



## Introduction

La mesure de la charge virale du virus de l'hépatite B (VHB) est un élément clé de la prise en charge des patients infectés par le VHB (bilan initial et suivi thérapeutique). Le but de ce travail est d'évaluer les performances du test

Aptima® HBV Quant sur l'automate Panther et de les comparer à celles du test COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HBV (CAPCTM) Roche, utilisé en routine pour la mesure de la charge virale du virus de l'hépatite B (VHB).

## Matériel

Le test Aptima® HBV Quant est un test de quantification de l'ADN du VHB dans le sérum ou le plasma, basé sur la technologie de TMA (Transcription-Mediated

Amplification) en temps réel et totalement automatisé sur l'automate Panther. La quantification de l'ADN est linéaire de 10 à 10<sup>9</sup> UI/ml.

## Méthode

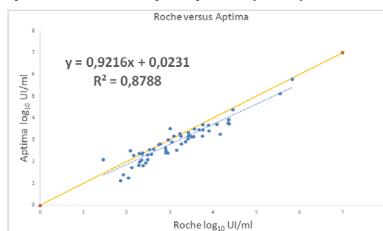
98 sérums ou plasmas de patients conservés congelés (rétrospectifs) et 99 échantillons frais (prospectifs) ont été testés par les 2 techniques. La corrélation entre les 2 méthodes a été évaluée par régression linéaire. La répétabilité a été évaluée sur 26 valeurs de témoins faibles (LPC) et forts (HPC) de trousse testées en 2 séries. La reproductibilité et l'exactitude ont été

évaluées sur différentes concentrations du standard BioQControl testées en triplicate sur plusieurs séries et du standard Qnostic 14038 de génotype A et D testées en duplicate. La limite de détection (LOD) a été évaluée sur des dilutions successives de 10 réplicats du panel BioQControl.

## Résultats

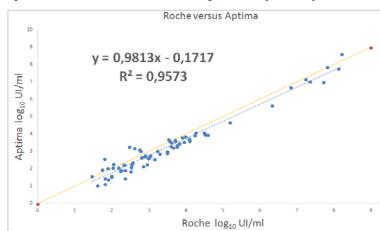
### Comparaison de méthode

Fig. 1 : corrélation des échantillons quantifiables en prospectif (n=61)



- La concordance entre les 2 techniques est très bonne, tant sur les échantillons en prospectif qu'en rétrospectif

Fig. 2 : corrélation des échantillons quantifiables en rétrospectif (n=72)



- 28 échantillons ont donné des résultats discordants entre 0.5 et 0.9 log, variations peu significatives dans le suivi d'infection hépatite B
- Aucune discordance > 1log n'a été observée

Tab. 1 : Corrélation globale sur les échantillons prospectifs et rétrospectifs entre les 2 techniques

		HBV Quant Aptima UI/ml			
		TND	< 10	Quantifiés	Total
Roche HBV UI/ml	TND	30	2	0	32
	< 20	8	15	1	24
	Quantifiés	0	8	132	140
Total		38	25	133	196

TND: target not detected

- La corrélation globale entre les 2 techniques est très bonne
- Le pourcentage global d'agrément est de 90.3% (kappa : 0.8)
- Les discordances s'observent sur des valeurs faibles, proches du seuil

### Performances Analytiques

#### Répétabilité / Reproductibilité / exactitude

Tab. 2 : Répétabilité sur les témoins de trousse

Echantillon	Nombre de valeurs	Moyenne log <sub>10</sub> UI/ml	Ecart type log <sub>10</sub> UI/ml	CV %
LPC	26	2,7	0,08	3,2
HPC	26	7,1	0,04	0,6

Les écarts type de répétabilité sont très faibles, < 0.08 log, tant pour le témoin faible que pour le témoin fort de trousse

Tab. 3 : Reproductibilité sur le panel BioQControl P0041

Valeurs attendues log <sub>10</sub> UI/ml	Valeurs mesurées log <sub>10</sub> UI/ml					
	R1 log <sub>10</sub> UI/ml	R2 log <sub>10</sub> UI/ml	R3 log <sub>10</sub> UI/ml	Moyenne (log <sub>10</sub> UI/ml)	Ecart type (Log <sub>10</sub> UI/ml)	Δ log <sub>10</sub> UI/ml
6	5,67	5,85	5,63	5,72	0,12	0,28
5	4,61	4,66	4,55	4,61	0,05	0,39
4	3,77	3,76	3,60	3,71	0,09	0,29
3	2,76	2,63	2,66	2,68	0,07	0,32
2	1,59	1,49	1,41	1,50	0,09	0,5
1	<1,0	<1,0	<1,0	-	-	-

- La reproductibilité sur des dilutions successives du panel BioQControl, testées en triplicate est très bonnes avec des écarts types < 0.12 log<sub>10</sub> pour les titres les plus élevés
- La précision des valeurs mesurées par rapport aux valeurs attendues est également très bonne

Tab. 4 : Résultats du panel Qnostics 14038 HBV

Echantillons du panel	Génotype	Valeurs attendues log <sub>10</sub> UI/ml	Valeur cible log <sub>10</sub> UI/ml	Valeurs mesurées log <sub>10</sub> UI/ml			Δ log <sub>10</sub> UI/ml
				R1 log <sub>10</sub> UI/ml	R2 log <sub>10</sub> UI/ml	Moyenne (log <sub>10</sub> UI/ml)	
1438D17	D	1,70	1,32	1,35	1,34	1,34	-0,36
1438D37	D	3,70	3,41	3,46	3,44	3,44	-0,26
1438A27	A	2,70	2,83	2,70	2,77	2,77	0,07
1438A37	A	3,70	3,69	3,64	3,67	3,67	-0,03
1438A27	A	2,70	2,73	2,74	2,74	2,74	0,04
1438A17	A	1,70	1,77	1,70	1,74	1,74	0,04
1438D27	D	2,70	2,55	2,54	2,55	2,55	-0,15

Les génotypes A et D du panel Qnostics 14038 sont quantifiés avec une grande exactitude. La moyenne des différences mesurées est < 0.36 log par rapport à la valeur attendue pour des concentrations très faibles de 50 UI/ml

#### Limite de détection

Tab. 5 : Limite de détection (panel BioQControl)

Nominal titer (UI/ml)	Nominal concentration (log <sub>10</sub> UI/ml)	N tested	N detected	N quantified	Observed mean (log <sub>10</sub> UI/ml)	Observed SD (log <sub>10</sub> UI/ml)	Difference (observed-nominal)
10 000	4	10	10	10	4,06	0,08	0,06
1000	3	10	10	10	3,21	0,06	0,21
100	2	10	10	10	2,23	0,11	0,23
50	1,7	10	10	10	1,87	0,13	0,17
25	1,4	10	10	10	1,56	0,13	0,16
12,5	1,1	10	10	9	1,2	0,12	0,1
6,25	0,8	10	10	1	1,04	-	0,24
3,125	0,49	10	10	0	-	-	-
1,56	0,19	10	10	0	-	-	-

La sensibilité obtenue par des dilutions successives du panel BioQControl est de 1.56 UI/ml pour 100% des réplicats testés

#### Contamination croisée

Nous avons testé l'absence de contamination inter-échantillons en alternant sur 5 runs successifs des échantillons du témoin négatif et du témoin fortement positif de trousses. Nous n'avons observé aucune contamination croisée sur les témoins négatifs.

## Conclusion

Les performances du test Aptima® HBV Quant automatisé sur le Panther sont très bonnes sur les panels commerciaux et sur les échantillons de patients testés comparés à la technique de routine. La sensibilité est excellente avec un seuil de quantification à 10 UI/ml. Les résultats de répétabilité et de reproductibilité et d'exactitude sont très bons, même sur les valeurs faibles. Ce système permet d'obtenir 120 résultats en moins de 4 h, sur tubes primaires, avec un volume réduit de plasma ou de sérum de 500 µl.