

WHO Prequalification of In Vitro Diagnostics PUBLIC REPORT

Product: Determine HBsAg 2 WHO reference number: PQDx 0451-013-00

Determine HBsAg 2 with product codes **7D2942, 7D2943 and 7D2943 SET**, manufactured by **Abbott Diagnostics Medical Co.Ltd¹**, **Rest-of-World regulatory version**, was accepted for the WHO list of prequalified in vitro diagnostics and was listed on 2 September 2019.

Summary of WHO prequalification assessment for Determine HBsAg

	Date	Outcome
Prequalification listing	02-Sep-2019	listed
Dossier review	N/A	N/A
Site inspection(s) of quality management system	24-May-2019	MR
Product performance evaluation	Quarter 2 of 2019	MR

MR: Meet Requirements

N/A: Not Applicable

Report amendments and/or product changes

This public report has since been amended. Amendments may have arisen because of changes to the prequalified product for which WHO has been notified and has undertaken a review. Amendments to the report are summarized in the following table, and details of each amendment are provided below.

Version	Summary of amendment	Date of report amendment
2.0	Change of the name of the manufacturer from Alere Medical Co., Ltd. to Abbott Diagnostics Medical Co., Ltd. Products themselves are completely the same. Correction on regulatory version from CE-Marked to Rest-of-World.	23-Jan-2020

¹ The company name changed from Alere Medical Co.,Ltd. to Abbott Diagnostics Medical Co., Ltd.

Intended use:

According to the claim of intended use by the manufacturer, *“Determine HBsAg 2 is an in vitro, visually read, qualitative immunoassay for the detection of Hepatitis B Surface Antigen (HBsAg) in human capillary and venous whole blood, plasma or serum. The test is intended as an aid in the diagnosis of HBV infection through detection of HBsAg from infected individuals. The test is not intended for screening blood donors. The test is for professional use only”.*

Assay description:

According to the claim of the manufacturer, *“Determine HBsAg 2 is an immunochromatographic test for the qualitative detection of Hepatitis B Surface Antigen (HBsAg). A specimen is added to the sample pad. The specimen mixes with biotinylated anti-HBsAg mouse monoclonal antibodies and black particles coated with anti-HBsAg mouse monoclonal antibodies. This mixture migrates along the solid phase to the immobilized avidin at the patient bar. If HBsAg is present in the specimen, the antigen binds to the biotinylated anti-HBsAg mouse monoclonal antibodies and the black particles coated with anti-HBsAg mouse monoclonal antibodies. This complex binds to the immobilized avidin forming a black bar on the test strip. If HBsAg is not present, black particles flow past the patient bar and no black bar is formed on the test strip. To ensure assay validity, a procedural control bar is incorporated in the assay device on the test strip. The red control bar will appear”.*

Test kit contents:

Component	20 tests (product code 7D2942)	100 tests (product code 7D2943)	100 tests (product code 7D2943SET)
Determine HBsAg 2 test cards	2 cards of 10 tests/card	10 cards of 10 tests/card	10 cards of 10 testes/card
Chase buffer (7D2243)	NA	NA	1 bottle x 2.5ml
EDTA capillary tube (7D2222)	NA	NA	1 pack for 100 tests
Sterile lancets	NA	NA	1 box for 100 tests

Items required but not provided:

- Disposable gloves
- Timing device
- Micropipette capable of delivering 50 µL (not required for fingerstick method)

Storage:

The test kit should be stored at 2-30 °C.

Shelf-life upon manufacture:

18 months.

Warnings/limitations:

Refer to the instructions for use.

Prioritization for prequalification

Based on the established eligibility criteria, **Determine HBsAg 2** was given priority for WHO prequalification assessment.

Product dossier assessment

In accordance with the WHO procedure for abridged prequalification assessment, Abbott Diagnostics Medical Co. Ltd (formerly called Alere Medical Co.Ltd) was not required to submit a product dossier for **Determine HBsAg 2** as per the *“Instructions for compilation of a product dossier”* (PQDx_018 version 3). Notwithstanding, certain aspects of the product dossier previously submitted for stringent regulatory review were reviewed by an assessor during the site inspection.

Manufacturing site inspection

In accordance with the WHO procedure for abridged prequalification assessment, a shortened inspection with fewer inspectors was conducted at the site of manufacture (357 Matsuhidai, Matsudo-shi, 270-2214, Chiba-ken Japan) for **Determine HBsAg 2** from 26 to 24 May 2019 as per the *“Information for manufacturers on prequalification inspection procedures for the sites of manufacture of diagnostics”* (PQDx_014 version 4).

The inspection found that the manufacturer had an acceptable quality management system and good manufacturing practices in place that ensured the consistent manufacture of a product of good quality.

The manufacturer's responses to the nonconformities found at the time of the inspection were accepted 24 May 2019.

Commitments for prequalification:

1. Abbott Diagnostics Medical Co., Ltd commit to provide WHO with a copy of the amended inward goods verification testing procedure for the chase buffer by 30 November 2019.
2. Abbott Diagnostics Medical Co. Ltd will investigate digital data recording by 20 December 2019.

Commitments for prequalification are under review. Based on the site inspection and corrective action plan review, the quality management system for Determine HBsAg 2 meets WHO prequalification requirements.

Product performance evaluation

Determine HBsAg 2 (Abbott Diagnostics Medical Co. Ltd, formerly called Alere Medical Co.Ltd) was evaluated by WHO at the Virus Reference Department, Public Health England, London, UK, in the 2nd quarter of 2019 using plasma specimens. From this evaluation, we drew the following conclusions:

Determine HBsAg 2 is a rapid immunochromatographic assay for the detection of HBsAg in human serum, plasma or whole blood. A volume of 50 µL of specimen is needed to perform the assay. This type of assay requires no sophisticated equipment and can therefore be performed in laboratories with limited facilities. Reading of the results can be done visually.

In this limited evaluation on a panel of 514 clinically-derived serum/plasma specimens of European, African, Latin American and Asian origin, compared to the reference algorithm (Monolisa Ag HBs Plus [Bio-Rad Laboratories] and Hepanostika HBsAg Uniform II [bioMérieux]; followed by Hepanostika HBsAg Uniform II Confirmatory Assay [bioMérieux]), the following performance characteristics were estimated:

Performance characteristics in comparison with an agreed reference standard		
	Initial (95% CI)	Final (95% CI)
Sensitivity % (N=201)	100 (98.2-100)	100 (98.2-100)
Specificity % (N=313)	99.7 (98.2-100)	100 (98.8-100)
Invalid rate % (N=869)	0.12	
Inter-reader variability %	0	

In addition, analytical performance characteristics were assessed using commercially available and locally-made panels and the following results were obtained:

Additional performance characteristics	
Sensitivity during seroconversion on 5 seroconversion panels in comparison with a benchmark assay (Monolisa Ag HBs Plus)	Seroconversion sensitivity index of 0, therefore Determine HBsAg 2 detected HBsAg on average 0 specimens earlier than the benchmark assay.
Analytical sensitivity on WHO Biological Preparation panel 03/262 and dilutions series of 3rd WHO International standard 12/226	Detected a concentration of 0.52 IU/ml (panel 03/262) and 0.125 IU/ml (dilutions of 12/226)
Analytical sensitivity on a low titer panel (PHA105, SeraCare)	10 of 14 specimens with low titer (< 1 IU/mL) were detected
Analytical sensitivity on the 1st WHO International Reference Panel for HBV Genotypes for HBsAg assays (PEI code number 6100/09)	All 15 HBsAg genotypes in the panel were detected
Analytical sensitivity on HBV mutant panel	11 of 12 HBsAg mutants were detected to a concentration of 1 IU/mL
Lot to lot variation on a dilution panel in comparison with an agreed reference standard	Acceptable

Key operational characteristics	
Validated specimen types	Serum, plasma (EDTA), venous and capillary whole blood
Number of steps	1 with precision (serum/plasma) or 2 with/without precision (venous/capillary whole blood)
Time to result	15 minutes
Endpoint stability	15 minutes (read within a maximum of 30 minutes)
Internal QC	Yes, reagent addition control
In-use stability of reagents	The test should be used within 2 hours after removing the protective foil cover from the test strip

Labelling

- 1. Labels**
- 2. Instructions for use**

1. Labels

1.1 Determine HBsAg 2 Determine HBsAg (product code 7D2942) label

DETERMINE™

HBsAg 2

Abbott



EN

Determine™ HBsAg 2 is an *in vitro*, visually read, qualitative immunoassay for the detection of Hepatitis B Surface Antigen (HBsAg) in human capillary and venous whole blood, plasma or serum. For professional use only.

7D2243 Chase Buffer is required for whole blood testing.

Kit contains:
Determine™ HBsAg 2 Test Cards: 2 cards (containing 10 tests/card)

ES

Determine™ HBsAg 2 es un inmunoensayo cualitativo *in vitro* de lectura visual para la detección del antígeno de superficie del virus de la hepatitis B (HBsAg) en sangre total humana capilar y venosa, plasma o suero. Solo para uso profesional.

7D2243 requiere buffer de detección para todas las pruebas en sangre.

Contenido del kit:
Tarjeta de prueba Determine™ HBsAg 2:
2 tarjetas (con 10 pruebas/tarjeta)

 **Alere Medical Co., Ltd.**
357 Matsuhidai, Matsudo-shi, Chiba, 270-2214, Japan
Tel +81 47 311 5750

FR

Determine™ HBsAg 2 est un dosage immunologique qualitatif *in vitro* à lecture visuelle pour la détection de l'antigène de surface de l'hépatite B (AgHBs) dans le sang total par prélèvement capillaire ou veineux, plasma ou sérum humain. À usage professionnel uniquement.

La solution tampon de migration 7D2243 est nécessaire pour tester les échantillons de sang total.

Ce kit contient:
Planche de tests Determine™ HBsAg 2:
2 planches (avec 10 tests/planche)

© 2019 Abbott. All rights reserved.
All trademarks referenced are trademarks of either the Abbott group of companies or their respective owners. July, 2019



PT

O Determine™ HBsAg 2 é um imunoensaio qualitativo, *in vitro* e de leitura visual para a detecção de Antígenos de Superfície da Hepatite B (HBsAg) em sangue total capilar e venoso, plasma ou soro humano. Exclusivamente para uso profissional.

7D2243 É necessário o tampão de detecção para realizar análises em sangue total.

O Conteúdo do kit:
Cartão de Testes Determine™ HBsAg 2:
2 cartões (com 10 testes/cartão)

241601/R3

Determine™ HBsAg2
ROW 20 Test Pouch Label

PN: 241601/R3

Pouch Size:
544mm(w) x 160mm(h)

Label Artwork Size:
204mm(w) x 132mm(h)

PMS 303

PMS 123

White

1.2 Determine HBsAg 2 (product code 7D2943) label

DETERMINE™

HBsAg 2

Abbott



EN

Determine™ HBsAg 2 is an *in vitro*, visually read, qualitative immunoassay for the detection of Hepatitis B Surface Antigen (HBsAg) in human capillary and venous whole blood, plasma or serum. For professional use only.

7D2243 Chase Buffer is required for whole blood testing.

Kit contains:

Determine™ HBsAg 2 Test Cards: 10 cards (containing 10 tests/card)

ES

Determine™ HBsAg 2 es un inmunoensayo cualitativo *in vitro* de lectura visual para la detección del antígeno de superficie del virus de la hepatitis B (HBsAg) en sangre total humana capilar y venosa, plasma o suero. Solo para uso profesional.

7D2243 requiere buffer de detección para todas las pruebas en sangre.

Contenido del kit:

Tarjeta de prueba Determine™ HBsAg 2:
10 tarjetas (con 10 pruebas/tarjeta)

FR

Determine™ HBsAg 2 est un dosage immunologique qualitatif *in vitro* à lecture visuelle pour la détection de l'antigène de surface de l'hépatite B (AgHBs) dans le sang total par prélèvement capillaire ou veineux, plasma ou sérum humain. À usage professionnel uniquement.

La solution tampon de migration 7D2243 est nécessaire pour tester les échantillons de sang total.

Ce kit contient:

Planche de tests Determine™ HBsAg 2:
10 planches (avec 10 tests/planche)

2°C30°C

Σ100

IVD

REF

7D2943

PT

O Determine™ HBsAg 2 é um imunoensaio qualitativo, *in vitro* e de leitura visual para a detecção de Antígenos de Superfície da Hepatite B (HBsAg) em sangue total capilar e venoso, plasma ou soro humano. Exclusivamente para uso profissional.

7D2243 É necessário o tampão de detecção para realizar análises em sangue total.

O Conteúdo do kit:

Cartão de Testes Determine™ HBsAg 2:
10 cartões (com 10 testes/cartão)

 **Alere Medical Co., Ltd.**
357 Matsuhidai, Matsudo-shi, Chiba, 270-2214, Japan
Tel +81 47 311 5750

© 2019 Abbott. All rights reserved.
All trademarks referenced are trademarks of either the Abbott group of companies or their respective owners. July, 2019

241602/R3

Determine™ HBsAg2
ROW 100 Test Pouch Label

PN: 241602/R3

Pouch Size:
544mm(w) x 160mm(h)

Label Artwork Size:
204mm(w) x 132mm(h)

PMS 303

PMS 123

White

1.3.1 Determine HBsAg 2 (product code 7D2943SET) label

61.0

213.0

Determine HBsAg 2 SET
ROW 100 Test Set Box

PMS 303

PN: 241787/R2

PMS 123

















Abbot 



DETERMINE™
HBsAg 2 SET



EN

Determine™ HBsAg 2 is an *in vitro*, visually read, qualitative immunoassay for the detection of Hepatitis B Surface Antigen (HBsAg) in human capillary and venous whole blood, plasma or serum.

For professional use only.

ES
Determine™ HBsAg 2 es un
inmunoensayo cualitativo *in vitro*
de lectura visual para la detección
del antígeno de superficie del virus
de la hepatitis B (HBsAg) en
sangre total humana capilar y
venosa, plasma o suero.
Solo para uso profesional.

FR

Determine™ HBsAg 2 est un dosage immunologique qualitatif *in vitro* à lecture visuelle pour la détection de l'antigène de surface de l'hépatite B (AgHBs) dans le sang total par prélèvement capillaire ou veineux, plasma ou sérum humain.

À usage professionnel uniquement.

PT
O Determine™ HBsAg 2 é um
imunoensaio qualitativo, *in vitro* e de
leitura visual para a detecção de
Antígenos de Superfície da Hepatite
B (HBsAg) em sangue total capilar e
venoso, plasma ou soro humano.
Exclusivamente para uso profissional.

2°C 30°C Σ_{100}  IVD

REF 7D2943SET

 Abbott Diagnostics Medical Co., Ltd.
357 Matsuhidai, Matsudo-shi,
Chiba, 270-2214, Japan
+81 47 311 5750

© 2019 Abbott. All rights reserved.
All trademarks referenced are trademarks of either the Abbott group of companies or their respective owners. July, 2019



4 571226 474570

241787/R2

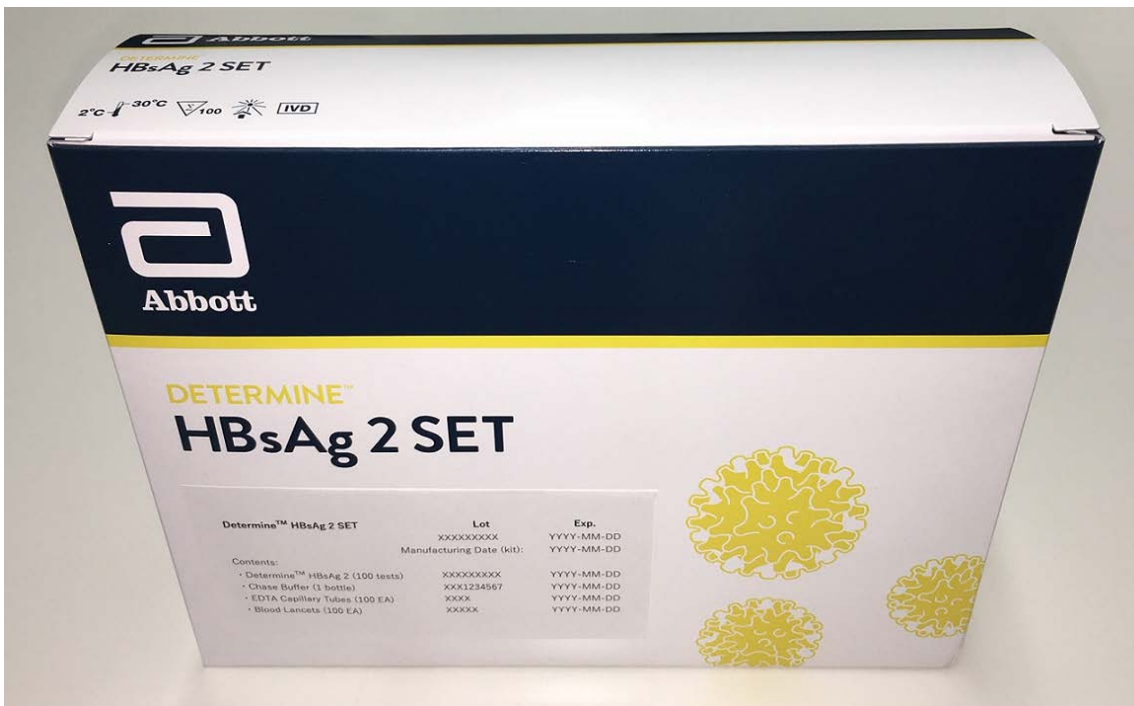
DETERMINE™
HBsAg 2
SET

DETERMINE™
HBsAg 2 SET

DETERMINE™
HBsAg 2
SET

1.3.2 Outside package images

Determine HBsAg 2 100T Box





1.3.4 Sterile lancet label (7D2233)

Product Code:
7D2233

medcore
Nashville, TN
1-800-327-8894

LOT :
:

CE 0197 **STERILE R**
Single Use Only

Tianjin Huichong Technology Co., Ltd.
Air Port Industrial Park No. 1 Floor, Building C,
Jing'er Road No. 226 Airport Economic Area
300308 Tianjin China
Tel: 0086-22-58775333

EC REP
Yiting Xu
34 Toronto House, Surrey
Garage Road, London, UK SE16 7AJ
Tel: 44-(0)2072370150 0044+70 2110813

Made in China

Life touchTM

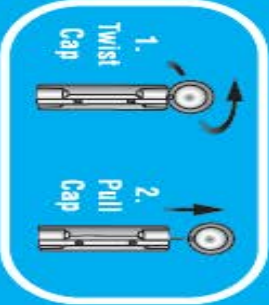
Blood Lancets

100 Sterile
Lancets

28
gauge

- Fine gauge, tri-bevel tip for virtually painless sampling
- Consistent depth penetration
- Universal design fits almost all lancing devices

Instructions for Use:



1. Twist Cap

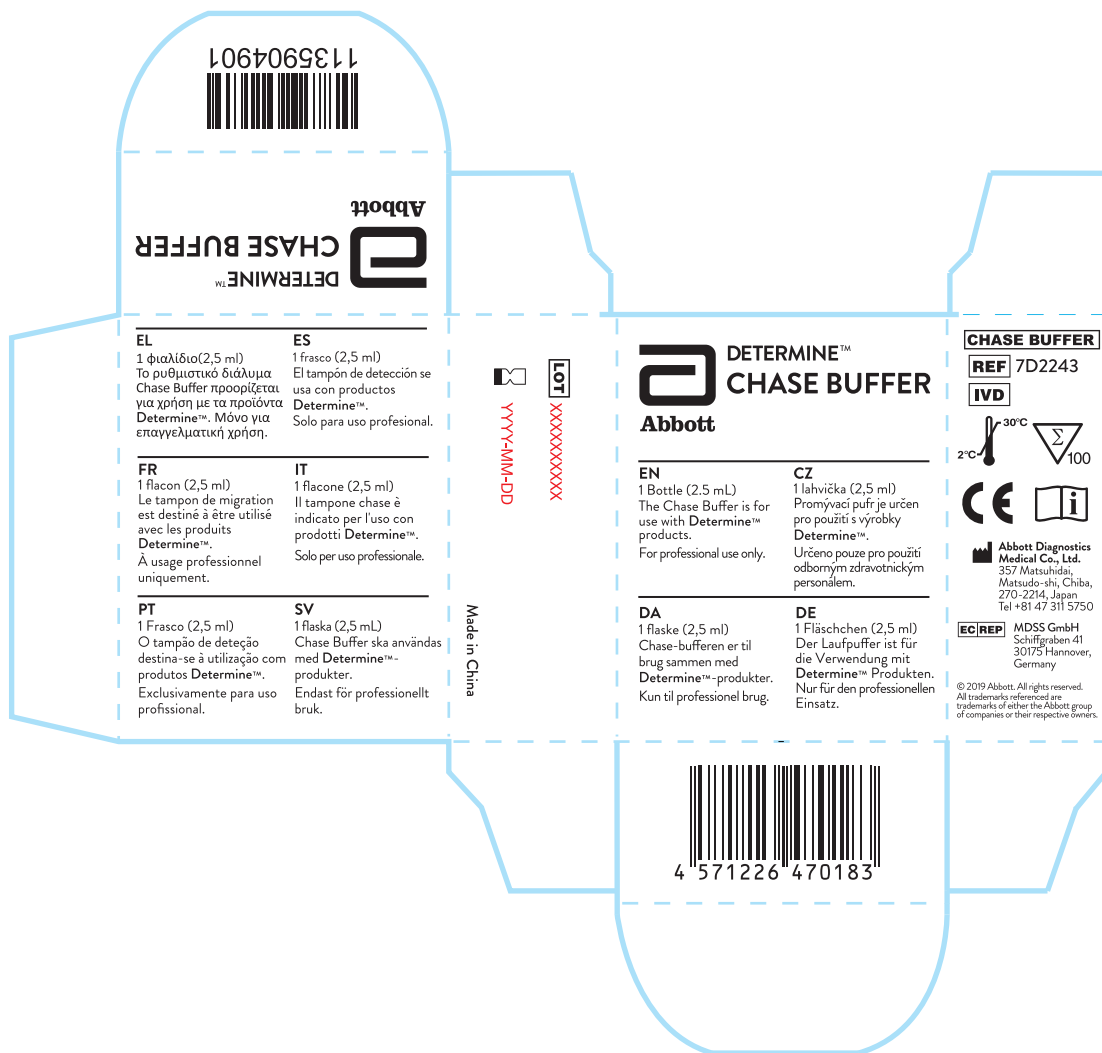
2. Pull Cap

Do not use if safety seal has been broken. Instructions for use:

1. Wash hands with soap and warm water. Dry thoroughly.
2. Select fingertip site, slightly off-center.
3. Remove protective lancet cover above (steps 1 & 2). If seal is already broken discard lancet.
4. Insert lancet into lancing device, use to puncture skin.
5. Recap lancet, discard in appropriate container.

1.3.5 Chase buffer labels (7D2243)

Chase buffer box label



Chase Buffer

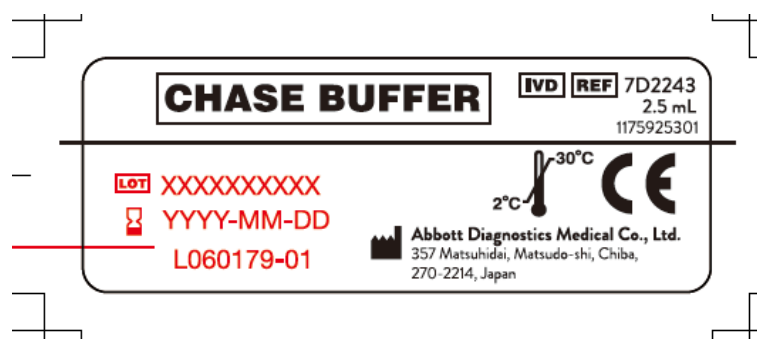


Black

Box

Size: (W)22mm x (L)44mm x (H)56mm

PN: 1135904901

Chase buffer bottle label**1.3.6 ETDA capillary tubes label (7D2222)**

**EDTA Capillary
Tubes**



7D2222
Label

Size: 3.5" x 3"

PN: 241609/R10

Date of Last Revision:
2019/03/14



**EDTA
CAPILLARY TUBES**

REF 7D2222

100 Each

IVD

241609/R10

EN EDTA Capillary Tubes are to be used in the fingerstick collection of whole blood specimens for use in **Determine™** products. Refer to the package insert of the diagnostic assay for full procedure. Bring to room temperature before opening the cap. For professional use only.
Caution: Risk of glass breakage and injury. Handle with care. Store in a dry location.

ES Los tubos de capilares con EDTA se utilizan en la obtención mediante punción dactilar de muestras de sangre total para productos **Determine™**. Consulte el folleto del ensayo de diagnóstico para obtener información de todo el procedimiento. Deben estar a temperatura ambiente antes de abrir la tapa. Solo para uso profesional.
Precaución: Riesgo de rotura de cristales y lesiones. Manipular con cuidado. Almacenar en un lugar seco.

FR Les tubes capillaires EDTA sont utilisés pour recueillir des échantillons de sang total par piqure du doigt pour les produits **Determine™**. Reportez-vous à la notice du test de diagnostic pour connaître tous les détails de la procédure. Amenez à température ambiante avant d'ouvrir le bouchon. À usage professionnel uniquement.
Attention: risque de blessure par éclats de verre. À manipuler avec soin. À conserver dans un endroit sec.

PT Os tubos capilares EDTA devem ser utilizados na colheita por picada no dedo de amostras de sangue total para utilização nos produtos **Determine™**. Consulte o folheto informativo do ensaio de diagnóstico para o procedimento completo. Coloque à temperatura ambiente antes de abrir a tampa. Exclusivamente para uso profissional.
Atenção: risco de quebra do vidro e de ferimentos. Manusear com cuidado. Armazenar em local seco.

Advice Line Telephone number

Europe & Middle East: + (44) 161 483 9032

Asia Pacific: + (61) 7 3363 7711

Africa, Russia & CIS: + (972) 8 9429 683

Latin America: + (57) 2 6618 797

© 2019 Abbott. All rights reserved.
All trademarks referenced are trademarks of either the Abbott group of companies or their respective owners.

Produced by:
Drummond Scientific Co.
Broomall, PA USA 19008

**Abbott Diagnostics
Medical Co., Ltd.**

357 Matsuhidai, Matsudo-shi,
Chiba, 270-2214, Japan

Exp.

Lot



2. Instructions for use²

² English version of the IFU was the one that was assessed by WHO. It is the responsibility of the manufacturer to ensure correct translation into other languages.

DETERMINE™
HBsAg 2

Key to symbols used/
Clave de los símbolos utilizados/
Légende des symboles utilisés/
Designação dos símbolos utilizados

2°C

30°C

Store at 2-30°C/
Guardar a temperaturas entre 2 y 30°C/
Conserver entre 2-30°C/
Armazenar a 2-30°C

REF

Catalogue Number/
Número de catálogo/
Référence catalogue/
N° de Catálogo

2

Do not reuse/
No reutilizar/
Ne pas réutiliser/
Não reutilizar

IVD

In Vitro Diagnostic Medical Device/
Dispositivo de diagnóstico médico *in vitro*/
Dispositif médical de diagnostic *In Vitro*/
Dispositivo Médico para Diagnóstico *In Vitro*

Do not use if package is damaged/
No utilizar si el envase está roto/
Ne pas utiliser si l'emballage est endommagé/
Não utilizar caso a embalagem esteja danificada

Keep away from sunlight/
No exponer a la luz solar/
Conserver à l'abri de la lumière du soleil/
Manter afastado da luz solar

Σ

20

Contains Sufficient for 20 tests/
Contiene material suficiente para realizar 20 pruebas/
Permet de réaliser 20 tests/
Contém o suficiente para 20 testes

Σ

100

Contains Sufficient for 100 tests/
Contiene material suficiente para realizar 100 pruebas/
Permet de réaliser 100 tests/
Contém o suficiente para 100 testes

Consult instructions for use/
Consulte las instrucciones de uso/
Veuillez consulter le mode d'emploi/
Consulte as instruções de utilização

Whole Blood / Sangre Total / Sang Total / Sangue Total

Pipette Pipeta Pipette Pipeta	50 µL 1m/1' x1 15m/15' - 30m/30'
EDTA Capillary Tubes Tubos capillares EDTA Tubes capillaires avec EDTA Tubos Capilares EDTA	50 µL x1 15m/15' - 30m/30'

Serum, Plasma / Suero, Plasma / Sérum, Plasma / Soro, Plasma

Pipette Pipeta Pipette Pipeta	50 µL 15m/15' - 30m/30'
--	--

Reactive/Reactivo/
Réactif/Reativo

Control bar (red)

Patient bar (black)

faint
débil

faible
ténue

+

Non-Reactive/No Reactivo/
Non Réactif/Não Reativo

Control bar (red)

Patient bar (black)

-

Invalid/No válido
Non valide/Inválido

Control bar (red)

Patient bar (black)

X

EN

July 2019
241590

This instruction for use must be read carefully prior to use. All procedures must be followed accordingly. Reliability of assay results cannot be guaranteed if there are deviations from the instructions in this IFU.

NAME AND INTENDED USE

Determine™ HBsAg 2 is an *in vitro*, visually read, qualitative immunoassay for the detection of Hepatitis B Surface Antigen (HBsAg) in human capillary and venous whole blood, plasma or serum. The test is intended as an aid in the diagnosis of HBV infection through detection of HBsAg from infected individuals. The test is not intended for screening blood donors. The test is for professional use only.

SUMMARY AND EXPLANATION OF THE TEST

Hepatitis B virus (HBV), is a DNA virus transmitted percutaneously, sexually and perinatally. Worldwide it causes deaths from cirrhosis, liver failure and hepatocellular carcinoma¹. HBsAg seropositivity is the first serological marker to appear in acute HBV infection².

BIOLOGICAL PRINCIPLES OF THE PROCEDURE

Determine™ HBsAg 2 is an immunochromatographic test for the qualitative detection of Hepatitis B Surface Antigen (HBsAg).

A specimen is added to the sample pad. The specimen mixes with biotinylated anti-HBsAg mouse monoclonal antibodies and black particles coated with anti-HBsAg mouse monoclonal antibodies. This mixture migrates along the solid phase to the immobilized avidin at the patient bar.

If HBsAg is present in the specimen, the antigen binds to the biotinylated anti-HBsAg mouse monoclonal antibodies and the black particles coated with anti-HBsAg mouse monoclonal antibodies. This complex binds to the immobilized avidin forming a black bar on the test strip. If HBsAg is not present, black particles flow past the patient bar and no black bar is formed on the test strip.

To ensure assay validity, a procedural control bar is incorporated in the assay device on the test strip. The red control bar will appear.

CONTENTS

- Determine™ HBsAg 2 20 Test (7D2942): 2 cards (10 tests/card)
- Determine™ HBsAg 2 100 Test (7D2943): 10 cards (10 tests/card)
- Determine™ HBsAg 2 SET (7D2943SET) 100 Test for testing whole blood samples
 - Determine™ HBsAg 2 (7D2943) 10 cards (10 tests/card)
 - Chase Buffer (7D2243) 1 bottle of 2.5 ml
 - EDTA Capillary Tubes (7D2222) 1 pack for 100 tests
 - Blood Lancet (sterilized) (7D2233) 1 box for 100 tests

ACCESSORIES (required)

For testing Whole Blood Samples

Chase Buffer (7D2243) 1 Bottle (2.5 mL) containing phosphate buffered saline, preservative and antimicrobial agent

For testing Whole Blood Samples (fingerstick assay)

Single use sterile lancet

EDTA capillary tube (7D2222)

Materials Required But Not Provided

- Disposable gloves
- Timing device
- Micropipette capable of delivering 50 µL (not required for fingerstick method)
- Alcohol swab, gauze pad

WARNING AND PRECAUTIONS

For *In Vitro* Diagnostic Use.

Use the Chase Buffer bottle with attention to avoid contamination of the nozzle. Don't touch nozzle to the sample or sample pad.

Safety data sheet available for professional users on request.

CAUTION:

When handling specimens and reagents, use appropriate biosafety practices^{4,5}. These precautions include, but are not limited to the following:

- Wear gloves.
- Do not pipette by mouth.
- Do not eat, drink, smoke, apply cosmetics, or handle contact lenses in areas where these materials are handled.
- Clean and disinfect all spills of specimens or reagents using suitable disinfectant, such as 0.5% sodium hypochlorite^{3,4}.
- Decontaminate and dispose of all specimens, used test strips, and other potentially contaminated materials in accordance with local regulations^{3,4}.

STORAGE

Store Determine™ HBsAg 2 Test Cards and Chase Buffer at 2-30°C until expiration date. After open the Chase buffer, re-cap and store at 2-30°C to avoid evaporation or spillage.

- When handled and stored as directed, kit components are stable until expiration date. Do not use kit components beyond expiration date.
- Immediately reseal all unused tests in the foil pouch containing the desiccant by pressing seal from end to end to close.
- Do not use wet devices or damaged packages.

SPECIMEN COLLECTION

Serum, Plasma, and Whole Blood Collection by Venipuncture

Use EDTA collection tubes for whole blood and plasma specimens.

- Collect human whole blood by aseptic venipuncture.
- To obtain serum, separate from the clot. To obtain plasma, separate from the packed cells. Separate specimens as soon as possible to avoid any hemolysis.

Whole Blood Collection by fingerstick⁴ (See Fig.1)

Use EDTA capillary tube (7D2222)

CAUTION: Glass capillaries may be damaged during transportation or when in use. Handle with care in order to avoid injury when removing from the package as well as during use and during disposal.

EDTA CAPILLARY TUBES

Before collecting a fingerstick specimen, place a capillary tube on a clean dry surface.

- 1.Choose the fingertip of the middle, ring, or index finger (whichever is the least callused).



Warm the hand as needed with a warm, moist towel or warm water to increase blood flow.

- 2.Clean fingertip with alcohol; allow to air dry.
- 3.Position the hand palm-side up. Place the lancet off-center on the fingertip. Firmly press the lancet against the finger and puncture the skin. Dispose the lancet in an appropriate biohazard sharps container.
- 4.Wipe away the first drop of blood with a sterile gauze pad.
- 5.Hold the finger lower than the elbow and apply gentle, intermittent pressure to the base of the punctured finger several times.
- 6.Touch the tip of the capillary tube to the drop of blood. Avoid air bubbles. Fill the tube with whole blood up to between the two marked lines (50 µL).

SPECIMEN STORAGE

- Store serum and plasma specimens at 2-8°C and run the test within 7 days of collection. If testing is delayed more than 7 days, the specimens should be frozen (-20°C or colder).
- Avoid repeated freeze/thaw cycles.
- If serum or plasma specimens show particulate matter or turbidity, centrifuge at 10,000g for 5 min at room temperature before sampling. Carefully take the 50 µL test sample from the supernatant. If a lipid layer is formed on the surface of the liquid, ensure that the sample is taken from the clear liquid below that layer.
- For whole blood collected by venipuncture, store at 2-8°C. Do not freeze whole blood specimens. Run the test within 2 days (48 hours) of collection. Mix the specimen well by gentle inversion of the tube immediately before testing.
- For whole blood collected by fingerstick, test immediately.

TEST PROCEDURE

This test should be performed at 18 to 40°C.

- 1.Remove the desired number of test strips from the 10-test card by bending and tearing at the perforation.
 - To preserve the lot number which appears on the left side of the test card, remove individual test strips starting from the right side of the test card. The lot number and expiry date are not printed on the individual test strips.
2. Label or write the patient identification on the top white area of the device.
3. Remove the protective foil cover from each test.
 - After removing the protective foil cover from each test strip, start the assay within 2 hours.
4. For serum or plasma samples:

- a. Apply 50 µL of sample (precision pipette) to the sample pad (marked by the arrow symbol).
- b. Wait a minimum of 15 minutes (30 minutes maximum) from addition of the sample and read result.

For whole blood (venipuncture) samples:

- a. Apply 50 µL of sample (precision pipette) to the middle of the sample pad (marked by the arrow symbol).
- b. Wait one minute to allow the sample to be absorbed, and then apply one drop of Chase Buffer to the sample pad, holding the bottle vertically.
- c. Wait a minimum of 15 minutes (30 minutes maximum) from addition of the sample and read result.

For whole blood (fingerstick) samples using EDTA capillary tubes:

- a. Place the capillary tube containing the blood sample to the middle of the sample pad (marked by the arrow symbol) at an upright (vertical) position.
- b. Wait until all the blood is transferred from the capillary tube to the sample pad. Then immediately apply one drop of Chase Buffer to the sample pad, holding the bottle vertically.

Caution: do not lift the capillary tube from the sample pad before all the blood has been transferred – a bubble may form which will prevent the complete transfer of sample and invalidate the test. It may take more than one minute for full transfer of the sample.

- c. Dispose the used capillary tube as biohazardous material according to local regulations.
- d. Wait a minimum of 15 minutes (30 minutes maximum) from addition of the sample and read result.

NOTE:

- Running the test in high temperature/low humidity may affect the appearance of the patient bar. If the test strip is partially dried and it is difficult to read the result at 15 to 30 minutes, the test should be repeated using a new test strip and result read at 15 minutes. When the test strip is partially dried, it appears as mixed white spot and grayish area. At 40°C/ 40% RH or low humidity conditions, the test strip dries at 30 minutes.
- If serum or plasma sample does not flow or shows abnormal flow, such as stopping in the middle of the window, centrifuge the specimen and repeat the test with a new test strip.

QUALITY CONTROL

To ensure assay validity, a procedural control system is incorporated in the device. This red control bar will appear in the window. If the control bar does not appear by assay completion, the test result is invalid. Repeat the test using a new test strip.

INTERPRETATION OF RESULTS (See pictures)

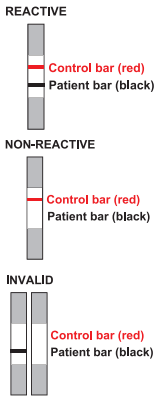
NOTE:

- Interpret any visible red bar (even very faint) in the window as a valid result.
- The test result is valid even if the black patient bar appears lighter or darker than the red control bar. Any black patient bar, no matter how faint, is interpreted as reactive.
- Even if the color of control bar is dark red, it is valid.
- A test which gives very high background should be considered invalid.
- If an invalid result occurs repeatedly, or for technical assistance, contact your local distributor or call the Advice Line.
- When a whole blood venipuncture or whole blood fingerstick result is reactive with Determine™ HBsAg 2, it is recommended that the result is followed up with a plasma or serum Determine™ HBsAg 2 test or a laboratory reference test.

Reactive (Two bars: Red bar and Black bar)
Two bars: one red bar and one black bar appear in the window. The red bar corresponds to control bar and the black bar corresponds to patient bar, respectively.

Non-reactive (One bar: Red bar)
One red bar appears and no black bar appears in the window.

INVALID (No bar or One bar: Black bar)
If there is no red control bar in the window, and even if a black patient bar appears in the window, the result is invalid. Repeat the test using a new test strip.



LIMITATIONS OF THE PROCEDURES

- The Determine™ HBsAg 2 test is designed to detect Hepatitis B Surface Antigen (HBsAg) in human serum, plasma and whole blood. Other body fluids or pooled specimens may not give accurate results and should not be used.
- The intensity of the patient bar does not necessarily correlate with the titer of antigen in the specimen.
- No test provides absolute assurance that a sample does not contain low levels of HBsAg such as those present at a very early stage of infection.
- If the result is non-reactive at 15 minutes and reactive at 30 minutes, the patient has very low HBsAg below the detection limit.
- A non-reactive result at any time does not preclude the possibility of exposure to or infection with hepatitis B virus.
- The use of anticoagulants other than EDTA for whole blood or plasma specimens has not been validated for use with the Determine™ HBsAg 2 and may give incorrect results.
- For diagnostic purposes and to differentiate acute HBV infection from chronic HBV infection, the detection of HBsAg must be correlated with patient symptoms and other hepatitis B viral serological markers **and nucleic acid testing (NAT)**.
- Biotin treatment higher than 5mg per day may lead to decreased patient bar intensity. Biotin concentrations up to 50 ng/mL in serum or plasma did not impact the sensitivity.

PERFORMANCE CHARACTERISTICS

Sensitivity

Sensitivity was evaluated by testing confirmed HBsAg positive specimens, commercial seroconversion panels, HBV genotype and serotype panels.

1. HBsAg Positive Specimens

A total of 437 confirmed HBsAg positive specimens were tested with Determine™ HBsAg 2 and a commercially available rapid HBsAg test (Table I). The sensitivity (95% CI) of Determine™ HBsAg 2 on this population of specimens was calculated to be 98.4% (96.7-99.4%). The non-reactive specimens with Determine™ HBsAg 2 were 0.06, 0.06, 0.09, 0.10, 0.13, 0.33 and 1.29 IU/mL by a quantitative HBsAg test kit.

Table I:
HBsAg Positive Specimens

Types	Number of Specimens tested	Reactive by Determine™ HBsAg 2	Reactive by alternative rapid HBsAg test
HBsAg positive specimens	369	362	294
HBV genotype determined specimens*	51	51	43
HBsAg sero-type determined specimens**	17	17	17
Plasma sensitivity (95% CI)	369	98.6% (364/369) (96.9-99.6%)	81.3% (300/369) (76.9-85.2%)
Serum sensitivity (95% CI)	68	97.1% (66/68) (89.8-99.6%)	79.4%(54/68) (67.9-88.3%)
Total Sensitivity (95% CI)	437	98.4% (430/437) (96.7-99.4%)	81.0% (354/437) (77.0-84.6%)

* Genotypes: A, B, C, D, E, F, G, H, A/E, A/F, D/E, D/F and D/G
** Serotypes: adw2, adr, ayw2, ayw3 and ayw4 including 15 samples of # 6100/09 PEI Hepatitis B virus genotype panel

2. HBV seroconversion panels

The sensitivity of Determine™ HBsAg 2 was evaluated using 32 sets of seroconversion panels; each including early seroconversion panel members. The results were compared with the results of a commercially available rapid immunochromatographic HBsAg test kit and a quantitative HBsAg test kit (Chemiluminescent micro-particle immunoassay (CMIA)). On all sets, Determine™ HBsAg 2 detected HBsAg earlier than a rapid immunochromatographic test kit. On 4 of 32 sets, Determine™ HBsAg 2 detected HBsAg earlier than a CMIA kit. Detection of 4 of 32 sets by Determine™ HBsAg 2 was delayed by 1 bleed date when compared to CMIA kit. The first reactive date followed by continuously reactive results was compared with the first reactive date with the Determine™ HBsAg 2.

3. Analytical sensitivity of HBsAg

The analytical sensitivity of Determine™ HBsAg 2 was evaluated by testing WHO International Standard for HBsAg (NIBSC code 12/226). The results demonstrated that the test could detect a concentration of 0.1 IU/mL HBsAg.

4. HBsAg Mutant Detection

HBsAg mutant susceptibility was evaluated with Determine™ HBsAg 2. A panel consisting of 14 different recombinant HBsAg mutant panels was tested. The mutant panel consisted of following mutations, P120Q, T123A, T126N, T126S, Q129R, Q129H, Q129L, M133H, M133L, K141E, P142S, T143K, D144A and G145R. All 14 samples were detected with Determine™ HBsAg 2.

Specificity

A total of 1650 confirmed negative serum or plasma specimens were tested with the Determine™ HBsAg 2 and the specificity (95% CI) was determined (Table II). The specificity was 99.6% (99.1-99.8%).

Table II:
HBsAg Negative Specimens

Population	Number of tested specimens	Determine™ HBsAg 2	Rapid HBsAg Test
		Non-reactive	Non-reactive
Seronegative specimens*	1027	1027	1027
Clinical specimens	213	209	210
Pregnant women	206	205	205
Disease states other than HBV and potentially interfering substances**	204	202	202
Plasma specificity (95% CI)	530	100% (530/530) (99.3-100%)	100%(530/530) (99.3-100%)
Serum specificity (95% CI)	1120	99.4% (1113/1120) (98.7-99.8%)	99.5%(1114/1120) (98.8-99.8%)
Total Specificity (95% CI)	1650	99.6%(1643/1650) (99.1-99.8%)	99.6%(1644/1650) (99.2-99.9%)

* Including specimens collected in USA (1240) and Africa (20)
**Rheumatoid factor (15/15), antinuclear antibody (10/10), systemic lupus erythematosus (10/10), high cholesterol (9/9), high total protein (3/3), high IgM (10/10), high IgG (4/4), human anti-mouse IgG (15/15), other infections - Hepatitis A virus (6/6), Hepatitis C virus (15/15), HTLV I (9/9), Cytomegalovirus (10/10), Toxoplasma IgG (10/10), Syphilis (8/8), Herpes simplex virus 1/2 (10/10) and Epstein-Barr virus (9/10), Flu vaccinated patients (10/10), non-virus liver disease and dialysis patient specimens (19/20)

Sample type

All specimen matrices (serum, plasma, whole blood venipuncture and whole blood fingerstick) were tested.

Table III:
HBsAg sensitivity in matched whole blood (venipuncture and fingerstick), serum and plasma specimens

Popu-lation	No. of matched specimens tested	Type of Specimens and No. of reactive or non-reactive by Determine™ HBsAg 2			
		Serum	Plasma	Whole blood veni-puncture	Whole blood fingerstick**
HBsAg positive	145	Reactive	142	143	141
		Non-reactive	3	2	4
		Sensitiv-ity (95% CI)	97.9% (94.1-99.6%)	98.6% (95.1-99.8%)	97.2%*** (93.1-99.2%)
HBsAg nega-tive	203	Reactive	1	0	0 <3**>
		Non-reactive	202	202*	203 <200**>
		Specific-ity (95% CI)	99.5% (97.3-100%)	100% (98.2-100%)	100% <98.5%**> (98.2-100%)

* There was no plasma result for 1 study subject.
** EDTA capillary tubes were used for 225 specimens. MICROSAFE® Tubes were used for 123 specimens. Prospective multiple (matched) specimens of whole blood, serum and plasma from 348 individuals (145 HBsAg positive) in European countries were tested with Determine™ HBsAg 2 (Table III). Whole blood initially reactive results were adjudicated utilizing the serum or plasma results. The true negative but initially reactive whole blood results are listed in parentheses <> in Table III.

The results obtained from all specimen matrices showed correlation, except for the following. One positive specimen (0.27 IU/mL) was reactive with plasma but non-reactive with serum, venipuncture whole blood and fingerstick.
One positive specimen (0.14 IU/mL) was reactive with serum and plasma but non-reactive with venipuncture whole blood and fingerstick. One negative specimen was non-reactive with plasma, venipuncture whole blood and fingerstick but reactive with serum. Three negative venipuncture whole blood specimens were reactive. Three negative fingerstick specimens were reactive.
All whole blood true negative but reactive specimens were adjudicated utilizing the serum or plasma results; all were non-reactive on serum and plasma testing; the final assessment is that the samples were non-reactive.
Two seropositive specimens (0.08 IU/ml and 0.14 IU/ml) were non-reactive with all specimen matrices at 15 minutes. At 30 minutes, results for serum and plasma were reactive.
*** When using the cut-off 0.13 IU/mL, the sensitivity at 15 and at 30 minutes for fingerstick and venous whole blood samples was 97.9%.

Advice Line (See back page)

BIBLIOGRAPHY (See back page)

The manufacturing process produces different lot numbers for the kit and test cards; these lot numbers are traceable.

Estas instrucciones de uso deben leerse atentamente antes de utilizar el producto. Deben seguirse todos los procedimientos correctamente. No se puede garantizar la fiabilidad de los resultados del ensayo si existen desviaciones con respecto a estas instrucciones de uso.

NOMBRE Y FINALIDAD PREVISTA

Determine™ HBsAg 2 es un inmunoanálisis cualitativo *in vitro* con lectura visual para la detección del antígeno de la hepatitis B de superficie (HBsAg) en sangre total humana capilar y venosa, plasma o suero. La prueba está prevista para ayudar en el diagnóstico de la infección por el VHB a través de la detección de HBsAg en personas infectadas. La prueba no tiene por finalidad realizar un cribado de los donantes de sangre. La prueba es solo para uso profesional.

RESUMEN Y EXPLICACIÓN DE LA PRUEBA

El virus de la hepatitis B (VHB) es un virus del ADN que se trasmite por vía percutánea, sexual y perinatal. En todo el mundo, provoca muertes por cirrosis, insuficiencia hepática y carcinoma hepatocelular¹. La seropositividad a HBsAg es el primer marcador serológico que se observa en casos de infección aguda de VHB².

FUNDAMENTOS DEL PROCEDIMIENTO

Determine™ HBsAg 2 es una prueba inmunocromatográfica para la detección cualitativa del antígeno de la hepatitis B de superficie (HBsAg). Un espécimen se añade a la almohadilla para la muestra. La muestra se mezcla con anticuerpos monoclonales biotinilados de ratón contra AgHBs y partículas negras recubiertas con anticuerpos monoclonales de ratón contra AgHBs. Esta mezcla migra a lo largo de la fase sólida hasta la avidina inmovilizada en la barra de paciente.

Si hay AgHBs presente en la muestra, el antígeno se une a los anticuerpos monoclonales de ratón biotinilados contra AgHBs y a las partículas negras recubiertas con anticuerpos monoclonales de ratón contra AgHBs. Este complejo se une a la avidina inmovilizada para formar una barra negra en la tira de la prueba. Si el HBsAg no está presente, las partículas negras fluyen más allá de la barra de paciente y no se forma ninguna barra negra en la tira de la prueba.

Para garantizar la validez del ensayo, se incorpora una barra de control del procedimiento al dispositivo para el ensayo en la tira de la prueba. La barra de control rojo aparecerá.

Para garantizar la validez del ensayo, se incorpora una barra de control del procedimiento al dispositivo para el ensayo en la tira de la prueba. La barra de control rojo aparecerá.

CONTENIDO

- 20 pruebas Determine™ HBsAg 2 (7D2942): 2 tarjetas (10 pruebas/tarjeta)
 - 100 pruebas Determine™ HBsAg 2 (7D2943): 10 tarjetas (10 pruebas/tarjeta)
 - JUEGO Determine™ HBsAg 2 (7D2943SET): 100 pruebas para analizar muestras de sangre
 - Determine™ HBsAg 2 (7D2943) 10 tarjetas (10 pruebas/tarjeta)
 - Tampón de detección (7D2243) 1 frasco de 2,5 ml
 - Tubos capilares con EDTA (7D2222) 1 paquete para 100 pruebas
 - Lanceta para sangre (esterilizada) (7D2233) 1 caja para 100 pruebas
- Tarjetas para pruebas de Determine™ HBsAg 2: 2 o 10 tarjetas (10 pruebas por cada tarjeta) suficientes para realizar 20 pruebas (7D2942) o 100 pruebas (7D2943).

ACCESORIOS (necesarios)

Para realizar pruebas en muestras de sangre

Buffer de detección (7D2243) 1 frasco (2,5 ml) con solución salina tamponada con fosfato, conservante y agente antimicrobiano.

Para realizar pruebas en muestras de sangre (análisis de punción digital)

Lanceta estéril de un solo uso

Tubos capilares EDTA (7D2222)

Materiales necesarios pero no incluidos

- Guantes desechables
- Cronómetro
- Micropipeta capaz de administrar 50 µl (no es necesaria para el método de punción digital)
- Tampón impregnado en alcohol, compresa de gasa

ADVERTENCIAS Y PRECAUCIONES

Sólo para su uso en diagnóstico *in vitro*.

Use el frasco del buffer de detección con cuidado para evitar que se contamine la boquilla. No toque la boquilla con la muestra ni la almohadilla de la muestra.

Hoja de datos de seguridad disponible para usuarios profesionales previa solicitud.

PRECAUCIÓN:

Al manipular especímenes y reactivos, utilice las prácticas de bioseguridad adecuadas^{4,5}. Entre estas precauciones se incluyen entre otras:

- Lleve guantes.
- No pipetee ningún material con la boca.
- No coma, beba ni fume, ni se aplique cosméticos ni manipule lentillas en la zona en las que se manipulan estos materiales.
- Limpie y desinfecte todas las salpicaduras de especímenes o reactivos con un desinfectante adecuado, como hipoclorito de sodio al 0,5 %^{3,4}.
- Descontamine y elimine todos los especímenes, tiras de prueba utilizadas y otros materiales posiblemente contaminados de conformidad con las normas locales^{3,4}.

ALMACENAMIENTO

Guarde las tarjetas de prueba y el buffer de detección de Determine™ HBsAg 2 a temperaturas de entre 2 °C y 30 °C hasta la fecha de caducidad. Una vez abierto el tampón de detección, vuelva a tapar y almacene a 2-30 °C para evitar su evaporación o derrame.

- Si se manipulan y almacenan como se indica, los componentes del kit permanecen estables hasta la fecha de caducidad. No utilice los componentes del kit después de la fecha de caducidad.
- Vuelva a guardar inmediatamente las pruebas no utilizadas en la bolsa de aluminio que contiene el desecante presionando el cierre de un extremo a otro para cerrarla.
- No utilice dispositivos mojados ni cuyo envoltorio se haya estropeado.

RECOGIDA DE ESPECÍMENES

NOTA:

Recogida de suero, plasma y sangre por venopunción

Utilice tubos de recogida de EDTA para la sangre y los especímenes de plasma.

- Obtenga la sangre mediante venopunción aséptica.
- Para obtener suero, sepárelo del coágulo. Para obtener plasma, sepárelo de las células del paquete. Separe los especímenes tan pronto como sea posible para evitar la hemólisis.

Recogida de sangre por punción digital⁴ (véase fig. 1)

Utilice Tubos capilares EDTA (7D2222)

PRECAUCIÓN: Los capilares de vidrio pueden dañarse durante el transporte o el uso. Manipúlelos con cuidado con el fin de evitar lesiones al retirarlos del paquete, así como durante su uso y eliminación.

TUBOS CAPILARES DE EDTA

Antes de recoger un espécimen por punción digital, coloque un tubo capilar en una superficie seca y limpia.

1. Seleccione la punta del dedo medio, anular o índice (la que esté menos encallecida). Cuando sea necesario, caliente la mano con una toalla húmeda y tibia o agua tibia para aumentar el flujo sanguíneo.
2. Limpie la punta del dedo con alcohol y déjela secar al aire.
3. Coloque la mano con la palma hacia arriba. Coloque la lanceta en la punta del dedo, no en el centro. Oprima con firmeza la lanceta contra el dedo y pinche la piel. Elimine la lanceta en un recipiente adecuado para residuos de riesgo biológico con bordes afilados.
4. Seque la primera gota de sangre con una compresa de gasa estéril.
5. Sujete el dedo a menor altura que el codo y aplique varias veces una presión suave e intermitente en la base del dedo pinchado.
6. Toque la punta del tubo capilar EDTA a la altura de la gota de sangre. Evite la formación de burbujas de aire. Llene el tubo de sangre hasta un nivel situado en medio de las dos líneas marcadas (50 µl).

ALMACENAMIENTO DE ESPECÍMENES

- Guarde los especímenes de suero y plasma a una temperatura de entre 2 °C y 8 °C y realice el análisis en un plazo de siete días desde la recogida. Si la prueba se retrasa más de siete días, los especímenes se deben congelar (a temperaturas de -20 °C o más frías).
- Evite los ciclos repetidos de congelación y descongelación.
- Si los especímenes de suero o plasma muestran materia particulada o turbidez, centrifugue a 10 000 g durante cinco minutos a temperatura ambiente antes de tomar una muestra. Con cuidado, retire la muestra de la prueba de 50 µl del líquido sobrenadante. Si se forma una capa de lípido en la superficie del líquido, asegúrese de que la muestra se toma del líquido transparente que queda debajo.
- En caso de sangre recogida por venopunción, guárdela a una temperatura de entre 2 °C y 8 °C. No congele los especímenes de sangre. Realice la prueba en un plazo de dos días (48 horas) desde la recogida. Mezcle bien el espécimen dándole la vuelta al tubo con cuidado justo antes de realizar la prueba.
- En caso de sangre recogida por punción digital, analicela inmediatamente.

PROCEDIMIENTO DE LA PRUEBA

1. Extraiga el número de tiras de prueba que se desee de la tarjeta de 10 pruebas doblando y rasgando por la línea perforada.
 - Para conservar el número de lote que aparece en el lateral izquierdo de la tarjeta de prueba, retire las tiras de prueba individuales a partir del lado derecho de la tarjeta de prueba. El número de lote y la fecha de caducidad no están impresos en las tiras de prueba individuales.
2. Etiquete o escriba la identificación del paciente en la parte blanca superior del dispositivo.
3. Retire la cubierta de aluminio protectora de cada prueba.
 - Después de retirar la cubierta de aluminio protectora de cada tira de prueba, empiece el ensayo antes de dos horas.
4. En el caso de muestras de suero o plasma:

- a. Aplique 50 µl de muestra (con pipeta de precisión) a la almohadilla para la muestra (marcada con el símbolo de flecha).
- b. Espere un mínimo de 15 minutos (30 minutos máximo) desde la adición de la muestra y lea el resultado.

En el caso de muestras de sangre (venopunción):

- a. Aplique 50 µl de muestra (con pipeta de precisión) en la mitad de la almohadilla para la muestra (marcada con el símbolo de flecha).
- b. Espere un minuto y deje que se absorba la muestra; posteriormente, aplique una sola gota del buffer de detección a la almohadilla para la muestra mientras sostiene el frasco verticalmente.
- c. Espere un mínimo de 15 minutos (30 minutos máximo) desde la adición de la muestra y lea el resultado.

Para muestras de sangre (por punción digital) con tubos capilares EDTA:

- a. Coloque el tubo capilar que contiene la muestra de sangre en la mitad de la almohadilla para la muestra (marcada con el símbolo de flecha) en una posición vertical.
- b. Espere hasta que toda la sangre se transfiera desde el tubo capilar a la almohadilla para la muestra. A continuación, aplique inmediatamente una gota del buffer de detección a la almohadilla para la muestra mientras sostiene el frasco verticalmente. **Precaución:** No levante el tubo capilar de la almohadilla para la muestra hasta que haya pasado toda la sangre, ya que se puede formar una burbuja que impediría el paso completo de la muestra e invalidaría el ensayo. Puede pasar más de un minuto hasta que se haya transferido toda la muestra.
- c. Deseche el tubo capilar usado como material de riesgo biológico de acuerdo con la normativa local.
- d. Espere un mínimo de 15 minutos (30 minutos máximo) desde la adición de la muestra y lea el resultado.

NOTA:

- La realización de la prueba en condiciones de alta temperatura y baja humedad puede afectar al aspecto de la barra del paciente. Si la tira reactiva está parcialmente seca y es difícil leer el resultado a los 15 o 30 minutos, debe repetirse la prueba usando una tira reactiva nueva y leerse el resultado a los 15 minutos. Cuando la tira reactiva está parcialmente seca, aparece como una mezcla de una mancha blanca y una zona grisácea. A 40 °C/40 % HR o en condiciones de baja humedad, la tira reactiva se seca a los 30 minutos.
- Si la muestra de suero o plasma no fluye o se observa un flujo anómalo, por ejemplo si se detiene en mitad de la ventana, centrifugue el espécimen y vuelva a realizar el ensayo con una nueva tira de prueba.

CONTROL DE CALIDAD

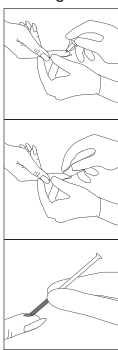
Para garantizar la validez del ensayo, se incorpora un sistema de control del procedimiento en el dispositivo. Esta barra de control rojo aparecerá en la ventana. Si, al finalizar el ensayo, no ha aparecido la barra de control, el resultado de la prueba no es válido. Repita la prueba utilizando una nueva tira de prueba.

INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS (véanse las imágenes)

NOTA:

- Interprete como resultado válido cualquier barra **roja** visible en la ventana, incluso si apenas puede observarse.
- El resultado de la prueba es válido aunque la **barra negra** del paciente sea de un color más claro o más oscuro que la **barra roja** de control. Cualquier **barra negra de paciente**, sin importar su intensidad, se interpreta como reactiva.
- Incluso si el color de la barra de control es rojo oscuro, es válida.
- Una prueba que obtiene un fondo muy alto debe considerarse como no válida.

Fig.1



- Si un resultado de prueba no válido se produce varias veces o si desea obtener asistencia técnica, póngase en contacto con su distribuidor local o llame a la línea de consulta de Alere.
- Cuando un resultado de sangre por venopunción o punción digital es reactivo con Determine™ HBsAg 2, tras el resultado, se recomienda realizar una prueba Determine™ HBsAg 2 en plasma o suero o una prueba de referencia del laboratorio.

Reactivo (dos barras: barra roja y barra negra)

Dos barras: una barra roja y una barra negra aparecen en la ventana. La barra roja corresponde a la barra del control y la negra corresponde a la barra del paciente, respectivamente.

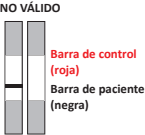


No reactivo (una barra: barra roja)

En la ventana aparece una barra roja, pero no una barra negra.



NO VÁLIDO (ninguna barra o barra roja: barra negra)
Si no hay barra de control roja en la ventana e incluso si aparece una barra de paciente negra, el resultado no es válido. Repita la prueba utilizando una nueva tira de prueba.



LIMITACIONES DE LOS PROCEDIMIENTOS

- La prueba Determine™ HBsAg 2 está diseñada para detectar el antígeno de la hepatitis B de superficie (HBsAg) en suero, plasma o sangre humanos. Es posible que otros fluidos corporales o los especímenes de un pool no arrojen resultados exactos, por lo que no deben utilizarse.
- La intensidad de la barra del paciente no está necesariamente correlacionada con la titulación del antígeno del espécimen.
- Ninguna prueba ofrece la certeza absoluta de que una muestra no contiene niveles bajos de HBsAg como los que están presentes en una fase muy temprana de la infección.
- Si el resultado es no reactivo a los 15 minutos y reactivo a los 30, el paciente tiene AgHBs muy por debajo del límite de detección.
- Un resultado no reactivo en cualquier momento no excluye la posibilidad de una exposición o infección por el virus de la hepatitis B.
- No se ha validado el uso de anticoagulantes distintos de EDTA para muestras de sangre o plasma para su uso junto con la prueba Determine™ HBsAg 2 y es posible que se obtengan resultados incorrectos.
- Para fines de diagnóstico y para diferenciar una infección por VHB aguda de una infección por VHB crónica, la detección de HBsAg debe correlacionarse con los síntomas del paciente y otros marcadores serológicos del virus de la hepatitis B y con las pruebas de ácido nucleico (NAT).
- Un tratamiento con biotina por encima de 5 mg por día puede llevar a una disminución en la intensidad de la barra del paciente. Las concentraciones de biotina hasta los 50 ng/ml en suero o plasma no afectaron a la sensibilidad.

CARACTERÍSTICAS DE RENDIMIENTO

Sensibilidad

La sensibilidad se evaluó mediante la realización de pruebas en especímenes para los que se había confirmado la presencia de HBsAg, paneles comerciales de seroconversión y paneles para el genotipo y el serotipo de VHB.

1. Especímenes positivos de HBsAg

Se realizaron pruebas en un total de 437 especímenes positivos de HBsAg confirmados con Determine™ HBsAg 2 y una prueba HBsAg rápida disponible comercialmente (Tabla I). La sensibilidad calculada (IC del 95 %) de Determine™ HBsAg 2 en esta población de especímenes fue del 98,4 % (96,7-99,4 %). Los especímenes negativos fueron 0,06, 0,06, 0,09, 0,10, 0,13, 0,33 y 1,29 IU/ml mediante un kit de pruebas de HBsAg cuantitativo.

Tabla I: Especímenes positivos de HBsAg			
Tipos	Número de especímenes a prueba	Reactivos por Determine™ HBsAg 2	Reactivo por prueba HBsAg rápida alternativa
Especímenes positivos de HBsAg	369	362	294
Especímenes determinados con el genotipo de VHB*	51	51	43
Especímenes determinados con el serotipo de HBsAg**	17	17	17
Sensibilidad plasmática (CI del 95 %)	369	98,6% (364/369) (96,9-99,6%)	81,3% (300/369) (76,9-85,2%)
Sensibilidad sérica (CI del 95 %)	68	97,1% (66/68) (89,8-99,6%)	79,4%(54/68) (67,9-88,3%)
Sensibilidad Total (CI del 95 %)	437	98,4% (430/437) (96,7-99,4%)	81,0% (354/437) (77,0-84,6%)

* Genotipos: A, B, C, D, E, F, G, H, A/E, A/F, D/E, D/F y D/G

** Serotipos: adw2, adr, ayw2, ayw3 y ayw4, incluidas 15 muestras del perfil genotípico n.º 6100/09 del virus de la hepatitis B

2. Paneles de seroconversión a VHB

La sensibilidad de Determine™ HBsAg 2 se evaluó mediante 32 series de paneles de seroconversión. Cada uno incluía miembros del panel de seroconversión temprana. Los resultados se compararon con los resultados de un kit de prueba HBsAg inmunocromatográfica rápida y un kit de prueba HBsAg cuantitativa (inmunoensayo quimioluminiscente de micropartículas [CMIA, por sus siglas del inglés]). En todos los conjuntos, Determine™ HBsAg 2 detectó el HBsAg antes que un kit de prueba inmunocromatográfica rápida. En 4 de los 32 conjuntos, Determine™ HBsAg 2 detectó el HBsAg antes que un kit CMIA. La detección de 4 de los 32 conjuntos por Determine™ HBsAg 2 se retrasó en una fecha de recogida al comprarse con el kit CMIA. Se comparó la primera fecha de un resultado reactivo seguida por resultados continuamente reactivos con la primera fecha de un resultado reactivo obtenido con Determine™ HBsAg 2.

3. Sensibilidad analítica de HBsAg

Se evaluó la sensibilidad analítica de Determine™ HBsAg 2 mediante la realización de pruebas con el estándar internacional de la OMS para el HBsAg (código del NIBSC: 12/226). Los resultados pusieron de manifiesto que la prueba podía detectar una concentración de 0,1 UI/ml de HBsAg.

4. Detección de mutantes de HBsAg

La susceptibilidad de mutantes de HBsAg se evaluó con Determine™ HBsAg 2. Se evaluó un panel compuesto por 14 paneles de mutantes de HBsAg recombinantes. El panel de mutantes se componía de las siguientes mutaciones: P120Q, T123A, T126N, T126S, Q129R, Q129H, Q129L, M133H, M133L, K141E, P142S, T143K, D144A y G145R. Las 14 muestras se detectaron con Determine™ HBsAg 2.

Especificidad

Se analizaron un total de 1650 especímenes de plasma o suero que se confirmaron como negativos con la prueba Determine™ HBsAg 2 y se determinó la especificidad (IC del 95 %) (Tabla II). La especificidad fue del 99,6 % (99,1-99,8 %).

Tabla II: Especímenes negativos de HBsAg			
Población	Número de especímenes examinados	Determine™ HBsAg 2 No reactivo	Prueba HBsAg rápida No reactivo
Especímenes sero-negativos*	1027	1027	1027
Especímenes clínicos	213	209	210
Mujeres embarazadas	206	205	205
Condiciones patológicas distintas al VHB y sustancias que pueden interferir**	204	202	202
Especificidad plasmática (CI del 95 %)	530	100% (530/530) (99,3-100%)	100%(530/530) (99,3-100%)
Especificidad sérica (CI del 95 %)	1120	99,4% (1113/1120) (98,7-99,8%)	99,5% (1114/1120) (98,8-99,8%)
Especificidad Total (CI del 95 %)	1650	99,6% (1643/1650) (99,1-99,8%)	99,6% (1644/1650) (99,2-99,9%)

* Incluidos especímenes obtenidos en EE. UU. (1240) y África (20)

** Especímenes de anticuerpos reumatoideos(15/15), anticuerpos antinucleares (10/10), lupus eritematoso sistémico (10/10), colesterol elevado (9/9), proteína total elevada (3/3), IgM elevada (10/10), IgG elevada (4/4), anticuerpos humanos contra la IgC murina (15/15), otras infecciones virus de la hepatitis A (6/6), virus de la hepatitis C (15/15), VLTH I (9/9), citomegalovirus (10/10), IgG para la toxoplasmosis (10/10), sífilis (8/8), virus del herpes común 1/2 (10/10) y virus de Epstein-Barr (9/10), pacientes vacunados contra la gripe(10/10), y pacientes en diálisis y con enfermedad hepática no vírica (19/20)

Tipo de muestra

Se analizaron todas las matrices de especímenes (suero, plasma, sangre por venopunción y sangre por punción digital).

Table III:
Sensibilidad de HBsAg en especímenes emparejados de sangre (venopunción y punción digital), suero y plasma

Pobla-ciónn	N.º de especímenes examinados y compara-dos		Tipo de especímenes y número de resul-tados reactivos o no reactivos utilizando Determine™ HBsAg 2			
			Suero	Plas-ma	Sangre por venopun-ción	Sangre por punción digital**
HBsAg positivo	145	Reacti-vo	142	143	141	141
		No re-activo	3	2	4	4
		Sensi-bilidad	97.9% (94.1-99.6%)	98.6% (95.1-99.8%)	97.2%*** (93.1-99.2%)	97.2%*** (93.1-99.2%)
HBsAg negativo	203	Reacti-vo	1	0	0 <3**>	0 <3**>
		No re-activo	202	202*	203 <200**>	203 <200**>
		Especi-ficidad	99.5% (97.3-100%)	100% (98.2-100%)	100% <98.5%**> (98.2-100%)	100% <98.5%**> (98.2-100%)

* No hubo resultados de plasma para 1 sujeto del estudio.
** Los tubos capilares EDTA se usaron para 225 especímenes. Los tubos MICROSAFE® se usaron para 123 especímenes.
Se analizaron varios especímenes (emparejados) prospectivos de sangre, suero y plasma de 348 individuos (145 HBsAg positivos) en países europeos con Determine™ HBsAg 2 (Tabla III). En un principio, los resultados reactivos de sangre se adjudicaron utilizando los resultados de suero o plasma. Los resultados de sangre verdaderamente negativos pero inicialmente reactivos se enumeran entre paréntesis < > en la Tabla III.

Se observó correlación en los resultados obtenidos a partir de todas las matrices de especímenes, excepto las siguientes. Un espécimen positivo (0,27 UI/ml) fue reactivo con plasma pero no reactivo con suero, sangre por venopunción y punción digital. Un espécimen positivo (0,14 UI/ml) fue reactivo con suero y plasma pero no reactivo con sangre por venopunción y punción digital. Un espécimen negativo fue no reactivo con plasma, sangre por venopunción y punción digital, pero reactivo con suero. Tres especímenes negativos de sangre por venopunción fueron reactivos. Tres especímenes negativos de punción digital fueron reactivos. Todos los especímenes de sangre verdaderamente negativos pero reactivos se adjudicaron utilizando los resultados de suero o plasma; todos fueron no reactivos a las pruebas de suero y plasma y la evaluación final es que las muestras fueron no reactivas. Dos especímenes seropositivos (0,08 UI/ml y 0,14 UI/ml) fueron no reactivos con todas las matrices de especímenes a los 15 minutos. A los 30 minutos, los resultados para suero y plasma fueron reactivos.

*** Cuando se utiliza el punto de corte de 0,13 IU/mL, la sensibilidad de las muestras de puncion digital y de sangre venosa completa a los 15 y los 30 minutos fue del 97,9 %.

Línea de consulta (Consulte la última página)

BIBLIOGRAFÍA (Consulte la última página)

El proceso de fabricación produce diferentes números de lote para el kit y las tarjetas para pruebas. Es posible realizar un seguimiento de estos números de lote.

Lire attentivement cette notice avant l’utilisation du test. Toutes les procédures doivent être suivies en conséquence. La fiabilité des résultats du dosage ne peut pas être garantie si ces instructions ne sont pas strictement respectées.

DÉFINITION ET DOMAINE D'APPLICATION

Determine™ HBsAg 2 est un dosage immunologique qualitatif in vitro à lecture visuelle pour la détection de l'antigène de surface de l'hépatite B (AgHBs) dans le sang total par prélèvement capillaire ou veineux, plasma ou sérum humain. Le test vise à faciliter le diagnostic d'une infection par le VHB en recherchant l'antigène Ag HBs chez les personnes infectées. Le test n'est pas destiné au dépistage des donneurs de sang. Ce test est uniquement prévu pour un usage professionnel.

RÉSUMÉ ET EXPLICATION DU TEST

Le virus de l'hépatite B (VHB) est un virus à ADN transmis par voie percutanée, sexuelle et périnatale. Partout dans le monde, il est responsable de décès liés à une cirrhose, une insuffisance hépatique ou un carcinome hépatocellulaire¹. La séroposivité pour l'AgHBs constitue le premier marqueur sérologique à apparaître dans les infections aiguës par le VHB².

PRINCIPES BIOLOGIQUES DE LA MÉTHODE

Determine™ HBsAg 2 est un test immunochromatographique pour la détection qualitative de l'antigène de surface de l'hépatite B (AgHBs).

L'échantillon est déposé sur la zone de dépôt de l'échantillon. L'échantillon se mélange aux anticorps monoclonaux anti-HBsAg biotinylés de souris et aux particules noires recouvertes d'anticorps monoclonaux anti-HBsAg de souris.

Ce mélange migre sur la phase solide jusqu'à la fenêtre patient où est immobilisée de l'avidine.

Si la protéine HbsAg est présente dans l'échantillon, l'antigène se lie aux anticorps monoclonaux biotinylés de souris et aux particules noires recouvertes d'anticorps monoclonaux anti-HBsAg de souris. Ce complexe se lie à l'avidine immobilisée, formant une ligne noire sur la bandelette. Si l'AgHBs est absent, les particules noires traversent la ligne-patient sans former de ligne noire sur la bandelette. Une ligne de contrôle de la procédure est incluse dans le dispositif de dosage afin d'assurer la validité du test. La ligne de contrôle rouge apparaît alors.

COMPOSITION

- Determine™ HBsAg 2 20 tests (7D2942) : 2 planches de 10 tests (10 tests/planche)
- Determine™ HBsAg 2 100 tests (7D2943) : 10 planches de 10 tests (10 tests/planche)
- Determine™ HBsAg 2 SET (7D2943SET) : kit conçu pour la réalisation de 100 tests à partir d'échantillons de sang total

- 10 planches de 10 tests Determine™ HBsAg 2 (7D2943) (10 tests/planche)
- 1 flacon de 2,5 ml de tampon de migration (7D2243)
- 1 paquet de tubes capillaires EDTA (7D2222) pour 100 tests
- 1 boîte de lancettes (stériles) (7D2233) pour 100 tests

ACCESSOIRES (nécessaires)

Pour tester les échantillons de sang total

Tampon de migration (7D2243) 1 flacon de tampon de migration (2,5 ml) contenant un tampon phosphate salin, un conservateur et un agent antimicrobien.

Pour tester les échantillons de sang total (bout du doigt)

- Lancette stérile à usage unique
- Tubes capillaires avec EDTA (7D2222)

Matériel requis non fourni

- Gants jetables
- Chronomètre
- Micropipette capable de délivrer 50 µl (non nécessaire pour la méthode de prélèvement sur le bout du doigt)
- Tampon alcoolisé, compresse

PRÉCAUTIONS ET RESTRICTIONS D'EMPLOI

Pour un diagnostic in vitro.

Utiliser le flacon de tampon de migration avec précaution pour éviter toute contamination de l'embout. Ne pas toucher l'échantillon ou la zone de dépôt de l'échantillon avec l'embout.

La fiche de données de sécurité est disponible sur demande pour les professionnels.

ATTENTION :

Les échantillons et réactifs doivent être manipulés conformément aux règles biologiques en vigueur^{4,5}. Ces précautions comprennent, entre autres, les mesures suivantes :

- Porter des gants.
- Ne pas effectuer de pipetages à la bouche.
- Ne pas manger, boire, fumer ni manipuler des produits cosmétiques ou des lentilles de contact dans les locaux où sont manipulés ces matériaux.
- Nettoyer toutes les éclaboussures d'échantillons ou de réactifs à l'aide d'un désinfectant adapté, tel qu'une solution d'hypochlorite de sodium à 0,5 %.^{3,4}
- Décontaminer et éliminer tous les échantillons, réactifs et autres substances susceptibles d'avoir été contaminées conformément à la réglementation en vigueur.^{3,4}

CONSERVATION

Les tests Determine™ HBsAg 2 et le tampon de migration doivent être conservés entre 2 et 30 °C jusqu'à la date de péremption. Après ouverture du tampon de migration, le refermer et le conserver à une température comprise entre 2 et 30 °C afin d'éviter que la solution ne s'évapore ou ne se renverse.

- Les composants du kit sont stables jusqu'à la date de péremption s'ils sont conservés et manipulés selon les indications du fabricant. Ne pas utiliser les composants du kit au-delà de la date de péremption.
- Remplacer immédiatement les tests non utilisés dans la pochette contenant le dessiccant et la refermer en exerçant une pression sur toute la longueur de la fermeture.
- Ne pas utiliser les dispositifs ayant été mouillés ou dont l'emballage a été endommagé.

PRÉLÈVEMENT DES ÉCHANTILLONS

REMARQUE :

Prélèvement de sérum, plasma et sang total par ponction veineuse Pour les échantillons de sang total et de plasma, utiliser des tubes de prélèvement avec de l'EDTA.

- Le sang total humain prélevé par ponction veineuse doit être recueilli dans des conditions d'asepsie.
- Pour obtenir le sérum, séparer le sérum du caillot. Pour obtenir du plasma, séparer le plasma des cellules concentrées. Procéder à la séparation des échantillons aussitôt que possible afin d'éviter toute hémolyse.

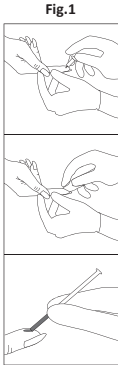
Prélèvement de sang total sur le bout du doigt⁴ (voir Fig. 1)
Utiliser Tubes capillaires avec EDTA (7D2222)

ATTENTION : Les tubes capillaires en verre peuvent s'endommager pendant le transport ou en cours d'utilisation. Manipuler avec précaution afin d'éviter tout risque de blessure lors du retrait des tubes de l'emballage, ainsi que pendant leur utilisation et leur élimination.

TUBES CAPILLAIRES AVEC DE L'EDTA

Avant de prélever un échantillon sur le bout du doigt, placer un tube capillaire sur une surface propre et sèche.

- Choisir le bout du majeur, de l'annulaire ou de l'index (choisir le moins calleux). Chauffer la main avec une serviette chaude et humide ou bien avec de l'eau chaude afin d'augmenter le flux sanguin.
- Nettoyer le bout du doigt avec de l'alcool ; laisser sécher à l'air.
- Placer la main paume vers le haut. Placer la lancette sur un côté du bout du doigt. Exercer une pression ferme sur la lancette placée sur le doigt et piquer la peau. Jeter la lancette dans un récipient pour déchets biologiques pointus.
- Essuyer la première goutte de sang avec une gaze stérile.
- Maintenir le doigt un peu plus bas que le coude et exercer plusieurs fois, par intermittence, de faibles pressions à la base du doigt piqué.
- Effleurer la goutte de sang avec l'extrémité du tube capillaire contenant de l'EDTA. Éviter la formation de bulles d'air. Remplir le tube de sang total jusqu'à un niveau situé entre les 2 traits (50 µl).



CONSERVATION DES ÉCHANTILLONS

- Si le test est effectué dans les 7 jours qui suivent le prélèvement, conserver les échantillons de sérum et de plasma entre 2 °C et 8 °C. S'ils sont analysés plus de 7 jours après le prélèvement, ils doivent être congelés (à une température inférieure ou égale à -20° C).
- Éviter de congeler/décongeler les échantillons à plusieurs reprises.
- Si des échantillons de sérum ou de plasma comportent des particules ou sont troubles, les centrifuger à 10 000 g pendant 5 minutes à température ambiante avant l'échantillonnage. Prélever délicatement les 50 µl d'échantillon test du surnageant. Si une couche lipidique s'est formée à la surface du liquide, veiller à prélever l'échantillon dans le liquide clair situé sous cette couche.
- Le sang total prélevé par ponction veineuse doit être conservé entre 2 et 8 °C. Ne pas congeler les échantillons de sang total. Le test doit être effectué dans les 2 jours (48 heures) suivant le prélèvement. Immédiatement avant de réaliser le test, bien mélanger l'échantillon en retournant délicatement le tube.
- Le sang total prélevé sur le bout du doigt doit être analysé immédiatement.

PROCÉDURE D'ANALYSE

- Le nombre souhaité de tests peut être détaché du carton de 10 tests en pliant et déchirant au niveau de la perforation.
 - Détacher les bandelettes en commençant par la droite du carton de tests afin de préserver le numéro de lot apparaissant sur la gauche du carton. Le numéro de lot et la date de péremption ne sont pas imprimés sur chaque bandelette individuelle.
- Apposer une étiquette avec les informations du patient ou les inscrire sur la partie supérieure blanche du dispositif.
- Enlever la protection plastique de chaque test.
 - Le test doit être commencé dans les 2 heures qui suivent le retrait de la feuille de protection de chaque test.
- Pour les échantillons de plasma ou de sérum :
 - Distribuer 50 µl d'échantillon (à l'aide d'une pipette de précision) sur la zone de dépôt de l'échantillon (symbole : flèche).
 - Attendre au moins 15 minutes (maximum : 30 minutes) et lire le résultat.

Pour les échantillons de sang total (prélevés par ponction veineuse) :

- Distribuer 50 µl d'échantillon (à l'aide d'une pipette de précision) au centre de la zone de dépôt de l'échantillon (symbole : flèche).
- Attendre une minute que l'échantillon soit absorbé, puis distribuer une goutte de tampon de migration sur la zone de dépôt de l'échantillon, en tenant le flacon à la verticale.
- Attendre au moins 15 minutes (maximum : 30 minutes) et lire le résultat.

Pour les échantillons de sang total prélevés au bout du doigt en utilisant des tubes capillaires avec de l'EDTA

- Placer le tube capillaire contenant l'échantillon de sang total au centre de la zone de dépôt de l'échantillon (symbole : flèche) dans une position verticale.
- Attendre que tout le sang soit transféré du tube capillaire sur la zone de dépôt de l'échantillon. Puis déposer immédiatement une goutte de tampon de migration sur la zone de dépôt, en tenant le flacon à la verticale.

Attention : ne pas soulever le tube capillaire de la zone de dépôt de l'échantillon tant que tout le sang n'a pas été transféré : une bulle pourrait se former, empêcher le transfert total et rendre le test non valide. Le transfert complet de l'échantillon peut prendre plus d'une minute.
- Mettre au rebut le tube capillaire comme déchet biologique conformément aux réglementations locales.
- Attendre au moins 15 minutes (maximum : 30 minutes) et lire le résultat.

REMARQUE :

- Exécuter le test sous haute température/faible humidité peut affecter l'apparence de la ligne-patient. Si la bandelette est partiellement sèche et qu'il est difficile de lire le résultat au bout de 15 à 30 minutes, le test doit être répété à l'aide d'une nouvelle bandelette et le résultat lu au bout de 15 minutes. Lorsque la bandelette est partiellement sèche, elle apparaît avec des points blancs et des zones grisâtres. À 40 °C et/ou à 40 % d'humidité relative ou dans des conditions de faible humidité, la bandelette sèche au bout de 30 minutes.
- Si l'échantillon de sérum ou de plasma ne migre pas ou migre de façon anormale, par exemple s'il s'arrête au milieu de la fenêtre, centrifuger l'échantillon et effectuer de nouveau le test avec une nouvelle bandelette.

CONTRÔLE DE QUALITÉ

Un système de contrôle de la procédure est inclus dans le dispositif de dosage afin d'assurer la validité du test. Cette ligne de contrôle rouge apparaît dans la fenêtre. Si la ligne de contrôle n'apparaît pas à la fin du temps requis pour le test, le résultat du test n'est pas valide. Recommencer le test en utilisant une nouvelle bandelette.

INTERPRÉTATION DES RÉSULTATS (voir images)

REMARQUE :

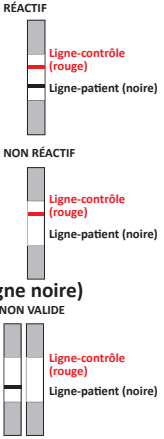
- Interpréter toute ligne rouge apparaissant dans la fenêtre de contrôle (quelle que soit son intensité) comme un résultat valide.
- Le résultat du test est positif même si la ligne-patient **noire** est plus claire ou plus foncée que la ligne-contrôle **rouge**. Toute ligne **patient noire**, même de faible intensité, est interprétée comme réactive.
- Même si la couleur de la ligne-contrôle est rouge foncé, le test est valide.
- Un test qui donne un arrière-plan très intense doit être considéré comme non valide.

• Si le résultat d’un échantillon de sang total prélevé par ponction veineuse ou sur le bout du doigt est réactif avec Determine™ HBsAg 2, le résultat doit être confirmé avec un échantillon de plasma ou de sérum avec Determine™ HBsAg 2, il est recommandé que le résultat soit complété par un autre test Determine HBsAg 2 mais sur sérum ou plasma, ou alors par un autre test de référence de laboratoire.

Réactif (deux lignes : une ligne rouge et une ligne noire)
Deux lignes : une ligne rouge et une ligne noire apparaissent dans la fenêtre. La ligne rouge correspond à la ligne-contrôle et la noire à la ligne-patient.

Non réactif (une seule ligne : ligne rouge)
Une ligne rouge apparaît dans la fenêtre, mais aucune ligne noire.

NON VALIDE (aucune ligne ou une seule ligne : ligne noire)
Si aucune ligne rouge n'apparaît dans la fenêtre, même si une ligne-patient noire apparaît dans la fenêtre, le résultat n'est pas valide. Recommencer le test en utilisant une nouvelle bandelette.



LIMITES DE LA MÉTHODE

- Le test Determine™ HBsAg 2 est destiné à détecter l’antigène de surface de l’hépatite B (AgHBs) dans le sérum, le plasma et le sang total humains. Tout autre échantillon biologique ou des échantillons poolés peuvent donner des résultats imprécis et ne doivent pas être utilisés.
- L'intensité de la ligne-patient n'est pas nécessairement proportionnelle au titre d'antigène de l'échantillon.
- Aucun test ne peut garantir de façon absolue qu’un échantillon ne contient pas de faibles concentrations en AgHBs, comme celles présentes à un stade très précoce de l’infection.
- Si le résultat est non réactif au bout de 15 minutes et réactif au bout de 30 minutes, le patient a un taux d’HbsAg très faible, en dessous de la limite de détection.
- Un résultat non réactif n'exclut pas la possibilité d’une exposition au virus de l’hépatite B ou d’une infection par celui-ci.
- L’utilisation d’anticoagulants autres que l’EDTA pour les échantillons de sang total ou de plasma n’a pas été validée avec le test Determine™ HBsAg 2 et peut donner des résultats incorrects.
- Afin de pouvoir diagnostiquer et distinguer une infection aiguë par le VHB d’une infection chronique, la détection de l’AgHBs doit être associée aux symptômes que présente le patient et aux autres marqueurs sérologiques viraux de l’hépatite B et les résultats des tests sur les acides nucléiques (TAN).
- Les traitements par biotine à une dose supérieure à 5 mg par jour peuvent entraîner une diminution de l’intensité de la ligne-patient. Des concentrations de biotine allant jusqu’à 50 ng/ml dans le sérum ou le plasma n’ont pas eu d’effets sur la sensibilité.

CARACTÉRISTIQUES SPÉCIFIQUES

Sensibilité
La sensibilité a été évaluée en testant des échantillons confirmés positifs pour l’AgHBs, des panels de séroconversion disponibles dans le commerce et des panels de génotypes et sérotypes de l’AgHBs.

1. Échantillons positifs pour l’AgHBs
Un total de 437 échantillons confirmés positifs pour l’AgHBs ont été testés avec Determine™ HBsAg 2 et avec un test de détection rapide de l’AgHBs du commerce (Tableau I). La sensibilité du test Determine™ HBsAg 2 (IC à 95 %) pour cette population d’échantillons était égale à 98,4% (96,7-99,4 %). Les échantillons négatifs étaient à 0,06, 0,06, 0,09, 0,10, 0,13, 0,33 et 1,29 UI/ml selon un kit de dosage quantitatif de l’AgHBs.

Tableau I : Échantillons positifs pour l’AgHBs

Types	Nombre d'échantillons testés	Réactif avec le test Determine HBsAg 2	Réactif avec le test rapide AgHBs alternatif
Échantillons positifs pour l’AgHBs	369	362	294
Échantillons déterminés par génotype du VHB*	51	51	43
Échantillons déterminés par sérotype de l’AgHBs*	17	17	17
Sensibilité sur plasma (IC de 95 %)	369	98,6% (364/369) (96,9-99,6%)	81,3% (300/369) (76,9-85,2%)
Sensibilité sur sérum (IC de 95 %)	68	97,1% (66/68) (89,8-99,6%)	79,4%(54/68) (67,9-88,3%)
Sensibilité totale (IC de 95 %)	437	98,4% (430/437) (96,7-99,4%)	81,0% (354/437) (77,0-84,6%)

* Génotypes : A, B, C, D, E, F, G, H, A/E, A/F, D/E, D/F et D/G
** Sérotypes : adw2, adr, ayw2, ayw3 et ayw4, y compris 15 échantillons du pannel PEI n° 6100/09 du virus de l’hépatite B

2. Panels de séroconversion VHB

La sensibilité du test Determine™ HBsAg 2 a été évaluée avec 32 ensembles de panels de séroconversion, comprenant chacun des membres de panels de séroconversion précoce. Les résultats ont été comparés aux résultats d’un kit de test immunochromatographique rapide pour la détection de l’AgHBs et d'un kit de test de dosage quantitatif de l’AgHBs (test immunologique microparticulaire par chimiluminescence [CMIA]) disponibles dans le commerce. Sur tous les ensembles, le test Determine™ HBsAg 2 a détecté l’AgHBs plus vite qu'un kit de test immunochromatographique rapide. Sur 4 ensembles sur 32, le test Determine™ HBsAg 2 a détecté l’AgHBs plus tôt qu’un kit de test CMIA. La détection de 4 des 32 ensembles par le test Determine™ HBsAg 2 a été retardée de 1 date de prélèvement par rapport au kit CMIA.

3. Sensibilité analytique de l’AgHBs

La sensibilité analytique du test Determine™ HBsAg 2 a été évaluée en testant l’AgHBs du standard international de l’OMS (code NIBSC 12/226). Les résultats ont révélé que le test pouvait détecter une concentration de 0,1 UI/ml d’AgHBs.

4. Détection des mutants de l’AgHBs

La sensibilité aux mutants de l’AgHBs a été évaluée avec le test Determine™ HBsAg 2. Un ensemble de 14 panels de mutants recombinants de l’AgHBs a été testé. Le panel de mutants comprenait les mutations suivantes : P120Q, T123A, T126N, T126S, Q129R, Q129H, Q129L, M133H, M133L, K141E, P142S, T143K, D144A et G145R. Les 14 échantillons ont tous été détectés avec le test Determine™ HBsAg 2.

Spécificité

1 650 échantillons de sérum ou de plasma confirmés négatifs ont été testés avec le test Determine™ HBsAg 2, et la spécificité (IC à 95 %) a été déterminée (Tableau II). La spécificité était de 99,6 % (99,1-99,8 %).

Tableau II : Échantillons négatifs pour l’AgHBs

Population	Nombre d'échantillons testés	Determine™ HBsAg 2	Test rapide de détection de l’AgHBs
		Non réactif	Non réactif
Échantillons séronégatifs*	1027	1027	1027
Échantillons cliniques	213	209	210
Femmes enceintes	206	205	205
Maladies autres que l'infection par le VHB et substances potentiellement interférentes**	204	202	202
Spécificité sur plasma (IC de 95 %)	530	100% (530/530) (99,3-100%)	100%(530/530) (99,3-100%)
Spécificité sur sérum (IC de 95 %)	1120	99,4% (1113/1120) (98,7-99,8%)	99,5% (1114/1120) (98,8-99,8%)
Spécificité totale (IC de 95 %)	1650	99,6% (1643/1650) (99,1-99,8%)	99,6% (1644/1650) (99,2-99,9%)

* Inclut des échantillons prélevés aux États-Unis (1 240) et en Afrique (20)
** Facteur rhumatoïde (15/15), anticorps antinucléaire (10/10), lupus érythémateux systémique (10/10), taux de cholestérol élevé (9/9), protéinémie totale élevée (3/3), taux d’IgM élevé (10/10), IgG élevé (4/4), anti-IgG de souris (15/15), autres infections (virus de l’hépatite A (6/6), virus de l’hépatite C (15/15), HTLV I (9/9), cytomégalovirus (10/10), IgG de Toxoplasma (10/10), syphilis (8/8), virus Herpes simplex 1/2 (10/10) et virus d’Epstein-Barr (9/10), patients vaccinés contre la grippe (10/10), maladie hépatique non virale et échantillons de patients sous dialyse (19/20)

Type d'échantillon

Toutes les matrices d’échantillons (sérum, plasma, sang total par ponction veineuse et sang total prélevé sur le bout du doigt) ont été testées.

Tableau III : Sensibilité à l’AgHBs dans des échantillons appariés de sang total (prélevés par ponction veineuse et au bout du doigt), de sérum et de plasma

Popula- tion	Nombre d'échantillons appariés testés		Type d'échantillons et nb d'échantil- lons réactifs ou non réactifs avec le test Determine™ HBsAg 2			
			Sérum	Plasma	Sang total, pré- levé par ponction veineuse	Sang total, pré- levé sur le bout du doigt**
AgHBs positif	145	Réactif	142	143	141	141
		Non réactif	3	2	4	4
		Sensibi- lité (IC de 95 %)	97.9% (94.1- 99.6%)	98.6% (95.1- 99.8%)	97.2%*** (93.1- 99.2%)	97.2%*** (93.1- 99.2%)
AgHBs négatif	203	Réactif	1	0	0 <3**>	0 <3**>
		Non réactif	202	202*	203 <200**>	203 <200**>
		Spécifi- cité (IC de 95 %)	99.5% (97.3- 100%)	100% (98.2- 100%)	100% <98.5%**> (98.2- 100%)	100% <98.5%**> (98.2- 100%)

* Aucun résultat avec un échantillon de plasma n’a été obtenu chez 1 volontaire.
** Les tubes capillaires avec EDTA ont été utilisés pour 225 échantillons. Les tubes MICROSAFE® ont été utilisés pour 123 échantillons.
Plusieurs échantillons prospectifs (appariés) de sang total, de sérum et de plasma de 348 personnes (145 positives pour l’AgHBs) dans des pays européens ont été testés avec Determine™ HBsAg 2 (Tableau III). Les résultats des échantillons de sang total initialement réactifs ont été interprétés d’après les résultats obtenus avec des échantillons de sérum ou de plasma. Les résultats des échantillons de sang total réellement négatifs mais initialement réactifs sont indiqués entre parenthèses <> dans le Tableau III.

Les résultats obtenus à partir de toutes les matrices d’échantillons ont montré une corrélation sauf pour les échantillons suivants. Un échantillon positif (0,27 UI/ml) était réactif avec le plasma, mais non-réactif avec le sérum, le sang total prélevé par ponction veineuse et sur le bout du doigt. Un échantillon positif (0,14 UI/ml) était réactif avec le sérum et le plasma, mais non-réactif avec le sang total prélevé par ponction veineuse et sur le bout du doigt. Un échantillon négatif était non-réactif avec le plasma, le sang total prélevé par ponction veineuse et sur le bout du doigt, mais réactif avec le sérum. Trois échantillons négatifs de sang total prélevés par ponction veineuse étaient réactifs. Trois échantillons négatifs prélevés sur le bout du doigt étaient réactifs. Tous les échantillons de sang total réellement négatifs mais réactifs ont été interprétés d’après les résultats obtenus avec les échantillons de sérum ou de plasma ; tous étaient non-réactifs avec le sérum et le plasma ; l’évaluation finale indique que les échantillons étaient non-réactifs. Deux échantillons séropositifs (0,08 UI/ml et 0,14 UI/ml) étaient non-réactifs avec toutes les matrices d’échantillons à 15 minutes. À 30 minutes, les résultats pour le sérum et le plasma étaient réactifs.

*** En utilisant la valeur seuil de 0,13 UI/mL, la sensibilité à 15 et à 30 minutes pour les échantillons de sang total, prélevés au bout du doigt ou en veineux, était de 97,9 %.

Ligne consacrée aux conseils (Voir dernière page)

BIBLIOGRAPHIE (Voir dernière page)

Le processus de fabrication donne des numéros de lot différents pour le kit et les cartes de test ; ces numéros de lot sont traçables.

Antes da utilização, leia cuidadosamente estas instruções de utilização. Todos os procedimentos devem ser rigorosamente cumpridos. A fiabilidade dos resultados do ensaio não pode ser garantida se as instruções não forem seguidas à risca.

NOME E UTILIZAÇÃO PREVISTA

Determine HBsAg 2 é um imunoensaio qualitativo in vitro, de leitura visual, para a detecção do antígeno de superfície da hepatite B (HBsAg) em sangue total capilar e venoso, plasma ou soro humano. O teste destina-se a ser utilizado como auxiliar no diagnóstico de infecção por VHB através da detecção de HBsAg em indivíduos infectados. O teste não se destina ao rastreio de dadores de sangue. O teste é exclusivamente para uso profissional.

RESUMO E EXPLICAÇÃO DO TESTE

O vírus da hepatite B (VHB) é um vírus ADN transmitido de forma percutânea, sexual ou perinatal. Por todo o mundo, é causador de morte por cirrose, insuficiência hepática e carcinoma hepatocelular¹. A seropositividade ao HBsAg é o primeiro marcador serológico a aparecer em caso de infeção aguda pelo VHB².

PRINCÍPIOS BIOLÓGICOS DO PROCEDIMENTO

Determine™ HBsAg 2 é um teste imunológico cromatográfico para a detecção qualitativa do antígeno de superfície da hepatite B (HBsAg). É adicionada uma amostra à almofada absorvente. A amostra mistura-se com anticorpos anti-HBsAg monoclonais murinos biotinilados e partículas pretas revestidas com anticorpos anti-HBsAg monoclonais murinos. Esta mistura migra através da fase sólida para a avidina imobilizada na barra do paciente.

Se estiver presente HBsAg na amostra, o antígeno liga-se aos anticorpos anti-HBsAg monoclonais murinos biotinilados e às partículas pretas revestidas com anticorpos anti-HBsAg monoclonais murinos. Este complexo liga-se à avidina imobilizada, formando uma barra preta na tira do teste. Se não houver presença de HBsAg, as partículas negras fluem através da barra do paciente e não se forma uma barra preta na tira do teste.

Para assegurar a validade do ensaio, encontra-se integrada uma barra de controlo dos procedimentos no dispositivo de ensaio na tira do teste. Será apresentada a barra de controlo vermelha.

CONTEÚDO

- Determine HBsAg 2 20 Test (7D2942): 2 cartões (10 testes/cartão)
- Determine HBsAg 2 100 Test (7D2943): 10 cartões (10 testes/cartão)
- Determine HBsAg 2 SET (7D2943SET) 100 Test para testar amostras de sangue total
 - 10 cartões de Determine™ HBsAg 2 (7D2943) (10 testes/cartão)
 - Solução tampão (7D2243), 1 frasco de 2,5 ml
 - Tubos capilares de EDTA (7D2222), 1 embalagem para 100 testes
 - Lanceta para sangue (esterilizada) (7D2233), 1 caixa para 100 testes

ACESSÓRIOS (obrigatórios)

Para testar amostras de sangue total

Tampão de detecção (7D2243) 1 frasco (2,5 mL) com um agente conservante e antimicrobiano e uma solução salina em tampão fosfato.

Para testar amostras de sangue total (teste por picada no dedo)

Lanceta esterilizada de utilização única

Tubos capilares EDTA (7D2222)

Materiais necessários, mas não fornecidos

- Luvas descartáveis
- Cronómetro
- Micropipeta capaz de administrar 50 µL (não necessária no método de picada no dedo)
- Cotonete embebida em álcool, gaze

ADVERTÊNCIAS E PRECAUÇÕES

Armazene em cartões de teste In Vitro.

Utilize o frasco de tampão de detecção com cuidado para evitar a contaminação do bocal. Não toque com o bocal na amostra ou na almofada absorvente.

Folha de dados de segurança disponível a pedido para utilizadores profissionais.

ATENÇÃO:

Ao manusear amostras e reagentes, recorra a práticas de biossegurança apropriadas^{4,5}. Estas precauções são as seguintes, entre outras:

- Usar luvas.
- Não pipetar com a boca.
- Não comer, beber, fumar, aplicar cosméticos ou manusear lentes de contacto em áreas onde estes materiais sejam manuseados.
- Limpar e desinfetar todos os derrames de amostras ou reagentes utilizando desinfetante adequado, como hipoclorito de sódio a 0,5%^{3,4}.
- Descontaminar e eliminar todas as amostras, tiras de teste usadas e outros materiais potencialmente contaminados de acordo com os regulamentos locais^{3,4}.

ARMAZENAMENTO

Armazene os cartões de teste e o tampão de detecção do Determine™ HBsAg 2 a 2–30 °C até à expiração da data de validade. Depois de abrir a solução tampão, volte a tapar e armazene a 2–30 °C para evitar a evaporação ou derrame.

- Os componentes do kit permanecem estáveis até à expiração da data de validade, desde que manuseados e armazenados de acordo com as instruções. Não utilize os componentes do kit após a expiração da data de validade.
- Volte a fechar imediatamente todos os testes que não tiverem sido utilizados na bolsa de película de alumínio que contém o dessecante, pressionando o selo de uma extremidade à outra para fechar.
- Não utilize dispositivos húmidos ou embalagens danificadas.

COLHEITA DE AMOSTRAS

NOTA:

Colheita de soro, plasma e sangue total por venopunção

Utilize tubos de colheita EDTA para amostras de plasma e sangue total.

- Colha sangue total de origem humana por venopunção asséptica.
- Para obter o soro, separe-o do coágulo. Para obter o plasma, separe-o dos glóbulos vermelhos. Separe as amostras assim que possível para evitar hemólise.

Colheita de sangue total por picada no dedo⁴ (consulte a Fig. 1)

Utilize tubos capilares EDTA (7D2222)

ATENÇÃO: Os capilares de vidro podem ficar danificados durante o transporte ou a utilização. Manuseie os capilares com cuidado para evitar danos ao removê-los da embalagem e durante a sua utilização e eliminação.

TUBOS CAPILARES EDTA

Antes de colher uma amostra por picada no dedo, coloque um tubo capilar numa superfície limpa e seca.

1. Escolha a ponta do dedo médio, anelar ou indicador (o que apresentar menos calosidade). Aqueça a mão conforme necessário,

- utilizando uma toalha aquecida e húmida ou água morna, para aumentar o fluxo de sangue.
2. Limpe a ponta do dedo com álcool; deixe secar ao ar.
3. Posicione a mão de forma a ficar com a palma virada para cima. Coloque a lanceta descentrada sobre a ponta do dedo. Pressione firmemente a lanceta contra o dedo e puncione a pele. Elimine a lanceta num recipiente apropriado para materiais cortantes e perfurantes de risco biológico.
4. Limpe a primeira gota de sangue com uma compressa esterilizada.
5. Segure o dedo de modo a ficar num nível inferior ao do cotovelo e aplique uma pressão suave e intermitente na base do dedo puncionado, várias vezes.
6. Encoste a extremidade do tubo capilar EDTA à gota de sangue. Evite a entrada de bolhas de ar. Encha o tubo com sangue total até à zona compreendida entre as duas linhas marcadas (50 µL).



ARMAZENAMENTO DAS AMOSTRAS

- Armazene as amostras de soro e plasma entre 2–8 °C e realize o teste no prazo de 7 dias após a colheita. Caso a realização do teste seja adiada por mais de 7 dias, as amostras devem ser congeladas (-20 °C ou mais frio).
- Evite ciclos de congelamento/descongelamento repetidos.
- Se as amostras de soro ou plasma apresentarem partículas ou turbidez, centrifugue-as a 10 000 g durante 5 minutos à temperatura ambiente antes da amostragem. Retire cuidadosamente a amostra de teste de 50 µL do sobrenadante. Se se formar uma camada lipídica na superfície do líquido, certifique-se de que a amostra é retirada do líquido transparente que se encontra por baixo dessa camada.
- Armazene o sangue total colhido por venopunção entre 2–8 °C. Não congele amostras de sangue total. Realize o teste no prazo de 2 dias (48 horas) após a colheita. Misture bem as amostras ao inverter cuidadosamente o tubo imediatamente antes do teste.
- O sangue total colhido por picada no dedo deve ser analisado de imediato.

PROCEDIMENTO DE TESTE

1. Remova o número pretendido de tiras de teste do cartão de 10 testes dobrando e rasgando no local da perfuração.
 - Para preservar o número de lote apresentado no lado esquerdo do cartão de teste, remova as tiras de teste individuais começando pelo lado direito do cartão de teste. O número de lote e a data de validade não estão impressos nas tiras de teste individuais.
2. Coloque uma etiqueta ou escreva a identificação do paciente na área branca superior do dispositivo.
3. Retire a película protetora de alumínio de cada teste.
 - Após remover a película protetora de alumínio de cada tira de teste, inicie o ensaio no prazo de 2 horas.
4. No caso de amostras de soro ou de plasma:
 - a. Aplique 50 µL de amostra (pipeta de precisão) na almofada absorvente (marcada com o símbolo de seta).
 - b. Aguarde no mínimo 15 minutos (30 minutos no máximo) a partir do momento de adição da amostra e leia o resultado.

Para amostras de sangue total (venopunção):

- a. Aplique 50 µL de amostra (pipeta de precisão) no meio da almofada absorvente (marcada com o símbolo de seta).
- b. Aguarde um minuto para permitir que a amostra seja absorvida e, em seguida, aplique uma gota de tampão de detecção na almofada absorvente, segurando no frasco verticalmente.
- c. Aguarde no mínimo 15 minutos (30 minutos no máximo) a partir do momento de adição da amostra e leia o resultado.

No caso das amostras de sangue total (picada no dedo) utilizando tubos capilares EDTA:

- a. Coloque o tubo capilar contendo a amostra de sangue no meio da almofada absorvente (marcada com o símbolo de seta) na posição vertical.
- b. Aguarde até que todo o sangue seja transferido do tubo capilar para a almofada absorvente. Em seguida, aplique imediatamente uma gota de tampão de detecção na almofada absorvente, segurando no frasco verticalmente.

Atenção: Não levante o capilar da almofada absorvente antes de o sangue ter sido todo transferido — pode formar-se uma bolha que irá impedir a transferência total da amostra e invalidar o teste. A transferência total da amostra pode demorar mais de um minuto.
- c. Elimine o tubo capilar usado como material de risco biológico de acordo com os requisitos locais.
- d. Aguarde no mínimo 15 minutos (30 minutos no máximo) a partir do momento de adição da amostra e leia o resultado.

NOTA:

- A execução do teste a altas temperaturas com pouca humidade poderá afetar o aspeto da barra do doente. Se a tira de teste estiver parcialmente seca e for difícil ler o resultado após 15 a 30 minutos, o teste deverá ser repetido com uma nova tira de teste e o resultado lido após 15 minutos. Quando a tira de teste está parcialmente seca, surge como uma mancha branca com uma área acinzentada misturada. A 40 °C/40% de HR ou em condições de pouca humidade, a tira de teste seca após 30 minutos.
- Se a amostra de soro ou plasma não fluir ou apresentar um fluxo anormal, como parar no meio da janela, centrifugue-a e repita o teste com uma nova tira de teste.

CONTROLO DE QUALIDADE

Para assegurar a validade do ensaio, encontra-se integrado um sistema de controlo dos procedimentos no dispositivo. Será apresentada na janela uma barra de controlo vermelha. Se a barra de controlo não aparecer quando o ensaio chegar ao fim, o resultado do teste é inválido. Repita o teste utilizando uma nova tira de teste.

INTERPRETAÇÃO DE RESULTADOS (consulte as imagens)

NOTA:

- Interprete qualquer barra vermelha visível (mesmo muito ténue) na janela como um resultado válido.
- O resultado do teste é válido mesmo se a barra preta do paciente seja mais clara ou mais escura do que a barra de controlo vermelha. Qualquer barra preta do paciente, independentemente da tenuidade, é interpretada como reativa.
- O resultado do teste é válido mesmo que barra do paciente seja mais clara ou mais escura do que a barra de controlo. Qualquer barra, independentemente da tenuidade, é interpretada como reativa.
- Mesmo que a cor da barra de controlo seja vermelho-escuro, o resultado é válido.
- Um teste que forneça um fundo muito acentuado deve ser considerado inválido.
- Se ocorrer repetidamente um resultado inválido ou se precisar de recorrer à assistência técnica, contacte o seu distribuidor local ou a Linha de aconselhamento da Alere.
- Quando um resultado de sangue total por venopunção ou por picada no dedo for reativo com o Determine™ HBsAg 2, o resultado deve ser confirmado através de um teste com plasma ou soro no

Determine™ HBsAg 2, recomenda-se que o resultado seja acompanhado por um teste Determine HBsAg 2 no soro ou plasma ou por um teste de referência laboratorial.

Reativo (duas barras: barra vermelha e barra preta)
Duas barras: são apresentadas uma barra vermelha e uma barra preta na janela. A barra vermelha corresponde à barra de controlo e a barra preta corresponde à barra do paciente, respetivamente.

Não reativo (uma barra: barra vermelha)
É apresentada uma barra vermelha e nenhuma barra preta na janela.

INVÁLIDO (nenhuma barra ou uma barra: barra preta)
Se não houver nenhuma barra de controlo vermelha na janela e mesmo que apareça uma barra do paciente preta na janela, o resultado é inválido. Repita o teste utilizando uma nova tira de teste.

- LIMITAÇÕES DOS PROCEDIMENTOS**
- O ensaio Determine™ HBsAg 2 foi concebido para detetar o antígeno de superfície da hepatite B (HBsAg) em soro, plasma e sangue total de origem humana. Outros fluidos corporais ou amostras de "pool" poderão não produzir resultados exatos, não devendo, por isso, ser utilizados.
 - A intensidade da barra do paciente não está necessariamente relacionada com a concentração de antígeno na amostra.
 - Nenhum teste permite garantir de forma absoluta que uma amostra não contém níveis baixos de HBsAg, como aqueles presentes numa fase muito inicial da infeção.
 - Se o resultado for não reativo após 15 minutos e reativo após 30 minutos, o doente tem um nível de HBsAg muito baixo, inferior ao limite de deteção.
 - Um resultado não reativo em qualquer altura não exclui a possibilidade de exposição a, ou infeção pelo, vírus da hepatite B.
 - A utilização de anticoagulantes que não sejam EDTA em amostras de sangue total ou plasma não foi validada com o Determine™ HBsAg 2 e poderá gerar resultados incorretos.
 - Para efeitos de diagnóstico e para diferenciar infeções agudas de infeções crónicas pelo VHB, a deteção de HBsAg deve ser associada aos sintomas do paciente e a outros marcadores serológicos víricos da hepatite B e teste de ácidos nucleicos (NAT).
 - Um tratamento com biotina superior a 5 mg por dia pode levar à redução da intensidade da barra do paciente. Concentrações de biotina até 50 ng/mL em soro ou plasma não afetaram a sensibilidade.

CARACTERÍSTICAS DE DESEMPENHO
Sensibilidade
A sensibilidade foi avaliada ao testar amostras confirmadamente positivas quanto a HBsAg, painéis de seroconversão comerciais e painéis de genótipos e serotipos do VHB.

1. Amostras positivas para HBsAg
No total foram testadas 437 amostras confirmadamente positivas para HBsAg com o Determine™ HBsAg 2 e um teste rápido de HBsAg comercialmente disponível (Tabela I). Calcula-se que a sensibilidade (IC de 95%) do Determine™ HBsAg 2 nesta população de amostras seja de 98,4% (96,7–99,4%). As amostras negativas foram de 0,06, 0,06, 0,09, 0,10, 0,13, 0,33 e 1,29 IU/mL num kit de teste quantitativo de HBsAg.

Tabela I: Amostras positivas quanto a HBsAg			
Tipos	Número de amostras testadas	Reativas no Determine™ HBsAg 2	Reativas no teste rápido de HBsAg alternativo
Amostras positivas quanto a HBsAg	369	362	294
Amostras determinadas de genótipos do VHB*	51	51	43
Amostras determinadas de serotipos do HBsAg**	17	17	17
Sensibilidade em plasma (IC 95%)	369	98,6% (364/369) (96,9-99,6%)	81,3% (300/369) (76,9-85,2%)
Sensibilidade em soro (IC 95%)	68	97,1% (66/68) (89,8-99,6%)	79,4%(54/68) (67,9-88,3%)
Sensibilidade total (IC 95%)	437	98,4% (430/437) (96,7-99,4%)	81,0% (354/437) (77,0-84,6%)

* Genótipos: A, B, C, D, E, F, G, H, A/E, A/F, D/E, D/F e D/G
** Serotipo: adw2, adr, ayw2, ayw3 e ayw4, incluindo 15 amostras do painel de genótipos do vírus da hepatite B n.º 6100/09 PEI

2. Painéis de seroconversão do VHB
A sensibilidade do Determine™ HBsAg 2 foi avaliada utilizando 32 conjuntos de painéis de seroconversão; cada um com membros do painel de seroconversão precoce. Os resultados foram comparados com os resultados de um kit de teste imunológico cromatográfico rápido de HBsAg e um kit de teste quantitativo de HBsAg (imunoensaio quimioluminescente de micropartículas [CMIA]) comercialmente disponíveis. Em todos os conjuntos, o Determine™ HBsAg 2 detetou o HBsAg antes de um kit de teste imunológico cromatográfico rápido. Em 4 dos 32 conjuntos, o Determine™ HBsAg 2 detetou o HBsAg antes do kit CMIA. Com o Determine™ HBsAg, foi detetada por 1 colheita posterior em 4 de 32 conjuntos em comparação com o kit CMIA. A data do primeiro resultado reativo com posteriores resultados continuamente reativos foi comparada com a data do primeiro resultado reativo com o Determine™ HBsAg 2.

3. Sensibilidade analítica do HBsAg
A sensibilidade analítica do Determine™ HBsAg 2 foi avaliada ao testar a norma internacional da OMS para HBsAg (código 12/226 do NIBSC). Os resultados demonstraram que o teste poderia detetar uma concentração de HBsAg de 0,1 IU/mL.

4. Deteção de mutações do HBsAg
A suscetibilidade a mutações do HBsAg foi avaliada com o Determine™ HBsAg 2. Foi testado um painel composto por 14 painéis de mutações recombinantes diferentes do HBsAg. O painel era composto pelas seguintes mutações: P120Q, T123A, T126N, T126S, Q129R, Q129H, Q129L, M133H, M133L, K141E, P142S, T143K, D144A e G145R. O Determine™ HBsAg 2 detetou as 14 amostras.

Especificidade
Foi analisado um total de 1650 amostras de soro ou plasma confir-

madamente negativas com o Determine™ HBsAg 2 e a especificidade (IC de 95%) foi determinada (Tabela II). A especificidade foi de 99,6% (99,1–99,8%).

Tabela II: Amostras negativas quanto a HBsAg			
População	Número de amostras testadas	Determine™ HBsAg 2	Teste rápido de HBsAg
		Não reativo	Não reativo
Amostras sero-negativas*	1027	1027	1027
Amostras clínicas	213	209	210
Mulheres grávidas	206	205	205
Estados patológicos diferentes do VHB e substâncias potencialmente interferentes**	204	202	202
Especificidade em plasma (IC 95%)	530	100% (530/530) (99,3-100%)	100%(530/530) (99,3-100%)
Especificidade em soro (IC 95%)	1120	99,4% (1113/1120) (98,7-99,8%)	99,5% (1114/1120) (98,8-99,8%)
Especificidade total (IC 95%)	1650	99,6% (1643/1650) (99,1-99,8%)	99,6% (1644/1650) (99,2-99,9%)

* Incluindo amostras colhidas nos EUA (1240) e em África (20)
** Fator reumatoide (15/15), anticorpo antinuclear (10/10), lúpus eritematoso sistémico (10/10), colesterol elevado (9/9), proteína total elevada (3/3), IgM elevada (10/10), IgG elevada (4/4), IgG anti-humana de rato (15/15), outras infeções (vírus da hepatite A (6/6), vírus da hepatite C (15/15), HTLV I (9/9), citomegalovírus (10/10), IgG de Toxoplasma (10/10), sífilis (8/8), vírus Herpes simplex 1/2 (10/10) e vírus Epstein-Barr (9/10)), pacientes vacinados contra a gripe (10/10), doença hepática não viral e amostras de pacientes em diálise (19/20)

Tipo de amostra
Foram testadas todas as matrizes de amostras (soro, plasma, sangue total por venopunção e sangue total por picada no dedo).

Tabela III:
Sensibilidade do HBsAg em amostras de sangue total (venopunção e picada no dedo), soro e plasma emparelhadas

Popula-ção	N.º de amostras emparelhadas testadas	Tipo de amostras e n.º de resultados reativos ou não reativos no Determine™ HBsAg 2			
		Soro	Plasma	Sangue total por venopunção	Sangue total por picada no dedo **
HBsAg positivo	145	Reactivo	142	143	141
		Não reativo	3	2	4
		Sensibilidade	97.9% (94.1-99.6%)	98.6% (95.1-99.8%)	97.2%*** (93.1-99.2%)
HBsAg negativo	203	Reactivo	1	0	0 <3**>
		Não reativo	202	202*	203 <200**>
		Especificidade	99.5% (97.3-100%)	100% (98.2-100%)	100% <98.5%**> (98.2-100%)

* Não houve qualquer resultado de plasma para 1 objeto de estudo.
** Os tubos capilares EDTA foram utilizados para 225 espécimes. Os tubos MICROSAFE® foram utilizados para 123 espécimes.
Foram testadas potenciais amostras múltiplas (emparelhadas) de sangue total, soro e plasma de 348 indivíduos (145 positivas para HBsAg), em países europeus, com o Determine™ HBsAg 2 (Tabela III). Os resultados de sangue total inicialmente reativos foram decididos utilizando os resultados de soro ou plasma. Os resultados de sangue total verdadeiros negativos, mas inicialmente reativos, encontram-se entre parêntesis < > na Tabela III.
Os resultados obtidos com todas as matrizes de amostras apresentaram uma correlação, exceto nos seguintes casos. Uma amostra positiva (0,27 IU/mL) foi reativa com plasma, mas não reativa com soro, sangue total por venopunção e por picada no dedo.
Uma amostra positiva (0,14 IU/mL) foi reativa com soro e plasma, mas não reativa com sangue total por venopunção e por picada no dedo. Uma amostra negativa foi não reativa com plasma, sangue total por venopunção e por picada no dedo, mas foi reativa com soro. Três amostras negativas de sangue total por venopunção foram reativas. Três amostras negativas por picada no dedo foram reativas. Todas as amostras de sangue total verdadeiras negativas, mas reativas, foram decididos utilizando os resultados de soro ou plasma; todas foram não reativas com o teste com soro e plasma; a avaliação final confirma que as amostras são não reativas.
Duas amostras seropositivas (0,08 IU/mL e 0,14 IU/mL) foram não reativas com todas as matrizes de amostras ao fim de 15 minutos. Ao fim de 30 minutos, os resultados de soro e plasma foram reativos.
***Quando se utilizou o corte de 0,13 UI/ml, a sensibilidade aos 15 e aos 30 minutos para amostras de sangue total colhidas por picada no dedo e venoso foi de 97,9%.

Linha de aconselhamento (Consultar a última página)
BIBLIOGRAFIA (Consultar a última página)
O processo de fabrico produz números de lote diferentes para o kit e os cartões de teste; estes números de lote são rastreáveis.

1. Yun-Fan Liaw, Chia-Ming Chu (2009) Hepatitis B virus infection. Lancet 373:582-592
2. Jules L. Dienstag (2008) Hepatitis B Virus Infection. The New England Journal of Medicine 259:1486-1500
3. Clinical and Laboratory Standards Institute. Procedures and Devices for the Collection of Diagnostic Capillary Blood Specimens; Approved Standard-6th GP42-A6 September 2008
4. Clinical and Laboratory Standards Institute, Clinical Laboratory Waste Management: Approved Guideline-Third Edition, GP05-A3. January 2011
5. EPA Guide for Infections Waste Management: Publication No. EPA/530-SW-86-014. Washington, DC: US Environmental Protection Agency, 1986:1-1-5, R1-R3, A1-A24.

Advice Line

For further information, please contact your distributor, or call to one of the following Product Support Care Centers:

Region	Phone	E-Mail Address
Europe & Middle East	+ 44 (0) 161 483 9032	EMEproductsupport@abbott.com
Asia Pacific	+ (61) 7 3363 7711	APproductsupport@abbott.com
Africa, Russia & CIS	+ (972) 8 9429 683	ARCISproductsupport@abbott.com
Latin America	+ (57) 2 661 8797	LAprодуктsupport@abbott.com

Línea de consulta

Para mayor información, por favor contacte a su distribuidor, o llame a uno de los siguientes Centros de Soporte al Producto:

Región	Teléfono	Dirección de correo electrónico
Europa & Medio Oriente	+ 44 (0) 161 483 9032	EMEproductsupport@abbott.com
Asia Pacífica	+ (61) 7 3363 7711	APproductsupport@abbott.com
Africa, Rusia, & CEI	+ (972) 8 9429 683	ARCISproductsupport@abbott.com
América Latina	+ (57) 2 661 8797	LAprодуктsupport@abbott.com

Ligne consacrée aux conseils

Pour de plus amples renseignements, s’il vous plaît contactez votre distributeur ou appelez l’un des centres de produits de support:

Region	Phone	E-Mail Address
Europe et Moyen-Orient	+ 44 (0) 161 483 9032	EMEproductsupport@abbott.com
Asie Pacifique	+ (61) 7 3363 7711	APproductsupport@abbott.com
Afrique, Russie & CEI	+ (972) 8 9429 683	ARCISproductsupport@abbott.com
Amerique Latine	+ (57) 2 661 8797	LAprодуктsupport@abbott.com

Linha de Aconselhamento

Para mais informações, por favor contacte o seu distribuidor, ou ligue para um dos seguintes Centros de Suporte ao Produto:

Região	Telefone	Direção do e-mail
Europa e Oriente Médio	+ 44 (0) 161 483 9032	EMEproductsupport@abbott.com
Ásia-Pacífico	+ (61) 7 3363 7711	APproductsupport@abbott.com
África, Rússia e CEI	+ (972) 8 9429 683	ARCISproductsupport@abbott.com
América Latina	+ (57) 2 661 8797	LAprодуктsupport@abbott.com

