



Abbott

September 2019  
241658/R3

REF 7D2946/7D2947

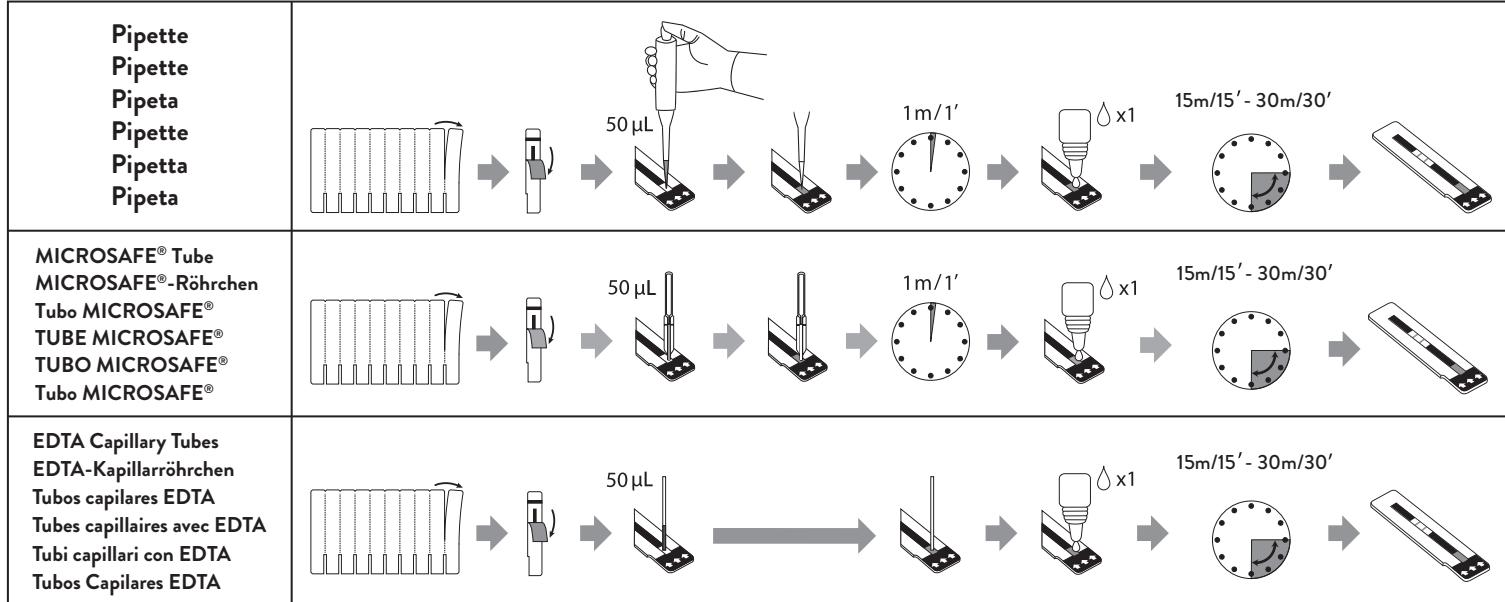
# DETERMINE™

## HBsAg 2

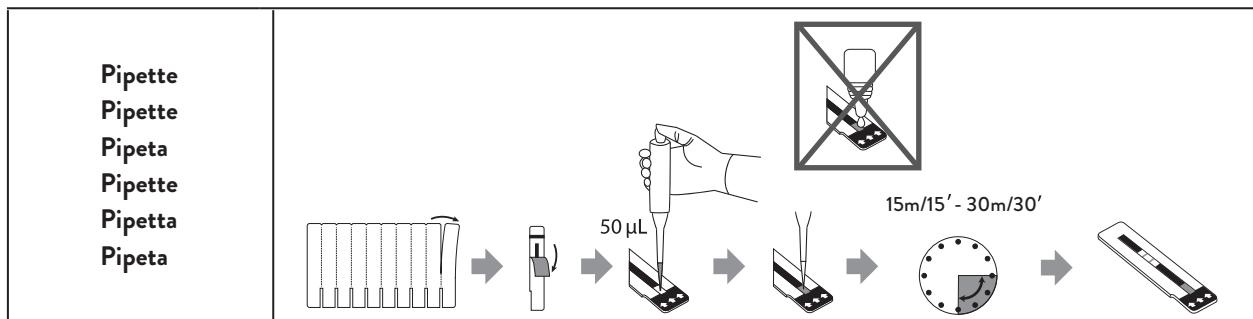
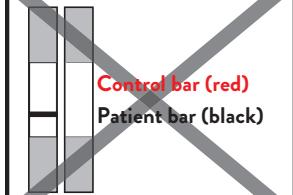
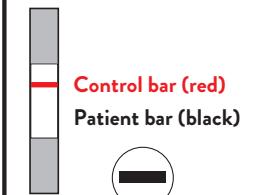
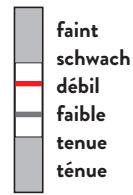
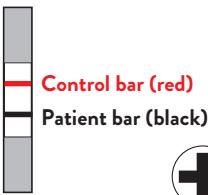
Read Thin Underlined Changes

Key to symbols used/ Legende der verwendeten Symbole/ Clave de los símbolos utilizados/ Légende des symboles utilisés/ Legenda dei simboli utilizzati/ Designação dos símbolos utilizados	
	Store at 2-30°C/ Bei 2-30°C lagern/ Guardar a temperaturas entre 2 y 30°C/ Conserver entre 2-30°C/ Conservare a 2-30°C/ Armazenar entre 2-30°C
	REF Catalogue Number / Katalognummer / Número de catálogo / Référence catalogue / Número di catalogo / Nº de Catálogo
	Do not reuse/ Nicht wiederverwenden/ No reutilizar/ Ne pas réutiliser/ Non riutilizzare/ Não reutilizar
	IVD In Vitro Diagnostic Medical Device / Medizinprodukt für die In Vitro-Diagnostik / Dispositivo de diagnóstico médico in vitro / Dispositif médical de diagnostic In Vitro / Dispositivo medico diagnostico in vitro / Dispositivo Médico para Diagnóstico In Vitro
	Keep away from sunlight/ Vor Sonnenlicht geschützt aufbewahren / No exponer a la luz solar / Conserver à l'abri de la lumière du soleil / Tenere lontano dalla luce solare / Manter afastado da luz solar
	Σ 20 Contains Sufficient for 20 tests / Enthält eine ausreichende Menge für 20 Tests / Contiene material suficiente para realizar 20 pruebas / Permet de réaliser 20 tests / Contiene il necessario per 20 test / Contém o suficiente para 20 testes
	Σ 100 Contains Sufficient for 100 tests / Enthält eine ausreichende Menge für 100 Tests / Contiene material suficiente para realizar 100 pruebas / Permet de réaliser 100 tests / Contiene il necessario per 100 test / Contém o suficiente para 100 testes
EDTA CAPILLARY TUBES	EDTA Capillary Tubes / EDTA-Kapillarröhrchen / Tubos capilares EDTA / Tubes capillaires avec EDTA / Tubi capillari con EDTA / Tubos Capilares EDTA
CHASE BUFFER	Chase Buffer / Laufpuffer / Buffer de detección / Tampon de migration / Tampone chase (tampone di spinta) / Tampão de detecção

### Whole Blood / Vollblut / Sangre Total / Sang Total / Sangue Intero / Sangue Total



### Serum, Plasma / Serum, Plasma / Suero, Plasma / Sérum, Plasma / Siero, Plasma / Soro, Plasma

Reactive/Reaktiv/Reactivo/  
Réactif/Reattivo/ReativoNon-Reactive/Nicht-reaktiv/  
No Reactivo/ Non Réactif  
Non Reattivo/Não ReativoInvalid/Ungültig/No válido/  
Non valide/Non valido/InválidoEC REP MDSS GmbH  
Schiffgraben 41, 30175  
Hannover, GermanyAbbott Diagnostics Medical Co., Ltd.  
357 Matsuhidai, Matsudo-shi, Chiba, 270-2214 Japan  
Tel +81 47 311 5750

## EN

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 to detect HBsAg from infected individuals. The test is for professional use only. Determine HBsAg 2 is not intended for use in screening blood, plasma, cell or tissue donors.

**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 carcinoma<sup>1</sup>. HBsAg seropositivity is the first serological marker to appear in acute HBV infection<sup>2</sup>.

**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 Test Cards: 2 or 10 cards (containing 10 tests/card), sufficient to perform 20 tests (7D2946) or 100 tests (7D2947)

**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)

Lancet

**EDTA CAPILLARY TUBES** (7D2227)

Microsafe® Tube (SAFE-TEC® Clinical Products, YY1050 (2000 tubes), YY1050100 (100 tubes))

**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<sup>4,5</sup>. 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<sup>3,4</sup>.
- Decontaminate and dispose of all specimens, used test strips, and other potentially contaminated materials in accordance with local regulations<sup>3,4</sup>.

**STORAGE**

Store Determine HBsAg 2 Test Cards and Chase Buffer at 2-30°C until expiration date.

- 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 Fingerstick<sup>6</sup> (See Fig.1)**

Use **EDTA CAPILLARY TUBES** (7D2227) or **Microsafe® Tube**

**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 calloused). 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).

\*If Microsafe® Tube is used, refer to Microsafe® Tube package insert for additional information.

**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. Remove the protective foil cover from each test.

- After removing the protective foil cover from each test strip, start the assay within 2 hours.

3. 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 and for whole blood (fingerstick) samples using a **Microsafe® Tube**:

- 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**

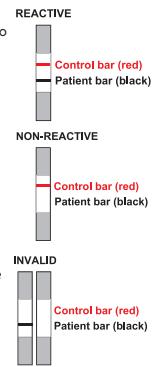
To ensure assay validity, a procedural control system is incorporated in the device. This red control bar will appear in the window. If the control bar does not appear by assay completion, the test result is invalid. Repeat the test using a new test strip.

**INTERPRETATION OF RESULTS (See pictures)****NOTE:**

- Interpret any visible bar (even very faint) in the window as a valid result.
- The test result is valid even if the patient bar appears lighter or darker than the control bar. Any 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.
- 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 serotype determined specimens**	17	17	17
Total	437	430	354
Sensitivity (95% CI)		98.4% (96.7-99.4%)	81.0% (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 microparticle 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.

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	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	
Disease states other than HBV and potentially interfering substances**	204	202		202	
Total	1650	1643		1644	
Specificity (95% CI)		99.6% (99.1-99.8%)		99.6% (99.2-99.9%)	

\* Including specimens collected in USA (1240) and Africa (20)

\*\* Rheumatoid factor, antinuclear antibody, systemic lupus erythematosus, high cholesterol, high total protein, high IgM, high IgG, human anti mouse IgG, other infections (Hepatitis A virus, Hepatitis C virus, HTLV 1, Cytomegalovirus, Toxoplasma IgG, Syphilis, Herpes simplex virus 1/2 and Epstein-Barr virus), Flu vaccinated patients, non-virus liver disease and dialysis patient specimens

**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**

Population	No. of matched specimens tested	Type of Specimens and No. of reactive or non-reactive by Determine HBsAg 2			
		Serum	Plasma	Whole blood venipuncture	Whole blood fingerstick**
HBsAg positive	145	Reactive	142	143	141
		Non-reactive	3	2	4
		Sensitivity	97.9%	98.6%	97.2%***
HBsAg negative	203	Reactive	1	0	0 (3)
		Non-reactive	202	202*	203
		Specificity	99.5%	100%	100% (98.5%)

\* There was no plasma result for 1 study subject.

\*\* EDTA capillary tubes were used for 225 specimens. MICROSATE® 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 serum and plasma but non-reactive with serum, 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 (0.0

## DE

Diese Gebrauchsanleitung muss vor der Benutzung sorgfältig gelesen werden. Alle Anweisungen sind genau zu befolgen. Die Verlässlichkeit der Testergebnisse ist nicht gewährleistet, wenn den Vorgaben dieser Gebrauchsanleitung zuwidergehandelt wird.

### NAME UND VERWENDUNGSZWECK

Determine™ HBsAg 2 ist ein visuell auszuwertender, qualitativer *In-vitro*-Immunoassay zum Nachweis von Hepatitis-B-Oberflächenantigenen (HBsAg) im menschlichen Kapillarblut, venösen Vollblut, Plasma oder Serum. Der Test ist dazu konzipiert, den Nachweis von HBsAg bei infizierten Personen zu unterstützen. Der Test ist nur für professionelle Anwender vorgesehen. Determine HBsAg 2 ist nicht zur Untersuchung von Blut-, Plasma-, Zell- oder Gewebespulern vorgesehen.

### TESTSAMMENFASSUNG UND -ERLÄUTERUNG

Das Hepatitis-B-Virus (HBV) ist ein DNA-Virus, das perkutan, sexuell und perinatal übertragbar ist. Es verursacht weltweit Todesfälle durch Zirrhose, Lebersversagen und Leberzellkrebs.<sup>1</sup> Die HBsAg-Seropositivität ist der erste serologische Marker bei einer akuten HBV-Infektion.<sup>2</sup>

### BIOLOGISCHE VERFAHRENSPRINZIPIEN

Determine HBsAg 2 ist ein immunochromatografischer Test zum qualitativen Nachweis von Hepatitis-B-Oberflächenantigenen (HBsAg).

Eine Probe wird auf das Probenfeld aufgetragen. Die Probe mischt sich mit biotinylierten monoklonalen Maus-Anti-HBsAg-Antikörpern und mit schwarzen Partikeln, die mit monoklonalen Maus-Anti-HBsAg-Antikörpern beschichtet sind. Diese Mischung wandert entlang der festen Phase zum immobilisierten Avidin in der Patientenlinie. Ist HBsAg in der Probe vorhanden, bindet sich das Antigen an die biotinylierten monoklonalen Maus-Anti-HBsAg-Antikörper und an die schwarzen Partikel, die mit monoklonalen Maus-Anti-HBsAg-Antikörpern beschichtet sind. Dieser Komplex geht mit dem immobilisierten Avidin eine Bindung ein und erzeugt eine schwarze Linie im Teststreifen. Wenn die Probe kein HBsAg enthält, passieren schwarze Partikel die Patientenlinie und die Bildung einer schwarzen Linie auf dem Teststreifen bleibt aus.

Um die Gültigkeit des Tests sicherzustellen, enthält die Testvorrichtung auf dem Teststreifen eine Kontrolllinie. Es erscheint die rote Kontrolllinie.

### INHALT

Determine HBsAg 2 Testkarten: 2 oder 10 Karten (mit je 10 Tests/Karte), ausreichend für 20 Tests (7D2946) oder 100 Tests (7D2947)

### ZUBEHÖR (erforderlich)

#### Für den Test von Vollblutproben

**CHASE BUFFER** (7D2243) 1 Flasche (2,5 ml) mit phosphatgepuffertem Kochsalzlösung, Konservierungsmittel und antimikrobiellem Wirkstoff.

#### Für den Test von Vollblutproben (Finger-Stich-Methode)

Lanzette

#### EDTA CAPILLARY TUBES

(7D2227) Microsafe® Tube (SAFE-TEC® Clinical Products, YY1050 (2000 Röhrchen), YY1050100 (100 Röhrchen))

#### Erforderliche, jedoch nicht enthaltene Materialien

- Einweghandschuhe
- Zeitmesser
- Mikropipette, die für die Entnahme von 50 µL geeignet ist (nicht erforderlich bei Finger-Stich-Methode)
- Alkoholpuffer, Gazettupfer

### WARNHINWEISE UND VORSICHTSMASSNAHMEN

Zur diagnostischen *In-vitro*-Verwendung.

Die Laufpuffer-Flasche vorsichtig verwenden, um eine Kontamination der Tülle zu vermeiden. Die Tülle darf die Probe und das Probenfeld nicht berühren.

Das Sicherheitsdatenblatt ist für professionelle Anwender auf Anforderung erhältlich.

#### VORSICHT:

Bei der Handhabung von Proben und Reagenzien sind entsprechende Biosicherheitsverfahren zu beachten.<sup>4,5</sup> Diese Vorsichtsmaßnahmen umfassen unter anderem Folgendes:

- Schutzhandschuhe tragen.
- Nicht mit dem Mund pipettieren.
- In Bereichen, in denen mit diesen Materialien umgegangen wird, nicht essen, trinken, rauchen, sich nicht schminken und keine Kontaktlinsen einsetzen bzw. herausnehmen.
- Alle Proben- oder Reagenspritzer mit einem geeigneten Desinfektionsmittel, wie beispielsweise 0,5%igem Natriumhypochlorit, reinigen und desinfizieren.<sup>3,4</sup>
- Alle Proben, verwendeten Teststreifen und anderen potenziell kontaminierten Materialien gemäß den örtlichen Richtlinien dekontaminiieren und entsorgen.<sup>3,4</sup>

### LAGERUNG

Determine HBsAg 2-Testkarten und Laufpuffer sind bis zum Verfallsdatum bei 2–30 °C zu lagern.

- Die Bestandteile des Kits bleiben bis zum Verfallsdatum stabil, sofern sie gemäß den Anweisungen gehandhabt und gelagert werden. Die Kit-Bestandteile nach ihrem Verfallsdatum nicht mehr verwenden.
- Sofort alle nicht verwendeten Tests wieder in die Folientasche mit dem Trockenmittel zurückgeben und diese durch Drücken des Verschlusses von einem Ende zum anderen dicht verschließen.
- Keine Tests verwenden, die feucht geworden sind, oder bei denen die Verpackung beschädigt wurde.

### PROBENTENNAHME

#### Entnahme von Serum, Plasma und Vollblut durch Venenpunktion

Bei Vollblut- und Plasmaproben müssen EDTA-Probenentnahmeröhrchen verwendet werden.

- Menschliches Vollblut durch Venenpunktion unter aseptischen Bedingungen entnehmen.
- Serum vom Blutkuchen trennen. Plasma vom Blutzellkonzentrat trennen. Trennung der Proben so schnell wie möglich durchführen, um Hämolysen zu vermeiden.

#### Per Finger-Stich-Methode entnommenes Vollblut<sup>4</sup> (siehe Abb.1)

#### EDTA CAPILLARY TUBES

(7D2227) oder Microsafe® Tube verwenden

**VORSICHT:** Kapillarröhrchen aus Glas können während des Transports oder der Verwendung beschädigt werden. Um Verletzungen bei der Entnahme aus der Verpackung und während der Verwendung und Entsorgung zu vermeiden, bitte mit Vorsicht behandeln.

#### EDTA-KAPILLARRÖHRCHEN

Vor der Entnahme einer Probe aus der Fingerbeere ein Kapillarröhrchen auf eine saubere, trockene Oberfläche legen.

- Die Fingerbeere des Mittel-, Ring- oder Zeigefingers wählen (des Fingers, der am wenigsten Hornhaut aufweist). Die Hand gegebenenfalls mit einem warmen, feuchten Tuch oder warmem Wasser erwärmen, um die Durchblutung zu steigern.

- Die Fingerbeere mit Alkohol reinigen; an der Luft trocknen lassen.

- Die Hand mit der Handfläche nach oben positionieren. Die Lanzette nicht mittig auf die Fingerbeere aufsetzen. Die Lanzelette fest gegen den Finger drücken und die Haut punktieren. Die Lanzelette in einem für scharfe, biogefährliche Artikel geeigneten Behälter entsorgen.

- Den ersten Tropfen Blut mit einem sterilen Gazettupfer abwischen.

- Den Finger niedriger als den Ellenbogen halten und mehrmals vorsichtigen, intermittierenden Druck auf den Fingeransatz des punktierten Fingers ausüben.

- Die Spitze des EDTA-Kapillarröhrchens in den Blut tropfen tauchen. Luftblasen vermeiden. Das Röhrchen bis zu einer Höhe zwischen den beiden markierten Linien (50 µL) mit Vollblut befüllen.

\* Falls ein Microsafe® Tube verwendet wird, sind weitere Informationen der Packungsbeilage des Microsafe® Tube zu entnehmen.

### LAGERUNG DER PROBEN

- Serum- und Plasmaproben bei 2–8 °C lagern und den Test innerhalb von 7 Tagen nach der Probennahme durchführen. Soll der Test später als nach 7 Tagen durchgeführt werden, sollten die Proben eingefroren werden (bei mindestens -20 °C).

- Wiederholtes Einfreren/Auftauen vermeiden.

- Serum- oder Plasmaproben, die Partikel oder eine Trübung aufweisen, vor dem Test für 5 Minuten bei Raumtemperatur mit 10.000 g zentrifugieren. Die 50 µL-Testprobe vorsichtig aus dem Überstand entnehmen. Wenn sich eine Lipidschicht auf der Oberfläche der Flüssigkeit gebildet hat, sicherstellen, dass die Probe aus der klaren Flüssigkeit unterhalb dieser Schicht entnommen wird.

- Durch Venenpunktion entnommenes Vollblut bei 2–8 °C lagern. Vollblutproben nicht einfrieren. Den Test innerhalb von 2 Tagen (48 Stunden) nach der Probennahme durchführen. Die Probe durch ein vorsichtiges Umdrehen des Röhrchens direkt vor dem Test gut durchmischen.

- Per Finger-Stich-Methode entnommenes Vollblut sofort testen.

### TESTVERFAHREN

Der Test sollte bei 18 bis 40 °C durchgeführt werden.

- Die gewünschte Anzahl an Teststreifen durch Abknicken und Abreißen an der Perforierung von der 10er-Testkarte entnehmen.

- Damit die Chargennummer auf der linken Seite der Testkarte erhalten bleibt, mit der Entnahme der einzelnen Teststreifen von der rechten Testkartenseite beginnen. Die Chargennummer und das Ablaufdatum sind nicht auf den einzelnen Teststreifen aufgedruckt.

- Die Schutzfolie von jedem Test entfernen.

- Nach dem Entfernen der Schutzfolie vom Teststreifen und innerhalb von 2 Stunden mit dem Test beginnen.

- Bei Serum- oder Plasmaproben:
  - (Mithilfe der Präzisionspipette) 50 µL Probe auf das Probenfeld (durch das Pfeilsymbol gekennzeichnet) auftragen.
  - Zwischen dem Auftragen der Probe und dem Ablesen des Ergebnisses mindestens 15 Minuten (bis maximal 30 Minuten) warten.

Bei venösen Vollblutproben und bei kapillären Vollblutproben aus der Fingerbeere und Verwendung von Microsafe® Tubes:

- (Mithilfe der Präzisionspipette) 50 µL Probe in die Mitte des Probenfelds (durch das Pfeilsymbol gekennzeichnet) auftragen.

- Eine Minute warten, damit die Probe resorbiert werden kann, dann einen Tropfen Laufpuffer auf das Probenfeld auftragen. Die Flasche dabei senkrecht halten.

- Zwischen dem Auftragen der Probe und dem Ablesen des Ergebnisses mindestens 15 Minuten (bis maximal 30 Minuten) warten.

Bei kapillarem Vollblut aus der Fingerbeere und Verwendung eines EDTA-Kapillarröhrchens:

- Das Kapillarröhrchen mit der Blutprobe senkrecht (vertikal) auf die Mitte des Probenfeldes aufsetzen. (durch das Pfeilsymbol gekennzeichnet)

- Warten, bis das gesamte Blut vom Kapillarröhrchen auf das Probenfeld übertragen wurde. Dann sofort einen Tropfen Laufpuffer auf das Probenfeld auftragen. Die Flasche dabei senkrecht halten.

**Vorsicht:** Das Kapillarröhrchen erst vom Probenfeld abheben, wenn das gesamte Blut übertragen wurde. Es kann sich ansonsten eine Luftblase bilden, die eine komplette Probenübertragung verhindert, wodurch der Test ungültig wird. Die vollständige Übertragung der Probe kann mehr als eine Minute dauern.

- Das gebrauchte EDTA-Kapillarröhrchen entsprechend den geltenden örtlichen Bestimmungen als biologische Gefahrenstoffe entsorgen.

- Zwischen dem Auftragen der Probe und dem Ablesen des Ergebnisses mindestens 15 Minuten (bis maximal 30 Minuten) warten.

**HINWEIS:**

- Wird der Test bei hohen Temperaturen/niedriger Luftfeuchtigkeit durchgeführt, kann dies das Erscheinen der Patientenlinie beeinflussen. Falls der Teststreifen teilweise getrocknet ist und es schwierig ist, das Ergebnis nach 15 bis 30 Minuten abzulesen, sollte der Test mit einem neuen Teststreifen wiederholt und das Ergebnis nach 15 Minuten abgelesen werden. Ist der Teststreifen teilweise getrocknet, sind darauf weiße Punkte und graue Bereiche zu erkennen. Bei 40°C/ 40% relative Luftfeuchtigkeit oder niedriger Luftfeuchtigkeit trocknet der Teststreifen innerhalb von 30 Minuten.
- Falls das Serum oder Plasma nicht fließt oder ungewöhnliche Fließeigenschaften zeigt (z. B. Anhalten in der Mitte des Fensters), die Probe zentrifugieren und den Test mit einem neuen Teststreifen wiederholen.

### QUALITÄTSKONTROLLE

Um die Gültigkeit des Tests sicherzustellen, umfasst die Testvorrichtung ein Testkontrollsystem. Die rote Kontrolllinie erscheint im Fenster. Wenn der Kontrollstreifen am Ende des Tests nicht angezeigt wird, ist das Testergebnis ungültig. Den Test mit einem neuen Teststreifen wiederholen.

### INTERPRETATION DER ERGEBNISSE (siehe Abbildungen)

#### HINWEIS:

- Jede sichtbare Linie im Kontrollfenster (auch wenn sie sehr schwach ist) ist als gütiges Ergebnis zu interpretieren.
- Das Testergebnis ist gültig, selbst wenn die Patientenlinie heller oder dunkler als die Kontrolllinie erscheint. Jede Linie, ganz gleich wie schwach, ist als reaktives Ergebnis zu interpretieren.
- Selbst wenn die Farbe der Kontrolllinie dunkelfarbt ist, gilt sie als gütiges Ergebnis.
- Tests, die einen sehr hohen Hintergrund aufweisen, sollten als ungültig angesehen werden.
- Wenn wiederholt ein ungültiges Ergebnis auftaucht oder Sie technische Hilfe benötigen, wenden Sie sich an Ihren lokalen Handler oder rufen Sie die Beratungsabteilung an.
- Wenn eine venöse Vollblutprobe oder eine kapilläre Vollblutprobe aus der Fingerbeere ein reaktives Ergebnis mit Determine HBsAg 2 aufweisen, wird empfohlen, das Ergebnis mit einer Plasma- oder Serumprobe über einen Determine HBsAg 2 Test oder einen Laborreferenztest zu bestätigen.

#### REAKTIV

Kontrolllinie (rot)  
Patientenlinie (schwarz)

#### NICHT-REAKTIV

Kontrolllinie (rot)  
Patientenlinie (schwarz)

#### UNGÜLTIG

Kontrolllinie (rot)  
Patientenlinie (schwarz)

#### UNGÜLTIG (keine Linie oder ein Linie: schwarze Linie)

Wenn im Fenster keine rote Kontrolllinie erscheint, ist das Ergebnis als ungültig anzusehen, auch dann, wenn eine schwarze Patientenlinie zu sehen ist. Den Test mit einem neuen Teststreifen wiederholen.

### VERFAHRENSBESCHRÄNKUNGEN

- Der Determine HBsAg 2-Test ist zum Nachweis von Hepatitis-B-Oberflächenantigenen (HBsAg) in menschlichem Serum, Plasma und Vollblut konzipiert. Andere Körperflüssigkeiten oder gepoolte Proben liefern möglicherweise keine präzisen Ergebnisse und sollten daher nicht verwendet werden.
- Die Intensität der Patientenlinie korreliert nicht notwendigerweise mit dem Antigenterm in der Probe.
- Kein Test liefert absolute Gewissheit, dass eine Probe nicht geringe Anteile an HBsAg enthält, wie dies beispielsweise in einem sehr frühen Stadium der Infektion der Fall ist.
- Falls nach 15 Minuten ein nichtreaktives Ergebnis und nach 30 Minuten ein reaktives Ergebnis vorliegt, weist der Patient einen sehr niedrigen HBsAg-Wert auf, der unter der Nachweisgrenze liegt.
- Ein nicht-reaktives Ergebnis zu einem beliebigen Zeitpunkt schließt die Möglichkeit einer Hepatitis-B-Virusexposition oder -infektion nicht aus.
- Die Verwendung von anderen gerinnungshemmenden Substanzen als EDTA für Vollblut- oder Plasmaproben wurde nicht in Verbindung mit Determine HBsAg 2 untersucht und kann zu fehlerhaften Ergebnissen führen.
- Für diagnostische Zwecke und zur Abgrenzung einer akuten HBV-Infektion gegenüber einer chronischen HBV-Infektion muss der Nachweis von HBsAg im Kontext mit den Patientensymptomen und anderen Serummarkern für HBV betrachtet werden.
- Eine Biotin-Behandlung mit mehr als 5 mg täglich kann die Intensität der Patientenlinie verringern. Biotinkonzentrationen bis zu 50 ng/mL in Serum oder Plasma wirken sich nicht auf die Sensitivität aus.

### LEISTUNGSMERkmale

#### Empfindlichkeit

Die Empfindlichkeit wurde mithilfe von bestätigten HBsAg-positiven Proben sowie mit handelsüblichen Serokonversionspanels, HBV-Genotyp- und Serotyppannels getestet.

#### 1. HBsAg-positive Proben

Insgesamt 437 bestätigte HBsAg-positive Proben wurden mit Determine HBsAg 2 und einem handelsüblichen HBsAg-Schnelltest (Tabelle I) getestet. Die Empfindlichkeit (95 % KI) von Determine HBsAg 2 wurde bei dieser Probenpopulation als 98,4 % (96,7–99,4 %) bestimmt. Die negativen Proben waren 0,06, 0,06, 0,09, 0,10, 0,13, 0,33 und 1,92 IE/mL laut dem quantitativen HBsAg-Testset.

Tabelle I: HBsAg-positive Proben

Arten	Anzahl der getesteten Proben	Reaktiv laut Determine HBsAg 2	Reaktiv laut alternativem HBsAg-Schnelltest
HBsAg-positive Proben	369	362	294
Nach HBV-Genotyp bestimmte Proben*	51	51	43
Nach HBsAg-Serotyp bestimmte Proben**	17	17	17
Gesamt	437	430	354
Empfindlichkeit (95 % KI)		98,4 % (96,7–99,4 %)	81,0 % (77,0–84,6 %)

\* Genotypen: A, B, C, D, E, F, G, H, A/E, A/F, D/E, D/F und D/G

\*\* Serotypen: adw2, adr, ayw2, ayw3 und ayw4 einschließlich 15 Proben des PEI-Hepatitis-B-Virusgenotypenpanel Nr. 6100/09

#### 2. HBV-Serokonversionspanels

Die Empfindlichkeit von Determine HBsAg 2 wurde mittels 32 Sets von Serokonversionspanels bestimmt; diese enthielten jeweils frische Serokonversionspanel-Mitglieder. Die Ergebnisse wurden mit den Ergebnissen eines handelsüblichen HBsAg-Schnelltests verglichen. Bei allen Sets konnte HBsAg mit dem Determine HBsAg 2 früher nachgewiesen werden als mit einem immunochromatografischen Schnelltest. Bei 4 von 32 Sets wurde HBsAg mit Determine HBsAg 2 früher nachgewiesen als mit einem CMIA-Kit. 4 von 32 Sets wurden mit Determine HBsAg 2 im Vergleich mit einem CMIA-Kit 1 Blutung später nachgewiesen.

Da Datum des ersten reaktiven Ergebnisses, auf das kontinuierlich reaktive Ergebnisse folgten, wurde mit dem Datum des ersten reaktiven Ergebnisses mit Determine HBsAg 2 verglichen.

#### 3. Analytische Sensitivität für HBsAg

Die analytische Sensitivität des Determine HBsAg 2 wurde mithilfe des WHO International Standard for HBsAg (NIBSC-Code 12/226) untersucht. Die Ergebnisse zeigten, dass der Test eine Konzentration von 0,1 IE/mL HBsAg detektieren kann.

#### 4. Nachweis von HBsAg-Mutationen

Die Sensitivität für HBsAg-Mutationen wurde mit Determine HBsAg 2 untersucht. Es wurde ein Panel aus 14 unterschiedlichen, rekombinanten HBsAg-Mutationen untersucht. Das Mutationspanel enthielt folgende Mutationen: P120Q, T123A, T126N, T12S, Q129R, Q129H, Q129L, M133H, M133L, K141E, P142S, T143K, D144A und G145R. Alle 14 Proben wurden mit Determine HBsAg 2 früher nachgewiesen als mit einem CMIA-Kit. 4 von 32 Sets wurden mit Determine HBsAg 2 im Vergleich mit einem CMIA-Kit 1 Blutung später nachgewiesen.

Da Datum des ersten reaktiven Ergebnisses, auf das kontinuierlich reaktive Ergebnisse folgten, wurde mit dem Datum des ersten reaktiven Ergebnisses mit Determine HBsAg 2 verglichen.

#### 5. Spezifität

Insgesamt wurden 1650 bestätigte negative Serum- oder Plasmaproben mit dem Determine HBsAg 2 getestet und die Spezifität (95 % KI) bestimmt (Tabelle II). Die Spezifität betrug 99,6 % (99,1–99,8 %).

Tabelle II: HBsAg-negative Proben

Population	Anzahl der getesteten Proben	Determine HBsAg 2			HBsAg-Schnelltest
Nicht-reaktiv	Nicht-reaktiv	Vollblut-Venenpunktion	Vollblut-Finger-Stich\*		





<tbl\_r cells="5" ix="5" maxcspan="1" maxrspan="1"

## ES

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 inmunonanálisis 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 indicada como una ayuda para detectar el HBsAg en individuos infectados. La prueba es solo para uso profesional. Determine HBsAg 2 no debe utilizarse para el cribado de donantes de sangre, plasma, células ni tejidos.

### RESUMEN Y EXPLICACIÓN DE LA PRUEBA

El virus de la hepatitis B (VHB) es un virus del ADN que se transmite por vía percutánea, sexual y perinatal. En todo el mundo, provoca muertes por cirrosis, insuficiencia hepática y carcinoma hepatocelular<sup>1</sup>. La seropositividad a HBsAg es el primer marcador serológico que se observa en casos de infección aguda de VHB<sup>2</sup>.

### 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 roja aparecerá.

### CONTENIDO

Tarjetas para pruebas de Determine HBsAg 2: 2 o 10 tarjetas (10 pruebas por cada tarjeta) suficientes para realizar 20 pruebas (7D2946) o 100 pruebas (7D2947).

### ACCESORIOS (necesarios)

Para realizar pruebas en muestras de sangre

**[CHASE BUFFER]** (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

**[EDTA CAPILLARY TUBES]** (7D2227)

Microsafe® Tube (productos clínicos SAFE-TEC®, YY1050 [2000 tubos], YY1050100 [100 tubos])

### Materiales necesarios pero no incluidos

- Guantes desechables
- Cronómetro
- Micropipeta capaz de administrar 50 µl (no es necesaria para el método de punción digital)
- Támpon 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<sup>4,5</sup>. Entre estas precauciones se incluyen entre otras:

- Lleve guantes.
- No pipeteé ningún material con la boca.
- No coma, beba ni fume, ni se aplique cosméticos ni manipule lentes 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%<sup>3,4</sup>.
- Descontamine y elimine todos los especímenes, tiras de prueba utilizadas y otros materiales posiblemente contaminados de conformidad con las normas locales<sup>3,4</sup>.

### ALMACENAMIENTO

Guarda 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.

- 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 digital<sup>4</sup> (véase fig. 1)

Utilice **[EDTA CAPILLARY TUBES]** (7D2227) o **Microsafe® Tube**

**PRECAUCIÓN:** Los capilares de vidrio pueden derrártase 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.

- Seleccione la punta del dedo medio, anular o índice (la que esté menos encallada). Cuando sea necesario, caliente la mano con una toalla húmeda y tibia o agua tibia para aumentar el flujo sanguíneo.
- Limpie la punta del dedo con alcohol y déjela secar al aire.
- 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.
- Seque la primera gota de sangre con una compresa de gasa estéril.
- Sujete el dedo a menor altura que el codo y aplique varias veces una presión suave e intermitente en la base del dedo pinchado.
- 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).

\* Si utiliza el Microsafe® Tube, consulte las instrucciones de uso correspondientes para obtener más información.

### 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 sobrante. 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, guardela 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, analícela inmediatamente.

### PROCEDIMIENTO DE LA PRUEBA

- 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.

- 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.

- En el caso de muestras de suero o plasma:
  - Aplique 50 µl de muestra (con pipeta de precisión) a la almohadilla para la muestra (marcada con el símbolo de flecha).
  - Espera 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) y muestras de sangre (punción digital) usando el Microsafe® Tube:

- Aplique 50 µl de muestra (con pipeta de precisión) en la mitad de la almohadilla para la muestra (marcada con el símbolo de flecha).
- Espera 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.
- Espera 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:

- 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.
- Espera 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.

- Deseche el tubo capilar usado como material de riesgo biológico de acuerdo con la normativa local.
- Espera 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 roja 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 visible en la ventana, incluso si apenas puede observarse.
- El resultado de la prueba es válido aunque la barra del paciente sea de un color más claro o más oscuro que la barra de control. Cualquier barra, sin importar su intensidad, se interpreta como reactiva.
- Incluso si el color de la barra de control es rojo oscuro, es válido.
- Una prueba que obtiene un fondo muy alto debe considerarse como no válida.
- 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.
- 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.



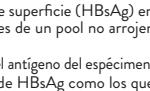
#### NO REACTIVO (una barra: barra roja)

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.
- 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 genotípico y el serotípico 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

Típico	Número de especímenes a prueba	Reactivos por Determine HBsAg 2	Reactivos por prueba HBsAg rápida alternativa
Especímenes positivos de HBsAg	369	362	294
Especímenes determinados con el genotípico de VHB*	51	51	43
Especímenes determinados con el serotípico de HBsAg <sup>**</sup>	17	17	17
Total	437	430	354
Sensibilidad (IC del 95 %)		98,4% (96,7-99,4 %)	81,0% (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: adr2, 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 químico lumínsciente de micropartículas [CMIA], con 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 retrajo 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, 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				Prueba HBsAg rápida
		No reactivo	Reactivo	No reactivo	Reactivo	No reactivo
Especímenes seronegativos*	1027	1027				
Especímenes clínicos	213	209	4			210
Mujeres embarazadas	206	205	1			205
Condiciones patológicas distintas al VHB y sustancias que pueden interferir**	204	202	2			202
Total	1650	1643	7			1644</td

# FR

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 prélevement capillaire ou veineux, plasma ou sérum humain. Ce test constitue une aide pour la détection de l'AgHBs chez les sujets infectés. Ce test est uniquement prévu pour un usage professionnel. Determine HBsAg 2 n'est pas conçu pour le dépistage dans les dosages de sang, de plasma, de cellules ou de tissus.

## 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 hépatocarcinulaire<sup>1</sup>. La séropositivité pour l'AgHBs constitue le premier marqueur sérologique à apparaître dans les infections aiguës par le VHB<sup>2</sup>.

## 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 biotinyrés 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 biotinyrés 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

Test Determine HBsAg 2 : 2 ou 10 cartes (10 tests par carte), permettant de réaliser 20 tests (7D2946) ou 100 tests (7D2947).

## ACCESOIRS (nécessaires)

### Pour tester les échantillons de sang total

**CHASE BUFFER** (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)

Lancettes

### EDTA CAPILLARY TUBES

(7D2227) Microsafe® Tube (SAFE-TEC® Clinical Products, YY1050 [2 000 tubes], YY1050100 [100 tubes])

## Matériel requis non fourni

- Gants jetables
- Chronomètre
- Micropipette capable de délivrer 50 µl (non nécessaire pour la méthode de prélevement 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<sup>4,5</sup>. Ces précautions comprennent, entre autres, les mesures suivantes :

- Porter des gants.
- Ne pas effectuer de pipétages 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%.<sup>3,4</sup>
- Décontaminer et éliminer tous les échantillons, réactifs et autres substances susceptibles d'avoir été contaminées conformément à la réglementation en vigueur.<sup>3,4</sup>

## CONSERVATION

Tous les tests Determine HBsAg 2 et le tampon de migration doivent être conservés entre 2 et 30 °C jusqu'à la date de péremption.

- 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.
- Replacer immédiatement les tests non utilisés dans la pochette contenant le dessicant 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.

## PRÉLEVEMENT 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 doigt<sup>4</sup> (voir Fig. 1)

Utiliser **[EDTA CAPILLARY TUBES]** (7D2227) ou **Microsafe® Tube**

**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). Chauder 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).

\* Si un Microsafe® Tube est utilisé, se reporter à la notice d'utilisation du Microsafe® Tube pour obtenir de plus amples informations.



## 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.

- 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) et Pour les échantillons de sang total (prélevé sur le bout du doigt) en utilisant un Microsafe® Tube:

- 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.

Per i campioni di sangue intero (prelevato dal polpastrello) usando i tubi capillari con 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.

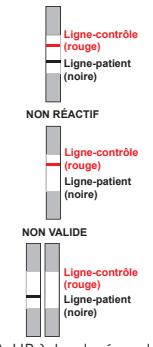
## CONTRÔLE DE QUALITÉ

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 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 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 est plus claire ou plus foncée que la ligne-contrôle. Toute ligne, 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 un résultat non valide venait à se répéter ou pour toute assistance technique, contacter votre fournisseur local ou la ligne consacrée aux conseils.
- 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, 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.



### 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.

### NON RÉACTIF

### NON VALIDE

### RÉACTIF

### RÉACTIF

- ## 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.
  - 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.

## CHARACTÉRISTIQUES 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 déchantillonnée 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 sérototype de l'AgHBs*	17	17	17
Total	437	430	354
Sensibilité (IC à 95 %)		98,4 %	81,0 % (96,7-84,6 %)

\* 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 panel PEI n° 6100/09 du virus de l'hépatite B.

### 2. Panels de séroconversion

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. Panels de séroconversion 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, 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. 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
		Sérum	Plasma	Sang total, prélevé par ponction veineuse
AgHBs positif	145	Réactif	142	143
		Non réactif	3	2
		Sensibilité	97,9%	98,6% 97,2%*** 97,2%***
AgHBs négatif	203	Réactif	1	0
		Non réactif	202	202* 203 203
		Spécificité	99,5%	100% (98,5%) 100

## IT

Leggere con attenzione le istruzioni per l'uso prima dell'utilizzo. Seguire le procedure. L'attendibilità dei risultati del test non può essere garantita se ci si discosta dalle istruzioni contenute nel presente IFU.

### NOME E DESTINAZIONE D'USO

Determine® HBsAg 2 è un test per il dosaggio immunologico qualitativo *in vitro*, a lettura visiva per la ricerca dell'antigene di superficie dell'epatite B (HBsAg) nel sangue intero, nel plasma o nel siero capillare e venoso umano. Il test è da intendersi come ausilio per rilevare l'antigene HBsAg in individui infetti. Il test è unicamente per uso professionale. Determine HBsAg 2 non è destinato allo screening di donatori di sangue, plasma, cellule o tessuti.

### RIEPILOGO E SPIEGAZIONE DEL TEST

Il virus dell'epatite B (HBV), è un virus del DNA trasmesso per via percutanea, sessuale e perinatale. Tale virus, provoca morti per cirrosi, insufficienza epatica e carcinoma epatocellulare in tutto il mondo<sup>1</sup>. La sieropositività a HBsAg è il primo marker sierologico ad apparire nell'infezione da HBV acuta<sup>2</sup>.

### PRINCIPI BIOLOGICI DELLA PROCEDURA

Determine HBsAg 2 è un test immunocromatografico per la ricerca qualitativa dell'antigene di superficie dell'epatite B (HBsAg).

Il campione viene aggiunto nell'area del campione. Il campione si mischia agli anticorpi monoclonali murini anti-HBsAg biotinilati e alle particelle nere rivestite con gli anticorpi monoclonali murini anti-HBsAg. Tale miscela migra lungo la fase solida fino all'avida immobilizzata, nella zona della banda del paziente.

Se HBsAg è presente nel campione, l'antigene si lega agli anticorpi monoclonali murini anti-HBsAg biotinilati e alle particelle nere rivestite con anticorpi monoclonali murini anti-HBsAg. Il complesso si lega all'avida immobilizzata formando una banda nera sulla striscia di test. Se l'HBsAg non è presente, le particelle nere scorrono oltre la barra del paziente e sulla striscia di test non si forma alcuna banda nera.

Al fine di garantire la validità dell'analisi, nel dispositivo è stata incorporata una banda di controllo procedurale sulla striscia di test. Comparirà una banda di controllo rossa.

### CONTENUTO

Dispositivi di test Determine HBsAg 2: 2 o 10 cartucce (contenenti 10 test/cartuccia), sufficienti per eseguire 20 test (7D2946) o 100 test (7D2947).

### ACCESSORI (necessari)

Per l'analisi di campioni di sangue intero

**CHASE BUFFER** (7D2243) 1 flacone (2,5 mL) contenente soluzione salina in tampone fosfato, conservante e agente antimicrobico.

Per l'analisi di campioni di sangue intero (prelievo dal polpastrello)

Lancetta

**EDTA CAPILLARY TUBES** (7D2227)

Microsafe® Tube (SAFE-TEC® Clinical Products, YY1050 (2000 tubi), YY1050100 (100 tubi))

Materiali richiesti ma non forniti

- Guanti monouso
- Dispositivo di cronometraggio
- Micropipetta da 50 µL (non necessaria per il metodo dal polpastrello)
- Tampone imbevuto di alcool, garza

### AVVERTENZE E PRECAUZIONI

Per uso diagnostico *in vitro*.

Usare con attenzione il flacone del tampone Chase per evitare di contaminare l'ugello. Non toccare l'ugello del campione o del settore del campione.

Scheda di sicurezza disponibile su richiesta per utenti professionali.

### ATTENZIONE:

Quando si manipolano campioni e reagenti, adottare le pratiche di sicurezza ambientale appropriate<sup>4,5</sup>. Queste precauzioni includono, ma non si limitano ai seguenti punti:

- Indossare guanti.
- Non pipettare con la bocca.
- Non mangiare, bere, fumare, o usare cosmetici e non maneggiare lenti a contatto nei luoghi in cui vengono maneggiati questi materiali.
- Pulire e disinsettare tutti gli schizzi di campioni o reagenti utilizzando un disinsettante idoneo, ad esempio l'ipoclorito di sodio allo 0,5%<sup>3,4</sup>.
- Decontaminare e smaltire tutti i campioni, le strisce di test usate e altri materiali potenzialmente contaminati conformemente ai regolamenti locali vigenti<sup>3,4</sup>.

### CONSERVAZIONE

Conservare i dispositivi del test Determine HBsAg 2 e il tampone Chase a una temperatura di 2-30 °C fino alla data di scadenza.

- Se usati e conservati come da istruzioni, i componenti del kit rimangono stabili fino alla data di scadenza. Non usare i componenti del kit oltre la data di scadenza.
- Richiudere immediatamente tutti i test non utilizzati nella confezione sigillata contenente l'agente essiccante premendo sulla guarnizione da parte a parte fino a chiuderla.
- Non utilizzare dispositivi bagnati o confezioni danneggiate.

### PRELIEVO DEL CAMPIONE

#### NOTA:

##### Campioni di siero, plasma e sangue intero da prelievo venoso

Usare le provette di raccolta EDTA per i campioni di sangue intero e di plasma.

- Raccogliere il sangue intero umano tramite prelievo venoso asettico.
- Per ottenere il siero, separarlo dal coagulo. Per ottenere il plasma, separarlo dall'ematoцитro. Separare i campioni il prima possibile per evitare fenomeni di emolisi.

##### Campioni di sangue intero dal polpastrello<sup>4</sup> (vedere Fig.1)

Utilizzare **EDTA CAPILLARY TUBES** (7D2227) o Microsafe® Tube

**ATTENZIONE:** I capillari in vetro si possono danneggiare durante il trasporto o durante l'uso. Maneggiarli con cura per evitare lesioni durante la rimozione dalla confezione, nonché durante l'utilizzo e lo smaltimento.

### TUBI CAPILLARI EDTA

Prima di procedere con il prelievo del campione dal polpastrello, appoggiare un tubo capillare su una superficie pulita e asciutta.

1. Scegliere la punta del dito medio, anulare o indice (quella meno callosa). Per stimolare la circolazione sanguigna, riscaldare all'occorrenza la mano con un asciugamano caldo e umido o con acqua calda.
2. Disinfettare la punta del dito con alcool; far asciugare all'aria.
3. Rivolgere il palmo della mano verso l'alto. Posizionare la lancetta sulla punta del dito (non al centro). Premere saldamente la lancetta contro il dito e pulire la pelle. Smaltire la lancetta in un apposito contenitore per strumenti appuntiti a rischio biologico.
4. Asciugare la prima goccia di sangue con una garza sterile.
5. Tenere il dito più basso rispetto al gomito ed esercitare ripetutamente una pressione delicata e intermittente alla base del dito punto.
6. Toccare la goccia di sangue con la punta del tubo capillare con EDTA. Evitare la formazione di bolle d'aria. Riempire di sangue intero il tubo fino al limite compreso tra le due linee marcate (50 µL).

\* Se viene utilizzato il tubo Microsafe®, consultare il relativo foglietto illustrativo per ulteriori informazioni.



### CONSERVAZIONE DEL CAMPIONE

- Conservare i campioni di siero e plasma a 2-8 °C ed eseguire il test entro 7 giorni dalla raccolta. Se il test viene eseguito dopo 7 giorni, congelare i campioni (-20 °C o a temperature inferiori).
- Evitare cicli ripetuti di congelamento/scongelamento.
- Se i campioni di siero o plasma presentano materiale particolato o torbidità, centrifugare a 10.000 g per 5 minuti a temperatura ambiente prima di campionare. Prelevare delicatamente 50 µL di campione dal supernatante. Se si forma uno strato lipidico sulla superficie del liquido, assicurarsi che il campione venga prelevato dal liquido limpido sotto lo strato.
- Conservare il sangue intero raccolto tramite venipuntura a 2-8°C. Non congelare i campioni di sangue intero. Eseguire il test entro 2 giorni (48 ore) dalla raccolta. Mescolare con cura il campione capovolgendo delicatamente il tubo appena prima di eseguire il test.
- Il sangue intero prelevato dal polpastrello deve essere analizzato immediatamente.

### PROCEDURA DEL TEST

1. Estrarre il numero desiderato di strisce dalla confezione da 10 piegandole e strappandole lungo la linea forata.
- Per conservare il numero di lotto presente sul lato sinistro della confezione, rimuovere le singole strisce a partire dalla destra della confezione. Il numero di lotto e la data di scadenza non sono stampati sulle singole strisce.

2. Rimuovere la pellicola protettiva da ogni test.
- Dopo aver rimosso il rivestimento protettivo in alluminio da ogni striscia, iniziare il test entro 2 ore.

3. Per campioni di siero o di plasma:
  - a. Deporre (con una pipetta di precisione) 50 µL di campione nell'area del campione (contrassegnato dal simbolo della freccia).
  - b. Attendere almeno 15 minuti (massimo 30 minuti) dall'aggiunta del campione e leggere i risultati.

Per i campioni di sangue intero (prelievo venoso) e per i campioni di sangue intero (prelievo polpastrello) usando un Microsafe® Tube:

- a. Deporre (con una pipetta di precisione) 50 µL di campione nel mezzo dell'area del campione (contrassegnato dal simbolo della freccia).
- b. Attendere il completo assorbimento del campione (1 minuto), quindi deporre una goccia del tampone Chase nell'area del campione, tenendo il flacone verticalmente.
- c. Attendere almeno 15 minuti (massimo 30 minuti) dall'aggiunta del campione e leggere i risultati.

Per i campioni di sangue intero (prelievo dal polpastrello) usando i tubi capillari con EDTA:

- a. Posizionare il tubo capillare contenente il campione ematico nel mezzo del settore del campione (contrassegnato dal simbolo della freccia) in posizione verticale.
- b. Attendere il completo trasferimento del sangue dal tubo capillare al settore del campione. Quindi deporre una goccia del tampone Chase nel settore del campione, tenendo il flacone verticalmente.

**Attenzione:** non togliere il capillare dal settore del campione prima che tutto il sangue sia stato trasferito, poiché potrebbe formarsi una bolla che impedisce il trasferimento completo del campione e invaliderebbe il test. Il trasferimento completo del campione potrebbe richiedere più di un minuto.

- c. Smaltire il tubo capillare usato come materiale biologicamente pericoloso in conformità con le normative locali.
- d. Attendere almeno 15 minuti (massimo 30 minuti) dall'aggiunta del campione e leggere i risultati.

**NOTA:**

- L'esecuzione del test a temperatura alta/umidità bassa può influire sull'aspetto della barra paziente. Se la striscia di test è parzialmente asciutta ed è difficile leggere il risultato a 15-30 minuti, è necessario ripetere il test usando una nuova striscia di test e leggere il risultato a 15 minuti. Quando la striscia di test è parzialmente asciutta, appare come una zona grigiastra mista a macchie bianche. A 40 °C/40% RH o a condizioni di bassa umidità, la striscia di test si asciuga a 30 minuti.
- Se il campione di siero o plasma non migra o migra in modo anomalo, ad esempio fermandosi a metà della finestra, centrifugare il campione e ripetere il test usando una nuova striscia.

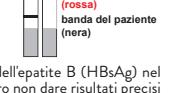
### CONTROLLO DI QUALITÀ

Al fine di garantire la validità dell'analisi, nel dispositivo è stata incorporata una banda di controllo procedurale. Questa banda di controllo rossa comparirà nella finestra. Se alla fine del test non compare la banda di controllo, il risultato del test non è valido. Ripetere il test usando una nuova striscia.

### INTERPRETAZIONE DEI RISULTATI (vedere le immagini)

#### NOTA:

- La comparsa di qualsiasi banda (anche molto sbiadita) nella finestra deve essere interpretata come risultato positivo.
- Il risultato del test è valido anche se la banda del paziente è più chiara o più scura rispetto alla banda di controllo. Qualsiasi banda, indipendentemente dall'intensità, è da considerarsi reattiva.
- Anche se il colore della banda di controllo è rosso scuro, è da considerarsi valido.
- Un test con un colore di fondo molto alto deve essere considerato non valido.
- Se un test risulta non valido per più volte, o per ricevere assistenza tecnica, contattare il distributore locale o l'assistenza tecnica.
- Se il risultato di un prelievo di sangue intero o di un prelievo di sangue intero dal polpastrello è reattivo con Determine HBsAg 2, il risultato deve essere seguito da un test Determine HBsAg 2 su plasma o siero o da un test di laboratorio di riferimento.



### LIMITAZIONI DELLE PROCEDURE

- Il test Determine HBsAg 2 è stato progettato per la rilevazione dell'antigene di superficie dell'epatite B (HBsAg) nel siero, nel plasma e nel sangue intero umani. Altri liquidi corporei o pool di campioni potrebbero non dare risultati precisi e pertanto non devono essere utilizzati.
- L'intensità della banda paziente non è necessariamente correlata con il titolo degli antigeni presenti nel campione in esame.
- Nessun test fornisce la certezza assoluta che un campione non contenga bassi livelli di HBsAg come quelli presenti in uno studio molto precoce dell'infezione.
- Se il risultato è non reattivo a 15 minuti e reattivo a 30 minuti, il paziente ha un valore HBsAg molto basso sotto il limite di rilevamento.
- Un risultato non reattivo in qualsiasi momento non preclude la possibilità di esporsi o di contrarre l'infezione dal virus dell'epatite B.
- L'uso di anticoagulanti diversi dall'EDTA per campioni sangue o plasma non è stato testato per l'uso con Determine HBsAg 2 e potrebbe fornire risultati scorretti.
- A scopi diagnostici e per differenziare l'infezione da HBV acuta dall'infezione da HBV cronica, la ricerca dell'HBsAg deve essere correlata ai sintomi del paziente e ad altri marker sierologici virali dell'epatite B.
- Un trattamento con biotina superiore a 5 mg al giorno può causare la riduzione dell'intensità della barra del paziente. Concentrazioni di biotina fino a 50 ng/mL nel siero o nel plasma non hanno avuto un impatto sulla sensibilità.

### CARATTERISTICHE DELLE PRESTAZIONI

#### Sensibilità

La sensibilità è stata valutata testando campioni confermati positivi per la presenza di HBsAg, pannelli di sieroconversione commerciale e pannelli di genotipo e sierotipo HBV.

#### 1. Campioni positivi per HBsAg

Sono stati testati 437 campioni confermati positivi per la presenza dell'antigene HBsAg con Determine HBsAg 2 e un test HBsAg rapido disponibile in commercio (Tabella I). La sensibilità (95% CI) di Determine HBsAg 2 in questo gruppo di campioni è risultata essere del 98,4% (96,7-99,4%). I campioni negativi sono risultati 0,06, 0,06, 0,09, 0,10, 0,13, 0,33 e 1,29 IU/ml con un kit per test HBsAg quantitativo.

**Tabella I: Campioni positivi per HBsAg**

Tipi	Numero di campioni testati	Reattivo ad Determine HBsAg 2	Reattivo a test HBsAg rapido alternativo
Campioni positivi HBsAg	369	362	294
Campioni con genotipo noto di HBV*	51	51	43
Campioni con sierotipo noto di HBsAg**	17	17	17
Totale	437	430	354
Sensibilità (95% CI)		98,4% (96,7-99,4%)	81,0% (77,0-84,6%)

\* Genotipi: A, B, C, D, E, F, G, H, A/E, A/F, D/E, D/F e D/G

\*\* Sierotipi: adw2, adr, ayw2, ayw3 e ayw4, compresi 15 campioni del pannello del genotipo del virus dell'epatite B. 6100/09 PEI

#### 2. Pannelli di sieroconversione HBV

La sensibilità di Determine HBsAg 2 è stata valutata usando 32 set di pannelli di sieroconversione, ciascuno comprensivo di campioni di sieroconversione precoce. I risultati sono stati confrontati con kit per la ricerca immunocromatografica rapida di HBsAg disponibile in commercio e un test per la ricerca quantitativa di HBsAg (chemiluminescenza a cattura di microparticelle (CMIA)). Su tutti i set, Determine HBsAg 2 ha rilevato gli antigeni prima del test immunocromatografico rapido. Su 4 dei 32 set, Determine HBsAg 2 ha rilevato HBsAg prima del kit CMIA. Il riscontro in 4 dei 32 set da parte di Determine HBsAg 2 è avvenuto con 1 giorno di ritardo dal prelievo rispetto al kit CMIA.

La prima data in cui è stata riscontrata una reattività, seguita da risultati stabilmente reattivi, è stata confrontata con la prima data in cui è stata evidenziata una reattività con Determine HBsAg 2.

#### 3. Sensibilità analitica di HBsAg

La sensibilità analitica di Determine HBsAg 2 è stata valutata attraverso l'analisi di sangue intero, siero e plasma secondo gli standard internazionali WHO per HBsAg (codice NIBSC 12/266). I risultati hanno dimostrato che il test era in grado di rilevare una concentrazione di antigeni HBsAg pari a 0,1 IU/ml.

#### 4. Rilevazione di HBsAg mutanti

La suscettibilità di HBsAg mutanti è stata valutata con Determine HBsAg 2. È stato testato un pannello composto da 14 diversi pannelli di HBsAg mutanti ricombinanti. Il pannello mutante era costituito dalle seguenti mutazioni, P12Q, T123A, T126N, T126S, Q129R, Q129H, Q129L, M133H, M133L, K141E, P142S, T143K, D144A e G145R. Tutti i 14 campioni sono stati rilevati con Determine HBsAg 2.

#### Specificità

Sono stati testati 1650 campioni di siero o plasma confermati negativi con Determine HBsAg 2 ed è stata determinata la specificità (95% CI) (Tabella II). La specificità è risultata del 99,6% (99,1-99,8%).

**Tabella II: Campioni negativi per HBsAg**

Popolazione	Numero di campioni testati	Determine HBsAg 2		Test HBsAg rapido
		Non reattivo	Reattivo	
Campioni sieronegativi*	1027	1027		
Campioni clinici	213	209	4	210
Donne in gravidanza	206	205	1	205
Patologie diverse da HBV e sostanze potenzialmente interferenti**	204	202	2	202
Totale	1650	1643	7	1644
Specificità (95% CI)		99,6% (99,1-99,8%)		99,6% (99,2-99,9%)

\* Campioni raccolti in USA (1240) e Africa (20)

\*\* Fattore reumatoide, auto

# PT

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 deteção do antígeno de superfície da hepatite B (HBsAg) em sanguine total capilar e venoso, plasma ou soro humano. O teste destina-se a ser utilizado como auxílio na deteção do HBsAg em indivíduos infetados. O teste é exclusivamente para uso profissional. O Determine HBsAg 2 não se destina à análise de sangue, plasma, células ou tecidos de dadores.

## 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 hepatocelular. A seropositividade ao HBsAg é o primeiro marcador serológico a aparecer em caso de infecção aguda pelo VHB<sup>2</sup>.

## PRINCIPIOS BIOLÓGICOS DO PROCEDIMENTO

Determine HBsAg 2 é um teste imunológico cromatográfico para a deteção 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

Cartões de teste do Determine HBsAg 2: 2 ou 10 cartões (com 10 testes/cartão), suficientes para executar 20 testes (7D2946) ou 100 testes (7D2947).

## ACESSÓRIOS (obrigatórios)

Para testar amostras de sangue total

**CHASE BUFFER** (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

**EDTA CAPILLARY TUBES** (7D2227)

Microsafe® Tube (Produtos clínicos SAFE-TEC®, YY1050 [2000 tubos], YY1050100 [100 tubos])

Materiais necessários, mas não fornecidos

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

## ADVERTÊNCIAS E PRECAUÇÕES

Para utilização no diagnóstico *In Vitro*.

Utilize o frasco de tampão de deteção 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<sup>4,5</sup>. 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%<sup>3,4</sup>.
- Descontaminar e eliminar todas as amostras, tiras de teste usadas e outros materiais potencialmente contaminados de acordo com os regulamentos locais<sup>3,4</sup>.

## ARMAZENAMENTO

Armazene os cartões de teste e o tampão de deteção do Determine HBsAg 2 a 2–30 °C até à expiração da data de validade.

- 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 aséptica.
- 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 dedo<sup>4</sup> (consulte a Fig. 1)

Utilize um tubo capilar **EDTA CAPILLARY TUBES** (7D2227) ou Microsafe® Tube

**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 afluxo 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 punctionado, 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).

\* Se o Microsafe® Tube for utilizado, consulte o folheto do Microsafe® Tube para obter informações adicionais.

## 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 congelação/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 sanguine 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 sanguine 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. 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.

3. 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) e para amostras de sangue total (por picada no dedo) utilizando o Microsafe® Tube:

- 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 deteção 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 sanguine seja transferido do tubo capilar para a almofada absorvente. Em seguida, aplique imediatamente uma gota de tampão de deteção na almofada absorvente, segurando no frasco verticalmente.

**Atenção:** Não levante o capilar da almofada absorvente antes de o sanguine 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 aspecto 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 visível (mesmo que muito tênue) na janela como um resultado válido.
- 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-escura, 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.

• Quando um resultado de sanguine total por venopunção ou por picada no dedo for reativo com o 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

Barra de controlo (vermelha)  
Barra do paciente (preta)

## NAO REATIVO

Barra de controlo (vermelha)  
Barra do paciente (preta)

## INVÁLIDO

Barra de controlo (vermelha)  
Barra do paciente (preta)

## LIMITAÇÕES DOS PROCEDIMENTOS

• O ensaio Determine HBsAg 2 foi concebido para detectar 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 infecção.

• 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 infecção 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 poderão gerar resultados incorretos.

• Para efeitos de diagnóstico e para diferenciar infecções agudas de infecções crónicas pelo VHB, a deteção de HBsAg deve ser associada aos sintomas do paciente e a outros marcadores serológicos víricos da hepatite B.

• 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
Total	437	430	354
Sensibilidade (IC de 95%)		98,4% (96,7–99,4%)	81,0% (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 de 32 conjuntos, o Determine HBsAg 2 detetou o HBsAg antes do kit CMIA. Como 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 (código 12/226 do NIBSC). Os resultados demonstraram que o teste poderia detetar uma concentração de HBsAg de 0,1 IU/mL.

### 4. Detecção 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: P12Q, T123A, T126N, T126S, Q129R, Q129L, M133H, M133L, K141E, P142S, T143K, D144A e G145R. O Determine HBsAg 2 detetou as 14 amostras.

### 5. Especificidade analítica do HBsAg

A especificidade analítica do Determine HBsAg 2 foi avaliada ao testar a norma internacional da OMS (código 12/226 do NIBSC). A especificidade foi de 99,6% (99,1–99,8%).

Tabela II: Amostras negativas quanto a HBsAg

População	Número de amostras emparelhadas testadas	Determine HBsAg 2			Teste rápido de HBsAg
		Soro	Plasma	Sangue total por venopunção	Sangue total por picada no dedo **
HBsAg positivo	145	Reativo	142	143	

**BIBLIOGRAPHY/BIBLIOGRAPHIE/BIBLIOGRAFÍA/BIBLIOGRAPHIE/BIBLIOGRAFIA/BIBLIOGRAFIA**

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	LAproductsupport@abbott.com

**Beratungs-Hotline**

Für weitere Information kontaktieren Sie bitte ihren Distributor, oder wenden Sie sich an eins der folgenden Servicezentren:

Region	Telefon	E-Mail Adresse
Europa und Naher Osten	+ 44 (0) 161 483 9032	EMEproductsupport@abbott.com
Asien-Pazifik	+ (61) 7 3363 7711	APproductsupport@abbott.com
Afrika, Russland, und GUS	+ (972) 8 9429 683	ARCISproductsupport@abbott.com
lateinamerika	+ (57) 2 661 8797	LAproductsupport@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	LAproductsupport@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
Amérique Latine	+ (57) 2 661 8797	LAproductsupport@abbott.com

**Assistenza**

Per ulteriori informazioni, contattare il distributore oppure chiamare uno dei seguenti Centri di assistenza prodotto:

Regione	Telefono	E-Mail
Europa e Medio Oriente	+ 44 (0) 161 483 9032	EMEproductsupport@abbott.com
Asia Pacifico	+ (61) 7 3363 7711	APproductsupport@abbott.com
Africa, Russia e CIS	+ (972) 8 9429 683	ARCISproductsupport@abbott.com
America Latina	+ (57) 2 661 8797	LAproductsupport@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	LAproductsupport@abbott.com



**MDSS GmbH**  
Schiffgraben 41, 30175  
Hannover, Germany



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