

Aptima® HBV Quant Assay

Notice d'utilisation
Pour diagnostic *in vitro*
Réservé à l'exportation hors États-Unis

Informations générales	2
Usage prévu	2
Résumé et explication du test	2
Principes de la procédure	3
Résumé de la sécurité et des performances	3
Mises en garde et précautions	4
Conditions d'entreposage et de manipulation des réactifs	9
Prélèvement et entreposage des échantillons	10
Échantillons placés à bord du Panther System	13
Transport des échantillons	13
Système Panther	14
Réactifs et matériel fournis	14
Matériel requis, mais disponible séparément	15
Matériel optionnel	16
Procédure de test pour le Panther System	17
Remarques concernant la procédure	21
Contrôle de la qualité	22
Calibration du test	22
Contrôles négatifs et positifs	22
Calibrateur interne/Contrôle interne	22
Interprétation des résultats	23
Limites	24
Performance analytique	25
Seuil de détection à l'aide du 3e étalon de référence international de l'OMS	25
Limite de détection pour l'ensemble des génotypes du HBV	25
Plage linéaire	26
Linéarité pour tous les génotypes du HBV	27
Limite inférieure de quantification avec le 3e étalon de référence international de l'OMS	27
Limite inférieure de quantification pour l'ensemble des génotypes du HBV	29
Traçabilité par rapport au 3e étalon de référence international de l'OMS	31
Précision	31
Substances potentiellement interférentes	33
Spécificité analytique	35
Équivalence des matrices	36
Dilution d'échantillons à l'aide du diluant d'échantillon Aptima (1:3)	36
Dilution d'échantillons à l'aide du diluant d'échantillon Aptima (1:100)	37
Confirmation de la LLoQ pour les échantillons dilués dans le diluant pour échantillons Aptima	39
Précision des échantillons dilués	39
Contamination de transfert	40
Reproductibilité	40
Performances cliniques	42
Corrélation de la méthode	42
Utilité clinique	42
Bibliographie	51
Coordonnées et historique des révisions	52

Informations générales

Usage prévu

Le test Aptima® HBV Quant Assay est un test d'amplification de l'acide nucléique *in vitro* conçu pour la quantification de l'ADN du virus de l'hépatite B (HBV) dans le plasma et le sérum humains sur le Panther™ System entièrement automatisé.

Le plasma peut être préparé dans de l'acide éthylène diamine tétraacétique (EDTA), une solution anticoagulante citrate dextrose (ACD) et des tubes de préparation du plasma (PPT). Le sérum peut être préparé dans des tubes de sérum et dans des tubes de séparation de sérum (SST). Les échantillons sont testés sur le Panther System entièrement automatisé pour l'amplification, la quantification et le traitement des échantillons. Les échantillons contenant les génotypes A, B, C, D, E, F, G et H du HBV sont validés pour la quantification dans le test.

L'utilisation du test Aptima HBV Quant Assay est indiquée pour faciliter la prise en charge des patients infectés par le HBV, sous traitement médicamenteux antiviral contre le HBV. Le test peut être utilisé pour mesurer les niveaux d'ADN du HBV à la ligne de base et pendant le traitement pour aider à évaluer la réponse au traitement viral. Les résultats du test Aptima HBV Quant Assay doivent être interprétés conjointement à tous les résultats cliniques et biologiques.

Le test Aptima HBV Quant n'est pas destiné à être utilisé comme test de dépistage de l'ADN du HBV dans le sang ou les produits sanguins ou comme test de diagnostic pour confirmer la présence d'infection par le HBV.

Résumé et explication du test

Le virus de l'hépatite B, l'un des nombreux virus connus pour provoquer une hépatite, est reconnu comme responsable de l'infection chronique par le HBV, la cirrhose du foie, le cancer du foie, l'insuffisance hépatique et, potentiellement, le décès. L'Organisation mondiale de la santé (OMS) répertorie l'infection au HBV comme l'une des maladies infectieuses les plus répandues dans le monde. La prévalence de l'infection par le HBV et le mode de transmission varient considérablement à travers le monde. En 2019, environ 296 millions de personnes vivaient avec une infection chronique par le HBV dans le monde.¹ L'infection par le HBV entraîne un risque accru de décompensation hépatique, de cirrhose et de carcinome hépatocellulaire (CHC), avec une mortalité entre 0,5 et 1,2 millions de décès et 5 à 10 % des cas de transplantation hépatique dans le monde chaque année.^{2,3} Sans traitement, intervention et surveillance appropriés après le diagnostic, l'incidence cumulée de cirrhose sur 5 ans varie de 8 à 20 %. Après le développement d'une cirrhose, le risque annuel de carcinome hépatocellulaire est de 2 à 5 %.⁴

Le HBV contient un génome circulaire à ADN partiellement à double brin d'environ 3 200 paires de bases, qui codent pour quatre cadres de lecture ouverts (ORF) se chevauchant partiellement et exprimant les protéines polymérase, de surface, précore/core, et X. L'ORF de la polymérase chevauche les trois autres ORF et code pour une protéine virale clé de répllication, la polymérase. L'ORF de surface exprime trois protéines, essentielles à la morphogenèse virale, à la pénétration du virus dans les hépatocytes et à la réaction immunitaire de l'hôte.⁵ HBV compte 8 génotypes (A à H) qui se situent généralement dans des lieux géographiques distincts.

En raison de la nature dynamique de l'infection chronique à l'hépatite B, il est important de surveiller continuellement les concentrations d'ADN du HBV et d'alanine aminotransférase (ALT).⁶ Pour la majorité des personnes infectées par le HBV qui suivent un traitement antiviral, l'objectif est la suppression de l'ADN du HBV. Les tests quantitatifs de l'acide nucléique avec une grande plage linéaire constituent des outils efficaces pour surveiller la charge virale du HBV pendant le traitement.

Principes de la procédure

Le test Aptima HBV Quant Assay est un test d'amplification de l'acide nucléique *in vitro* qui utilise l'amplification médiée par la transcription (TMA) en temps réel sur le Panther System pour quantifier l'ADN du HBV des génotypes A, B, C, D, E, F, G et H. Le test Aptima HBV Quant Assay cible deux régions hautement conservées dans les gènes de la polymérase et de surface (pour une tolérance accrue aux éventuelles mutations). Le test est normalisé par rapport à la 3e norme internationale de l'OMS pour le virus de l'hépatite B (code NIBSC : 10/264).

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

Lors de la capture de cible, l'ADN viral est isolé à partir des échantillons. L'échantillon est traité avec un détergent pour solubiliser l'enveloppe virale, dénaturer les protéines et libérer l'ADN génomique viral. Les oligonucléotides de capture s'hybrident à des régions hautement conservées de l'ADN du HBV si celui-ci est présent dans l'échantillon analysé. La cible ainsi hybridée est ensuite capturée par des microparticules magnétiques et séparée du reste de l'échantillon par l'application d'un champ magnétique. Les étapes de lavage permettent d'éliminer les composants exogènes du tube réactionnel.

L'amplification de la cible est réalisée par TMA, une méthode d'amplification de l'acide nucléique médiée par la transcription employant deux enzymes, la transcriptase inverse du virus de la leucémie murine de Moloney (MoMuLV) et la polymérase de l'ARN T7. La transcriptase inverse permet de générer une copie en ADN de la séquence cible (contenant une séquence de promoteur pour polymérase du RNA T7). L'ARN polymérase T7 produit plusieurs copies d'amplicon d'ARN à partir du modèle de copie d'ADN. Le test Aptima HBV Quant Assay utilise la méthode TMA pour amplifier deux régions du génome du HBV (le gène de la polymérase et le gène de surface). L'amplification de ces régions est réalisée avec des amorces spécifiques conçues pour amplifier les génotypes A, B, C, D, E, F, G et H du HBV. L'approche par double région cible avec amorces conçues pour cibler les régions hautement conservées assure une quantification précise de l'ADN du HBV.

La détection se déroule en temps réel par l'hybridation spécifique sur l'amplicon de torches moléculaires constituées d'acide nucléique simple brin et présentes pendant la phase d'amplification de la cible. Chaque torche moléculaire est munie d'un fluorophore et d'un suppresseur (quencher). Lorsque la torche moléculaire n'est pas hybridée à l'amplicon, le suppresseur se trouve proche du fluorophore et inhibe la fluorescence. Lorsque la torche moléculaire s'hybride à l'amplicon, la distance entre le suppresseur et le fluorophore augmente et un signal est émis à une longueur d'onde spécifique après excitation par une source de lumière. L'intensité du signal de fluorescence augmente avec le nombre de torches moléculaires hybridées à des amplicons. La durée nécessaire pour que le signal de fluorescence atteigne un seuil spécifique est proportionnelle à la concentration initiale en HBV. Chaque réaction comprend un étalon interne / témoin interne (IC) qui permet de détecter des différences de traitement des échantillons, d'amplification et de détection. La concentration d'un échantillon est calculée par le logiciel du système Panther en utilisant les signaux obtenus pour l'HBV et l'IC pour chaque réaction et en les comparant aux données d'étalonnage.

Résumé de la sécurité et des performances

Le SSP (Résumé de la sécurité et des performances) est disponible dans la base de données européenne sur les dispositifs médicaux (Eudamed) ; il est lié aux identifiants du dispositif (IUD-ID de base). Pour localiser le SSP concernant le test Aptima HBV Quant Assay pour le dosage quantitatif du HBV, reportez-vous à l'Identifiant unique de base du dispositif (BUDI) : 54200455DIAGAPTHBVAf.

Mises en garde et précautions

- A. Pour diagnostic *in vitro*.
- B. Destiné à un usage professionnel.
- C. Afin de réduire le risque d'obtention de résultats non valides, lisez attentivement l'ensemble de la notice du test et le *Manuel de l'opérateur du Panther/Panther Fusion™ System* avant d'effectuer ce test.
- D. Le réactif activateur de cible (TER) est corrosif. Consulter la fiche de données de sécurité à la fin de cette section.

Recommandations destinées aux laboratoires

- E. MISE EN GARDE : Les témoins de ce test contiennent du plasma humain. Le plasma est non réactif pour l'antigène de surface de l'hépatite B (HBsAg), les anticorps contre le HCV, les anticorps contre le HIV-1 et le HIV-2, et l'antigène du HIV lors du test conforme aux procédures approuvées par la Food and Drug Administration des États-Unis. De plus, ce plasma est non réactif pour l'ADN du HBV, l'ARN du HCV et l'ARN du HIV-1 lorsqu'analysé avec des tests de détection de l'acide nucléique approuvés. Tout produit dérivé du sang humain doit être considéré comme potentiellement infectieux et manipulé avec les précautions universelles.^{7,8,9}
- F. Cette procédure doit être réalisée uniquement par du personnel dûment formé à l'utilisation du test Aptima HBV Quant Assay et à la manipulation de produits potentiellement infectieux. En cas de déversement, désinfecter immédiatement en suivant les procédures appropriées de l'établissement.
- G. N'utiliser que le matériel de laboratoire jetable fourni ou recommandé.
- H. Appliquer les précautions de laboratoire habituelles. Ne pipetez pas par la bouche. Ne pas manger, boire ou fumer dans les zones de travail signalées. Porter des gants jetables sans poudre, des lunettes de protection et une blouse de laboratoire pour manipuler les échantillons et les réactifs de la trousse. Bien se laver les mains après avoir manipulé les échantillons et les réactifs de la trousse.
- I. Les plans de travail, les pipettes et les matériels utilisés doivent être régulièrement décontaminés à l'aide d'une solution d'hypochlorite de sodium de 2,5 % à 3,5 % (0,35 M à 0,5 M).
- J. Jetez tout le matériel ayant été en contact avec des échantillons ou des réactifs selon la réglementation locale, régionale et nationale.^{7,8,9,10} Nettoyez et désinfectez soigneusement tous les plans de travail.
- K. Les témoins contiennent de l'azoture de sodium comme conservateur. N'utilisez pas de tubulures métalliques pour le transfert des réactifs. En cas d'élimination de solutions contenant de l'azoture de sodium par le réseau de plomberie, veillez à les diluer et à faire couler d'importantes quantités d'eau en même temps. Il est conseillé de respecter ces précautions pour éviter toute accumulation de dépôts dans les canalisations en métal, laquelle pourrait favoriser la création de conditions explosives.
- L. La surveillance de l'environnement fait partie des bonnes pratiques classiques de laboratoires de biologie moléculaire. La procédure suivante est suggérée pour surveiller l'environnement d'un laboratoire :
 - 1. Munissez-vous d'un écouvillon à embout de coton et faites-le correspondre au tube d'aliquote d'échantillon (SAT, Specimen Aliquot Tube) Aptima.
 - 2. Étiquetez chaque SAT de manière appropriée.
 - 3. Remplissez chaque SAT avec 1 mL de diluant d'échantillon Aptima.

4. Pour prélever les échantillons de surface, humidifier légèrement un écouvillon avec de l'eau désionisée exempte de nucléases.
5. Écouvillonnez la surface d'intérêt en effectuant un mouvement vertical de haut en bas. Faites tourner l'écouvillon d'environ un demi-tour pendant l'écouvillonnage.
6. Introduisez immédiatement l'échantillon sur écouvillon dans le tube et faites-le tourner en douceur dans le diluant afin d'en extraire les matières potentiellement écouvillonnées. Pressez l'écouvillon contre le bord du tube de transport pour en extraire le maximum de liquide. Jetez l'écouvillon et fermez le tube.
7. Répétez ces étapes pour les autres écouvillons d'échantillons.
8. Analysez l'écouvillon à l'aide d'un test moléculaire.




Recommandations concernant les échantillons




- M. Les échantillons peuvent être infectieux. Appliquez les précautions universelles^{7,8,9} lors de la réalisation de ce test. Veuillez établir les bonnes méthodes de manipulation et d'élimination conformément à la réglementation locale.¹⁰ Cette procédure ne doit être réalisée que par du personnel dûment formé à l'utilisation du test Aptima HBV Quant Assay pour le dosage quantitatif du HBV et à la manipulation de produits potentiellement infectieux.
- N. Maintenez des conditions de conservation appropriées pendant le transport des échantillons pour préserver leur intégrité. La stabilité des échantillons dans des conditions de transport autres que celles recommandées n'a pas été évaluée.
- O. Évitez toute contamination croisée lors des étapes de manipulation des échantillons. Veillez particulièrement à éviter toute contamination par la diffusion d'aérosols lors du desserrage ou de l'ouverture des échantillons. Les échantillons peuvent contenir des taux d'organismes très importants. Veillez à éviter tout contact entre les différents tubes d'échantillon et à ne pas passer au-dessus d'un récipient ouvert lors de l'élimination des produits usagés. Changez de gants en cas de contact avec l'échantillon.

Recommandations concernant les tests

- P. N'utilisez pas la trousse de réactifs, l'étalon ou les témoins au-delà de la date de péremption.
- Q. Ne pas interchanger, mélanger ou combiner les réactifs de test provenant de kits avec des numéros de lot de référence différents. Les liquides de test peuvent provenir de numéros de lots différents. Les témoins et l'étalon peuvent provenir de numéros de lots différents.
- R. Évitez de contaminer les réactifs par des agents microbiologiques ou des nucléases.
- S. Fermez et entreposez tous les réactifs de test aux températures indiquées. Les performances du test peuvent être affectées par l'utilisation de réactifs de test mal entreposés. Pour de plus amples informations, consultez les sections *Conditions d'entreposage et de manipulation des réactifs* et *Procédure de test pour le Panther System*.
- T. Ne combinez pas de réactifs de test ou de liquides de test sans consignes spécifiques. Ne pas compléter les réactifs ou les fluides. Le Panther System vérifie le niveau des réactifs.
- U. Éviter tout contact du réactif activateur de cible (Target Enhancer Reagent, TER) avec la peau, les yeux et les muqueuses. Laver à l'eau en cas de contact avec ce réactif. En cas de déversements de ce réactif, diluer avec de l'eau et suivre les procédures appropriées du site.
- V. L'étiquette de certains réactifs de cette trousse comporte des symboles de danger.

Remarque : La communication concernant les dangers reprend les classifications propres aux fiches de données de sécurité (FDS) de l'Union européenne (UE). Pour des renseignements sur la communication des risques spécifiques à votre région, consulter la FDS de votre région dans la bibliothèque de fiches signalétiques, disponible à l'adresse www.hologic.com/sds. Pour plus d'informations sur les symboles, consulter la légende des symboles à l'adresse <https://www.hologic.com/package-inserts>.

Symboles de danger pour l'Amérique du Nord	
	Kit de contrôles de la charge virale en HBV <i>Sérum humain/plasma humain à 95-100 %</i> <i>Azoture de sodium < 1 %</i> — —
	Réactif activateur de cible <i>Lithium Hydroxide, Monohydrate 5-10 %</i> — — DANGER H302 – Nocif en cas d'ingestion. H314 – Provoque de graves brûlures de la peau et de graves lésions des yeux. P264 – Se laver le visage, les mains et toute surface de peau exposée soigneusement après manipulation. P270 – Ne pas manger, boire ou fumer en manipulant ce produit. P330 – Rincer la bouche. P501 – Éliminer le contenu/récipient dans une usine d'élimination des déchets homologuée. P260 – Ne pas respirer les poussières/fumées/gaz/brouillards/vapeurs/aérosols. P280 – Porter des gants de protection/des vêtements de protection/un équipement de protection des yeux/du visage. P301 + P330 + P331 – EN CAS D'INGESTION : rincer la bouche NE PAS faire vomir. P303 + P361 + P353 – EN CAS DE CONTACT AVEC LA PEAU (ou les cheveux) : enlever immédiatement tous les vêtements contaminés. Rincer la peau à l'eau (ou se doucher). P304 + P340 – EN CAS D'INHALATION : Transporter la personne à l'extérieur et la maintenir dans une position où elle peut confortablement respirer. P305 + P351 + P338 – EN CAS DE CONTACT AVEC LES YEUX : rincer avec précaution à l'eau pendant plusieurs minutes. Enlever les lentilles de contact si la victime en porte et si elles peuvent être facilement enlevées. Continuer à rincer. P321 – Traitement spécifique (voir les instructions de premiers soins supplémentaires dans la FDS). P363 – Laver les vêtements contaminés avant réutilisation. P405 – Garder sous clef. P301 + P317 – EN CAS D'INGESTION : Consulter un médecin. P316 – Consulter immédiatement un service médical d'urgence.
Informations de l'UE concernant l'exposition aux substances dangereuses	
 	Amplification Reagent <i>Chlorure de magnésium à 60-65%</i> — — H412 – Nocif pour les organismes aquatiques, entraîne des effets néfastes à long terme. P273 – Éviter le rejet dans l'environnement. P501 – Éliminer le contenu/récipient dans une usine d'élimination des déchets homologuée.
	Enzyme Reagent <i>HEPES 1-5%</i> <i>Triton X-100 à 1-5 %</i> — — H412 – Nocif pour les organismes aquatiques, entraîne des effets néfastes à long terme. P273 – Éviter le rejet dans l'environnement. P501 – Éliminer le contenu/récipient dans une usine d'élimination des déchets homologuée.

<p>—</p> <p>—</p>	<p>Enzyme Reconstitution Solution <i>Glycérine à 20-25 %</i> <i>Triton X-100 à 5-10 %</i> <i>Tampon HEPES à 1-5 %</i></p> <p>H412 – Nocif pour les organismes aquatiques, entraîne des effets néfastes à long terme. P273 – Éviter le rejet dans l'environnement. P501 – Éliminer le contenu/récipient dans une usine d'élimination des déchets homologuée.</p>
<p>—</p> <p>—</p>	<p>Promoter Reagent <i>Chlorure de magnésium à 60-65%</i></p> <p>H412 – Nocif pour les organismes aquatiques, entraîne des effets néfastes à long terme. P273 – Éviter le rejet dans l'environnement. P501 – Éliminer le contenu/récipient dans une usine d'élimination des déchets homologuée.</p>
<p>—</p> <p>—</p>	<p>Target Capture Reagent <i>HEPES 15-20 %</i> <i>Lauryl Sulfate Lithium Salt 5-10%</i> <i>Succinic Acid 1-5%</i> <i>Lithium Hydroxide, Monohydrate 1-5%</i></p> <p>H412 – Nocif pour les organismes aquatiques, entraîne des effets néfastes à long terme. P273 – Éviter le rejet dans l'environnement. P501 – Éliminer le contenu/récipient dans une usine d'élimination des déchets homologuée.</p>
<p>—</p> <p>—</p>	<p>Kit de calibration de la charge virale en HBV <i>HEPES 15-20%</i> <i>Lauryl Sulfate Lithium Salt 5-10%</i> <i>Succinic Acid 1-5%</i> <i>Lithium Hydroxide, Monohydrate 1-5%</i></p> <p>H412 – Nocif pour les organismes aquatiques, entraîne des effets néfastes à long terme. P273 – Éviter le rejet dans l'environnement. P501 – Éliminer le contenu/récipient dans une installation d'élimination des déchets agréée.</p>
<p></p> <p></p> <p></p>	<p>Kit de contrôles de la charge virale en HBV <i>Sérum humain/plasma humain à 95-100 %</i> <i>Azoture de sodium < 1 %</i></p> <p>DANGER H300 – Mortel en cas d'ingestion. H410 – Très toxique pour les organismes aquatiques, entraîne des effets néfastes à long terme. P264 – Se laver soigneusement le visage, les mains et toute peau exposée après manipulation. P273 – Éviter le rejet dans l'environnement. P301 + P310 – EN CAS D'INGESTION : Appeler immédiatement un CENTRE ANTIPOISON ou un médecin. P321 – Traitement spécifique (voir les instructions complémentaires de premiers secours sur cette étiquette). P330 – Rincer la bouche. P391 – Recueillir le produit répandu.</p>

Réactif activateur de cible*Lithium Hydroxide, Monohydrate 5-10 %***DANGER**

H302 – Nocif en cas d'ingestion.

H314 – Provoque de graves brûlures de la peau et de graves lésions des yeux.

P264 – Se laver le visage, les mains et toute surface de peau exposée soigneusement après manipulation.

P270 – Ne pas manger, boire ou fumer lors de l'utilisation de ce produit.

P330 – Rincer la bouche.

P501 – Éliminer le contenu/récipient dans une usine d'élimination des déchets homologuée.

P260 – Ne pas respirer les poussières/fumées/gaz/brouillards/vapeurs/aérosols.

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

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

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

P304 + P340 – EN CAS D'INHALATION : transporter la personne à l'extérieur et la maintenir dans une position où elle peut confortablement respirer.

P305 + P351 + P338 – EN CAS DE CONTACT AVEC LES YEUX : rincer avec précaution à l'eau pendant plusieurs minutes. Enlever les lentilles de contact si la victime en porte et si elles peuvent être facilement enlevées. Continuer à rincer.

P310 – Appeler immédiatement un CENTRE ANTIPOISON ou un médecin.

P321 – Traitement spécifique (voir les instructions complémentaires de premier secours sur cette étiquette).

P363 – Laver les vêtements contaminés avant réutilisation.

P405 – Garder sous clef.

Conditions d'entreposage et de manipulation des réactifs

- A. Le tableau suivant présente les conditions d'entreposage et de stabilité pour les réactifs, les contrôles et le calibrateur.

Réactif	Conservation avant ouverture	Trousse ouverte (reconstituée)	
		Entreposage	Stabilité
qHBV Amplification Reagent (Réactif d'amplification qHBV)	2 °C à 8 °C		
Solution de reconstitution d'amplification qHBV	2 °C à 8 °C	2 °C à 8 °C	30 jours ^a
qHBV Enzyme Reagent (Réactif enzymatique qHBV)	2 °C à 8 °C		
qHBV Enzyme Reconstitution Solution (Solution de reconstitution enzymatique qHBV)	2 °C à 8 °C	2 °C à 8 °C	30 jours ^a
qHBV Promoter Reagent (Réactif promoteur qHBV)	2 °C à 8 °C		
qHBV Promoter Reconstitution Solution (Solution de reconstitution du promoteur qHBV)	2 °C à 8 °C	2 °C à 8 °C	30 jours ^a
qHBV Target Capture Reagent (Réactif de capture de cible qHBV)	2 °C à 8 °C	2 °C à 8 °C	30 jours ^a
qHBV PCAL (Étalon positif)	-15 °C à - 35 °C	15 °C à 30 °C	Flacon à usage unique Utiliser dans les 24 heures
qHBV NC CONTROL – (Témoin négatif)	-15 °C à - 35 °C	15 °C à 30 °C	Flacon à usage unique Utiliser dans les 24 heures
qHBV LPC CONTROL + (Témoin positif bas)	-15 °C à - 35 °C	15 °C à 30 °C	Flacon à usage unique Utiliser dans les 24 heures
qHBV HPC CONTROL + (Contrôle positif haut)	-15 °C à - 35 °C	15 °C à 30 °C	Flacon à usage unique Utiliser dans les 24 heures
Réactif activateur de cible qHBV	15 °C à 30 °C	15 °C à 30 °C	30 jours ^a

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

- B. Jetez tous les volumes inutilisés de réactifs reconstitués, du réactif de capture de cible (Target Capture Reagent, TCR) et du réactif activateur de cible (Target Enhancer Reagent, TER) après 30 jours ou après la date de péremption du lot de référence, la première des deux éventualités prévalant.
- C. Les réactifs conservés à bord du Panther System sont stables pendant 72 heures. Vous pouvez charger les réactifs dans le système Panther 8 fois maximum. Le Panther System enregistre le nombre de chargements des réactifs.
- D. Après décongélation de l'étalon, la solution doit être transparente, c.-à-d., elle ne doit pas être trouble ou contenir des précipités. Assurez-vous que les précipités sont dissous. N'utilisez pas l'étalon tant qu'il y a présence de gélification, de précipitation ou de turbidité.

- E. Le réactif promoteur et le réactif promoteur reconstitué sont photosensibles. Protégez ces réactifs de la lumière lors de leur entreposage et pendant la préparation avant de les utiliser.
- F. Le réactif activateur de cible qHBV doit être entre 15 °C et 30 °C avant son utilisation.

Prélèvement et entreposage des échantillons

Remarque : Manipulez tous les échantillons comme s'ils contenaient des agents potentiellement infectieux. Utilisez les précautions universelles.

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

Remarque : Les tubes secondaires en plastique constituent le seul récipient d'entreposage recommandé.

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

- Tubes contenant des anticoagulants comme l'acide éthylènediaminetétracétique (EDTA) ou l'acide-citrate-dextrose (ACD)
- Tubes de préparation du plasma
- Tubes de sérum
- Tubes de séparation du sérum

Dans le cas du sérum, laissez le caillot se former avant de poursuivre.

A. Prélèvement d'échantillon

Le sang total peut être conservé entre 2 °C et 30 °C pendant 24 heures, et le plasma doit être séparé par centrifugation dans un tube primaire avant le traitement. Séparez le plasma ou le sérum des globules rouges en suivant les instructions du fabricant du tube utilisé. Le plasma ou le sérum peut être analysé directement sur le Panther System dans un tube primaire ou transféré dans un tube secondaire tel que le tube d'aliquote d'échantillon Aptima®. Pour obtenir un volume réactionnel de 500 µL, le volume minimal de sérum ou de plasma est de 1 200 µL pour les tubes de collecte primaires et de 700 µL pour les tubes secondaires. Le tableau suivant identifie le volume mort minimal pour chaque type de tube primaire et secondaire.

Tube (taille et type)	Volume mort sur le Panther System
Tube d'aliquote d'échantillon Aptima (SAT)	0,2 ml
12 x 75 mm	0,5 ml
13 x 100 mm	0,5 ml
13 x 100 mm avec gel	0,3 ml
16 x 100 mm avec gel	0,7 ml

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

B. Conditions de conservation des échantillons

1. Échantillons de plasma sur EDTA ou ACD

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

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

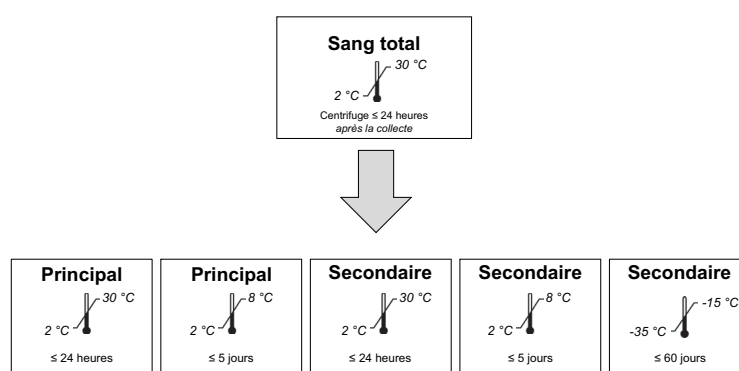


Figure 1. Conditions d'entreposage des tubes EDTA/ACD

2. Échantillons prélevés dans des tubes PPT

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

- Jusqu'à 24 heures dans le tube PPT ou secondaire entre 2 °C et 30 °C,
- Jusqu'à 5 jours dans le PPT ou dans un tube secondaire entre 2 °C et 8 °C;
- Jusqu'à 60 jours dans le tube PPT ou secondaire à -20 °C.

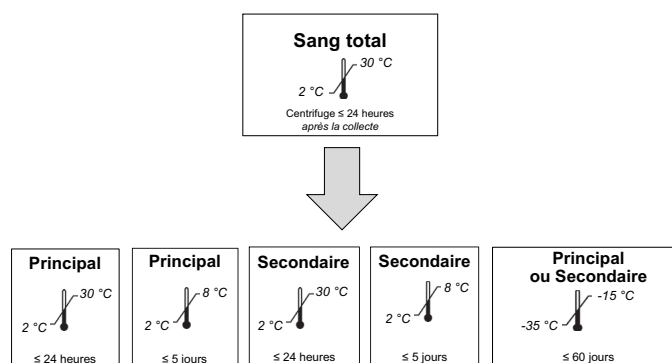


Figure 2. Conditions d'entreposage des tubes PPT

3. Échantillons prélevés dans des tubes de sérum

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

- Jusqu'à 24 heures dans le tube de sérum ou le tube secondaire entre 2 °C et 30 °C,
- Jusqu'à 5 jours dans le tube de sérum ou le tube secondaire entre 2 °C et 8 °C ou
- Jusqu'à 60 jours dans un tube secondaire à -20 °C

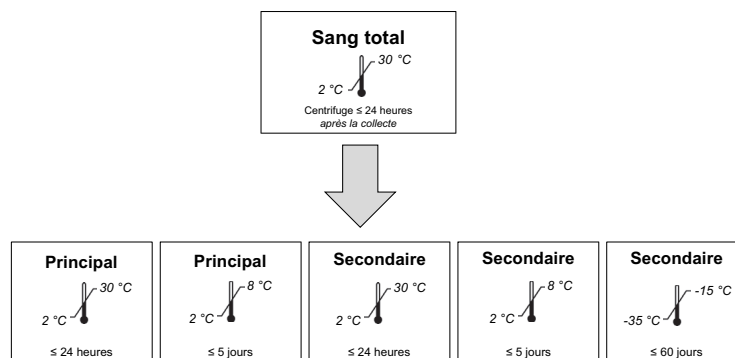


Figure 3. Conditions d'entreposage des tubes de sérum

4. Échantillons dans des tubes SST

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

- Jusqu'à 24 heures dans le tube SST ou secondaire entre 2 °C et 30 °C,
- Jusqu'à 5 jours dans le SST ou dans un tube secondaire entre 2 °C et 8 °C;
- Jusqu'à 60 jours dans le tube SST ou secondaire à -20 °C.

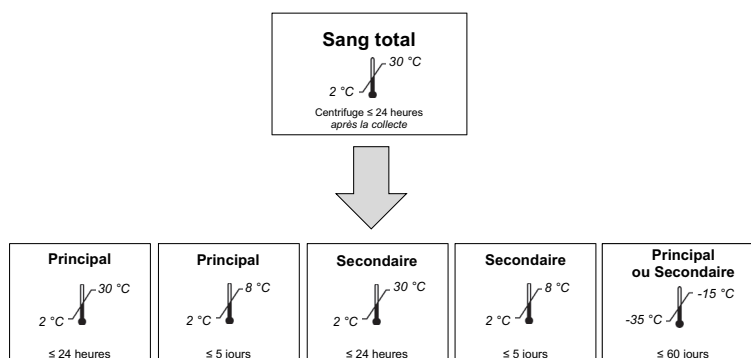


Figure 4. Conditions d'entreposage pour les tubes SST

C. Entreposage à long terme au congélateur

Les échantillons de plasma ou de sérum peuvent être entreposés jusqu'à 60 jours à -70 °C dans des tubes d'aliquote d'échantillon (SAT).

D. Dilution d'échantillons de plasma et de sérum

Les échantillons de plasma et de sérum peuvent être dilués dans le tube SAT ou dans un tube secondaire pour être testés sur le Panther System. Pour plus de renseignements, reportez-vous à l'étape E.5 de la partie *Procédure de test pour le Panther System* ci-dessous.

Remarque : Si un échantillon est dilué, il doit être analysé immédiatement après la dilution. Ne congelez pas d'échantillon dilué.

Échantillons placés à bord du Panther System

Les échantillons peuvent être laissés sans bouchon à bord du Panther System pendant jusqu'à 8 heures. Les échantillons peuvent être retirés du Panther System et analysés aussi longtemps que la durée totale de leur séjour à bord du Panther System n'excède pas 8 heures avant le pipetage de l'échantillon par le Panther System.

Transport des échantillons

Observez les conditions de conservation des échantillons décrites dans la section *Prélèvement et entreposage des échantillons*.

Remarque : L'expédition des échantillons doit s'effectuer conformément à la réglementation locale, nationale et internationale applicable en matière de transport.

Système Panther

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

Réactifs et matériel fournis

Aptima HBV Quant Assay Kit, 100 tests (N° PRD-03424)

(1 boîte de tests, 1 trousse d'étalons, 1 trousse de contrôles et 1 boîte de réactif activateur de cible (Target Enhancer Reagent, TER))

Des contrôles et des étalons supplémentaires peuvent être commandés séparément. Voir les numéros de catalogue individuels ci-dessous.

Aptima HBV Quant Assay Box (Boîte du test Aptima HBV Quant Assay pour le dosage quantitatif du HBV)

(conserver entre 2 °C et 8 °C dès réception)

Symbole	Composant	Quantité
A	qHBV Amplification Reagent (Réactif d'amplification qHBV) <i>Acides nucléiques non infectieux lyophilisés dans une solution tamponnée.</i>	1 flacon
E	qHBV Enzyme Reagent (Réactif enzymatique qHBV) <i>Transcriptase inverse et ARN polymérase lyophilisés dans une solution tamponnée à l'HEPES.</i>	1 flacon
PRO	qHBV Promoter Reagent (Réactif promoteur qHBV) <i>Acides nucléiques non infectieux lyophilisés dans une solution tamponnée.</i>	1 flacon
AR	Solution de reconstitution d'amplification qHBV <i>Solution aqueuse contenant du glycérol et des agents de conservation.</i>	1 x 7,2 ml
ER	qHBV Enzyme Reconstitution Solution (Solution de reconstitution enzymatique qHBV) <i>Solution tamponnée HEPES contenant un surfactant et du glycérol.</i>	1 x 5,8 ml
PROR	qHBV Promoter Reconstitution Solution (Solution de reconstitution du promoteur qHBV) <i>Solution aqueuse contenant du glycérol et des agents de conservation.</i>	1 x 4,5 ml
TCR	qHBV Target Capture Reagent (Réactif de capture de cible qHBV) <i>Acides nucléiques dans une solution saline tamponnée contenant des acides nucléiques non infectieux en phase solide et un étalon interne (Internal Calibrator, IC)</i>	1 x 72,0 ml
	Collets de reconstitution	3
	Fiche des codes à barres de lot de référence	1 fiche

Kit de calibration Aptima HBV Quant (N° PRD-03425)

(conservez entre -15 °C et -35 °C dès réception)

Symbole	Composant	Quantité
PCAL	qHBV Positive Calibrator (Étalon positif qHBV) <i>ADN plasmidique dans une solution tamponnée</i>	5 x 2,5 ml
	Étiquette à code-barres de l'étalon	—

Kit de contrôles Aptima HBV Quant (N° PRD-03426)
 (conservez entre -15 °C et -35 °C dès réception)

Symbole	Composant	Quantité
NC	qHBV Negative Control (Témoin négatif qHBV) <i>Plasma humain défibriné négatif pour l'HBV et contenant de la gentamicine et de l'azoture de sodium à 0,2 % comme conservateurs.</i>	5 x 0,8 ml
LPC	qHBV Low Positive Control (Témoin positif bas qHBV) <i>Plasma inactivé positif pour l'HBV dans du plasma humain défibriné contenant de la gentamicine et de l'azoture de sodium à 0,2 % comme conservateurs.</i>	5 x 0,8 ml
HPC	qHBV High Positive Control (Témoin positif haut qHBV) <i>Plasma inactivé positif pour l'HBV dans du plasma humain défibriné contenant de la gentamicine et de l'azoture de sodium à 0,2 % comme conservateurs.</i>	5 x 0,8 ml
	Étiquette à code-barres des témoins	—

Boîte de réactif activateur de cible Aptima HBV Quant
 (conservez entre 15 °C et 30 °C dès réception)

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

Matériel requis, mais disponible séparément

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

Matériel	N° de Cat.
Panther™ System	303095
Panther Fusion™ System	PRD-04172
Panther™ System, liquide et déchets en continu (Panther Plus)	PRD-06067
Aptima® HBV Quant Calibrator Kit (Trousse d'étalons du test Aptima HBV Quant Assay pour le dosage quantitatif du HBV)	PRD-03425
Aptima® HBV Quant Controls Kit (Trousse de témoins du test Aptima HBV Quant Assay pour le dosage quantitatif du HBV)	PRD-03426
Panther Run Kit for Real Time Assays (Trousse d'analyse Panther pour tests en temps réel) (pour les tests réalisés en temps réel seulement)	PRD-03455 (5 000 tests)
Kit de liquides pour tests Aptima® (aussi connu sous le nom de Kit de liquide universel) <i>contient Aptima® Wash Solution (Solution de lavage Aptima), Aptima® Buffer for Deactivation Fluid (Tampon pour solution de désactivation Aptima) et Aptima® Oil Reagent (Réactif huileux Aptima)</i>	303014 (1 000 tests)
Unités multi-tubes (Multi-Tube units, MTU)	104772-02
Panther™ Waste Bag Kit (Kit de sacs pour déchets Panther)	902731
Panther™ Waste Bin Cover (Couvre-déchets Panther)	504405

Matériel	N° de Cat.
Ou : Panther™ System Run Kit (Trousse d'analyse pour le système Panther) <i>(lors de la réalisation de tests TMA en temps différé parallèlement à des tests TMA en temps réel)</i> <i>contient des MTU, des sacs à déchets, des couvercles de bacs à déchets, des solutions d'auto-détection et une trousse de liquides universelle</i>	303096 (5 000 tests)
Embouts, 1 000 µl, conducteurs, à détection de liquide	901121 (10612513 Tecan) 903031 (10612513 Tecan) MME-04134 (30180117 Tecan) MME-04128
<i>Tous les produits ne sont pas disponibles dans toutes les régions. Contactez votre représentant pour obtenir des renseignements spécifiques à votre région.</i>	
Eau de Javel Solution d'hypochlorite de sodium de 5 % à 8,25 % (0,7 M à 1,16 M)	—
Gants jetables sans poudre	—
Bouchons non pénétrables de remplacement	103036A
Bouchons de rechange pour réactifs <i>Flacons des solutions de reconstitution du réactif d'amplification, du réactif enzymatique et du réactif promoteur</i> <i>Flacon de TCR</i> <i>Flacon de TER</i>	CL0041 (100 bouchons) CL0040 (100 bouchons) 501604 (100 bouchons)
Protecteurs de paillasse de laboratoire à envers plastifié	—
Chiffons non pelucheux	—
Pipette	—
Embouts	—
Dimensions possibles des tubes de collecte principales :	
13 mm x 100 mm	—
13 mm x 75 mm	—
16 mm x 100 mm	—
Centrifugeuse	—
Agitateur vortex	—

Matériel optionnel

Matériel	N° de Cat.
Dimensions possibles des tubes secondaires :	
12 mm x 75 mm	—
13 mm x 100 mm	—
16 mm x 100 mm	—
<i>Aptima® Tubes d'aliquote d'échantillons (SAT) (paquet de 100)</i>	FAB-18184
Transport Tube Cap (Bouchon pour tubes de transport) (paquet de 100) <i>bouchon pour tube SAT</i>	504415
Aptima® Specimen Diluent (Diluant pour échantillons Aptima)	PRD-03003
Aptima® Specimen Diluent Kit (Trousse de diluant pour échantillons Aptima) <i>contient du diluant pour échantillons, 100 tubes SAT et 100 bouchons</i>	PRD-03478
Pipettes de transfert	—
Écouvillons à embout de coton	—
Agitateur à bascule pour tubes	PRD-03488

Procédure de test pour le Panther System

Remarque : Pour plus de renseignements sur la procédure, consultez le Manuel de l'opérateur du système Panther/Panther Fusion.

A. Préparation de la zone de travail

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

B. Préparation de l'étalon et des témoins

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

1. Retirez le calibrateur et les contrôles de leur lieu d'entreposage (entre -15 °C et -35 °C) et placez-les entre 15 °C et 30 °C. Tout au long de la décongélation, retournez délicatement chaque tube pour les mélanger complètement. Vérifiez que le contenu du tube est complètement décongelé avant de l'utiliser.

Option. Les tubes d'étalon et de témoins peuvent être mis dans un agitateur à tubes afin de les mélanger complètement. Vérifiez que le contenu du tube est complètement décongelé avant de l'utiliser.

Remarque : Évitez toute formation excessive de mousse en mélangeant par inversion le calibrateur et les contrôles. La mousse interfère avec le détecteur de niveau du Panther System.

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

C. Reconstitution des réactifs/préparation d'un nouveau kit

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

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

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

- c. Assurez-vous que tout précipité a été dissous et que les particules magnétiques sont bien en suspension avant l'utilisation.

2. Pour reconstituer les réactifs d'amplification, enzymatique et promoteur, procédez comme suit :
 - a. Retirez les réactifs lyophilisés et les solutions de reconstitution correspondantes de leur lieu d'entreposage (2 °C à 8 °C). Appariez chaque solution de reconstitution à son réactif lyophilisé.
 - b. Assurez-vous que les couleurs des étiquettes de la solution de reconstitution et du réactif lyophilisé correspondent. Vérifiez les numéros de lot sur la fiche de code-barres du lot de référence pour s'assurer que les réactifs sont associés correctement.
 - i. Ouvrez le flacon de réactif lyophilisé en enlevant l'opercule métallique et le bouchon en caoutchouc.
 - ii. Insérez fermement l'extrémité à encoche du collet de reconstitution (noir) sur le flacon (Figure 5, Étape 1).
 - iii. Ouvrir la bouteille de solution de reconstitution correspondante et déposer le bouchon sur un plan de travail propre et couvert.
 - iv. Placez le flacon de solution de reconstitution sur une surface stable (c.-à-d., une paillasse). Retournez ensuite le flacon de réactif lyophilisé au-dessus du flacon de solution de reconstitution et fixez le collet solidement au flacon de la solution de reconstitution (Figure 5, Étape 2).
 - v. Retournez lentement les flacons assemblés (flacon de réactif fixé au flacon de solution) pour que la solution puisse s'écouler dans le flacon en verre (Figure 5, Étape 3).
 - vi. Soulevez les flacons assemblés et faites-les tourner pendant au moins 10 secondes (Figure 5, Étape 4).
 - vii. Attendez au moins 30 minutes pour que le réactif lyophilisé se dissolve entièrement.
 - viii. Une fois le réactif lyophilisé dissous, faites tourner les flacons assemblés pendant au moins 10 secondes, puis balancez délicatement d'avant en arrière la solution dans le flacon en verre pour la mélanger complètement.
 - c. Inclinez lentement les flacons assemblés pour permettre à la totalité de la solution de s'écouler de nouveau dans le flacon de solution de reconstitution (Figure 5, Étape 5).
 - d. Retirez avec précaution le collet de reconstitution et le flacon en verre (Figure 5, Étape 6).
 - e. Rebouchez la bouteille. Noter les initiales de l'utilisateur et la date de reconstitution sur l'étiquette (Figure 5, Étape 7).
 - f. Jetez le collet de reconstitution et le flacon en verre (Figure 5, Étape 8).

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

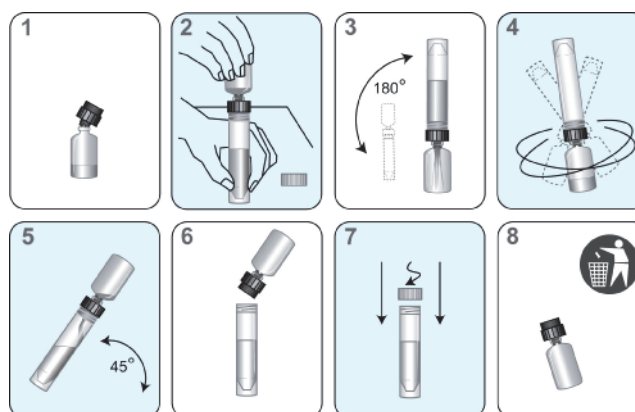


Figure 5. Procédure de reconstitution des réactifs

3. Retirez le réactif activateur de cible (TER) qHBV de son lieu d'entreposage (15 °C à 30 °C). Inscrivez les initiales de l'opérateur et la date d'ouverture sur l'étiquette. Vérifiez la correspondance entre le numéro de lot sur le flacon de TER et le numéro de lot sur la fiche de codes à barres du lot de référence.

D. Préparation des réactifs précédemment reconstitués

1. Retirez les réactifs précédemment reconstitués de leur lieu d'entreposage (2 °C à 8 °C). Les réactifs d'amplification, enzymatique et promoteur ainsi que le TCR précédemment reconstitués doivent atteindre entre 15 °C et 30 °C avant de commencer le test.
2. Retirez le TER de son lieu d'entreposage (15 °C à 30 °C).
3. Pour le TCR précédemment préparé, effectuez l'étape C.1 ci-dessus avant de le charger sur le système.
4. Faites tourner et retournez les réactifs d'amplification, enzymatique et promoteur afin de les mélanger complètement avant de les charger sur le système. Évitez la formation excessive de mousse lors du retournement des réactifs.

Option : Les réactifs préalablement préparés peuvent être mis en solution à l'aide d'un agitateur à tubes en suivant les instructions suivantes : Sortez les réactifs de leur lieu de stockage (entre 2 °C et 8 °C). Placez les réactifs sur un agitateur à tubes et laissez-les à une température comprise entre 15 °C et 30 °C pendant au moins 30 minutes pour les amener à une température ambiante.

5. N'ajoutez pas de réactif dans les bouteilles de réactif. Le Panther System détecte et rejette les bouteilles dans lesquelles plus de réactif a été ajouté.

E. Manipulation des échantillons

1. Vérifiez que les échantillons traités dans des tubes primaires et les échantillons de plasma non dilués dans des tubes secondaires ont été entreposés conformément à la partie « Prélèvement des échantillons » (*Prélèvement d'échantillon*).
2. Vérifiez que les échantillons congelés sont entièrement décongelés. Vortexer les échantillons décongelés pour 3 à 5 secondes pour bien mélanger.
3. Laissez tous les échantillons atteindre une température entre 15 °C et 30 °C avant de les analyser. Voir *Échantillons placés à bord du Panther System* pour plus d'information sur la mise à bord.

4. Assurez-vous que chaque tube de collecte principal contient jusqu'à 1 200 µL d'échantillon ou que chaque SAT contient au moins 700 µL d'échantillon. Reportez-vous au tableau de la section *Prélèvement d'échantillon* pour les volumes morts nécessaires pour chaque type de tube primaire et secondaire. Si la dilution de l'échantillon est nécessaire, reportez-vous à l'étape E.5 ci-dessous pour plus d'informations.
5. Diluez un échantillon de plasma ou de sérum 1:3 dans un tube SAT ou 1:100 dans un tube secondaire.

Un échantillon peut être dilué dans un tube secondaire pour être analysé sur le système Panther.

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

a. Dilution d'échantillons de faible volume

Le volume d'échantillons peut être augmenté afin d'atteindre le volume minimal requis (700 µL) à l'aide du diluant d'échantillon Aptima. Les échantillons comprenant au moins 240 µL peuvent être dilués en ajoutant deux volumes de diluant d'échantillon (1:3) comme suit :

- i. Déposez 240 µL d'échantillon dans le tube SAT.
- ii. Ajoutez 480 µL de diluant pour échantillons Aptima.
- iii. Fermez le tube.
- iv. Retournez délicatement 5 fois pour le mélanger.

Les échantillons dilués à 1:3 peuvent être analysés à l'aide de l'option 1:3 du Panther System (voir le *Manuel de l'opérateur du Panther/Panther Fusion System* pour plus d'informations). Le logiciel indique automatiquement le résultat non dilué en appliquant le facteur de dilution. Ces échantillons sont signalés comme des échantillons dilués.

b. Dilution d'échantillons à titre élevé

Si le résultat d'un échantillon excède la limite supérieure de quantification (LSQ), l'échantillon peut être dilué dans 99 volumes de diluant pour échantillons Aptima (1:100) comme suit :

- i. Déposez 30 µL d'échantillon dans un tube SAT ou un tube secondaire.
- ii. Ajoutez 2970 µL de diluant pour échantillons Aptima.
- iii. Fermez le tube.
- iv. Retournez délicatement 5 fois pour le mélanger.

Les échantillons dilués 1:100 peuvent être analysés à l'aide de l'option 1:100 du Panther System (voir le *Manuel de l'opérateur du Panther/Panther Fusion System* pour plus d'information). Le logiciel indique automatiquement le résultat non dilué en appliquant le facteur de dilution. Ces échantillons sont signalés comme des échantillons dilués.

Remarque : *Pour les échantillons dilués avec des concentrations non diluées supérieures à la LSQ, les résultats sont signalés sous forme de notation scientifique.*

6. Juste avant de charger les échantillons dans un portoir d'échantillons, centrifugez chaque échantillon entre 1 000 et 3 000 g pendant 10 minutes. Ne pas enlever les bouchons. La présence de bulles dans le tube peut empêcher la détection du niveau par le Panther System. Voir *Préparation du système*, étape F.2 ci-dessous pour des renseignements sur le chargement du portoir et le retrait des bouchons.

F. Préparation du système

1. Configurer le système selon les instructions du *Panther/Panther Fusion System Operator's Manual (manuel de l'opérateur du Panther/Panther Fusion System)* et *Remarques concernant la procédure*. Vérifier que les portoirs de réactifs et les adaptateurs TCR utilisés sont de taille appropriée.
2. Chargez les échantillons dans le portoir d'échantillons. Effectuez les étapes suivantes pour chaque tube d'échantillon (échantillon et, le cas échéant, étalon et témoins) :
 - a. Desserrez le bouchon de l'un des tubes d'échantillon, sans l'enlever.
Remarque : Évitez particulièrement toute contamination par diffusion d'aérosols. Desserrez délicatement les bouchons des échantillons.
 - b. Chargez le tube d'échantillon dans le portoir d'échantillons.
 - c. Répétez les étapes 2.a et 2.b pour chaque échantillon restant.
 - d. Une fois les échantillons chargés dans le portoir d'échantillons, enlevez et jetez le bouchon de chaque tube d'échantillon dans l'un des portoirs d'échantillons. Pour éviter toute contamination, ne passez pas les bouchons au-dessus d'autres portoirs d'échantillons ou tubes d'échantillons.
 - e. Utilisez une pipette de transfert jetable neuve pour éliminer les bulles ou la mousse, si nécessaire.
 - f. Une fois le dernier bouchon retiré, charger le portoir d'échantillons dans le compartiment des échantillons.

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

- g. Répétez les étapes 2.a à 2.f pour le portoir d'échantillons suivant.

Remarques concernant la procédure

A. Étalon et témoins

1. L'étalon positif qHBV, ainsi que les tubes de témoin positif bas qHBV, de témoin positif haut qHBV et de témoin négatif qHBV, peuvent être chargés dans n'importe quelle position dans le portoir d'échantillons et dans n'importe quelle rangée du compartiment à échantillons du système Panther. Le pipetage des échantillons commencera lorsque l'une des deux conditions suivantes aura été remplie :
 - a. L'étalon et les témoins sont en cours de traitement par le système.
 - b. Des résultats valides sont enregistrés sur le système pour l'étalon et les témoins.
2. Une fois que les tubes de calibrateur et de contrôles ont été pipetés et sont traités avec le kit de réactifs du test Aptima HBV Quant, alors des échantillons peuvent être testés pendant 24 heures maximum avec le kit reconstitué associé **à moins que** :
 - a. Les résultats de l'étalon ou des témoins ne sont pas valides.
 - b. La trousse de réactifs du test associée est retirée du système.
 - c. La durée de stabilité de la trousse de réactifs associée a été dépassée.
3. L'étalon et chaque tube de témoins ne peut être utilisé qu'une seule fois. Les tentatives d'utiliser le tube plus d'une fois peuvent entraîner des erreurs de traitement.

B. Poudre pour gants

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

Contrôle de la qualité

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

Calibration du test

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

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

Contrôles négatifs et positifs

Pour obtenir des résultats valides, un jeu de contrôles du test doit être analysé. Un réplicat du contrôle négatif, du contrôle positif faible et du contrôle positif fort doit être analysé chaque fois qu'une trousse de réactifs est chargée sur le Panther System. Une fois établis, les contrôles sont valides pour un maximum de 24 heures. Le logiciel du Panther System signale à l'opérateur lorsque des contrôles sont requis.

Le logiciel du Panther System vérifie automatiquement les critères d'acceptation des contrôles lors de leur traitement. Afin d'obtenir des résultats valides, le résultat du contrôle négatif doit être « Non détecté » et les résultats des contrôles positifs doivent correspondre à la plage de paramètres prédéfinie (cible nominale LPC : $2,7 \log_{10}$ UI/mL, cible nominale HPC : $4,6 \log_{10}$ IU/mL). Si un résultat non valide est généré pour l'un des contrôles, le logiciel invalide alors automatiquement la série. Les échantillons d'une série d'analyses invalidée doivent être analysés de nouveau avec un étalon et des témoins fraîchement préparés.

Calibrateur interne/Contrôle interne

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

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

Interprétation des résultats

Le système Panther détermine automatiquement la concentration d'ADN du HBV dans les échantillons et les témoins en comparant les résultats à une courbe d'étalonnage.

Les concentrations d'ADN du HBV sont indiquées en UI/mL et en \log_{10} UI/mL.

L'interprétation des résultats est présentée dans le Tableau 1. Si l'option d'échantillons dilués est utilisée, le système Panther calcule automatiquement la concentration d'ADN du HBV pour l'échantillon non dilué en multipliant la concentration diluée par le facteur de dilution et les échantillons dilués sont alors signalés comme dilués.

Remarque : Pour les échantillons dilués, les résultats indiqués comme « Non détecté » ou « < 10 détectés » peuvent être générés en diluant un échantillon à une concentration supérieure, mais près de le LoD (seuil de détection) ou de la LLoQ (limite inférieure de quantification). Si un résultat quantitatif n'est pas obtenu, il est recommandé de prélever un nouvel échantillon et de l'analyser sans le diluer.

Tableau 1 : Interprétation des résultats

Résultat indiqué du test Aptima HBV Quant Assay pour le dosage quantitatif du HBV		Interprétation
UI/ml	\log_{10} UI/ml ^a	
Non détecté	Non détecté	ADN du HBV non détecté.
< 10 détecté	< 1,00	L'ADN du HBV est détecté mais à une concentration inférieure à la LLoQ.
10 à 1 000 000 000	1,00 à 9,00	La concentration d'ADN du HBV se situe dans la plage linéaire comprise entre 10 et 1 000 000 000 UI/ml.
> 1 000 000 000	> 9,00	La concentration d'ADN du HBV est supérieure à la LSQ.
Non valide ^b	Non valide ^b	Erreur indiquée dans la génération du résultat. L'échantillon doit être analysé de nouveau.

^a Valeur arrondie à deux décimales.

^b Les résultats non valides sont affichés dans une police de couleur bleue.

pour les échantillons dilués avec des concentrations non diluées supérieures à la LSQ, les résultats sont signalés sous forme de notation scientifique.

Les critères d'acceptation pour chacun des témoins du test Aptima HBV Quant Assay pour le dosage quantitatif du HBV sont décrits dans Tableau 2 ci-dessous.

Remarque : La plage de récupération indiquée ci-dessous varie en fonction de la valeur attribuée à chaque lot spécifique. Reportez-vous à la concentration assignée figurant sur la fiche des codes à barres du contrôle fournie avec chaque boîte de contrôle.

Tableau 2 : Critères d'acceptation pour la plage de récupération des témoins du test Aptima HBV Quant Assay

Composant	Plage de récupération pour les séries valides
Témoin négatif	s.o.
Témoin positif bas	+/- 0,55 \log_{10} IU/ml
Témoin positif haut	+/- 0,5 \log_{10} IU/ml

Limites

- A. L'utilisation de ce test est réservée au personnel ayant été formé à la procédure.
Le non-respect des instructions figurant dans cette notice du test peut donner lieu à des résultats erronés.
- B. L'obtention de résultats fiables repose sur le prélèvement, le transport, la conservation et le traitement appropriés des échantillons.

Performance analytique

Seuil de détection à l'aide du 3e étalon de référence international de l'OMS

D'après le protocole EP17-A2 du CLSI, le seuil de détection (LoD, limit of detection en anglais) du test est défini comme la concentration en ADN du virus HBV dont la probabilité de détection est égale ou supérieure à 95 %.¹¹

La valeur LoD a été déterminée par le test de panels du 3e étalon de référence international de l'OMS pour l'ADN du virus de l'hépatite B (NIBSC 10/264, génotype A) dilués dans du plasma EDTA et du sérum humain négatifs pour le HBV. Au moins 36 réplicats de chaque dilution ont été analysés avec chacun des trois lots de réactifs pour un minimum de 108 réplicats par dilution. Une analyse Probit a été réalisée pour obtenir 95 % des seuils de détection attendus. Les valeurs de LoD correspondent aux résultats du lot de réactif avec le seuil de détection attendu le plus élevé. La valeur LoD pour le test Aptima HBV Quant Assay avec le 3e étalon de référence international de l'OMS est de 4,8 UI/mL pour le plasma et 5,9 UI/mL pour le sérum.

Limite de détection pour l'ensemble des génotypes du HBV

Le seuil de détection a été déterminé en analysant des échantillons cliniques dilués positifs au HBV pour les génotypes A, B, C, D, E, F, G et H dans le sérum et le plasma humain négatif au HBV. Les concentrations ont été déterminées avec un test approuvé. Au moins 24 réplicats de chaque échantillon du panel ont été analysés avec chacun des deux lots de réactifs pour un minimum de 48 réplicats par échantillon du panel. Une analyse Probit a été réalisée pour obtenir 95 % des seuils de détection attendus. Les valeurs de LoD présentées dans le Tableau 3 correspondent aux résultats du lot de réactif avec le seuil de détection attendu le plus élevé.

Tableau 3 : Limite de détection (prévue à 95 %) pour l'ensemble des génotypes du HBV déterminée sur des échantillons cliniques

Génotype	Concentration (UI/ml)	
	Plasma	Sérum
A	3,3	4,1
B	2,9	3,9
C	4,9	5,2
D	5,7	5,4
E	5,8	5,8
F	3,0	4,0
G	2,8	7,4
H	5,5	6,3

Plage linéaire

La plage linéaire a été établie en testant des panels de virus HBV de génotype A ($0,78 \log_{10}$ UI/mL à $7,30 \log_{10}$ UI/mL) et d'ADN plasmidique ($5,30 \log_{10}$ UI/mL à $9,18 \log_{10}$ UI/mL) dilués dans du plasma et du sérum humains négatifs au HBV conformément à la norme CLSI EP06-A.¹² Le test Aptima HBV Quant a démontré une linéarité sur toute la plage testée, avec une limite supérieure de quantification (LSQ) de $9 \log_{10}$ UI/mL comme indiqué dans Figure 6.

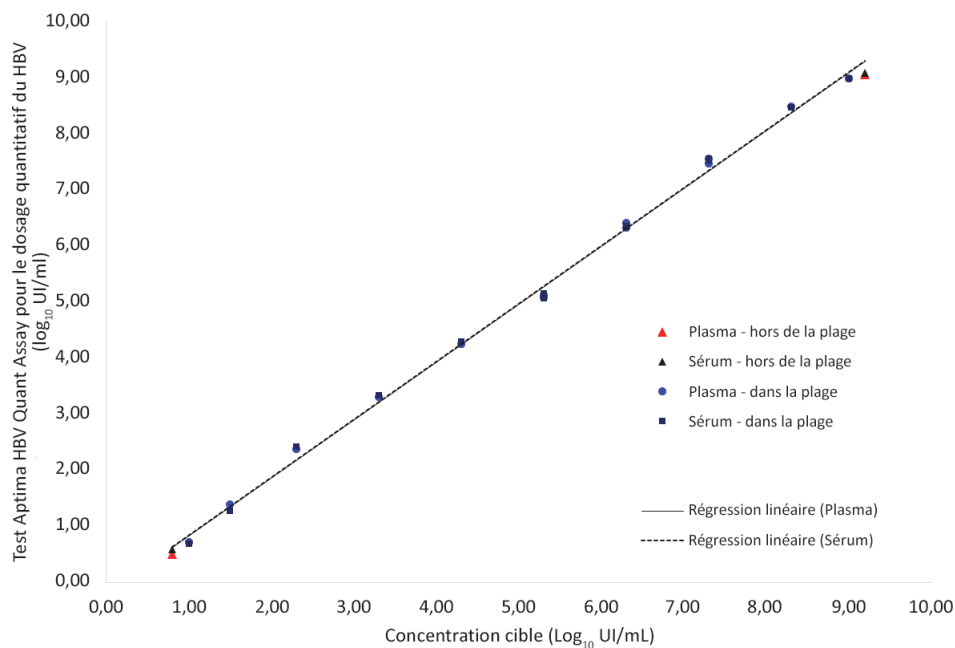


Figure 6. Linéarité dans le plasma et le sérum

Linéarité pour tous les génotypes du HBV

La linéarité des génotypes du HBV a été établie en testant des échantillons cliniques positifs pour les génotypes A, E, F, G et H, et le 1er panel PEI de référence de l'OMS (PEI 5086/08) pour les génotypes B, C et D. Le virus a été utilisé pour la plage inférieure du test ($4 \log_{10}$ UI/mL et moins pour les génotypes A à G, $3 \log_{10}$ UI/mL et moins pour le génotype H). L'ADN plasmidique a été utilisé pour la plage supérieure avec un chevauchement de $2 \log_{10}$. Des dilutions dans du plasma humain négatif ont été testées pour tous les génotypes. La linéarité a été démontrée sur l'ensemble de la plage testée pour tous les génotypes testés, comme l'illustre la Figure 7.

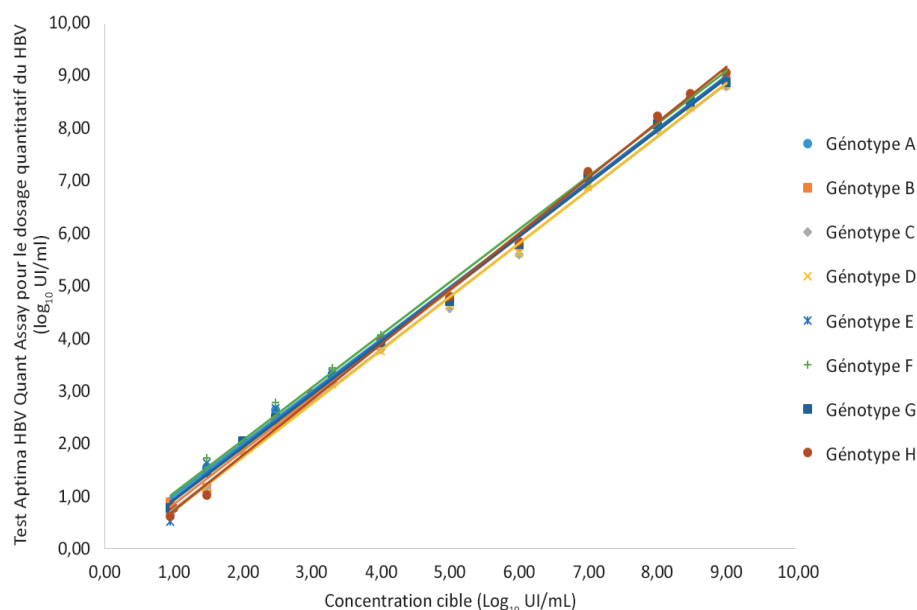


Figure 7. Plage linéaire et linéarité (plasma)

Limite inférieure de quantification avec le 3e étalon de référence international de l'OMS

Selon la norme CLSI EP17-A2, la limite inférieure de quantification est définie comme la concentration la plus faible à laquelle la quantification de l'ADN du HBV est fiable d'après le calcul d'une erreur totale.¹¹ L'erreur totale a été estimée par les deux méthodes suivantes :

Erreur analytique totale (TAE) = |biais| + 2 ET et Erreur totale (TE) = racine carrée (2) x 2 ET.

Pour garantir l'exactitude et la précision des mesures, l'erreur totale du test Aptima HBV Quant Assay a été définie à $1 \log_{10}$ UI/mL (c.-à-d. qu'à la LLoQ, une différence de plus de $1 \log_{10}$ UI/mL entre deux mesures est statistiquement significative).

La LLoQ a été déterminée par le test de panels du 3e étalon de référence international de l'OMS pour l'ADN du virus de l'hépatite B (NIBSC 10/264, génotype A) dilués dans du plasma et du sérum humain négatifs pour le HBV. 45 réplicats de chaque dilution ont été analysés avec chacun des trois lots de réactifs pour un minimum de 135 réplicats par dilution.

Les résultats obtenus pour les trois lots de réactifs sont indiqués dans le Tableau 4 pour le plasma et dans le Tableau 5 pour le sérum. Les résultats pour la concentration observée la plus faible ayant atteint l'objectif de précision (TAE $\leq 1 \log_{10}$ UI/ml et TE $\leq 1 \log_{10}$ UI/ml), avec une détection > 95 % et supérieure ou égale à la LoD, sont ombrés dans les deux tableaux et résumés dans le Tableau 6.

La LLoQ calculée pour la 3e norme internationale de l'OMS pour le virus de l'hépatite B est de 6 UI/ml (0,79 log₁₀ UI/ml) pour le plasma et de 8 UI/ml (0,88 log₁₀ UI/ml) pour le sérum, en se basant sur la concentration calculée la plus élevée parmi les trois lots de réactifs conformément à la directive EP17-A2 du CLSI. La LIDQ a été établie pour tous les génotypes (voir *Limite inférieure de quantification pour l'ensemble des génotypes du HBV*). Ces données par génotype ont permis d'établir la LLoQ globale pour le test à 10 UI/ml.

Tableau 4 : Détermination de la LLoQ avec le 3e étalon de référence international de l'OMS pour le virus HBV dilué dans du plasma

Lot de réactifs	Aptima HBV Quant (UI/ml)	Aptima HBV Quant (Log ₁₀ IU/ml)	ET (Log ₁₀ IU/ml)	Biais (Log ₁₀ IU/ml)	TE calculée (Log ₁₀ IU/ml)	TAE calculée (Log ₁₀ IU/ml)
1	3	0,53	0,21	0,32	0,59	0,74
	3	0,52	0,21	0,38	0,61	0,81
	5	0,70	0,23	0,25	0,65	0,71
2	6	0,76	0,26	0,09	0,73	0,60
	5	0,69	0,22	0,21	0,63	0,65
	6	0,77	0,25	0,18	0,70	0,68
3	6	0,79	0,31	0,05	0,88	0,68
	8	0,88	0,23	0,02	0,66	0,48
	9	0,96	0,23	0,00	0,66	0,47

ET = écart-type.

Les échantillons du panel ayant atteint l'objectif de précision (TE ≤ 1 et TAE ≤ 1), > LoD et avec une détection > 95 % pour les lots de réactifs 1, 2 et 3, sont ombrés.

Tableau 5 : Détermination de la LLoQ avec le 3e étalon de référence international de l'OMS pour le virus HBV dilué dans du sérum

Lot de réactifs	Aptima HBV Quant (UI/ml)	Aptima HBV Quant (Log ₁₀ IU/ml)	ET (Log ₁₀ IU/ml)	Biais (Log ₁₀ IU/ml)	TE calculée (Log ₁₀ IU/ml)	TAE calculée (Log ₁₀ IU/ml)
1	4	0,65	0,24	0,20	0,67	0,67
	5	0,65	0,24	0,25	0,68	0,73
	5	0,67	0,22	0,28	0,63	0,73
2	5	0,70	0,29	0,14	0,82	0,72
	5	0,72	0,27	0,18	0,77	0,72
	6	0,75	0,24	0,20	0,68	0,68
3	8	0,88	0,29	0,04	0,83	0,63
	10	0,98	0,23	0,08	0,66	0,55
	11	1,02	0,28	0,07	0,78	0,62

ET = écart-type.

Les échantillons du panel qui ont atteint l'objectif de précision (TE ≤ 1 et TEA ≤ 1), > LoD et une détection > 95 % pour les lots de réactifs 1, 2 et 3 sont grisés.

Tableau 6 : Résumé de la LLoQ calculée avec le 3e étalon de référence international de l'OMS pour le HBV

Lot de réactifs	LLoQ plasma		LLoQ sérum	
	UI/ml	Log ₁₀ UI/ml	UI/ml	Log ₁₀ UI/ml
1	5	0,70	4	0,65
2	5	0,69	5	0,72
3	6	0,79	8	0,88

Limite inférieure de quantification pour l'ensemble des génotypes du HBV

La LLoQ a été déterminée en analysant des dilutions d'échantillons cliniques positifs au HBV pour les génotypes A, B, C, D, E, F, G et H dans le sérum et le plasma humain négatif au HBV. L'attribution de la concentration des échantillons cliniques a été déterminée avec un test comparatif. Au total, 36 réplicats de chaque échantillon du panel ont été analysés avec chacun des deux lots de réactifs pour au moins 72 réplicats par échantillon du panel.

Les résultats pour la concentration la plus faible observée répondant à l'objectif de précision ($TE \leq 1 \log_{10}$ UI/mL et $TAE \leq 1 \log_{10}$ UI/mL) avec une détection $> 95 \%$ pour chaque lot de réactifs sont présentés dans Tableau 7 pour le plasma et Tableau 8 pour le sérum.

La concentration la plus élevée observée parmi les lots de réactifs pour chaque génotype est résumée dans le Tableau 9. Le génotype D dans le sérum avait la LLoQ la plus élevée à 9 UI/mL ($0,96 \log_{10}$ UI/mL). Ceci confirme une LLoQ globale pour le test à 10 UI/mL.

Tableau 7 : Détermination de la LLoQ pour les différents génotypes du HBV dans le plasma

Génotype du HBV	Lot de réactifs	Aptima HBV Quant ^a (UI/ml)	Aptima HBV Quant ^a (Log ₁₀ IU/ml)	ET (Log ₁₀ IU/ml)	Biais (Log ₁₀ IU/ml)	TE calculée (Log ₁₀ IU/ml)	TAE calculée (Log ₁₀ IU/ml)
A	1	6	0,74	0,24	0,10	0,67	0,58
	2	7	0,85	0,20	0,00	0,57	0,40
B	1	4	0,65	0,24	0,20	0,67	0,67
	2	6	0,75	0,25	0,10	0,70	0,59
C	1	4	0,61	0,21	0,35	0,60	0,77
	2	6	0,75	0,30	0,20	0,84	0,80
D	1	7	0,87	0,28	0,31	0,81	0,88
	2	8	0,91	0,30	0,26	0,86	0,87
E	1	8	0,88	0,32	0,29	0,89	0,92
	2	7	0,82	0,21	0,36	0,60	0,78
F	1	6	0,76	0,27	0,08	0,76	0,62
	2	7	0,86	0,30	0,01	0,84	0,60
G	1	4	0,59	0,21	0,25	0,60	0,68
	2	4	0,65	0,23	0,19	0,64	0,64
H	1	6	0,78	0,28	0,39	0,80	0,96
	2	7	0,83	0,27	0,34	0,78	0,89

ET = écart-type.

^a Des niveaux infectieux supplémentaires ont été analysés, mais ces données ne sont pas indiquées dans le tableau.

Tableau 8 : Détermination de la LLoQ pour les différents génotypes du HBV dans le sérum

Génotype du HBV	Lot de réactifs	Aptima HBV Quant ^a (UI/ml)	Aptima HBV Quant ^a (Log ₁₀ IU/ml)	ET (Log ₁₀ IU/ml)	Biais (Log ₁₀ IU/ml)	TE calculée (Log ₁₀ IU/ml)	TAE calculée (Log ₁₀ IU/ml)
A	1	4	0,65	0,26	0,25	0,73	0,77
	2	6	0,81	0,26	0,04	0,74	0,56
B	1	5	0,70	0,19	0,26	0,54	0,64
	2	5	0,72	0,25	0,18	0,72	0,69
C	1	5	0,66	0,26	0,30	0,74	0,82
	2	6	0,81	0,26	0,10	0,74	0,62
D	1	7	0,84	0,27	0,42	0,75	0,95
	2	9	0,96	0,27	0,29	0,76	0,83
E	1	6	0,79	0,26	0,38	0,75	0,91
	2	8	0,89	0,28	0,29	0,79	0,84
F	1	6	0,76	0,23	0,08	0,66	0,55
	2	5	0,71	0,26	0,14	0,72	0,65
G	1	8	0,89	0,28	0,29	0,80	0,85
	2	5	0,66	0,24	0,29	0,67	0,77
H	1	6	0,74	0,24	0,43	0,67	0,90
	2	6	0,81	0,29	0,37	0,82	0,95

ET = écart-type.

^a Des niveaux infectieux supplémentaires ont été analysés, mais ces données ne sont pas indiquées dans le tableau.

Tableau 9 : Résumé de la LLoQ obtenue pour les différents génotypes dans le plasma et le sérum

Génotype	LLoQ plasma		LLoQ sérum	
	UI/ml	Log ₁₀ UI/ml	UI/ml	Log ₁₀ UI/ml
A	7	0,85	6	0,81
B	6	0,75	5	0,72
C	6	0,75	6	0,81
D	8	0,91	9	0,96
E	8	0,88	8	0,89
F	7	0,86	6	0,76
G	4	0,65	8	0,89
H	7	0,83	6	0,81

Traçabilité par rapport au 3e étalon de référence international de l'OMS

Une série d'étalons secondaires avec des concentrations connues a été utilisée tout au long de l'élaboration et de la fabrication du produit pour établir la traçabilité par rapport à l'étalon de l'OMS. Les concentrations testées pour la norme HBV de l'OMS étaient comprises entre 2,0 et 4,0 log₁₀ UI/mL, les normes secondaires avaient une concentration comprise entre 2,4 et 8,4 log₁₀ UI/mL. Les contrôles et calibrateurs du test Aptima HBV Quant Assay ont également été testés avec les étalons secondaires et l'étalon OMS. Les résultats étaient similaires pour tous les panels. Les panels ont été distribués linéairement dans la plage linéaire du test, comme présenté dans la Figure 8.

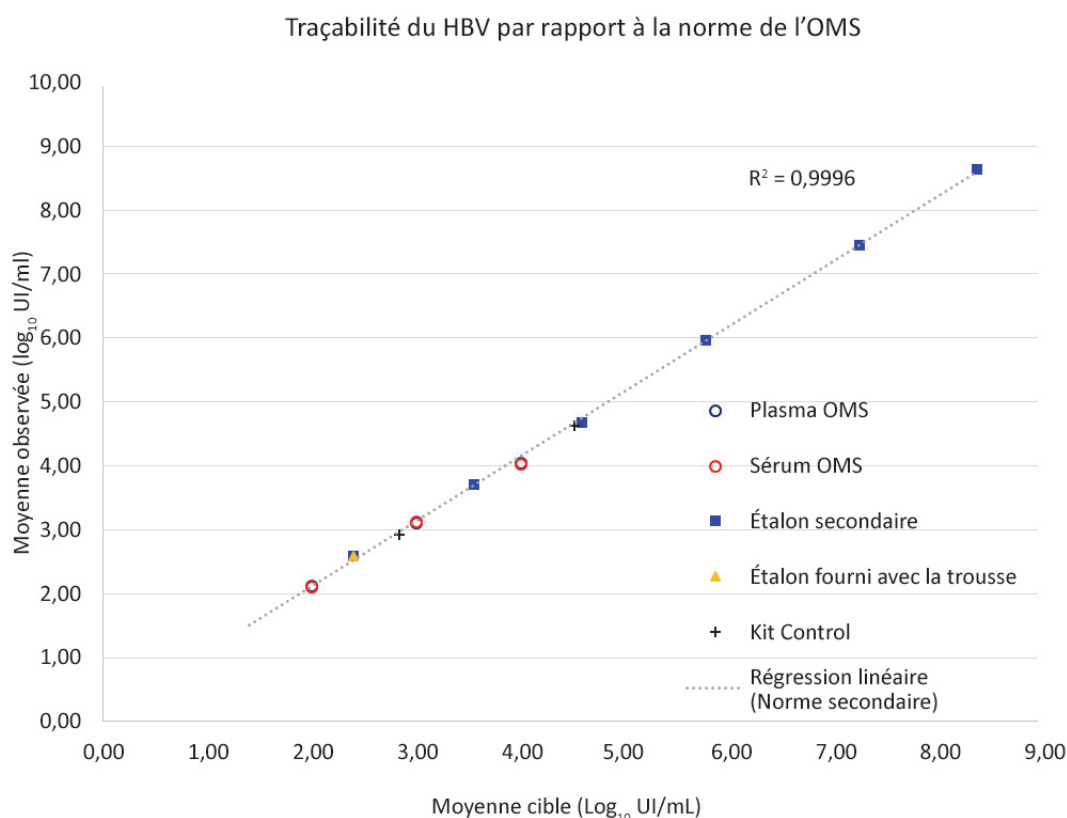


Figure 8. Traçabilité entre les concentrations cibles du 3e étalon de l'OMS du HBV et les concentrations observées avec le test Aptima HBV Quant Assay

Précision

Le panel de précision Aptima HBV Quant a été constitué en diluant le virus HBV de génotype A et l'ADN plasmidique du HBV dans du plasma et du sérum cliniques négatifs pour le HBV (les quatre échantillons du panel les plus élevés de chaque matrice étaient l'ADN plasmidique). Onze échantillons du panel dans chaque matrice couvraient la plage du test (concentrations cibles de 1,30 log₁₀ UI/mL à 8,90 log₁₀ UI/mL). Ils ont été analysés en trois répliquats par série, par un opérateur, avec trois lots de réactifs sur un Panther System, pendant trois jours, avec deux analyses par jour.

Tableau 10 montre la précision des résultats d'analyse (en log₁₀ UI/mL) entre les jours, entre les lots, entre les séries, au sein des séries et globalement. La variabilité totale était principalement due aux mesures intra-série (p. ex., erreur aléatoire).

Tableau 10 : Précision du test Aptima HBV Quant Assay pour le dosage quantitatif du HBV

Matrice	Échantillon	N	Concentration moyenne	Concentration moyenne	D'un lot à l'autre	D'un lot à l'autre	D'un jour à l'autre	D'un jour à l'autre	D'une série à l'autre	D'une série à l'autre	Intra-série	Intra-série	Total	Total
			(UI/ml)	(log ₁₀ UI/mL)	ET	log CV normale (%)	ET	log CV normale (%)	ET	log CV normale (%)	ET	log CV normale (%)	ET	log CV normale (%)
Plasma	Virus	34 ^a	32	1,21	0,07	16,2	0,07	16,2	0,05	11,7	0,28	71,8	0,28	78,2
		54	97	1,95	0,05	11,7	0,03	6,8	0,02	5,7	0,15	36,8	0,17	39,9
		54	1.474	3,16	0	1,0	0,02	3,8	0,02	4,8	0,07	15,6	0,07	16,8
		54	10.602	4,02	0,02	4,8	0,02	3,6	0,01	2,4	0,06	14,9	0,07	16,2
		54	429.428	5,63	0,03	6,7	0,01	2,7	0,01	2,4	0,06	14,1	0,07	16,1
	DNA plasmidique	54	652.103	5,8	0,06	14,2	0,01	3,4	0,01	2,0	0,06	13,1	0,09	19,8
	Virus	54	7.617.612	6,88	0,02	5,6	0,00	0,4	0,02	4,2	0,06	13,4	0,07	15,1
	DNA plasmidique	54	10.662.942	7,02	0,02	5,3	0,01	2,3	0,01	2,6	0,06	13,1	0,06	14,5
	Virus	54	89.149.358	7,95	0,01	3,4	0,01	2,7	0,01	1,6	0,04	9,7	0,05	10,8
	DNA plasmidique	54	103.400.000	8,01	0,04	9,4	0,02	3,7	0,01	2,1	0,05	12,0	0,07	15,9
Sérum	Virus	29 ^a	33	1,27	0,13	31,0	0,08	18,6	0,06	13,9	0,29	75,0	0,33	88,4
		54	88	1,92	0,05	11,2	0,02	4,8	0,02	5,5	0,12	29,1	0,14	32,3
		54	1.446	3,15	0,02	3,7	0,01	1,9	0,00	1,1	0,08	17,8	0,08	18,3
		54	7.873	3,89	0,02	4,8	0,01	2,6	0,01	2,1	0,06	13,4	0,06	14,6
		54	313.518	5,49	0,01	3,3	0,01	3,0	0,01	3,2	0,08	17,4	0,08	18,3
	DNA plasmidique	54	599.225	5,77	0,04	8,5	0,01	2,5	0,01	2,5	0,06	14,7	0,08	17,4
	Virus	54	7.011.440	6,84	0,02	3,5	0,01	3,2	0,01	3,3	0,07	16,9	0,08	17,9
	DNA plasmidique	54	8.845.332	6,94	0,05	11,9	0,01	2,2	0,01	2,2	0,05	12,2	0,07	17,4
	Virus	54	70.350.774	7,84	0,03	6,3	0,02	3,5	0,02	4,4	0,06	14,4	0,07	16,7
	DNA plasmidique	53 ^b	122.800.000	8,08	0,04	9,9	0,01	2,2	0,01	1,8	0,04	10,4	0,06	14,6
		54	678.700.000	8,83	0,02	3,6	0,01	2,2	0,01	1,8	0,05	11,7	0,05	12,5

ET = écart-type.

^a Réplicats détectés avec un résultat quantifiable, nombre total de réplicats détectés = 54.^b Un réplicat a obtenu un résultat non valide.CV log-normal (%) = $\sqrt{(10^{(ET^2 \times \ln(10))} - 1) \times 100}$

Substances potentiellement interférentes

La susceptibilité du test Aptima HBV Quant Assay aux interférences générées par des taux élevés de substances endogènes ou de médicaments fréquemment prescrits chez les personnes infectées par le HBV a été évaluée. Des échantillons de plasma négatifs au HBV et des échantillons inoculés avec du HBV à des concentrations d'environ 30 UI/mL ($1,48 \log_{10}$ UI/mL) et 20 000 UI/mL ($4,30 \log_{10}$ UI/mL) ont été analysés.

Aucune altération de performance du test n'a été observée en présence d'albumine (90 mg/ml), d'hémoglobine (5 mg/ml), de triglycérides (30 mg/ml) ou de bilirubine non conjuguée (0,2 mg/ml).

Des échantillons cliniques de plasma prélevés chez des patients présentant des taux élevés de substances définies (dix échantillons pour chaque substance) ou chez des patients atteints d'affections, répertoriées dans le Tableau 11 ont été analysés avec le test Aptima HBV Quant Assay. Aucune interférence avec la performance du test n'a été observée.

Tableau 11 : Types d'échantillons cliniques testés

Types d'échantillons cliniques	
1	Anticorps antinucléaire (ANA)
2	Facteur rhumatoïde (FR)
3	Cirrhose alcoolique (CA)
4	Hépatite alcoolique
5	Hépatite non alcoolique
6	Hépatite auto-immune
7	Taux élevé de glutamate pyruvate transaminase (GPT)
8	Carcinome hépatocellulaire (CHC)
9	Sclérose en plaques (SEP)
10	Lupus érythémateux disséminé (LED)
11	Hyperglobulinémie
12	Polyarthrite rhumatoïde
13	Anticorps anti-Jo-1 (JO-1)
14	Myélome multiple (MM)
15	Échantillon hémolysé (taux élevé d'hémoglobine)
16	Échantillon ictérique (taux élevé de bilirubine)
17	Échantillon lipémique (taux élevé de lipides)
18	Taux élevé de protéines

Aucune altération de performance du test n'a été observée en présence des substances exogènes présentées dans le Tableau 12 à des concentrations d'au moins trois fois la C_{max} (plasma humain).

Tableau 12 : Substances exogènes

Groupe de substances exogènes	Substances exogènes testées
1	Saquinavir, ritonavir, amprénavir, indinavir, lopinavir, mésylate de nelfinavir
2	Clarithromycine, chlorhydrate de valganciclovir, éfavirenz, névirapine
3	Chlorhydrate de paroxétine, enfuvirtide, zidovudine, didanosine, sulfate d'abacavir
4	Ribavirine, entecavir, adéfovir dipivoxil, fumarate de ténofovir disoproxil, lamivudine, ganciclovir, acyclovir
5	Stavudine, ciprofloxacine, fluoxétine, azithromycine, valacyclovir, sertraline, zalcitabine
6	Interféron alpha-2a, interféron alpha-2b, interféron alpha-2b pégylé

Spécificité analytique

La potentielle réactivité croisée avec les agents pathogènes énumérés dans le Tableau 13 a été évaluée dans du plasma humain négatif pour le HBV, en présence ou en l'absence de 30 UI/ml ($1,5 \log_{10}$ UI/ml) et de 20 000 UI/ml ($4,3 \log_{10}$ UI/ml) d'ADN du HBV. Aucune réactivité croisée n'a été observée. Aucune interférence n'a été observée en présence des pathogènes.

Tableau 13 : Agents pathogènes testés pour déterminer la spécificité analytique

Micro-organisme ou pathogène	Concentration		Micro-organisme ou pathogène	Concentration	
Adénovirus 5	100,000	DICT50/ml ^a	<i>Candida albicans</i>	1000000	CFU/ml ^e
BK polyomavirus humains	1,000	DICT50/ml	<i>Chlamydia trachomatis</i>	1000000	UFI/ml ^f
Cytomégalovirus	100,000	DICT50/ml	<i>Corynebacterium diphtheriae</i>	1000000	UFC/ml
Virus de la dengue de type 1	10,000	DICT50/ml	<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	1000000	UFC/ml
Virus de la dengue de type 2	10,000	DICT50/ml	<i>Propionibacterium acnes</i>	1000000	UFC/ml
Virus de la dengue de type 3	10,000	DICT50/ml	<i>Staphylococcus aureus</i>	1000000	UFC/ml
Virus de la dengue de type 4	100,000	DICT50/ml	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	1000000	UFC/ml
Virus Epstein-Barr	100,000	copies/ml	<i>Streptococcus pneumoniae</i>	1000000	UFC/ml
Grippe (H1N1)	100,000	DICT50/ml	<i>Trichomonas vaginalis</i>	1000000	UFC/ml
Virus de l'hépatite A	100,000	DICT50/ml	<div>^a DICT 50/ml = Dose infectieuse pour 50 % de la culture tissulaire exprimée en unités par ml</div> <div>^b UI/ml = Unités internationales par ml</div> <div>^c pv/ml = Particules virales par ml</div> <div>^d LD50/ml = Dose létale 50 % par ml</div> <div>^e UFC/ml = Unités formant colonie par ml</div> <div>^f UFI/ml = Unités formant inclusion par ml</div>		
Virus de l'hépatite C	100,000	IU/mL ^b			
Virus de l'hépatite G	100,000	copies/ml			
Virus de l'herpès humain de type 6B	100,000	copies/ml			
Virus de l'herpès humain de type 8	100,000	copies/ml			
HIV-1	100,000	UI/ml			
VIH-2	10,000	DICT50/ml			
Papillomavirus humain	100,000	copies/ml			
Virus de l'herpès simplex type 1 (VHS-1)	100,000	DICT50/ml			
Virus de l'herpès simplex 2 (HSV-2)	100,000	DICT50/ml			
Virus de la leucémie humaine à lymphocytes T de type 1 (HTLV-1)	100,000	pv/ml ^c			
Virus de la leucémie humaine à lymphocytes T de type 2 (HTLV-2)	100,000	pv/ml			
Virus de l'encéphalite japonaise	S.O.	S.O.			
Virus de l'encéphalite de Murray Valley	2,000	DL50/ml ^d			
Parvovirus B19	100,000	UI/ml			
Virus de la rubéole	10,000	DICT50/ml			
Virus de l'encéphalite de Saint-Louis	100,000	DICT50/ml			
Virus vaccinal	1,000	DICT50/ml			
Virus du Nil occidental	100,000	DICT50/ml			
Virus de la fièvre jaune	100,000	DICT50/ml			

Équivalence des matrices

Cent dix-huit jeux d'échantillons de tubes de prélèvement sanguin assortis (tube de sérum, ACD, K2 EDTA, K3 EDTA, PPT, SST) ont été évalués pour l'équivalence matricielle. Parmi ceux-ci, 44 ensembles étaient naturellement infectés HBV-positifs et 74 ensembles étaient HBV-négatifs, et inoculés avec le virus HBV. La corrélation pour chaque type de tube de prélèvement sanguin, mesurée avec le tube de prélèvement de sérum comme comparateur, est présentée dans le Tableau 14.

Tableau 14 : Étude d'équivalence matricielle

Tube de prélèvement Sanguin	Régression de Deming	IC à 95 % de la pente		IC à 95 % du point d'intersection		R ²	Différence moyenne (Journal ₁₀)
		Limite Supérieure	Limite Supérieure	Limite Supérieure	Limite Supérieure		
ACD	$y = 1,01x - 0,04$	1,00	1,02	-0,10	0,01	0,998	-0,01
K2 EDTA	$y = 1,02x - 0,14$	1,00	1,03	-0,20	-0,07	0,997	-0,07
K3 EDTA	$y = 1,01x - 0,12$	1,00	1,03	-0,18	-0,06	0,997	-0,06
PPT	$y = 1,02x - 0,14$	1,00	1,03	-0,21	-0,07	0,996	-0,06
SST	$y = 1,00x - 0,03$	0,99	1,01	-0,07	0,03	0,999	-0,01

IC = intervalle de confiance.

Dilution d'échantillons à l'aide du diluant d'échantillon Aptima (1:3)

Pour évaluer la précision de la détection de l'ADN du HBV dans les échantillons dilués, les échantillons qui couvraient la plage linéaire ont été dilués à 1:3 avec le diluant d'échantillon Aptima (p. ex., 240 µL d'échantillon associés à 480 µL de diluant d'échantillon Aptima). Chaque échantillon a été testé non dilué et dilué (1:3) en trois exemplaires. Les analyses ont été effectuées avec un lot de réactif de test, sur deux Panther Systems, avec deux lots de diluant d'échantillon Aptima. Les différences entre la concentration moyenne indiquée dans la matrice native (facteur de dilution appliqué au résultat de l'échantillon dilué) et la concentration moyenne obtenue dans le diluant pour échantillons Aptima, sont présentées dans le Tableau 15 pour le plasma et dans le Tableau 16 pour le sérum. Les concentrations des échantillons ont été retrouvées avec précision dans les échantillons dilués.

Tableau 15 : Résumé des comparaisons matricielles pour les dilutions 1:3 des échantillons dans du plasma

Matrice de plasma	Diluant	Différence
Concentration moyenne rapportée (Log ₁₀ IU/mL) n = 9	Concentration moyenne rapportée (Log ₁₀ IU/mL) n = 18	Diluant à partir de la matrice de plasma (Log ₁₀ IU/mL)
1,20 ^a	1,11 ^b	-0,09
1,56 ^a	1,36 ^b	-0,20
2,15	2,04	-0,11
3,10	2,97	-0,13
3,92	3,89	-0,03
4,82	4,79	-0,03
5,70	5,70	0,00
7,07	6,98	-0,09
7,74	7,60	-0,14
8,74	8,62	-0,12
9,29	9,19	-0,10
9,39	9,29	-0,10

^a n = 21.^b n = 42.

Tableau 16 : Résumé des comparaisons matricielles pour les dilutions 1:3 des échantillons dans du sérum

Matrice de sérum	Diluant	Différence
Concentration moyenne rapportée (Log ₁₀ IU/mL) n = 9	Concentration moyenne rapportée (Log ₁₀ IU/mL) n = 18	Diluant à partir de la matrice de sérum (Log ₁₀ IU/mL)
1,21 ^a	1,11 ^b	-0,10
1,54 ^a	1,36 ^b	-0,18
2,21	2,03	-0,18
3,06	2,98	-0,08
3,90	3,83	-0,07
4,77	4,76	-0,01
5,77	5,74	-0,03
7,03	7,00	-0,03
7,85	7,71	-0,14
8,87	8,76	-0,11
9,37	9,30	-0,07
9,46	9,36	-0,10

^a n = 21.^b n = 42.

Dilution d'échantillons à l'aide du diluant d'échantillon Aptima (1:100)

La précision de la détection de l'ADN du HBV dans des échantillons de plasma ou de sérum dilués dans du diluant d'échantillon Aptima a été évaluée par l'analyse de 5 réplicats de huit échantillons de plasma et huit échantillons de sérum inoculés avec le virus HBV à une concentration cible entre 6 et 8 log₁₀ UI/mL, ainsi que de huit échantillons de plasma et huit échantillons de sérum inoculés avec de l'ADN plasmidique du HBV à une concentration cible de 9,16 log₁₀ UI/mL. Une dilution à 1:100 a été effectuée juste avant le test, avec une dose d'échantillon pour 99 doses de diluant d'échantillon Aptima. Les analyses ont été effectuées avec un lot de réactif de test, sur deux Panther Systems, avec deux lots de diluant d'échantillon Aptima. La différence entre la concentration moyenne indiquée dans la matrice native (facteur de dilution appliqué au résultat de l'échantillon dilué) et la concentration moyenne obtenue dans le diluant pour échantillons Aptima, a été calculée pour chaque

groupe d'échantillons et les résultats sont présentés dans le Tableau 17 pour le plasma et dans le Tableau 18 pour le sérum.

Tableau 17 : Résumé des comparaisons matricielles pour les dilutions 1:100 des échantillons dans du plasma

Matrice de plasma Concentration moyenne rapportée (Log ₁₀ IU/mL) n = 5	Diluant Concentration moyenne rapportée (Log ₁₀ IU/mL) n = 10	Différence Diluant à partir de la matrice de plasma (Log ₁₀ IU/mL)
7,86	7,85	-0,01
7,84	7,83	-0,01
7,78	7,75	-0,03
7,80	7,80	0,00
6,58	6,53	-0,05
6,58	6,52	-0,06
6,58	6,53	-0,05
6,58	6,53	-0,05
9,24 ^a	9,05 ^a	-0,19
9,21 ^a	9,05 ^a	-0,16
9,25 ^a	9,03 ^a	-0,22
9,27 ^a	9,04 ^a	-0,23
9,13 ^a	8,82 ^a	-0,31
9,12 ^a	8,81 ^a	-0,31
9,09 ^a	8,84 ^a	-0,25
9,05 ^a	8,84 ^a	-0,21

^a inoculé avec de l'ADN plasmidique

Tableau 18 : Résumé des comparaisons matricielles pour les dilutions 1:100 des échantillons dans du sérum

Matrice de sérum Concentration moyenne rapportée (Log ₁₀ IU/mL) n = 5	Diluant Concentration moyenne rapportée (Log ₁₀ IU/mL) n = 10	Différence Diluant à partir de la matrice de sérum (Log ₁₀ IU/mL)
7,70	7,85	0,15
7,84	7,85	0,01
7,79	7,82	0,03
7,75	7,79	0,04
6,77	6,77	0,00
6,75	6,80	0,05
6,75	6,71	-0,04
6,70	6,73	0,03
9,27 ^a	9,08 ^a	-0,19
9,24 ^a	9,06 ^a	-0,18
9,29 ^a	9,08 ^a	-0,21
9,31 ^a	9,11 ^a	-0,20
9,14 ^a	8,91 ^a	-0,23
9,18 ^a	8,92 ^a	-0,26
9,19 ^a	8,90 ^a	-0,29
9,08 ^a	8,84 ^a	-0,24

^a inoculé avec de l'ADN plasmidique

Confirmation de la LLoQ pour les échantillons dilués dans le diluant pour échantillons Aptima

La LLoQ du test Aptima HBV Quant Assay pour le dosage quantitatif du HBV a été confirmée avec des échantillons cliniques du génotype A du HBV dilués dans le diluant pour échantillons Aptima. Les échantillons ont été préparés dans du plasma et du sérum humains négatifs pour le HBV à 21, 30 et 45 UI/mL. Chaque panel a été dilué à 1:3 dans le diluant d'échantillon Aptima juste avant le test pour obtenir des concentrations finales d'environ 7, 10 et 15 UI/mL. Un total de 36 réplicats de chaque échantillon du panel ont été testés avec un lot de réactifs, sur trois jours. Une LLoQ ≤ 10 UI/mL a été confirmée pour le plasma et le sérum du HBV dilués dans le diluant d'échantillon Aptima, comme indiqué dans le Tableau 19.

Tableau 19 : Confirmation de la LLoQ pour les échantillons dans le diluant pour échantillons Aptima

Matrice	% détecté	Aptima HBV Quant (UI/ml)	Aptima HBV Quant (Log ₁₀ IU/ml)	ET (Log ₁₀ IU/ml)	Biais (Log ₁₀ IU/ml)	TE calculée (Log ₁₀ IU/ml)	TAE calculée (Log ₁₀ IU/ml)
Plasma	100 %	3	0,50	0,19	0,10	0,54	0,48
Sérum	100 %	2	0,38	0,12	0,46	0,33	0,70

Précision des échantillons dilués

Le panel de précision Aptima HBV Quant a été constitué en diluant du plasma positif pour l'HBV et de l'ADN plasmidique d'HBV dans du plasma et du sérum cliniques négatifs pour le HBV. Les panels positifs ont été dilués dans le diluant d'échantillon Aptima. Ils ont été testés en cinq réplicats par série, par un opérateur, avec trois lots de diluant d'échantillon Aptima, sur un Panther System, sur trois jours de test, avec deux analyses par jour.

Tableau 20 présente la précision des résultats du test (en ET log₁₀ UI/mL) pour trois lots de diluant d'échantillon Aptima. La variabilité totale était de $\leq 0,15$ ET pour tous les échantillons du panel et les lots de diluants.

Tableau 20 : Précision des échantillons dilués dans le diluant d'échantillon Aptima

Matrice	Concentration cible (Log ₁₀ UI/mL)	Dilution	Lot 1 de diluant pour échantillons (n = 10)		Lot 2 de diluant pour échantillons (n = 10)		Lot 3 de diluant pour échantillons (n = 10)		Lots combinés (n = 30)	
			moyenne Log ₁₀ UI/mL	ET	Moyenne Log ₁₀ UI/mL	ET	moyenne Log ₁₀ UI/mL	ET	moyenne Log ₁₀ UI/mL	ET
Plasma	3,30	Non dilué	3,46	0,07	3,43	0,08	3,46	0,06	3,45	0,07
		1:3	3,36	0,09	3,35	0,07	3,39	0,09	3,37	0,08
	4,30	Non dilué	4,33	0,06	4,27	0,03	4,41	0,05	4,34	0,08
		1:3	4,34	0,05	4,35	0,05	4,38	0,10	4,35	0,07
	9,18	Non dilué	9,13	0,05	9,10	0,03	9,25 ^a	0,15	9,16 ^a	0,11
		1:100	9,18	0,03	9,14	0,04	9,33	0,10	9,21	0,10
Sérum	3,30	Non dilué	3,52	0,05	3,48	0,06	3,50	0,07	3,50	0,06
		1:3	3,45	0,08	3,40	0,06	3,39	0,08	3,41	0,07
	4,30	Non dilué	4,35	0,05	4,37	0,06	4,43	0,06	4,38	0,06
		1:3	4,35	0,05	4,37	0,05	4,41	0,04	4,37	0,05
	9,18	Non dilué	9,08	0,03	9,14	0,05	9,31 ^b	0,12	9,17 ^b	0,12
		1:100	9,18	0,02	9,14	0,03	9,33	0,09	9,22	0,10

ET = écart-type.

^a 1 réplicat exclu (au-dessus de la plage de calcul).

^b 2 réplicats exclus (au-dessus de la plage de calcul).

Contamination de transfert

Une étude a été réalisée avec des panels inoculés sur trois Panther System pour établir que le Panther System minimise les risques de résultats faussement positifs liés à une contamination de transfert. La contamination de transfert a été évaluée avec des échantillons de plasma inoculés avec un titre élevé d'ADN d'HBV ($8 \log_{10}$ UI/mL) répartis entre des échantillons négatifs pour le HBV selon une configuration en damier. Les tests ont comporté un ensemble de quinze séries d'analyses. Le taux de contamination de transfert global était de 0,14 % (1/705).

Reproductibilité

La reproductibilité a été évaluée sur le Panther System dans trois sites américains externes. Deux opérateurs ont réalisé les tests sur chaque site. Chaque opérateur a effectué deux analyses par jour sur une période de trois jours, avec trois lots de réactifs pendant la durée des tests. Chaque série comprenait trois réplicats de chaque échantillon du panel. Au total, 108 réplicats de chaque échantillon du panel ont été analysés.

La reproductibilité a été évaluée avec des échantillons du panel préparés avec du plasma négatif pour le HBV. Les échantillons positifs du panel étaient positifs pour les génotypes A ou C du HBV. Les concentrations d'ADN du HBV couvraient la plage linéaire du test.

Tableau 21 présente la reproductibilité et la précision des résultats du test pour chaque échantillon positif du panel entre les sites, entre les opérateurs, entre les jours, entre les lots, entre les séries, intra-séries et globalement.

Le coefficient de variation a été calculé avec l'équation suivante, où σ^2 est la variance de l'échantillon des données après la transformation du \log_{10} .

$$\%CV = 100 \times \sqrt{(10^{\sigma^2 \ln(10)} - 1)}$$

Pour tous les échantillons du panel positifs pour le HBV, les valeurs de concordance étaient de 100 %.

Tableau 21 : Reproductibilité des niveaux d'ADN du HBV dans le test Aptima HBV Quant Assay pour le dosage quantitatif du HBV sur le système Panther pour les échantillons positifs du panel

GT	N	Moyenne observée		Pourcentage de contribution à la variance totale ET (%CV)					Écart-type de la variance totale (% CV)
		UI/ml	Log ₁₀ UI/mL	Entre les sites	Entre les opérateurs/jours ^a	Entre les lots	Entre les séries d'analyses	Dans les séries	
A	108	17,6	1,2	0,059 (13,578)	< 0,001 (< 0,001)	0,138 (32,693)	0,090 (20,869)	0,178 (42,883)	0,250 (62,666)
	108	129,4	2,1	0,009 (2,162)	0 (0)	0,074 (17,109)	0,051 (11,869)	0,106 (24,736)	0,139 (32,886)
	107	1056,0	3,0	0,035 (7,994)	0,032 (7,432)	0,014 (3,246)	0,032 (7,356)	0,085 (19,666)	0,103 (24,060)
	108	7663,0	3,9	0 (0)	0,027 (6,262)	0,040 (9,235)	0,044 (10,088)	0,066 (15,194)	0,092 (21,540)
	108	188172,1	5,3	0,027 (6,281)	0,042 (9,707)	0,042 (9,787)	0,030 (6,829)	0,072 (16,689)	0,102 (23,772)
	108	9389094,1	7,0	0,038 (8,846)	0 (0)	0,031 (7,237)	0,064 (14,791)	0,068 (15,756)	0,106 (24,692)
	107	86664677,2	7,9	0,038 (8,692)	0,029 (6,753)	0,020 (4,584)	0,037 (8,635)	0,049 (11,375)	0,081 (18,725)
	107	753726183,2	8,9	0,024 (5,476)	0,052 (11,997)	0,015 (3,499)	0,045 (10,304)	0,053 (12,187)	0,091 (21,163)
C	107	17,0	1,2	0,041 (9,521)	0,041 (9,392)	0,074 (17,147)	0,092 (21,438)	0,189 (45,704)	0,230 (57,010)
	108	152,9	2,2	0,035 (8,127)	0 (0)	0,055 (12,706)	0,064 (14,925)	0,131 (30,748)	0,160 (38,013)
	108	1363,8	3,1	0,042 (9,583)	0,023 (5,316)	0 (0)	0,061 (14,033)	0,055 (12,623)	0,094 (22,002)
	108	9871,9	4,0	0,011 (2,472)	0,014 (3,270)	0,040 (9,337)	0,038 (8,801)	0,059 (13,651)	0,083 (19,291)
	108	217400,5	5,3	0,031 (7,255)	0,047 (10,843)	0,016 (3,791)	0,026 (6,023)	0,063 (14,685)	0,090 (21,044)
	108	12087179,5	7,1	0,046 (10,543)	0 (0)	0,020 (4,652)	0,064 (14,762)	0,073 (16,922)	0,109 (25,501)
	108	57743712,8	7,8	0,044 (10,232)	0,028 (6,472)	0,013 (2,944)	0,043 (10,026)	0,052 (12,010)	0,087 (20,146)
	108	572184754,9	8,7	0,042 (9,711)	0,048 (11,160)	0,028 (6,374)	0,034 (7,740)	0,048 (11,081)	0,091 (21,208)

% CV = coefficient de variation log-normal; GT = Génotype; ET = écart-type

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

^a Les estimations entre opérateurs peuvent être confondues avec les estimations entre jours ; par conséquent, les estimations entre opérateurs et entre jours sont combinées dans les estimations entre opérateurs/jours.

Performances cliniques

Corrélation de la méthode

La performance du test Aptima HBV Quant Assay a été évaluée par rapport à un test comparatif portant le marquage CE et homologué par Santé Canada en testant des échantillons cliniques non dilués issus de patients infectés par le HBV. Un total de 614 échantillons dans la plage linéaire commune aux deux tests a été utilisé pour la régression linéaire, comme indiqué dans la Figure 9.

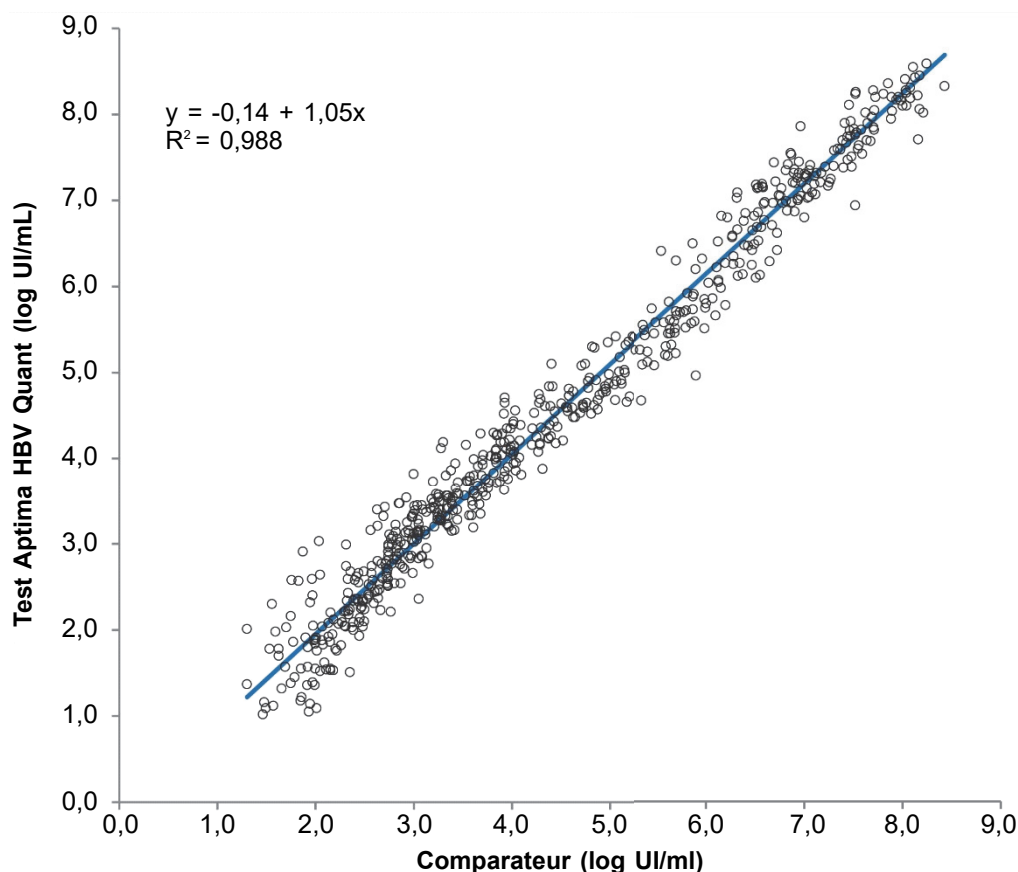


Figure 9. Corrélation entre le test Aptima HBV Quant Assay pour le dosage quantitatif du HBV et le test comparatif

Utilité clinique

L'étude a été conçue pour évaluer la capacité du test Aptima HBV Quant Assay à prédire les critères d'utilité clinique virologique, biochimique et sérologique 48 semaines après le début du traitement. Des échantillons ont été prélevés prospectivement chez des sujets atteints d'une infection chronique par le HBV et qui débutaient une monothérapie avec de l'Entecavir ou du Ténofovir, dans le cadre de leur prise en charge thérapeutique classique.

Sur les 331 sujets inclus, 86 sujets étaient non évaluables en raison de leur retrait, de l'interruption ou de l'arrêt précoce du traitement, de l'absence de résultats à la semaine 48, de l'absence ou d'une faible charge virale en ADN du HBV à l'inclusion. Les 245 sujets restants étaient évaluables pour au moins un des critères d'utilité clinique et comprenaient 126 sujets HBeAg(+) et 119 sujets HBeAg(-). Tableau 22 montre les caractéristiques démographiques et cliniques de base des sujets évaluables. La distribution démographique des sujets de cette étude était cohérente avec celle des patients atteints d'une infection chronique à HBV aux États-Unis.¹³ Les données des sujets HBeAg(+) et HBeAg(-) ont été analysées séparément.

Tableau 22 : Données démographiques et caractéristiques cliniques de référence des sujets évaluables

Caractéristiques	Total	
Total, N	N	245
Entecavir	n (%)	94 (38,4)
Ténofovir	n (%)	151 (61,6)
Sexe, n (%)	Sujet de sexe masculin	154 (62,9)
	Sujet de sexe féminin	91 (37,1)
Âge (ans)	Moyenne \pm ET	43,5 \pm 13,63
	Médiane	44,0
	Plage	18 – 83
Catégorie d'âge (années), n (%)	18 à 29	40 (16,3)
	30 – 49, n (%)	120 (49,0)
	50 – 70, n (%)	80 (32,7)
	> 70, n (%)	5 (2,0)
Origine ethnique, n (%)	Hispanique ou latino-américain	7 (2,9)
	Non hispanique ou non latino-américain	236 (96,3)
	Inconnu/refusé	2 (0,8)
Ethnicité ^a , n (%)	Blanc	89 (36,3)
	Noir ou afro-américain	16 (6,5)
	Asiatique	132 (53,9)
	Indien d'Amérique/autochtone d'Alaska	0 (0,0)
	Natif d'Hawaï ou des îles du Pacifique	6 (2,4)
	Autre	1 (0,4)
	Inconnu/refusé	1 (0,4)
Génotype, n (%)	A	28 (11,4)
	B	64 (26,1)
	C	36 (14,7)
	D	47 (19,2)
	E	2 (0,8)
	F	0 (0,0)
	G	0 (0,0)
	H	3 (1,2)
	Inconnu	65 (26,5)
État du traitement HBV, n (%)	Expérimenté	27 (11,0)
	Novice	218 (89,0)
Traitement médicamenteux antérieur, n (%)	Ténofovir	5 (18,5)
	Entecavir	4 (14,8)
	Adéfovir	2 (7,4)
	Lamivudine	1 (3,7)
	Telbivudine	0 (0,0)
	Interféron	10 (37,0)
	Autre ^b	5 (18,5)
	Échec	1 (3,7)
Résultat du traitement antérieur, n (%)	Réussite	0 (0,0)
	Interrompu pour d'autres raisons	26 (96,3)
État sérologique HBsAg, n (%)	Positif/réactif	210 (85,7)
	Non réalisé	35 (14,3)

Tableau 22 : Données démographiques et caractéristiques cliniques de référence des sujets évaluable (suite)

Caractéristiques	Total
État cirrhotique, n (%)	Cirrhotique
	26 (10,6)
	Non cirrhotique
Charge virale du HBV (log ₁₀ UI/mL)	201 (82,0)
	Non réalisé
	18 (7,3)
Charge virale du HBV (log ₁₀ UI/mL)	Moyenne ± ET
	6,3 ± 1,93
	Médiane
ALT (U/L)	6,4
	Plage
	3 - 9
ALT (U/L)	Moyenne ± ET
	102,4 ± 175,97
	Nombre au-dessus de l'ULN ^c
	177 (85,9)

^a Les sujets peuvent indiquer plusieurs origines ethniques.

^b Diverses combinaisons des médicaments particuliers énumérés.

^c La limite supérieure de la plage normale (ULN) pour la glutamate pyruvate transaminase (GPT) était de 30 U/L pour les hommes et de 19 U/L pour les femmes.

Prédiction de la réponse à un traitement antiviral

L'utilité clinique du test Aptima HBV Quant Assay a été évaluée chez les personnes traitées par Ténofovir et Entecavir. Aucune information n'est disponible sur l'utilité clinique du test avec d'autres traitements antiviraux contre le HBV.

Définitions :

Résultats de réponse virologique précoce

Réponse virologique aux semaines 12 et 24 = ADN du HBV < 10 UI/mL (< LLoQ) comme évaluée par le test Aptima HBV Quant Assay sur le Panther System

Réponse virologique alternative à la semaine 12 = diminution de l'ADN du HBV par rapport au niveau de référence ≥ 2 log₁₀

Réponse virologique alternative à la semaine 24 = ADN du HBV < 2 000 UI/ml (pour HBeAg+) ou < 50 UI/ml (pour HBeAg-)

Paramètres d'utilité clinique

Réponse virologique à la semaine 48 = ADN du HBV < 10 UI/ml (< LLoQ) comme évalué par un dosage quantitatif approuvé pour le VHB

Réponse virologique alternative à la semaine 48 = ADN du HBV < 50 UI/ml comme évalué par un dosage quantitatif approuvé pour le HBV

Réponse biochimique = normalisation des résultats du test ALT à la semaine 48 (ALT < 30 U/L pour les hommes et < 19 U/L pour les femmes)

Réponse sérologique = disparition des HBeAg (résultats HBeAg négatifs) à la semaine 48

Mesures d'association et valeur prédictive

Valeur Prédictive Positive (VPP) = vrai positif/(vrai positif + faux positif) ou probabilité de réponse à la semaine 48 (pour le critère d'utilité clinique évalué) chez les sujets présentant une réponse virologique précoce

Valeur Prédictive Négative (VPN) = vrai négatif/(faux négatif + vrai négatif) ou probabilité de non-réponse à la semaine 48 (pour le critère d'utilité clinique évalué) chez les sujets présentant une non-réponse virologique précoce

Rapport des cotes (OR pour Odds Ratio) = (vrai positif × vrai négatif)/(faux positif × faux négatif)

Prédiction de la réponse virologique à la semaine 48, définie comme ADN du HBV < 10 UI/mL

Dans cette étude, la définition principale de la réponse virologique était ADN du HBV < 10 UI/mL. Cette définition a été utilisée pour la réponse virologique précoce aux semaines 12 et 24, ainsi que pour la réponse virologique à la semaine 48. L'association entre les réponses virologiques précoces aux semaines 12 et 24, et les critères d'utilité clinique à la semaine 48 (réponse virologique, biochimique, sérologique) a été évaluée.

Prédiction de la réponse virologique à la semaine 48

Les associations entre la réponse virologique à la semaine 48 et la réponse virologique aux semaines 12 et 24 sont résumées dans le Tableau 23.

Les réponses virologiques précoces aux semaines 12 et 24, en tant qu'éléments de prédiction de la réponse virologique à la semaine 48, varient selon la semaine et le traitement.

Tableau 23 : VPP, VPN et rapport des cotes pour la réponse virologique prédite par la réponse virologique précoce pendant le traitement : Réponse virologique à la semaine 48 définie comme < 10 UI/mL

État HBeAg	Semaine de réponse virologique précoce	Traitement	VPP (%)		VPN (%)		OR
			Valeur estimée (IC à 95 %)	n/N	Valeur estimée (IC à 95 %)	n/N	Valeur estimée (IC à 95 %) ^{a,b}
HBeAg(+)	12	Entecavir	0,0 (0,0; 93,2)	0/1	82,5 (80,0; 88,4)	33/40	1,49 (< 0,01 ; 30,95)
		Ténofovir	100 (27,3; 100)	2/2	74,4 (72,6; 78,7)	61/82	14,30 (1,11, > 999,99)
		Tous	66,7 (15,4; 98,2)	2/3	77,0 (75,7; 79,9)	94/122	6,71 (0,62; 147,55)
	24	Entecavir	50,0 (6,4; 93,2)	2/4	88,2 (83,5; 95,4)	30/34	7,50 (0,74; 79,76)
		Ténofovir	75,0 (52,7; 92,3)	12/16	84,1 (78,5; 90,0)	58/69	15,81 (4,62; 65,54)
		Tous	70,0 (50,3; 88,1)	14/20	85,4 (81,3; 90,1)	88/103	13,69 (4,74; 44,16)
HBeAg(-)	12	Entecavir	94,1 (87,1; 99,0)	32/34	22,2 (7,6; 36,0)	4/18	4,57 (0,80; 35,85)
		Ténofovir	83,3 (70,5; 93,2)	25/30	46,9 (35,0; 58,9)	15/32	4,41 (1,42; 15,71)
		Tous	89,1 (82,1; 94,7)	57/64	38,0 (29,0; 47,1)	19/50	4,99 (1,96; 14,00)
	24	Entecavir	93,0 (37,1) (88,0; 98,1)	40/43	37,5 (6,4; 67,2)	3/8	8,00 (1,21; 55,54)
		Ténofovir	82,6 (74,3; 90,4)	38/46	75,0 (54,1; 92,0)	12/16	14,25 (3,92; 62,71)
		Tous	87,6 (82,7; 92,6)	78/89	62,5 (44,8; 78,0)	15/24	11,82 (4,30; 34,94)

IC = intervalle de confiance du profil de vraisemblance à 95 %

^a L'ombrage indique un rapport de cotes significatif sur le plan statistique.

^b Pour le calcul des rapports de cotes et de leurs intervalles de confiance, lorsqu'au moins une cellule portait la valeur zéro, 0,5 a été ajouté à toutes les cellules.

Prédiction de la réponse biochimique à la semaine 48

Les associations entre la réponse biochimique à la semaine 48 et la réponse virologique aux semaines 12 et 24 sont résumées dans le Tableau 24.

Les valeurs des réponses virologiques précoces aux semaines 12 et 24, en tant qu'éléments de prédiction de la réponse biochimique à la semaine 48, varient selon la semaine et le traitement.

Tableau 24 : VPP, VPN et rapport des cotes pour la réponse biochimique prédite par la réponse virologique précoce pendant le traitement : Réponse virologique à la semaine 48 définie comme < 10 UI/mL

État HBeAg	Semaine de réponse virologique précoce	Traitement	VPP (%)		VPN (%)		OR
			Valeur estimée (IC à 95 %)	n/N	Valeur estimée (IC à 95 %)	n/N	Valeur estimée (IC à 95 %) ^a
HBeAg(+)	12	Entecavir	NC (NC)	0/0	67,9 (63,4 - 76,1)	19/28	2,05 (0,01, 393,52)
		Ténofovir	100 (27,6; 100)	2/2	58,5 (55,1; 63,9)	31/53	7,00 (0,54; 983,90)
		Tous	100 (27,3; 100)	2/2	61,7 (59,7; 65,5)	50/81	8,02 (0,63, > 999,99)
	24	Entecavir	66,7 (16,4, 98,2)	2/3	68,2 (60,1 - 80,0)	15/22	4,29 (0,35, 101,82)
		Ténofovir	58,3 (33,2; 81,0)	7/12	61,4 (54,3; 69,7)	27/44	2,22 (0,61; 8,61)
		Tous	60,0 (36,6; 80,9)	9/15	63,6 (58,2; 70,0)	42/66	2,62 (0,84; 8,70)
HBeAg(-)	12	Entecavir	43,8 (25,1; 61,2)	7/16	50,0 (25,1; 74,9)	6/12	0,78 (0,17; 3,53)
		Ténofovir	52,9 (35,1; 72,2)	9/17	76,2 (61,2; 89,8)	16/21	3,60 (0,93; 15,39)
		Tous	48,5 (36,0; 60,9)	16/33	66,7 (54,5; 78,6)	22/33	1,88 (0,70; 5,20)
	24	Entecavir	45,8 (36,0; 56,0)	11/24	75,0 (25,2; 98,7)	3/4	2,54 (0,28; 55,45)
		Ténofovir	42,9 (32,8; 53,1)	12/28	80,0 (53,0; 97,1)	8/10	3,00 (0,61; 22,34)
		Tous	44,2 (37,8; 50,8)	23/52	78,6 (55,1; 95,0)	11/14	2,91 (0,80; 13,98)

IC = intervalle de confiance du profil de vraisemblance à 95 % ; NC = non calculable

^a Pour le calcul des rapports de cotes et de leurs intervalles de confiance, lorsqu'au moins une cellule portait la valeur zéro, 0,5 a été ajouté à toutes les cellules.

Prévision de la réponse sérologique à la semaine 48

Les associations entre la réponse sérologique à la semaine 48 et la réponse virologique aux semaines 12 et 24 sont résumées dans le Tableau 25.

Les valeurs des réponses virologiques précoces aux semaines 12 et 24, en tant qu'éléments de prédiction de la réponse sérologique à la semaine 48, varient selon la semaine et le traitement.

Tableau 25 : VPP, VPN et rapport des cotes pour la réponse sérologique prédite par la réponse virologique précoce pendant le traitement : Réponse virologique à la semaine 48 définie comme < 10 UI/mL

État HBeAg	Semaine de réponse virologique précoce	Traitement	VPP (%)		VPN (%)		OR
			Valeur estimée (IC à 95 %)	n/N	Valeur estimée (IC à 95 %)	n/N	Valeur estimée (IC à 95 %) ^a
HBeAg(+)	12	Entecavir	100 (6,5; 100)	1/1	86,8 (84,2; 93,9)	33/38	18,27 (0,86; > 999,99)
		Ténofovir	0,0 (0,0; 72,0)	0/2	82,9 (81,7; 86,0)	68/82	0,95 (< 0,01; 12,45)
		Tous	33,3 (1,8; 84,3)	1/3	84,2 (83,1; 86,8)	101/120	2,66 (0,12; 29,11)
	24	Entecavir	50,0 (6,4; 93,2)	2/4	88,2 (83,5; 95,4)	30/34	7,50 (0,74; 79,76)
		Ténofovir	18,8 (3,1; 39,1)	3/16	84,1 (80,6; 89,1)	58/69	1,22 (0,25; 4,59)
		Tous	25,0 (8,5; 43,6)	5/20	85,4 (82,5; 89,4)	88/103	1,96 (0,57; 5,94)

IC = intervalle de confiance du profil de vraisemblance à 95 %

^a Pour le calcul des rapports de cotes et de leurs intervalles de confiance, lorsqu'au moins une cellule portait la valeur zéro, 0,5 a été ajouté à toutes les cellules.

Prédiction de la réponse virologique à la semaine 48, définie comme ADN du HBV < 50 UI/mL (autre définition)

D'autres définitions des réponses virologiques précoces (semaines 12 et 24) et de la réponse virologique à la semaine 48 ont également été évaluées (voir les autres définitions des réponses virologiques ci-dessus).

Les associations entre les critères d'utilité clinique et la réponse virologique aux semaines 12 et 24, en utilisant ces autres définitions de la réponse virologique, sont résumées dans les Tableau 26 (réponse virologique), Tableau 27 (réponse biochimique) et Tableau 28 (réponse sérologique).

Tableau 26 : VPP, VPN et rapport des cotes pour la réponse virologique prédite par la réponse virologique précoce pendant le traitement : Réponse virologique à la semaine 48 définie comme < 50 UI/mL

État HBeAg	Semaine de réponse virologique précoce	Traitement	VPP (%)		VPN (%)		OR
			Valeur estimée (IC à 95 %)	n/N	Valeur estimée (IC à 95 %)	n/N	Valeur estimée (IC à 95 %) ^{a,b}
HBeAg(+)	12	Entecavir	34,2 (26,9; 39,2)	13/38	66,7 (16,1; 98,2)	2/3	1,04 (0,09; 23,60)
		Ténofovir	55,1 (51,9; 59,4)	43/78	83,3 (43,5; 99,2)	5/6	6,14 (0,93; 120,54)
		Tous	48,3 (45,6; 51,3)	56/116	77,8 (45,3; 97,1)	7/9	3,27 (0,75; 22,54)
	24	Entecavir	65,0 (51,3; 81,2)	13/20	100 (86,3; 100)	18/18	66,59 (7,20; > 999,99)
		Ténofovir	72,4 (64,7; 80,6)	42/58	88,9 (74,6; 97,2)	24/27	21,00 (6,28; 97,36)
		Tous	70,5 (63,5; 77,9)	55/78	93,3 (84,0; 98,3)	42/45	33,47 (10,81; 148,13)
HBeAg(-)	12	Entecavir	100 (NC)	52/52	NC (NC)	0/0	NC
		Ténofovir	93,0 (89,1; 97,5)	53/57	60,0 (21,3; 93,3)	3/5	19,87 (2,62; 191,49)
		Tous	96,3 (94,4; 98,7)	105/109	60,0 (21,1; 93,3)	3/5	39,37 (5,24; 376,77)
	24	Entecavir	100 (NC)	47/47	0,0 (NC)	0/4	NC
		Ténofovir	93,9 (88,6; 98,3)	46/49	30,8 (6,7; 52,4)	4/13	6,81 (1,30; 39,97)
		Tous	96,9 (93,8; 99,2)	93/96	23,5 (7,0; 39,8)	4/17	9,54 (1,91; 53,22)

IC = intervalle de confiance du profil de vraisemblance à 95 % ; NC = non calculable

^a L'ombrage indique un rapport de cotes significatif sur le plan statistique.

^b Pour le calcul des rapports de cotes et de leurs intervalles de confiance, lorsqu'au moins une cellule portait la valeur zéro, 0,5 a été ajouté à toutes les cellules, sauf en l'absence de réponse ou de non-réponse à la semaine 48. Pour ces conditions, le rapport de cotes a été indiqué comme non calculable (NC).

Tableau 27 : VPP, VPN et rapport des cotes pour la réponse biochimique prédite par la réponse virologique précoce pendant le traitement : Réponse virologique à la semaine 48 définie comme < 50 UI/mL

État HBeAg	Semaine de réponse virologique précoce	Traitement	VPP		VPN		OR
			Valeur estimée (IC à 95 %)	n/N	Valeur estimée (IC à 95 %)	n/N	Valeur estimée (IC à 95 %) ^{a,b}
HBeAg(+)	12	Entecavir	33,3 (25,1- 39,0)	9/27	100 (6,7- 100)	1/1	1,54 (0,07, 233,77)
		Ténofovir	44,2 (39,6; 48,6)	23/52	66,7 (15,7; 98,2)	2/3	1,59 (0,14; 35,36)
		Tous	40,5 (37,1; 43,7)	32/79	75,0 (23,9; 98,7)	3/4	2,04 (0,25; 42,30)
	24	Entecavir	50,0 (31,2, 69,5)	7/14	81,8 (58,9, 97,1)	9/11	4,50 (0,79- 37,15)
		Ténofovir	52,5 (44,0; 61,8)	21/40	81,3 (60,1 -96,7)	13/16	4,79 (1,30; 23,28)
		Tous	51,9 (44,1; 60,2)	28/54	81,5 (66,4; 93,1)	22/27	4,74 (1,66; 15,82)
HBeAg(-)	12	Entecavir	46,4 (39,5; 52,6)	13/28	NC (NC)	0/0	0,87 (< 0,01 ; 166,17)
		Ténofovir	40,0 (33,6; 46,3)	14/35	100 (41,4; 100)	3/3	4,72 (0,41; 653,11)
		Tous	42,9 (39,6; 46,7)	27/63	100 (41,2; 100)	3/3	5,27 (0,48; 720,38)
	24	Entecavir	44,0 (34,4; 52,7)	11/25	66,7 (16,3-98,2)	2/3	1,57 (0,13; 36,42)
		Ténofovir	41,4 (31,3; 51,1)	12/29	77,8 (48,6; 97,1)	7/9	2,47 (0,49; 18,57)
		Tous	42,6 (36,4; 48,9)	23/54	75,0 (48,8; 93,7)	9/12	2,23 (0,59; 10,87)

IC = intervalle de confiance du profil de vraisemblance à 95 %

^a L'ombrage indique un rapport de cotes significatif sur le plan statistique.

^b Pour le calcul des rapports de cotes et de leurs intervalles de confiance, lorsqu'au moins une cellule portait la valeur zéro, 0,5 a été ajouté à toutes les cellules.

Tableau 28 : VPP, VPN et rapport des cotes pour la réponse sérologique prédite par la réponse virologique précoce pendant le traitement : Réponse virologique à la semaine 48 définie comme < 50 UI/mL

État HBeAg	Semaine de réponse virologique précoce	Traitement	VPP		VPN		OR
			Valeur estimée (IC à 95 %)	n/N	Valeur estimée (IC à 95 %)	n/N	Valeur estimée (IC à 95 %) ^{a,b}
HBeAg(+)	12	Entecavir	16,7 (10,4; 19,6)	6/36	100 (44,1; 100)	3/3	1,49 (0,12; 209,89)
		Ténofovir	16,7 (12,9; 18,6)	13/78	83,3 (44,2; 99,2)	5/6	1,00 (0,14; 19,98)
		Tous	16,7 (13,9; 18,1)	19/114	88,9 (58,8; 99,5)	8/9	1,60 (0,27; 30,56)
	24	Entecavir	30,0 (16,5; 41,6)	6/20	100 (86,3; 100)	18/18	16,59 (1,72, > 999,99)
		Ténofovir	22,4 (16,9; 26,8)	13/58	96,3 (84,7; 99,9)	26/27	7,51 (1,37; 140,31)
		Tous	24,4 (20,0; 28,4)	19/78	97,8 (90,4; 99,9)	44/45	14,17 (2,77; 259,25)

IC = intervalle de confiance du profil de vraisemblance à 95 %

^a L'ombrage indique un rapport de cotes significatif sur le plan statistique.

^b Pour le calcul des rapports de cotes et de leurs intervalles de confiance, lorsqu'au moins une cellule portait la valeur zéro, 0,5 a été ajouté à toutes les cellules.

Conclusions

Les résultats démontrent globalement que le test Aptima HBV Quant Assay peut mesurer les taux d'ADN du HBV à l'inclusion et pendant le traitement pour aider à évaluer la réponse virale au traitement. L'étude démontre que les réponses virologiques précoces aux semaines 12 et 24 comme prédicteurs de la réponse virologique à la semaine 48 variaient en fonction de la semaine et du traitement.

L'utilisation du test Aptima HBV Quant Assay pour le dosage quantitatif du HBV est indiquée pour aider à la prise en charge des patients souffrant d'une infection chronique par le HBV et qui suivent un traitement médicamenteux antiviral contre le HBV.

Bibliographie

1. **World Health Organization.** Rapport périodique mondial sur le HIV, les hépatites virales et les infections sexuellement transmissibles, 2021. <https://www.who.int/publications/i/item/9789240027077>. Accédé en septembre 2022.
2. **Liaw YF, Chu CM.** Hepatitis B virus infection (Infection par le virus de l'hépatite B). *Lancet*. 2009;373(9663):582-592.
3. **European Association for the Study of the Liver (Association européenne pour l'étude du foie, EASL).** EASL Clinical Practice Guidelines: Management of chronic hepatitis B virus infection. *Journal of Hepatology (Journal d'hépatologie)* 2012; 57:167-185.
4. **International Agency for Research on Cancer (Agence internationale pour la recherche sur le cancer, IARC).** Hepatitis B Virus (Virus de l'hépatite B). *IARC Monographs* 2012; 100B: 93-133.
5. **Price, J.** An Update on Hepatitis B, D, and E Viruses. *Topics in Antiviral Medicine* 2014; 21(5): 157-163.
6. **Terrault NA, Bzowej NH, Chang KM, Hwang JP, Jonas MM, Murad MH; American Association for the Study of Liver Diseases.** AASLD guidelines for treatment of chronic hepatitis B. *Hepatology*. 2016 Jan;63(1):261-83
7. **Clinical and Laboratory Standards Institute.** 2005. Collection, Transport, Preparation, and Storage of Specimens for Molecular Methods; Approved Guideline (Prélèvement, transport, préparation et entreposage d'échantillons pour les méthodes d'analyse moléculaires : directive approuvée). CLSI Document MM13-A. Wayne, PA.
8. **29 CFR Part 1910.1030.** Occupational Safety and Health Standards: Exposure to Bloodborne Pathogens; current version (Normes de santé et sécurité au travail : exposition aux agents pathogènes véhiculés par le sang; version en vigueur).
9. **Centers for Disease Control and Prevention/National Institutes of Health.** Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories (BMBL); current version (Biosécurité dans les laboratoires de microbiologie et de biomédecine, BMBL; version en vigueur).
10. **Clinical and Laboratory Standards Institute.** 2002. Clinical Laboratory Waste Management (Gestion des déchets de laboratoires cliniques). CLSI Document GP5-A2. Villanova, PA.
11. **Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI).** 2012. Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures; Approved Guideline, Second Edition (Évaluation des capacités de détection pour les procédures de mesure en laboratoires cliniques : directive approuvée, deuxième édition). CLSI Document EP17-A2. Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne, PA.
12. **Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI).** 2003. Evaluation of the Linearity of Quantitative Measurement Procedures: A Statistical Approach; Approved Guideline (Évaluation de la linéarité des procédures de mesure quantitative : une approche statistique; directive approuvée). CLSI document EP06-A. Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne, PA
13. **Ghany MG, Perrillo R, Li R, et al.** Les caractéristiques des adultes du réseau de recherche sur l'hépatite B en Amérique du Nord reflètent leur pays d'origine et le génotype du virus de l'hépatite B. *Clin Gastroenterol Hepatol*. 2015;13(1):183-192. doi:<http://dx.doi.org/10.1016/j.cgh.2014.06.028>

Coordonnées et historique des révisions



Hologic, Inc.
10210 Genetic Center Drive
San Diego, CA 92121 États-Unis



Hologic BV
Da Vincilaan 5
1930 Zaventem
Belgique

Promoteur australien
Hologic (Australia & New
Zealand) Pty Ltd.
Macquarie Park NSW 2113

Pour l'adresse e-mail et le numéro de téléphone de l'assistance technique et du service client spécifiques au pays, rendez-vous sur www.hologic.com/support.

Les incidents graves survenant avec le dispositif dans l'Union européenne doivent être signalés au fabricant et à l'autorité compétente de l'État membre dans lequel l'utilisateur ou le patient est établi.

Hologic, Aptima, Panther, Panther Fusion et les logos associés sont des marques de commerce et/ou déposées de Hologic, Inc. et/ou de ses filiales aux États-Unis et/ou dans d'autres pays. Toutes les autres marques de commerce pouvant apparaître dans cette notice sont la propriété de leurs propriétaires respectifs.

Toutes les autres marques de commerce pouvant apparaître dans cette notice sont la propriété de leurs propriétaires respectifs.

Ce produit peut être couvert par un ou plusieurs brevets américains identifiés sur le site www.hologic.com/patents.

© 2017-2025 Hologic, Inc. Tous droits réservés.
AW-28215-901 Rév. 003
2025-10

Historique des révisions	Date	Description
AW-28215-901 Rév. 001	Juillet 2025	<ul style="list-style-type: none">Version initiale du nouveau mode d'emploi du test Aptima HBV AW-28215 Rev. 001 pour la conformité réglementaire avec l'IVDR et remplacera l'AW-13182.
AW-28215-901 Rév. 002	Août 2025	<ul style="list-style-type: none">Mises à jour des marques pour répondre aux exigences du BSI.
AW-28215-901 Rév. 003	Octobre 2025	<ul style="list-style-type: none">Option agitateur à tubes ajoutée.Fiche de données de sécurité (FDS) mise à jour.