

**REF** 201300 NeuMoDx™ HBV Quant Test Strip

**R only**

ATTENTION : pour exportation aux États-Unis uniquement

**IVD** Pour diagnostic *in vitro*, utiliser les NeuMoDx 288 et NeuMoDx 96 Molecular Systems

 Pour les mises à jour des encarts, accéder à : [www.qiagen.com/neumodx-ifu](http://www.qiagen.com/neumodx-ifu)

Pour des instructions détaillées, se reporter au Manuel d'utilisation du NeuMoDx 288 Molecular System ; réf. 40600108

Pour des instructions détaillées, se reporter au Manuel d'utilisation du NeuMoDx 96 Molecular System ; réf. 40600317

### UTILISATION PRÉVUE

Le NeuMoDx HBV Quant Assay est un test automatisé d'amplification d'acides nucléiques *in vitro* pour la quantification de l'ADN du virus de l'hépatite B (HBV) dans les échantillons de plasma et de sérum humains pour les patients infectés par le HBV de génotypes A à H. Le NeuMoDx HBV Quant Assay effectué sur le NeuMoDx 288 Molecular System et le NeuMoDx 96 Molecular System (NeuMoDx System[s]) comprend l'extraction automatisée de l'ADN pour isoler l'acide nucléique cible de l'échantillon et une réaction en chaîne par polymérase (qPCR) en temps réel qui cible les séquences hautement conservées du génome du virus de l'hépatite B.

Le NeuMoDx HBV Quant Assay est conçu pour aider à la prise en charge des patients infectés par le HBV. Les résultats du NeuMoDx HBV Quant Assay doivent être interprétés à la lumière de tous les résultats cliniques et de laboratoire appropriés. Le NeuMoDx HBV Quant Assay n'est pas conçu pour être utilisé comme test de dépistage du sang ou des produits sanguins ni comme outil diagnostique pour déterminer le statut clinique d'une infection à HBV.

### RÉSUMÉ ET EXPLICATIONS

Le sang total humain collecté soit dans des tubes de prélèvement sanguin stériles contenant de l'EDTA (acide éthylène diamine tétra-acétique) ou de l'ACD (acide citrique, citrate, dextrose) comme anticoagulant, soit dans des tubes de préparation du plasma (Plasma Preparation Tubes, PPT) peut être utilisé pour la préparation du plasma, tandis que le sérum doit être collecté dans des tubes de prélèvement de sérum ou des tubes de séparation de sérum (Serum Separation Tubes, SST). Pour préparer le test, charger sur le NeuMoDx System, à l'aide d'un porte-tubes à échantillons désigné, le plasma ou le sérum contenu dans un tube à échantillon secondaire, ou le sang fractionné dans un tube de prélèvement primaire, compatible avec le NeuMoDx System. Pour chaque échantillon, une aliquote d'échantillon de plasma ou de sérum est mélangée avec du NeuMoDx Lysis Buffer 1 et le NeuMoDx System effectue automatiquement toutes les étapes nécessaires pour extraire l'acide nucléique cible, préparer l'ADN isolé pour l'amplification par PCR en temps réel et, s'il y en a, l'amplifier et détecter les produits de l'amplification (des sections du génome de HBV dans les régions hautement conservées codant pour la *protéine X* et la *protéine PrÉC*). Le NeuMoDx HBV Quant Assay inclut un contrôle des processus de traitement d'échantillons (Sample Process Control, SPC1) d'ADN, qui permet de contrôler la présence de substances potentiellement inhibitrices ainsi que les défaillances du NeuMoDx System ou des réactifs pouvant survenir durant les processus d'extraction et d'amplification.

Le virus de l'hépatite B (Hepatitis B Virus, HBV) est l'agent responsable de l'infection du foie par l'hépatite B et constitue un problème de santé mondial. L'hépatite B peut entraîner une hépatite aiguë ou évoluer vers une infection chronique entraînant une cirrhose ou un cancer du foie. Le risque de développer une maladie chronique est essentiellement dépendant de l'âge ; si le virus est transmis à la naissance, il y a plus de 90 % de chances qu'une maladie chronique se développe, tandis qu'un adulte infecté a 2 à 6 % de chances de développer une maladie chronique.<sup>1</sup> Le HBV se transmet soit par contact sanguin avec une personne infectée, soit par transmission sexuelle, soit par partage d'aiguilles avec une personne infectée lors de l'utilisation de drogues par voie intraveineuse, soit par transmission verticale de la mère à l'enfant lors de l'accouchement. Aux États-Unis, environ 850 000 personnes vivent avec une infection à HBV, la majorité des nouvelles infections étant dues à une transmission par voie sexuelle ou injection de drogues<sup>2</sup>. En Afrique et dans le Pacifique occidental, pas moins de 5 % de la population est infectée. En 2015, les infections à HBV ont provoqué 885 000 décès dans le monde, principalement suite à une cirrhose ou à un carcinome hépatocellulaire<sup>3</sup> Il existe un vaccin efficace à 95 % dans la prévention des infections au HBV, permettant la diminution des cas diagnostiqués chaque année.<sup>4</sup>

La norme de soins actuelle pour une infection à HBV est un traitement antiviral, qui nécessite un suivi constant pour s'assurer qu'il se déroule de la manière souhaitée. Le suivi du traitement à l'aide du NeuMoDx HBV Quant Assay peut fournir aux médecins les informations nécessaires pour faciliter la prise en charge des patients avec une infection à HBV.

### PRINCIPES DE LA PROCÉDURE

Le NeuMoDx HBV Quant Assay combine l'extraction, l'amplification et la détection automatisées de l'ADN par PCR en temps réel. Les échantillons de sang total sont collectés soit dans des tubes contenant de l'EDTA ou de l'ACD, soit dans des tubes PPT pour la préparation du plasma et/ou dans des tubes SST pour la préparation du sérum. L'échantillon de sang (fractionné) primaire ou un tube à échantillon secondaire compatible contenant une aliquote de plasma/sérum est muni d'un code-barres puis placé sur le NeuMoDx System. Le NeuMoDx System aspire automatiquement une aliquote du plasma/sérum pour la mélanger avec le NeuMoDx Lysis Buffer 1 et les agents présents dans la NeuMoDx Extraction Plate avant de lancer le traitement. Le NeuMoDx System assure l'automatisation et l'intégration de l'extraction et de la concentration de l'ADN, de la préparation des réactifs et de l'amplification/détection des acides nucléiques des séquences cibles à l'aide de la PCR en temps réel. Le contrôle des processus de traitement d'échantillons (Sample Process Control, SPC1) permet de contrôler la présence de substances inhibitrices ainsi que les défaillances du système, des processus ou des réactifs. Aucune intervention de l'opérateur n'est requise une fois l'échantillon chargé sur le NeuMoDx System.

Le NeuMoDx System fait appel à une association entre chaleur, enzyme lytique et réactifs d'extraction pour effectuer automatiquement la lyse, l'extraction de l'ADN et l'élimination des inhibiteurs. Les acides nucléiques libérés sont capturés par des particules paramagnétiques. Ces particules, sur lesquelles est fixé l'acide nucléique, sont chargées dans la NeuMoDx Cartridge où les éléments non fixés sont éliminés par rinçage avec le NeuMoDx Wash Reagent. L'ADN fixé est ensuite élué à l'aide de NeuMoDx Release Reagent. Le NeuMoDx System utilise l'ADN élué pour réhydrater

les réactifs d'amplification exclusifs NeuDry™ contenant tous les éléments nécessaires à l'amplification des cibles de HBV et de SPC1. Cela permet l'amplification et la détection simultanées des séquences d'ADN des cibles et du contrôle. Après reconstitution des réactifs de PCR déshydratés, le NeuMoDx System transfère le mélange prêt pour la PCR dans une chambre de PCR (une par échantillon) de la NeuMoDx Cartridge. L'amplification et la détection des séquences d'ADN du contrôle et des cibles (si elles sont présentes) se déroulent dans la chambre de PCR. La NeuMoDx Cartridge est conçue pour contenir l'amplicon issu de la PCR, éliminant pratiquement tout risque de contamination après l'amplification.

Les cibles amplifiées sont détectées en temps réel grâce à l'hydrolyse de sondes (un processus communément appelé « chimie TaqMan® ») constituées de molécules oligonucléotidiques fluorogènes spécifiques des amplicons de leurs cibles respectives. Les sondes TaqMan comportent un fluorophore lié par liaison covalente à l'extrémité 5' de la sonde oligonucléotidique et un quencher à l'extrémité 3'. Tant que la sonde est intacte, le fluorophore et le quencher sont à proximité l'un de l'autre, entraînant l'extinction par le quencher de la fluorescence émise par le fluorophore par Transfert d'énergie entre molécules fluorescentes (Förster Resonance Energy Transfer, FRET).

Les sondes TaqMan sont conçues pour s'hybrider dans une région d'ADN amplifiée par un ensemble spécifique d'amorces. Au moment où la Taq ADN polymérase étend l'amorce et synthétise le nouveau brin, l'activité de l'exonucléase dans le sens 5' vers 3' de la Taq ADN polymérase dégrade la sonde qui s'est renaturée sur la matrice. La dégradation de la sonde libère le fluorophore et met fin à sa proximité avec le quencher, supprimant l'extinction due au FRET et permettant la détection du fluorophore. Le signal de fluorescence généré, qui est détecté dans le thermocycleur de PCR quantitative du NeuMoDx System et est directement proportionnel au fluorophore libéré, peut être corrélé avec la quantité de séquence cible présente.

Une sonde TaqMan marquée par un fluorophore (Excitation : 490 nm et Émission : 521 nm) à l'extrémité 5' et un quencher foncé à l'extrémité 3' sont utilisés pour détecter l'ADN du HBV. Pour la détection du contrôle des processus de traitement d'échantillons (Sample Process Control, SPC1), la sonde TaqMan est marquée par un autre colorant fluorescent (Excitation : 535 nm et Émission : 556 nm) à l'extrémité 5' et un quencher foncé à l'extrémité 3'. Le logiciel du NeuMoDx System contrôle le signal fluorescent émis par les sondes TaqMan à la fin de chaque cycle d'amplification. Une fois l'amplification terminée, le logiciel du NeuMoDx System analyse les données et rapporte un résultat final (POSITIVE [Positif]/NEGATIVE [Négatif]/INDETERMINATE [Indéterminé]/UNRESOLVED [Non résolu]/NO RESULT [Aucun résultat]). Si un résultat est positif et que la concentration calculée est dans les limites de quantification, le logiciel du NeuMoDx System fournit également une valeur quantitative associée à l'échantillon.

### RÉACTIFS/CONSOMMABLES

#### Matériel fourni

RÉF.	Contenu	Unités par paquet	Tests par unité	Tests par paquet
201300	<b>NeuMoDx HBV Quant Test Strip</b> <i>Réactifs de PCR déshydratés contenant la sonde et les amorces TaqMan spécifiques à la HBV et au SPC1.</i>	6	16	96

#### Matériel nécessaire, mais non fourni (disponible séparément auprès de NeuMoDx)

RÉF.	Contenu
100200	<b>NeuMoDx Extraction Plate</b> <i>Particules paramagnétiques, enzyme lytique et contrôles des processus de traitement d'échantillons déshydratés</i>
800100 ou 800102	<b>NeuMoDx HBV Calibrators</b> <i>Paires d'étalons de HBV à usage unique fortement et faiblement positifs pour établir la validité de la courbe d'étalonnage</i>
900101 ou 900102	<b>NeuMoDx HBV External Controls</b> <i>Paires de contrôles positifs et négatifs à usage unique</i>
400400	<b>NeuMoDx Lysis Buffer 1</b>
400100	<b>NeuMoDx Wash Reagent</b>
400200	<b>NeuMoDx Release Reagent</b>
100100	<b>NeuMoDx Cartridge</b>
235903	<b>Pointes Hamilton® CO-RE / CO-RE II (300 µl) avec filtres</b>
235905	<b>Pointes Hamilton CO-RE / CO-RE II (1 000 µl) avec filtres</b>

#### Instruments requis

NeuMoDx 288 Molecular System [RÉF 500100] ou NeuMoDx 96 Molecular System [RÉF 500200]

### AVERTISSEMENTS ET PRÉCAUTIONS

- La NeuMoDx HBV Quant Test Strip est destinée à une utilisation pour le diagnostic *in vitro* avec les NeuMoDx Systems uniquement.
- Ne pas utiliser les réactifs ou les consommables après la date de péremption indiquée.

- Ne pas utiliser les réactifs si le sceau de sécurité est brisé ou si l'emballage est endommagé à réception.
- Ne pas utiliser de réactifs ou de consommables si l'enveloppe protectrice est ouverte ou brisée à réception.
- Un étalonnage de test valide (généralisé par le traitement des NeuMoDx HBV Calibrators faiblement et fortement positifs) doit être disponible avant que les résultats de test puissent être générés pour les échantillons cliniques.
- Les NeuMoDx HBV External Controls doivent être traités toutes les 24 heures tout au long du test avec le NeuMoDx HBV Quant Assay.
- Le volume d'échantillon minimal dépend de la taille des tubes, du support d'échantillons et du traitement de volume d'échantillon tel que défini ci-dessous. Tout volume inférieur au minimum spécifié peut entraîner l'erreur suivante : « Quantity Not Sufficient » (Quantité insuffisante).
- L'utilisation d'échantillons conservés à des températures inappropriées ou plus longtemps que les durées de stockage spécifiées peut entraîner des résultats non valides ou erronés.
- Éviter la contamination de tous les réactifs et consommables par des microbes ou une désoxyribonucléase (ADNase) en toutes circonstances. Les pipettes de transfert jetables stériles et exemptes d'ADNase sont recommandées en cas d'utilisation de tubes secondaires. Utiliser une nouvelle pipette pour chaque échantillon.
- Afin d'éviter la contamination, ne pas manipuler ou démonter la NeuMoDx Cartridge après amplification. Ne jamais récupérer de NeuMoDx Cartridges dans le récipient pour déchets à risque biologique (NeuMoDx 288 Molecular System) ni dans la poubelle pour déchets à risque biologique (NeuMoDx 96 Molecular System). La NeuMoDx Cartridge est conçue de façon à empêcher la contamination.
- Dans le cas où des tests de PCR à tube ouvert sont également effectués par le laboratoire, des précautions doivent être prises pour s'assurer que la NeuMoDx HBV Quant Test Strip, les consommables et les réactifs supplémentaires nécessaires pour le test, l'équipement de protection individuelle comme les gants et les blouses, ainsi que le NeuMoDx System ne sont pas contaminés.
- Des gants en nitrile sans poudre propres doivent être enfilés avant la manipulation des réactifs et consommables NeuMoDx. Prendre des précautions pour éviter de toucher la surface supérieure de la NeuMoDx Cartridge, la surface d'aluminium de la NeuMoDx HBV Quant Test Strip et de la NeuMoDx Extraction Plate ou la surface supérieure du NeuMoDx Lysis Buffer 1. Manipuler les consommables et les réactifs en touchant uniquement les surfaces latérales.
- Les fiches de données de sécurité (FDS) sont fournies pour chaque réactif (le cas échéant) sur [www.qiagen.com/neumodx-ifu](http://www.qiagen.com/neumodx-ifu).
- Se laver les mains soigneusement après avoir réalisé le test.
- Ne pas pipetter à la bouche. Ne pas fumer, manger ou boire dans les zones de manipulation des échantillons ou des réactifs.
- Toujours manipuler les échantillons comme s'ils étaient infectieux et conformément aux procédures de sécurité des laboratoires, comme celles décrites dans *Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories*<sup>5</sup> et dans le document M29-A4 du CLSI<sup>6</sup>.
- Jeter les réactifs inutilisés et les déchets conformément aux réglementations en vigueur (nationales, fédérales, locales, de la province et de l'État).
- Ne pas réutiliser.



### STOCKAGE, MANIPULATION ET STABILITÉ DU PRODUIT

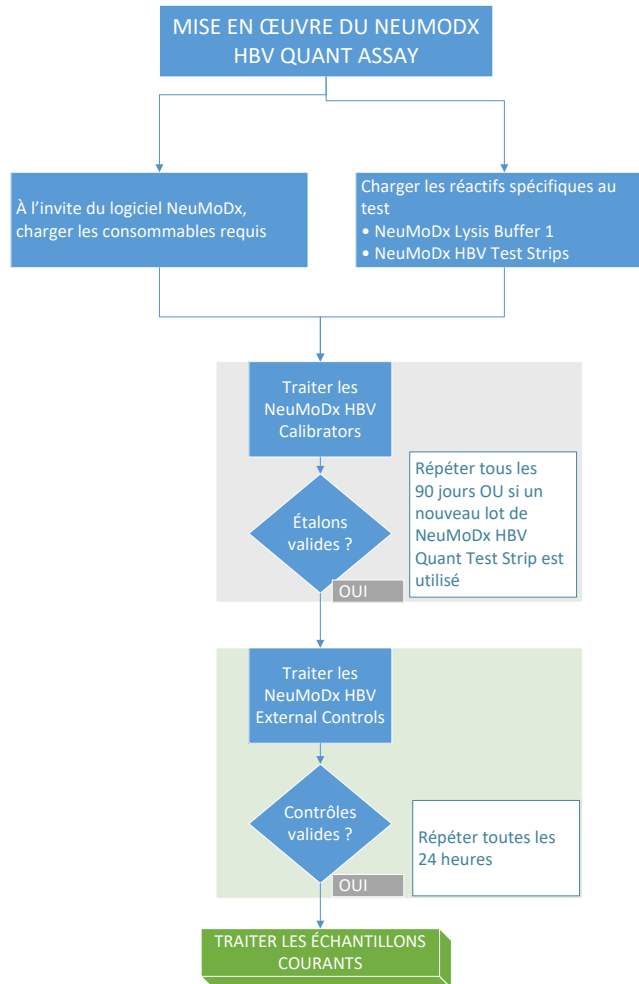
- Les NeuMoDx HBV Quant Test Strips sont stables dans leur emballage primaire jusqu'à la date de péremption indiquée sur l'étiquette lorsqu'elles sont conservées entre 4 et 28 °C.
- Ne pas utiliser les consommables ou réactifs après la date de péremption indiquée.
- Ne pas utiliser de produit de test si l'emballage primaire ou secondaire est visiblement dégradé.
- Ne pas recharger de produit de test précédemment chargé dans un autre NeuMoDx System.
- Une fois chargée, la NeuMoDx HBV Quant Test Strip peut rester à bord du NeuMoDx System pendant 62 jours. Le logiciel suit la durée de vie restante des bandelettes de test chargées et l'indique à l'utilisateur en temps réel. Le système invite l'utilisateur à retirer toute bandelette de test dont l'utilisation a dépassé la durée autorisée.

### PRÉLÈVEMENT, TRANSPORT ET STOCKAGE DES ÉCHANTILLONS

1. Manipuler tous les échantillons, étalons et contrôles comme s'ils pouvaient transmettre des agents infectieux.
2. Ne pas congeler d'échantillons de sang total ni aucun échantillon conservé dans des tubes primaires.
3. Pour préparer des échantillons de plasma, le sang total doit être collecté dans des tubes stériles contenant de l'EDTA ou de l'ACD comme anticoagulants. Respecter les consignes du fabricant des tubes de prélèvement d'échantillons pour la préparation et le stockage.
4. Pour préparer des échantillons de sérum, le sang total doit être collecté dans des tubes SST. Respecter les consignes du fabricant des tubes de prélèvement d'échantillons pour la préparation et le stockage.
5. Les échantillons peuvent être testés dans des tubes à échantillons primaires ou secondaires. Recommandations pour le test avec tube primaire :
  - a. Échantillons de plasma : BD Vacutainer® Plus Plastic K<sub>2</sub>EDTA Tube (BD n° 368589) ou BD Vacutainer PPT™ Plasma Preparation Tube (BD n° 362799).
  - b. Échantillons de sérum : BD Vacutainer Plus Plastic Serum Tube (BD n° 367820) ou BD Vacutainer SST™ Tube (BD n° 367988).

6. Une fois préparés, les échantillons peuvent être stockés sur le NeuMoDx System jusqu'à 8 heures pour le plasma et 24 heures pour le sérum avant leur traitement. Si vous devez les conserver plus longtemps, il est recommandé de placer les échantillons au réfrigérateur ou au congélateur sous forme d'aliquotes secondaires.
7. Les échantillons préparés peuvent être conservés avant le test pendant un maximum de 7 jours entre 2 et 8 °C et pendant un maximum de 8 heures pour le plasma et de 24 heures pour le sérum à température ambiante.
8. Les échantillons préparés peuvent être conservés à une température  $\leq -20$  °C pendant un maximum de 4 semaines (sérum) ou de 6 mois (plasma) avant leur traitement ; avant leur utilisation, les échantillons congelés ne doivent pas subir plus de 2 cycles de congélation/décongélation pour le plasma et 4 cycles de congélation/décongélation pour le sérum.
  - a. Si les échantillons sont congelés, il faut les laisser se décongeler complètement à température ambiante (15 à 30 °C), puis les vortexer pour assurer leur homogénéité.
  - b. Lorsque des échantillons sont décongelés, le test doit intervenir dans les 24 heures.
  - c. Il n'est pas recommandé de congeler le plasma/sérum dans les tubes à échantillons primaires.
9. En cas de transport, les échantillons doivent être emballés et étiquetés conformément à la réglementation nationale et/ou internationale en vigueur.
10. Étiqueter clairement les échantillons et indiquer ceux qui sont destinés à un test de HBV.
11. Passer à la section *Préparation du test*.

Le processus complet de réalisation des tests avec le NeuMoDx HBV Quant Assay est résumé dans la *figure 1* ci-dessous.



**Figure 1** : méthode de réalisation des tests avec le NeuMoDx HBV Quant Assay

### MODE D'EMPLOI

#### Préparation du test

Le NeuMoDx HBV Quant Assay peut être réalisé directement à partir de tubes à échantillons primaires ou d'aliquotes d'échantillons contenues dans des tubes secondaires. Le traitement peut s'effectuer en suivant l'une des deux méthodes de traitement des volumes d'échantillons : la méthode avec un volume d'échantillon de 550 µl ou la méthode de traitement des échantillons de 200 µl. Appliquer une étiquette code-barres pour échantillon sur un tube à échantillon compatible avec le NeuMoDx System.

1. Appliquer une étiquette code-barres pour échantillon sur un tube à échantillon compatible avec le NeuMoDx System. Le tube à échantillon sanguin primaire peut être étiqueté puis placé directement après centrifugation dans un porte-tubes pour 32 tubes à échantillons, comme indiqué par le fabricant. Il est aussi possible de transférer une aliquote de plasma/sérum dans un tube secondaire pour le traitement sur le NeuMoDx System.
2. En cas de test de l'échantillon dans le tube à échantillon primaire, placer le tube muni d'une étiquette code-barres dans un porte-tubes à échantillons et veiller à ce que le bouchon soit retiré avant le chargement sur le NeuMoDx System. Les volumes minimaux **au-dessus** du gel ou de la couche leucoplaquettaire sont définis ci-dessous et ils sont atteints si les échantillons sont collectés et traités conformément aux consignes du fabricant. Les performances ne sont pas garanties si les échantillons sont collectés de façon inappropriée.

Type de tube	Volume minimal d'échantillon requis	
	Méthode avec 550 µl	Méthode avec 200 µl
SST, 3,5 ml	1 550 µl	1 200 µl
PPT/SST, 5,0 ml	1 800 µl	1 450 µl
PPT/SST, 8,5 ml	2 500 µl	2 200 µl
K <sub>2</sub> EDTA/sérum, 4,0 ml	1 050 µl	700 µl
K <sub>2</sub> EDTA/sérum, 6,0 ml	1 250 µl	900 µl
K <sub>2</sub> EDTA/sérum, 10,0 ml	1 600 µl	1 250 µl

3. En cas d'utilisation d'un tube secondaire, transférer une aliquote de plasma/sérum dans le tube à échantillon muni de l'étiquette code-barres compatible avec le NeuMoDx System en respectant les volumes définis ci-dessous :

Porte-tubes à échantillons	Dimensions des tubes	Volume minimal d'échantillon requis	
		Méthode avec 550 µl	Méthode avec 200 µl
<b>32-Tube Specimen Tube Carrier</b> (Porte-tubes pour 24 tubes à échantillons)	11–14 mm de diamètre par 60–120 mm de hauteur	700 µl	400 µl
<b>24-Tube Specimen Tube Carrier</b> (Porte-tubes pour 24 tubes à échantillons)	14,5–18 mm de diamètre par 60–120 mm de hauteur	1 100 µl	800 µl
<b>Low Volume Specimen Tube Carrier</b> (Porte-tubes à échantillons faible volume)	Tube de microcentrifugation de 1,5 ml à fond conique	650 µl	300 µl

#### Utilisation des NeuMoDx Systems

Pour des instructions détaillées, se reporter aux manuels d'utilisation des NeuMoDx 288 et 96 Molecular Systems (réf. 40600108 et 40600317)

1. Charger la commande de test sur le NeuMoDx System en fonction du volume de traitement des échantillons et du type de tube à échantillon souhaités :
  - Pour le volume d'échantillon de 550 µl, le test s'effectue en définissant le type d'échantillon comme « **Plasma** » ou « **Sérum** » (Sérum)
  - Pour le volume d'échantillon de 200 µl, le test s'effectue en définissant le type d'échantillon comme « **Plasma2** » ou **Sérum2** (Sérum2)
  - S'il n'est pas défini dans la commande de test, le type d'échantillon **Plasma** dans un **Secondary Tube** (Tube secondaire) est utilisé par défaut.

2. Remplir un ou plusieurs supports de bandelettes de test pour NeuMoDx System avec une ou plusieurs NeuMoDx HBV Quant Test Strips et utiliser l'écran tactile pour charger le ou les supports de bandelettes de test dans le NeuMoDx System.
3. Le cas échéant, à l'invite du logiciel du NeuMoDx System, ajouter les consommables nécessaires dans les supports de consommables du NeuMoDx System et utiliser l'écran tactile pour charger le ou les supports dans le NeuMoDx System.
4. Le cas échéant, à l'invite du logiciel du NeuMoDx System, remplacer le NeuMoDx Wash Reagent et le NeuMoDx Release Reagent, vider les déchets d'amorçage, le récipient pour déchets à risque biologique (NeuMoDx 288 Molecular System uniquement), la poubelle pour pointes à risque biologique (NeuMoDx 96 Molecular System uniquement) ou la poubelle pour déchets à risque biologique (NeuMoDx 96 Molecular System uniquement).
5. Le cas échéant, à l'invite du logiciel du NeuMoDx System, procéder au traitement des NeuMoDx HBV Calibrators et/ou NeuMoDx HBV External Controls. Vous trouverez des informations supplémentaires sur les étalons et les contrôles dans la section *Traitement des résultats*.
6. Charger les tubes à échantillons/étalons/contrôles dans un porte-tubes à échantillons en veillant à ce que les bouchons aient été retirés de tous les tubes.
7. Placer le ou les porte-tubes à échantillon sur la tablette du chargeur automatique et utiliser l'écran tactile pour charger le ou les porte-tubes dans le NeuMoDx System. Cela déclenche le traitement des échantillons chargés pour les tests identifiés, à condition qu'une commande de test valide soit présente dans le système.

### LIMITATIONS

1. La NeuMoDx HBV Quant Test Strip peut être utilisée uniquement sur les NeuMoDx System.
2. Les performances de la NeuMoDx HBV Quant Test Strip ont été établies pour les échantillons de plasma préparés avec EDTA/ACD comme anticoagulant ou les échantillons de sérum préparés dans des tubes séparateurs de sérum. L'utilisation de la NeuMoDx HBV Quant Test Strip avec d'autres sources n'a pas été évaluée et les caractéristiques de performances pour d'autres types d'échantillons sont inconnues.
3. Les performances de la NeuMoDx HBV Quant Test Strip ont été établies pour les tests réalisés à l'aide d'un tube primaire BD Vacutainer Plus Plastic K<sub>2</sub>EDTA Tube, BD Vacutainer PPT Plasma Preparation Tube, BD Vacutainer Plus Plastic Serum Tube et BD Vacutainer SST Tube.
4. Une légère augmentation de la limite de détection et de la limite de quantification inférieure du NeuMoDx HBV Quant Assay a été observée lors de l'utilisation de la méthode avec un volume d'échantillon de 200 µl.
5. Le NeuMoDx HBV Quant Assay est conçu uniquement pour une utilisation à des fins de suivi quantitatif. Il n'est pas destiné à être utilisé pour la détection qualitative.
6. Le NeuMoDx HBV Quant Assay ne doit pas être utilisé avec des échantillons provenant de patients sous héparine.
7. La détection de HBV dépendant du nombre de particules d'ADN cible présentes dans l'échantillon, l'obtention de résultats fiables exige que la collecte, la manipulation et la conservation des échantillons soient effectuées de façon appropriée.
8. Les NeuMoDx HBV Calibrators et NeuMoDx HBV External Controls doivent être traités conformément à leur notice en suivant les indications du logiciel du NeuMoDx System avant le traitement des échantillons cliniques de routine.
9. Une collecte, manipulation ou conservation inappropriée des échantillons, ainsi qu'une erreur technique ou une confusion entre les tubes à échantillons, peut entraîner l'obtention de résultats erronés. En outre, des faux négatifs peuvent se produire lorsque le nombre de particules virales présentes dans l'échantillon est inférieur à la limite de détection du NeuMoDx HBV Quant Assay.
10. L'utilisation du NeuMoDx System est limitée au personnel formé à son utilisation.
11. Si les cibles du HBV et du SPC1 ne sont pas amplifiées, un résultat non valide (Indeterminate [Indéterminé], No Result [Aucun résultat] ou Unresolved [Non résolu]) est rapporté et le test doit être répété.
12. Si le résultat du NeuMoDx HBV Quant Assay est Positive (Positif), mais que la valeur de quantification est en dehors des limites de quantification, le NeuMoDx System indique si le HBV détecté était *inférieur* à la limite de quantification inférieure (Lower Limit of Quantitation, LLoQ) ou *supérieur* à la limite de quantification supérieure (Upper Limit of Quantitation, ULoQ).
13. Si le HBV détecté était *inférieur* à la LLoQ, le dosage peut être répété (si vous le souhaitez) avec une autre aliquote de l'échantillon.
14. Si le HBV détecté était supérieur à la ULoQ, le NeuMoDx HBV Quant Assay peut être répété avec une aliquote diluée de l'échantillon d'origine. Une dilution 1:1 000 dans le plasma négatif à HBV ou le diluant Basematrix 53 Diluent (Basematrix ; SeraCare, Milford, MA) est recommandée. La concentration de l'échantillon d'origine peut être calculée comme suit :
 
$$\text{concentration de l'échantillon d'origine} = \log_{10}(\text{facteur de dilution}) + \text{concentration rapportée de l'échantillon dilué}$$
15. La présence éventuelle d'inhibiteurs de PCR dans le plasma peut engendrer une erreur de quantification du système. Le cas échéant, il est recommandé de répéter le test avec le même échantillon dilué dans du Basematrix à 1:10 ou 1:100.
16. Un résultat positif n'indique pas nécessairement la présence d'organismes viables. Mais la présence d'ADN du virus de l'hépatite B doit donner un résultat positif.

17. Les délétions ou les mutations dans les régions conservées ciblées par le NeuMoDx HBV Quant Assay peuvent affecter la détection ou entraîner un résultat erroné lors de l'utilisation de la NeuMoDx HBV Quant Test Strip.
18. Les résultats du NeuMoDx HBV Quant Assay doivent être utilisés en complément des observations cliniques et des autres informations à la disposition du médecin ; ce dosage n'est pas conçu pour diagnostiquer une infection.
19. Il est recommandé d'observer les bonnes pratiques de laboratoire, comme le changement des gants entre chaque manipulation d'échantillons patient, afin d'éviter toute contamination.

### TRAITEMENT DES RÉSULTATS

Les résultats disponibles peuvent être consultés ou imprimés à partir de l'onglet « Results » (Résultats) de la fenêtre Results (Résultats) sur l'écran tactile du NeuMoDx System. Les résultats du NeuMoDx HBV Quant Assay sont générés automatiquement par le logiciel du NeuMoDx System à l'aide d'un algorithme décisionnel et des paramètres de traitement des résultats spécifiés dans le fichier de définition du NeuMoDx HBV Quant Assay (HBV ADF). Un résultat peut être rapporté comme Negative (Négatif), Positive (Positif) avec une concentration de HBV rapportée, Positive (Positif) supérieur à la ULoQ, Positive (Positif) inférieur à la LLoQ, Indeterminate (Indéterminé, IND), Unresolved (Non résolu, UNR) ou No Result (Aucun résultat, NR) en fonction du statut d'amplification de la cible et du contrôle des processus de traitement d'échantillons. Les résultats sont rapportés en fonction de l'algorithme de décision de l'ADF, qui est résumé dans le *tableau 1* ci-dessous.

Tableau 1 : résumé de l'algorithme de décision du HBV Quant Assay

RÉSULTAT	Cible de HBV	Contrôle des processus de traitement d'échantillons (Sample Process Control, SPC1)	Interprétation du résultat
<b>Positive (Positif) avec une concentration rapportée</b>	Amplified (Amplifié) $0,9 \leq [\text{HBV}] \leq 9,0 \log_{10} \text{ UI/ml}$ (méthode avec 550 $\mu\text{l}$ ) $1,4 \leq [\text{HBV}] \leq 9,0 \log_{10} \text{ UI/ml}$ (méthode avec 200 $\mu\text{l}$ )	Amplified (Amplifié) ou Not Amplified (Non amplifié)	ADN de HBV détecté dans la gamme de quantification
<b>Positive (Positif) supérieur à l'ULoQ</b>	Amplified (Amplifié) [HBV] > 9,0 $\log_{10}$ UI/ml	Amplified (Amplifié) ou Not Amplified (Non amplifié)	ADN de HBV détecté au-dessus de la gamme de quantification
<b>Positive (Positif) inférieur à la LLoQ</b>	Amplified (Amplifié) [HBV] < 0,9 $\log_{10}$ UI/ml (méthode avec 550 $\mu\text{l}$ ) [HBV] < 1,4 $\log_{10}$ UI/ml (méthode avec 200 $\mu\text{l}$ )	Amplified (Amplifié) ou Not Amplified (Non amplifié)	ADN de HBV détecté en dessous de la gamme de quantification
<b>Negative (Négatif)</b>	Not Amplified (Non amplifié)	Amplified (Amplifié)	ADN de HBV non détecté
<b>Indeterminate (Indéterminé)</b>	Not Amplified, System Error Detected, Sample Processing Completed (Non amplifié, erreur système détectée, traitement des échantillons terminé)		Tous les résultats des cibles étaient non valides ; retester l'échantillon <sup>†</sup>
<b>No Result* (Aucun résultat)</b>	Not Amplified, System Error Detected, Sample Processing Aborted (Non amplifié, erreur système détectée, traitement des échantillons abandonné)		Traitement des échantillons abandonné ; retester l'échantillon <sup>†</sup>
<b>Unresolved (Non résolu)</b>	Not Amplified, No System Error Detected (Non amplifié, aucune erreur système détectée)		Tous les résultats des cibles étaient non valides ; retester l'échantillon <sup>†</sup>

\*L'indicateur d'erreur No Result (Aucun résultat) est rapporté uniquement dans les versions 1.8 et ultérieures du logiciel NeuMoDx System.

<sup>†</sup>Le NeuMoDx System est pourvu d'une capacité automatique Rerun/Repeat (Réexécuter/répéter) que l'utilisateur peut choisir de sélectionner pour s'assurer qu'un résultat IND/UNR/NR (Indéterminé/Non résolu/Aucun résultat) est retraité automatiquement afin de réduire les délais de transmission des résultats.

### Calcul du test

1. Pour les échantillons dans la gamme de quantification du NeuMoDx HBV Quant Assay, la concentration d'ADN de HBV dans les échantillons est calculée à l'aide de la courbe d'étalonnage enregistrée, du coefficient d'étalonnage et du volume d'échantillon
  - a. Un coefficient d'étalonnage est calculé d'après les résultats des NeuMoDx HBV Calibrators traités pour établir la validité de la courbe d'étalonnage pour un lot donné de NeuMoDx HBV Quant Test Strip sur un NeuMoDx System spécifique.
  - b. Le coefficient d'étalonnage est intégré dans la détermination finale de la concentration de l'ADN de HBV.
  - c. Le logiciel NeuMoDx prend en compte le volume d'échantillon introduit dans la détermination de la concentration d'ADN de HBV par ml d'échantillon.
2. Les résultats du NeuMoDx HBV Quant Assay sont exprimés en  $\log_{10}$  UI/ml.
3. La quantification des échantillons inconnus qui en résulte est traçable à la 4<sup>e</sup> Norme internationale de l'OMS pour le HBV.

### Étalonnage du test

La quantification de l'ADN de HBV dans les échantillons nécessite un étalonnage valide basé sur la courbe d'étalonnage. Pour générer des résultats valides, il faut effectuer un étalonnage du test avec les étalons externes fournis par NeuMoDx Molecular, Inc.

### Étalons

1. Un jeu de NeuMoDx HBV Calibrators doit être traité avec chaque nouveau lot de NeuMoDx HBV Quant Test Strips, si un nouveau fichier de définition du test de HBV Quant est téléchargé dans le NeuMoDx System, si la période de validité de la paire actuelle d'étalons est dépassée (actuellement définie à 90 jours) ou si le logiciel du NeuMoDx System est modifié.
2. Le logiciel du NeuMoDx System indique à l'utilisateur quand il convient de traiter les étalons. Vous ne pouvez pas utiliser de nouveau lot de bandelettes de test tant que les étalons n'ont pas été correctement traités.
3. La validité de l'étalonnage est établie comme suit :
  - a) Une paire d'étalons – un (1) fortement positif et un (1) fortement négatif – doit être traitée pour établir la validité.
  - b) Au moins deux (2) répliqués sur trois (3) doivent donner des résultats conformes aux paramètres prédéfinis. La cible nominale de l'étalon faiblement positif est de  $3,7 \log_{10}$  UI/ml et la cible nominale de l'étalon fortement positif est de  $5,7 \log_{10}$  UI/ml.
  - c) Un coefficient d'étalonnage est calculé pour tenir compte de la variation prévue entre les lots de bandelettes de test. Ce coefficient permet de déterminer la concentration finale de HBV.
4. En cas d'échec du contrôle de validité pour un étalon ou les deux, il faut répéter le traitement du ou des étalons en question avec un nouveau flacon. En cas d'échec du contrôle de validité pour un étalon, il est possible de répéter uniquement cet étalon, car le système ne nécessite pas que l'utilisateur traite de nouveau les deux étalons.
5. En cas de deux échecs successifs du contrôle de validité pour un étalon ou les deux, il faut contacter NeuMoDx Molecular, Inc.

### Contrôle de la qualité

Les réglementations locales spécifient normalement que le laboratoire a la responsabilité d'exécuter des procédures de contrôle permettant de vérifier l'exactitude et la précision de l'ensemble du processus d'analyse et qu'il doit établir le nombre, le type et la fréquence des tests de matériaux de contrôle en respectant les spécifications de performances approuvées pour un système de tests homologué et non modifié.

### Contrôles externes

1. Les contrôles externes positifs et négatifs doivent être traités toutes les 24 heures tout au long du test avec le NeuMoDx HBV Quant Assay. Si l'utilisateur ne dispose pas d'un ensemble de résultats de contrôles externes valides, le logiciel du NeuMoDx System l'invite à traiter ces contrôles avant que les résultats de l'échantillon soient rapportés.
2. Le NeuMoDx System évalue la validité des contrôles externes en fonction du résultat attendu. Le contrôle positif doit donner un résultat Positive (Positif) à HBV et le contrôle négatif un résultat Negative (Négatif) à HBV.
3. Les résultats discordants pour les contrôles externes doivent être traités comme suit :
  - a) Un résultat de test Positive (Positif) rapporté pour un échantillon de contrôle négatif indique un problème de contamination de l'échantillon.
  - b) Un résultat de test Negative (Négatif) rapporté pour un échantillon de contrôle positif peut indiquer qu'il y a un problème de réactif ou d'instrument.
  - c) Dans les cas ci-dessus ou en cas de résultat Indeterminate (Indéterminé, IND) ou de No Result (NR, Aucun résultat), il faut répéter les NeuMoDx HBV External Controls avec des flacons neufs des contrôles dont le test de validité a échoué.
  - d) Si un NeuMoDx HBV External Control positif continue de donner un résultat Negative (Négatif), contacter le service technique de NeuMoDx.
  - e) Si un NeuMoDx HBV External Control négatif continue de donner un résultat Positive (Positif), il faut essayer d'éliminer toutes les sources de contamination potentielle, notamment en remplaçant tous les réactifs avant de contacter le service technique de NeuMoDx.

### Contrôles (internes) des processus de traitement d'échantillons

Un contrôle des processus de traitement d'échantillons (Sample Process Control, SPC1) exogène est intégré à la NeuMoDx Extraction Plate ; il suit tout le processus d'extraction de l'acide nucléique et de son amplification par PCR en temps réel avec chaque échantillon. Les amorces et la sonde spécifiques au SPC1 sont également incluses dans chaque NeuMoDx HBV Quant Test Strip, permettant la détection de SPC1 avec l'ADN cible de HBV (s'il est présent) grâce à la PCR multiplex. La détection de l'amplification de SPC1 permet au logiciel du NeuMoDx System de contrôler l'efficacité des processus d'extraction de l'ADN et de son amplification par PCR.

### Résultats non valides

Si un NeuMoDx HBV Quant Assay effectué sur le NeuMoDx System échoue à produire un résultat valide après le traitement de l'échantillon, ce résultat est rapporté comme Indeterminate (Indéterminé, IND), No Result (Aucun résultat, NR) ou Unresolved (Non résolu, UNR) en fonction du type d'erreur survenue.



Un résultat IND (Indéterminé) est rapporté si une erreur du NeuMoDx System est détectée pendant le traitement des échantillons. Dans le cas d'un résultat IND (Indéterminé), une répétition du test est recommandée.

Un résultat UNR (Non résolu) est rapporté si aucune amplification valide de l'ADN de HBV ou de SPC1 n'est détectée, ce qui indique une possible défaillance des réactifs ou la présence d'inhibiteurs. Si un résultat UNR (Non résolu) est rapporté, il est recommandé de d'abord répéter le test. Si la répétition du test échoue, il est possible d'utiliser un échantillon dilué afin d'atténuer les effets de toute inhibition éventuelle.

Si un NeuMoDx HBV Quant Assay effectué sur le NeuMoDx System échoue à produire un résultat valide et si le traitement de l'échantillon est abandonné avant la fin, ce résultat est rapporté comme No Result (Aucun résultat, NR). Dans le cas où un résultat (NR) (Aucun résultat) est rapporté, une répétition du test est recommandée.

### CARACTÉRISTIQUES DE PERFORMANCES

#### Sensibilité analytique– Limite de détection avec l'étalon de l'OMS

La sensibilité analytique du NeuMoDx HBV Quant Assay a été caractérisée en testant des échantillons négatifs et une série de dilutions conforme à la 4<sup>e</sup> Norme internationale de l'OMS pour le plasma et le sérum humains négatifs, afin de déterminer la limite de détection (Limit of Detection, LoD) sur les NeuMoDx Systems. La LoD a été définie comme le niveau cible minimal détecté à un taux de 95 % selon une analyse de type Probit. Les études ont été réalisées pendant 3 jours sur plusieurs NeuMoDx Systems avec plusieurs lots de réactifs NeuMoDx. Une autre étude a été effectuée pour confirmer la LoD du NeuMoDx HBV Quant Assay lors de l'utilisation de la méthode avec un volume d'échantillon de 200 µl. Les taux de détection des deux études sont indiqués dans le *tableau 2*.

Tableau 2 : taux de détection positifs pour la détermination de la LoD du NeuMoDx HBV Quant Assay

	Concentration de la cible [UI/ml]	Concentration de la cible [ $\log_{10}$ UI/ml]	PLASMA			SÉRUM		
			Nombre de tests valides	Nombre de positifs	Taux de détection	Nombre de tests valides	Nombre de positifs	Taux de détection
<b>550 µl</b>	20	1,30	108	108	100 %	107	107	100 %
	10	1	108	107	99 %	108	104	96 %
	5	0,70	108	98	91 %	108	95	88 %
	2,5	0,40	108	97	90 %	108	72	67 %
	1,25	0,10	108	73	68 %	108	44	42 %
	NÉG	N/A (S.o.)	108	0	0 %	107	0	0 %
<b>200 µl</b>	25	1,40	43	43	100 %	44	44	100 %

La LoD du NeuMoDx HBV Quant Assay pour le génotype A du HBV (4<sup>e</sup> étalon international de l'OMS) dans le plasma a été déterminée comme étant de 5,2 UI/ml (IC à 95 % de 4,1 à 7,6 UI/ml) [(0,72  $\log_{10}$  UI/ml) (IC à 95 % de 0,61 à 0,88  $\log_{10}$  UI/ml)] en utilisant le flux de travail pour un volume d'échantillon de 550 µl (*Figure 2*). La LoD du NeuMoDx HBV Quant Assay pour les échantillons de sérum a été déterminée comme étant de 8,0 UI/ml (IC à 95 % de 6,5 à 10,8 UI/ml) [(0,9  $\log_{10}$  UI/ml) (IC à 95 % de 0,8 à 1,0  $\log_{10}$  UI/ml)] en utilisant le flux de travail pour un volume d'échantillon de 550 µl (*Figure 2*).

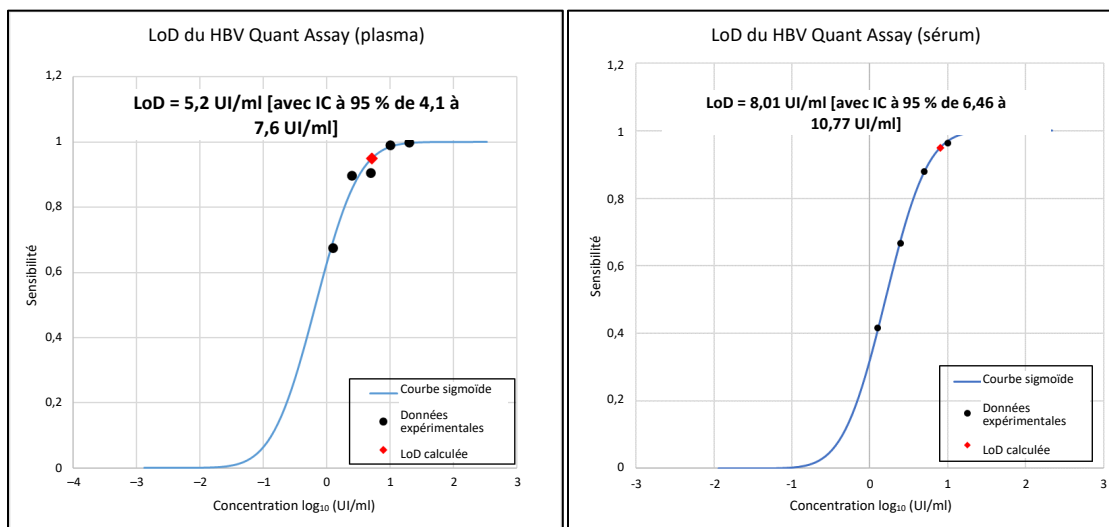


Figure 2 : analyse de type probit utilisée pour déterminer la LoD du NeuMoDx HBV Quant Assay pour le plasma (à gauche) et le sérum (à droite)

### Sensibilité analytique – Limite de quantification – Limite de quantification inférieure (Lower Limit of Quantitation, LLoQ) avec l'étalon de l'OMS

La limite de quantification inférieure (Lower Limit of Quantitation, LLoQ) est définie comme le niveau minimal de concentration en cible pour lequel la détection est > 95 % ET l'erreur analytique totale (Total Analytical Error, TAE) est ≤ 1,0. Pour déterminer la LLoQ, l'erreur analytique totale (total analytical error, TAE) a été calculée pour chacun des niveaux de concentration de la cible de HBV pour lesquels la détection était > 95 % lors du calcul de la LoD. La TAE est définie comme suit :

$$TAE = \text{biais} + 2 \cdot \text{ÉT} \quad [\text{statistique de Westgard}]$$

Le biais est la valeur absolue de la différence entre la moyenne de la concentration calculée et la concentration attendue. ÉT indique l'écart-type de la valeur quantifiée de l'échantillon.

Les résultats obtenus pour les 5 niveaux de concentration des échantillons de HBV utilisés dans l'étude de la LLoQ à l'aide de la 4<sup>e</sup> Norme internationale de l'OMS sont présentés dans le *tableau 3*. La LLoQ pour le 4<sup>e</sup> étalon international de l'OMS dans le plasma en utilisant le test NeuMoDx HBV Quant Assay (méthode avec un volume d'échantillon de 550 µl) a été déterminé à 5,5 UI/ml (0,74 log<sub>10</sub> UI/ml). Une étude distincte a été menée pour confirmer la LLoQ lors de l'utilisation de la méthode avec un volume d'échantillon de 200 µl. Ses résultats ont révélé une LLoQ de 25 UI/ml, comme indiqué dans le *tableau 3*.

La LLoQ déterminée du NeuMoDx HBV Quant Assay pour les échantillons de sérum était de 6,0 UI/ml pour la méthode avec un volume d'échantillon de 550 µl et de 25 UI/ml pour la méthode à faible volume (200 µl), comme indiqué dans le *tableau 3*.

**Tableau 3 : LLoQ NeuMoDx HBV Quant Assay, avec le biais et le TAE**

	Conc. cible [UI/ml]	Conc. cible [log <sub>10</sub> UI/ml]	Plasma					Sérum				
			Conc. moyenne [log <sub>10</sub> UI/ml]	Détection (%)	ÉT	Biais	TAE	Conc. moyenne [log <sub>10</sub> UI/ml]	Détection (%)	ÉT	Biais	TAE
550 µl	20	1,30	1,29	100	0,23	0,16	0,63	1,43	100	0,20	0,13	0,52
	10	1,00	1,07	99	0,25	0,20	0,71	1,21	96	0,24	0,21	0,69
	5	0,70	0,89	91	0,35	0,34	1,04	1,00	88	0,40	0,30	1,09
	2,5	0,40	0,75	90	0,44	0,51	1,39	0,96	67	0,44	0,56	1,46
	1,25	0,10	0,73	68	0,41	0,68	1,50	0,95	42	0,38	0,85	1,61
200 µl	25	1,40	1,61	100	0,35	0,21	0,91	1,81	100	0,18	0,41	0,78

### Sensibilité analytique : LoD et LLoQ pour les différents génotypes de HBV

La LoD a été initialement établie pour le génotype A (4<sup>e</sup> Norme internationale de l'OMS) et des tests supplémentaires ont été effectués pour chacun des sept autres génotypes dans une gamme proche de la LoD établie. Trente-six (36) réplicats à des niveaux de concentration correspondant à 2 fois, 1 fois et 0,5 fois la borne supérieure de l'IC à 95 % de la LoD (~7 UI/ml) ont été testés à l'aide du NeuMoDx HBV Quant Assay avec du plasma en suivant la méthode au volume d'échantillon de 550 µl. Le taux de pourcentage positif pour chaque génotype à chaque niveau de concentration testé a été déterminé et utilisé pour calculer la LoD à l'aide d'une analyse de type probit.

L'erreur analytique totale (Total Analytical Error, TAE) pour ces niveaux a aussi été calculée. Le niveau le plus faible avec 95 % de détections positives et une TAE calculée ≤ 1,0 a été de nouveau considéré comme la LLoQ pour ce génotype. Pour les différents génotypes, la limite de détection du NeuMoDx HBV Quant Assay pour les échantillons de plasma avec la méthode au volume d'échantillon de 550 µl était de 6,2 UI/ml (0,79 log<sub>10</sub> UI/ml) et la LLoQ était de 7,6 UI/ml (0,88 log<sub>10</sub> UI/ml), comme indiqué dans le *tableau 4*.

**Tableau 4. Génotypes de HBV testés dans le plasma à l'aide de la méthode avec un volume d'échantillon de 550 µl**

GÉNOTYPE	LoD [UI/ml]	LLoQ [UI/ml]
Génotype A	5,2	5,2
Génotype B	6,2	6,2
Génotype C	3,5	6,2
Génotype D	5,2	5,7
Génotype E	3,5	3,5
Génotype F	5,1	6,2
Génotype G	3,5	3,5
Génotype H	5,2	7,6

Sur la base des résultats de ces études, NeuMoDx revendique une **LoD et une LLoQ de 25 UI/ml (1,4 log<sub>10</sub> UI/ml)** pour le NeuMoDx HBV Quant Assay dans le **plasma et le sérum** en utilisant la **méthode avec un volume d'échantillon de 200 µl**.

NeuMoDx revendique une **LoD** une et une **LLOQ** de **8,0 UI/ml (0,9 log<sub>10</sub> UI/ml)** pour le NeuMoDx HBV Quant Assay dans **plasma et le sérum** en utilisant la **méthode avec un volume d'échantillon de 550 µl**.

### Sensibilité analytique – Linéarité et détermination de la limite de quantification supérieure (Upper Limit of Quantification, ULoQ)

La linéarité et la limite de quantification supérieure (Upper Limit of Quantification, ULoQ) du NeuMoDx HBV Quant Assay ont été établies dans le plasma en préparant une série de dilutions d'un échantillon clinique de HBV fortement positif (Access Biologicals, Vista, CA) avec traçabilité à la 4<sup>e</sup> Norme internationale de l'OMS. Un panel de 11 membres a été préparé dans du plasma négatif à HBV poolé pour créer un panel de test susceptible de couvrir une gamme de concentration de 9,02 à 1,02 log<sub>10</sub> UI/ml. Le panel de test a été traité avec 6 réplicats à chaque niveau de concentration sur 2 NeuMoDx Systems avec 3 lots de réactifs critiques. La capacité du NeuMoDx HBV Quant Assay à quantifier le HBV a été démontrée sur la gamme linéaire de 8 log<sub>10</sub> (comprenant des seuils de décision médicale critiques) avec un écart de ±0,22 log<sub>10</sub> UI/ml. L'utilisation de régressions de 2<sup>e</sup> ou 3<sup>e</sup> ordre n'a offert aucun avantage notable. Les données de cette étude ont permis de déterminer que l'ULoQ était de 9,02 log<sub>10</sub> UI/ml [Tableau 5 et Figure 3].

Tableau 5 : linéarité du NeuMoDx HBV Quant Assay (évaluée pour le génotype A)

Conc. cible (UI/ml)	Conc. cible (log <sub>10</sub> UI/ml)	Conc. moyenne (log <sub>10</sub> UI/ml)	Écart-type	Biais	Ajustement linéaire prévu	Écart par rapport à l'ajustement non linéaire
1,05E+09	9,02	8,99	0,08	0,06	9,02	-0,04
1,05E+08	8,02	8,05	0,07	0,05	8,02	0,03
1,05E+07	7,02	7,05	0,07	0,06	7,02	0,04
1,05E+06	6,02	6,05	0,05	0,05	6,02	0,03
1,05E+05	5,02	5,04	0,05	0,04	5,02	0,00
2,82E+04*	4,45	4,43	0,07	0,05	4,45	-0,01
1,05E+04	4,02	3,99	0,09	0,05	4,02	-0,02
2,82E+03*	3,45	3,41	0,07	0,06	3,45	-0,03
1,05E+03	3,02	3,00	0,04	0,04	3,02	-0,03
1,05E+02	2,02	1,99	0,11	0,09	2,02	-0,01
1,05E+01	1,02	1,09	0,29	0,23	1,02	0,06

\*Proche des seuils de décision médicale

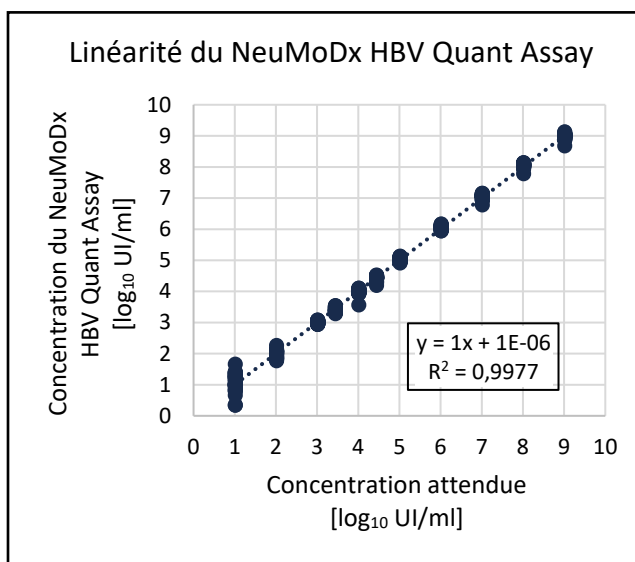


Figure 3 : gamme linéaire du NeuMoDx HBV Quant Assay pour le plasma

Une autre étude a ensuite été réalisée pour démontrer l'équivalence des matrices d'échantillons en comparant les résultats quantitatifs de NeuMoDx HBV entre les échantillons préparés dans le plasma et le sérum à l'aide de deux modèles de régression différents, dont l'outil de régression de MS Excel et l'analyse de Passing-Bablok. Les résultats ont montré une forte corrélation, comme indiquée par les valeurs de la pente et de l'ordonnée à l'origine, c'est-à-dire 1,00 et 0,00, respectivement, et par une valeur de R<sup>2</sup> de 0,99 (outil de régression de MS Excel) ou une valeur p de 0,270 (Passing-Bablok). Les concentrations du dosage HBV Quant rapportées par le NeuMoDx System pour la matrice de plasma comparées à celles des échantillons de sérum correspondants sont présentées dans la Figure 4.

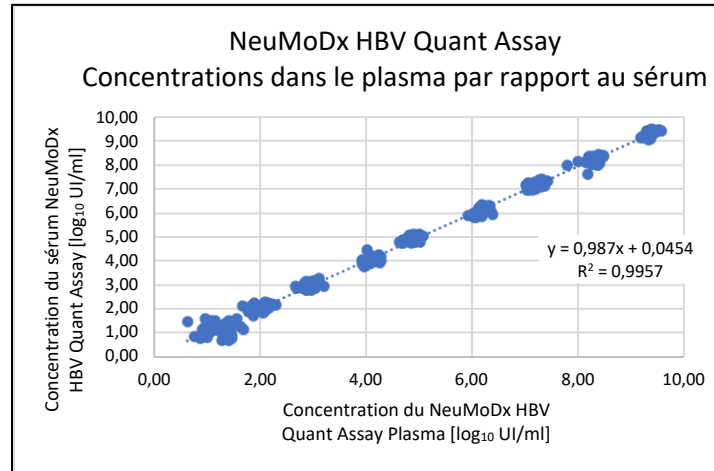


Figure 4 : gamme linéaire du NeuMoDx HBV Quant Assay entre les matrices

La linéarité et la ULoQ ont ensuite été confirmées pour la méthode avec un volume d'échantillon de 200 µl sur une gamme de 9,31 à 1,71 log<sub>10</sub> UI/ml. Les comparaisons d'équivalence ont été effectuées entre les concentrations rapportées par le logiciel NeuMoDx pour les méthodes avec 200 µl et 550 µl. Les analyses de régression de Deming et de Passing-Bablok ont montré une excellente corrélation et une pente proche de 1 avec une ordonnée à l'origine (biais) minimale pour les concentrations rapportées des échantillons de plasma et de sérum sur toute la gamme linéaire. Une comparaison Bland-Altman de la concentration rapportée pour la méthode avec un échantillon de 200 µl avec la concentration moyenne rapportée pour les deux méthodes (échantillons de 200 µl et 550 µl) présentait un biais minimal, démontrant que l'exactitude peut être attribuée à l'algorithme utilisé pour générer les résultats de la méthode avec 200 µl. De plus, une régression linéaire simple comparant la concentration attendue avec la concentration rapportée pour la méthode avec 200 µl possédait une pente proche de 1, démontrant une excellente corrélation [Figure 5]. Dans l'ensemble, ces comparaisons démontrent l'exactitude de la quantification de HBV sur toute la gamme linéaire du NeuMoDx HBV Quant Assay en suivant la méthode avec un volume d'échantillon de 200 µl.

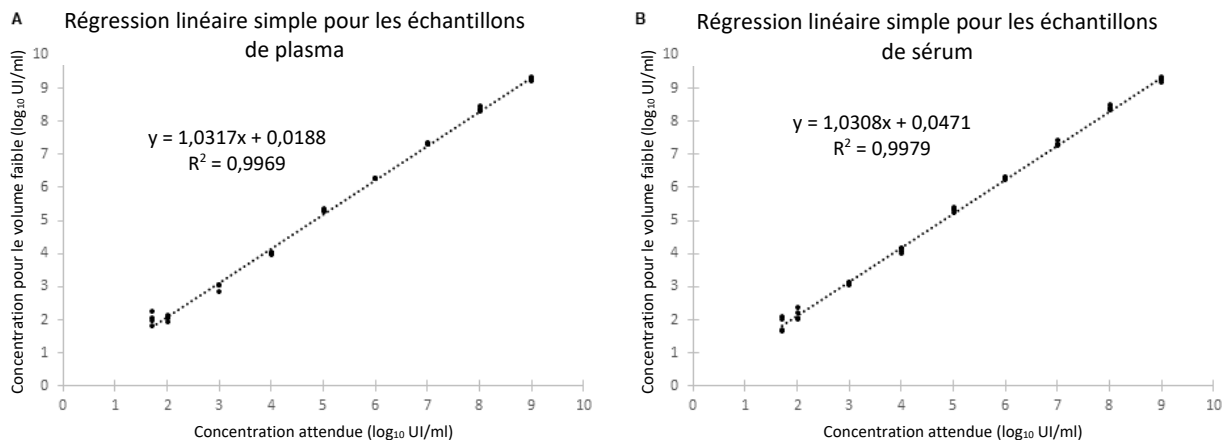


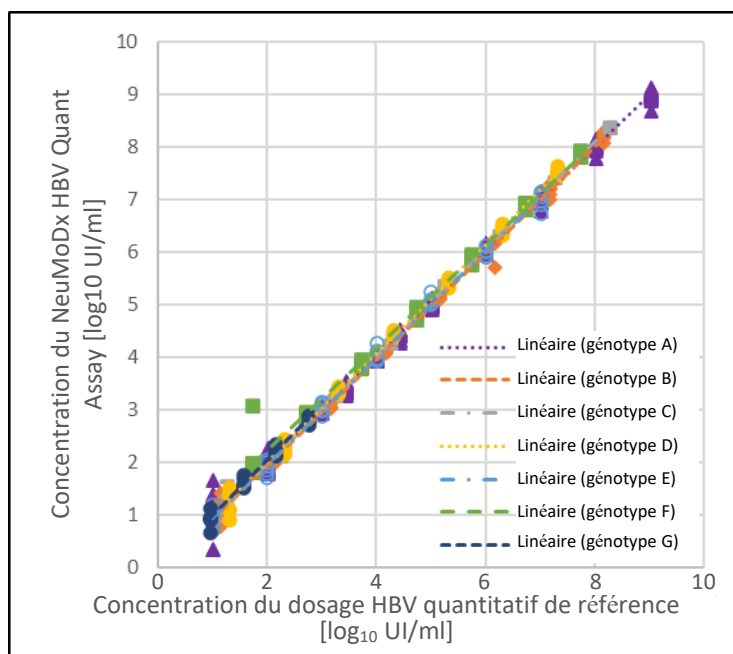
Figure 5 : relation linéaire entre les concentrations attendues et rapportées par le test NeuMoDx pour la méthode avec 200 µl dans a) le plasma et b) le sérum

### Linéarité selon les génotypes

La linéarité du NeuMoDx HBV Quant Assay dans les échantillons de plasma pour les génotypes de HBV a été caractérisée en testant au moins quatre (4) concentrations différentes de chaque génotype de HBV préparé dans un pool de plasma négatif à HBV. Les niveaux de concentration testés de la cible de HBV dans cette étude dépendaient de la concentration de l'échantillon source et étaient donc différents selon les génotypes. Cette étude a été réalisée avec 6 réplicats à chaque niveau de concentration pour tous les génotypes. La linéarité pour les différents génotypes de HBV est présentée dans le *tableau 6* et la *figure 6*.

**Tableau 6** : linéarité du NeuMoDx HBV Quant Assay selon les génotypes

Génotype	Équation de linéarité y = quantification du NeuMoDx HBV Quant Assay x = quantification attendue	R <sup>2</sup>
A	$y = 1x + 1E-06$	0,9977
B	$y = 1,0129x - 0,0964$	0,9975
C	$y = 1,0250x - 0,0898$	0,998
D	$y = 1,0379x - 0,0896$	0,9975
E	$y = 1,0182x - 0,096$	0,9956
F	$y = 0,9736x + 0,276$	0,9906
G	$y = 1,0547x - 0,0835$	0,9813


**Figure 6** : linéarité du NeuMoDx HBV Quant Assay selon les génotypes

### Spécificité analytique et réactivité croisée

La spécificité analytique a été démontrée par le dépistage de 32 organismes fréquemment présents dans les échantillons de sang/plasma ainsi que d'espèces phylogénétiquement équivalentes au HBV pour la réactivité croisée. Les organismes ont été préparés en pools de 4 à 6 organismes et testés à une concentration élevée. Les organismes testés figurent dans le *tableau 7*. Aucune réactivité croisée n'a été observée avec aucun des organismes testés, confirmant une spécificité analytique de 100 % pour le NeuMoDx HBV Quant Assay.

**Tableau 7** : agents pathogènes utilisés pour démontrer la spécificité analytique ; réactivité croisée

Adénovirus 2	Dengue V1	Hépatite A	HPV 16	Ilhéus (ILHV)	Fièvre jaune
Adénovirus 5	Dengue V2	Hépatite C	HPV 18	Influenza A	Virus Zika
Virus Banzi	Dengue V3	Herpèsvirus humain 6a	HSV1	Parvo B19	
Virus BK	Dengue V4	Herpèsvirus humain 8	HSV-2	Rubéole	
Cytomégalovirus	Virus d'Epstein-Barr	VIH 1	HTLV 1	Encéphalite de Saint-Louis	
VZV	Virus de la vaccine	VIH 2	HTLV 2	Virus du Nil occidental	

**Substances interférentes : organismes commensaux**

Les interférences du NeuMoDx HBV Quant Assay en présence d'organismes non-cibles ont été évaluées à l'aide des pools d'organismes préparés pour les tests de réactivité croisée. Les organismes ont été soit testés individuellement, soit poolés en groupes de 4 à 6 organismes dans du plasma négatif à HBV et enrichi avec des contrôles de HBV à une concentration de 3,7 log<sub>10</sub> UI/ml. Aucune interférence significative n'a été observée en présence de ces organismes commensaux, comme l'indique l'écart minimal de quantification par rapport aux échantillons de contrôle qui ne contenaient pas d'agent interférent [Tableau 8].

**Tableau 8 : tests d'interférence ; organismes commensaux**

Organismes non cibles	Conc. moyenne (log <sub>10</sub> UI/ml)	Biais (log <sub>10</sub> UI/ml)
Groupe 1 [virus BK, cytomégalovirus, virus d'Epstein-Barr, herpèsvirus humain 6a, herpèsvirus humain 8]	3,51	0,10
Groupe 2 [adénovirus 2, adénovirus 5, dengue V2, dengue V3, dengue V4]	3,38	0,22
Groupe 3 [parvo B19, HTLV-1, HTLV-2, ilhéus (ILHV), fièvre jaune, virus Zika]	3,62	0,06
Groupe 4 [HPV 16, HPV 18, HSV-1, HSV-2, dengue V1]	3,57	0,04
Groupe 5 [encéphalite de Saint-Louis, VZV, virus de la vaccine, virus West Nile]	3,57	0,03
HAV	3,58	0,05
Virus Banzi	3,41	0,19
HIV-1	3,47	0,15
HIV-2	3,56	0,05
Rubéole	3,16	0,44
Influenza A	3,60	0,03
HCV	3,58	0,04

**Substances interférentes : substances endogènes et exogènes**

Les performances de la NeuMoDx HBV Quant Test Strip ont été évaluées en présence de substances interférentes endogènes et exogènes fréquemment observées dans les échantillons cliniques de plasma avec HBV. Ces substances incluaient des composants sanguins à des taux anormalement élevés ainsi que des médicaments antiviraux courants, qui sont classés dans le *tableau 9*. Chacune des substances endogènes et exogènes énumérées dans le *tableau 10* a été ajoutée à du plasma humain négatif pour le HBV, dopé avec 3,7 log<sub>10</sub> UI/ml de HBV, et les données ont été observées pour vérifier l'absence d'interférence. De plus, un plasma à un stade classique de la maladie associée à une infection au HBV a été testé pour les interférences potentielles.

**Tableau 9 : Tests d'interférences – Agents exogènes (classifications des médicaments)**

Pool	Médicament	Classification
1	Zidovudine (ZDV)	Inhibiteur de la transcriptase inverse
	Saquinavir	Inhibiteur de protéase du VIH
	Ritonavir	Inhibiteur de protéase du VIH
	Clarithromycine	Antibiotique
	Interféron alpha-2a	Immunomodulateur
	Interféron alpha-2b	Immunomodulateur
2	Sulfate d'abacavir	Inhibiteur de la transcriptase inverse
	Amprénavir	Inhibiteur de protéase
	Ribavirine	Immunomodulateur
	Entécavir	Antiviral HBV

Pool	Médicament	Classification
	Fluoxétine	Antidépresseur ISRS
	Chlorhydrate de valganciclovir	Antiviral
3	Ténofovir disoproxil	Antiviral HBV/VIH
	Lamivudine	Antiviral HBV/VIH
	Ganciclovir	Antiviral CMV
	Valganciclovir	Antiviral CMV
	Névirapine	Inhibiteur de la transcriptase inverse
4	Éfavirenz	Inhibiteur de la transcriptase inverse
	Lopinavir	Inhibiteur de protéase
	Enfuvirtide	Inhibiteur de fusion du VIH
	Ciprofloxacine	Antibiotique
	Paroxétine	Antidépresseur ISRS
5	Adéfovir (dipivoxil)	Antiviral
	Azithromycine	Antibiotique
	Sulfate d'indinavir	Inhibiteur de protéase du VIH
	Sertraline	Antidépresseur ISRS

**Tableau 10 : Tests d'interférences – Agents exogènes et endogènes**

Endogènes	Conc. moyenne (log <sub>10</sub> UI/ml)	Biais (log <sub>10</sub> UI/ml)
Hémoglobine	3,50	0,20
Triglycérides	3,51	0,09
Bilirubine	3,56	0,13
Albumine	3,51	0,17
Exogènes (médicaments)	Conc. moyenne (log <sub>10</sub> UI/ml)	Biais (log <sub>10</sub> UI/ml)
Pool 1 : zidovudine (ZDV), saquinavir, ritonavir, clarithromycine, interféron alpha-2a, interféron alpha-2b	3,58	0,08
Pool 2 : sulfates d'abacavir, amprénavir, ribavirine, entécavir, fluoxétine, chlorhydrate de valaciclovir	3,56	0,04
Pool 3 : ténofovir disoproxil, lamivudine, ganciclovir, valganciclovir, névirapine	3,59	0,06
Pool 4 : éfavirenz, lopinavir, enfuvirtide, ciprofloxacine, paroxétine	3,60	0,07
Pool 5 : adéfovir (dipivoxil), azithromycine, sulfate d'indinavir, sertraline	3,56	0,19
Stade de la maladie	Conc. moyenne (log <sub>10</sub> UI/ml)	Biais (log <sub>10</sub> UI/ml)
Anticorps antinucléaire (AAN)	3,61	0,10
Lupus érythémateux systémique (LES)	3,63	0,10
Polyarthrite rhumatoïde (PAR)	3,57	0,09
Anticorps HCV	3,58	0,07
Anticorps HBV	3,64	0,11
Cirrhose alcoolique	3,68	0,15
Facteur rhumatoïde (FR)	3,63	0,10
Stéatohépatite non alcoolique (SHNA)	3,49	0,06

### Précision intralaboratoire

La précision de la NeuMoDx HBV Quant Test Strip a été déterminée en testant un panel de 8 échantillons de HBV couvrant les génotypes A et C sur trois NeuMoDx Systems pendant 12 jours. Les précisions intra-analyse, intrajournalière et intrasystème ont été caractérisées, et un écart-type global  $\leq 0,22 \log_{10}$  UI/ml a été déterminé. La précision interopérateurs n'a pas été caractérisée, car l'opérateur ne joue pas un rôle prépondérant dans le traitement des échantillons avec le NeuMoDx System. Les résultats pour la précision intralaboratoire sont présentés dans le *tableau 11*.

**Tableau 11** : résultats des études de précision intralaboratoire

ÉLÉMENT DU PANEL	CONC. CIBLE [ $\log_{10}$ UI/ml]	CONC. MOYENNE [ $\log_{10}$ UI/ml]	N	Biais	ÉT intra-analyse	ÉT intrajournalier	ÉT intrasystème	ÉT global
Génotype A	7,75	7,89	36	0,14	0,06	0,07	0,07	0,07
	5,75	5,83	36	0,11	0,07	0,10	0,10	0,10
	3,75	3,70	36	0,11	0,11	0,13	0,15	0,15
	1,75	1,54	36	0,23	0,16	0,22	0,22	0,22
Génotype C	6,27	6,23	36	0,10	0,08	0,09	0,10	0,10
	4,27	4,18	36	0,08	0,08	0,10	0,10	0,10
	3,27	3,14	36	0,09	0,08	0,12	0,12	0,12
	2,27	2,08	36	0,12	0,12	0,15	0,16	0,16

### Reproductibilité interlots

La reproductibilité interlots de la NeuMoDx HBV Quant Test Strip a été déterminée à l'aide de trois lots différents de réactifs essentiels, à savoir le NeuMoDx Lysis Buffer 1, la NeuMoDx Extraction Plate et la NeuMoDx HBV Quant Test Strip. Les performances ont été évaluées à l'aide d'un panel de 8 échantillons de HBV de génotypes A et C. Les tests ont été réalisés à l'aide de 3 lots de réactifs sur 3 NeuMoDx Systems pendant 6 jours. La variation intra- et interlots a été analysée. Le biais global maximal était de  $0,12 \log_{10}$  UI/ml et l'ÉT global maximal était de  $0,24 \log_{10}$  UI/ml. Aucune différence notable n'a été observée en matière de performances entre les lots, car la quantification de tous les éléments du panel était dans la spécification de tolérance. Les résultats pour la reproductibilité interlots sont présentés dans le *tableau 12*.

**Tableau 12** : résultats des études de reproductibilité interlots

ÉLÉMENT DU PANEL	CONC. CIBLE [ $\log_{10}$ UI/ml]	CONC. MOYENNE [ $\log_{10}$ UI/ml]	N	Biais	ÉT INTRALOT	ÉT INTERLOTS	ÉT Global
Génotype A	8,02	7,99	36	0,03	0,15	0,09	0,17
	6,02	5,96	36	0,06	0,17	0,06	0,18
	4,02	3,90	36	0,12	0,14	0,09	0,17
	2,02	1,92	36	0,10	0,21	0,12	0,24
Génotype C	6,27	6,32	36	0,05	0,06	0,08	0,10
	4,27	4,31	36	0,04	0,22	0,09	0,24
	3,27	3,30	36	0,03	0,20	0,07	0,21
	2,27	2,32	36	0,05	0,13	0,13	0,18

### Efficacité du contrôle

L'efficacité de SPC1 inclus dans le NeuMoDx HBV Quant Assay pour signaler toute défaillance ou inhibition affectant les performances a été évaluée à l'aide de deux génotypes courants de HBV (A et C). Les conditions testées sont représentatives des défaillances affectant les étapes de traitement critiques, qui sont susceptibles de se produire lors du traitement des échantillons et *de ne pas être détectées* par les capteurs de suivi des performances du NeuMoDx System. L'efficacité de SCP1 a été évaluée en simulant les conditions de ce type de défaillances. Les inefficacités des processus de traitement ayant affecté la détection/quantification de HBV ont été reflétées par les performances pour la cible de SPC1 (présence d'inhibiteur et absence d'étape de lavage). Dans les conditions où l'amplification de SPC1 n'a pas été affectée, la cible de HBV a aussi été amplifiée avec une quantification rapportée à  $0,2 \log_{10}$  UI/ml des échantillons de contrôle.



**Tableau 13** : Efficacité du contrôle des processus de traitement d'échantillons

Défaillance d'étape de traitement testée	Statut d'amplification du contrôle des processus de traitement d'échantillons	Statut d'amplification de la cible de HBV	Résultat du dosage
Presence of Inhibitor (Présence d'inhibiteur)	Not Amplified (Non amplifié)	Not Amplified (Non amplifié)	Unresolved (Non résolu)
No Wash Delivered (Aucun lavage effectué)	Not Amplified (Non amplifié)	Not Amplified (Non amplifié)	Unresolved (Non résolu)
No Wash Blowout (Pas d'expulsion de la solution de lavage)	Amplified (Amplifié)	Amplified (Amplifié)	Positive (Positif) avec une quantification à 0,2 log <sub>10</sub> UI/ml du contrôle

### Contamination croisée

Le taux de contamination croisée pour le NeuMoDx HBV Quant Assay a été déterminé en testant trois jeux d'échantillons de HBV avec une alternance d'échantillons fortement positifs et négatifs. Au total, les tests ont été réalisés sur 144 réplicats de plasma EDTA humain négatif, normal à HBV et 144 réplicats d'échantillons fortement positifs à HBV avec une concentration de 8,0 log<sub>10</sub> UI/ml. Les 144 réplicats de l'échantillon négatif ont tous été négatifs, démontrant l'absence de contamination croisée lors du traitement des échantillons sur le NeuMoDx System.

### Équivalence des matrices d'échantillons

Des tests ont été effectués pour démontrer l'équivalence des résultats obtenus avec les échantillons de plasma collectés dans des tubes contenant soit de l'EDTA (acide éthylène diamine tétra-acétique), soit de l'ACD (acide citrique, citrate, dextrose). En outre, des tests ont été réalisés pour démontrer l'équivalence entre les échantillons frais et congelés. Quarante échantillons de donneurs, procurés par BioIVT, ont été collectés dans des tubes contenant soit de l'EDTA, soit de l'ACD. Ces échantillons frais ont été enrichis avec quatre niveaux de concentration de HBV du génotype A ou C, puis testés afin de déterminer l'équivalence. Les échantillons ont ensuite été congelés pendant un minimum de 24 heures, décongelés et retestés. Une analyse de régression a démontré que l'équivalence entre les échantillons frais et congelés, ainsi qu'entre les échantillons collectés sur EDTA ou ACD, était excellente.

**Tableau 14** : analyse de régression des résultats d'équivalence des échantillons

Paramètre [critère d'acceptation]	Frais par rapport à congelés	ACD par rapport à K2EDTA
Pente [0,9-1,1]	1,002	0,996
Ordonnée à l'origine [< 0,5]	-0,031	0,018
Coefficient de corrélation [R <sup>2</sup> > 0,95]	0,995	0,993

Des tests supplémentaires ont été réalisés pour démontrer l'équivalence des performances du NeuMoDx HBV Quant Assay entre les tubes à échantillons primaires et secondaires. Des panels d'échantillons de donneurs négatifs à HBV enrichis avec la cible de HBV (AccuPlex™ HBV Control) ont d'abord été traités à partir de tubes de prélèvement primaires. Le plasma restant pour chaque échantillon a été aliquoté dans un tube à échantillon secondaire puis retraité. Aucune différence notable n'a été observée dans les résultats rapportés entre les traitements effectués dans les tubes à échantillons primaires et secondaires.

L'équivalence des performances du NeuMoDx HBV Quant Assay entre les échantillons frais ou congelés a également été évaluée à l'aide d'un panel d'échantillons individuels de sérum frais, provenant de donneurs et enrichis avec des concentrations de HBV couvrant la gamme linéaire du dosage. Après traitement des échantillons frais, les échantillons de sérum ont été congelés pendant au moins 24 heures à -20 °C. Les échantillons congelés ont ensuite été décongelés et retestés. L'équivalence de la linéarité entre des échantillons identiques frais et congelés a été évaluée par des analyses de régression de Deming et de Passing-Bablok. La valeur p de 0,329 (supérieure à 0,05) de la régression de Passing-Bablok et le coefficient de corrélation de 0,989 de la régression de Deming ont montré l'excellente équivalence entre les échantillons frais et les échantillons précédemment congelés. Le biais entre les échantillons frais et congelés qui a été déterminé par la méthode de Bland-Altman était d'une valeur extrêmement négligeable de -0,002 log<sub>10</sub> UI/ml, apportant une preuve supplémentaire de l'équivalence du traitement entre les échantillons frais et les échantillons congelés. Enfin, la corrélation entre les concentrations en HBV rapportées par le système et les concentrations attendues pour les échantillons frais et les échantillons congelés a été déterminée par régression linéaire simple. Les valeurs de R<sup>2</sup> rapportées étaient de respectivement 0,991 et 0,985.

### Stabilité des échantillons

Des échantillons de sérum et de plasma EDTA négatifs à HBV ont été enrichis avec une concentration de HBV de 3,7 log<sub>10</sub> UI/ml et testés à différents temps de mesure pendant qu'ils étaient stockés à bord du NeuMoDx System : immédiatement (temps 0), après 4 heures, 8 heures et 24 heures. Aucune différence de performances notable n'a été observée pour tous les temps de mesure, indiquant que les échantillons peuvent être chargés sur le NeuMoDx System pendant jusqu'à 24 heures sans affecter les performances du dosage.

Des tests similaires ont aussi été effectués avec des échantillons de plasma et de sérum conservés dans un réfrigérateur de laboratoire (entre 2 et 8 °C) pendant jusqu'à 7 jours avant les tests et aucune différence de performances notable n'a été observée.

Enfin, des échantillons conservés à une température  $\leq -20$  °C pendant jusqu'à 6 mois (plasma) et jusqu'à 4 mois (sérum) avant traitement ont été testés et n'ont présenté aucune différence notable par rapport aux échantillons frais. Le cycle de congélation/décongélation a été répété, démontrant encore qu'il n'y avait aucun changement dans les performances après 2 cycles de congélation/décongélation (plasma) ou 4 cycles de congélation/décongélation (sérum).

### Corrélation des méthodes

#### *Échantillons de plasma*

Les performances qualitatives et quantitatives du NeuMoDx HBV Quant Assay ont été évaluées par rapport à des dosages de comparaison approuvés par la FDA/CE en testant des échantillons cliniques de plasma non dilués provenant de patients infectés par le HBV. Les tests ont été effectués en interne chez NeuMoDx dans une étude en simple insu à l'aide d'échantillons cliniques obtenus auprès de trois laboratoires de référence indépendants. Les résultats d'un total de 308 échantillons positifs et négatifs à HBV ont été regroupés dans l'analyse qualitative afin de calculer la sensibilité et la spécificité cliniques du NeuMoDx HBV Quant Assay. L'analyse qualitative a été réalisée en incluant et en excluant les échantillons positifs en dessous de la LLoQ, puisque la classification de tels échantillons faiblement positifs peut varier entre les tests. Un total de 97 échantillons cliniques positifs à HBV compris dans la gamme linéaire commune aux deux tests a été utilisé afin de générer la régression linéaire pour définir les performances quantitatives. En plus d'une sensibilité et d'une spécificité excellentes, le NeuMoDx HBV Quant Test Strip a démontré une excellente corrélation quantitative avec le dosage de comparaison. En se basant sur ces résultats, la sensibilité du NeuMoDx HBV Quant Assay a été estimée à 100 % (IC 96,4 %–100 %) et la spécificité a été estimée à 95,6 % (IC 91,9 %–97,7 %). Ces intervalles de confiance à 95 % ont été calculés en utilisant la méthode des intervalles de confiance des scores de 95 % conformément à EP12-A2, User Protocol for Evaluation of Qualitative Test Performance, Approved Guideline, Vol 28, No 3<sup>6</sup>.

**Tableau 15** : mesures de la sensibilité et de la spécificité cliniques du NeuMoDx HBV Quant Assay pour les échantillons de plasma sur le NeuMoDx 288 Molecular System

	Dosage de référence (POS)	Dosage de référence (NÉG)	TOTAL
NeuMoDx HBV Quant Assay (POS)	103	9	112
NeuMoDx HBV Quant Assay (NÉG)	0	196	196
<b>TOTAL</b>	103	205	308
<b>SENSIBILITÉ = 100 % IC 95 % (96,4 %–100 %)</b> <b>SPÉCIFICITÉ = 95,6 % IC à 95 % (91,9 %–97,7 %)</b>			

**Tableau 16** : mesures de la sensibilité et de la spécificité du NeuMoDx HBV Quant Assay sur le NeuMoDx 288 Molecular System avec exclusion des échantillons de plasma < LLoQ

	Dosage de référence (POS)	Dosage de référence (NÉG)	TOTAL
NeuMoDx HBV Quant Assay (POS)	99	5	104
NeuMoDx HBV Quant Assay (NÉG)	0	196	196
<b>TOTAL</b>	99	201	300
<b>SENSIBILITÉ = 100 % IC 95 % (96,3 %–100 %)</b> <b>SPÉCIFICITÉ = 97,5 % IC à 95 % (94,3 %–98,9 %)</b>			

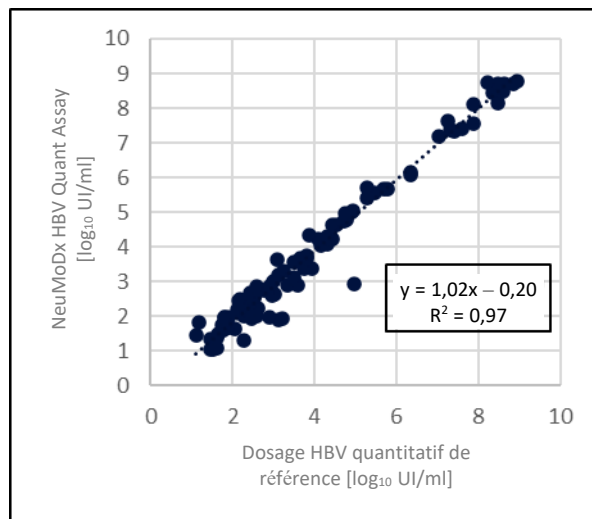


Figure 7 : étude de corrélation des méthodes quantitatives à l'aide du NeuMoDx HBV Quant Assay

Des tests supplémentaires ont été effectués sur le NeuMoDx 96 Molecular System à l'aide de 159 échantillons de plasma cliniques résiduels. Comme pour les précédents tests effectués sur le NeuMoDx 288, les résultats obtenus sur le NeuMoDx 96 ont été comparés aux résultats rapportés par les dosages approuvés par la FDA et/ou marqués CE utilisés par les laboratoires sources pour les tests conformes à la norme de soins. Les résultats, y compris la table de vérité avec la sensibilité et la spécificité cliniques, sont présentés avec un IC à 95 % dans le *tableau 17*.

Tableau 17 : synthèse des performances cliniques ; NeuMoDx HBV Quant Assay sur le NeuMoDx 96 Molecular System

	Dosage de référence (POS)	Dosage de référence (NÉG)	TOTAL
NeuMoDx HBV Quant Assay (POS)	60	2	62
NeuMoDx HBV Quant Assay (NÉG)	1	95	96
TOTAL	61	97	158
<b>SENSIBILITÉ = 98 % IC 95 % (90%–100 %)</b>			
<b>SPÉCIFICITÉ = 98 % IC à 95 % (92 %–100 %)</b>			

#### Échantillons de sérum

Les performances quantitatives du NeuMoDx HBV Quant Assay ont été évaluées par rapport à des dosages de comparaison approuvés par la FDA/CE en testant des échantillons de sérum résiduels anonymisés positifs à HBV provenant de patients infectés par le HBV. Un total de 66 échantillons cliniques de sérum positifs à HBV obtenus auprès de deux laboratoires de référence indépendants a été testé à l'aide du NeuMoDx HBV Quant Assay en interne, chez NeuMoDx. Parmi les échantillons de sérum positifs testés, 58 ont été identifiés comme positifs, dont neuf (9) étaient en dessous de la LLoQ et au-dessus de la ULoQ pour le NeuMoDx HBV Quant Assay et/ou le test de référence. Un total de 49 échantillons cliniques positifs à HBV compris dans la gamme linéaire commune aux deux tests a été utilisé afin d'effectuer les analyses de régression pour définir les performances quantitatives.

Les graphiques des résidus et d'équivalence ont été établis pour représenter la corrélation entre les concentrations du NeuMoDx HBV Quant Assay et les valeurs de concentration du test de référence pour tous les échantillons testés à l'aide d'analyses de régression de Deming et de Passing-Bablok, comme illustré dans les figures 8 et 9. La qualité de la courbe de régression de Deming est indiquée par la pente de 0,99 avec un IC 95 % de (0,93, 1,07), ainsi que par l'ordonnée à l'origine de (biais) de  $-0,22$  avec un IC 95 % de  $(-0,56, 0,12)$ , démontrant le biais acceptable et la forte corrélation entre les résultats de concentration obtenus avec le NeuMoDx HBV Quant Assay et les tests de référence. La qualité de la courbe de régression de Passing-Bablok est indiquée par la pente de 0,99 avec un IC 95 % de (0,91, 1,06), ainsi que par l'ordonnée à l'origine de (biais) de  $-0,25$  avec un IC 95 % de  $(-0,48, 0,06)$ , démontrant le biais acceptable et la forte corrélation entre les résultats de concentration obtenus avec le NeuMoDx HBV Quant Assay et les tests de référence. Les analyses de régression sont résumées dans le *tableau 18*.

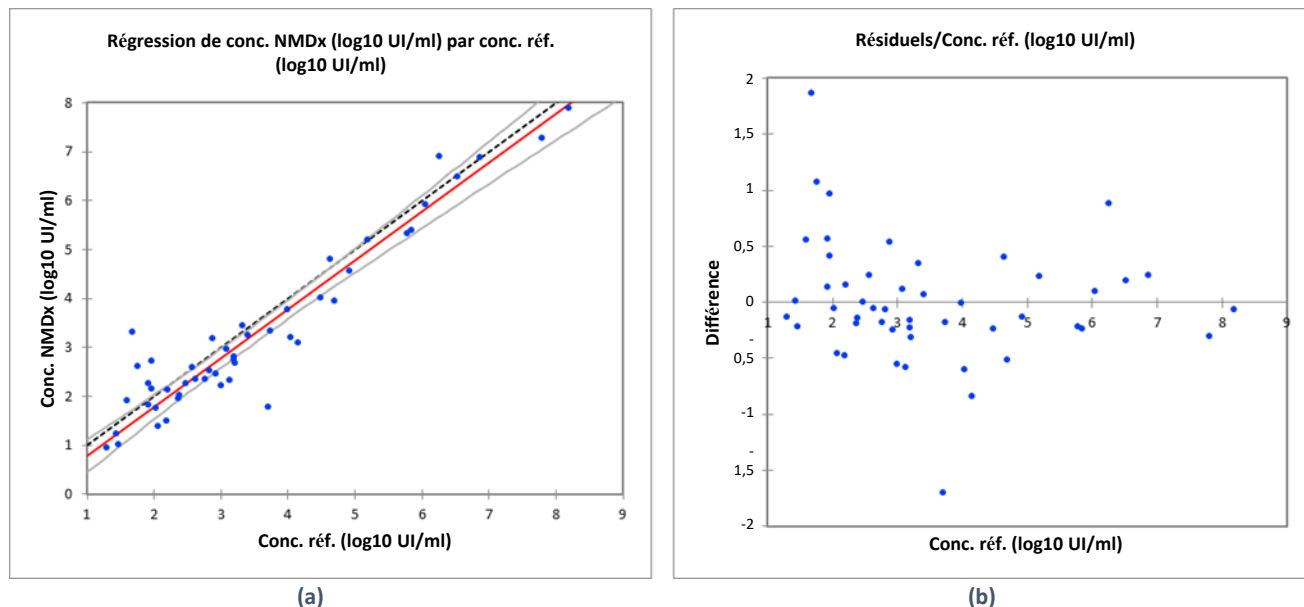


Figure 8 : graphiques d'équivalence (a) et des résidus (b) ; analyse cumulative du NeuMoDx HBV Quant Assay par rapport aux tests de référence ; analyse de Deming.

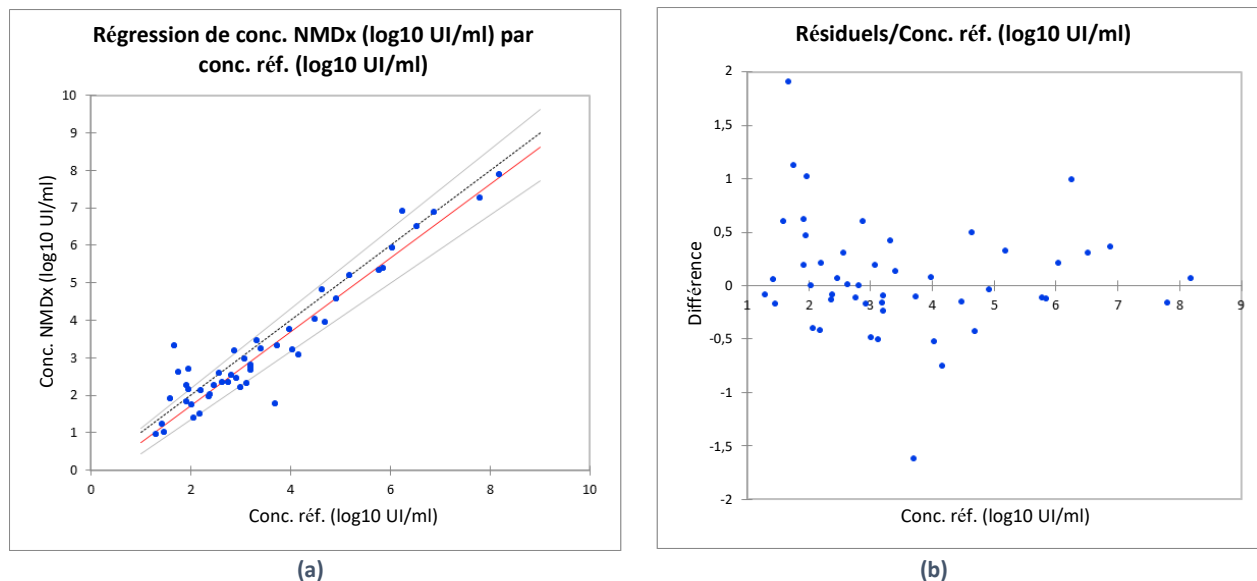


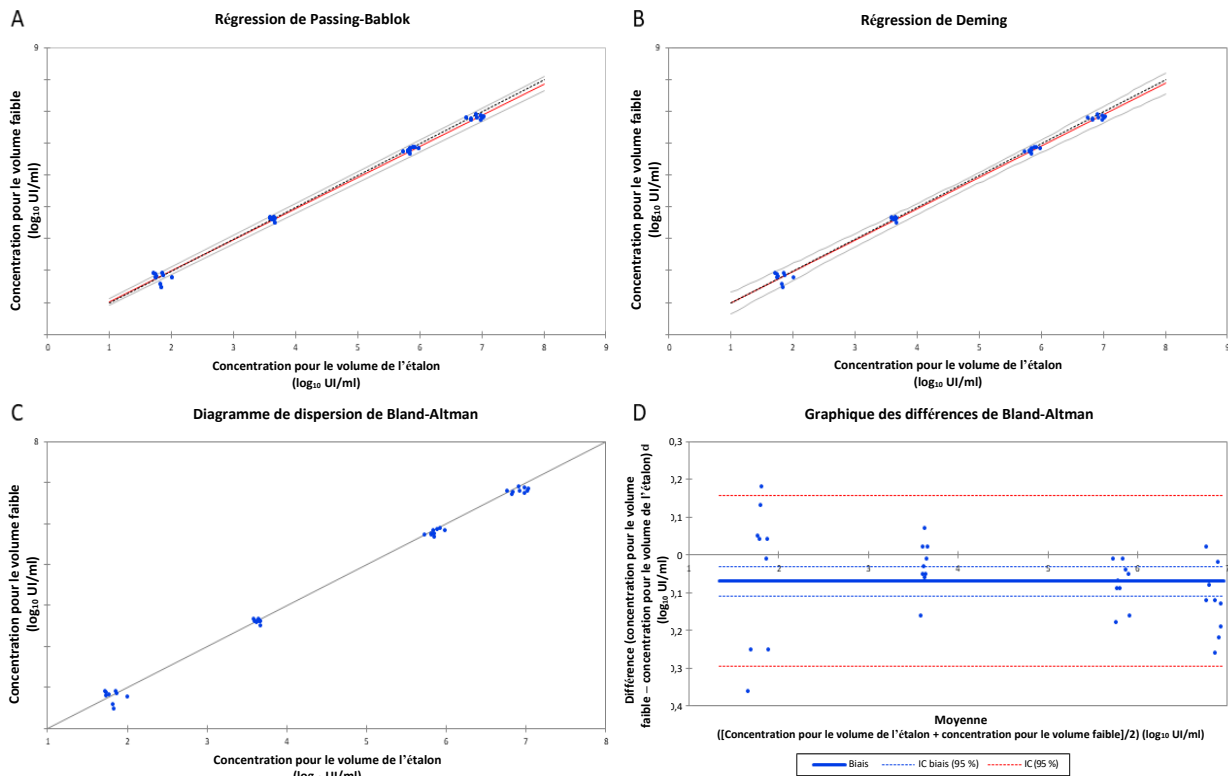
Figure 9 : graphiques d'équivalence (a) et des résidus (b) ; analyse cumulative du NeuMoDx HBV Quant Assay par rapport aux tests de référence ; analyse de Passing-Bablok.

Tableau 18. Synthèse des analyses de régression linéaire de Deming et de Passing-Bablok pour les échantillons de sérum

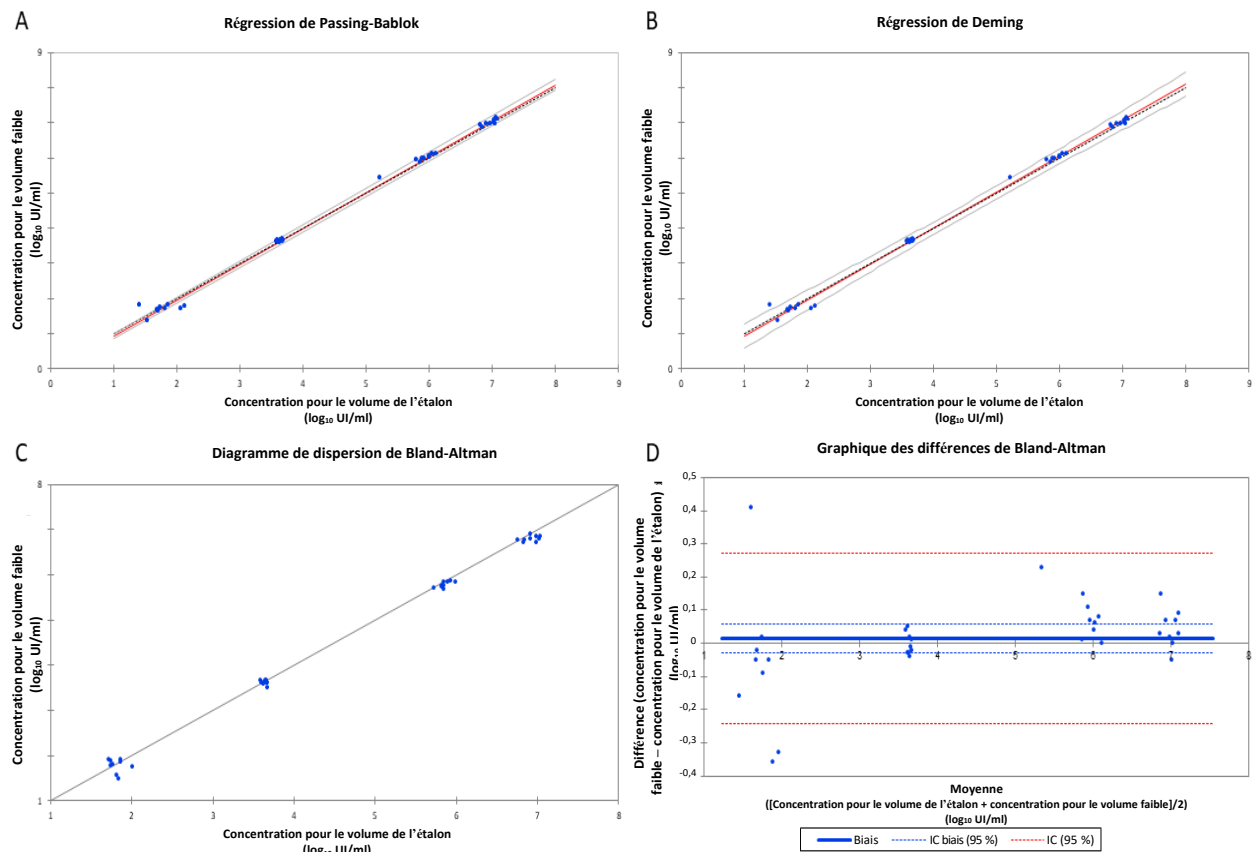
Analyse de Deming			Analyse de Passing-Bablok		
Ordonnée à l'origine	Pente	R2	Ordonnée à l'origine	Pente	Valeur p
-0,22 IC à 95 % (-0,56, 0,12)	0,99 IC à 95 % (0,93, 1,07)	0,95	-0,25 IC à 95 % (-0,48, 0,06)	0,99 IC à 95 % (0,91, 1,06)	0,89

### Tests d'échantillons artificiels – Méthode avec un volume d'échantillon de 200 µl

La corrélation quantitative entre les méthodes avec des volumes d'échantillons de 200 µl et de 550 µl a été confirmée à l'aide d'un panel constitué d'échantillons individuels de plasma et de sérum négatifs à HBV, qui ont été enrichis avec quatre niveaux de concentration connus de produit de contrôle pour HBV, traçables à la 4<sup>e</sup> Norme internationale de l'OMS pour les tests d'ADN de HBV. Ces échantillons individuels de plasma et de sérum ont été traités selon la méthode avec 200 µl et la méthode avec 550 µl pour un total de 288 tests. Les comparaisons d'équivalence entre la concentration rapportée par le logiciel NeuMoDx pour les méthodes avec des volumes d'échantillons de 200 µl et 550 µl appliquées au panel d'échantillons artificiels ont été effectuées individuellement pour chaque échantillon. Les analyses de régression de Deming et de Passing-Bablok avaient respectivement une pente de 0,985 et 0,998 avec une ordonnée à l'origine de -0,001 et 0,053 pour le plasma et de 1,024 et 1,018 avec une ordonnée à l'origine de 0,095 et 0,070 pour le sérum, démontrant l'excellente concordance entre les quantifications de HBV effectuées avec les deux volumes de traitement. Une comparaison Bland-Altman a montré que le biais entre les deux méthodes était minimal. De plus, les analyses de régression linéaire simple avec les concentrations attendues et les concentrations rapportées pour la méthode avec 200 µl avaient une pente de 1,047 et un coefficient de corrélation de 0,998 (plasma) et de 1,113 et 0,992 (sérum), démontrant encore les excellentes performances du NeuMoDx HBV Quant Assay avec la méthode avec un échantillon de 200 µl. Les résultats de ces études sont résumés dans la *figure 10* et la *figure 11*.



**Figure 10 :** graphique des comparaisons d'équivalence entre les concentrations rapportées pour le volume faible et les concentrations rapportées pour le volume d'échantillon de la norme. A) Régression de Passing-Bablok. B) Régression de Deming. C) Diagramme de dispersion de Bland-Altman D) Graphique des différences de Bland-Altman ; échantillons de plasma



**Figure 11** : graphique des comparaisons d'équivalence entre les concentrations rapportées pour le volume faible et les concentrations rapportées pour le volume d'échantillon de la norme. A) Régression de Passing-Bablok. B) Régression de Deming. C) Diagramme de dispersion de Bland-Altman D) Graphique des différences de Bland-Altman ; échantillons de sérum

### RÉFÉRENCES










1. Mother-to-child transmission of hepatitis B virus in sub-Saharan Africa: time to act. Andersson, Monique I et al. The Lancet Global Health, Volume 3, Issue 7, e358 - e359
2. Schillie S, Vellozzi C, Reingold A, et al. Prevention of Hepatitis B Virus Infection in the United States: Recommendations of the Advisory Committee on Immunization Practices. MMWR Recomm Rep 2018;67(No. RR-1):1–31. DOI: <http://dx.doi.org/10.15585/mmwr.rr6701a1>.
3. World Health Organization. Hepatitis B: fact sheet. April 2017. <http://www.who.int> (last accessed 20 November 2017)
4. Centers for Disease Control and Prevention. Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories, 5<sup>th</sup> edition. HHS Publication No. (CDC) 21-1112, Revised December 2009
5. Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories, 5<sup>th</sup> edition. HHS Publication No. (CDC) 21-1112, Revised December 2009.
6. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Protection of Laboratory Workers from Occupationally Acquired Infections; Approved Guideline – Fourth Edition. CLSI document M29-A4; May 2014.

### MARQUES COMMERCIALES

NeuMoDx™ est une marque commerciale de NeuMoDx Molecular, Inc.  
 NeuDry™ est une marque commerciale de NeuMoDx Molecular, Inc.  
 TaqMan® est une marque déposée de Roche Molecular Systems, Inc.

Tous les autres noms de produits, marques commerciales et marques déposées pouvant figurer dans ce document appartiennent à leurs propriétaires respectifs.

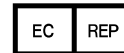
### SYMBOLES

<b>R only</b>	Sur ordonnance uniquement		Limite de température
	Fabricant		Ne pas réutiliser
<b>IVD</b>	Dispositif médical de diagnostic <i>in vitro</i>		Contient des éléments suffisants pour <n> tests
	Représentant autorisé au sein de la Communauté européenne		Consulter le mode d'emploi
<b>REF</b>	Numéro de référence		Attention
<b>LOT</b>	Code de lot		Risques biologiques
	À utiliser avant	<b>CE</b>	Marquage CE



NeuMoDx Molecular, Inc.  
1250 Eisenhower Place  
Ann Arbor, MI 48108, USA

Promoteur (AUS) :  
QIAGEN Pty Ltd  
Level 2 Chadstone Place  
1341 Dandenong Rd  
Chadstone VIC 3148  
Australie



Emergo Europe B.V.  
Westervoortsedijk 60  
6827 AT Arnhem  
The Netherlands

**CE** 2797

Support technique / Pour obtenir de l'aide : [support@qiagen.com](mailto:support@qiagen.com)

Brevet : [www.neumodx.com/patents](http://www.neumodx.com/patents)