

Evaluation Du Test De Diagnostic Rapide NOVA Utilisé Pour Rechercher L'antigène HBS de l'Hépatite B Chez Les Donneurs De Sang Au Centre Hospitalier National Mathlaboul Fawzaini De Touba

Diakhaby Meb¹, Ndiaye M¹, Diop Mf², Gueye O¹, Ba Ar², Krespin B², Dia A², Sarr Md², Toure-Kane C^{1,3}.

¹Centre Hospitalier National DALAL JAMM

²Centre Hospitalier National Mathlaboul Fawzaini

³Université Cheikh Anta Diop de Dakar



Résumé – Dans les pays en développement, les tests rapides immuno-chromatographiques sont couramment utilisés pour le dépistage du virus de l'hépatite B (VHB) au niveau des banques de sang. L'usage de ces tests nécessite une validation préalable. L'objectif de l'étude était d'évaluer les performances du test NOVA utilisé pour le dépistage de l'antigène HBs chez des donneurs de sang au Centre Hospitalier National Mathlaboul Fawzaini de Touba.

En janvier 2019, des échantillons de sang provenant de donneurs avaient fait l'objet de dépistage du VHB avec le test rapide NOVA. Les résultats obtenus ont été comparés avec ceux de l'automate Cobas e-411 dont le principe consiste en un dosage par chimiluminescence. La sensibilité du test, la spécificité ainsi que les valeurs prédictives positive et négative ont été calculées pour vérifier la fiabilité du kit.

Au total 111 échantillons ont été collectés. Les résultats des tests positifs obtenus avec le kit NOVA et le Cobas e-411 étaient de 17 et 19 respectivement. Par rapport à l'automate Cobas, les résultats ont donné une sensibilité et une spécificité du test NOVA de 89,47 % et 100 % respectivement ; les VPP et les VPN étaient respectivement de 100 % et 97,87 %.

Les résultats obtenus montrent que le test NOVA a une bonne spécificité. Cependant la sensibilité est relativement faible pour un usage dans les banques de sang. La méthode chimiluminescente étant plus sensible et plus spécifique devrait être privilégiée dans le dépistage de masse pour plus de fiabilité et de qualité.

Mots clés – Test rapide, Hépatite B, Donneurs de sang

Abstract – In developing countries, rapid immuno-chromatographic tests are commonly used to screen blood banks for hepatitis B virus (HBV). The use of these tests requires prior validation. The objective of the study was to evaluate the performance of the NOVA test used to screen blood donors for HBs antigen at the National Hospital Center Mathlaboul Fawzaini in Touba.

In January 2019, blood samples from donors were screened for HBV using the NOVA rapid test. The results obtained were compared with those of the Cobas e-411 automated chemiluminescent assay. Test sensitivity, specificity, and positive and negative predictive values were calculated to verify the reliability of the kit.

A total of 111 samples were collected. The positive test results obtained with the NOVA kit and the Cobas e-411 were 17 and 19 respectively. Compared to the Cobas system, the results gave a NOVA test sensitivity and specificity of 89.47% and 100% respectively; PPV and NPV were 100% and 97.87% respectively.

The results obtained show that the NOVA test has good specificity. However, the sensitivity is relatively low for use in blood banks. The chemiluminescent method being more sensitive and more specific should be preferred in mass screening for more reliability and quality.

Key words – Rapid test, Hepatitis B, Blood donors.

I. INTRODUCTION

L'infection par le virus de l'hépatite B (VHB) est un problème majeur de santé publique (1, 2, 3) avec environ 257 millions de porteurs chroniques de ce virus dans le monde (4). On distingue des régions à forte prévalence de l'antigène de surface du virus de l'hépatite B (AgHBs) (Afrique, Asie du Sud-Est), des régions de prévalence intermédiaire (Europe de l'Est, Afrique du Nord, Grèce, Japon) et des régions de prévalence faible (Europe du Nord et Etats-Unis d'Amérique) (5). Le VHB est très contagieux, en plus des autres voies de transmission (sexuelle, materno-fœtale et intra-familiale non sexuelle), il peut être transmis par la transfusion sanguine surtout dans les pays en voie de développement. En Afrique subsaharienne, 12,5 % des patients transfusés présentent un risque d'hépatite post-transfusionnelle (6). Pour pallier à cela, il faut une sécurité transfusionnelle qui demeure depuis 2001 l'une des priorités des programmes de l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) en Afrique (7). Cette sécurité transfusionnelle doit passer par l'établissement de stratégies très fiables telles que la mise à disposition de tets basés sur la méthode immunologique microparticulaire par chimiluminescence (8), des tests moléculaires qui sont encore plus sensibles (*polymerase chain reaction*, les méthodes d'amplification du signal comme la capture d'hybrides et les techniques de PCR dites « en temps réel »).

Au Centre Hospitalier National Matlaboul Fawzaini de Touba, en 2019 le test immunochromatographique NOVA avait été utilisé pour le dépistage de l'antigène HBs chez les donneurs de sang.

Cette présente étude avait pour objectif d'évaluer les performances du test de diagnostic rapide HBsAg NOVA utilisé pour rechercher l'antigène de surface du virus de l'hépatite B chez les donneurs de sang au Centre Hospitalier National Mathlaboul Fawzaini de Touba.

II. MÉTHODOLOGIE

- Cadre d'étude

Il s'agissait d'une étude prospective visant à évaluer un test de diagnostic rapide pour la recherche de l'AgHBs chez les donneurs de sang bénévoles. La collecte avait été réalisée au mois de Janvier 2019 au Centre Hospitalier National Mathlaboul Fawzaini de Touba dans la région de Diourbel au centre du Sénégal. Cette structure sanitaire de niveau 3 couvre une population de 906 514 habitants (ANSD, 2019) ainsi que les populations des zones environnantes.

- Critères d'inclusion

Ont été inclus dans l'étude tout bénévole répondant aux critères de donneurs c'est à dire âgé entre 18 et 60 ans, en bonne santé, et ayant un poids supérieur ou égal à 50 Kg.

- Prélèvement

Un code d'identification a d'abord été attribué à chaque donneur lui permettant de garder son anonymat. Ensuite juste après le don de sang, 5 mL de sang veineux ont été prélevés sur tube contenant de l'EDTA. Ces prélèvements, après centrifugation, ont fait l'objet d'une recherche de l'AgHBs.

- Recherche de l'AgHBs

La recherche d'AgHBs a d'abord été réalisée en utilisant les tests de diagnostic rapide HBsAg NOVA. Ces tests ont été effectués au niveau de l'hôpital Mathlaboul Fawzaini de Touba. Le principe de ce test repose sur un dosage immunologique en « sandwich ». Il consiste en une détection immuno-chromatographique en flux latéral qualitatif. Le test rapide de l'AgHBs est sous forme de cassette utilisant des anticorps monoclonaux conjugués à de l'or colloïdal et immobilisés sur une membrane de nitrocellulose. Le test doit être placé sur une surface plane pendant son utilisation. Deux cents microlitres (200 µL) de plasma ont été déposés au niveau du puits destiné à l'échantillon. S'il y a présence d'AgHBs dans l'échantillon, ils se lient aux anticorps spécifiques anti-AgHBs marqués à l'or colloïdal formant ainsi un complexe antigène-anticorps qui va ensuite migrer par capillarité vers le compartiment de lecture où il réagit avec les anticorps monoclonaux anti-AgHBs, préalablement fixés dans la région de la ligne de test. L'excédent d'anticorps spécifiques marqués par de l'or colloïdal va être capturé au niveau de la zone témoin constituant ainsi la ligne de contrôle du dispositif. Les caractéristiques du test telles que décrites dans la brochure sont résumées dans le tableau 1.

Tableau 1: Caractéristiques commerciales du TDR évalué dans cette étude

Nom commercial	Echantillon		Temps de lecture (min)	Sensibilité, spécificité et l'exactitude comparées avec le test ELISA reportées par le fabricant					
	Type	Qté (µL)		Sensibilité (%)		Spécificité (%)		Exactitude (%)	
				Sérum	Plasma	Sérum	Plasma	Sérum	Plasma
HBsAg NOVA	Sérum Plasma	200	15	99,19	99,3	99,54	100	99,47	99,8

Après la recherche de l'AgHBs avec le test rapide, les plasmas ont été transportés à 4°C jusqu'à Dakar au laboratoire du Centre Hospitalier National Dalal Jamm où ils ont été encore testés avec l'automate Cobas e-411 de Roche Diagnostic qui représente notre test de référence. La recherche de l'AgHBs avec l'Elecsys HBsAg II est basée sur un dosage en « sandwich » en deux étapes destinées à la détection qualitative avec une durée d'incubation totale de 18 minutes. Dans la première étape d'incubation, 30 µl de plasma ont été mis en présence dans un mélange de deux anticorps monoclonaux anti-AgHBs biotinylés et de deux des anticorps polyclonaux anti-AgHBs marqués au ruthénium. Le mélange est incubé pendant 9 minutes à 37 °C. Si l'AgHBs est présent dans l'échantillon, il se lie aux anticorps biotinylés et aussi marqués au ruthénium pour former un complexe en « sandwich ».

Au cours de la deuxième période d'incubation (9 minutes à 37 °C), des complexes immuns se lient à des microparticules magnétiques revêtues de streptavidine, qui sont ajoutées au mélange. Dans la cellule de mesure du système Elecsys 2010, les microparticules sont capturées magnétiquement à la surface de l'électrode. Les substances non liées sont éliminées avec un liquide de lavage ProCell. L'application d'une tension sur l'électrode induit une chimiluminescence, mesurée avec un photoamplificateur.

Les résultats sont calculés avec le logiciel Elecsys en comparant le signal de chimiluminescence obtenu à partir de l'échantillon avec la valeur seuil précédemment obtenue par étalonnage Elecsys HBsAg II. Les échantillons dont le rapport signal/seuil (s/co) est égal ou supérieur à 1 sont considérés comme réactifs (positifs). Si la valeur s/co est <1, l'échantillon est considéré comme non réactif (négatif).

Les performances analytiques du réactif sont présentées dans le tableau 2.

Tableau 2: Caractéristiques des performances analytiques du test de référence utilisé dans l'étude

Nom commercial	Echantillon		Durée du cycle analytique (min)	Sensibilité et spécificité reportées par le fabricant	
	Type	Quantité (µL)		Sensibilité (%)	Spécificité (%)
Elecsys HBsAg II	Sérum	30	18	99,90	100
	Plasma				

- Analyse statistique

L'analyse statistique a été réalisée avec le logiciel Excel 2016.lnk de Microsoft. En utilisant les résultats fournis lors de la recherche de l'AgHBs selon la méthode chromatographique, la sensibilité, la spécificité, la valeur prédictive positive, la valeur prédictive négative ont été calculés pour estimer l'efficacité du test rapide utilisé. Ces paramètres ont été évalués en rapport avec les résultats obtenus avec la méthode électro-chimiluminescence qui constitue notre méthode de référence. La valeur de la sensibilité a été obtenue en calculant la proportion des résultats positifs fournis par le test rapide par rapport aux résultats positifs obtenus avec l'automate Cobas e-411. La spécificité a été obtenue en calculant la proportion des résultats négatifs fournis par le test rapide par rapport aux résultats négatifs obtenus avec l'automate Cobas e-411. Les valeurs prédictives positives et négatives du test représentent la proportion des résultats vrai-positifs parmi tous les échantillons déclarés positifs et la proportion des résultats vrai-négatifs parmi les échantillons testés négatifs respectivement.

III. RÉSULTATS

- Population d'étude

Au total 111 donneurs d'âge moyen 27,35 ans (extrêmes 18 – 56 ans) ont été colligés. Le sex-ratio Homme/Femme était de 2,08.

- Résultats des tests immuno-chromatographiques

Sur les 111 échantillons testés par méthode immuno-chromatographique, 17 étaient réactifs et 94 ont donné des résultats négatifs.

- Résultats obtenus avec la méthode électro-chimiluminescence (l'automate Cobas e-411)

Tous les échantillons testés par la méthode immuno-chromatographique avec le TDR HBsAg NOVA, ont également fait l'objet de dosage par électro-chimiluminescence avec l'automate Cobas e-411 de Roche.

Sur les 111 échantillons testés, 19 étaient revenus réactifs contre 92 négatifs.

Tous les 92 échantillons négatifs avec la méthode électro-chimiluminescence étaient aussi négatifs avec la méthode immunochromatographique. Cependant, 2 discordances ont été notées par rapport aux résultats avec les différents tests. Le tableau 3 ci-dessous permet de croiser les données des différents tests utilisés.

Tableau 3: Tableau de contingence obtenu avec le test NOVA et la Cobas e-411

		AgHBs recherché par électro-chimiluminescence avec Cobas e-411 de Roche Diagnostic		
		Positif	Négatif	Total
AgHBs recherché par immuno-chromatographie avec TDR NOVA	Positif	17	00	17
	Négatif	02	92	94
	Total	19	92	111

- Performance du test NOVA

La sensibilité et la spécificité du test rapide Nova était respectivement de 89,47 % et 100 %.

Les VPP et VPN étaient respectivement de 100% et 97,87%.

L'exactitude du test de diagnostic rapide HBsAg NOVA est de 98,19 %.

IV. DISCUSSION

De nombreux tests rapides à l'AgHBs sont disponibles dans le commerce dans le monde entier. Selon le rapport d'évaluation du Département de la sécurité du sang et de la technologie clinique du sang de l'Organisation Mondiale de la Santé, la plupart des tests étaient des tests immuno-chromatographiques avec une sensibilité de 98 à 100 % et une spécificité de 95 à 100 % (9). Dans notre étude, nous avons décidé d'évaluer les performances du test NOVA utilisé pour le dépistage des donneurs de sang au CHN Mathlaboul Fawzaini de Touba. A cet effet, nous avons utilisé comme tests de référence l'Elecsys HBsAg II dont le principe du dosage repose sur la méthode microparticulaire chimiluminescente. Les résultats de l'étude ont montré par rapport à l'Elecsys une sensibilité et une spécificité du test NOVA de 89,47 % et 100 % respectivement ; les valeurs prédictives positive et négative étaient respectivement de 100 % et 97,87 %.

Ces résultats peuvent être comparés avec les résultats d'études antérieures menées sur des tests de diagnostic rapide dont les principes sont similaires. Ainsi, une étude menée en 2008 par Yu-Huei L *et al* au Centre de sang de la Croix Rouge de Beijing en Chine chez des donneurs de sang utilisant le Determine HBsAg dont la méthode est basée sur un dosage immuno-chromatographique a donné une sensibilité de 87,3 % et une excellente spécificité de 100 % (10), ce qui corrobore ainsi les résultats

du test NOVA obtenus dans notre étude. Dans une autre étude menée en 2008 par *Randrianirina F et al* à Antananarivo au Madagascar pour l'évaluation de quatre tests rapides (Determine HBsAg, Virucheck HBsAg, Cypress HBsAg Dipstick et Hexagon HBsAg) dont les principes reposent aussi sur l'immuno-chromatographie, les résultats ont donné des sensibilités et des VPP supérieures à 95 %, des spécificités et des VPN dépassant 96 % pour l'ensemble des tests (11). En comparant ces résultats avec ceux obtenus dans notre étude, nous constatons que les sensibilités diffèrent, elles sont beaucoup plus faibles dans notre étude mais les spécificités, les VPP et les VPN corroborent nos résultats. De telles différences de sensibilité pourraient être expliquées par le choix des anticorps qui sont fixés sur les membranes de nitrocellulose ou à l'existence de variants du virus donnant des séquences qui ne sont pas reconnues par les anticorps utilisés dans un test (12).

Une autre étude évaluative de 5 tests de dépistage de l'AgHBs (Global, Diaspot, Ind, Acon, Exact) dont les principes sont basés sur l'immuno-chromatographie a été effectuée en 2018 par *Afolabi A. Y et al* au Nigéria ; les résultats de cette étude ont montré des valeurs de sensibilité comprises entre 97,5% et 98,9 % pour les cinq tests et des valeurs de spécificité variant entre 80 % et 90 % (13). Ces résultats comparés aux nôtres, montrent que le test Nova est moins sensible mais plus spécifique.

V. CONCLUSION

Les méthodes chimiluminescentes, beaucoup plus sensibles et plus spécifiques que les méthodes immuno-chromatographiques devraient être utilisées de manière générale comme référence dans le dépistage des maladies infectieuses lors du don de sang et en particulier lors de la recherche du VHB à la place du test rapide. Tout usage de test de diagnostic rapide devait bénéficier une validation préalable.

RÉFÉRENCE

- [1] Doghri A, Kedous A, Said M, Kharroubi G, Ajam N, Grilitli N. Prévalence du portage de l'Ag-HBs chez des donneurs du sang militaires étude rétrospective sur dix ans. *Transfusion Clinique et Biologique*. (2017) ; 24(3), 356. doi: 10.1016/j.tracli.2017.06.237
- [2] Schweitzer A, Horm J, Mikolajczyk RT, Krause G, Ott JJ. Estimations of worldwide prevalence of chronic hepatitis B virus infection: a systematic review of data published between 1965 and 2013. *Lancet*. 2015 Oct 17;386(10003):1546-55. doi: 10.1016/S0140-6736(15)61412-X. Epub 2015 Jul 28.
- [3] Asselah T, Castelnau C, Boer N, Ripault M.-P, Marcellin P. 2004. Traitement de l'hépatite chronique B. **Gastroentérologie Clinique et Biologique**. 2004 ; pp. 1215-1227, Doi : GCB-12-2004-28-12-0399-8320-101019-ART2
- [4] OMS. 2017. Rapport mondial sur l'hépatite 2017. Organisation mondiale de la santé. <https://apps.who.int/iris/handle/10665/255016> .
- [5] Stanislas P. Histoire naturelle de l'infection par le virus de l'hépatite B. **La Presse Médicale**. 2006 ; Vol 35, N° 2-C2 pp. 308-316 ; Doi : PM-02-2006-35-2-C2-0755-4982-101019-200601408
- [6] Nambei SW, Mandjiza DR, Gbangbangai E. 2016. Seroepidemiology of HIV, syphilis and hepatitis B and C viruses among blood donors in Bangui, Central African Republic. 2016; 26 (2): 192-8. doi: 10.1684 / mst.2016.0553.
- [7] Tagny CT, Diarra A, Yahaya R, Hakizimana M, Nguessan A, Mbensa G, Nébié Y, Dahourou H, Tapko JB, Shiboski C, Murphy E, Lefrère JJ. Le centre de transfusion, le donneur de sang et le sang donné dans les pays d'Afrique francophones. 2009 ; 16 (5-6) ; Doi : 10.1016/j.tracli.2009.07.005
- [8] Gadji M, Gueye YB, Ba A, Senghor AB, Seck R, Faye BF, Seck M, Sy D, Dieye TN, Diop S. 2017. Evaluation de la technique par chimiluminescence pour le dépistage des agents viraux VHB, VHC et VIH dans les dons de sang au centre national de transfusion sanguine de Dakar. <https://eposter.europa-organisation.com/2017/sfts/index/slide/abstract/183>
- [9] Wu FY, Liao YW, Wu JF, Chen HL, Hsu HY, Chang MH. 2016. A Simple and Rapid Test-card Method to Detect Hepatitis B Surface Antigen and Antibody: Potential Application in Young Children and Infants. *Pediatr Neonatol*. 2016 juin; 57 (3): 219-24.
- [10] Yu-Huei L, Wang Y, Loua A, Day GJ, Qiu Y, Nadala ECB, Allain JP, Lee HH. 2008. Evaluation of a New Hepatitis B Virus Surface Antigen Rapid Test with Improved Sensitivity. *J Clin Microbiol* ; 2008; 46 (10): 3319–3324.

- [11] Randrianirina F, Carod JF, Ratsima E, Chrétien JB, Richard V, Talarmin A. 2008. Evaluation of the performance of four rapid tests for detection of hepatitis B surface antigen in Antananarivo, Madagascar. *J Méthodes Virol.* ; Août 2008; 151 (2): 294-7.
- [12] Weber B, Bayer A, Kirch P, Schluter V, Schlieper D, Melchior W. Improved Detection of Hepatitis B Virus Surface Antigen by a New Rapid Automated Assay. *J Clin Microbiol.* 1999 août; 37 (8): 2639-47.
- [13] Afolabi AY, Bakarey AS, Adewumi MO. 2018. Evaluation of performance testing of different rapid diagnostic kits in comparison with EIAs to validate detection of hepatitis B virus among high risk group in Nigeria. *J Immunoassay Immunochem.* 2018; 39 (2): 218-227