur à (titre max) ». ». Titre max = 1,00E+07 UI/mL

<sup>a</sup> Un résultat d'échantillon « > Titer Max » correspond à des échantillons positifs pour CMV dont les titres sont supérieurs à la limite supérieure de quantification (ULoQ). Pour obtenir un résultat quantitatif, l'échantillon d'origine doit être dilué avec du plasma EDTA négatif pour le CMV, selon le type de l'échantillon d'origine, et le test doit être répété. Multiplier le résultat enregistré par le coefficient de dilution.

## Liste des messages

Le tableau suivant répertorie les messages utiles à l'interprétation des résultats.

**Tableau 3 :** Liste des messages

Code de message	Description	Action recommandée
R4800	La cible est invalide en raison d'un échec du calcul.	La cible est invalide en raison d'un échec du calcul. 1. Réanalyser l'échantillon. 2. Si le problème persiste, contacter le service Roche.
R4801	Le standard de quantification est invalide.	Le standard de quantification est invalide pour un échantillon. 1. Réanalyser l'échantillon. 2. Si le problème persiste, contacter le service Roche.
R4802	Un contrôle externe est invalide.	Un contrôle externe est invalide. <sup>a</sup> 1. Répéter l'ensemble du run avec de nouveaux réactifs. 2. Si le problème persiste, contacter le service Roche.
R4803	Le standard de quantification est invalide.	Le standard de quantification est invalide pour un contrôle externe. 1. Répéter l'ensemble du run avec de nouveaux réactifs. 2. Si le problème persiste, contacter le service Roche.
R4804	Le contrôle externe se situe en dehors de la plage.	Le contrôle externe se situe en dehors de la plage. <sup>b</sup> 1. Répéter l'ensemble du run avec de nouveaux réactifs. 2. Si le problème persiste, contacter le service Roche
X3	Erreur : caillot détecté. L'échantillon n'a pas été traité.	Assurez-vous que les échantillons ont été manipulés conformément à la description de la procédure de travail. 1. Vérifier la présence de caillots dans l'échantillon. 2. Réanalyser l'échantillon.
X4	Erreur : une erreur de pipetage s'est produite. L'échantillon n'a pas été traité.	Un volume d'échantillon insuffisant ou une erreur mécanique lors du pipetage est la raison la plus probable. 1. Assurez-vous que le volume d'échantillon est suffisant. 2. Vérifier que la plaque d'éjection des embouts est correctement placée. 3. Réanalyser l'échantillon.

<sup>a</sup> Ceci est un message échantillon qui apparaît lorsqu'un contrôle externe du run a un résultat non valide.

<sup>b</sup> Ce message inclut tous les scénarios dans lesquels le contrôle externe est invalide (appel de cible ou titre).

**Remarque :** pour prendre connaissance des descriptions des autres messages système, se reporter à l'Assistance Utilisateur du cobas® 4800 System.

## Limites du test

1. **cobas**® CMV a été évalué uniquement pour une utilisation en combinaison avec le **cobas**® CMV Control Kit, le **cobas**® 4800 System Sample Preparation Kit 2, **cobas**® 4800 System Lysis Kit 2 et le **cobas**® 4800 System Wash Buffer Kit.
2. Pour des résultats fiables, les échantillons doivent avoir été prélevés, transportés, conservés et traités de façon appropriée. Suivre les procédures du présent document d'instructions d'utilisation (également désigné sous le terme de notice) et de l'Assistance Utilisateur du **cobas**® 4800 System.
3. Ce test a été validé pour être utilisé exclusivement avec du plasma EDTA. L'analyse d'autres types d'échantillons peut aboutir à des résultats inexacts.
4. La quantification de l'ADN du CMV dépend du nombre de particules virales présentes dans l'échantillon et peut être affectée par les méthodes de collecte d'échantillons, les facteurs relatifs aux patients (c'est-à-dire l'âge, la présence de symptômes) et/ou le stade de l'infection.
5. Bien qu'il s'agisse d'un cas rare, des mutations au niveau des régions hautement conservées d'un génome viral couvertes par le test **cobas**® CMV peuvent affecter la liaison des amorces et/ou des sondes et entraîner une sous-quantification du virus ou l'échec de la détection du virus.
6. La valeur prédictive d'un test dépend de la prévalence de la maladie dans une population donnée.
7. L'ajout de l'enzyme AmpErase au Master Mix **cobas**® CMV permet une amplification sélective des acides nucléiques cibles. Cependant, il est nécessaire de respecter les bonnes pratiques de laboratoire et les procédures présentées dans le présent document d'instructions d'utilisation afin d'éviter une contamination des réactifs et des mélanges d'amplification.
8. L'utilisation de ce produit doit être limitée au personnel formé aux techniques de PCR et à l'utilisation du **cobas**® 4800 System.
9. Seuls le **cobas** x 480 instrument et le **cobas** z 480 analyzer ont été validés pour une utilisation avec ce produit. Aucun autre instrument de préparation d'échantillons ou de système de PCR ne peut être utilisé avec ce produit.
10. En raison des différences inhérentes à chaque technologie, il est recommandé aux utilisateurs, avant de passer d'une technologie à l'autre, de mener des études de corrélation de méthodes au sein de leur laboratoire afin de caractériser les différences entre les diverses technologies. Les utilisateurs doivent suivre leurs propres politiques/procédures.
11. La contamination croisée peut provoquer des résultats faux positifs. Une étude non clinique a évalué le taux de contamination croisée inter-échantillons du test **cobas**® CMV à 0,0 %. Aucune contamination croisée inter-runs n'a été observée.
12. **cobas**® CMV ne doit servir ni de test de dépistage du CMV dans le sang ou les produits sanguins, ni de test diagnostique pour confirmer la présence d'une infection au CMV.

# Évaluation des performances non cliniques

## Caractéristiques clés des performances

### Limite de détection (LoD)

La limite de détection (LoD) de **cobas**® CMV a été déterminée en analysant des dilutions en série du standard international de l'OMS (souche Merlin, génotype 1 de la glycoprotéine B) et a été vérifiée pour les génotypes gB-2, gB-3 et gB-4 de la glycoprotéine B, ainsi que pour les échantillons du CMV résistants aux médicaments. La limite de détection annoncée pour le plasma EDTA est de 34,5 UI/mL.

### Standard international de l'OMS

La limite de détection du test **cobas**® CMV a été déterminée en analysant des dilutions en série du 1er standard international de l'OMS pour l'ADN du Cytomégalovirus humain pour les analyses utilisant la technologie d'amplification de l'acide nucléique (1<sup>er</sup> standard international de l'OMS pour le CMV humain<sup>28</sup>) obtenu auprès du NIBSC, dans du plasma EDTA humain négatif au CMV. Des panels de sept niveaux de concentration plus un échantillon blanc ont été testés sur trois lots de réactifs du test **cobas**® CMV, lors de plusieurs runs, pendant plusieurs jours, par plusieurs opérateurs et sur plusieurs instruments.

Les résultats sont présentés dans le Tableau 4. L'étude démontre que le test **cobas**® CMV a détecté l'ADN du CMV à une concentration de 20,5 UI/mL avec un taux de succès  $\geq 95$  % par PROBIT.

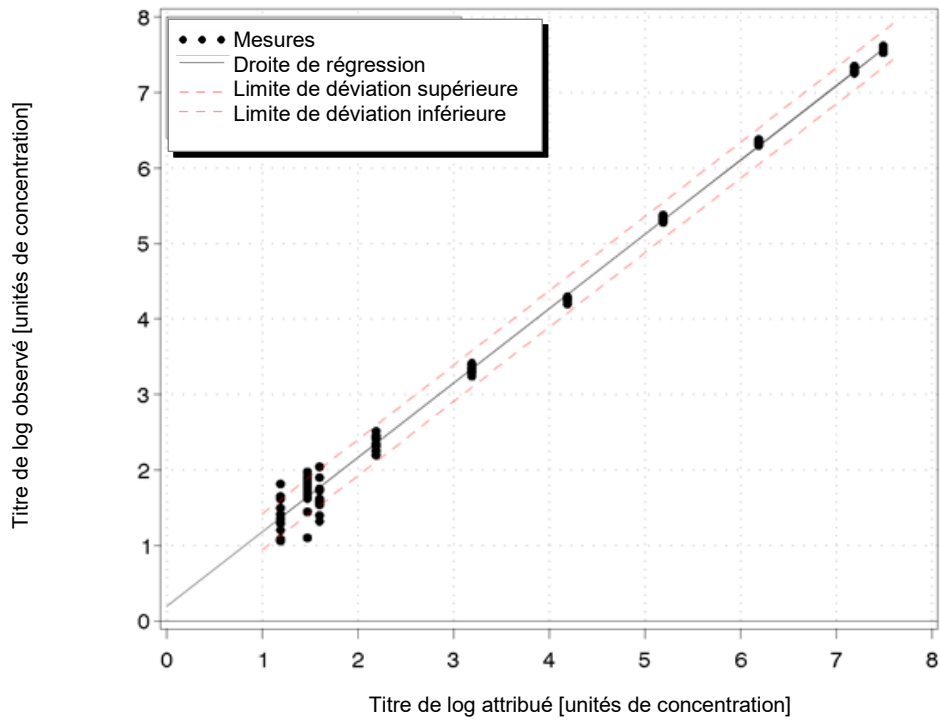
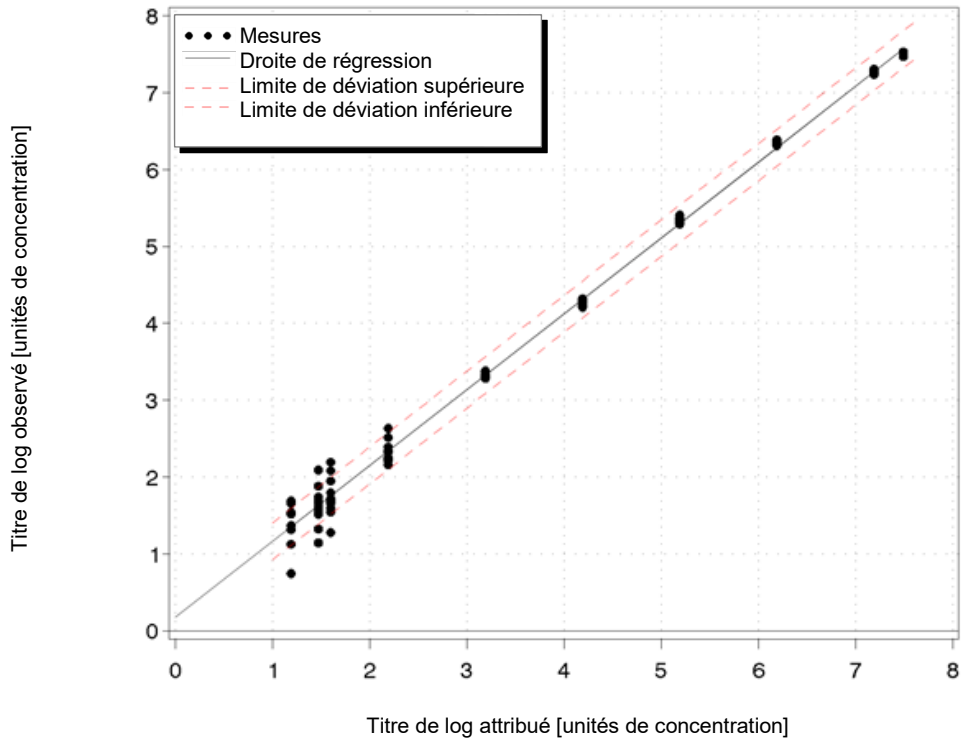
**Tableau 4:** Limite de détection

Concentration de titre d'entrée (ADN du CMV, UI/mL)	Nombre de répliquats valides	Nombre de positifs	Taux de succès en %
60,0	126	126	100,0
46,0	126	126	100,0
34,5	124	124	100,0
23,0	126	122	96,8
15,0	126	111	88,1
10,0	126	97	77,0
5,0	126	63	50,0
0,0	72	0	0,0
Limite de détection à un taux de succès de 95% par PROBIT	20,5 UI/mL (IC 95 % : 16,9 – 23,3 UI/mL)		

### Domaine de linéarité

La linéarité du test **cobas**® CMV a été évaluée à l'aide d'une série de dilutions constituée de 10 membres de panel avec des concentrations d'ADN du CMV, génotype gB-1, couvrant le domaine de linéarité du test (1,55E+01 à 3,11E+07 UI/mL). Deux lots de réactifs du test **cobas**® CMV ont été utilisés et chaque membre du panel a été testé en 12 répliquats par lot ; des résultats représentatifs de l'étude sont présentés dans la Figure 2 et la Figure 3.

Les données ont montré une linéarité comprise entre 1,55E+01 et 3,11E+07 UI/mL. Le domaine de linéarité annoncé pour **cobas**® CMV est de 34,5 à 1,0E+07 UI/mL.

**Figure 2:** Lot de linéarité 1**Figure 3:** Lot de linéarité 2

## Précision intra-laboratoire

La précision de **cobas**® CMV a été déterminée en analysant des dilutions en série de l'ADN du CMV, génotype gB-1. Six niveaux de dilution ont été testés en 90 réplicats pour chaque niveau sur trois lots de réactifs de **cobas**® CMV par quatre opérateurs, sur deux instruments, pendant 15 jours. Chaque échantillon a subi la procédure entière de **cobas**® CMV sur le **cobas**® 4800 System. La précision indiquée plus bas prend donc en compte tous les aspects de la procédure de test. Les résultats sont présentés dans le Tableau 5.

**cobas**® CMV a présenté une précision élevée pour trois lots de réactifs testés sur une plage de concentration de 3,90E+01 UI/mL à 1,52E+06 UI/mL.

**Tableau 5 :** Précision intra-laboratoire de **cobas**® CMV\*

Concentration nominale (UI/mL)	Concentration attribuée (UI/mL)	Lot n° 1	Lot n° 2	Lot n° 3	Tous les lots
		DS	DS	DS	DS globale
1,80E+06	1,55E+06	0,04	0,04	0,04	0,04
1,80E+05	1,55E+05	0,05	0,03	0,05	0,04
1,80E+04	1,55E+04	0,06	0,04	0,06	0,05
1,80E+03	1,55E+03	0,06	0,05	0,04	0,05
1,80E+02	1,55E+02	0,13	0,10	0,13	0,12
4,60E+01	3,97E+01	0,17	0,15	0,24	0,19

\* Les données de titre sont considérées comme normalement réparties par log et sont analysées selon une transformation de log<sub>10</sub>. Les colonnes de déviation standard (DS) présentent le total du titre après transformation de log pour chacun des trois lots de réactifs.

## Inclusivité

Les performances de **cobas**® CMV sur les génotypes du CMV ont été évaluées par :

- Vérification de la limite de détection pour les génotypes de la glycoprotéine B 2 à 4
- Vérification du domaine de linéarité pour les génotypes 2 à 4

## Vérification de la limite de détection pour les génotypes de la glycoprotéine B gB-2, gB-3 et gB-4

Les surnageants de culture cellulaire du CMV pour deux génotypes différents de la glycoprotéine B (gB-2 et gB-3) et l'ADN plasmidique du CMV pour le génotype 4 (gB-4) de la glycoprotéine B ont été dilués dans du plasma EDTA CMV négatif. Le taux de succès a été déterminé avec 42 réplicats pour un niveau de concentration. Les tests ont été effectués avec un lot de réactifs **cobas**® CMV. Les résultats sont présentés dans le Tableau 6. Ces résultats démontrent que **cobas**® CMV a détecté l'ADN du CMV pour trois génotypes différents à des concentrations de 34,5 UI/mL avec un taux de succès de  $\geq 95$  %.

**Tableau 6 :** Vérification de la limite de détection pour les génotypes gB-2, gB-3 et gB-4 de la glycoprotéine B du CMV

Génotype de la glycoprotéine B	Taux de succès à 34,5 UI/mL
gB-2	100,0 %
gB-3	100,0 %
gB-4	100,0 %

## Vérification du domaine de linéarité pour les génotypes gB-2, gB-3 et gB-4 de la glycoprotéine B

La série de dilutions utilisée pour vérifier le domaine de linéarité (tel qu'il a été déterminé avec le génotype 1 de la glycoprotéine B du CMV) pour tous les génotypes annoncés de la glycoprotéine B du CMV (gB2, gB3 et gB4) comprenait sept membres de panel couvrant le domaine de linéarité prévu. Les tests ont été effectués avec un lot de réactifs **cobas®** CMV ; 12 répliqués par niveau ont été testés dans du plasma EDTA.

Le domaine de linéarité du test **cobas®** CMV a été vérifié pour les trois génotypes (gB-2, gB-3 et gB-4). La déviation maximale entre la régression linéaire et la régression non linéaire de meilleur ajustement était inférieure ou égale à 0,06 log<sub>10</sub>.

## Vérification des échantillons du CMV résistants aux médicaments

Les performances de **cobas®** CMV sur les échantillons du CMV résistants aux médicaments ont été évaluées par :

- Vérification de la limite de détection pour les échantillons du CMV résistants aux médicaments (résistants au ganciclovir, valganciclovir, cidofovir ou foscarnet)
- Vérification du domaine de linéarité pour les échantillons du CMV résistants aux médicaments (ganciclovir, valganciclovir, cidofovir ou foscarnet)

## Vérification de la limite de détection pour les échantillons du CMV résistants aux médicaments (foscarnet ou ganciclovir, valganciclovir et cidofovir)

Les surnageants de culture cellulaire du CMV pour deux échantillons différents du CMV résistants aux médicaments (foscarnet ou ganciclovir, valganciclovir et cidofovir) ont été dilués dans du plasma EDTA négatif pour CMV. Le taux de succès a été déterminé avec 42 répliqués à un niveau de concentration. Les tests ont été effectués avec un lot de réactifs **cobas®** CMV. Les résultats sont présentés dans le Tableau 7. Ces résultats démontrent que **cobas®** CMV a détecté l'ADN du CMV pour tous les échantillons testés résistants aux médicaments anti-CMV couramment utilisés à des concentrations de 34,5 UI/mL avec un taux de succès de  $\geq 95$  %.

**Tableau 7 :** Vérification de la limite de détection de CMV pour les échantillons résistants aux médicaments

Phénotype de résistance	Taux de succès à 34,5 UI/mL
foscarnet	100,0 %
ganciclovir, valganciclovir, cidofovir	100,0 %

## Vérification du domaine de linéarité pour les échantillons du CMV résistants aux médicaments (foscarnet ou ganciclovir, valganciclovir et cidofovir)

La série de dilutions utilisée pour vérifier le domaine de linéarité (tel qu'il a été déterminé avec le génotype 1 de la glycoprotéine B du CMV) pour les échantillons résistant aux médicaments anti-CMV couramment utilisés comprenait sept membres de panel couvrant le domaine de linéarité prévu. Les tests ont été effectués avec un lot de réactifs **cobas®** CMV ; 12 répliqués par niveau ont été testés dans du plasma EDTA.

Le domaine de linéarité de **cobas®** CMV a été vérifié pour tous les échantillons testés résistants aux médicaments anti-CMV couramment utilisés. Pour les deux échantillons résistants aux médicaments testés, la régression linéaire constituait le modèle le plus adapté.

## Spécificité analytique

La spécificité analytique du test **cobas**® CMV a été évaluée en diluant un panel d'agents pathogènes (Tableau 8) avec du plasma EDTA positif pour l'ADN du CMV et du plasma EDTA négatif pour l'ADN du CMV. Les agents pathogènes ont été ajoutés à du plasma EDTA négatif et testés avec et sans ADN du CMV. Des résultats négatifs ont été obtenus avec le test **cobas**® CMV sur tous les échantillons d'agents pathogènes sans cible CMV et des résultats positifs ont été obtenus sur tous les échantillons d'agents pathogènes avec cible CMV. En outre, le titre moyen  $\log_{10}$  de chacun des échantillons positifs pour CMV contenant des organismes pouvant provoquer une réaction croisée était compris dans un intervalle de  $\pm 0,10 \log_{10}$  du titre moyen  $\log_{10}$  du contrôle dopé positif respectif.

**Tableau 8:** Agents pathogènes testés à la recherche de réactivité croisée

<b>Virus</b>	<b>Bactéries</b>	<b>Champignons</b>
Virus d'Epstein Barr (EBV)	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Candida albicans</i>
Virus de l'hépatite B (VHB)	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	<i>Cryptococcus neoformans</i>
Virus de l'hépatite C (VHC)	<i>Streptococcus pneumoniae</i>	<i>Aspergillus niger</i>
Virus de l'immunodéficience humaine de type 1 (VIH-1)	<i>Streptococcus pyogenes</i>	
Virus de l'immunodéficience humaine de type 2 (VIH-2)	<i>Enterococcus faecalis</i>	
Virus de l'herpès simplex de type 1 (HSV-1)	<i>Escherichia coli</i>	
Virus de l'herpès simplex de type 2 (HSV-2)	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	
Virus de l'herpès humain de type 6 (HHV-6)	<i>Salmonella typhimurium</i>	
Virus de l'herpès humain de type 7 (HHV-7)	<i>Mycoplasma pneumoniae</i>	
Virus de l'herpès humain de type 8 (HHV-8)	<i>Chlamydia trachomatis</i>	
Adénovirus type 5	<i>Listeria monocytogenes</i>	
Virus JC	<i>Propionibacterium acnes</i>	
Parvovirus B19	<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	
Polyomavirus BK	<i>Mycobacterium avium</i>	
Virus varicelle-zona (VZV)	<i>Clostridium perfringens</i>	
Papillomavirus humain (HPV)		

## Spécificité analytique – substances interférentes

Des niveaux élevés de triglycérides (33,0 g/L), de bilirubine conjuguée (0,2 g/L), de bilirubine non conjuguée (0,2 g/L), d'albumine (60,0 g/L), d'hémoglobine (2,0 g/L) et d'ADN humain (2 mg/L) dans les échantillons ont été testés en présence et en l'absence d'ADN du CMV. Il a été démontré que les substances testées n'avaient pas d'effet sur les performances du test **cobas**® CMV. En outre, la présence de marqueurs pour les maladies auto-immunes lupus érythémateux systémique (LES) et arthrite rhumatoïde (AR), ainsi que pour les anticorps antinucléaires (ANA) a été testée.

De plus, les composés médicamenteux répertoriés au Tableau 9 ont été testés à trois fois la  $C_{max}$  en présence et en l'absence d'ADN du CMV.

Il a été démontré qu'aucune substance potentiellement interférente n'affecte les performances du test. Des résultats négatifs ont été obtenus avec le test **cobas**® CMV sur tous les échantillons sans cible CMV et des résultats positifs ont été obtenus sur tous les échantillons avec cible CMV. En outre, le titre moyen  $\log_{10}$  de chacun des échantillons positifs pour CMV contenant des substances potentiellement interférentes était compris dans un intervalle de  $\pm 0,36 \log_{10}$  du titre moyen  $\log_{10}$  du contrôle dopé positif respectif.

**Tableau 9:** Composés médicamenteux dont l'interférence avec la quantification de l'ADN du CMV par le test **cobas**® CMV a été testée

Catégorie de médicament	Nom du médicament générique	
Antimicrobien	Céfotétan	Sulfaméthoxazole
	Clavulanate de potassium	Ticarcilline disodique
	Fluconazole	Triméthoprim
	Pipéracilline	Vancomycine
	Tazobactam de sodium	
Composés pour le traitement de virus de l'herpès	Ganciclovir	Cidofovir
	Valganciclovir	Foscarnet
Immunosuppresseur	Azathioprine	Acide mycophénolique
	Cyclosporine	Prednisone
	Évérolimus	Sirolimus
	Mofétilmycophénolate	Tacrolimus

## Échec complet du système

Le taux d'échec complet du système pour **cobas**® CMV a été déterminé en testant 100 répliquats de plasma EDTA dopés avec la cible CMV. Ces échantillons ont été testés à une concentration cible d'environ 3 fois LLoQ (104 UI/mL).

D'après les résultats de cette étude, tous les répliquats étaient valides et positifs pour CMV. Le taux d'échec complet du système est donc de 0,0 %. L'intervalle de confiance bilatéral exact à 95 % était de 0,0 % pour la limite inférieure et de 3,6 % pour la limite supérieure [0,0 % : 3,6 %].

## Contamination croisée

Le taux de contamination croisée pour le test **cobas**® CMV a été déterminé en testant 230 répliquats d'échantillons de plasma EDTA négatifs pour CMV et 233 répliquats d'un échantillon de CMV de titre élevé à  $1,55E+07$  UI/mL. Au total, cinq runs ont été exécutés avec des échantillons positifs et négatifs en configuration de damier.

Les 230 répliquats des échantillons négatifs étaient valides et ont été testés négatifs, soit un taux de contamination croisée de 0,0 % avec un intervalle de confiance unilatéral supérieur à 95 % de 1,3 %).

# Évaluation des performances cliniques

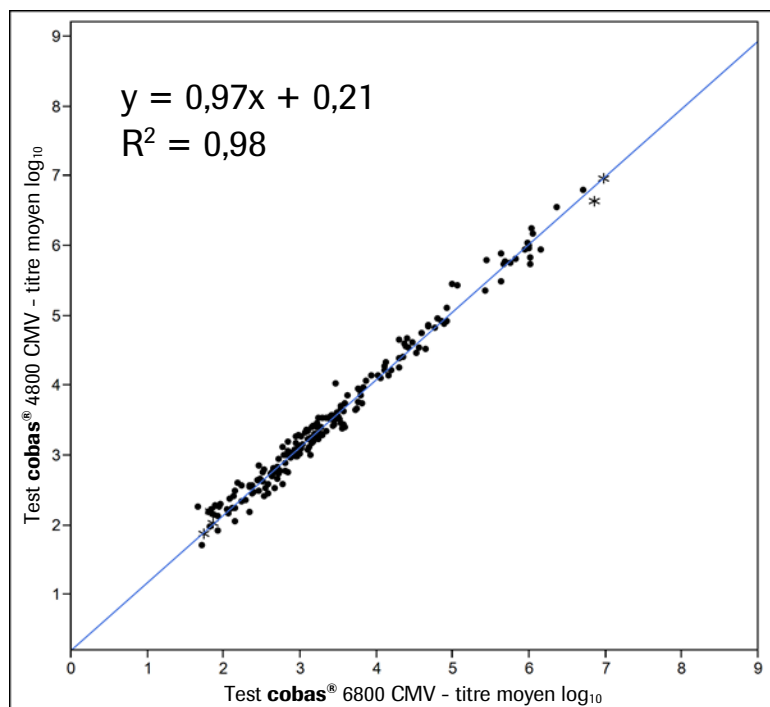
## Corrélation de la méthode

### Évaluation des performances du test cobas® CMV à utiliser sur le cobas® 4800 System par rapport aux performances du test cobas® CMV à utiliser sur les cobas® 6800/8800 Systems

Les performances du test cobas® CMV à utiliser sur le cobas® 4800 System et celles du test cobas® CMV à utiliser sur les cobas® 6800/8800 Systems ont été comparées en analysant les échantillons de plasma EDTA issus de patients infectés par le CMV. Au total, 197 échantillons de plasma EDTA, tous génotypes de CMV confondus, analysés par duplicats, se sont révélés valides et étaient compris dans le domaine de quantification des deux tests. L'analyse de la régression de Deming a été réalisée. La déviation moyenne du titre des échantillons testés avec les deux tests était de 0,11 log<sub>10</sub> (intervalle de confiance à 95 % : 0,09 ; 0,13).

Les résultats de la régression de Deming sont indiqués dans la Figure 4. Le symbole \* dans les figures indique une détermination unique.

**Figure 4:** Analyse de régression de cobas® CMV à utiliser sur le cobas® 4800 et du cobas® CMV à utiliser sur les cobas® 6800/8800



## Spécificité

La spécificité de cobas® CMV a été déterminée en analysant des échantillons de plasma EDTA négatifs pour le CMV issus de donneurs individuels. 611 échantillons de plasma EDTA individuels ont été testés avec trois lots de réactifs cobas® CMV. 611 échantillons se sont révélés négatifs pour l'ADN du CMV. Dans le panel de test, la spécificité du test cobas® CMV était de 100 % (limite de confiance unilatérale à 95 % inférieure : 99,5 %).

# Informations supplémentaires



























## Caractéristiques clés du test

<b>Type d'échantillon</b>	Plasma EDTA
<b>Volume de prise d'essai d'échantillon</b>	400 µL
<b>Sensibilité analytique</b>	34,5 UI/mL
<b>Domaine de linéarité</b>	34,5 UI/mL – 1,0E+07 UI/mL
<b>Spécificité</b>	100 %
<b>Génotypes détectés</b>	Génotypes 1-4 de la glycoprotéine B du CMV
<b>Échantillons du CMV résistants aux médicaments détectés</b>	Échantillons du CMV résistants au ganciclovir, valganciclovir, cidofovir et foscarnet

## Symboles

Les symboles suivants sont utilisés dans toute la documentation accompagnant les produits de diagnostic par PCR de Roche.

**Tableau 10 :** Symboles utilisés dans l'étiquetage des produits de diagnostic par PCR de Roche

<b>Age/DOB</b> Âge ou date de naissance	 Dispositif non adapté aux tests à proximité du patient	<b>QS IU/PCR</b> UI QS par réaction de PCR, utiliser les unités internationales (UI) QS par réaction de PCR pour le calcul des résultats.
 Logiciel auxiliaire	 Dispositif non adapté à l'auto-test	<b>SN</b> Numéro de série
<b>Assigned Range [copies/mL]</b> Plage assignée (copies/mL)	 Distributeur <i>(Remarque : le pays/la région applicable peut être indiqué(e) sous le symbole.)</i>	<b>Site</b> Site
<b>Assigned Range [IU/mL]</b> Plage assignée (IU/mL)	 Ne pas réutiliser	<b>Procedure Standard</b> Procédure standard
<b>EC REP</b> Mandataire dans la Communauté européenne	 Femme	<b>STERILE EO</b> Stérilisé à l'aide d'oxyde d'éthylène
<b>BARCODE</b> Fiche technique à code-barres	 Pour évaluation des performances DIV uniquement	 Conserver dans un endroit sombre
<b>LOT</b> Code de la série	<b>GTIN</b> Code article international	 Limites de température
 Risques biologiques	 Importateur	 Fichier de définition de tests
<b>REF</b> Référence du catalogue	<b>IVD</b> Dispositif médical de diagnostic <i>in vitro</i>	 Orienté vers le haut
 Marquage CE de conformité ; ce dispositif est conforme aux exigences en vigueur concernant le marquage CE d'un dispositif médical de diagnostic <i>in vitro</i>	<b>LLR</b> Limite inférieure de la plage assignée	<b>Procedure UltraSensitive</b> Procédure ultrasensible
<b>Collect Date</b> Date de collecte	 Homme	<b>UDI</b> Identification de dispositif unique
 Consulter les instructions d'utilisation	 Fabricant	<b>ULR</b> Limite supérieure de la plage assignée
 Contenu suffisant pour <n> tests	<b>CONTROL -</b> Contrôle négatif	<b>Urine Fill Line</b> Ligne de remplissage d'urine
<b>CONTENT</b> Contenu du kit	 Non stérile	États-Unis uniquement : la législation fédérale américaine limite la vente de ce dispositif aux professionnels de santé autorisés à exercer.
<b>CONTROL</b> Contrôle	 Nom du patient	<b>Rx Only</b>
 Date de fabrication	 Numéro patient	 Date limite d'utilisation
 Dispositif pour tests à proximité du patient	 Retirer ici	
 Dispositif pour auto-test	<b>CONTROL +</b> Contrôle positif	
	<b>QS copies / PCR</b> Copies QS par réaction de PCR, utiliser les copies QS par réaction de PCR pour le calcul des résultats.	

## Assistance technique

Pour bénéficier d'une assistance technique, merci de vous adresser à votre société affiliée locale :  
[https://www.roche.com/about/business/roche\\_worldwide.html](https://www.roche.com/about/business/roche_worldwide.html)

## Fabricant et importateur

**Tableau 11** : Fabricant et importateur



Roche Molecular Systems, Inc.  
1080 US Highway 202 South  
Branchburg, NJ 08876 USA  
[www.roche.com](http://www.roche.com)

Fabriqué aux États-Unis



Roche Diagnostics GmbH  
Sandhofer Strasse 116  
68305 Mannheim, Germany

## Marques commerciales et brevets

Voir <https://diagnostics.roche.com/us/en/about-us/patents.html>

## Copyright

©2023 Roche Molecular Systems, Inc.



Roche Diagnostics GmbH  
Sandhofer Str. 116  
68305 Mannheim  
Germany



## Références

1. Griffiths PD. Cytomegalovirus. In: Zuckerman AJ, Banatvala JE, Schoub BD, Griffiths PD, Mortimer P, editors. *Principles and Practice of Clinical Virology*. 6th Edition. London: John Wiley and Sons; 2009. pp. 161-197.
2. Mocarski ES, Shenk T, Griffiths P, Pass RF. Cytomegalovirus. In: Knipe DM, Howley PM, editors. *Fields' Virology*. 6th Edition. Philadelphia: Lippincott, Williams & Wilkins; 2013. pp.1960-2014.
3. Reeves M, Sinclair J. Aspects of human cytomegalovirus latency and reactivation. In: Shenk TE, Stinski MF, editors. *Human Cytomegalovirus*. Berlin Heidelberg, Germany: Springer-Verlag; 2008. pp. 2976-314.
4. Jordan MC. Latent infection and the elusive cytomegalovirus. *Rev Infect Dis*. 1983;5:205-15.
5. Drew WL. Other virus infections in AIDS. I. Cytomegalovirus. *Immunol Ser*. 1989;44:507-34.
6. Drew WL. Nonpulmonary manifestations of cytomegalovirus infection in immunocompromised patients. *Clin Microbiol Rev*. 1992;5:204-10.
7. Humar A, Kumar D, Boivin G, Caliendo AM. Cytomegalovirus (CMV) virus load kinetics to predict recurrent disease in solid-organ transplant patients with CMV disease. *J Infect Dis*. 2002;186:829-33.
8. Humar A, Gregson D, Caliendo AM, et al. Clinical utility of quantitative cytomegalovirus viral load determination for predicting cytomegalovirus disease in liver transplant recipients. *Transplantation*. 1999;68:1305-11.
9. Kotton CN, Kumar D, Caliendo AM, et al. The third international consensus guidelines on the management of cytomegalovirus in solid-organ transplantation. *Transplantation*. 2018;102:900-31.
10. Cope AV, Sabin C, Burroughs A, et al. Interrelationships among quantity of human cytomegalovirus (HCMV) DNA in blood, donor-recipient serostatus, and administration of methylprednisolone as risk factors for HCMV disease following liver transplantation. *J Infect Dis*. 1997;176:1484-90.
11. Razonable RR, Hayden RT. Clinical utility of viral load in management of cytomegalovirus infection after solid organ transplantation. *Clin Microbiol Rev*. 2013;26:703-27.
12. Baldanti F, Lilleri D, Gerna G. Monitoring human cytomegalovirus infection in transplant recipients. *J Clin Virol*. 2008;41:237-41.
13. Salmon-Ceron D, Mazon MC, Chaput S, et al. Plasma cytomegalovirus DNA, pp65 antigenaemia and a low CD4 cell count remain risk factors for cytomegalovirus disease in patients receiving highly active antiretroviral therapy. *AIDS*. 2000;14:1041-9.
14. Emery VC, Sabin C, Feinberg JE, et al. Quantitative effects of valgacyclovir on the replication of cytomegalovirus (CMV) in persons with advanced human immunodeficiency virus disease: baseline CMV load dictates time to disease and survival. The AIDS Clinical Trials Group 204/Glaxo Wellcome 123-014 International CMV Prophylaxis Study Group. *J Infect Dis*. 1999;180:695-701.
15. Bowen EF, Sabin CA, Wilson P, et al. Cytomegalovirus (CMV) viraemia detected by polymerase chain reaction identifies a group of HIV-positive patients at high risk of CMV disease. *AIDS*. 1997;11:889-93.
16. Jabs DA, Gilpin AM, Min YI, et al. HIV and cytomegalovirus viral load and clinical outcomes in AIDS and cytomegalovirus retinitis patients: Monoclonal Antibody Cytomegalovirus Retinitis Trial. *AIDS*. 2002;16:877-87.
17. Pang XL, Fox JD, Fenton JM, et al. Interlaboratory comparison of cytomegalovirus viral load assays. *Am J Transplant*. 2009;9:258-68.

18. Yan SS, Fedorko DP. Recent advances in laboratory diagnosis of human cytomegalovirus infection. *Clin Appl Immunol Rev.* 2002;2:155-67.
19. Kraft CS, Armstrong WS, Caliendo AM. Interpreting quantitative cytomegalovirus DNA testing: understanding the laboratory perspective. *Clin Infect Dis.* 2012;54:1793-7.
20. Preiksaitis JK, Brennan DC, Fishman J, Allen U. Canadian Society of Transplantation consensus workshop on cytomegalovirus management in solid organ transplantation final report. *Am J Transplant.* 2005;5:218-27.
21. Longo MC, Berninger MS, Hartley JL. Use of uracil DNA glycosylase to control carry-over contamination in polymerase chain reactions. *Gene.* 1990;93:125-8.
22. Savva R, McAuley-Hecht K, Brown T, Pearl L. The structural basis of specific base-excision repair by uracil-DNA glycosylase. *Nature.* 1995;373:487-93.
23. Mol CD, Arvai AS, Slupphaug G, et al. Crystal structure and mutational analysis of human uracil-DNA glycosylase: structural basis for specificity and catalysis. *Cell.* 1995;80:869-78.
24. Higuchi R, Dollinger G, Walsh PS, Griffith R. Simultaneous amplification and detection of specific DNA sequences. *Biotechnology (N Y).* 1992;10:413-7.
25. Heid CA, Stevens J, Livak KJ, Williams PM. Real time quantitative PCR. *Genome Res.* 1996;6:986-94.
26. Centers for Disease Control and Prevention, Public Health Service, National Institutes of Health, US Department of Health and Human Services. *Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories*, 5th ed. HHS Publication No. (CDC) 21-1112. Revised Dec 2009; Accessed 10 July 2023. <https://www.cdc.gov/labs/pdf/CDC-BiosafetyMicrobiologicalBiomedicalLaboratories-2009-P.PDF>.
27. Clinical and Laboratory Standards Institute. M29-A4: Protection of laboratory workers from occupationally acquired infections; approved guideline-Fourth Edition. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2014. Accessed 10 July 2023. [https://clsi.org/media/1459/m29a4\\_sample.pdf](https://clsi.org/media/1459/m29a4_sample.pdf).
28. Fryer JF, Heath AB, Minor PD, Collaborative Study G. A collaborative study to establish the 1st WHO International Standard for human cytomegalovirus for nucleic acid amplification technology. *Biologicals.* 2016;44:242-51.

## Révision du document

Informations sur la révision du document	
Doc Rev. 3.0 07/2023	Révision pour se conformer aux exigences du RDIV. Ajout de la section <b>Évaluation des performances cliniques</b> . Insertion du symbole « Rx Only » sur la première page. Mise à jour de la page des symboles harmonisés. Mise à jour de l'adresse du fabricant. Veuillez contacter votre représentant local Roche si vous avez des questions.

Le résumé du rapport sur la sécurité et les performances peut être consulté en utilisant le lien suivant :  
<https://ec.europa.eu/tools/eudamed>