

# Xpert<sup>®</sup> HBV Viral Load

**REF** GXHBV-VL-CE-10

Mode d'emploi

**CE** 2797 **IVD**

## **Déclarations sur les marques de commerce, les brevets et le droit d'auteur**

### **Trademark, Patents and Copyright Statements**

Cepheid<sup>®</sup>, the Cepheid logo, GeneXpert<sup>®</sup>, and Xpert<sup>®</sup> are trademarks of Cepheid, registered in the U.S. and other countries.

All other trademarks are the property of their respective owners.

THE PURCHASE OF THIS PRODUCT CONVEYS TO THE BUYER THE NON-TRANSFERABLE RIGHT TO USE IT IN ACCORDANCE WITH THESE INSTRUCTIONS FOR USE. NO OTHER RIGHTS ARE CONVEYED EXPRESSLY, BY IMPLICATION OR BY ESTOPPEL. FURTHERMORE, NO RIGHTS FOR RESALE ARE CONFERRED WITH THE PURCHASE OF THIS PRODUCT.

**© 2018-2023 Cepheid.**

Cepheid<sup>®</sup>, le logo Cepheid, GeneXpert<sup>®</sup> et Xpert<sup>®</sup> sont des marques commerciales de Cepheid enregistrées aux États-Unis et dans d'autres pays.

Toutes les autres marques commerciales sont la propriété de leurs détenteurs respectifs.

L'ACHAT DE CE PRODUIT CONCÈDE À L'ACHETEUR LE DROIT NON TRANSFÉRABLE DE L'UTILISER CONFORMÉMENT À CETTE NOTICE D'UTILISATION. AUCUN AUTRE DROIT N'EST CONCÉDÉ QUE CE SOIT EXPRESSÉMENT, DE FAÇON IMPLICITE OU PAR PRÉCLUSION. DE PLUS, AUCUN DROIT DE REVENTE N'EST CONCÉDÉ AVEC L'ACHAT DE CE PRODUIT.

**© 2018-2023 Cepheid.**

# Xpert<sup>®</sup> HBV Viral Load

---

Réservé au diagnostic *in vitro*.

## 1 Nom de marque déposée

Xpert<sup>®</sup> HBV Viral Load

## 2 Nom commun ou usuel

Xpert HBV VL

## 3 Utilisation prévue

Le test de Cepheid Xpert<sup>®</sup> HBV Viral Load (VL) est un test d'amplification des acides nucléiques *in vitro* conçu pour la quantification de l'ADN du virus de l'hépatite B (HBV) dans le sérum ou le plasma humains (EDTA) d'individus atteints d'une infection chronique causée par le HBV en utilisant les systèmes GeneXpert<sup>®</sup> automatisés.

Le test est prévu pour être utilisé conjointement au tableau clinique et aux autres marqueurs biologiques pour le pronostic de la pathologie et pour faciliter l'évaluation de la réponse virale au traitement antiviral, telle que mesurée par la variation des taux plasmatiques ou sériques de l'ADN du HBV.

Le test n'est pas conçu pour être utilisé en tant que test de dépistage du HBV chez les donneurs ni comme test diagnostique pour confirmer la présence de l'infection à HBV.

## 4 Synthèse et description

Le virus de l'hépatite B (HBV) est un petit virus enveloppé à ADN de la famille Hepadnaviridae et est responsable de l'hépatite B (HBV) aiguë et chronique. Le virus a un petit génome d'ADN circulaire partiellement à double brin, partiellement à simple brin et mesure 42 nm de diamètre. Le HBV contient de nombreux composants antigéniques, notamment l'antigène de surface de l'hépatite B (AgHBs), l'antigène capsidique de l'hépatite B (AgHBc) et l'antigène e de l'hépatite B (AgHBe). Le HBV est transmis par une exposition percutanée ou muco-sale au sang ou aux liquides corporels d'une personne infectée, d'une mère infectée à son nouveau-né, par le contact étroit entre les membres d'un ménage, par le biais d'une transfusion de produits sanguins non testés ou d'injections risquées dans les cadres de soins de santé, par la consommation de drogues par voie intraveineuse et par le contact sexuel avec une personne infectée.

L'hépatite B chronique (Hbc) peut être présente soit sous la forme d'antigène e positif pour l'hépatite B (AgHBe), soit sous la forme d'AgHBe négatif pour l'HBc. La séroprévalence de l'AgHBs spécifique à l'âge varie d'une manière considérable selon la région géographique, avec la prévalence la plus élevée (>5 %) survenant en Afrique subsaharienne, en Extrême-Orient, dans certaines régions des Balkans, les îles du Pacifique et le bassin amazonien d'Amérique du Sud. Une prévalence en dessous de 2 % est observée dans des régions comme l'Amérique latine centrale, l'Amérique du Nord et l'Europe de l'Ouest. Globalement, presque la moitié de la population mondiale vit dans des zones d'endémicité élevée.<sup>1</sup> La morbidité et la mortalité de l'HBc sont liées à la persistance de la répllication virale et à l'évolution vers une cirrhose et/ou un carcinome hépatocellulaire (CHC).<sup>2</sup> La mortalité due à l'hépatite virale a augmenté avec le temps et continuera à augmenter à moins que les personnes atteintes ne soient diagnostiquées et traitées.<sup>3</sup>

Un vaccin anti-HBV est disponible pour les enfants et a réduit de manière considérable le nombre de nouvelles infections chroniques, mais la couverture n'est que de 39 %.<sup>3</sup> En 2015, 3,5 % de la population mondiale vivait avec une infection à HBV chronique, avec les régions du Pacifique Ouest et de l'Afrique étant les régions les plus lourdement touchées.<sup>3</sup> Seulement 9 % des personnes atteintes d'HBV connaissaient leur diagnostic, et sur les personnes, diagnostiquées, seulement 8 % recevaient un traitement.<sup>3</sup> Les analogues nucléosidiques et nucléotidiques, comme le ténofovir et l'entécavir, sont

recommandés pour ceux qui sont éligibles pour recevoir un traitement, car ces agents antiviraux sont efficaces lorsqu'il s'agit de supprimer la réplication de l'HBV, supprimant ainsi la progression jusqu'à la cirrhose et réduisant le nombre de décès liés au foie.<sup>1</sup> Le traitement du HBV est maintenu pendant toute la vie.<sup>1</sup>

## 5 Principe de la procédure

Le test Xpert® HBV VL est un test automatisé pour la détection quantitative du virus de l'hépatite B. Le test est réalisé sur les systèmes GeneXpert et GeneXpert Infinity de Cepheid.

Les systèmes GeneXpert automatisent et intègrent la purification des échantillons, l'amplification de l'acide nucléique et la détection de la séquence cible dans des échantillons simples ou complexes, en utilisant des tests de PCR en temps réel. Les systèmes comportent un instrument, un ordinateur personnel et un logiciel préinstallé pour l'exécution des tests et l'affichage des résultats. Les systèmes requièrent l'utilisation de cartouches GeneXpert jetables et à usage unique qui contiennent les réactifs PCR et hébergent les processus de purification et de PCR. Les cartouches étant closes, la contamination croisée entre les échantillons est réduite au minimum. Pour obtenir une description complète des systèmes, consulter le *Manuel d'utilisation du GeneXpert Dx* ou le *Manuel d'utilisation du GeneXpert Infinity* approprié.

Le test Xpert® HBV VL comprend les réactifs pour la détection de l'ADN du HBV dans les échantillons cliniques et deux contrôles internes utilisés pour la quantification de l'ADN du HBV. Les contrôles internes sont également utilisés pour vérifier le traitement adéquat de la cible et pour surveiller la présence d'inhibiteurs lors des réactions de PCR. Le contrôle de vérification des sondes (CVS) consiste à vérifier la réhydratation du réactif, le remplissage du tube de PCR dans la cartouche, l'intégrité des sondes et la stabilité du fluorochrome.

Le test est étalonné par rapport au 4<sup>th</sup> étalon international de l'Organisation mondiale de la Santé (OMS) pour l'ADN du HBV pour les technologies d'amplification de l'acide nucléique (code NIBSC : 10/266).<sup>4</sup>

## 6 Réactifs et instruments

### 6.1 Matériel fourni

Le kit de test HBV VL contient suffisamment de réactifs pour traiter 10 échantillons et/ou échantillons de contrôle qualité. Le kit contient les éléments suivants :

<b>Cartouches HBV VL avec tubes réactionnels intégrés</b>	<b>10</b>
<ul style="list-style-type: none"> <li>• Bille 1, Bille 2 et Bille 3 (lyophilisées)</li> <li>• Réactif de lyse (thiocyanate de guanidinium)</li> <li>• Réactif de rinçage</li> <li>• Réactif d'éluion</li> <li>• Réactif de fixation</li> <li>• Réactif protéinase K</li> </ul>	1 de chaque par cartouche 1,7 ml par cartouche 0,5 ml par cartouche 1,5 ml par cartouche 1,5 ml par cartouche 0,48 ml par cartouche
<b>Pipettes de transfert jetables (1 ml)</b>	<b>10 par kit</b>
<b>CD</b>	<b>1 par kit</b>
<ul style="list-style-type: none"> <li>• Fichier de définition du test (Assay Definition File, ADF)</li> <li>• Instructions pour l'importation du fichier ADF dans le logiciel GeneXpert et Infinity</li> <li>• Mode d'emploi (notice d'utilisation)</li> </ul>	

**Remarque** Les fiches de données de sécurité (FDS) sont disponibles à l'adresse [www.cepheid.com](http://www.cepheid.com) ou [www.cepheidinternational.com](http://www.cepheidinternational.com) sous l'onglet **ASSISTANCE (SUPPORT)**.

**Remarque** Le sérum-albumine bovine (bovine serum albumin, BSA) des billes de ce produit a été produite et fabriquée exclusivement à partir de plasma bovin provenant des États-Unis. Les animaux n'ont pas été alimentés par des protéines de ruminant ou d'autres protéines animales ; ils ont subi avec succès les analyses ante- et post-mortem. Pendant le traitement, le produit n'a été mélangé à aucun autre matériel d'origine animale.

## 7 Conservation et manipulation

- Stocker les cartouches de test Xpert® HBV VL à une température comprise entre 2 et 35 °C jusqu'à la date de péremption indiquée sur l'étiquette.
- Amener les cartouches à la température ambiante avant l'emploi si elles ont été conservées au froid.
- Ne pas utiliser les cartouches au-delà de la date de péremption.
- Ne pas ouvrir le couvercle de la cartouche avant d'être en mesure de réaliser le test.
- Ne pas utiliser une cartouche qui a fui.

## 8 Matériel requis mais non fourni

- Systèmes d'instrument GeneXpert® Dx ou GeneXpert® Infinity (le numéro de référence varie selon la configuration) : instrument GeneXpert, ordinateur avec logiciel exclusif GeneXpert version 4.7b ou ultérieure (systèmes GeneXpert Dx) ou Xpertise version 6.4b ou ultérieure (Infinity-80/Infinity-48s), lecteur de code-barres et manuel d'utilisation du système d'instrument GeneXpert.
- Imprimante : si une imprimante est requise, contacter le service support technique de Cepheid pour organiser l'achat d'une imprimante recommandée.
- Eau de Javel ou hypochlorite de sodium
- Éthanol dénaturé

## 9 Avertissements et mises en garde

### 9.1 Général

- Réservé à un usage de diagnostic *in vitro*.
- Traiter tous les échantillons biologiques, y compris les cartouches usagées, comme s'ils étaient susceptibles de transmettre des agents infectieux. Tous les échantillons biologiques doivent être traités en respectant les précautions standard puisqu'il est souvent impossible de déterminer ceux qui pourraient être infectieux. Les U.S. Centers for Disease Control and Prevention (Centres pour le contrôle et la prévention des maladies aux États-Unis)<sup>5</sup> et le Clinical and Laboratory Standards Institute (Institut des normes cliniques et de laboratoire) tiennent à disposition des directives concernant la manipulation des échantillons.<sup>6</sup>
- Il est recommandé de respecter les bonnes pratiques de laboratoire, notamment de changer de gants après la manipulation de chaque échantillon, pour éviter la contamination des échantillons ou des réactifs.
- Respecter les procédures de sécurité de l'établissement pour la manipulation de produits chimiques et d'échantillons biologiques.
- Ne pas remplacer les réactifs du test Xpert HBV VL par d'autres réactifs.
- Ne pas ouvrir le couvercle de la cartouche Xpert HBV VL avant d'être prêt à ajouter l'échantillon
- Ne pas utiliser une cartouche qui est tombée après l'avoir retirée de son emballage.
- Ne pas agiter la cartouche. L'agitation ou la chute de la cartouche après l'ouverture de son couvercle peut entraîner des résultats non valides.
- Ne pas utiliser une cartouche dont le tube réactionnel est endommagé.
- Ne pas recouvrir l'étiquette à code-barres sur la cartouche.
- Utiliser une pipette de transfert ou une pipette de précision pour ajouter l'échantillon à la cartouche. Ne pas verser l'échantillon directement du dispositif de prélèvement dans la cartouche.
- Chaque cartouche Xpert HBV VL à usage unique est utilisée pour effectuer un seul test. Ne pas réutiliser les cartouches.
- Chaque pipette jetable à usage unique est utilisée pour transférer un échantillon. Ne pas réutiliser les pipettes jetables usagées.
- Porter une blouse propre et des gants. Changer de gants entre chaque échantillon.
- En cas de contamination de la zone de travail ou de l'équipement avec des échantillons ou des contrôles, nettoyer minutieusement la zone contaminée avec une solution d'hypochlorite de sodium à 0,5 % fraîchement préparée (ou une dilution au 1/10e d'eau de Javel domestique). Essuyer ensuite la surface avec de l'éthanol à 70 %. Laisser les surfaces de travail sécher complètement avant de poursuivre.
- Les échantillons biologiques, les dispositifs de transfert et les cartouches usagées doivent être considérés capables de transmettre des agents infectieux exigeant des précautions standard. Suivre les procédures environnementales d'élimination des déchets de l'établissement pour l'élimination appropriée des cartouches usagées et des réactifs

inutilisés. Ces matériaux peuvent présenter des caractéristiques de déchets chimiques dangereux exigeant des procédures d'élimination spécifiques au niveau national ou régional. En l'absence de directives claires de la réglementation nationale ou régionale sur l'élimination appropriée, les échantillons biologiques et les cartouches usagées doivent être éliminés conformément aux directives de manipulation et d'élimination des déchets médicaux de l'OMS [Organisation mondiale de la Santé].<sup>7</sup>

## 10 Risques chimiques<sup>8,9</sup>

### Réactif de lyse (thiocyanate de guanidinium)

- Mention d'avertissement : ATTENTION
- **Mentions de danger SGH ONU**
  - Nocif en cas d'ingestion
  - Provoque une légère irritation cutanée
  - Provoque une irritation des yeux
- **Conseils de prudence SGH ONU**
  - **Prévention**
    - Se laver soigneusement après manipulation.
  - **Réponse**
    - En cas d'irritation cutanée : consulter un médecin.
    - 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.
    - Si l'irritation des yeux persiste : consulter un médecin.
    - Appeler un CENTRE ANTIPOISON ou un médecin en cas de malaise.

## 11 Prélèvement, transport et conservation des échantillons

Le sang total doit être recueilli dans des tubes de prélèvement K<sub>2</sub>-EDTA, PPT-EDTA ou de sérum et centrifugé pour séparer le plasma ou le sérum des globules rouges, conformément aux directives du fabricant.

- Au moins 0,6 ml de plasma ou de sérum est requis pour le test Xpert HBV VL. Si la pipette de transfert fournie dans le kit est utilisée, la pipette doit être remplie jusqu'au quatrième repère (1,0 ml) avec du plasma ou du sérum. En option, si une pipette de précision est utilisée, 0,6 ml de plasma ou de sérum est requis. Voir les directives dans la Section 12.2, Option 1 et Option 2, respectivement.
- Le sang total peut être conservé à 2–35 °C pendant 24 heures au maximum, ou à 2–8 °C pendant 3 jours au maximum, avant la préparation du plasma ou du sérum. La centrifugation doit être réalisée conformément aux directives du fabricant.
- Après la centrifugation et la séparation, le plasma et le sérum peuvent être conservés à 2–35 °C pendant 24 heures au maximum, ou à 2–8 °C pendant 7 jours au maximum, avant de procéder au test.
- Les échantillons de plasma et de sérum restent stables sous congélation (-80 à -20 °C) pendant 6 semaines.
- Les échantillons de plasma et de sérum restent stables pendant trois cycles de congélation/décongélation au maximum.
- Les échantillons de plasma et de sérum doivent être décongelés et équilibrés à la température ambiante avant le transfert dans la cartouche.
- Le transport des échantillons de sang total, de plasma ou de sérum doit respecter les réglementations nationales, régionales et locales relatives au transport d'agents étiologiques.

## 12 Procédure

### 12.1 Préparation de l'échantillon

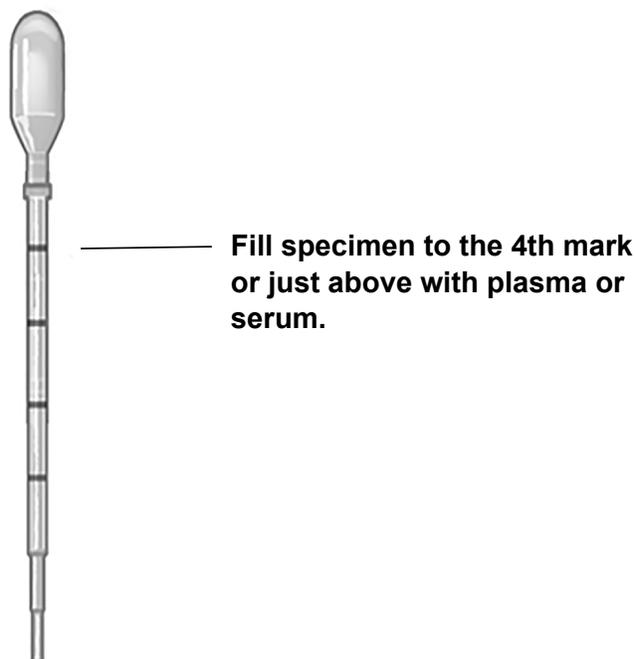
**Remarque** Démarrer le test dans les 4 heures qui suivent l'ajout de l'échantillon à la cartouche.

1. Après la centrifugation des échantillons de sang total, il est possible de pipeter le plasma directement dans la cartouche. Un volume suffisant est essentiel pour obtenir des résultats de test valides (voir les instructions dans la Section 12.2. Préparation de la cartouche).
2. Si des échantillons congelés sont utilisés, laisser ceux-ci reposer à température ambiante (20–35 °C) jusqu'à ce qu'ils soient complètement décongelés et équilibrés à la température ambiante avant utilisation.
3. Les échantillons de plasma et de sérum conservés à 2–8 °C doivent être retirés du réfrigérateur et équilibrés à la température ambiante avant utilisation.
4. Les échantillons de plasma conservés à 2–8 °C ou congelés puis décongelés doivent être passés au Vortex pendant 10 secondes avant utilisation. Si l'échantillon est trouble, le clarifier en le centrifugeant brièvement.

## 12.2 Préparation de la cartouche

1. Porter des gants de protection jetables.
2. Amener les cartouches à la température ambiante avant l'emploi si elles ont été conservées au froid.
3. Examiner la cartouche pour vérifier qu'elle n'est pas endommagée. Si elle est endommagée, ne pas l'utiliser.
4. Étiqueter la cartouche avec l'identification de l'échantillon.
5. Ouvrir le couvercle de la cartouche.
6. Ajouter l'échantillon à la cartouche.
  - **Option 1** : Si la pipette de transfert fournie dans le kit est utilisée (voir la Figure 1), la pipette doit être remplie jusqu'au quatrième repère (1,0 ml) ou légèrement au-dessus avec le plasma ou le sérum du tube de prélèvement. Vider le contenu de la pipette dans la chambre d'échantillon de la cartouche (voir la Figure 2).
  - **Option 2** : Si une pipette de précision est utilisée, transférer 0,6 ml de plasma ou de sérum du tube de prélèvement dans la chambre d'échantillon de la cartouche (voir la Figure 2).

**Remarque** Ne pas retirer le film plastique mince qui recouvre l'anneau interne de 13 orifices de la cartouche.



**Figure 1. Pipette de transfert du test Xpert HBV VL**

7. Fermer le couvercle de la cartouche. S'assurer que le couvercle s'enclenche fermement en place.



Figure 2. Cartouche du Xpert HBV VL (vue de dessus)

### 12.3 Démarrage du test

<b>Important</b>	<p><b>Avant de démarrer le test, s'assurer que le fichier de définition du test Xpert HBV VL est importé dans le logiciel.</b></p>
	<p>Cette section énumère les étapes de base pour l'exécution du test. Pour des instructions détaillées, consulter le <i>Manuel d'utilisation du système GeneXpert Dx</i> ou le <i>Manuel d'utilisation du système GeneXpert Infinity</i>, selon le modèle utilisé.</p>
<b>Remarque</b>	<p>Les étapes à suivre peuvent être différentes si l'administrateur du système a modifié le schéma opérationnel par défaut du système.</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>Mettre le système GeneXpert sous tension : <ul style="list-style-type: none"> <li>Si l'instrument GeneXpert Dx est utilisé, commencer par mettre l'instrument GeneXpert Dx sous tension, puis allumer l'ordinateur. Le logiciel GeneXpert Dx se lancera automatiquement ou nécessitera un double-clic sur l'icône de raccourci du logiciel GeneXpert Dx sur le bureau Windows®.</li> <li>ou</li> <li>Si l'instrument GeneXpert Infinity est utilisé, allumer l'instrument. Le logiciel GeneXpert se lancera automatiquement ou nécessitera un double-clic sur l'icône de raccourci du logiciel Xpertise sur le bureau Windows®.</li> </ul> </li> <li>Se connecter au logiciel du système GeneXpert en saisissant le nom d'utilisateur et le mot de passe.</li> <li>Dans la fenêtre du système GeneXpert, cliquer sur <b>Créer un test (Create Test)</b> (GeneXpert Dx) ou cliquer sur <b>Commandes (Orders)</b> et <b>Commander test (Order Test)</b> (Infinity). La fenêtre <b>Créer un test (Create Test)</b> s'affiche.</li> <li>Lire le N° Id du patient (Patient ID) (facultatif). S'assurer, le cas échéant, de saisir correctement le N° Id du patient (Patient ID). Le N° Id du patient (Patient ID) est affiché sur le côté gauche de la fenêtre Afficher les résultats (View Results) et est associé aux résultats du test.</li> <li>Scanner le N° Id de l'échantillon (Sample ID) ou le saisir. S'assurer, le cas échéant, de saisir correctement le n° Id de l'échantillon (Sample ID). Le n° Id de l'échantillon (Sample ID) est affiché sur le côté gauche de la fenêtre Afficher les résultats (View Results) et est associé aux résultats du test.</li> <li>Scanner le code-barres sur la cartouche de test Xpert HBV VL. Grâce aux informations du code-barres, le logiciel remplit automatiquement les cases des champs suivants : N° du lot de réactif (Reagent Lot ID), Numéro de série de la cartouche (Cartridge SN) et Date de péremption (Expiration Date).</li> </ol>
<b>Remarque</b>	<p>S'il n'est pas possible de scanner le code-barres sur la cartouche Xpert HBV VL, refaire le test avec une nouvelle cartouche.</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>Cliquer sur <b>Démarrer le test (Start Test)</b> (GeneXpert Dx) ou sur <b>Soumettre (Submit)</b> (Infinity). Saisir votre mot de passe dans la boîte de dialogue qui apparaît.</li> <li>Pour le système GeneXpert Infinity, placer la cartouche sur le tapis roulant. La cartouche sera automatiquement chargée, le test sera exécuté et la cartouche usagée sera placée dans le conteneur à déchets.</li> <li>ou</li> </ol>

Pour l'instrument GeneXpert Dx :

- Ouvrir la porte du module de l'instrument avec le voyant vert clignotant et charger la cartouche.
- Fermer la porte. Le test démarre et le voyant vert arrête de clignoter. Lorsque le test est terminé, le voyant s'éteint.
- Attendre que le système déverrouille la porte du module avant de l'ouvrir et de retirer la cartouche.
- Éliminer les cartouches usagées dans un conteneur à déchets pour échantillons approprié, conformément aux pratiques standard de l'établissement.

## 13 Affichage et impression des résultats

Cette section énumère les étapes de base pour l'affichage et l'impression des résultats. Pour des instructions plus détaillées sur l'affichage et l'impression des résultats, consulter le *Manuel d'utilisation du système GeneXpert Dx* ou le *Manuel d'utilisation du système GeneXpert Infinity System*, selon l'instrument utilisé.

- Cliquer sur l'icône **Afficher les résultats (View Results)** pour afficher les résultats.
- Une fois le test terminé, cliquer sur le bouton **Rapport (Report)** de la fenêtre **Afficher les résultats (View Results)** pour afficher et/ou créer un fichier de rapport au format pdf.

## 14 Contrôle qualité

Chaque test comprend un contrôle d'adéquation du volume de l'échantillon (AVE), une référence interne quantitative, niveaux haut et bas (RIQ-H et RIQ-B), des paramètres spécifiques au lot (LSP) et un contrôle de vérification des sondes (CVS).

- Adéquation du volume de l'échantillon (AVE)** – Vérifie que l'échantillon a été ajouté correctement à la cartouche. L'AVE vérifie que le volume d'échantillon adéquat a été ajouté à la chambre d'échantillon. L'AVE réussit si elle répond aux critères d'acceptation validés. Si l'AVE échoue, **Erreur 2096 (Error 2096)** s'affiche si aucun échantillon n'a été ajouté à la cartouche ou **ERREUR 2097 (ERROR 2097)** si une quantité insuffisante de l'échantillon a été ajoutée à la cartouche. Le système empêche l'utilisateur de reprendre le test.
- Référence interne quantitative, niveaux haut et bas (RIQ-H et RIQ-B)** – RIQ-H et RIQ-B sont deux plasmides linéarisés avec une séquence sans relation avec le HBV qui sont inclus dans chaque cartouche et qui suivent tout le processus du test. Ce sont des étalons utilisés pour calculer la concentration d'ADN du HBV dans l'échantillon. De plus, la RIQ-H et la RIQ-B détectent l'inhibition de la PCR en temps réel associée à l'échantillon, agissant ainsi comme contrôles de traitement de l'échantillon. La RIQ-H et la RIQ-B réussissent si elles répondent aux critères d'acceptation validés.
- Paramètres spécifiques au lot (LSP) pour la quantification** – Chaque lot de kit dispose de LSP intégrés, générés par un panel d'étalonnage du HBV traçable par rapport au 4<sup>e</sup> étalon de l'OMS pour le HBV (code NISCS : 10/266)<sup>4</sup>, et à la RIQ-H et la RIQ-B. Les LSP sont spécifiques au lot de réactif et sont utilisés pour garantir une quantification correcte.
- Contrôle de vérification des sondes (CVS)** – Avant le début de la réaction PCR, le système GeneXpert mesure le signal de fluorescence des sondes pour surveiller la réhydratation des billes, le remplissage des tubes réactionnels, l'intégrité de la sonde et la stabilité du fluorochrome. Le CVS réussit si les signaux de fluorescence répondent aux critères d'acceptation validés.
- Contrôles externes** – Selon les bonnes pratiques de laboratoire, des contrôles externes, non compris dans le kit, doivent être utilisés conformément aux exigences des organismes d'accréditation locaux et régionaux selon les besoins.

## 15 Interprétation des résultats

Les résultats sont automatiquement interprétés par le système GeneXpert à partir des signaux fluorescents mesurés et des algorithmes de calcul intégrés, puis ils sont clairement affichés dans la fenêtre Afficher les résultats (View Results) (voir les Figure 3 à Figure 8). Les résultats possibles sont présentés dans le Tableau 1.

Tableau 1. Résultats et interprétation du test Xpert HBV VL

Résultat	Interprétation
<b>HBV DÉTECTÉ UI/mL (log X,XX) (HBV DETECTED IU/mL (log X.XX))</b> Voir le Figure 3.	L'ADN du HBV est détecté à XX UI/ml (log X,XX). <ul style="list-style-type: none"> <li>L'ADN du HBV a un titre compris dans la plage quantitative du test (10 à 1,00E09 UI/ml).</li> <li>RIQ-H et RIQ-B : RÉUSSITE (PASS).</li> <li>Vérification des sondes – RÉUSSITE (PASS) ; tous les résultats de vérification des sondes ont réussi.</li> </ul>
<b>HBV DÉTECTÉ &gt;1,00E09 UI/ml (HBV DETECTED &gt;1.00E09 IU/mL)</b> Voir le Figure 4.	L'ADN du HBV est détecté au-dessus de la plage quantitative du test. <ul style="list-style-type: none"> <li>RIQ-H et RIQ-B : RÉUSSITE (PASS).</li> <li>Vérification des sondes – RÉUSSITE (PASS) ; tous les résultats de vérification des sondes ont réussi.</li> </ul>
<b>HBV DÉTECTÉ &lt;10 UI/ml (HBV DETECTED &lt; 10 IU/mL)</b> Voir le Figure 5.	L'ADN du HBV est détecté en dessous de la plage quantitative du test. <ul style="list-style-type: none"> <li>RIQ-H et RIQ-B : RÉUSSITE (PASS).</li> <li>Vérification des sondes – RÉUSSITE (PASS) ; tous les résultats de vérification des sondes ont réussi.</li> </ul>
<b>HBV NON DÉTECTÉ</b> Voir le Figure 6.	L'ADN du HBV n'est pas détecté. <ul style="list-style-type: none"> <li>RIQ-H et RIQ-B : RÉUSSITE (PASS).</li> <li>Vérification des sondes – RÉUSSITE (PASS) ; tous les résultats de vérification des sondes ont réussi.</li> </ul>
<b>NON VALIDE (INVALID)</b> Voir le Figure 7.	La présence ou l'absence de l'ADN du HBV est impossible à déterminer. Répéter le test conformément aux instructions données dans la Section 16.2. Procédure de répétition du test. <ul style="list-style-type: none"> <li>RIQ-H et/ou RIQ-B : ÉCHEC (FAIL) ; les valeurs de cycle seuil (Ct) ne sont pas dans la plage de validation.</li> <li>Vérification des sondes – RÉUSSITE (PASS) ; tous les résultats de vérification des sondes ont réussi.</li> </ul>
<b>ERREUR (ERROR)</b> Voir le Figure 8.	La présence ou l'absence de l'ADN du HBV est impossible à déterminer. Répéter le test conformément aux instructions données dans la Section 16.2. Procédure de répétition du test. <ul style="list-style-type: none"> <li>Vérification des sondes – ÉCHEC (FAIL)* ; échec d'un ou de tous les résultats de vérification des sondes.</li> </ul> <p>* Si la vérification des sondes a réussi, l'erreur est due au dépassement de la limite de pression maximale au-delà de la plage de validation ou à la défaillance d'un composant du système.</p>
<b>PAS DE RÉSULTAT (NO RESULT)</b>	La présence ou l'absence de l'ADN du HBV est impossible à déterminer. Répéter le test conformément aux instructions données dans la Section 16.2. Procédure de répétition du test. Un résultat <b>PAS DE RÉSULTAT (NO RESULT)</b> indique que les données recueillies étaient insuffisantes. Par exemple, l'opérateur a interrompu un test en cours.

**Remarque** Les captures d'écran du test sont présentées uniquement à titre d'exemple. Le numéro de version peut varier par rapport aux captures d'écran présentées dans cette notice d'utilisation.

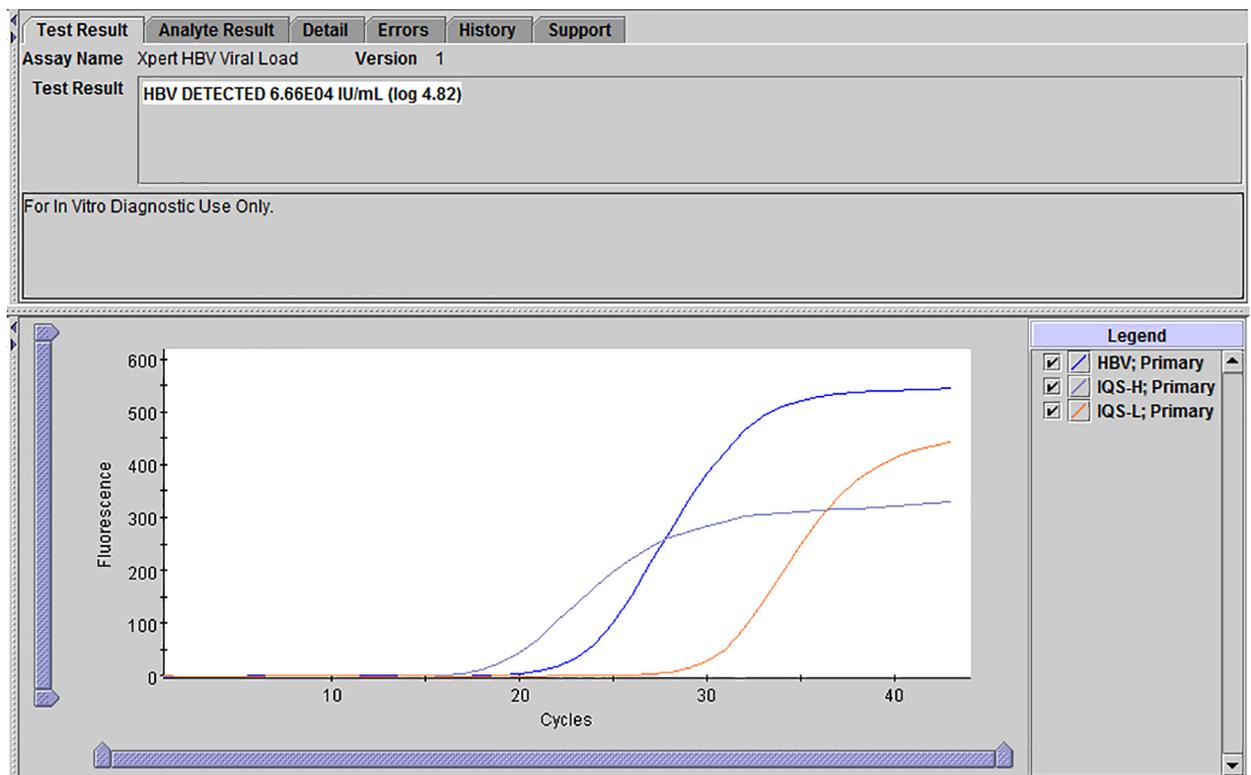


Figure 3. Résultat : HBV détecté et quantifié

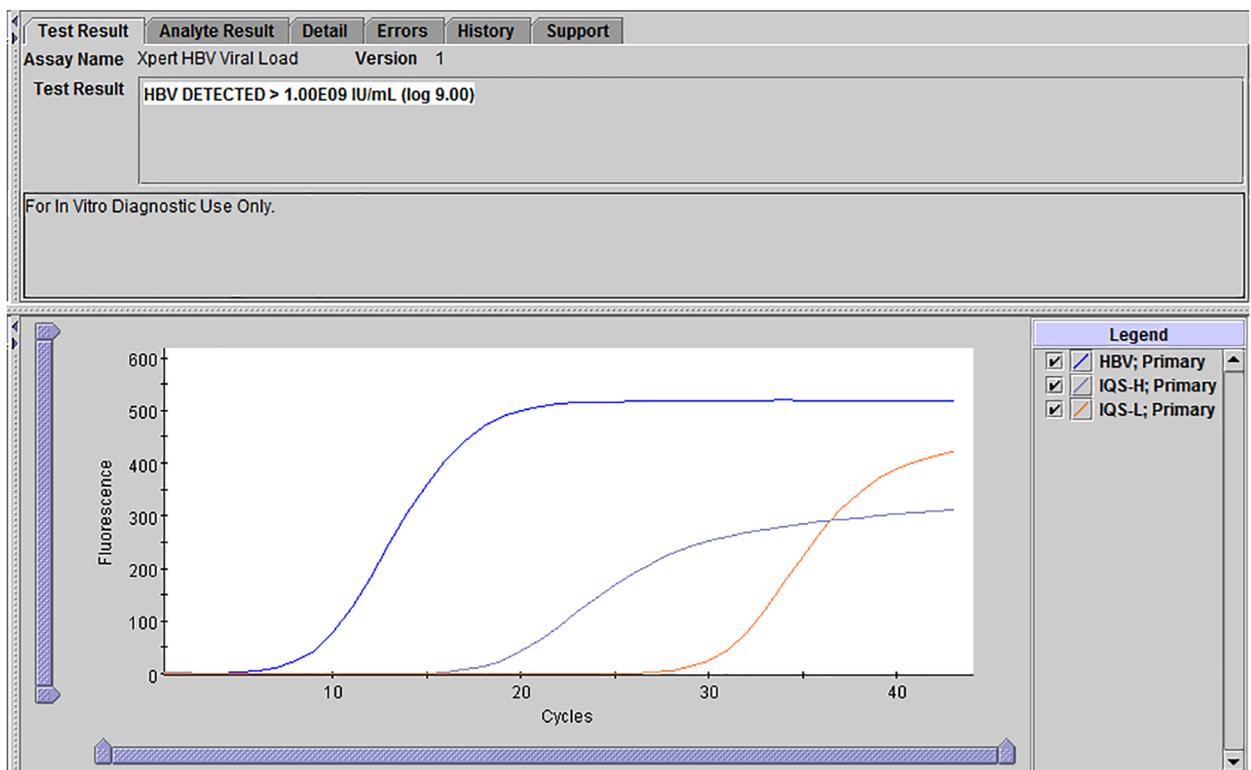


Figure 4. Résultat : HBV détecté mais le titre était supérieur à la plage quantitative du test

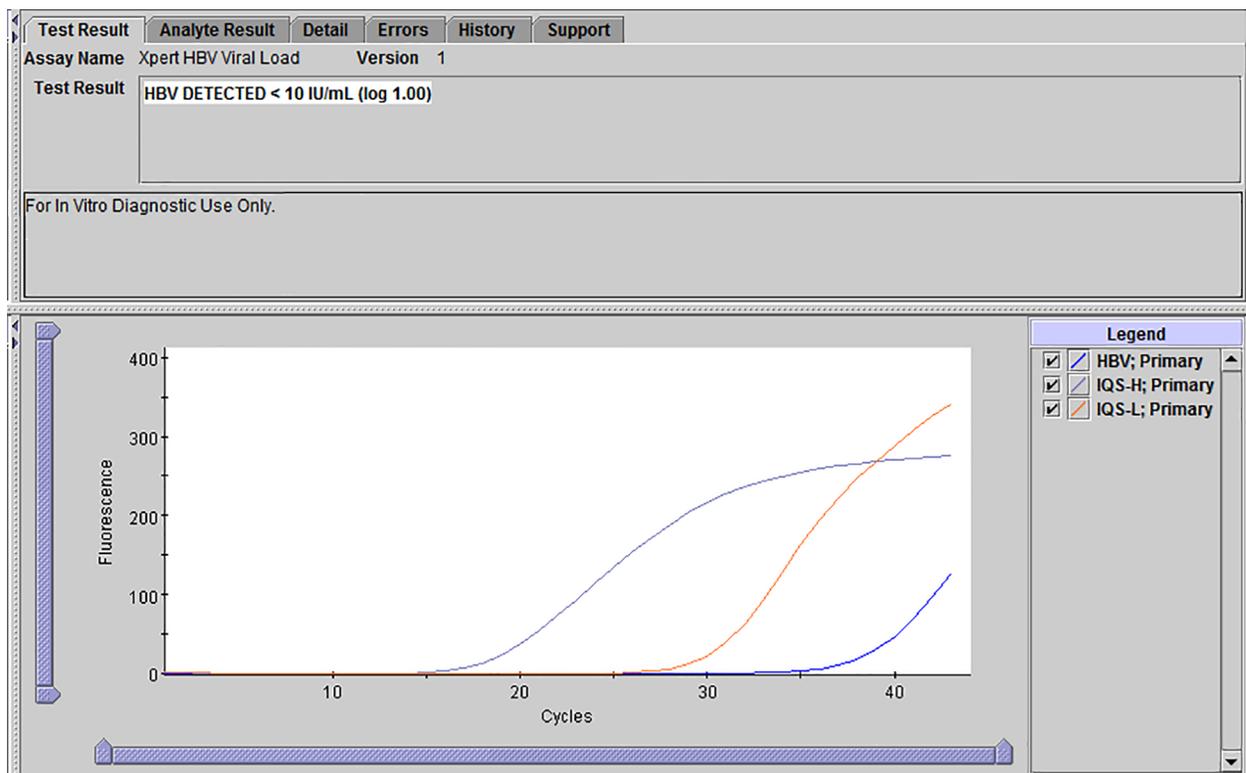


Figure 5. Résultat : HBV détecté mais le titre était inférieur à la plage quantitative du test

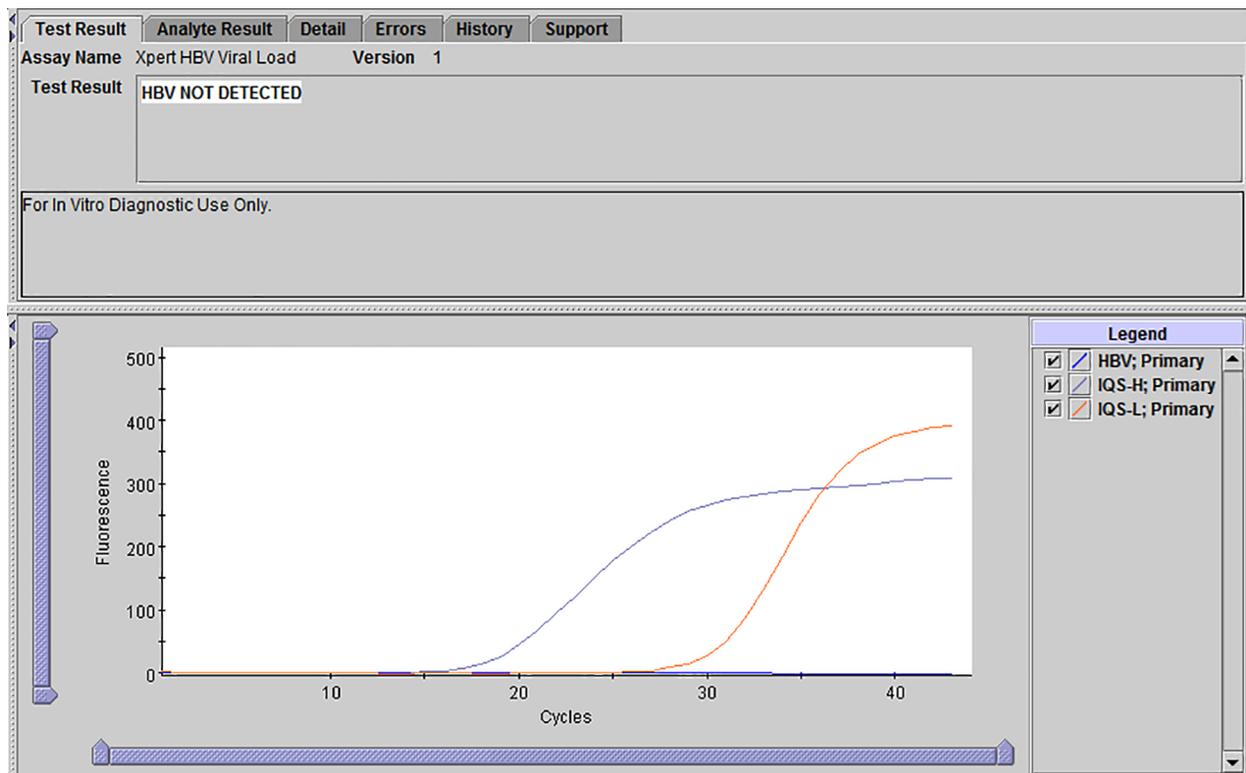


Figure 6. Résultat : HBV non détecté

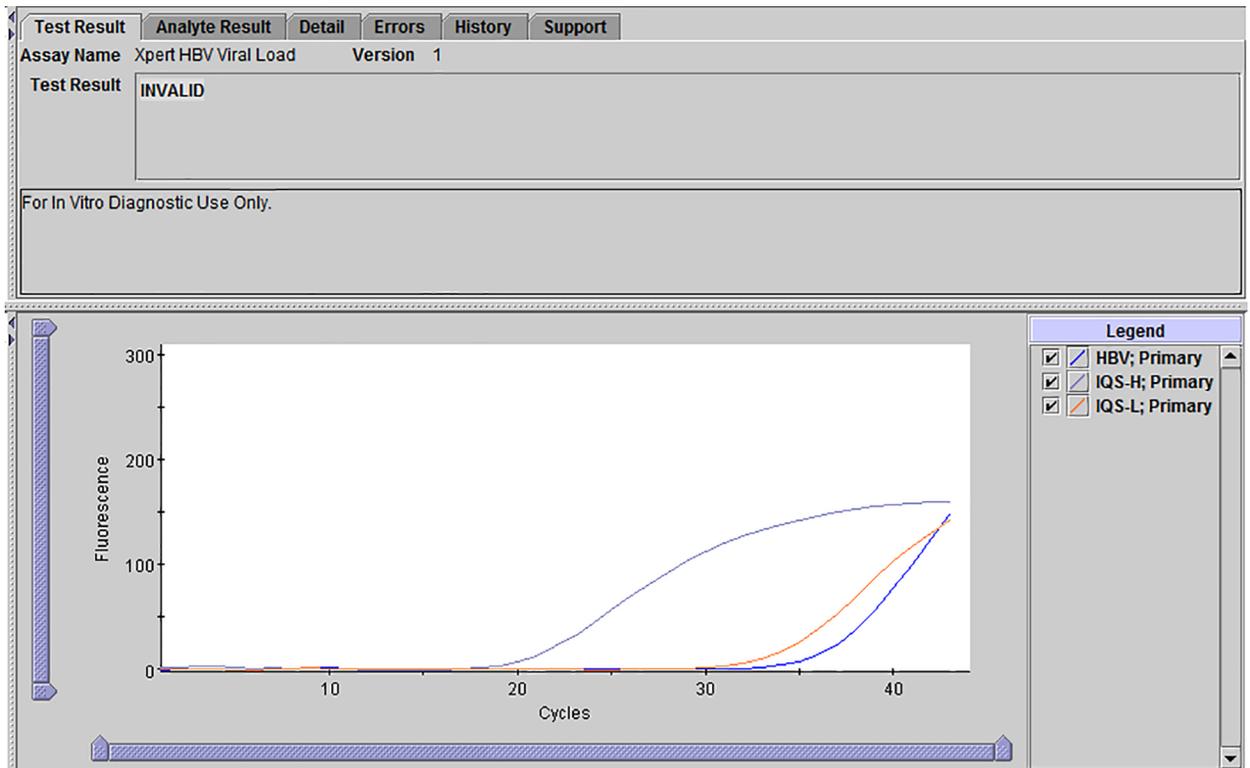


Figure 7. Résultat : Résultat non valide

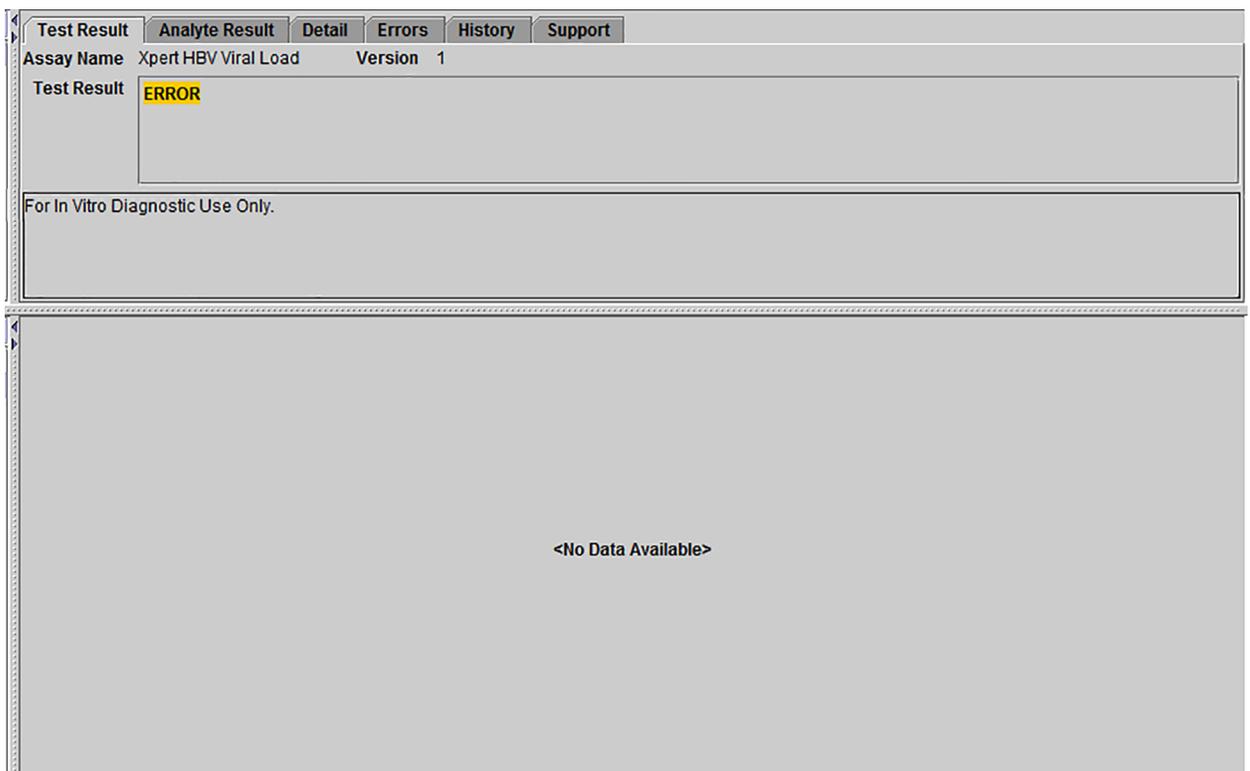


Figure 8. Résultat : Erreur

## 16 Répétitions du test

### 16.1 Raisons pour lesquelles le test doit être répété

Si l'un des résultats de test cités ci-dessous se produit, répéter le test conformément aux instructions données dans la Section 16.2. Procédure de répétition du test.

- Un résultat **NON VALIDE (INVALID)** indique l'une ou plusieurs des situations suivantes :
  - Les valeurs Ct de la RIQ-H et/ou de la RIQ-B ne sont pas dans la plage de validation.
  - L'échantillon n'a pas été traité correctement ou la PCR a été inhibée.
- Un résultat **ERREUR (ERROR)** indique que le test a été abandonné. Les causes possibles comprennent les suivantes : ajout d'un volume insuffisant d'échantillon ; remplissage incorrect du tube réactionnel ; détection d'un problème d'intégrité de la sonde de réactif ; ou dépassement de la limite de pression maximale.
- Un résultat **PAS DE RÉSULTAT (NO RESULT)** indique que les données recueillies étaient insuffisantes. Par exemple, l'opérateur a interrompu un test en cours ou une panne de courant s'est produite.

### 16.2 Procédure de répétition du test

Si le résultat d'un test est **NON VALIDE (INVALID)**, **ERREUR (ERROR)** ou **PAS DE RÉSULTAT (NO RESULT)**, utiliser une nouvelle cartouche pour tester de nouveau l'échantillon concerné (ne pas réutiliser la cartouche).

1. Sortir une nouvelle cartouche du kit.
2. Suivre les procédures de la Section 12. Procédure, y compris la Section 12.2. Préparation de la cartouche et la Section 12.3. Démarrage du test.

## 17 Limites

- Il est recommandé de respecter les bonnes pratiques de laboratoire et de changer de gants après la manipulation de chaque échantillon pour éviter la contamination des échantillons ou des réactifs.
- De rares mutations dans la région cible du test Xpert HBV VL peuvent affecter la liaison de l'amorce ou de la sonde, entraînant une sous-quantification ou un échec de détection du virus.
- Ce test a été validé uniquement pour une utilisation avec du sérum et du plasma EDTA. L'analyse d'autres types d'échantillon peut conduire à des résultats inexacts.
- Un résultat de test négatif n'exclut pas une infection à HVB. Par conséquent, le test Xpert HBV VL ne doit pas être utilisé en tant que test diagnostique pour confirmer la présence de l'infection à HBV.

## 18 Caractéristiques de performance

### 18.1 Limite de détection

La limite de détection (LDD) du test HBV VL a été déterminée pour le génotype A du HBV en testant des dilutions en série du 4<sup>e</sup> étalon international de l'OMS pour l'ADN du HBV (code NIBSC 10/266)<sup>4</sup> dilué dans du plasma EDTA négatif pour le HBV et du sérum. Des panels comportant six niveaux de concentration et un échantillon négatif ont été testés en utilisant quatre ou trois lots de réactifs pour les panels de plasma EDTA et de sérum, respectivement. Chaque échantillon du panel a été testé pendant trois jours avec 24 répliquats par lot de réactifs. Au total, 96 répliquats par échantillon du panel de plasma et 72 répliquats par échantillon du panel de sérum ont été testés.

Les résultats du plasma EDTA et du sérum sont montrés dans le Tableau 2. L'étude a démontré que le test HBV VL a détecté l'ADN du HBV pour l'étalon international de l'OMS à une concentration de 3,20 UI/ml dans le plasma EDTA et à une concentration de 5,99 UI/ml dans le sérum avec un taux de positivité de 95 % tel que déterminé par une régression binomiale PROBIT.

**Tableau 2. Limite de détection du test Xpert HBV VL en utilisant le 4<sup>e</sup> étalon international de l’OMS pour le HBV**

Génotype	Matrice	Concentration nominale du HBV (UI/ml)	Nombre de réplicats valides	Nombre de positifs	Taux de positivité (%)	LDD de 95 % estimée par analyse PROBIT (intervalle de confiance à 95 %)
A	Plasma	10	95	95	100	3,20 UI/ml (2,79 – 3,60 UI/ml)
		5	96	94	98	
		2,5	96	82	85	
		1,25	96	62	65	
		0,625	96	41	43	
		0	96	0	0	
A	Sérum	10	72	70	97	5,99 UI/ml (5,13 – 6,86 UI/ml)
		5	72	63	88	
		2,5	72	58	81	
		1,25	72	37	51	
		0,625	71	15	21	
		0	72	0	0	

La limite de détection des génotypes B à H du HBV a été déterminée en testant des panels contenant six ou sept échantillons préparés en ensemençant des échantillons positifs pour le HBV représentant chaque génotype (génotypes B à G du panel de référence international de l’OMS, code PEI : 5086/08, et un échantillon clinique du génotype H) dans le plasma EDTA négatif pour le HBV. Chaque échantillon du panel a été testé pendant trois jours en utilisant trois lots de réactifs pour un total de 24 réplicats par échantillon. Les résultats sont présentés dans le Tableau 3.

**Tableau 3. Limite de détection des génotypes B à H du HBV dans le plasma EDTA**

Génotype	LDD de 95 % estimée par analyse PROBIT (UI/ml)	Intervalle de confiance à 95 % (UI/ml)
B	1,34	0,98 – 1,69
C	1,63	1,23 – 2,03
D	3,96	3,01 – 4,92
E	3,77	2,76 – 4,78
F	2,39	1,82 – 2,96
G	1,21	0,95 – 1,47
H	3,84	2,91 – 4,77

La limite de détection des génotypes B à H du HBV a été vérifiée dans du sérum conformément à la directive EP17-A2<sup>10</sup> du CLSI en utilisant 24 réplicats. Une concentration plus élevée a été testée si un taux de positivité de > 85 % n’a pas été obtenu. Voir le Tableau 4 pour les résultats.

Tableau 4. Vérification du LDD des géotypes B à H dans le sérum

Géotype	Concentration nominale du HBV (UI/ml)	Taux de positivité (%)
B	1,34	88
C	3,25	96
D	3,96	96
E	3,77	96
F	2,39	92
G	1,21	88
H	3,84	100

Les performances du test HBV VL ont également été évaluées avec un mutant précocore en testant un échantillon clinique du HBV séquençé, notamment les deux mutations de la région précocore (C1858T et G1896A) et les deux mutations de la région du promoteur basal du core (A1762T et G1764A), dilué à une concentration de 10 UI/ml dans du plasma EDTA et du sérum avec un lot de réactifs. Un taux de positivité de 100 % a été obtenu pour chacun des 24 réplicats testés dans chaque matrice.

## 18.2 Limite inférieure de quantification (LIDQ)

La limite inférieure de quantification (LIDQ) est définie comme étant la plus faible concentration en ADN du HBV qui est quantifiée avec une précision et une exactitude acceptables. Elle est déterminée en utilisant l'erreur analytique totale (EAT) et une approche basée sur la différence entre deux mesures. La LIDQ a été évaluée à l'aide de quatre échantillons indépendants, représentant les géotypes A à D du HBV, dans le plasma EDTA proche de la limite de détection du test. Chaque échantillon a été testé en utilisant quatre lots de réactifs avec 8 à 24 réplicats par lot. L'EAT a été estimée avec le modèle de Westgard selon la directive EP17-A2<sup>10</sup> du CLSI avec le critère  $[(\text{biais absolu}) + 2 \text{ E-T} \leq 1 \log_{10} \text{ UI/ml}]$ . L'approche de la différence entre deux mesures a été évaluée en utilisant le critère  $[(2 \times \text{RC}(2) \times \text{E-T}) \leq 1 \log_{10} \text{ UI/ml}]$ .

Les analyses de LIDQ de chaque échantillon sont présentées dans le Tableau 5.

Tableau 5. Détermination de la LIDQ pour le test Xpert HBV VL

Géotype du HBV	Lot	N	Concentration en HBV ( $\log_{10}$ UI/ml)		Biais	E-T total	Erreur analytique totale <sup>a</sup>	Approche des deux mesures <sup>b</sup>
			Attendu	Observé				
A	1	24	1,00	1,02	0,02	0,20	0,42	0,57
	2	24	1,00	1,05	0,05	0,16	0,37	0,45
	3	24	1,00	0,94	-0,06	0,20	0,46	0,57
	4	23	1,00	1,02	0,02	0,14	0,30	0,40
B	1	16	1,00	1,18	0,18	0,11	0,39	0,30
	2	24	1,00	1,18	0,18	0,17	0,53	0,49
	3	8	1,00	1,17	0,17	0,19	0,54	0,53
	4	8	1,00	1,25	0,25	0,19	0,64	0,55
C	1	16	1,00	1,10	0,10	0,17	0,44	0,47
	2	24	1,00	1,11	0,11	0,22	0,55	0,61
	3	8	1,00	0,83	-0,17	0,24	0,65	0,68
	4	8	1,00	1,01	0,01	0,18	0,36	0,50
D	1	16	1,00	0,81	-0,19	0,28	0,74	0,78

Génotype du HBV	Lot	N	Concentration en HBV (log <sub>10</sub> UI/ml)		Biais	E-T total	Erreur analytique totale <sup>a</sup>	Approche des deux mesures <sup>b</sup>
			Attendu	Observé				
	2	24	1,00	0,79	-0,21	0,27	0,75	0,76
	3	8	1,00	0,83	-0,14	0,14	0,42	0,39
	4	8	1,00	0,91	-0,09	0,11	0,31	0,32

<sup>a</sup> EAT calculée selon le modèle de Westgard dans lequel  $[EAT = | \text{biais} | + (2 \times E-T) \leq 1 \log_{10} \text{ UI/ml}]$ , en s'assurant qu'il y a une probabilité de 95 % pour que la mesure soit éloignée de moins de 1 log<sub>10</sub> UI/ml de la valeur réelle.

<sup>b</sup> Approche des deux mesures dans laquelle  $[2 \times (RC(2) \times E-T) \leq 1 \log_{10} \text{ UI/ml}]$  indique qu'une différence de moins de 1 log<sub>10</sub> UI/ml peut s'expliquer par une erreur aléatoire de mesure.

Les résultats démontrent que le test Xpert HBV VL peut quantifier 10 UI/ml d'ADN du HBV avec une exactitude et une précision acceptables.

### 18.3 Précision/reproductibilité

La précision/reproductibilité du test Xpert HBV VL a été évaluée dans du plasma K<sub>2</sub>EDTA à l'aide d'une analyse de variance (ANOVA) pour estimer la variance totale.

L'étude, multicentrique (3 centres, 2 externes et 1 interne) et en aveugle, visait à estimer les composantes majeures de la variance du test Xpert HBV VL à l'aide d'un panel de huit échantillons composé de huit échantillons positifs pour le HBV. Les échantillons positifs pour le HBV ont été préparés en diluant un plasmide du HBV bien caractérisé ou un échantillon clinique positif pour le HBV dans du plasma humain sur EDTA. Deux opérateurs, l'un expérimenté pour la PCR et l'autre pas, dans chacun des trois centres de l'étude, ont testé un panel en double deux fois par jour (équivalent à huit réplicats par jour) sur six jours de tests pour un total de 144 réplicats par échantillon de panel. Trois lots du test Xpert HBV VL ont été utilisés, chaque lot représentant deux jours de tests. La précision et la reproductibilité ont été évaluées conformément aux directives EP05-A3<sup>11</sup> et EP15-A3 du CLSI.<sup>12</sup>

La précision et la reproductibilité du test Xpert HBV VL ont été évaluées en utilisant une analyse ANOVA nichée avec des termes pour Centre/Instrument, Lot, Jour, Opérateur/Série et Intra-série. L'écart-type et le pourcentage de variabilité dus à chaque composant ont été calculés pour les concentrations en HBV transformées log<sub>10</sub> comme présenté dans le Tableau 6.

Tableau 6. Précision/reproductibilité du test Xpert HBV VL

Concentration en ADN du HBV (log <sub>10</sub> UI/ml)			Contribution à l'E-T de la variance totale (%CV)										Précision totale	
			Centre/Instrument		Lot		Jour		Opérateur/Série		Intra-série			
Attendu	Observé	N	E-T	(%) <sup>a</sup>	E-T	(%) <sup>a</sup>	E-T	(%) <sup>a</sup>	E-T	(%) <sup>a</sup>	E-T	(%) <sup>a</sup>	E-T	CV (%) <sup>b</sup>
9,00	9,13 <sup>c</sup>	144	< 0,01	< 0,01	0,04	23,4	< 0,01	< 0,01	0,02	4,9	0,07	71,7	0,08	19,7
8,00	8,17	144	< 0,01	< 0,01	0,04	26,7	< 0,01	< 0,01	0,02	5,4	0,06	67,9	0,07	16,9
7,00	7,15	144	0,01	2,2	0,03	12,2	0,01	3,9	< 0,01	< 0,01	0,07	81,8	0,07	16,8
6,00	6,18	144	< 0,01	< 0,01	0,04	32,1	0,01	4,3	< 0,01	< 0,01	0,05	63,6	0,06	14,7
4,70	4,87	144	0,02	4,5	0,03	15,3	< 0,01	< 0,01	< 0,01	< 0,01	0,07	80,2	0,07	17,1
3,00	3,19	144	< 0,01	< 0,01	0,03	28,8	< 0,01	< 0,01	0,02	11,5	0,04	59,7	0,06	13,2
2,00	2,17	144	< 0,01	< 0,01	0,02	8,6	< 0,01	< 0,01	0,01	1,0	0,08	90,5	0,08	19,0
1,00	1,13	144	< 0,01	< 0,01	< 0,01	< 0,01	0,05	11,0	0,01	0,3	0,15	88,8	0,16	37,7

<sup>a</sup> (%) est la contribution du composant de variance à la variance globale

<sup>b</sup>

Le « CV » est log-normal, obtenu en utilisant la formule suivante :

$$\text{Lognormal CV}(\%) = 100 \cdot \sqrt{10^{(\ln(10) \cdot \sigma_{\log_{10} \text{ data}}^2)} - 1}$$

° La valeur observée est au-dessus de la plage quantitative du test Xpert HBV VL.

## 18.4 Plage linéaire

### Génotype A

La plage linéaire du test Xpert HBV VL a été déterminée en analysant un panel de huit échantillons couvrant une plage de concentration en HBV de 1,00 – 9,00  $\log_{10}$  UI/ml. Les panels ont été préparés en ensemençant un échantillon clinique du génotype A de HBV ou un stock d'ADN plasmidique de HBV à un titre élevé dans du plasma EDTA négatif pour le HBV et du sérum. Chaque échantillon du panel a été analysé en réplicats de huit par lot de réactifs, sauf pour les dilutions les plus faibles qui ont été analysées en réplicats de seize par lot de réactifs, en utilisant deux lots de réactifs. Les résultats sont présentés dans les Figure 9 et Figure 10.

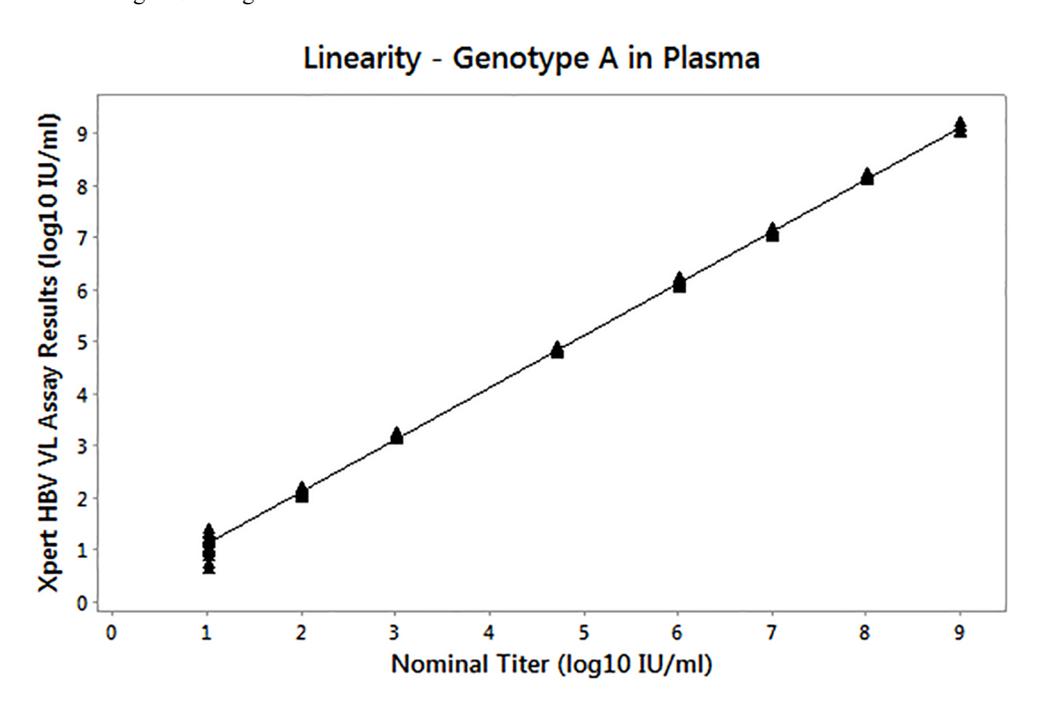
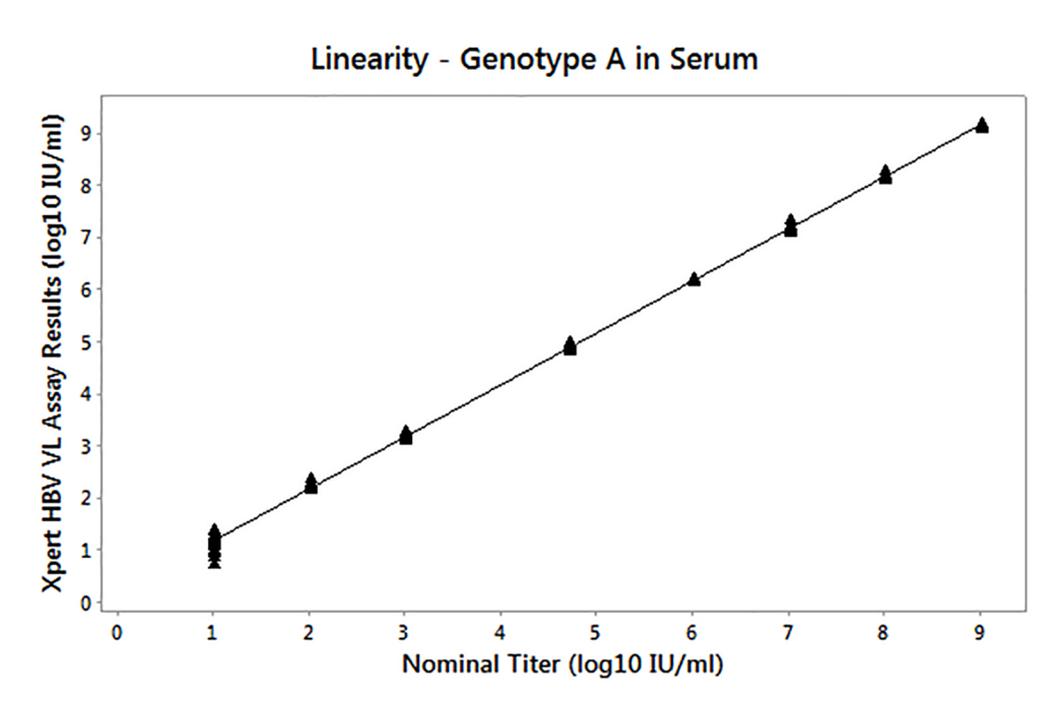


Figure 9. Linéarité du test Xpert HBV VL dans le plasma EDTA



**Figure 10. Linéarité du test Xpert HBV VL dans le sérum EDTA**

#### Génotypes B-H

Pour confirmer la linéarité, des panels de dilution représentant les génotypes B à H du HBV ont été préparés pour couvrir une plage de mesure aussi étendue que possible en diluant un échantillon clinique représentant chaque génotype dans le plasma EDTA négatif pour le HBV. Les échantillons du panel ont été analysés avec le même nombre de réplicats que pour le génotype A du HBV en utilisant un lot de réactifs.

La linéarité a été démontrée selon la directive EP06-A<sup>13</sup> du CLSI pour les génotypes A à H avec un  $R^2 > 0,99$ . Le test Xpert HBV VL est linéaire sur une plage de 1,00 – 9,00 log<sub>10</sub> UI/ml pour le génotype A et sur la plage testée pour les génotypes B à H (voir le Tableau 7).

**Tableau 7. Linéarité du test Xpert HBV VL selon le génotype**

Génotype	Équation de régression linéaire	R <sup>2</sup>	Plage de titre testée (log <sub>10</sub> UI/ml)
A (plasma)	$y = 1,005x + 0,093$	0,999	1,00 – 9,00
A (sérum)	$y = 1,000x + 0,167$	0,999	1,00 – 9,00
B	$y = 0,998x - 0,027$	0,995	1,00 – 6,83
C	$y = 0,998x - 0,119$	0,998	1,00 – 7,69
D	$y = 0,993x + 0,101$	0,998	1,00 – 7,41
E	$y = 1,010x - 0,149$	0,999	1,00 – 8,14
F	$y = 0,994x - 0,068$	0,999	1,00 – 7,96
G	$y = 0,990x + 0,538$	0,999	1,00 – 8,61
H	$y = 0,991x + 0,122$	0,999	1,00 – 6,35

## 18.5 Spécificité analytique (exclusivité)

La spécificité analytique du test Xpert HBV VL a été évaluée en ajoutant des organismes susceptibles de présenter une réaction croisée à une concentration de  $1 \times 10^6$  UFC/mL pour les microorganismes, ou de  $1 \times 10^5$  copies/ml ou de TCID<sub>50</sub>/ml pour les virus dans du plasma EDTA négatif pour le HBV et du plasma EDTA contenant environ 30 UI/ml de matériel de référence de HBV (4<sup>e</sup> étalon international de l'OMS pour le HBV, code NIBSC : 10/266)<sup>4</sup>. Les organismes testés sont répertoriés dans le Tableau 8. Aucun des organismes testés n'a présenté de réactivité croisée ni n'a interféré avec la quantification du test Xpert HBV VL.

**Tableau 8. Organismes pour la spécificité analytique**

Virus		Bactéries	Levures
Virus du polyome humain BK	Virus de l'immunodéficience humaine 1	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	<i>Candida albicans</i>
Cytomégalovirus	Virus de l'immunodéficience humaine 2	<i>Staphylococcus aureus</i>	
Virus Epstein-Barr	Virus du papillome humain 16		
Virus de l'hépatite A	Virus du papillome humain 18		
Virus de l'hépatite C	Virus humain T-lymphotrope de type 1		
Virus Herpes simplex 1	Virus humain T-lymphotrope de type 2		
Virus Herpes simplex 2	Virus varicelle-zona		
Virus Herpes humain 6	Virus de la vaccine		
Virus Herpes humain 8			

## 18.6 Substances potentiellement interférentes

La susceptibilité du test Xpert HBV VL à l'interférence de niveaux élevés de substances endogènes, de marqueurs de maladie auto-immune et de médicaments prescrits aux patients infectés par le HBV a été évaluée. Les effets inhibiteurs ont été évalués en présence et en l'absence d'environ 30 UI/ml de matériel de référence d'ADN du HBV (4<sup>e</sup> étalon international de l'OMS pour le HBV, code NIBSC : 10/266)<sup>4</sup>.

Des niveaux élevés des substances endogènes répertoriées dans le Tableau 9 n'ont pas présenté d'interférence avec la quantification du test Xpert HBV VL avec le titre moyen  $\log_{10}$  de chacun des échantillons positifs pour le HBV contenant des substances potentiellement interférentes dans la plage  $\pm 0,10 \log_{10}$  UI/ml du contrôle positif. Des résultats négatifs ont été obtenus pour tous les échantillons sans HBV cible, démontrant qu'il n'y avait aucun impact sur la spécificité du test.

### Substances endogènes

**Tableau 9. Substances endogènes et concentration analysée**

Substance	Concentration analysée
Albumine	9 g/dl
Bilirubine	20 mg/dl
Hémoglobine	500 mg/dl
ADN humain	0,4 mg/dl
Triglycérides	3 000 mg/dl

## Médicaments

Les composants médicamenteux présentés dans le Tableau 10 n'interféraient pas avec la quantification du test Xpert HBV VL et n'avaient aucun effet sur la spécificité du test lors d'analyses à trois fois la concentration maximale du plasma ( $C_{max}$ ) en présence et en l'absence de l'ADN du HBV.

**Tableau 10. Groupes de médicaments analysés**

Groupe	Médicaments
1	Zidovudine, saquinavir, clarithromycine, interféron-alfa-2b, ritonavir, ombitasvir, paritaprévir, dasabuvir, didanosine
2	Sulfate d'abacavir, fosamprénavir, peginterféron-alfa-2a, ribavirine, entécavir, adéfovir dipivoxil
3	Ténofovir disoproxil fumarate, lamivudine, sulfate d'indinavir, ganciclovir, chlorhydrate de valganciclovir, acyclovir, paroxétine, telbivudine
4	Stavudine, efavirenz, lopinavir, enfuvirtide, ciprofloxacine, fluoxétine
5	Névirapine, nelfinavir, azithromycine, valaciclovir, sertraline, ténofovir alafénamide

## Marqueurs de maladies auto-immunes

L'analyse d'échantillons de plasma K<sub>2</sub>EDTA provenant de cinq sujets positifs pour chacun des marqueurs de maladie auto-immune - lupus érythémateux systémique (LES), anticorps antinucléaires (ANA) ou facteur rhumatoïde (FR) - n'a montré aucune interférence avec les performances du test Xpert HBV VL. Les concentrations moyennes log<sub>10</sub> d'échantillons ensemencés avec l'ADN du HBV étaient dans la plage  $\pm 0,10$  log<sub>10</sub> UI/ml du contrôle positif. Des résultats négatifs ont été obtenus pour tous les échantillons sans HBV cible, démontrant qu'il n'y avait aucun impact sur la spécificité du test.

## 18.7 Équivalence entre les matrices (plasma K<sub>2</sub>EDTA, PPT-EDTA et sérum)

L'équivalence entre les matrices pour le test Xpert HBV VL a été déterminée avec 32 échantillons cliniques appariés positifs pour le HBV et 23 échantillons cliniques appariés négatifs pour le HBV recueillis dans des tubes de prélèvement de plasma K<sub>2</sub>EDTA, plasma PPT-EDTA et de sérum. Les 23 échantillons cliniques appariés négatifs pour le HBV ont été ensemencés avec du matériel positif pour le HBV, provenant d'échantillons cliniques représentant les génotypes B à G du HBV et un plasmide d'ADN exprimant la séquence cible du génotype A du HBV, avec des titres sur toute la plage linéaire.

L'équivalence entre les matrices a été démontrée dans les échantillons testés comme il a été démontré dans les Figure 11 et Figure 12.

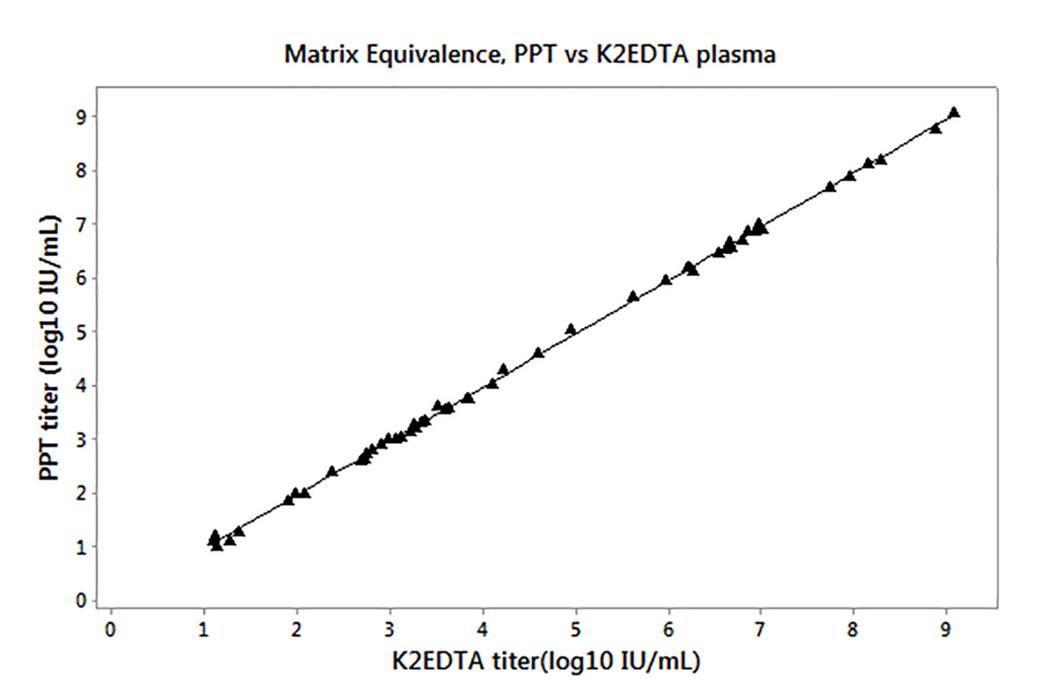


Figure 11. Tracé de régression linéaire du plasma PPT-EDTA versus le plasma K<sub>2</sub>EDTA

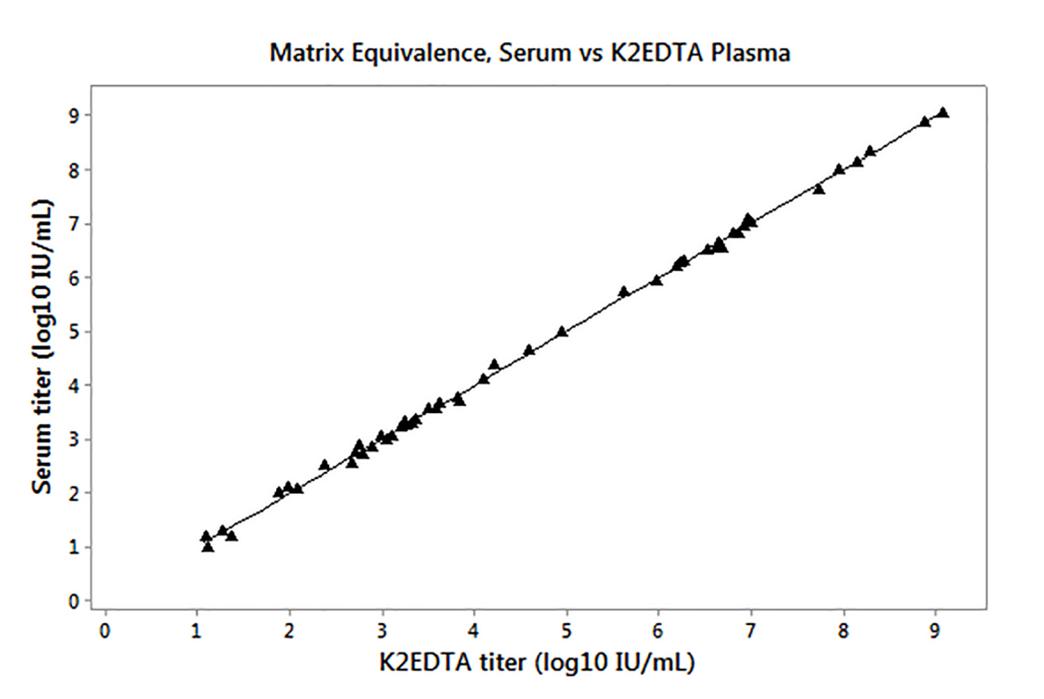


Figure 12. Tracé de régression linéaire du sérum versus le plasma K<sub>2</sub>EDTA

Les résultats montrent que le test Xpert HBV VL a des performances équivalentes dans le plasma K<sub>2</sub>-EDTA, le plasma PPT-EDTA et le sérum pour les échantillons dans la plage de 1,0-9,0 log<sub>10</sub> UI/ml environ.

## 18.8 Défaillance de l'ensemble du système

Le taux de défaillance de l'ensemble du système pour le test HBV VL a été déterminé en testant 100 réplicats de plasma recueilli sur EDTAensemencés avec le 4<sup>e</sup> étalon international de l'OMS pour l'ADN du HBV (code NIBSC 10/266)<sup>4</sup>, un échantillon de génotype A. Les échantillonsensemencés ont été testés à une concentration cible d'environ 3 x LIDQ (30 UI/ml).

Les résultats de cette étude ont établi que tous les réplicats étaient valides et positifs pour la cible HBV, ce qui a donné un taux de défaillance de l'ensemble du système de 0,0 %.

## 18.9 Contamination par transfert

Un échantillon positif présentant un titre élevé de HBV ( $> 1 \times 10^7$  UI/ml) a été testé, et a été suivi immédiatement par le test d'un échantillon négatif pour le HBV dans le même module des systèmes GeneXpert. La procédure a été répétée vingt (20) fois dans deux modules. Le taux de transfert était de 0 % pour le test Xpert HBV VL.

# 19 Performances cliniques

## 19.1 Spécificité chez des donneurs de sang normaux en bonne santé

La spécificité du test Xpert HBV VL a été évaluée en utilisant 99 échantillons de sérum et 100 échantillons de plasma EDTA provenant de donneurs de sang HBV-négatifs. La spécificité du test Xpert HBV VL était de 100,0 % [IC à 95 % : 98,1-100,0 (199/199)].

## 19.2 Corrélation de la méthode

Une étude multicentrique a été menée pour évaluer la performance du test Xpert HBV VL par rapport à une méthode de comparaison quantitative de l'ADN du HBV en utilisant les échantillons de sérum et de plasma EDTA restants obtenus dans le cadre des soins standard auprès de personnes présentant une infection connue à l'HBV.

Parmi les 876 sujets éligibles, 351 (40,1 %) étaient des femmes et 489 (55,8 %) étaient des hommes. La moyenne d'âge était de  $47,2 \pm 15,9$  ans, avec une plage d'âge de 18 à 89 ans. Parmi ces 876 échantillons, 560 étaient dans la plage de quantification du test HBV VL et du test de comparaison. Le résultat des analyses de régression de Deming et de régression linéaire simple est montré dans la Figure 13.

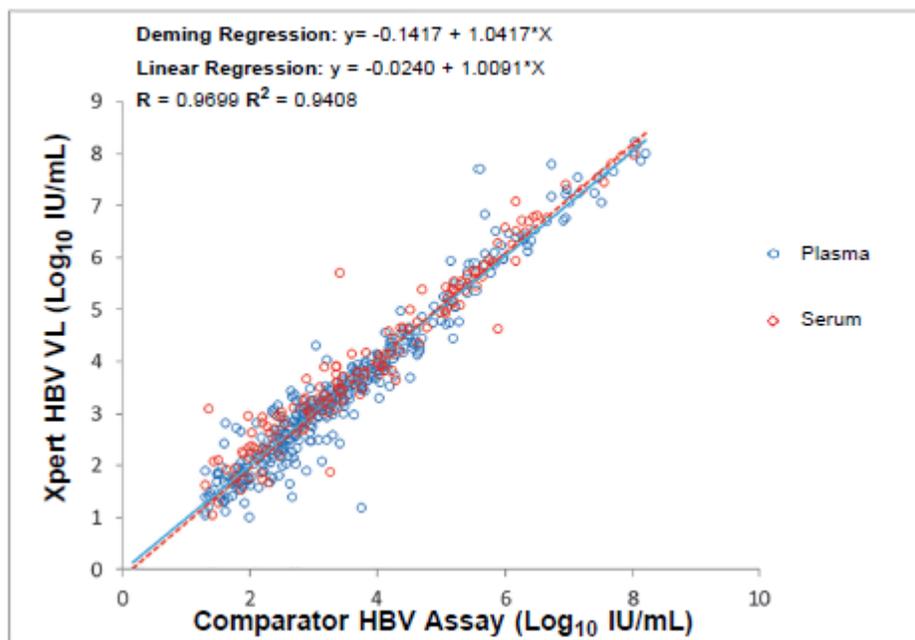


Figure 13. Corrélation du test Xpert HBV VL vs la méthode de comparaison à l'aide des échantillons de sérum et de plasma EDTA

## 20 Bibliographie

1. World Health Organization (WHO). Guidelines for the Prevention, Care and Treatment of Persons with Chronic Hepatitis B Infection. Mars 2015. Consulté le 14 mars 2018 à l'adresse : <http://www.who.int/hiv/pub/hepatitis/hepatitis-b-guidelines/en/>.
2. European Association for the Study of the Liver. EASL Clinical Practice Guidelines: Management of chronic hepatitis B virus infection. J. Hepat. 2012; 57:167-185. Joignable au : <http://dxdoi.org/10.1016/j.jhep.2012.02.010>.
3. Organisation mondiale de la santé. Global hepatitis report, 2017. WHO. Avril 2017.
4. The 4th WHO International Standard for Hepatitis B Virus DNA for Nucleic Acid Amplification Techniques (NIBSC code: 10/266). National Institute for Biological Standards and Control; 2016.
5. Centers for Disease Control and Prevention. *Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories* (5e édition), consulté le 5 mars 2018 à l'adresse <http://www.cdc.gov/biosafety/publications/>.
6. Clinical and Laboratory Standards Institute. *Protection of Laboratory Workers from Occupationally Acquired Infections, Approved Guideline*. Document M29 (consulter l'édition la plus récente).
7. Organisation mondiale de la santé. Safe management of wastes from health-care activities. 2e édition. WHO, 2014. Consulté le 20 avril 2018 à l'adresse [http://www.who.int/water\\_sanitation\\_health/publications/wastemanag/en/](http://www.who.int/water_sanitation_health/publications/wastemanag/en/).
8. RÈGLEMENT (CE) n° 1272/2008 DU PARLEMENT EUROPÉEN ET DU CONSEIL DU 16 décembre 2008 relatif à la classification, à l'étiquetage et à l'emballage des substances et des mélanges, liste des conseils de prudence, modifiant et abrogeant les directives 67/548/CEE et 1999/45/CE, et modifiant le règlement (CE) n° 1907/2006.
9. Occupational Safety and Health Standards, Hazard Communication, Toxic and Hazard Substances (26 mars 2012) (29 C.F.R., pt. 1910, subpt. Z).
10. Clinical and Laboratory Standards Institute. *Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures*; Approved Guideline – Deuxième édition. CLSI document EP17-A2. Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne, PA, 2012.
11. Clinical and Laboratory Standards Institute. *Evaluation of Precision of Quantitative Measurement Procedures*; Approved Guideline—Third Edition. CLSI document EP05-A3. Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne, PA, 2014.
12. Clinical and Laboratory Standards Institute. *User Verification of Precision and Estimation of Bias*; Approved Guideline – Third Edition. CLSI document EP15-A3. Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne, PA, 2014.
13. Clinical and Laboratory Standards Institute. *Evaluation of Linearity of Quantitative Measurement Procedures: A Statistical Approach*. Approved Guideline. CLSI document EP06-A. Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne, PA, 2003.

## 21 Emplacements des sièges de Cepheid

### Siège social

Cepheid  
904 Caribbean Drive  
Sunnyvale, CA 94089  
USA

Téléphone : + 1 408 541 4191  
Fax : + 1 408 541 4192  
www.cepheid.com

### Siège européen

Cepheid Europe SAS  
Vira Solelh  
81470 Maurens-Scopont  
France

Téléphone : + 33 563 825 300  
Fax : + 33 563 825 301  
www.cepheidinternational.com

## 22 Support technique

Avant de contacter le service du support technique de Cepheid, recueillir les informations suivantes :

- Nom du produit
- Numéro de lot
- Numéro de série de l'instrument
- Messages d'erreur (le cas échéant)
- Version logicielle et, le cas échéant, le « Service Tag » (numéro d'étiquette de service de l'ordinateur)

### Coordonnées

États-Unis

Téléphone : +1.888.838.3222

Email : techsupport@cepheid.com

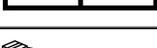
France

Téléphone : +33.563.825.319

Email : support@cepheideurope.com

Les coordonnées de tous les bureaux du support technique de Cepheid sont disponibles sur notre site Internet à l'adresse suivante : [www.cepheid.com/en/CustomerSupport](http://www.cepheid.com/en/CustomerSupport).

## 23 Tableau des symboles

Symbole	Signification
	Numéro de référence
	Dispositif médical de diagnostic <i>in vitro</i>
	Ne pas réutiliser
	Numéro de lot
	Consulter la notice d'utilisation
	Fabricant
	Pays de fabrication
	Quantité suffisante pour $n$ tests
	Contrôle
	Date de péremption
	Marquage CE – Conformité européenne
	Limites de température
	Risques biologiques
	Mise en garde
	Avertissement
	Représentant autorisé en Suisse
	Importateur



Cepheid AB  
Röntgenvägen 5  
SE-171 54 Solna,  
Sweden



Cepheid Switzerland GmbH  
Zürcherstrasse 66  
Postfach 124, Thalwil  
CH-8800  
Switzerland



Cepheid Switzerland GmbH  
Zürcherstrasse 66  
Postfach 124, Thalwil  
CH-8800  
Switzerland

