

# **cobas<sup>®</sup> EBV**

---

## **Test quantitatif des acides nucléiques à utiliser avec les systèmes cobas<sup>®</sup> 5800/6800/8800**

Pour une utilisation en diagnostic *in vitro*

**cobas<sup>®</sup> EBV**

P/N: 09040943190

### **À utiliser avec le système cobas<sup>®</sup> 5800**

**cobas<sup>®</sup> EBV/BKV Control Kit**

P/N: 09040951190

**cobas<sup>®</sup> Buffer Negative Control Kit**

P/N: 09051953190

### **À utiliser avec les systèmes cobas<sup>®</sup> 6800/8800**

**cobas<sup>®</sup> EBV/BKV Control Kit**

P/N: 08688214190 ou  
P/N: 09040951190

**cobas<sup>®</sup> Buffer Negative Control Kit**

P/N: 07002238190 ou  
P/N: 09051953190

# Table des matières

<b>Usage prévu .....</b>	<b>4</b>
<b>Résumé et explication du test.....</b>	<b>4</b>
<b>Réactifs et matériel .....</b>	<b>7</b>
Réactifs et contrôles <b>cobas® EBV</b> .....	7
Réactifs <b>cobas® omni</b> pour préparation des échantillons.....	10
Conditions de conservation des réactifs.....	11
Conditions de manipulation des réactifs pour le système <b>cobas® 5800</b> ou les systèmes <b>cobas® 6800/8800</b> .....	11
Matériel supplémentaire nécessaire pour les systèmes <b>cobas® 5800/6800/8800</b> .....	12
Instruments et logiciels nécessaires .....	14
<b>Précautions et conditions de manipulation .....</b>	<b>14</b>
Avertissements et précautions.....	14
Manipulation des réactifs.....	15
Bonnes pratiques de laboratoire.....	16
<b>Prélèvement, transport et conservation des échantillons .....</b>	<b>16</b>
Échantillons.....	16
<b>Instructions d'utilisation .....</b>	<b>18</b>
Notes de procédure .....	18
Exécution du test <b>cobas® EBV</b> sur les systèmes <b>cobas® 5800/6800/8800</b> .....	18
<b>Résultats .....</b>	<b>21</b>
Contrôle qualité et validité des résultats sur le système <b>cobas® 5800</b> et les systèmes <b>cobas® 6800/8800</b> avec la version du logiciel 2.0 ou supérieure.....	21
Contrôle qualité et validité des résultats sur les systèmes <b>cobas® 6800/8800</b> avec la version du logiciel 1.4.....	21
Alertes de contrôle sur les systèmes <b>cobas® 6800/8800</b> avec la version du logiciel 1.4.....	22
Interprétation des résultats pour les systèmes <b>cobas® 5800/6800/8800</b> .....	22
Interprétation des résultats sur le système <b>cobas® 5800</b> et les systèmes <b>cobas® 6800/8800</b> avec la version du logiciel 2.0 ou supérieure.....	23

---

Interprétation des résultats sur les systèmes cobas® 6800/8800 avec la version du logiciel 1.4.....	23
Limitations procédurales.....	23
<b>Évaluation des performances non cliniques.....</b>	<b>24</b>
Équivalence des systèmes.....	24
Caractéristiques clés des performances.....	24
Limite de détection (LoD).....	24
Domaine de linéarité.....	25
Précision intra-laboratoire.....	26
Vérification des géotypes.....	27
Spécificité.....	27
Spécificité analytique.....	28
Spécificité analytique - substances interférentes.....	29
Corrélation de la méthode.....	29
Échec complet du système.....	30
Contamination croisée.....	30
<b>Évaluation des performances cliniques.....</b>	<b>31</b>
Reproductibilité du test cobas® EBV.....	31
Performance du test cobas® EBV.....	32
<b>Informations supplémentaires.....</b>	<b>35</b>
Caractéristiques clés du test.....	35
Symboles.....	36
Assistance technique.....	37
Fabricant et importateur.....	37
Marques commerciales et brevets.....	37
Droit d'auteur.....	37
Références.....	38
Révision du document.....	39

## Usage prévu

Le test **cobas**® EBV est un test *in vitro* d'amplification des acides nucléiques pour le dosage quantitatif de l'ADN du virus d'Epstein-Barr (EBV) dans le plasma EDTA humain sur les systèmes **cobas**® 5800/6800/8800.

Le test **cobas**® EBV est destiné à contribuer au diagnostic et au traitement de l'EBV chez les patients receveurs de greffe. Pour les patients sous surveillance de l'EBV, des mesures d'ADN en série peuvent être effectuées pour indiquer le besoin d'éventuels changements de traitement et pour évaluer la réponse virale au traitement.

Les résultats du test **cobas**® EBV doivent être interprétés en tenant compte de tous les résultats cliniques et de laboratoire pertinents.

## Résumé et explication du test

### Contexte

Les receveurs de greffe encourent un risque accru de nombreuses infections virales et bactériennes qui sont plus susceptibles de provoquer de graves effets néfastes sur la santé de la population des receveurs de greffe que sur celle de la population générale en bonne santé. Ce risque accru est en partie dû aux fonctions diminuées du système immunitaire en raison des médicaments immunosuppresseurs que prennent les patients receveurs de greffe pour réduire la probabilité de rejet du greffon.<sup>1,2</sup>

L'EBV appartient à la famille des virus de l'herpès. C'est un virus à acide désoxyribonucléique (ADN) enveloppé double brin (~172 kb). Deux géotypes principaux de l'EBV, le type 1 et le type 2, ont été définis grâce aux différences au niveau du gène EBNA-2. Les infections à l'EBV sont assez fréquentes chez l'humain ; plus de 90 % des adultes sont infectés et cette infection latente persiste tout au long de la vie. L'EBV est responsable de la mononucléose infectieuse dans un sous-ensemble d'adolescents et d'adultes nouvellement infectés et il est associé à plusieurs types de cancer, comme le carcinome du nasopharynx, le lymphome de Burkitt ou le lymphome de Hodgkin. L'EBV peut être responsable de syndromes lymphoprolifératifs chez les personnes atteintes d'immunodéficience congénitale ou acquise, comme par exemple les receveurs de greffe et les patients atteints du virus de l'immunodéficience humaine/du syndrome d'immunodéficience acquise (VIH/SIDA).<sup>3</sup>

Chez les receveurs de greffe, l'EBV peut provoquer une maladie soit par réactivation d'un virus latent dans les lymphocytes B à mémoire, soit par le biais d'une nouvelle infection primaire, particulièrement chez les patients négatifs pour l'EBV recevant un greffon de la part d'un donneur positif pour l'EBV.<sup>3</sup> Chez ces patients, la forme la plus sévère de maladie liée à l'EBV est la lymphoprolifération post-transplantation (LPT), qui résulte d'une prolifération incontrôlée des lymphocytes, typiquement les lymphocytes B.<sup>4</sup> Globalement, plus de 70 % des cas de LPT parmi les receveurs de greffe sont liés à une infection à l'EBV. Le risque le plus élevé de LPT survient au cours de la première année suivant la transplantation, et plus de 90 % des cas de LPT se déclarant pendant cette période sont liés à l'EBV. Jusqu'à 20 % des cas de LPT se déclarant après la première année post-transplantation sont négatifs pour l'EBV.<sup>4,5</sup>

Les facteurs de risque pour la LPT précoce comprennent le statut sérologique du patient négatif pour l'EBV au moment de la transplantation, la jeunesse, l'exposition à des anticorps responsables d'une déplétion des lymphocytes, et le type d'organe transplanté.<sup>5,6</sup>

Une identification précoce des infections primaires à l'EBV ainsi qu'une surveillance du niveau d'ADN peuvent favoriser une intervention thérapeutique rapide pour prévenir l'évolution vers une maladie liée à l'EBV. Les directives recommandent une surveillance régulière de l'EBV à l'aide de tests quantitatifs des acides nucléiques (NAT), en particulier chez les patients receveurs de greffe à haut risque qui sont négatifs pour l'EBV.<sup>4,5</sup> Bien que le seuil viral médicalement pertinent 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 des niveaux élevés d'ADN de l'EBV sont corrélés à un risque accru de développement de maladie à l'EBV et de la LPT.<sup>4,5,7</sup> Des échantillons de plasma et de sang total ont été utilisés pour le test EBV, mais les données indiquent que le plasma est plus spécifique pour la détection de la LPT.<sup>4,5,7,8</sup>

Les interventions thérapeutiques courantes destinées à réduire les niveaux d'ADN de l'EBV et à prévenir l'apparition de la LPT comprennent une réduction des doses de médicaments immunosuppresseurs et du traitement aux anticorps responsables d'une déplétion des lymphocytes B.<sup>7</sup> Le traitement préventif pour réduire les niveaux d'ADN de l'EBV est efficace chez la plupart des patients ; cependant, jusqu'à 20 % des patients peuvent toujours développer la LPT, en particulier ceux qui ont reçu une greffe il y a plus d'un an.<sup>7</sup>

La plupart des tests de laboratoire pour le dosage quantitatif de l'EBV ne sont pas standardisés, ce qui a entraîné une variabilité inter-laboratoire et inter-analyse des résultats des niveaux d'ADN et empêche la comparaison des niveaux d'ADN générés par différents laboratoires et tests.<sup>7</sup> Pour répondre à ce problème, l'OMS a créé un standard international pour le dosage quantitatif de l'EBV, permettant aux tests standardisés d'être rapportés en UI/mL.<sup>9</sup> Une évaluation formelle de la reproductibilité et de la validité des niveaux d'ADN de l'EBV est essentielle pour assurer des résultats cohérents dans tous les laboratoires, afin d'améliorer le traitement clinique des patients présentant un risque accru de développer des maladies liées à l'EBV ainsi que la LTD.

## **Pourquoi employer les tests des acides nucléiques ?**

La sérologie EBV du donneur et du receveur est déterminée avant la transplantation pour aider à déterminer le risque de complications liées à l'EBV d'un patient receveur de greffe, mais la sérologie n'est pas suffisamment sensible ou précise pour surveiller les patients après la transplantation. Les méthodes de culture de l'EBV sont lentes et présentent une faible valeur prédictive dans cette configuration. La détection directe de l'ADN de l'EBV par PCR en temps réel peut offrir un large domaine de linéarité, ainsi qu'une précision, une sensibilité et une spécificité élevées.

## **Explication du test**

Le test **cobas**® EBV est un test quantitatif exécuté sur les systèmes **cobas**® 5800/6800/8800. Le test **cobas**® EBV permet la détection et la quantification de l'ADN de l'EBV dans le plasma EDTA de patients infectés. La charge virale est quantifiée par rapport à un standard de quantification d'ADN non-EBV (DNA-QS), qui est introduit dans chaque échantillon lors du traitement 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 1<sup>er</sup> standard international de l'OMS pour l'EBV (code NIBSC : 09/260). Chaque lot de kits d'amplification/de détection est calibré conformément au 1<sup>er</sup> standard international de l'OMS pour l'EBV (code NIBSC : 09/260).

## Principes de la procédure

Le test **cobas**® EBV repose sur la préparation entièrement automatisée des échantillons (extraction et purification des acides nucléiques) suivie de l'amplification par PCR et de la détection. Le système **cobas**® 5800 est conçu sous la forme d'un instrument intégré. Les systèmes **cobas**® 6800/8800 sont composés du module de chargement des échantillons, du module de transfert, du module de traitement et du module analytique. La gestion automatisée des données est réalisée par le logiciel du système **cobas**® 5800 ou des systèmes **cobas**® 6800/8800, lequel attribue à chaque test l'un des résultats suivants : cible non détectée, ADN de l'EBV détecté < LLoQ (limite de quantification inférieure), ADN de l'EBV détecté > ULoQ (limite de quantification supérieure) ou valeur dans le domaine de linéarité  $LLoQ < x < ULoQ$ . 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 et des molécules de DNA-QS lambda ajoutées sont extraits simultanément. L'acide nucléique viral est libéré par l'ajout de protéinase et de réactif de lyse à l'échantillon. L'acide nucléique libéré se lie à la surface des particules magnétiques de verre (silice) ajoutées. Les substances non liées et les impuretés, telles que les protéines dénaturées, les débris cellulaires et les inhibiteurs potentiels de PCR, sont éliminées lors d'étapes suivantes utilisant des réactifs de lavage, et l'acide nucléique purifié est séparé des particules de verre à l'aide d'un tampon d'éluion à température élevée.

L'amplification sélective de l'acide nucléique cible dans l'échantillon est effectuée à l'aide d'une approche double-cible spécifique au virus dans des régions hautement conservées de l'EBV, situées dans le gène EBNA-1 de l'EBV et le gène BMRF de l'EBV. L'amplification sélective du DNA-QS 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 de l'EBV. 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).<sup>10-12</sup> 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. 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 de **cobas**® EBV contient deux sondes de détection spécifiques aux séquences cibles de l'EBV et une sonde spécifique au DNA-QS. Les sondes sont marquées au moyen de fluorophores rapporteurs spécifiques des cibles permettant la détection simultanée de cible d'EBV et de DNA-QS dans deux canaux cibles différents.<sup>13,14</sup> Le signal fluorescent des sondes intactes est supprimé par un fluorophore quencher. Lors de l'étape d'amplification par PCR, l'hybridation de la sonde aux matrices d'ADN monocaténaire spécifiques entraîne un clivage 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 est intensifié 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.

# Réactifs et matériel

## Réactifs et contrôles cobas® EBV

Le matériel fourni pour le test cobas® EBV est décrit dans le Tableau 1. Le matériel nécessaire mais non fourni est décrit du Tableau 2 au Tableau 4 et du Tableau 8 au Tableau 9.

Tout réactif ou contrôle non ouvert doit être stocké conformément aux recommandations décrites du Tableau 1 au Tableau 4.

**Tableau 1 cobas® EBV**

### cobas® EBV

Conserver à 2-8 °C

Cassette de 192 tests (P/N 09040943190)

Composants du kit	Ingrédients du réactif	Quantité par kit 192 tests
<b>Solution de protéinase (PASE)</b>	Tampon Tris, < 0,05 % EDTA, chlorure de calcium, acétate de calcium, 8 % de protéinase, glycérol  EUH210 : Fiche de sécurité disponible sur demande. EUH208 : contient de la subtilisine de <i>Bacillus subtilis</i> . Peut produire une réaction allergique.	22,3 mL
<b>Standard de quantification d'ADN (DNA QS)</b>	Tampon Tris, < 0,05 % d'EDTA, < 0,001 % de construction d'ADN non-EBV contenant un site de liaison aux amorces non-EBV et un site unique de liaison à la sonde (ADN non infectieux), < 0,002 % d'ARN Poly rA (synthétique), < 0,1 % d'azoture de sodium	21,2 mL
<b>Tampon d'éluion (EB)</b>	Tampon Tris, 0,2 % de 4-hydroxybenzoate de méthyle	21,2 mL
<b>Réactif 1 de master mix (MMX-R1)</b>	Acétate de manganèse, hydroxyde de potassium, < 0,1 % d'azoture de sodium	7,5 mL
<b>Réactif 2 du master mix EBV (EBV MMX-R2)</b>	Tampon de tricine, acétate de potassium, < 18 % de sulfoxyde de diméthyle, glycérol, < 0,1 % de Tween 20, EDTA, < 0,12 % de dATP, dCTP, dGTP, dUTPs, < 0,01 % d'amorces sens et antisens de EBV, < 0,01 % d'amorces sens et antisens de standard de quantification, < 0,01 % de sondes oligonucléotidiques marquées par fluorescence spécifiques au EBV et au standard de quantification EBV, < 0,01 % d'aptamère d'oligonucléotide, < 0,01% d'ADN polymérase Z05D, < 0,10% d'enzyme (microbienne) AmpErase (uracil-N-glycosylase), < 0,1 % d'azoture de sodium	9,7 mL

**Tableau 2** cobas® EBV/BKV Control Kit**cobas® EBV/BKV Control Kit**

Conserver à 2-8 °C

À utiliser avec le système cobas® 5800 et les systèmes cobas® 6800/8800 avec la version du logiciel 2.0 ou supérieure (P/N 09040951190)

À utiliser avec les systèmes cobas® 6800/8800 avec la version du logiciel 1.4 (P/N 08688214190 ou P/N 09040951190)

Composants du kit	Ingrédients du réactif	Quantité par kit	Symboles de sécurité et avertissements*
<b>Contrôle positif bas de EBV/BKV (EBV/BKV L(+))C)</b>	< 0,001 % d'ADN (plasmidique) synthétique d'EBV encapsulé dans la protéine d'enveloppe bactériophage lambda, plasma humain normal, ADN de l'EBV non détectable par les méthodes de PCR  <0,1 % de conservateur ProClin® 300**	4 mL (8 × 0,5 mL)	  <b>AVERTISSEMENT</b> H317 : Peut provoquer une allergie cutanée. H412 : Nocif pour les organismes aquatiques, entraîne des effets néfastes à long terme. P261 : Éviter de respirer les poussières/fumées/gaz/brouillards/vapeurs/aérosols. P273 : Éviter le rejet dans l'environnement. 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. 55965-84-9 Masse réactionnelle de : 5-chloro-2-méthyl-4-isothiazolin-3-one et 2-méthyl-2H -isothiazol-3-one (3:1).
<b>Contrôle positif haut de EBV/BKV (EBV/BKV H(+))C)</b>	< 0,001 % d'ADN (plasmidique) synthétique d'EBV encapsulé dans la protéine d'enveloppe bactériophage lambda, plasma humain normal, ADN de l'EBV non détectable par les méthodes de PCR  <0,1 % de conservateur ProClin® 300**	4 mL (8 × 0,5 mL)	  <b>AVERTISSEMENT</b> H317 : Peut provoquer une allergie cutanée. H412 : Nocif pour les organismes aquatiques, entraîne des effets néfastes à long terme. P261 : Éviter de respirer les poussières/fumées/gaz/brouillards/vapeurs/aérosols. P273 : Éviter le rejet dans l'environnement. 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. 55965-84-9 Masse réactionnelle de : 5-chloro-2-méthyl-4-isothiazolin-3-one et 2-méthyl-2H -isothiazol-3-one (3:1).

\* Les mentions de sécurité du produit sont conformes en premier lieu au SGH de l'UE.

\*\* Substances ou mélanges dangereux.

**Tableau 3 cobas® Buffer Negative Control Kit****cobas® Buffer Negative Control Kit**

Conserver à 2-8 °C

À utiliser avec le système **cobas®** 5800 et les systèmes **cobas®** 6800/8800 avec la version du logiciel 2.0 ou supérieure (P/N 09051953190)À utiliser avec les systèmes **cobas®** 6800/8800 avec la version du logiciel 1.4 (P/N 07002238190 ou P/N 09051953190)

<b>Composants du kit</b>	<b>Ingrédients du réactif</b>	<b>Quantité par kit</b>
<b>cobas® Buffer Negative Control (BUF (-) C)</b>	Tampon Tris, < 0,1 % d'azoture de sodium, EDTA, 0,002 % d'ARN Poly rA (synthétique)	16 mL (16 × 1 mL)

## Réactifs cobas® omni pour préparation des échantillons

Tableau 4 Réactifs cobas® omni pour préparation des échantillons

Réactifs	Ingrédients du réactif	Quantité par kit	Symboles de sécurité et avertissements*
<b>cobas® omni MGP Reagent (MGP)</b> Conserver à 2-8 °C (P/N 06997546190)	Particules magnétiques de verre, tampon Tris, 0,1 % de 4-hydroxybenzoate de méthyle, < 0,1 % d'azoture de sodium	480 tests	Sans objet
<b>cobas® omni Specimen Diluent (SPEC DIL)</b> Conserver à 2-8 °C (P/N 06997511190)	Tampon Tris, 0,1 % de 4-hydroxybenzoate de méthyle, < 0,1 % d'azoture de sodium	4 × 875 mL	Sans objet
<b>cobas® omni Lysis Reagent (LYS)</b> Conserver à 2-8 °C (P/N 06997538190)	43 % (m/m) de thiocyanate de guanidinium**, 5 % (m/v) de polidocanol**, 2 % (m/v) de dithiothréitol**, citrate de sodium dihydraté	4 × 875 mL	 <p><b>DANGER</b></p> <p>H302 + H332 : Nocif en cas d'ingestion ou par inhalation.            H314 : Provoque des brûlures de la peau et des graves lésions des yeux.            H411 : Toxique pour les organismes aquatiques, entraîne des effets néfastes à long terme.            EUH032 : Au contact d'un acide, dégage un gaz très toxique.            P273 : Éviter le rejet dans l'environnement.            P280 : Porter des gants de protection/des vêtements de protection/un équipement de protection des yeux/du visage/un équipement de protection auditive.            P303 + P361 + P353 : EN CAS DE CONTACT AVEC LA PEAU (ou les cheveux) : enlever immédiatement tous les vêtements contaminés. Rincer la peau à l'eau.            P304 + P340 + P310 : EN CAS D'INHALATION : transporter la personne à l'extérieur et la maintenir dans une position où elle peut confortablement respirer. Appeler immédiatement un CENTRE ANTIPOISON/un médecin.            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.            P391 : Recueillir le produit déversé.            593-84-0 Thiocyanate de guanidinium            9002-92-0 Polidocanol            3483-12-3 (R*,R*)-1,4-dimercaptobutane-2,3-diol</p>

<b>cobas® omni Wash Reagent (WASH)</b> Conserver à 15-30 °C (P/N 06997503190)	Citrate de sodium dihydraté, 0,1 % de 4-hydroxybenzoate de méthyle	4,2 L	Sans objet
---	--	-------	------------

\* Les mentions de sécurité du produit sont conformes en premier lieu au SGH de l'UE.

\*\* Substances ou mélanges dangereux.

## Conditions de conservation des réactifs

Les réactifs doivent être stockés et manipulés comme spécifié dans le Tableau 5, le Tableau 6 et le Tableau 7.

Lorsque les réactifs ne sont pas chargés sur le système **cobas® 5800** ou les systèmes **cobas® 6800/8800**, ils doivent être stockés à la température spécifiée dans le Tableau 5.

**Tableau 5** Stockage des réactifs (lorsque le réactif n'est pas sur le système)

Réactif	Température de stockage
<b>cobas® EBV</b>	2-8 °C
<b>cobas® EBV/BKV Control Kit</b>	2-8 °C
<b>cobas® Buffer Negative Control Kit</b>	2-8 °C
<b>cobas® omni Lysis Reagent</b>	2-8 °C
<b>cobas® omni MGP Reagent</b>	2-8 °C
<b>cobas® omni Specimen Diluent</b>	2-8 °C
<b>cobas® omni Wash Reagent</b>	15-30 °C

## Conditions de manipulation des réactifs pour le système **cobas® 5800** ou les systèmes **cobas® 6800/8800**

Les réactifs chargés sur le système **cobas® 5800** ou les systèmes **cobas® 6800/8800** sont stockés à des températures appropriées et leur date de péremption est surveillée et appliquée par le système. Le système ne permet l'utilisation des réactifs que si toutes les conditions de manipulation des réactifs indiquées dans le Tableau 6, le Tableau 7 et le Tableau 8 sont remplies. Le système empêche automatiquement l'utilisation de réactifs périmés. La stabilité de kit ouvert et le nombre d'utilisations du kit pour les réactifs spécifiques au test sont des informations accessibles via l'interface utilisateur des systèmes.

**Tableau 6** Conditions de péremption des réactifs surveillées et appliquées par le système **cobas® 5800**

Réactif	Stabilité de kit ouvert	Nombre d'utilisations du kit	Stabilité à bord
<b>cobas® EBV</b>	90 jours à partir de la première utilisation	40	36 jours à partir du chargement
<b>cobas® EBV/BKV Control Kit</b>	flacon à usage unique*	8	36 jours à partir du chargement
<b>cobas® Buffer Negative Control Kit</b>	flacon à usage unique	16	36 jours à partir du chargement

**Tableau 7** Conditions de péremption des réactifs surveillées et appliquées par les systèmes **cobas®** 6800/8800

Réactif	Stabilité de kit ouvert	Nombre d'utilisations du kit	Stabilité à bord (à bord, en dehors du réfrigérateur)
<b>cobas®</b> EBV	90 jours à partir de la première utilisation	40	40 heures
<b>cobas®</b> EBV/BKV Control Kit	flacon à usage unique	8	8 heures
<b>cobas®</b> Buffer Negative Control Kit	flacon à usage unique	16	10 heures

Le Tableau 8 indique la stabilité de kit ouvert des réactifs **cobas®** **omni**. Avant chaque run, le système vérifie la stabilité de kit ouvert et s'assure que le volume de remplissage est suffisant. Par conséquent, aucun nombre d'utilisations du kit ou stabilité à bord n'est affecté(e) à ces réactifs.

**Tableau 8** Conditions de péremption des réactifs **cobas®** **omni** surveillées et appliquées par les systèmes **cobas®** 5800/6800/8800

Réactif	Stabilité de kit ouvert
<b>cobas®</b> <b>omni</b> Lysis Reagent	30 jours à partir du chargement
<b>cobas®</b> <b>omni</b> MGP Reagent	30 jours à partir de la première utilisation
<b>cobas®</b> <b>omni</b> Specimen Diluent	30 jours à partir du chargement
<b>cobas®</b> <b>omni</b> Wash Reagent	30 jours à partir du chargement

## Matériel supplémentaire nécessaire pour les systèmes **cobas®** 5800/6800/8800

**Tableau 9** Matériel à utiliser sur les systèmes **cobas®** 5800/6800/8800

Matériel	P/N
<b>cobas®</b> <b>omni</b> Lysis Reagent	06997538190
<b>cobas®</b> <b>omni</b> MGP Reagent	06997546190
<b>cobas®</b> <b>omni</b> Specimen Diluent	06997511190
<b>cobas®</b> <b>omni</b> Wash Reagent	06997503190

**Tableau 10** Consommables à utiliser sur le système **cobas® 5800\***

<b>Matériel</b>
<b>cobas® omni</b> Processing Plate 24
<b>cobas® omni</b> Liquid Waste Plate 24
<b>cobas® omni</b> Amplification Plate 24
Embout CORE TIPS avec filtre, 1 mL
Embout CORE TIPS avec filtre, 300 µL
<b>cobas® omni</b> Liquid Waste Container
Sac à déchets solides ou sac à déchets solides avec insert
Portoir S de tubes à 16 positions complet
Portoir de racks à 5 positions

\* Pour consulter les numéros de pièces, se reporter à l'Assistance Utilisateur du système **cobas® 5800**.

**Tableau 11** Consommables à utiliser sur les systèmes **cobas® 6800/8800\***

<b>Matériel</b>
<b>cobas® omni</b> Processing Plate
<b>cobas® omni</b> Amplification Plate
<b>cobas® omni</b> Pipette Tips
<b>cobas® omni</b> Liquid Waste Container
Sac à déchets solides et réservoir à déchets solides ou sac à déchets solides avec insert et kit tiroir

\* Pour consulter l'ensemble des messages système, se reporter à l'Assistance Utilisateur des systèmes **cobas® 6800/8800**.

## Instruments et logiciels nécessaires

Le logiciel du système **cobas**® 5800, le logiciel des systèmes **cobas**® 6800/8800 et les fichiers d'analyse **cobas**® EBV (ASAP) pour les systèmes **cobas**® 5800/6800/8800 doivent être installés.

Pour le système **cobas**® 5800 et les systèmes **cobas**® 6800/8800 avec la version de logiciel 2.0 ou supérieure, le logiciel x800 Data Manager et le PC (ou serveur) sont fournis avec le système.

Pour les systèmes **cobas**® 6800/8800 avec la version de logiciel 1.4, le serveur IG (Instrument Gateway) est fourni avec le système.

**Tableau 12** Instrumentation

Équipement	P/N
Système <b>cobas</b> ® 5800	08707464001
Système <b>cobas</b> ® 6800	05524245001 et 09575154001
Système <b>cobas</b> ® 8800	05412722001 et 09575146001
Module de chargement des échantillons les systèmes <b>cobas</b> ® 6800/8800	06301037001 et 09936882001

Se reporter à l'Assistance Utilisateur du système **cobas**® 5800 ou des systèmes **cobas**® 6800/8800 pour obtenir plus d'informations.

Remarque : contacter le représentant Roche local pour obtenir une liste détaillée de références des tubes primaires et secondaires, racks échantillons, racks pour embouts à filtre et plateaux de racks acceptés sur les instruments.

## Précautions et conditions de manipulation

### Avertissements et précautions

Comme pour le déroulement de tout test, de bonnes pratiques de laboratoire sont indispensables pour assurer la qualité de cette analyse. Du fait de la sensibilité élevée de ce test, il est indispensable d'éviter toute contamination des réactifs et des mélanges d'amplification.

- Destiné uniquement au diagnostic *in vitro*.
- L'utilisation du test **cobas**® EBV en tant que test de dépistage de l'EBV 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>15, 16</sup> Seul le personnel expert dans la manipulation du matériel présentant un risque biologique et l'utilisation du test **cobas**® EBV et des systèmes **cobas**® 5800/6800/8800 doit effectuer cette procédure.
- Tout produit d'origine humaine doit être considéré comme potentiellement infectieux et doit être manipulé selon les précautions universelles. En cas d'éclaboussures, désinfecter immédiatement avec une solution fraîchement préparée contenant 0,5 % d'hypochlorite de sodium ou de potassium dans de l'eau distillée ou déionisée ou suivre les procédures locales appropriées.
- Le **cobas**® EBV/BKV Control Kit contient du plasma dérivé de sang humain. Le matériel source a été testé par les méthodes de PCR et a montré des traces acceptables de faibles niveaux d'ADN de l'EBV. 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.

- **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 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. Tout écart par rapport aux procédures et directives peut affecter les performances du test.
- Il existe un risque de résultats faux positifs si l'interférence des échantillons n'est pas correctement contrôlée lors de la manipulation et du traitement des échantillons.
- En cas de déversement de liquide contenant du chlorhydrate 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 ou de potassium à 0,5 %.
- Étant donné que plus de 90 % des adultes sont des porteurs chroniques d'EBV qui peuvent abriter plus de  $10^8$  copies/mL d'EBV dans leur salive, et au vu de la sensibilité élevée du test, il est important de mettre en place des mesures adéquates de contrôle de la contamination dans les laboratoires.<sup>17</sup>
- Informez votre autorité locale compétente et votre fabricant responsable au sujet de tout incident grave pouvant survenir lors de l'utilisation de ce test.

## Manipulation des réactifs

- Manipuler tous les réactifs, contrôles et échantillons selon les bonnes pratiques de laboratoire afin d'éviter une interférence des échantillons ou des contrôles.
- Avant utilisation, inspecter visuellement chaque cassette de réactifs, diluant, réactif de lyse et réactif de lavage pour détecter tout signe de fuite. En présence de fuite, ne pas utiliser ce matériel pour le test.
- Le **cobas® omni** Lysis Reagent 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 kits de test **cobas® EBV**, le **cobas® omni** MGP Reagent et le **cobas® omni** Specimen Diluent contiennent de l'azote de sodium en tant que 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 **cobas® omni** Lysis Reagent, qui contient du thiocyanate de guanidine, et la solution d'hypochlorite de sodium ou de potassium. Le mélange peut produire un gaz extrêmement toxique.
- Jeter tout le matériel qui a été en contact avec les échantillons et réactifs conformément à la réglementation nationale, fédérale, régionale et locale.

## Bonnes pratiques de laboratoire

- Ne pas pipeter à la bouche.
- Ne pas manger, boire ou fumer dans les zones de travail désignées.
- Porter des gants de laboratoire, une blouse de laboratoire et des lunettes de protection lors de la manipulation d'échantillons et de réactifs. Afin d'éviter toute contamination, les gants doivent être changés entre la manipulation d'échantillons et la manipulation de réactifs des kits de test **cobas® EBV**, de contrôle positif bas d'EBV/BKV (EBV/BKV L(+))C), de contrôle positif haut d'EBV/BKV (EBV/BKV H(+))C), des **cobas® Buffer Negative Control (BUF (-) C)** et **cobas® omni**. Éviter la contamination des gants lors de la manipulation des échantillons et des contrôles.
- Bien se laver les mains après la manipulation d'échantillons et de réactifs de test, et après le retrait des gants.
- Nettoyer et désinfecter soigneusement tous les plans de travail du laboratoire avec une solution fraîchement préparée d'hypochlorite de sodium ou de potassium à 0,5 % dans de l'eau distillée ou déionisée. Puis essuyer les surfaces avec de l'éthanol à 70 %.
- En cas d'éclaboussures sur l'instrument **cobas® 5800** ou les instruments **cobas® 6800/8800**, suivre les instructions de l'Assistance Utilisateur du système **cobas® 5800** ou des systèmes **cobas® 6800/8800** afin de nettoyer et de décontaminer correctement les surfaces du ou des instruments.

## Prélèvement, transport et conservation des échantillons

**Remarque : manipuler tous les échantillons et contrôles comme s'ils étaient susceptibles de transmettre des agents infectieux.**

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.

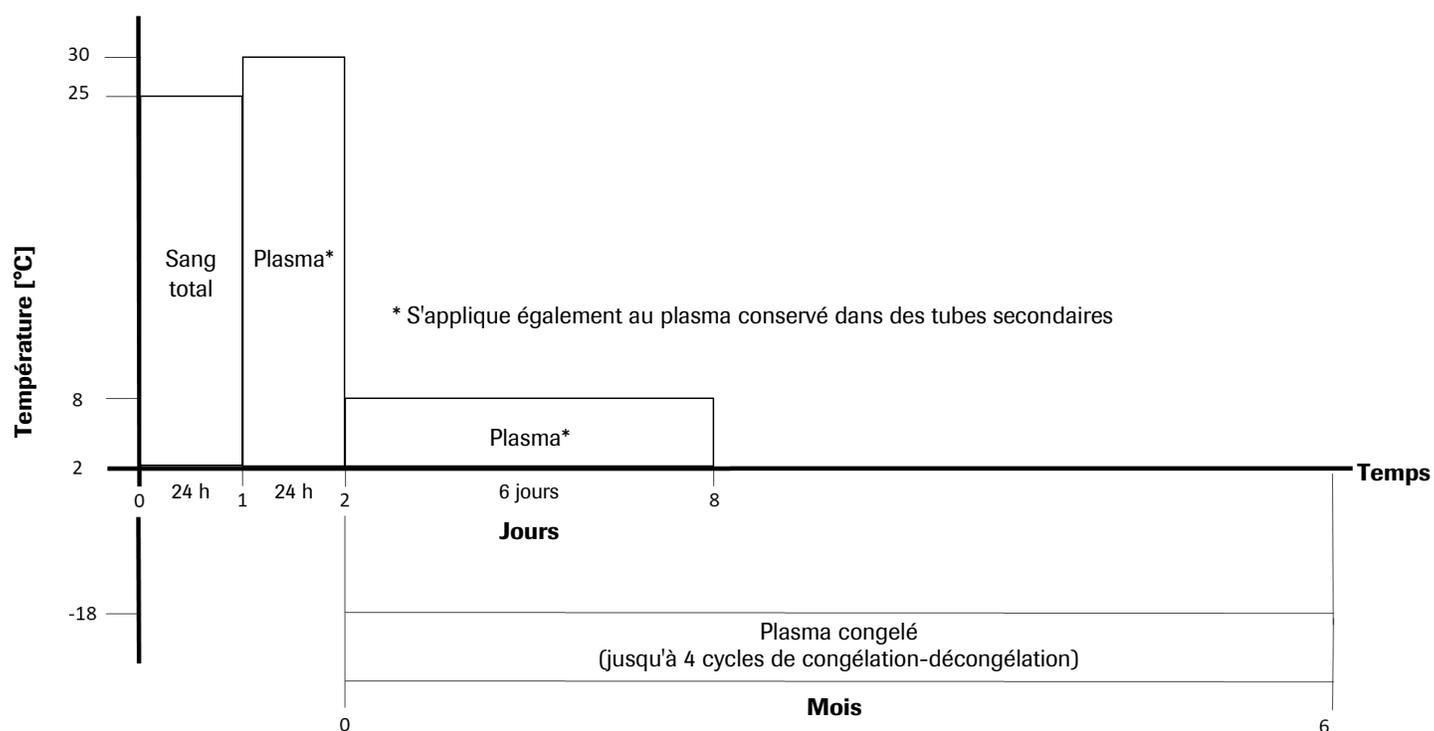
Après centrifugation, s'il existe une possibilité que des cellules aient été remises en suspension dans le plasma, envisager une recentrifugation avant d'effectuer le traitement sur l'instrument.

## Échantillons

- Le sang total doit être prélevé dans des tubes de préparation du plasma BD Vacutainer® PPT™ pour les méthodes de tests de diagnostic moléculaire ou dans des tubes stériles avec de l'EDTA comme anticoagulant. Suivre les instructions du fabricant des tubes de prélèvement d'échantillons. Consulter le Figure 1.
- Le sang total prélevé dans des tubes de préparation du plasma BD Vacutainer® PPT™ pour les méthodes de tests de diagnostic moléculaire ou dans des tubes stériles avec de l'EDTA comme anticoagulant peut être conservé et/ou transporté à une température comprise entre 2 et 25 °C pendant 24 heures au maximum avant la préparation du plasma. La centrifugation doit être effectuée conformément aux instructions du fabricant.
- Après la séparation, les échantillons de plasma peuvent être conservés dans des tubes primaires ou secondaires pendant 24 heures à une température comprise entre 2 et 30 °C, puis :
  - Conservation dans des tubes primaires ou secondaires pendant une durée maximale de 6 jours à une température comprise entre 2 et 8 °C.
  - Conservation dans des tubes secondaires pendant une durée maximale de 6 mois à une température ≤ -18 °C.

- Les échantillons de plasma sont stables pendant un maximum de quatre cycles de congélation/décongélation lorsqu'ils sont conservés à une température  $\leq -18$  °C.

**Figure 1** Conditions de stockage des échantillons



- 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

## Notes de procédure

- Ne pas utiliser les réactifs du test **cobas® EBV**, du **cobas® EBV/BKV Control Kit**, du **cobas® Buffer Negative Control Kit**, ni les réactifs **cobas® omni** après leur date de péremption.
- Ne pas réutiliser les consommables. Ils sont destinés à un usage unique.
- Le test **cobas® EBV** peut être exécuté avec un volume d'échantillon minimum de 350 µL dont 200 µL sont traités.

## Exécution du test **cobas® EBV** sur les systèmes **cobas® 5800/6800/8800**

- Le fonctionnement de l'instrument est décrit en détail dans l'Assistance Utilisateur du système **cobas® 5800** ou des systèmes **cobas® 6800/8800**.
- Se reporter à l'Assistance Utilisateur du système **cobas® 5800** ou des systèmes **cobas® 6800/8800** pour obtenir des informations sur la bonne maintenance des instruments.
- S'assurer que les étiquettes à codes-barres des échantillons figurant sur les tubes échantillon sont visibles à travers les ouvertures latérales des racks d'échantillons RD5 ou MPA. Se reporter à l'Assistance Utilisateur du système **cobas® 5800** ou des systèmes **cobas® 6800/8800** pour consulter les spécifications relatives aux codes-barres appropriés et obtenir des informations supplémentaires sur le chargement des tubes échantillon.

**Figure 2** cobas® EBV : procédure du test sur le système cobas® 5800

<b>1</b>	Se connecter au système
<b>2</b>	Charger les échantillons sur le système : <ul style="list-style-type: none"><li>• Charger les racks d'échantillons sur le système</li><li>• Le système se prépare automatiquement</li><li>• Demander des tests</li></ul>
<b>3</b>	Charger les réactifs et les consommables comme indiqué par le système : <ul style="list-style-type: none"><li>• Charger la ou les cassettes de réactifs spécifique(s) au test</li><li>• Charger les mini-racks de contrôles</li><li>• Charger les embouts de traitement</li><li>• Charger les embouts d'élution</li><li>• Charger les plaques de traitement</li><li>• Charger les plaques à déchets liquides</li><li>• Charger les plaques d'amplification</li><li>• Charger la cassette MGP</li><li>• Recharger le diluant de spécimen</li><li>• Recharger le réactif de lyse</li><li>• Recharger le réactif de lavage</li></ul>
<b>4</b>	Démarrer le run en sélectionnant le bouton de démarrage du traitement sur l'interface utilisateur ; tous les runs suivants démarreront automatiquement s'ils ne sont pas reportés manuellement
<b>5</b>	Consulter et exporter les résultats
<b>6</b>	Retirer et boucher tous les tubes d'échantillon présentant le volume minimum requis s'ils doivent être réutilisés ultérieurement Nettoyer l'instrument : <ul style="list-style-type: none"><li>• Décharger les mini-racks de contrôle vides</li><li>• Décharger la ou les cassettes de réactifs spécifique(s) au test vide(s)</li><li>• Vider le tiroir de plaques d'amplification</li><li>• Vider les déchets liquides</li><li>• Vider les déchets solides</li></ul>

**Figure 3** cobas® EBV : procédure du test sur les systèmes cobas® 6800/8800

<b>1</b>	Se connecter au système Appuyer sur « Démarrer » pour préparer le système Demander des tests
<b>2</b>	Charger les réactifs et les consommables comme indiqué par le système : <ul style="list-style-type: none"><li>• Charger la cassette de réactifs spécifique au test</li><li>• Charger les cassettes de contrôles</li><li>• Charger les embouts de pipette</li><li>• Charger les plaques de traitement</li><li>• Charger le réactif MGP</li><li>• Charger les plaques d'amplification</li><li>• Recharger le diluant de spécimen</li><li>• Recharger le réactif de lyse</li><li>• Recharger le réactif de lavage</li></ul>
<b>3</b>	Charger les échantillons sur le système : <ul style="list-style-type: none"><li>• Charger les racks d'échantillons et les racks pour embouts bouchés dans le module de chargement des échantillons</li><li>• Confirmer que les échantillons ont été acceptés dans le module de transfert</li></ul>
<b>4</b>	Démarrer le run en sélectionnant le bouton « Démarrer manuellement » sur l'interface utilisateur ou le faire démarrer automatiquement après 120 minutes ou si la série est pleine
<b>5</b>	Consulter et exporter les résultats
<b>6</b>	Retirer et boucher tous les tubes d'échantillon présentant le volume minimum requis s'ils doivent être réutilisés ultérieurement Nettoyer l'instrument : <ul style="list-style-type: none"><li>• Décharger les cassettes de contrôles vides</li><li>• Vider le tiroir de plaques d'amplification</li><li>• Vider les déchets liquides</li><li>• Vider les déchets solides</li></ul>

## Résultats

Les systèmes cobas® 5800/6800/8800 déterminent automatiquement la concentration de l'ADN de l'EBV dans les échantillons et les contrôles. La concentration d'ADN de l'EBV est exprimée en Unités Internationales par millilitre (UI/mL).

### Contrôle qualité et validité des résultats sur le système cobas® 5800 et les systèmes cobas® 6800/8800 avec la version du logiciel 2.0 ou supérieure

- Un cobas® Buffer Negative Control [(-) Ctrl] et deux cobas® EBV/BKV Positive Controls, un contrôle positif bas [EBV/BKV L (+) C] et un contrôle positif haut [EBV/BKV H (+) C], sont traités au moins toutes les 72 heures et avec chaque nouveau lot de kits. Des contrôles positifs et/ou négatifs plus fréquents peuvent être prévus en fonction des procédures de laboratoire et/ou de la réglementation locale.
- Les résultats des contrôles sont indiqués dans l'application « Contrôles ».
- Dans le logiciel et/ou le rapport, consulter les alertes pour s'assurer de la validité des résultats de tests correspondants (se référer à l'Assistance Utilisateur du x800 Data Manager pour une « Liste des messages »).
- Les contrôles sont marqués par « Valid » dans la colonne « Résultat du contrôle » si la cible respective des contrôles est signalée valide. Les contrôles sont marqués par « Invalid » dans la colonne « Résultat de contrôle » si la cible respective des contrôles est signalée invalide.
- Les contrôles marqués par « Invalid » sont accompagnés d'un symbole d'alerte dans la colonne « Alertes ». L'affichage détaillé offre plus d'informations sur les raisons du signalement invalide du contrôle, notamment des informations sur les alertes.
- Si l'un des contrôles est invalide, une répétition du test est requise pour tous les contrôles et tous les échantillons associés.

La validation des résultats est effectuée automatiquement par le logiciel de l'instrument en fonction des résultats des contrôles.

**REMARQUE :** à la livraison, le système cobas® 5800 et les systèmes cobas® 6800/8800 avec la version du logiciel 2.0 ou supérieure sont paramétrés pour effectuer un ensemble de contrôles (positifs et négatifs) à chaque run, mais il est possible de configurer une fréquence inférieure allant jusqu'à toutes les 72 heures, en fonction des procédures de laboratoire et/ou de la réglementation locale. Merci de contacter votre ingénieur de service Roche et/ou l'assistance technique Roche pour plus d'informations.

### Contrôle qualité et validité des résultats sur les systèmes cobas® 6800/8800 avec la version du logiciel 1.4

- Un cobas® Buffer Negative Control [(-) Ctrl] et deux cobas® EBV/BKV Positive Controls, un contrôle positif bas [EBV/BKV L (+) C] et un contrôle positif haut [EBV/BKV H (+) C], sont traités avec chaque série.
- Dans le logiciel et/ou dans le rapport, consulter les alertes et les résultats associés pour s'assurer de la validité de la série.
- Tous les messages sont décrits dans l'Assistance Utilisateur des systèmes cobas® 6800/8800.
- La série est valide si aucune alerte n'apparaît pour tous les contrôles. Si la série est invalide, une répétition du test la série complète est requise.

La validation des résultats est effectuée automatiquement par le logiciel de l'instrument en fonction des résultats des contrôles.

## Alertes de contrôle sur les systèmes cobas® 6800/8800 avec la version du logiciel 1.4

**Tableau 13** Alertes de contrôle pour les contrôles négatifs et positifs

Contrôle négatif	Alerte	Résultat	Interprétation
(-) Ctrl	Q02 (Échec de la série de contrôle)	Invalid	Résultat invalide ou le résultat de titre calculé pour le contrôle négatif n'est pas négatif.
Contrôle positif	Alerte	Résultat	Interprétation
EBV/BKV L (+) C	Q02 (Échec de la série de contrôle)	Invalid	Résultat invalide ou le résultat d'un titre calculé pour le contrôle positif bas se situe en dehors du domaine théorique.
EBV/BKV H (+) C	Q02 (Échec de la série de contrôle)	Invalid	Résultat invalide ou le résultat d'un titre calculé pour le contrôle positif haut se situe en dehors du domaine théorique.

## Interprétation des résultats pour les systèmes cobas® 5800/6800/8800

Pour une série valide, vérifier l'absence d'alerte pour chaque échantillon individuel dans le logiciel du système cobas® 5800 et des systèmes cobas® 6800/8800 et/ou dans les rapports. Les résultats doivent être interprétés comme suit :

- Une série valide peut comporter des résultats d'échantillon valides et invalides.

**Tableau 14** Résultats cibles pour l'interprétation des résultats cibles individuels

Résultats	Interprétation
Target Not Detected	ADN de l'EBV non détecté. Enregistrer les résultats comme suit : « EBV non détecté ».
< Titer Min <sup>a</sup>	Le titre calculé se situe sous la limite de quantification inférieure (LLOQ) du test. Enregistrer les résultats comme suit : « EBV détecté, inférieur à (titre min) ». Titre min = 35,0 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) d'EBV détecté ».
> Titer Max <sup>b</sup>	Le titre calculé se situe au-dessus de la limite de quantification supérieure (ULOQ) du test. Enregistrer les résultats comme suit : « EBV détecté, supérieur à (titre max) ». Titre max = 1,0E+08 UI/mL

<sup>a</sup> Des résultats d'échantillons « < Titer Min » (cible détectée < LLOQ) doivent être interprétés en tenant compte des autres données cliniques et ne doivent pas constituer le seul critère sur lequel fonder une décision de traitement.

<sup>b</sup> Un résultat d'échantillon « > Titer Max » correspond à des échantillons positifs pour l'EBV dont les titres sont supérieurs à la limite supérieure de quantification (ULOQ). Si l'on désire obtenir un résultat quantitatif, l'échantillon d'origine doit être dilué dans du plasma humain prélevé sur EDTA négatif pour l'EBV et l'analyse doit être répétée. Multiplier le résultat enregistré par le coefficient de dilution.

## Interprétation des résultats sur le système cobas® 5800 et les systèmes cobas® 6800/8800 avec la version du logiciel 2.0 ou supérieure

Les résultats des échantillons sont indiqués dans l'application « Résultats » du logiciel.

Pour une série de contrôles valide, vérifier l'absence d'alerte pour chaque échantillon individuel dans le logiciel et/ou dans le rapport. Les résultats doivent être interprétés comme suit :

- Les échantillons associés à une série de contrôles valide sont marqués par « Valide » dans la colonne « Résultat du contrôle » si tous les résultats de cibles de contrôle sont signalés valides. Les échantillons associés à l'échec d'une série de contrôles sont marqués par « Invalide » dans la colonne « Résultat du contrôle » si tous les résultats de cibles de contrôle sont signalés invalides.
- Si les contrôles associés à un résultat d'échantillon sont invalides, une alerte spécifique est ajoutée au résultat d'échantillon comme suit :
  - Q05D : échec de validation de résultat en raison d'un contrôle positif invalide
  - Q06D : échec de validation de résultat en raison d'un contrôle négatif invalide
- Les valeurs de la colonne « Résultats » pour un résultat de cible d'échantillon individuel doivent être interprétées comme indiqué dans le Tableau 14 ci-dessus.
- Si une ou plusieurs cibles d'échantillon sont marquées par « Invalide », le logiciel indique une alerte dans la colonne « Alertes ». L'affichage détaillé offre plus d'informations sur les raisons du signalement invalide de la ou des cibles d'échantillon, notamment des informations sur les alertes.

## Interprétation des résultats sur les systèmes cobas® 6800/8800 avec la version du logiciel 1.4

Pour une série valide, vérifier l'absence d'alerte pour chaque échantillon individuel dans le logiciel des systèmes cobas® 6800/8800 et/ou dans le rapport. Les résultats doivent être interprétés comme suit :

- Les échantillons sont marqués d'un « Yes » dans la colonne « Valide » si tous les résultats demandés pour la cible ont donné des résultats valides. Les échantillons marqués d'un « No » dans la colonne « Valide » peuvent nécessiter une interprétation et une action supplémentaires.
- Les valeurs de résultat de cible d'échantillon individuel doivent être interprétées comme indiqué dans le Tableau 14 ci-dessus.

## Limitations procédurales

- Le test cobas® EBV a été évalué uniquement pour être utilisé conjointement au cobas® EBV/BKV Control Kit, au cobas® Buffer Negative Control Kit, au cobas® omni MGP Reagent, au cobas® omni Lysis Reagent, au cobas® omni Specimen Diluent et au cobas® omni Wash Reagent sur les systèmes cobas® 5800/6800/8800.
- La fiabilité des résultats dépend du suivi correct des procédures de prélèvement, stockage et manipulation des échantillons.
- Ce test a été validé pour être utilisé exclusivement avec du plasma EDTA. L'analyse d'autres types d'échantillons avec le test cobas® EBV peut aboutir à des résultats inexacts. Les mesures de charge virale du plasma ne sont pas directement comparables à celles d'autres types d'échantillons.
- La quantification de l'ADN de l'EBV 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.

- Comme pour tout test moléculaire, des mutations au niveau des régions cibles du test **cobas® EBV** 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.
- 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.
- Le test **cobas® EBV** n'est pas destiné au dépistage de l'EBV dans le sang ou les produits sanguins.

## Évaluation des performances non cliniques

### Équivalence des systèmes

L'équivalence des systèmes **cobas® 5800**, **cobas® 6800** et **cobas® 8800** a été démontrée au moyen d'études de performances. Les données présentées dans ces instructions d'utilisation indiquent des performances équivalentes pour tous les systèmes.

### Caractéristiques clés des performances

#### Limite de détection (LoD)

##### Standard international de l'OMS

La limite de détection du test **cobas® EBV** a été déterminée en analysant des dilutions en série du 1<sup>er</sup> standard international de l'OMS pour le virus d'Epstein-Barr pour les techniques d'amplification de l'acide nucléique (1<sup>er</sup> standard international de l'OMS pour l'EBV) obtenu auprès du NIBSC (NIBSC 09/260), dans du plasma EDTA humain négatif pour l'EBV. Des panels de six niveaux de concentration plus un échantillon blanc ont été testés sur trois lots de réactifs **cobas® EBV**, lors de plusieurs runs, pendant plusieurs jours, par plusieurs opérateurs et sur plusieurs instruments.

Les résultats obtenus pour le plasma EDTA sont indiqués du Tableau 15 au Tableau 17. Cette étude démontre qu'avec le lot le moins sensible, la concentration pour laquelle un taux de succès de 95 % est attendu avec PROBIT est de 18,8 UI/mL avec un intervalle de confiance à 95 % de 14,5 à 27,5 UI/mL dans du plasma EDTA. La concentration la plus faible avec un taux de succès  $\geq 95$  % est 20,0 UI/mL dans du plasma EDTA.

**Tableau 15** Limite de détection dans le plasma EDTA, lot 1

Concentration de titre d'entrée (ADN de l'EBV, UI/mL)	Nb de répliquats valides	Nb de positifs	Taux de succès en %
50,0	63	63	100,0
35,0	63	62	98,4
20,0	63	61	96,8
10,0	63	53	84,1
5,0	63	37	58,7
2,5	63	26	41,3
0,0	63	0	0,0
Limite de détection à un taux de succès de 95 % par PROBIT	18,8 UI/mL Intervalle de confiance à 95 % : 14,5-27,5 UI/mL		

**Tableau 16** Limite de détection dans le plasma EDTA, lot 2

Concentration de titre d'entrée (ADN de l'EBV, UI/mL)	Nb de réplicats valides	Nb de positifs	Taux de succès en %
50,0	63	63	100,0
35,0	63	63	100,0
20,0	63	63	100,0
10,0	63	58	92,1
5,0	63	35	55,6
2,5	63	20	31,8
0,0	63	0	0,0
Limite de détection à un taux de succès de 95 % par PROBIT	12,4 UI/mL Intervalle de confiance à 95 % : 10,0-17,0 UI/mL		

**Tableau 17** Limite de détection dans le plasma EDTA, lot 3

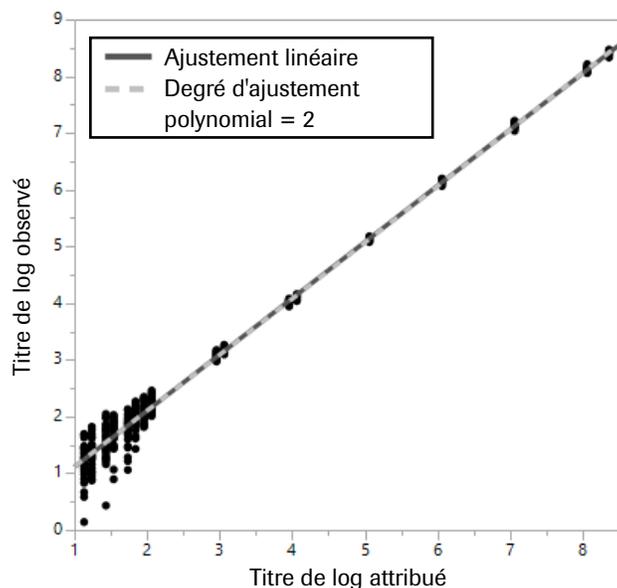
Concentration de titre d'entrée (ADN de l'EBV, UI/mL)	Nb de réplicats valides	Nb de positifs	Taux de succès en %
50,0	63	63	100,0
35,0	63	63	100,0
20,0	63	62	98,4
10,0	63	48	76,2
5,0	63	38	60,3
2,5	63	26	41,3
0,0	63	0	0,0
Limite de détection à un taux de succès de 95 % par PROBIT	18,6 UI/mL Intervalle de confiance à 95 % : 14,4-27,1 UI/mL		

## Domaine de linéarité

La linéarité du test **cobas**® EBV a été évaluée à l'aide d'une série de dilutions constituée de 17 membres de panel avec de l'ADN d'EBV, génotype 1, couvrant le domaine de linéarité du test. Un stock d'ADN lambda de titre élevé a été utilisé pour préparer 11 membres de panel couvrant l'ensemble du domaine de linéarité. Un échantillon clinique a été utilisé pour préparer 6 membres de panel couvrant les niveaux intermédiaire et inférieur du domaine de linéarité.

Chaque membre du panel a été testé en 36 réplicats sur trois lots de réactifs du test **cobas**® EBV et les résultats de l'étude sont présentés dans la Figure 4.

Il a été démontré que le test **cobas**® EBV est linéaire de 1,40E+01 UI/mL à 2,30E+08 UI/mL et présente une déviation absolue par rapport à la régression non linéaire de meilleur ajustement inférieure ou égale à  $\pm 0,1 \log_{10}$  dans le plasma EDTA humain (voir Figure 4). Dans le domaine de linéarité, l'exactitude du test se situait à  $\pm 0,2 \log_{10}$ .

**Figure 4** Détermination du domaine de linéarité dans le plasma EDTA

## Précision intra-laboratoire

La précision du test **cobas**® EBV a été déterminée en analysant des dilutions en série d'ADN de l'EBV de titre élevé (génotype 1) dans du plasma EDTA négatif pour l'EBV. Six niveaux de dilution ont été testés en 72 réplicats pour chaque niveau sur trois lots de réactifs du test **cobas**® EBV par trois opérateurs, sur trois instruments, pendant 12 jours. Chaque échantillon a subi la procédure entière du test **cobas**® EBV sur des systèmes **cobas**® 6800/8800 entièrement automatisés. La précision indiquée plus bas prend donc en compte tous les aspects de la procédure de test. Les résultats sont présentés dans le Tableau 18.

Le test **cobas**® EBV a présenté une précision élevée pour trois lots de réactifs testés sur une plage de concentration de 1,08E+02 UI/mL à 5,40+07 UI/mL.

**Tableau 18** Précision intra-laboratoire du test **cobas**® EBV

Concentration nominale [UI/mL]	Concentration attribuée [UI/mL]	Plasma EDTA			
		Lot n° 1	Lot n° 2	Lot n° 3	Tous les lots
		ET	ET	ET	DS globale
5,00E+07	5,40E+07	0,03	0,04	0,04	0,04
1,00E+06	1,08E+06	0,02	0,03	0,02	0,02
1,00E+05	1,08E+05	0,02	0,02	0,03	0,02
1,00E+04	1,08E+04	0,04	0,02	0,03	0,03
1,00E+03	1,08E+03	0,05	0,05	0,05	0,05
1,00E+02	1,08E+02	0,17	0,18	0,15	0,17

## Vérification des génotypes

Les performances du test **cobas**® EBV sur le génotype 2 de l'EBV ont été évaluées par :

- Vérification de la limite de détection
- Vérification du domaine de linéarité

### Vérification de la limite de détection pour le génotype 2

L'ADN de l'EBV pour le génotype 2 a été dilué à trois niveaux de concentration différents dans du plasma EDTA négatif pour l'EBV. Le taux de succès a été déterminé avec 63 réplicats pour chaque niveau. Les tests ont été effectués avec trois lots de réactifs du test **cobas**® EBV, lors de plusieurs runs, pendant plusieurs jours, par plusieurs opérateurs et sur plusieurs instruments. Les résultats démontrent que le test **cobas**® EBV a détecté l'ADN de l'EBV pour le génotype 2 à une concentration de 18,8 UI/mL avec un taux de succès  $\geq 95$  %.

### Vérification du domaine de linéarité pour le génotype 2

La série de dilutions utilisée dans la vérification de l'étude de linéarité des génotypes du test **cobas**® EBV comprenait huit membres de panel couvrant le domaine de linéarité du test. Les tests ont été effectués avec trois lots de réactifs du test **cobas**® EBV ; 12 réplicats par niveau ont été testés dans du plasma EDTA.

Le domaine de linéarité du test **cobas**® EBV a été vérifié pour le génotype 2.

## Spécificité

La spécificité du test **cobas**® EBV a été déterminée en analysant des échantillons de plasma EDTA négatifs pour l'EBV issus de donneurs individuels. 101 échantillons de plasma EDTA individuels ont été testés avec trois lots de réactifs **cobas**® EBV. Tous les échantillons se sont révélés négatifs pour l'ADN de l'EBV. Dans le panel de test, la spécificité du test **cobas**® EBV était de 100 % (intervalle de confiance unilatéral à 95 % inférieur : 97,08 %).

## Spécificité analytique

La spécificité analytique du test **cobas**® EBV a été évaluée en diluant un panel de micro-organismes à une concentration de 1,00E+06 unités/mL (cellules/mL, UFC/mL, IFU/mL, UCC/mL) pour les bactéries et les levures, et entre 3,00E+05 et 1,00E+06 unités/mL (UI/mL, copies/mL, cellules/mL, DICT<sub>50</sub>/mL) pour les virus avec du plasma EDTA positif pour l'ADN de l'EBV et du plasma EDTA négatif pour l'ADN de l'EBV. Les organismes spécifiques testés sont répertoriés dans le Tableau 19. Chaque membre du panel a été évalué avec le test **cobas**® EBV. Aucun des agents pathogènes non EBV n'a provoqué d'interférence avec les performances du test.

**Tableau 19** Micro-organismes dont la réactivité croisée a été testée

<b>Virus</b>	<b>Bactéries</b>	<b>Levure</b>
Adénovirus type 5	<i>Propionibacterium acnes</i>	<i>Aspergillus niger</i>
Polyomavirus BK	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Candida albicans</i>
Cytomégalovirus	<i>Chlamydia trachomatis</i>	<i>Cryptococcus neoformans</i>
Virus de l'hépatite B	<i>Clostridium perfringens</i>	-
Virus de l'hépatite C	<i>Enterococcus faecalis</i>	-
Virus de l'herpès simplex de type 1	<i>Escherichia coli</i>	-
Virus de l'herpès simplex de type 2	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	-
Virus de l'herpès humain de type 6	<i>Listeria monocytogenes</i>	-
Virus de l'herpès humain de type 7	<i>Mycobacterium avium</i>	-
Virus de l'herpès humain de type 8	<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	-
Virus de l'immunodéficience humaine 1	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	-
Virus de l'immunodéficience humaine 2	<i>Streptococcus pyogenes</i>	-
Papillomavirus humain	<i>Mycoplasma pneumoniae</i>	-
Virus JC	<i>Salmonella enterica</i>	-
Parvovirus B19	<i>Streptococcus pneumoniae</i>	-
Virus simien 40		
Virus varicelle-zona	-	-

## 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 de l'EBV. Il a été démontré que les interférences endogènes testées n'ont pas d'effet sur les performances du test cobas® EBV.

De plus, les composés médicamenteux répertoriés au Tableau 20 ont été testés à trois fois la  $C_{max}$  en présence et en l'absence d'ADN de l'EBV.

Il a été démontré qu'aucune substance potentiellement interférente n'affecte les performances du test.

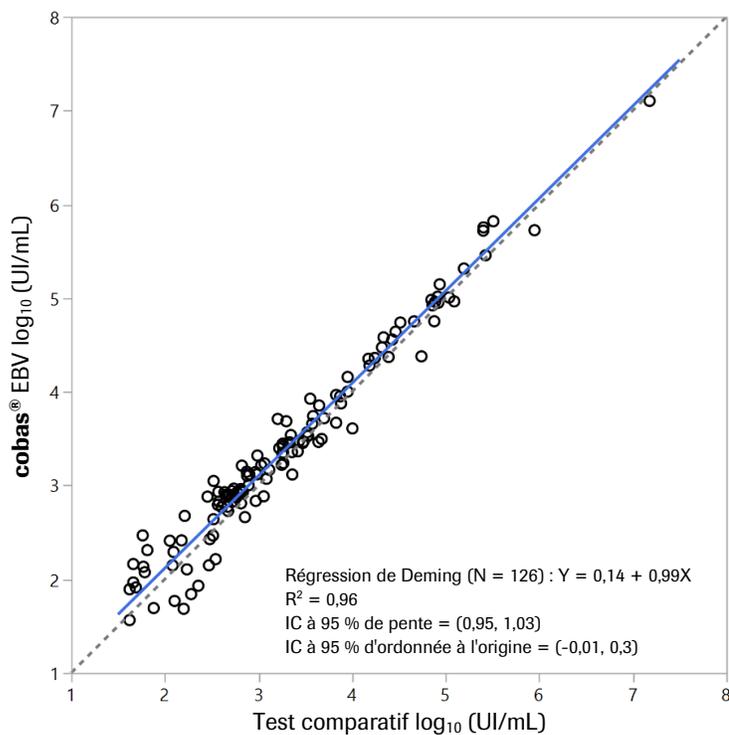
**Tableau 20** Composés médicamenteux dont l'interférence avec la quantification de l'ADN de l'EBV par le test cobas® EBV a été testée

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

## Corrélation de la méthode

Les performances du test cobas® EBV ont été évaluées par rapport à un test comparatif en analysant des échantillons de plasma EDTA issus de patients infectés par l'EBV. Des échantillons de plasma EDTA, compris dans le domaine de quantification des deux tests, ont été testés en tant que répliqués uniques. L'analyse de la régression de Deming a été réalisée.

Les résultats de la régression de Deming sont indiqués dans la Figure 5.

**Figure 5** Analyse de régression comparative du test **cobas®** EBV et d'un test comparatif

## Échec complet du système

Le taux d'échec complet du système pour le test **cobas®** EBV a été déterminé en testant 100 répliquats de plasma EDTA dopés avec un échantillon clinique positif pour l'EBV. Ces échantillons ont été testés à une concentration égale à  $3 \times$  la LoD.

D'après les résultats de cette étude, tous les répliquats étaient valides et positifs pour la cible EBV. Le taux d'échec complet du système est donc de 0 % (intervalle de confiance unilatéral à 95 % supérieur : 2,95 %).

## Contamination croisée

Le taux de contamination croisée pour le test **cobas®** EBV a été déterminé en testant 240 répliquats d'un échantillon de matrice négatif pour l'EBV et 225 répliquats d'un échantillon d'EBV de titre élevé à environ  $2,00E+07$  UI/mL. Au total, cinq runs ont été exécutés avec des échantillons positifs et négatifs en configuration de damier.

Les 240 répliquats de l'échantillon négatif étaient tous négatifs, soit un taux de contamination croisée de 0 % (intervalle de confiance unilatéral à 95 % supérieur : 1,24 %).

# Évaluation des performances cliniques

## Reproductibilité du test cobas® EBV

La reproductibilité du test cobas® EBV a été évaluée pour différents facteurs (lot de réactifs, site d'analyse, série et jours de test) qui pourraient affecter les résultats rapportés pour les tests cliniques de routine. L'évaluation a été menée sur 3 sites d'analyse à l'aide de 3 lots de réactifs, avec un panel d'échantillons négatifs et positifs pour un nombre total de 270 tests (sans inclure les contrôles). Les panels étaient composés d'échantillons de plasma EDTA négatifs pour les IgG dirigés contre le VCA de l'EBV et ont été testés pour détecter la présence de l'EBV à l'aide d'un protocole de libération des acides nucléiques du plasma, et dopés par de l'ADN du standard international de l'OMS pour l'EBV, du surnageant de culture de cellules d'EBV ou des molécules de phage lambda contenant de l'ADN de l'EBV. Deux opérateurs sur chaque site ont testé chaque lot de réactifs pendant 5 jours. Deux runs (1 run = 1 série ; 1 série = 1 panel + 3 contrôles) par opérateur ont été réalisés chaque jour et 3 réplicats de chaque membre de panel ont été réalisés pour chaque run. Les résultats de l'évaluation sont présentés dans le Tableau 21.

**Tableau 21** Pourcentage attribuable de la variance totale (%VT), écart-type (ET) de précision totale et CV log-normal (%) de concentration d'ADN du EBV ( $\log_{10}$  UI/mL) par membre de panel positif

Concentration attendue de l'ADN d'EBV ( $\log_{10}$ UI/mL)	Concentration moyenne observée <sup>a</sup> de l'ADN d'EBV ( $\log_{10}$ UI/mL)	Nombre de tests <sup>b</sup>	Lot %VT <sup>c</sup> (CV%) <sup>d</sup>	Site %VT <sup>c</sup> (CV%) <sup>d</sup>	Jour/opérateur %VT <sup>c</sup> (CV%) <sup>d</sup>	Série %VT <sup>c</sup> (CV%) <sup>d</sup>	Intra-série %VT <sup>c</sup> (CV%) <sup>d</sup>	Précision totale DS <sup>e</sup>	Précision totale CV (%) <sup>d</sup>
2,02	2,09	270	11 % (11,97)	2 % (5,30)	0 % (0,00)	3 % (6,34)	84 % (34,25)	0,158	37,56
3,70	3,68	270	43 % (10,07)	15 % (5,92)	0 % (0,00)	16 % (6,23)	26 % (7,81)	0,067	15,43
4,70	4,68	270	39 % (8,54)	10 % (4,24)	0 % (0,00)	24 % (6,63)	28 % (7,18)	0,059	13,70
5,70	5,50	268	7 % (11,39)	58 % (34,36)	0 % (0,00)	21 % (20,18)	15 % (17,08)	0,191	46,16
7,70	7,76	270	27 % (8,63)	15 % (6,52)	0 % (0,88)	13 % (6,01)	45 % (11,26)	0,073	16,83

<sup>a</sup> Calculée à l'aide de la procédure SAS MIXED.

<sup>b</sup> Nombre de tests valides avec niveau d'ADN détectable.

<sup>c</sup> %VT = Pourcentage de contribution à la variance totale.

<sup>d</sup> CV% = Coefficient de variation en pourcentage log-normal =  $\frac{\text{rac}(10^{[ET^2 \times \ln(10)]} - 1)}{10} \times 100$ .

<sup>e</sup> Calculé à l'aide de la variabilité totale à partir de la procédure SAS MIXED.

Remarque : le tableau inclut uniquement les résultats présentant un niveau d'ADN détectable. ET = écart type ; CV = coefficient de variation ; EBV = virus d'Epstein Barr.

Le test **cobas**® EBV a montré une reproductibilité clinique acceptable pour la concentration comparative respective. En outre, le système a détecté 100 % des échantillons  $3 \times \text{LLoQ}$ . Les systèmes **cobas**® 6800 et **cobas**® 8800 ont en commun une conception modulaire et ont obtenu des performances équivalentes lors de l'utilisation du test **cobas**® EBV. Toutes les limites de confiance (LC) à 95 % estimées pour la différence entre deux mesures d'échantillons issus du même sujet étaient comprises dans un intervalle de  $\pm 0,53 \log_{10} \text{UI/mL}$ , ce qui indique que le test permet d'évaluer des variations des niveaux d'ADN d'EBV considérées comme cliniquement significatives.

Sur les 270 tests valides pour les membres de panel négatifs réalisés sur les systèmes **cobas**® 6800/8800, 14 échantillons (5,19 %) ont détecté une positivité  $< \text{LLoQ}$ . Ces résultats n'étaient pas associés à un instrument, un site ou un lot de réactifs en particulier. La PCR semi-nichée et le séquençage de l'ADN ont confirmé la présence d'ADN de l'EBV dans ces échantillons.

## Performance du test **cobas**® EBV

La performance clinique du test **cobas**® EBV a été évaluée plus avant sur trois sites d'analyse en mesurant les niveaux d'ADN de l'EBV dans des échantillons cliniques (purs et dilués) de patients infectés et non infectés par l'EBV et des échantillons de plasma EDTA artificiels dopés avec du virus EBV en culture, comparativement à un test sur acides nucléiques développé en laboratoire (TDL) bien établi (TDL EBV comparatif). Sur l'ensemble des échantillons analysés avec le test **cobas**® EBV et le test comparatif EBV, 464 échantillons au total (439 échantillons cliniques purs ou dilués issus de 72 sujets transplantés et 25 échantillons artificiels) étaient valides pour les deux tests et évaluables pour l'analyse de concordance clinique.

**Tableau 22** Analyse de concordance entre les résultats des niveaux d'ADN d'EBV obtenus avec le test **cobas**® EBV et le TDL comparatif pour l'ensemble des échantillons

<b>cobas</b> ® EBV ( $\log_{10} \text{UI/mL}$ )	TDL EBV comparatif ( $\log_{10} \text{UI/mL}$ ) Target Not Detected	TDL EBV comparatif ( $\log_{10} \text{UI/mL}$ ) < LLoQ (< 2)	TDL EBV comparatif ( $\log_{10} \text{UI/mL}$ ) 2 à < 2,6	TDL EBV comparatif ( $\log_{10} \text{UI/mL}$ ) 2,6 à < 3,2	TDL EBV comparatif ( $\log_{10} \text{UI/mL}$ ) 3,2 à 3,8	TDL EBV comparatif ( $\log_{10} \text{UI/mL}$ ) > 3,8	Total
Target Not Detected	95	17	17	0	0	0	129
< LLoQ (< 2)	39	46	75	11	0	0	171
2 à < 2,6	1	2	16	37	6	0	62
2,6 à < 3,2	1	0	5	15	30	1	52
3,2 à 3,8	0	0	0	0	9	11	20
> 3,8	0	0	0	0	1	29	30
Total	136	65	113	63	46	41	464
Corrélation de colonne (%)	(134/136) 98,5 %	(65/65) 100 %	(96/113) 85,0 %	(52/63) 82,5 %	(40/46) 87,0 %	(40/41) 97,6 %	-
(Résultat IC à 95 %) <sup>a</sup>	(94,8 %, 99,6 %)	(94,4 %, 100 %)	(77,2 %, 90,4 %)	(71,4 %, 90,0 %)	(74,3 %, 93,9 %)	(87,4 %, 99,6 %)	-

Remarque : LLoQ = limite de quantification inférieure du TDL EBV comparatif (100 UI/mL).

Écart-type du TDL EBV comparatif estimé à  $0,3 \log_{10} \text{UI/mL}$  (d'après l'étude de précision analytique du TDL EBV).

Les échantillons appariés évaluables pour l'analyse de concordance clinique ont été inclus dans ce tableau.

<sup>a</sup> Indépendance supposée entre tous les échantillons.

IC = intervalle de confiance.

Le séquençage de l'ADN effectué sur des échantillons représentatifs des sujets dont les résultats présentaient systématiquement un décalage de plus d'1 log<sub>10</sub> UI/mL n'a révélé aucun mésappariement des séquences pour les cibles d'amorce ou de sonde pour le test **cobas**® EBV.

Les résultats discordants ont été définis comme ceux situés à plus d'une case de la diagonale (ombrés). Pour les résultats « Target Not Detected » par corrélation de colonne du TDL, les cellules « Target Not Detected » et < LLoQ (< 2) pour le test **cobas**® EBV ont été combinées. La raison justifiant l'ajout des cellules adjacentes < LLoQ et TND pour la colonne TND réside dans le fait que la différence entre un résultat TND et < LLoQ n'est pas cliniquement significative et qu'ils se trouvent analytiquement à la limite inférieure de la plage de mesures, pouvant être impactée par une erreur aléatoire.

Sur les 43 échantillons négatifs du TDL EBV comparatif prélevés pour l'estimation du pourcentage de corrélation négative (PCN) avec le test **cobas**® EBV, 41 ont obtenu un résultat négatif au test **cobas**® EBV. Le PCN était donc de 95,4 % avec un IC exact à 95 % allant de 84,2 % à 99,4 %. Deux échantillons négatifs du TDL EBV comparatif se sont révélés positifs (< LLoQ) au test **cobas**® EBV. Une analyse sérologique supplémentaire a montré leur séropositivité pour les IgG dirigés contre le VCA de l'EBV et les IgG anti-EBNA-1.

La concordance entre le test **cobas**® EBV et le TDL EBV comparatif a également été évaluée en utilisant différents seuils cliniques.

**Tableau 23** Récapitulatif de la concordance du test **cobas**® EBV et du TDL EBV comparatif en utilisant différents seuils pour l'ensemble des échantillons

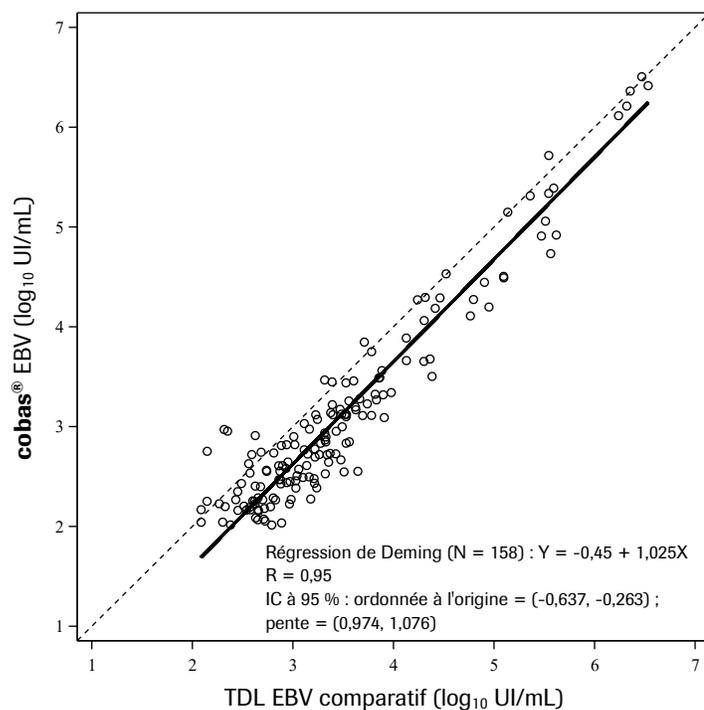
	Pourcentage de corrélation < seuil IC à 95 % <sup>b</sup> (n/N)	Pourcentage de corrélation ≥ seuil IC à 95 % <sup>b</sup> (n/N)
Target Not Detected	98,5 % (134/136) (94,8 %, 99,6 %)	89,6 % (294/328) (85,9 %, 92,5 %)
LLoQ <sup>a</sup> (2,0 log <sub>10</sub> UI/mL)	98,0 % (197/201) (95,0 %, 99,2 %)	60,8 % (160/263) (54,8 %, 66,5 %)
3,0 log <sub>10</sub> UI/mL	100,0 % (363/363) (99,0 %, 100,0 %)	64,4 % (65/101) (54,6 %, 73,0 %)
4,0 log <sub>10</sub> UI/mL	100,0 % (431/431) (99,1 %, 100,0 %)	84,8 % (28/33) (69,1 %, 93,3 %)

<sup>a</sup> LLoQ = limite de quantification inférieure du TDL EBV comparatif (100 UI/mL).

<sup>b</sup> IC = intervalle de confiance.

Sur l'ensemble des échantillons analysés avec le test **cobas**® EBV qui étaient positifs à l'EBV avec le test comparatif EBV, 158 échantillons au total (139 échantillons cliniques purs ou dilués issus de 28 sujets transplantés et 19 échantillons artificiels) étaient évaluables pour l'analyse de corrélation sur les trois sites d'analyse.

**Figure 6** Corrélation entre le test **cobas® EBV** et le TDL EBV comparatif pour l'ensemble des échantillons : graphique de régression linéaire de Deming des niveaux d'ADN ( $\log_{10}$  UI/mL)



Une analyse supplémentaire du graphique de biais concernant les différences des niveaux d'ADN a indiqué une différence systématique entre les deux tests, constante sur l'ensemble du domaine de linéarité de chevauchement. L'IC à 95 % de l'ordonnée à l'origine de la droite ajustée des graphiques de biais allait de -0,456 à 0,104, ce qui est compris dans l'intervalle de  $\pm 0,6 \log_{10}$  UI/mL ( $\pm 2$  fois l'écart type de précision analytique du TDL EBV comparatif).

En outre, le biais moyen a été estimé à  $-0,364 \log_{10}$  UI/mL et la différence systématique entre les deux tests était de  $0,352 \log_{10}$  UI/mL et de  $-0,376 \log_{10}$  UI/mL pour les échantillons contenant des niveaux d'ADN à 3 et  $4 \log_{10}$  UI/mL, respectivement.

## Informations supplémentaires

### Caractéristiques clés du test

<b>Type d'échantillon</b>	Plasma EDTA
<b>Quantité d'échantillon minimale requise</b>	350 µL*
<b>Volume de prise d'essai d'échantillon</b>	200 µL
<b>Sensibilité analytique</b>	18,8 UI/mL
<b>Domaine de linéarité</b>	35,0 UI/mL à 1E+08 UI/mL
<b>Spécificité</b>	100 %
<b>Génotypes détectés</b>	Génotypes 1 et 2 de l'EBV

\* Volume mort de 150 µL identifié pour les tubes secondaires **cobas® omni**. Les autres tubes utilisés pour le test peuvent contenir un volume mort différent et nécessiter un volume minimum plus ou moins élevé. Contactez votre représentant service Roche local pour obtenir plus d'informations.

## Symboles

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

Tableau 24 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 diagnostic près du patient	 <b>QS IU/PCR</b> UI SQ par réaction de PCR, utiliser les unités internationales (UI) SQ par réaction de PCR pour le calcul des résultats.
 <b>SW</b> Logiciel auxiliaire	 Dispositif non destiné à l'autodiagnostic	 <b>SN</b> Numéro de série
 <b>Assigned Range [copies/mL]</b> Intervalle assigné (copies/mL)	 Distributeur <i>(Remarque : le pays/la région économique applicable peut être indiqué(e) sous le symbole.)</i>	 <b>Site</b> Site
 <b>Assigned Range [IU/mL]</b> Intervalle assigné (UI/mL)	 Ne pas réutiliser	 <b>Procédure 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	    Conservation dans un endroit sombre Limites de température Fichier de définition de tests Orienté vers le haut
 <b>LOT</b> Code de la série	 <b>GTIN</b> Code article international	 <b>Procédure UltraSensitive</b> Procédure ultrasensible
 Risques biologiques	 Importateur	 <b>UDI</b> Identifiant unique des dispositifs
 <b>REF</b> Référence du catalogue	 <b>IVD</b> Dispositif médical de diagnostic <i>in vitro</i>	 <b>ULR</b> Limite supérieure de l'intervalle assigné
 <b>CE</b> 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 l'intervalle assigné	 <b>Urine Fill Line</b> Ligne de remplissage d'urine
 <b>Collect Date</b> Date de collecte	 Homme	 <b>Rx Only</b> Pour les États-Unis : Attention : la législation fédérale américaine limite la vente de ce dispositif aux professionnels de santé autorisés à exercer.
 Consultez les instructions d'utilisation	 Fabricant	 <b>Date limite d'utilisation</b>
 $\Sigma$ Contenu suffisant pour <n> tests	 <b>CONTROL -</b> Contrôle négatif	
 <b>CONTENT</b> Contenu du kit	 <b>NON STERILE</b> Non stérile	
 <b>CONTROL</b> Contrôle	 ? Nom du patient	
   Date de fabrication Dispositif de diagnostic près du patient Dispositif d'autodiagnostic	 # Numéro patient	
 Dispositif de diagnostic près du patient	 Retirer ici	
 Dispositif d'autodiagnostic	 <b>CONTROL +</b> Contrôle positif	
 <b>QS copies / PCR</b> Copies SQ par réaction de PCR, utiliser les copies SQ par réaction de PCR pour le calcul des résultats.		

## Assistance technique

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

## Fabricant et importateur

**Tableau 25** 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>

## Droit d'auteur

©2024 Roche Molecular Systems, Inc.



Roche Diagnostics GmbH  
Sandhofer Str. 116  
68305 Mannheim  
Germany



## Références

1. Tomblyn M, Chiller T, Einsele H, et al. Guidelines for preventing infectious complications among hematopoietic cell transplant recipients: a global perspective. Preface. *Bone Marrow Transplant*. 2009;44:453-5. PMID: 19861977.
2. Green M. Introduction: Infections in solid organ transplantation. *Am J Transplant*. 2013;13 Suppl 4:3-8. PMID: 23464993.
3. Cohen JL. Epstein-Barr virus infection. *N Engl J Med*. 2000;343:481-92. PMID: 10944566.
4. Styczynski J, van der Velden W, Fox CP, et al. Management of Epstein-Barr Virus infections and post-transplant lymphoproliferative disorders in patients after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation: Sixth European Conference on Infections in Leukemia (ECIL-6) guidelines. *Haematologica*. 2016;101:803-11. PMID: 27365460.
5. Allen UD, Preiksaitis JK. Epstein-Barr virus and posttransplant lymphoproliferative disorder in solid organ transplantation. *Am J Transplant*. 2013;13 Suppl 4:107-20. PMID: 23465004.
6. San-Juan R, Comoli P, Caillard S, et al. Epstein-Barr virus-related post-transplant lymphoproliferative disorder in solid organ transplant recipients. *Clin Microbiol Infect*. 2014;20 Suppl 7:109-18. PMID: 24475976.
7. Nijland ML, Kersten MJ, Pals ST, Bemelman FJ, Ten Berge IJ. Epstein-Barr virus-positive posttransplant lymphoproliferative disease after solid organ transplantation: Pathogenesis, clinical manifestations, diagnosis, and management. *Transplant Direct*. 2016;2:e48. PMID: 27500242.
8. Tsai DE, Douglas L, Andreadis C, et al. EBV PCR in the diagnosis and monitoring of posttransplant lymphoproliferative disorder: Results of a two-arm prospective trial. *Am J Transplant*. 2008;8:1016-24. PMID: 18312608.
9. Fryer JF, Heath AB, Wilkinson DE, Minor PD. A collaborative study to establish the 1st WHO International Standard for Epstein-Barr virus for nucleic acid amplification techniques. *Biologicals*. 2016;44:423-33. PMID: 27461128.
10. 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. PMID: 2227421.
11. 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. PMID: 7845459.
12. 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. PMID: 7697717.
13. Higuchi R, Dollinger G, Walsh PS, Griffith R. Simultaneous amplification and detection of specific DNA sequences. *Biotechnology (N Y)*. 1992;10:413-7. PMID: 1368485.
14. Heid CA, Stevens J, Livak KJ, Williams PM. Real time quantitative PCR. *Genome Res*. 1996;6:986-94. PMID: 8908518.
15. Centers for Disease Control and Prevention. Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories, 5th ed. U.S. Department of Health and Human Services, Public Health Service, Centers for Disease Control and Prevention, National Institutes of Health HHS Publication No. (CDC) 21-1112, revised December 2009.
16. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Protection of Laboratory Workers From Occupationally Acquired Infections; Approved Guideline, 4th ed. CLSI Document M29-A4. Wayne, PA: CLSI, 2014.
17. Hadinoto V, Shapiro M, Sun CC, Thorley-Lawson DA. The dynamics of EBV shedding implicate a central role for epithelial cells in amplifying viral output. *PLoS Pathog*. 2009;5:e1000496. PMID: 19578433.

## Révision du document

Informations sur la révision du document	
Doc Rev. 4.0 12/2024	<p>Ajout d'informations relatives à la version du logiciel 2.0 pour les systèmes <b>cobas</b>® 6800/8800.</p> <p>Ajout du code NIBSC : 09/260 pour le standard international de l'OMS.</p> <p>Mise à jour de l'affichage des exemples de résultats sur les systèmes <b>cobas</b>® 6800/8800 avec la version du logiciel 1.4.</p> <p>Retrait des P/N des consommables, référence aux informations détaillées relatives aux consommables dans l'Assistance Utilisateur des systèmes <b>cobas</b>® 5800 et <b>cobas</b>® 6800/8800.</p> <p>Retrait du symbole « Rx Only » de la page de couverture.</p> <p>Mise à jour de la page des symboles harmonisés.</p> <p>Veuillez contacter votre représentant local Roche si vous avez des questions.</p>

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