

Aptima™ HBV Quant Assay

Pour diagnostic *in vitro*.

Réservé à l'exportation américaine

Renseignements généraux	2
Usage prévu	2
Résumé et explication du test	2
Principes de la procédure	3
Mises en garde et précautions	4
Conditions d'entreposage et de manipulation des réactifs	6
Prélèvement et entreposage des échantillons	7
Échantillons placés à bord du système Panther	9
Transport des échantillons	9
Système Panther	10
Réactifs et matériel fournis	10
Matériel requis mais disponible séparément	12
Matériel facultatif	13
Procédure de test pour le système Panther	13
Remarques concernant la procédure	17
Contrôle de la qualité	19
Calibration du test	19
Contrôles négatifs et positifs	19
Calibrateur interne/Contrôle interne	19
Interprétation des résultats	20
Limites	21
Performance	22
Limite de détection à l'aide de la 3e norme internationale de l'OMS	22
Limite de détection pour tous les génotypes du VHB	23
Plage linéaire	24
Linéarité pour les différents génotypes du VHB	25
Limite inférieure de quantification (LIQ) à l'aide de la 3e norme internationale de l'OMS	25
Détermination de la limite inférieure de quantification pour les différents génotypes du VHB	27
Reproductibilité	29
Substances potentiellement interférentes	31
Spécificité	32
Spécificité analytique	33
Reproductibilité des échantillons cliniques	34
Dilution d'échantillons à l'aide du diluant d'échantillon	35
Corrélation de la méthode	37
Contamination de transfert	37
Bibliographie	38

Renseignements généraux

Usage prévu

L'Aptima HBV Quant Assay (test Aptima HBV Quant Assay) est un test d'amplification des acides nucléiques *in vitro* pour la quantification de l'ADN du virus de l'hépatite B (VHB) dans le plasma et le sérum humain sur le système entièrement automatisé Panther™.

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

L'utilisation du test Aptima HBV Quant Assay est indiquée pour aider à la prise en charge des patients infectés par le VHB sous traitement médicamenteux antiviral contre le VHB. Le test peut être utilisé pour mesurer les taux d'ADN du VHB au début du traitement et pendant le traitement pour aider à évaluer la réponse virologique au traitement. Les résultats du test Aptima HBV Quant Assay doivent être interprétés en prenant en compte tous les résultats cliniques et obtenus en laboratoire.

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

Résumé et explication du test

Le virus de l'hépatite B (VHB), l'un des nombreux virus connus pour provoquer une hépatite, a été rendu responsable de l'infection permanente par le VHB, la cirrhose du foie, le cancer du foie, l'insuffisance hépatique et, potentiellement, la mort. L'Organisation mondiale de la Santé (OMS) répertorie le VHB comme l'une des maladies infectieuses les plus répandues dans le monde. La prévalence de l'infection par le VHB et le mode de transmission varient considérablement à travers le monde. Environ un tiers de la population mondiale présente des signes sérologiques d'infection passée ou présente par le VHB et l'infection chronique par le VHB est présente chez plus de 350 millions de personnes dans le monde.^{1,2,3}

L'infection par le VHB entraîne une augmentation du risque de décompensation hépatique, cirrhose, carcinome hépatocellulaire (CHC) avec une mortalité de 0,5 à 1,2 million de décès et 5 à 10 % de cas de transplantation du foie dans le monde entier chaque année.^{4,5} Sans traitement approprié, intervention et suivi après le diagnostic, l'incidence cumulative à 5 ans de la cirrhose varie de 8 à 20 %. Une fois la cirrhose développée, le risque annuel de carcinome hépatocellulaire (CHC) est de 2 à 5 %.⁶

Le VHB contient un génome à ADN circulaire partiellement 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 3 autres ORF et code pour une protéine virale clé de réplication, la polymérase. L'ORF de surface exprime trois protéines, qui sont essentielles pour la morphogénèse virale, l'entrée du virus dans les hépatocytes, et qui provoquent la réponse immunitaire de l'hôte.⁷ Il existe 8 génotypes de VHB (A-H), et ceux-ci se trouvent généralement dans des endroits géographiques distincts. Actuellement, la quantification de l'ADN du VHB est utilisée pour déterminer quels patients atteints d'une infection chronique doivent être traités, pour surveiller la réponse au traitement, et pour évaluer les rebonds de la charge virale qui peuvent indiquer une résistance aux médicaments.⁵

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 système Panther pour quantifier l'ADN du VHB, 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 mutations potentielles). Le test est conforme à la 3^e norme internationale de l'OMS pour le virus de l'hépatite B (code NIBSC : 10/264).

Principes de la procédure

Le test Aptima HBV Quant Assay 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 la cible, l'ADN viral est isolé à partir des échantillons. L'échantillon est traité avec un détergent afin de solubiliser l'enveloppe virale, dénaturer les protéines et libérer l'ADN génomique viral. Les oligonucléotides de capture s'hybrident à des régions hautement conservées du génome de l'ADN du VHB, si celui-ci est présent dans l'échantillon testé. 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 (MMLV) et l'ARN polymérase de T7. La transcriptase inverse permet de générer une copie d'ADN de la séquence cible (contenant une séquence promotrice pour l'ARN polymérase de T7). L'ARN polymérase de T7 produit plusieurs copies de l'amplicon d'ARN à partir de la matrice d'ADN. Le test Aptima HBV Quant Assay utilise la méthode TMA pour amplifier deux régions du génome du VHB (le gène de la polymérase et le gène de surface). L'amplification de ces régions est obtenue à l'aide d'amorces spécifiques conçues pour amplifier le VHB de génotypes A, B, C, D, E, F, G et H. L'approche de la double région cible avec la conception des amorces ciblant les régions hautement conservées assure une quantification précise de l'ADN du VHB.


La détection se déroule en temps réel par l'hybridation spécifique sur l'amplicon de torches moléculaires d'acide nucléique simple brin présentes pendant la phase d'amplification de la cible. Chaque torche moléculaire est munie d'un fluorophore et d'un suppresseur. 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 VHB. Chaque réaction comprend un calibrateur interne/contrôle interne (CI) 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 le VHB et le CI pour chaque réaction et en les comparant aux données de calibration.

Mises en garde et précautions

- A. Pour diagnostic *in vitro* seulement.
- B. Afin de réduire le risque d'obtention de résultats invalides, lisez attentivement l'ensemble de la notice et le *Manuel de l'opérateur du système Panther* avant d'effectuer ce test.
- C. Le réactif activateur de cible (TER) qHBV est corrosif.
 - H302 - Nocif en cas d'ingestion.
 - H314 - Provoque des brûlures de la peau et des lésions oculaires graves.



Recommandations concernant les laboratoires

-  D. **AVERTISSEMENT** : les contrôles de ce test contiennent du plasma humain. Le plasma est négatif pour l'antigène de surface de l'hépatite B (HBsAg), les anticorps contre le VHC, les anticorps contre le VIH-1 et le VIH-2, et l'antigène du VIH lorsque testé selon les procédures approuvées par la Food and Drug Administration des États-Unis. De plus, le plasma est non réactif pour l'ADN du VHB, l'ARN du VHC et l'ARN du VIH-1 lorsque testé sous la forme d'échantillons groupés à l'aide de 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.^{8,9,10}
- E. Cette procédure ne doit être réalisée que par du personnel dûment formé sur l'utilisation du test Aptima HBV Quant Assay et sur la manipulation de produits potentiellement infectieux. En cas de déversement, désinfectez immédiatement en suivant les procédures appropriées de l'établissement.
- F. N'utilisez que le matériel de laboratoire jetable fourni ou recommandé.
- G. Prenez les précautions de laboratoire habituelles. Ne pas pipetter avec la bouche. Ne pas manger, boire ou fumer dans les aires de travail désignées. Portez des gants jetables sans poudre, des lunettes de protection et des blouses de laboratoire pour manipuler les échantillons et les réactifs de la trousse. Lavez-vous bien les mains après avoir manipulé les échantillons et les réactifs de la trousse.
- H. Les plans de travail, les pipettes et le reste du matériel doivent être régulièrement décontaminés avec une solution d'hypochlorite de sodium de 2,5 % à 3,5 % (0,35 M à 0,5 M).
- I. Jetez tout le matériel ayant été en contact avec des échantillons ou des réactifs selon la réglementation locale, provinciale et fédérale.^{8,9,10,11} Nettoyez et désinfectez soigneusement tous les plans de travail.
- J. Les contrôles contiennent de l'azoture de sodium comme conservateur. N'utilisez pas de tubes 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.
- K. Les bonnes pratiques normales pour les laboratoires de biologie moléculaire incluent la surveillance de l'environnement. 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) 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, humidifiez 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 doucement 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 échantillons sur écouvillon.
8. Analysez l'écouvillon à l'aide d'un test moléculaire.

Recommandations concernant les échantillons

- L. Les échantillons peuvent être infectieux. Appliquez les précautions universelles^{8,9,10} lors de la réalisation de ce test. Des méthodes de manipulation et d'élimination des déchets appropriées doivent être établies selon la réglementation locale en vigueur.¹¹ Cette procédure ne doit être réalisée que par du personnel dûment formé sur l'utilisation du test Aptima HBV Quant Assay et sur la manipulation de produits infectieux.
- M. Maintenez des conditions d'entreposage adéquates 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.
- N. Évitez toute contamination croisée lors des étapes de manipulation des échantillons. Veillez particulièrement à éviter toute contamination par la diffusion d'aérosols lors du débouchage ou de l'ouverture des échantillons. Les échantillons peuvent contenir des taux d'organismes très importants. Veillez à éviter tout contact entre les récipients d'échantillons et à ne pas passer au-dessus d'un récipient ouvert en jetant le matériel usagé. Changez de gants en cas de contact avec un échantillon.

Recommandations concernant les tests


- O. N'utilisez pas la trousse de réactifs, le calibrateur ou les témoins après la date de péremption.
- P. Ne pas échanger, mélanger ou combiner les réactifs de test des trouses portant différents numéros de lot de référence. Les liquides de test peuvent provenir de numéros de lots différents. Les contrôles et le calibrateur peuvent provenir de numéros de lots différents.
- Q. Évitez de contaminer les réactifs par des agents microbiologiques ou des nucléases.
- R. Fermez et entreposez tous les réactifs de test aux températures indiquées. La performance du test peut être affectée par l'utilisation de réactifs de test mal entreposés. Voir *Conditions d'entreposage et de manipulation des réactifs* et *Procédure de test pour le système Panther* pour plus d'information.
- S. Ne pas combiner de réactifs de test ou de liquides de test sans consignes spécifiques. Ne pas rajouter de réactif ou de liquide dans les flacons. Le système Panther vérifie le niveau des réactifs.
- T. Évitez le contact du réactif activateur de cible avec la peau, les yeux et les muqueuses. Lavez avec de l'eau en cas de contact avec ce réactif. En cas de déversement de ce réactif, diluez avec de l'eau et suivez les procédures appropriées du site.

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	Entreposage (non ouvert)	Trousse ouverte (reconstituée)	
		Entreposage	Stabilité
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
Réactif enzymatique qHBV	2 °C à 8 °C		
Solution de reconstitution enzymatique qHBV	2 °C à 8 °C	2 °C à 8 °C	30 jours ^a
Réactif promoteur qHBV	2 °C à 8 °C		
Solution de reconstitution du promoteur qHBV	2 °C à 8 °C	2 °C à 8 °C	30 jours ^a
Réactif de capture de cible qHBV	2 °C à 8 °C	2 °C à 8 °C	30 jours ^a
qHBV PCAL (Calibrateur positif)	-15 °C à -35 °C	15 °C à 30 °C	Flacon à usage unique Utiliser dans les 24 heures
qHBV NC CONTROL – (Contrôle négatif)	-15 °C à -35 °C	15 °C à 30 °C	Flacon à usage unique Utiliser dans les 24 heures
qHBV LPC CONTROL + (Contrôle positif faible)	-15 °C à -35 °C	15 °C à 30 °C	Flacon à usage unique Utiliser dans les 24 heures
qHBV HPC CONTROL + (Contrôle positif fort)	-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 système Panther, veillez à les remettre immédiatement à leurs températures d'entreposage appropriées.

- B. Jetez tous les réactifs reconstitués, le réactif de capture de cible (Target Capture Reagent, TCR) et le réactif activateur de cible (Target Enhancer Reagent, TER) inutilisés après 30 jours ou après la date de péremption du lot de référence, selon la première éventualité.
- C. Les réactifs entreposés dans le système Panther sont stables pendant 72 heures. Vous pouvez charger les réactifs dans le système Panther jusqu'à 5 fois. Le système Panther enregistre le nombre de chargements des réactifs.
- D. Après décongélation du calibrateur, la solution doit être transparente, c.-à-d., elle ne doit pas être trouble ou contenir des précipités.
-  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 tout échantillon comme s'il contenait des agents potentiellement infectieux. Appliquez les précautions universelles.

Remarque : veillez à éviter toute contamination croisée pendant les étapes de manipulation des échantillons. Par exemple, veillez à ne pas passer au-dessus de tubes ouverts lors de l'élimination de matériel usagé.

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

- Tubes contenant de l'EDTA ou de l'ACD anticoagulants
- Tubes de préparation du plasma (PPT)
- Tubes de sérum
- Tubes de séparation du sérum (SST)

En cas d'utilisation du sérum, laissez le caillot se former avant de poursuivre.

A. Prélèvement des échantillons

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. Séparez le plasma ou le sérum du culot de globules rouges en suivant les instructions du fabricant du tube utilisé. Le plasma ou sérum peut être analysé directement par le système Panther dans le tube primaire ou transféré dans le tube secondaire d'aliquote d'échantillon Aptima (SAT). Le volume minimal de sérum ou de plasma pour des tubes de prélèvement primaires est de 1 200 µL et de 700 µL pour les tubes SAT, pour obtenir un volume de réaction de 500 µL.

Dans le cas où le plasma ou le sérum n'est pas analysé immédiatement, il peut être entreposé selon les spécifications suivantes. S'il est transféré dans le tube SAT, 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 d'entreposage 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 entreposé dans l'une des conditions suivantes :

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

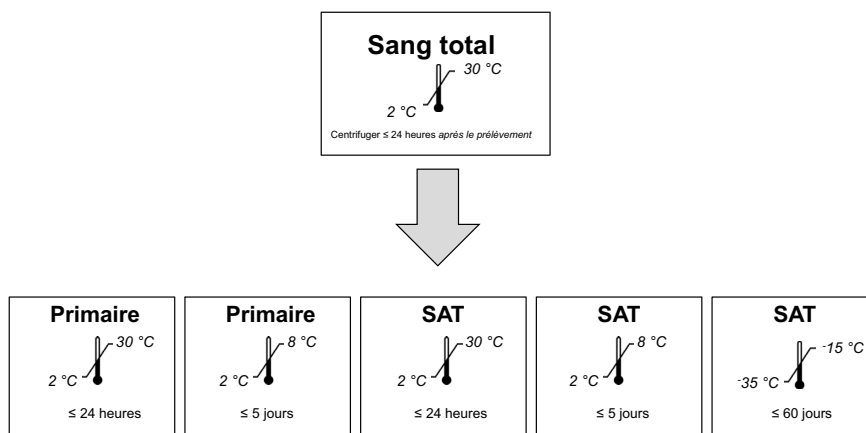


Figure 1. Conditions d'entreposage pour les tubes EDTA/ACD

2. Échantillons dans 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 entreposé dans l'une des conditions suivantes :

- Jusqu'à 24 heures dans le tube PPT ou SAT entre 2 °C et 30 °C
- Jusqu'à 5 jours dans le tube PPT ou SAT entre 2 °C et 8 °C
- Jusqu'à 60 jours dans le tube PPT ou SAT à -20 °C

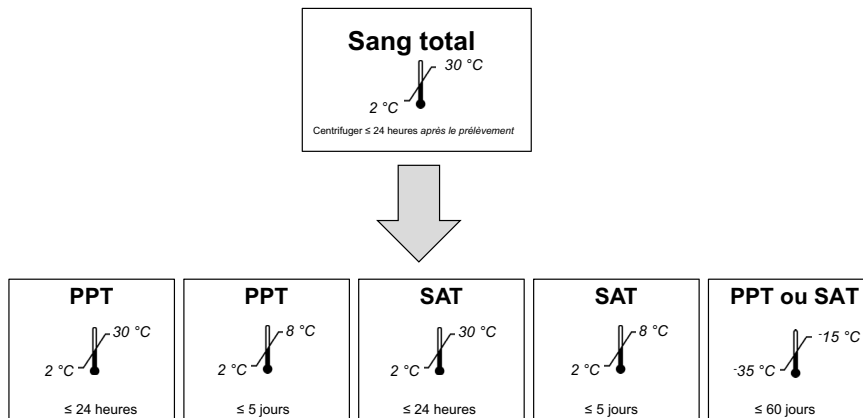


Figure 2. Conditions d'entreposage pour les tubes PPT

3. Échantillons 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 entreposé dans l'une des conditions suivantes :

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

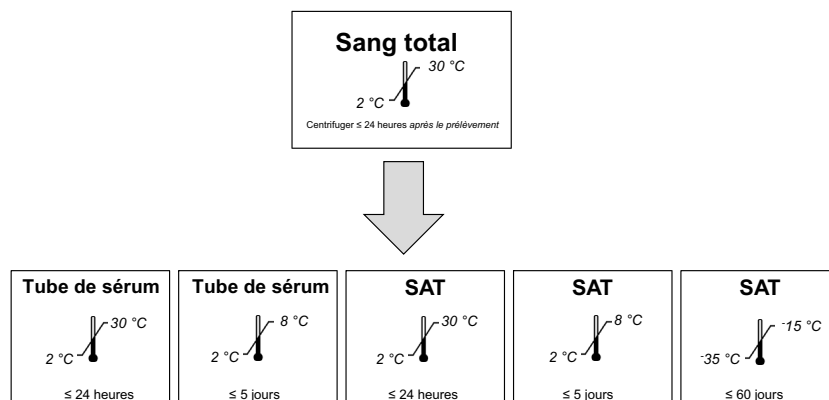


Figure 3. Conditions d'entreposage pour les tubes de sérum

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 entreposé dans l'une des conditions suivantes :

- Jusqu'à 24 heures dans le tube SST ou SAT entre 2 °C et 30 °C
- Jusqu'à 5 jours dans le tube SST ou SAT entre 2 °C et 8 °C
- Jusqu'à 60 jours dans le tube SST ou SAT à -20 °C

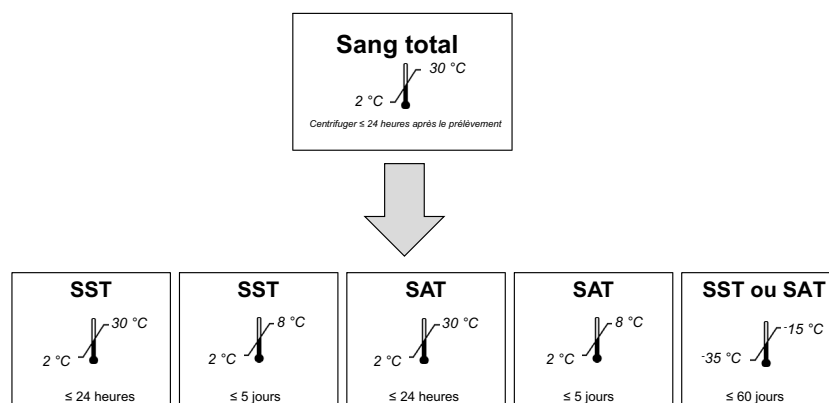


Figure 4. Conditions d'entreposage pour les tubes SST

C. Entreposage à long terme au congélateur

Les échantillons de plasma ou de sérum peuvent être entreposés entre -65 °C et -85 °C jusqu'à 60 jours dans des tubes SAT.

D. Dilution d'échantillons de plasma et de sérum

Les échantillons de plasma ou de sérum peuvent être dilués dans le tube SAT pour être testés sur le système Panther. Voir *Procédure de test pour le système Panther*, paragraphe E « Manipulation des échantillons », étape 6 pour plus d'information.

Remarque : dans le cas où un échantillon est dilué, il doit être analysé immédiatement après la dilution. Ne pas congeler un échantillon dilué.

Échantillons placés à bord du système Panther

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

Transport des échantillons

Maintenez les conditions d'entreposage des échantillons comme 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 concernant le 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

Remarque : pour de l'information sur les mentions de danger et de mise en garde pouvant être associées aux réactifs, consultez la bibliothèque de fiches signalétiques au www.hologic.com/sds.

Trousse pour le test Aptima HBV Quant Assay, 100 tests (N° de cat. PRD-03424)
(1 boîte de test, 1 trousse de calibrateurs, 1 trousse de contrôles et une boîte de réactif activateur de cible)

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

Boîte du test Aptima HBV Quant Assay
(entreposer entre 2 °C et 8 °C dès réception)

Symbole	Composant	Quantité
A	Réactif d'amplification qHBV <i>Acides nucléiques non infectieux lyophilisés dans une solution tamponnée.</i>	1 flacon
E	Réactif enzymatique qHBV <i>Transcriptase inverse et polymérase d'ARN lyophilisées dans une solution tamponnée HEPES.</i>	1 flacon
PRO	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 conservateurs.</i>	1 x 7,2 mL
ER	Solution de reconstitution enzymatique qHBV <i>Solution tamponnée HEPES contenant un surfactant et du glycérol.</i>	1 x 5,8 mL
PROR	Solution de reconstitution du promoteur qHBV <i>Solution aqueuse contenant du glycérol et des conservateurs.</i>	1 x 4,5 mL
TCR	Réactif de capture de cible qHBV <i>Acides nucléiques dans une solution saline tamponnée contenant des acides nucléiques non infectieux fixés sur une phase solide et un calibrateur interne.</i>	1 x 72,0 mL
	Collets de reconstitution	3
	Fiche des codes à barres du lot de référence	1 fiche

Trousse de calibrateurs du test Aptima HBV Quant (N° de cat. PRD-03425)
(entreposer entre -15 °C et -35 °C dès réception)

Symbole	Composant	Quantité
PCAL	Calibrateur positif qHBV <i>ADN du plasmide dans une solution tamponnée</i>	5 x 2,5 mL
	Étiquette code à barres du calibrateur	—

Trousse de contrôles du test Aptima HBV Quant (N° de cat. PRD-03426)
(entreposer entre -15 °C et -35 °C dès réception)

Symbole	Composant	Quantité
NC	Contrôle négatif qHBV <i>Plasma humain défibriné négatif pour le VHB contenant de la gentamicine et de l'azoture de sodium à 0,2 % comme conservateurs.</i>	5 x 0,8 mL
LPC	Contrôle positif faible qHBV <i>Plasma inactivé positif pour le VHB 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	Contrôle positif fort qHBV <i>Plasma inactivé positif pour le VHB 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 code à barres des contrôles	—

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

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

Matériel requis mais disponible séparément

Remarque : les numéros de catalogue du matériel disponible chez Hologic sont indiquées, sauf indication contraire.

Matériel	N° de cat.
Système Panther	—
Trousse d'analyse Panther pour les tests en temps réel (tests en temps réel seulement)	PRD-03455 (5 000 tests)
<i>La trousse de liquides pour le test Aptima (ou trousse de liquides universelle) contient la solution de lavage Aptima, le tampon pour solution de désactivation Aptima et le réactif huileux Aptima</i>	303014 (1 000 tests)
<i>Unités multi-tube (Multi-Tube Unit, MTU)</i>	104772-02
<i>Assortiment de sacs à rebuts Panther</i>	902731
<i>Couvercle de poubelle à rebuts Panther</i>	504405
Trousse d'analyse du 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 rebuts, des couvercles de poubelles à rebuts, des solutions d'Autodetect et une trousse de liquides universelle</i>	303096 (5 000 tests)
Embouts, 1 000 µL conductifs, à détection de liquide	10612513 (Tecan)
Eau de Javel, solution d'hypochlorite de sodium dosée de 5 % à 7 % (0,7 M à 1,0 M)	—
Gants jetables sans poudre	—
Bouchons de rechange pour réactifs <i>Flacons de reconstitution de réactif d'amplification, enzymatique et promoteur</i>	CL0041 (100 bouchons)
<i>Flacon de TCR</i>	CL0040 (100 bouchons)
<i>Flacon de TER</i>	501604 (100 bouchons)
Protecteur de paillasse de laboratoire à envers plastifié	—
Chiffons non pelucheux	—
Pipette	—
Embouts	—
Des tubes de prélèvement primaires aux dimensions suivantes peuvent être utilisés :	—
<i>13 mm x 100 mm</i>	
<i>13 mm x 75 mm</i>	
<i>16 mm x 100 mm</i>	
Centrifugeuse	—
Agitateur-mélangeur vortex	—

Matériel facultatif

Matériel	N° de cat.
Tubes d'aliquote d'échantillon Aptima (SAT) (100/paquet)	503762
Bouchon de tube de transport (100/paquet) <i>bouchons pour tubes SAT</i>	504415
Diluant d'échantillon Aptima	PRD-03003
Trousse de diluant d'échantillon Aptima <i>contient du diluant d'échantillon, 100 tubes SAT et 100 bouchons</i>	PRD-03478
Pipettes de transfert	—
Panels commerciaux, par exemple : <i>panels HBV de l'organisation Quality Control for Molecular Diagnostics (QCMD)</i>	—
Écouvillons à embout de coton	—
Agitateur de tubes	—

Procédure de test pour le système Panther

Remarque : consultez le manuel de l'opérateur du système Panther pour de plus amples informations sur la procédure.

A. Préparation de la zone de travail

1. Nettoyez les plans de travail sur lesquels les réactifs seront préparés. Essuyez les plans de travail avec 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. Ne laissez pas sécher la solution d'hypochlorite de sodium. Couvrez la surface de travail avec des protections de paille de laboratoire absorbantes à envers plastifié propres.
2. Nettoyez 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 du calibrateur et des contrôles

Laissez le calibrateur et les contrôles atteindre entre 15 °C et 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. Assurez-vous que le contenu des tubes est entièrement décongelé avant de l'utiliser.

Option. Les tubes de calibrateur et de contrôles peuvent être mis dans un agitateur à tubes afin de les mélanger complètement. Assurez-vous que le contenu des tubes est entièrement décongelé avant de l'utiliser.

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

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

C. Reconstitution des réactifs/préparation d'une nouvelle trousse

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

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 de codes à barres du lot de référence.
 - b. Agitez immédiatement le flacon de TCR vigoureusement 10 fois. Laissez le flacon de TCR se réchauffer entre 15 °C et 30 °C pendant au moins 45 minutes. 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 ci-dessous : 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 TRC 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). Faites correspondre chaque solution de reconstitution avec 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 des codes à barres du lot de référence pour vous assurer que les réactifs appropriés sont jumelés.
 - 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. Ouvrez le flacon de solution de reconstitution correspondante et déposez 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 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. Inscrivez les initiales de l'opérateur 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).

Mise en garde : évitez la formation excessive de mousse lors de la reconstitution des réactifs. La mousse interfère avec le détecteur de niveau du système Panther.

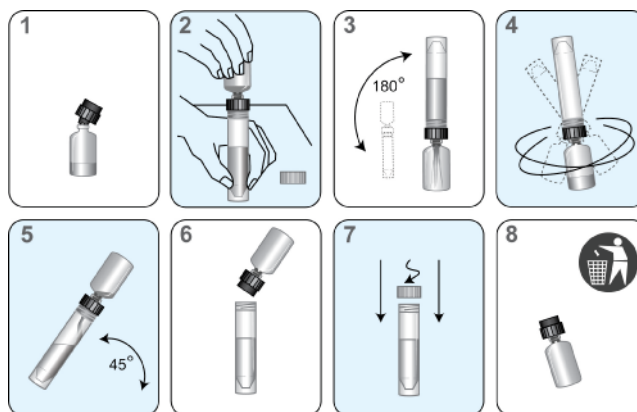


Figure 5. Procédure de reconstitution des réactifs

3. Retirez le réactif activateur de cible 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 et 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.
 5. Ne rajoutez pas de réactif dans les flacons. Le système Panther reconnaît et rejette les flacons qui ont été remplis à nouveau.

E. Manipulation des échantillons

1. Assurez-vous que les échantillons congelés sont entièrement décongelés. Agitez les échantillons décongelés au vortex pendant 3 à 5 secondes afin de les mélanger complètement.
2. Laissez tous les échantillons atteindre entre 15 °C et 30 °C avant de procéder. Voir *Échantillons placés à bord du système Panther* pour plus d'information sur la mise à bord.
3. Assurez-vous que chaque tube de prélèvement primaire contient au moins 1 200 µL d'échantillon. Assurez-vous que chaque tube d'aliquote d'échantillon Aptima (SAT) contient au moins 700 µL d'échantillon. Si vous devez diluer un échantillon, voir l'étape E.6 ci-dessous pour de l'information supplémentaire.
4. Agitez les échantillons dans les tubes SAT pendant 3 à 5 secondes afin de les mélanger complètement.
5. 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 empêche la détection du niveau par le système Panther.

Voir *Préparation du système*, étape F.2 ci-dessous pour de l'information sur le chargement du portoir et le retrait des bouchons.

6. Dilution d'un échantillon dans le tube SAT

Un échantillon peut être dilué dans le tube SAT pour être testé sur le système Panther.

Remarque : dans le cas où 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 d'échantillon.
- iii. Fermez le tube.
- iv. Retournez délicatement 5 fois pour mélanger.

Les échantillons dilués 1:3 peuvent être analysés à l'aide de l'option 1:3 du système Panther (voir le *Manuel de l'opérateur du système Panther* pour plus d'information). Le logiciel signale 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), il peut être dilué dans 99 volumes de diluant d'échantillon Aptima (1:100) comme suit :

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

Les échantillons dilués 1:100 peuvent être analysés à l'aide de l'option 1:100 du système Panther (voir le *manuel de l'opérateur du système Panther* pour plus d'information). Le logiciel signale 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.

F. Préparation du système

1. Configurez le système selon les instructions du *Manuel de l'opérateur du système Panther* et de la section *Remarques concernant la procédure*. Assurez-vous que des portoirs de réactifs et des adaptateurs TCR de taille appropriée sont utilisés.
2. Chargez les échantillons dans le portoir d'échantillons. Effectuez les étapes suivantes pour chaque tube d'échantillon (échantillon et, le cas échéant, calibrateur et contrôles) :

- a. Desserrez le bouchon de l'un des tubes d'échantillon, sans l'enlever.

Remarque : veillez particulièrement à éviter toute contamination par la 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. Au besoin, utilisez une pipette de transfert jetable neuve pour éliminer les bulles ou la mousse.
- f. Une fois le dernier bouchon retiré, chargez le portoir d'échantillons dans le compartiment à échantillons.

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

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

Remarques concernant la procédure

A. Calibrateur et contrôles

1. Le calibrateur positif qHBV, ainsi que les tubes de contrôle positif faible qHBV, de contrôle positif fort qHBV et de contrôle 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 commence lorsque l'une des deux conditions suivantes est satisfaite :
 - a. Le calibrateur et les contrôles sont en cours de traitement par le système.
 - b. Les résultats valides du calibrateur et des contrôles sont enregistrés sur le système.

2. Une fois que le calibrateur et les tubes de contrôles ont été pipetés et sont en traitement avec la trousse de réactifs Aptima HBV Quant Assay, des échantillons peuvent alors être testés pendant 24 heures avec la trousse reconstituée correspondante, **à moins que** :
 - a. Les résultats du calibrateur ou des contrôles soient invalides.
 - b. La trousse de réactifs de test correspondante soit retirée du système.
 - c. La trousse de réactifs de test ait dépassé les limites de stabilité.
 3. Le calibrateur et chaque tube de contrôle ne peuvent être utilisés qu'une seule fois. Les tentatives d'utilisation du tube plus d'une fois peuvent entraîner des erreurs de traitement.
- B. Gants poudrés

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 ou d'un échantillon peuvent être invalidés par un opérateur si des problèmes techniques, d'appareil ou liés 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 la calibration du test. Un seul calibrateur positif est analysé en triplicat chaque fois qu'une trousse de réactifs est chargée sur le système Panther. Une fois établie, la calibration est valide pour un maximum de 24 heures. Le logiciel du système Panther signale à l'opérateur lorsqu'une calibration est requise. L'opérateur balaye un coefficient de calibration qui se trouve sur la fiche des codes à barres du lot de référence fournie avec chaque trousse de réactifs.

Le logiciel du système Panther 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 invalidée doivent être analysés de nouveau avec un calibrateur et des contrôles fraîchement préparés.

Contrôles négatifs et positifs

Afin de produire 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 système Panther. Une fois établis, les contrôles sont valides pour un maximum de 24 heures. Le logiciel du système Panther signale à l'opérateur lorsque des contrôles sont requis.

Le logiciel du système Panther 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 : $2,7 \text{ Log}_{10} \text{ UI/mL}$, cible nominale HPC : $4,6 \text{ Log}_{10} \text{ UI/mL}$). Si un résultat invalide est généré pour l'un des contrôles, le logiciel invalide alors automatiquement la série. Les échantillons d'une série invalidée doivent être analysés de nouveau avec un calibrateur et des contrôles fraîchement préparés.

Calibrateur interne/Contrôle interne

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

Le logiciel du système Panther 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 système Panther*.

Interprétation des résultats

Le système Panther détermine automatiquement la concentration d'ADN du VHB dans les échantillons et les contrôles en comparant les résultats à une courbe de calibration. Les concentrations d'ADN du VHB sont présentées en UI/mL et en \log_{10} UI/mL. L'interprétation des résultats est présentée au Tableau 1. Si l'option Dilution est utilisée pour des échantillons dilués, le système Panther calcule automatiquement la concentration de VHB 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 la LD (limite de détection) ou de la LIQ (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 signalé du test Aptima HBV Quant Assay		Interprétation
UI/mL	Log ₁₀ Valeur ^a	
Non détecté	Non détecté	ADN du VHB non détecté.
< 10 détectés	< 1,0	L'ADN du VHB est détecté mais à une concentration inférieure à la LIQ
10 à 1 000 000 000	1,0 à 9,0	La concentration d'ADN du VHB se situe dans la plage linéaire comprise entre 10 et 1 000 000 000 UI/mL
> 1 000 000 000	> 9,0	La concentration d'ADN du VHB est supérieure à la LSQ
Invalide ^b	Invalide ^b	Une erreur est survenue lors de la génération du résultat. L'échantillon doit être analysé de nouveau

^a Valeur arrondie à deux décimales.

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

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

Limites

- A. L'utilisation de ce test est limitée au personnel ayant été formé sur la procédure. Le non-respect des instructions figurant dans cette notice peut donner lieu à des résultats erronés.
- B. L'obtention de résultats fiables repose sur le prélèvement, le transport, l'entreposage et le traitement appropriés des échantillons.
- C. Bien que rares, des mutations au sein des régions hautement conservées du génome viral couvertes par les amorces et/ou les sondes du test Aptima HBV Quant Assay peuvent entraîner une sous-quantification ou une absence de détection du virus.

Performance

Limite de détection à l'aide de la 3^e norme internationale de l'OMS

Selon la norme CLSI EP17-A2, la limite de détection (LD) est définie comme la concentration d'ADN du VHB dont la probabilité de détection est égale ou supérieure à 95 %.¹²

La LD a été déterminée par le test de panels de la 3^e norme internationale de l'OMS pour l'ADN du virus de l'hépatite B (NIBSC 10/264) dilués dans du plasma et du sérum humain négatifs pour le VHB. 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 effectuée afin de générer les limites de détection prévues. Les valeurs de LD indiquées au Tableau 2 sont les résultats obtenus avec le lot de réactifs doté de la limite de détection prévue la plus élevée. La LD pour le test Aptima HBV Quant Assay avec la 3^e norme internationale de l'OMS est de 5,58 UI/mL pour le plasma et 4,29 UI/mL pour le sérum.

Tableau 2 : Limite de détection à l'aide de la 3^e norme internationale de l'OMS pour le VHB

Limite de détection prévue	Concentration (UI/mL)	
	Plasma	Sérum
10 %	0,16	0,19
20 %	0,27	0,30
30 %	0,39	0,42
40 %	0,55	0,56
50 %	0,75	0,73
60 %	1,02	0,96
70 %	1,42	1,29
80 %	2,09	1,81
90 %	3,58	2,91
95 %	5,58	4,29

Limite de détection pour tous les génotypes du VHB

La LD a été déterminée en analysant des dilutions d'échantillons cliniques positifs pour le VHB de génotypes A, B, C, D, E, F, G et H dans du plasma et du sérum humain négatifs pour le VHB. Les concentrations ont été déterminées à l'aide d'un test comparatif marqué CE et homologué par Santé Canada. 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 effectuée afin de générer des limites de détection prévues de 50 % et 95 %. Les valeurs de LD indiquées au Tableau 3 sont les résultats obtenus avec le lot de réactifs doté de la limite de détection prévue la plus élevée.

Tableau 3 : Limite de détection pour tous les génotypes du VHB avec des échantillons cliniques

Génotype	Limite de détection prévue	Concentration (UI/mL)	
		Plasma	Sérum
A	50 %	0,48	0,88
	95 %	3,05	3,95
B	50 %	0,59	0,69
	95 %	3,00	4,97
C	50 %	0,79	0,93
	95 %	5,32	4,78
D	50 %	0,82	1,37
	95 %	4,61	7,29
E	50 %	0,93	1,01
	95 %	4,80	4,90
F	50 %	0,75	0,69
	95 %	3,13	3,30
G	50 %	0,52	0,62
	95 %	2,86	3,05
H	50 %	1,05	1,36
	95 %	6,44	6,31

Plage linéaire

La plage linéaire a été établie en analysant des panels d'ADN du VHB dilué dans du plasma et du sérum humain négatifs pour le VHB conformément à la norme CLSI EP06-A.¹³ La concentration des panels allait de 0,86 log UI/mL à 9,26 log UI/mL. La linéarité du test Aptima HBV Quant Assay a été démontrée sur l'ensemble de la plage testée, avec une limite supérieure de quantification (LSQ) de 9 log UI/mL, comme l'illustre la Figure 6.

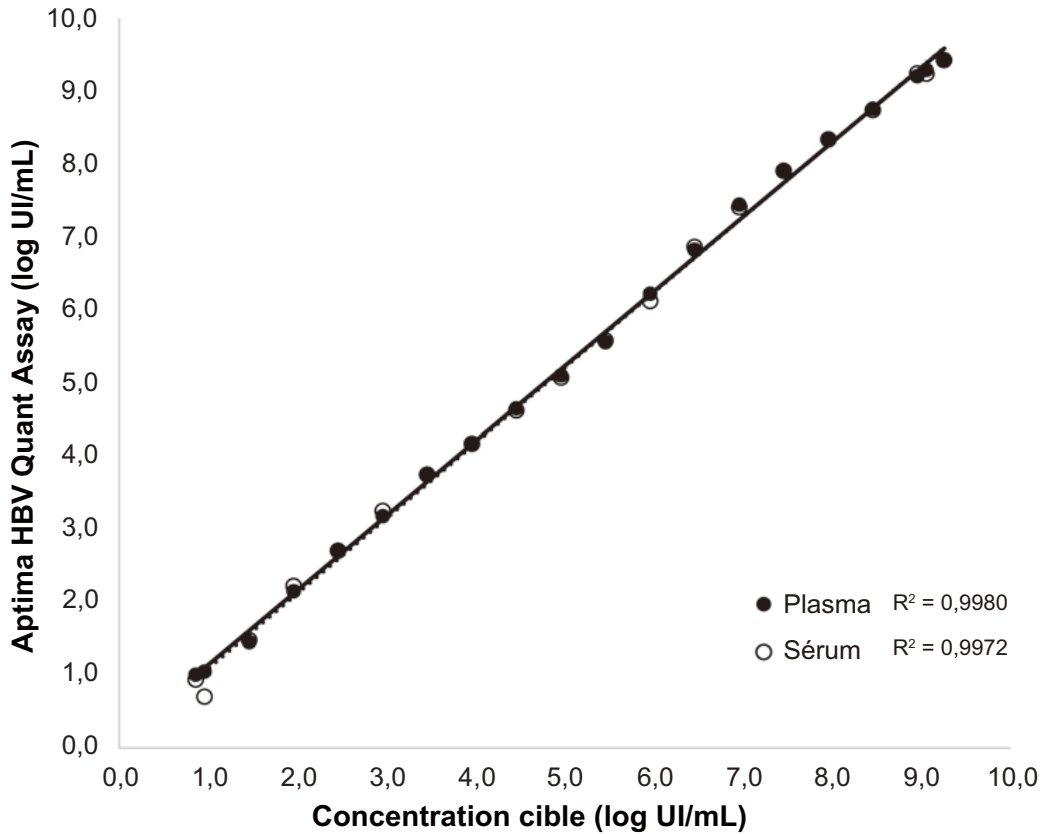


Figure 6. Linéarité dans le plasma et le sérum

Linéarité pour les différents génotypes du VHB

La linéarité de la réponse pour les génotypes A, B, C, D, E, F, G et H a été confirmée par l'analyse de panels d'ADN du VHB dilué dans un tampon à des concentrations allant de 1,44 log UI/mL à 8,44 log UI/mL. La linéarité a été démontrée sur l'ensemble de la plage testée pour tous les génotypes testés, comme l'illustre la Figure 7.

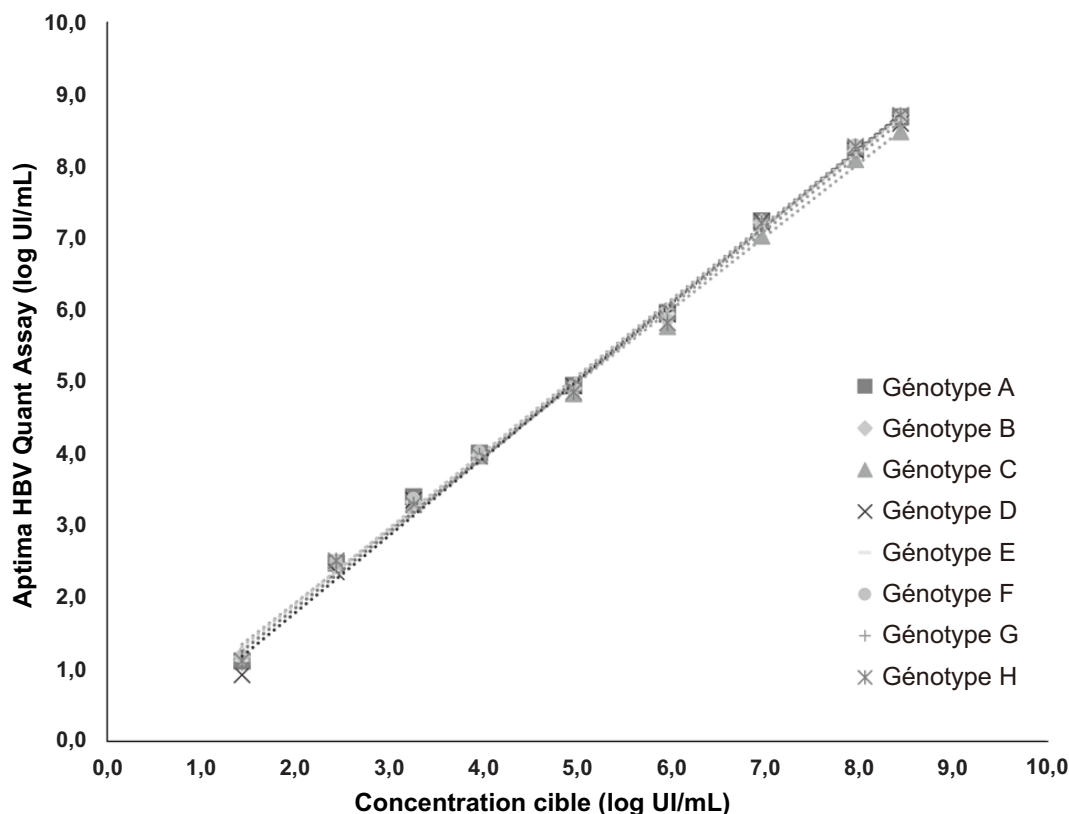


Figure 7. Linéarité pour les différents génotypes du VHB A à H

Limite inférieure de quantification (LIQ) à l'aide de la 3^e norme internationale de l'OMS

Selon la norme CLSI EP17-A2, la limite inférieure de quantification (LIQ) est définie comme la concentration la plus faible à laquelle la quantification de l'ADN du VHB est fiable dans les limites d'une erreur totale.¹² L'erreur totale a été estimée à l'aide de deux méthodes : Erreur analytique totale (EAT) = |biais| + 2 écarts-types (ET), et Erreur totale (ET) = racine carrée (2) x 2 écarts-types (ET). Afin de s'assurer de l'exactitude et de la précision des mesures, l'erreur totale du test Aptima HBV Quant Assay était définie comme 1 log UI/mL (c.-à-d. qu'à la LIQ, la différence entre deux mesures de plus de 1 log UI/mL est statistiquement significative).

La LIQ a été déterminée par le test de panels de la 3^e norme internationale de l'OMS pour l'ARN du virus de l'hépatite B (NIBSC 10/264) dilués dans du plasma et du sérum humain négatifs pour le VHB. Au moins 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 du lot de réactifs doté de la concentration la plus élevée conforme aux exigences de l'ET et de l'EAT sont illustrés au Tableau 6. La LIQ calculée pour la 3^e norme internationale de l'OMS pour le virus de l'hépatite B est de 4,80 UI/mL pour le plasma et de 6,34 UI/mL pour le sérum.

Tableau 4 : Détermination de la LIQ avec la 3^e norme internationale de l'OMS pour le VHB dilué dans du plasma

Lot de réactifs	Concentration cible		Aptima HBV Quant	ET	Biais	ET calculée	EAT calculée
	(UI/mL)	(log UI/mL)	(log UI/mL)	(log UI/mL)	(log UI/mL)	(log UI/mL)	(log UI/mL)
1	7	0,85	0,63	0,27	0,22	0,75	0,75
	8	0,90	0,68	0,28	0,22	0,78	0,77
	9	0,95	0,79	0,25	0,17	0,70	0,66
2	7	0,85	0,48	0,20	0,37	0,57	0,77
	8	0,90	0,47	0,18	0,44	0,51	0,79
	9	0,95	0,61	0,19	0,34	0,54	0,73
3	7	0,85	0,53	0,21	0,32	0,59	0,74
	8	0,90	0,52	0,21	0,38	0,61	0,81
	9	0,95	0,70	0,23	0,25	0,65	0,71

ET = écart-type

Tableau 5 : Détermination de la LIQ avec la 3^e norme internationale de l'OMS pour le VHB dilué dans du sérum

Lot de réactifs	Concentration cible		Aptima HBV Quant	ET	Biais	ET calculée	EAT calculée
	(UI/mL)	(log UI/mL)	(log UI/mL)	(log UI/mL)	(log UI/mL)	(log UI/mL)	(log UI/mL)
1	7	0,85	0,77	0,38	0,08	1,06	0,83
	8	0,90	0,80	0,31	0,10	0,88	0,72
	9	0,95	0,91	0,27	0,05	0,77	0,59
2	7	0,85	0,57	0,20	0,28	0,57	0,68
	8	0,90	0,70	0,22	0,20	0,63	0,64
	9	0,95	0,69	0,23	0,27	0,66	0,73
3	7	0,85	0,65	0,24	0,20	0,67	0,67
	8	0,90	0,65	0,24	0,25	0,68	0,73
	9	0,95	0,67	0,22	0,28	0,63	0,73

ET = écart-type

Tableau 6 : Résumé de la LIQ calculée avec la 3^e norme internationale de l'OMS pour le VHB

Lot de réactifs	LIQ plasma		LIQ sérum	
	(log UI/mL)	(UI/mL)	(log UI/mL)	(UI/mL)
1	0,68	4,80	0,80	6,34
2	0,61	4,09	0,57	3,72
3	0,52	3,34	0,65	4,51

ET = écart-type

Détermination de la limite inférieure de quantification pour les différents génotypes du VHB

La LIQ a été déterminée en analysant des dilutions d'échantillons cliniques positifs pour le VHB de génotypes A, B, C, D, E, F, G et H dans du plasma et du sérum humain négatifs pour le VHB. Au moins 36 réplicats de chaque échantillon du panel ont été analysés avec chacun des deux lots de réactifs pour un minimum de 72 réplicats par échantillon du panel. Les résultats du lot de réactifs doté de la concentration la plus élevée conforme aux exigences de l'ET et de l'EAT sont illustrés au Tableau 7 pour le plasma et au Tableau 8 pour le sérum. Les LIQ calculées pour les génotypes A, B, C, D, E, F, G et H dans du plasma et du sérum sont résumées au Tableau 9. Ceci a permis d'établir la LIQ générale pour le test à 10 UI/mL.

Tableau 7 : Détermination de la LIQ pour les différents génotypes dans du plasma

Génotype	Aptima HBV						
	Concentration cible		Quant	ET	Biais	ET calculée	EAT calculée
	(UI/mL)	(log UI/mL)	(log UI/mL)	(log UI/mL)	(log UI/mL)	(log UI/mL)	(log UI/mL)
A	7	0,85	0,86	0,71	0,02	2,01	1,44
	8	0,90	0,76	0,34	0,14	0,96	0,82
	9	0,95	0,95	0,27	0,01	0,76	0,55
B	7	0,85	0,85	0,36	0,01	1,01	0,72
	8	0,90	0,93	0,24	0,03	0,67	0,51
	9	0,95	0,94	0,23	0,01	0,64	0,46
C	7	0,85	0,62	0,22	0,23	0,62	0,67
	8	0,90	0,65	0,25	0,25	0,70	0,75
	9	0,95	0,70	0,21	0,26	0,59	0,67
D	8	0,90	0,47	0,19	0,43	0,53	0,81
	9	0,95	0,58	0,17	0,38	0,48	0,72
	10	1,00	0,64	0,24	0,36	0,69	0,85
E	7	0,85	0,59	0,19	0,25	0,53	0,63
	8	0,90	0,59	0,23	0,31	0,66	0,78
	9	0,95	0,68	0,28	0,27	0,80	0,83
F	7	0,85	0,92	0,26	0,07	0,74	0,59
	8	0,90	1,09	0,29	0,18	0,83	0,77
	9	0,95	1,04	0,31	0,09	0,89	0,72
G	7	0,85	0,81	0,27	0,04	0,75	0,57
	8	0,90	0,91	0,26	0,01	0,72	0,52
	9	0,95	0,83	0,26	0,12	0,74	0,64
H	7	0,85	0,65	0,25	0,19	0,71	0,69
	8	0,90	0,67	0,24	0,23	0,68	0,71
	9	0,95	0,62	0,21	0,33	0,59	0,75

ET = écart-type

Tableau 8 : Détermination de la LIQ pour les différents géotypes dans du sérum

Géotype	Aptima HBV						
	Concentration cible		Quant	ET	Biais	ET calculée	EAT calculée
	(UI/mL)	(log UI/mL)	(log UI/mL)	(log UI/mL)	(log UI/mL)	(log UI/mL)	(log UI/mL)
A	7	0,85	0,67	0,28	0,18	0,79	0,74
	8	0,90	0,80	0,34	0,10	0,96	0,78
	9	0,95	0,83	0,26	0,12	0,74	0,65
B	7	0,85	0,56	0,19	0,29	0,54	0,67
	8	0,90	0,71	0,22	0,20	0,62	0,63
	9	0,95	0,59	0,21	0,36	0,59	0,78
C	7	0,85	0,64	0,27	0,20	0,77	0,75
	8	0,90	0,75	0,25	0,15	0,70	0,64
	9	0,95	0,79	0,21	0,16	0,58	0,57
D	8	0,90	0,42	0,14	0,48	0,40	0,76
	9	0,95	0,47	0,18	0,49	0,51	0,84
	10	1,00	0,60	0,23	0,40	0,64	0,85
E	7	0,85	0,56	0,24	0,29	0,69	0,78
	8	0,90	0,63	0,18	0,27	0,50	0,63
	9	0,95	0,67	0,25	0,28	0,70	0,78
F	7	0,85	0,88	0,21	0,03	0,60	0,46
	8	0,90	0,90	0,29	0,01	0,81	0,58
	9	0,95	0,98	0,24	0,02	0,67	0,49
G	7	0,85	0,82	0,24	0,03	0,67	0,50
	8	0,90	0,90	0,25	0,01	0,70	0,50
	9	0,95	1,01	0,23	0,05	0,64	0,51
H	8	0,90	0,69	0,29	0,21	0,81	0,78
	9	0,95	0,77	0,26	0,19	0,74	0,71
	10	1,00	0,78	0,28	0,22	0,80	0,79

ET = écart-type

Tableau 9 : Résumé de la LIQ pour les différents géotypes dans le plasma et le sérum

Géotype	LIQ plasma		LIQ sérum	
	(log UI/mL)	(UI/mL)	(log UI/mL)	(UI/mL)
A	0,95	8,90	0,83	6,79
B	0,93	8,60	0,56	3,59
C	0,62	4,14	0,64	4,38
D	0,64	4,32	0,60	4,01
E	0,59	3,91	0,56	3,60
F	0,92	8,25	0,88	7,56
G	0,81	6,42	0,82	6,55
H	0,62	4,20	0,78	6,01

Reproductibilité

Pour évaluer la reproductibilité, un panel de 28 échantillons a été créé en diluant des échantillons cliniques positifs pour le VHB (génotypes A et C) ou en ajoutant de l'ADN du VHB (génotypes A et C) dans du plasma et du sérum négatifs pour le VHB. Le panel a été analysé par trois opérateurs à l'aide de trois lots de réactifs sur trois systèmes Panther sur une période de 20 jours ou plus.

Les Tableau 10 et Tableau 11 indiquent la reproductibilité des résultats du test (en log UI/mL) entre les appareils, entre les opérateurs, entre les lots, entre les séries, dans les séries et en général. La variabilité totale était principalement due à la variabilité intra-série (c.-à-d., erreur aléatoire).

Tableau 10 : Reproductibilité du test Aptima HBV Quant Assay pour le génotype A

Matrice	N	Concentration moyenne (log UI/mL)	D'un opérateur à l'autre		D'un appareil à l'autre		D'un lot à l'autre		D'une série à l'autre		Intra-série		Total	
			ET	ETR (%)	ET	ETR (%)	ET	ETR (%)	ET	ETR (%)	ET	ETR (%)	ET	ETR (%)
Plasma	161	1,24	0,02	1,96	0,02	1,75	0,10	7,88	0,02	1,50	0,21	16,80	0,23	18,80
Plasma	162	1,97	0,01	0,75	0,01	0,71	0,08	3,84	0,02	0,76	0,14	7,36	0,17	8,40
Plasma	162	3,23	0,01	0,29	0,01	0,24	0,04	1,39	0,01	0,22	0,08	2,47	0,09	2,87
Plasma	162	4,14	0,03	0,76	0,01	0,28	0,04	0,90	0,01	0,15	0,06	1,38	0,08	1,84
Plasma	162	5,75	0,02	0,39	0,01	0,20	0,06	0,97	0,01	0,13	0,09	1,51	0,11	1,85
Plasma	162	6,98	0,05	0,79	0,03	0,48	0,06	0,91	0,01	0,11	0,09	1,35	0,13	1,87
Plasma	162	7,69	0,03	0,38	0,02	0,23	0,01	0,15	0,01	0,12	0,10	1,30	0,11	1,39
Sérum	160	1,17	0,02	1,93	0,02	1,71	0,06	5,54	0,02	1,64	0,20	17,07	0,21	18,21
Sérum	162	1,82	0,02	1,15	0,01	0,79	0,10	5,43	0,01	0,72	0,15	8,13	0,18	9,90
Sérum	162	3,16	0,01	0,26	0,02	0,62	0,09	2,78	0,02	0,59	0,11	3,38	0,14	4,47
Sérum	162	4,06	0,01	0,19	0,01	0,22	0,04	0,99	0,01	0,15	0,07	1,68	0,08	1,98
Sérum	162	5,60	0,02	0,36	0,01	0,24	0,06	1,15	0,01	0,22	0,13	2,40	0,15	2,70
Sérum	162	6,30	0,03	0,49	0,03	0,42	0,01	0,17	0,01	0,16	0,11	1,77	0,12	1,90
Sérum	162	7,48	0,05	0,62	0,03	0,36	0,02	0,25	0,02	0,23	0,08	1,09	0,10	1,35

ET = écart-type, ETR = écart-type relatif

Remarque : la variabilité de certains facteurs peut être numériquement négative, ce qui peut survenir si la variabilité due à ces facteurs est très minime. Dans ces cas, l'ET et l'ETR sont indiqués par 0.

Tableau 11 : Reproductibilité du test Aptima HBV Quant Assay pour le génotype C

Matrice	N	Concentration moyenne (log UI/mL)	D'un opérateur à l'autre		D'un appareil à l'autre		D'un lot à l'autre		D'une série à l'autre		Intra-série		Total	
			ET	ETR (%)	ET	ETR (%)	ET	ETR (%)	ET	ETR (%)	ET	ETR (%)	ET	ETR (%)
Plasma	161	1,28	0,02	1,73	0,02	1,40	0,07	5,39	0,02	1,28	0,18	14,32	0,20	15,52
Plasma	162	1,98	0,02	0,79	0,01	0,68	0,08	4,02	0,01	0,61	0,14	6,91	0,16	8,08
Plasma	162	3,23	0,01	0,31	0,01	0,39	0,05	1,49	0,01	0,18	0,06	1,97	0,08	2,52
Plasma	162	4,13	0,01	0,18	0,01	0,29	0,04	0,90	0,01	0,15	0,07	1,69	0,08	1,95
Plasma	162	5,78	0,01	0,14	0,02	0,41	0,06	1,04	0,01	0,16	0,10	1,70	0,12	2,05
Plasma	162	6,83	0,01	0,20	0,03	0,42	0,03	0,42	0,01	0,08	0,06	0,93	0,08	1,13
Plasma	162	7,75	0,03	0,33	0,02	0,19	0,02	0,24	0,01	0,08	0,07	0,94	0,08	1,04
Sérum	160	1,20	0,02	1,54	0,02	1,55	0,05	4,24	0,02	1,78	0,18	14,74	0,19	15,59
Sérum	162	1,90	0,02	1,20	0,02	0,87	0,05	2,73	0,01	0,72	0,15	8,10	0,17	8,71
Sérum	162	3,19	0,03	0,93	0,03	0,92	0,05	1,68	0,00	0,05	0,07	2,34	0,10	3,16
Sérum	162	4,04	0,01	0,14	0,01	0,31	0,04	0,94	0,00	0,12	0,05	1,30	0,07	1,64
Sérum	162	5,69	0,01	0,16	0,02	0,36	0,05	0,88	0,01	0,13	0,09	1,50	0,10	1,78
Sérum	162	6,32	0,04	0,64	0,03	0,45	0,04	0,66	0,01	0,14	0,10	1,57	0,12	1,87
Sérum	162	7,23	0,04	0,55	0,02	0,25	0,05	0,68	0,01	0,13	0,10	1,42	0,12	1,69

ET = écart-type, ETR = écart-type relatif

Remarque : la variabilité de certains facteurs peut être numériquement négative, ce qui peut survenir si la variabilité due à ces facteurs est très minime. Dans ces cas, l'ET et l'ETR sont indiqués par 0.

Substances potentiellement interférentes

La susceptibilité du test Aptima HBV Quant Assay aux interférences générées par des taux élevés de substances endogènes ou de médicaments couramment prescrits chez les personnes infectées par le VHB a été évaluée. Des échantillons de plasma négatifs pour le VHB et des échantillons auxquels a été ajouté de l'ADN du VHB à une concentration de 4,3 log 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 des substances définies ou chez des patients souffrant des maladies citées au Tableau 12 ont été analysés avec le test Aptima HBV Quant Assay. Aucune altération de performance du test n'a été observée.

Tableau 12 : Types d'échantillons cliniques testés

Types d'échantillons cliniques	
1	Anticorps antinucléaire (AAN)
2	Facteur rhumatoïde (FR)
3	Cirrhose alcoolique (AC)
4	Hépatite alcoolique
5	Hépatite non alcoolique
6	Hépatite auto-immune
7	Alanine aminotransférase (ALT) élevée
8	Carcinome hépatocellulaire (CHC)
9	Sclérose en plaques (SEP)
10	Lupus érythémateux systémique (LES)
11	Hyperglobulinémie
12	Polyarthrite rhumatoïde (PR)
13	Anticorps anti-Jo-1 (JO-1)
14	Myélome multiple (MM)
15	Hémolysé (hémoglobine élevée)
16	Ictérique (bilirubine élevée)
17	Lipémique (lipides élevés)
18	Protéines élevées
19	Anticorps anti-VHB (vaccinés)
20	Anticorps anti-VHC
21	Anticorps anti-VIH-1 et VIH-2

Aucune altération de performance du test n'a été observée en présence des substances exogènes présentées au Tableau 13 à des concentrations d'au moins trois fois la C_{max} (plasma humain).

Tableau 13 : 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, entécavir, 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

La spécificité a été déterminée à l'aide de 292 échantillons cliniques frais et 747 échantillons cliniques congelés négatifs pour le VHB. Un total de 521 échantillons de plasma et de 518 échantillons de sérum ont été analysés. La spécificité a été calculée comme le pourcentage d'échantillons négatifs pour le VHB avec des résultats « Non détecté ». L'ADN du VHB n'a pas été détecté dans les 1 038 échantillons. La spécificité était de 99,9 % (1 038/1 039, IC à 95 % : 99,5 à 100 %).

Tableau 14 : Spécificité dans les échantillons cliniques de plasma et de sérum

	Plasma frais	Plasma congelé	Plasma total	Sérum frais	Sérum congelé	Sérum total	Combinés
Réplicats valides (n)	145	376	521	147	371	518	1 039
Non détecté	145	376	521	147	370	517	1 038
Spécificité (IC à 95 %)	100 % (97,4-100)	100 % (99,0-100)	100 % (99,3-100)	100 % (97,5-100)	99,7 % (98,5-100)	99,8 % (98,9-100)	99,9 % (99,5-100)

IC = intervalle de confiance

Spécificité analytique

La réactivité croisée potentielle avec les agents pathogènes énumérés au Tableau 15 a été évaluée en la présence ou l'absence d'ADN du VHB dans du plasma humain négatif pour le VHB à 4,3 log UI/mL. Aucune réactivité croisée ou interférence n'a été observée dans le plasma contaminé par les bactéries ou dans les échantillons provenant de sujets infectés par d'autres pathogènes véhiculés par le sang, ou de ceux qui avaient reçu des vaccins contre le VHB ou la grippe.

Tableau 15 : Agents pathogènes testés pour la spécificité analytique

Microorganisme/Agent pathogène	Source	Microorganisme/Agent pathogène	Source
Virus de l'hépatite C	Échantillon clinique	Virus de l'herpès humain de type 8	Liquide de culture
Virus de l'hépatite A	Échantillon clinique	Virus de l'encéphalite japonaise	Liquide d'ascite
Vacciné contre le VHB	Échantillon clinique	Virus de l'encéphalite de la Murray valley	Lysat cellulaire
VIH-1 et -2	Échantillon clinique	Virus de l'encéphalite de Saint-Louis	Liquide de culture
Virus T-lymphotrope humain de type 1 et 2	Échantillon clinique	Virus vaccinal	Lysat cellulaire
Parvovirus B19	Échantillon clinique	Virus de la fièvre jaune	Liquide de culture
Cytomégalovirus	Échantillon clinique	<i>Candida albicans</i>	Culture
Virus de la dengue de type 1-4	Échantillon clinique	<i>Chlamydia trachomatis</i>	Culture
Virus Epstein-Barr	Échantillon clinique	<i>Corynebacterium diphtheriae</i>	Culture
Vacciné contre la grippe	Échantillon clinique	<i>Mycobacterium gordonae</i>	Culture
Papillomavirus humain	Échantillon clinique	<i>Mycobacterium smegmatis</i>	Culture
Virus de l'herpès simplex 1 et 2	Échantillon clinique	<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	Culture
Virus de la rubéole	Échantillon clinique	<i>Propionibacterium acnes</i>	Culture
Virus varicelle-zona	Échantillon clinique	<i>Staphylococcus aureus</i>	Culture
Virus du Nil occidental	Échantillon clinique	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	Culture
BK polyomavirus humains	Lysat cellulaire	<i>Streptococcus pneumoniae</i>	Culture
Virus de l'herpès humain de type 6B	Liquide de culture	<i>Trichomonas vaginalis</i>	Culture

Reproductibilité des échantillons cliniques

La reproductibilité a été évaluée par l'analyse de trois réplicats d'échantillons cliniques de plasma et de sérum positifs naturellement infectés par le VHB. La concentration moyenne et l'écart-type pour les échantillons de plasma et de sérum sont présentés aux Tableaux 16 et 17, respectivement.

Tableau 16 : Reproductibilité des échantillons cliniques de plasma

Échantillon de plasma	Concentration moyenne (log UI/mL)	ET
1	2,08	0,09
2	2,98	0,01
3	2,45	0,09
4	2,32	0,06
5	2,58	0,08
6	3,60	0,06
7	3,45	0,04
8	3,95	0,04
9	3,81	0,05
10	4,26	0,03
11	5,65	0,07
12	6,32	0,06
13	6,79	0,06
14	7,40	0,05
15	8,17	0,02

ET = écart-type

Tableau 17 : Reproductibilité des échantillons cliniques de sérum

Échantillon de sérum	Concentration moyenne (log UI/mL)	ET
1	1,93	0,17
2	2,29	0,09
3	2,78	0,05
4	1,98	0,06
5	2,53	0,07
6	3,53	0,06
7	3,38	0,03
8	3,77	0,02
9	3,45	0,17
10	4,26	0,04
11	6,31	0,02
12	5,45	0,04
13	5,74	0,08
14	7,44	0,04
15	8,47	0,03

ET = écart-type

Dilution d'échantillons à l'aide du diluant d'échantillon

Pour évaluer la récupération de l'ADN du VHB dans les échantillons dilués avec du diluant d'échantillon Aptima, des échantillons de plasma et de sérum couvrant l'ensemble de la plage linéaire ont été dilués 1:3 avec du diluant d'échantillon Aptima. De plus, des échantillons cliniques à titre élevé naturellement infectés et des échantillons auxquels avait été ajouté de l'ADN du VHB aux concentrations supérieures à la LSQ ont été dilués 1:100 avec le diluant d'échantillon Aptima. Chaque échantillon a été testé non dilué et dilué (1:3 ou 1:100) en triplicat. Les différences entre la concentration moyenne signalée (facteur de dilution appliqué au résultat de l'échantillon dilué) et la concentration non diluée moyenne sont indiquées au Tableau 18 pour le plasma et au Tableau 19 pour le sérum. Les concentrations des échantillons ont été récupérées avec précision dans les échantillons dilués.

Tableau 18 : Dilution d'échantillon avec le diluant d'échantillon Aptima dans du plasma

Dilution	Concentration non diluée moyenne (log UI/mL)	Concentration rapportée moyenne ^a (log UI/mL)	Différence (log UI/mL)
1:3	2,08	1,71	-0,37
	2,98	3,02	0,04
	2,45	2,30	-0,15
	2,32	2,06	-0,26
	2,58	2,46	-0,12
	3,60	3,62	0,02
	3,45	3,36	-0,09
	3,95	3,91	-0,04
	3,81	3,72	-0,09
	4,26	4,24	-0,02
	5,65	5,50	-0,15
	6,32	6,08	-0,24
	6,79	6,40	-0,39
	7,40	7,06	-0,34
8,17	8,05	-0,12	
1:100	8,17	7,82	-0,35
	>9,00 ^b (10,20 ^c)	10,40	0,20

^a La concentration signalée est la valeur calculée par le système Panther après l'application du facteur de dilution.

^b Échantillon enrichi en ADN.

^c Valeur de la concentration cible, laquelle est supérieure à la LSQ.

Tableau 19 : Dilution d'échantillon avec le diluant d'échantillon Aptima dans du sérum

Dilution	Concentration non diluée moyenne (log UI/mL)	Concentration rapportée moyenne ^a (log UI/mL)	Différence (log UI/mL)
1:3	1,93	1,50	-0,43
	2,29	2,00	-0,29
	2,78	2,45	-0,33
	1,98	1,50	-0,48
	2,53	2,23	-0,30
	3,53	3,59	0,06
	3,38	3,21	-0,17
	3,77	3,68	-0,09
	3,45	3,35	-0,10
	4,26	4,16	-0,10
	6,31	5,98	-0,33
	5,45	5,24	-0,21
	5,74	5,62	-0,12
	7,44	7,19	-0,25
	8,47	8,31	-0,16
1:100	8,47	8,19	-0,28
	>9,00 ^b (10,20 ^c)	10,43	0,23

^a La concentration signalée est la valeur calculée par le système Panther après l'application du facteur de dilution.

^b Échantillon enrichi en ADN.

^c Valeur de la concentration cible, laquelle est supérieure à la LSQ.

Corrélation de la méthode

La performance du test Aptima HBV Quant Assay a été évaluée par rapport à un test comparatif marqué CE et homologué par Santé Canada en analysant des échantillons cliniques non dilués de patients infectés par le VHB. Un total de 614 échantillons cliniques dans la gamme linéaire commune aux deux tests ont été utilisés pour la régression linéaire, comme l'illustre la Figure 8.

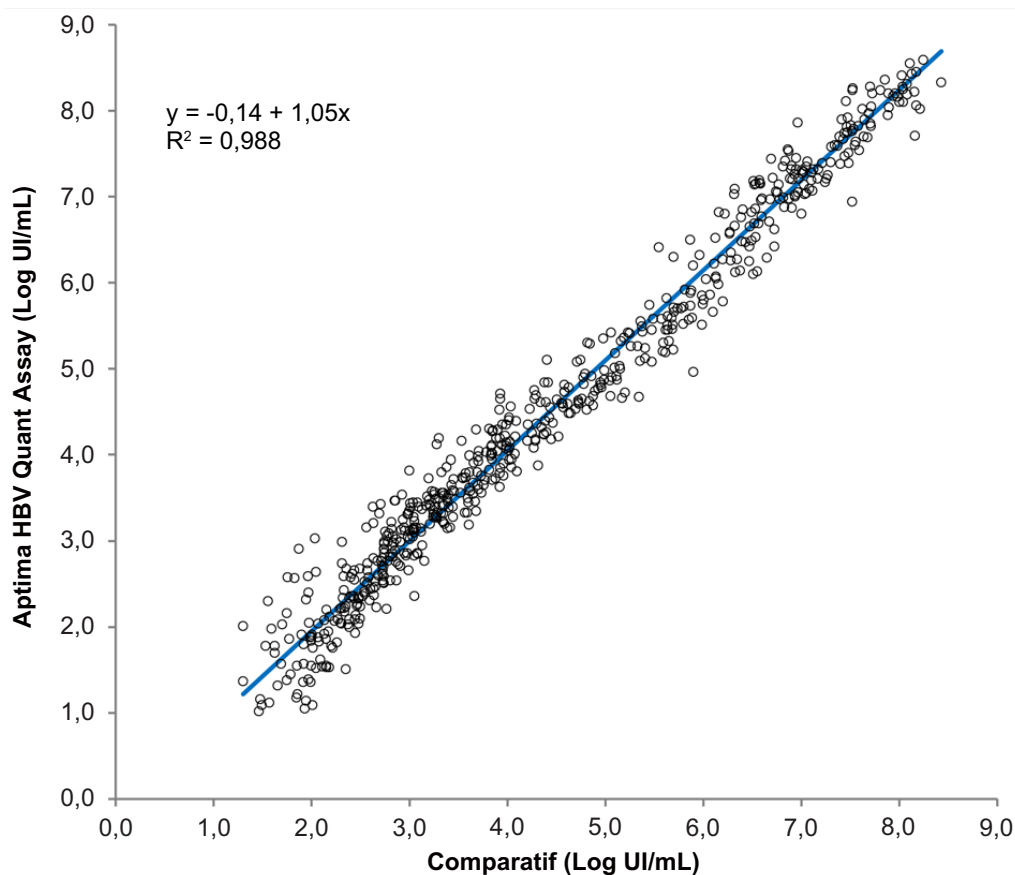


Figure 8. Corrélation entre le test Aptima HBV Quant Assay et le test comparatif

Contamination de transfert

Afin d'établir que le système Panther minimise le risque de résultats faussement positifs par contamination de transfert, une étude a été menée sur trois systèmes Panther avec des échantillons enrichis en ARN. La contamination par transfert a été évaluée à l'aide d'échantillons à titre élevé enrichis en ADN du VHB (8 log UI/mL) répartis entre des échantillons négatifs pour le VHB selon un motif en damier. Les tests ont comporté un ensemble de quinze séries. Le taux de contamination de transfert global était de 0,0 % (0/705).

Bibliographie

1. **Lok AS, McMahon BJ.** AASLD Practice Guideline Update. Chronic Hepatitis B: Update 2009. *Hepatology*. 2009; 50(3):661-662;1-36.
2. **Aspinall EJ, Hawkins G, Fraser A, Hutchinson SJ, Goldberg D.** Hepatitis B prevention, diagnosis, treatment and care: a review. *Occupational Medicine* 2011; 61(8):531-540.
3. **Centers for Disease Control and Prevention/National Institutes of Health.** Early Identification and Linkage to Care of Persons with Chronic Hepatitis B Virus Infection - Three U.S. Sites, 2012-2014. May 9, 2014, 63(18):399-401.
4. **Liaw YF, Chu CM.** Hepatitis B virus infection. *Lancet*. 2009;373(9663):582-92.
5. **European Association for the Study of the Liver.** EASL Clinical Practice Guidelines: Management of chronic hepatitis B virus infection. *Journal of Hepatology* 2012; 57:167-185.
6. **International Agency for Research on Cancer.** Hepatitis B Virus. *IARC Monographs* 2012; 100B: 93-133.
7. **Price, J.** An Update on Hepatitis B, D, and E Viruses. *Topics in Antiviral Medicine* 2014; 21(5): 157-163.
8. **Clinical and Laboratory Standards Institute.** 2005. Collection, Transport, Preparation, and Storage of Specimens for Molecular Methods; Approved Guideline. CLSI Document MM13-A. Wayne, PA.
9. **29 CFR Part 1910.1030.** Occupational Exposure to Bloodborne Pathogens; current version.
10. **Centers for Disease Control and Prevention/National Institutes of Health.** Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories (BMBL); current version.
11. **Clinical and Laboratory Standards Institute.** 2002. Clinical Laboratory Waste Management. CLSI Document GP5-A2. Villanova, PA.
12. **Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI).** 2012. Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures; Approved Guideline—Second Edition. CLSI Document EP17-A2. Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne, PA.
13. **Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI).** 2003. Evaluation of the Linearity of Quantitative Measurement Procedures: A Statistical Approach; Approved Guideline. CLSI document EP06-A. Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne, PA.



Hologic, Inc.
10210 Genetic Center Drive
San Diego, CA 92121 É.-U.

Soutien à la clientèle : +1-800 442 9892
customersupport@hologic.com
Soutien technique : +1-888-484-4747
molecularsupport@hologic.com

Pour d'autres coordonnées, visitez le site www.hologic.com.



Hologic N.V.
Da Vincilaan 5
1930 Zaventem
Belgium

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

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

© 2016-2018 Hologic, Inc. Tous droits réservés.
AW-13182-2201 Rév. 004
2018-03