







ABBOTT LABORATÓRIOS DO BRASIL LTDA.
DIVISÃO MOLECULAR

NOTA: Estas Instruções de Uso devem ser lidas com atenção e seguidas rigorosamente. A confiabilidade dos resultados do ensaio não poderá ser garantida caso haja algum desvio no cumprimento destas instruções.

Abbott RealTime HBV é um ensaio para uso *in vitro* de reação em cadeia da polimerase (PCR) para a quantificação do DNA do vírus da hepatite B (HBV) em plasma ou soro humano de indivíduos infectados pelo HBV.

Nota: Alterações em Destaque

Legendas dos Símbolos Utilizados			
REF	Número de Lista	CAL B	Calibrador B
LOT	Número de Lote	AMPLIFICATION REAGENT PACK	Kit de Reagente de Amplificação
IVD	Dispositivo Médico de Uso Diagnóstico <i>In Vitro</i>		Limite Superior de Temperatura
	Prazo de Validade		Consulte as Instruções de Uso
INTERNAL CONTROL	Controle Interno		Atenção
CONTROL -	Controle Negativo		ATENÇÃO: Manusear materiais de origem humana como potencialmente infectantes. Consulte as instruções de uso. (Risco de Infecção)
CONTROL L	Controle Positivo Baixo		Fabricante
CONTROL H	Controle Positivo Alto		
CAL A	Calibrador A	EC REP	Representante autorizado na Comunidade Europeia

Consulte a seção **REAGENTES** para explicação detalhada dos símbolos utilizados na designação do componente do reagente.

NOME

Abbott RealTime HBV

USO PRETENDIDO:

O ensaio Abbott RealTime HBV é um ensaio, para utilização *in vitro*, de reação em cadeia da polimerase (PCR) para a quantificação do DNA viral da hepatite B (HBV) em plasma ou soro humano de indivíduos infectados pelo HBV. O ensaio Abbott RealTime HBV deve ser utilizado em conjunto com a avaliação clínica e outros marcadores laboratoriais, como um indicador do prognóstico da doença e como meio auxiliar na análise da resposta viral ao tratamento anti-viral medido através das alterações dos níveis de DNA do HBV no plasma ou soro. Este ensaio não se destina a ser utilizado como teste de rastreio do HBV, nem como teste de diagnóstico confirmatório da presença de infecção pelo HBV.

RESUMO E EXPLICAÇÃO DO TESTE

O HBV é um vírus pequeno, circular e de cadeia dupla parcial de DNA de aproximadamente 3.200 pares de base.¹ O vírus pode causar infecção crônica, cirrose (necrose) do fígado, câncer do fígado, insuficiência hepática e morte.² A prevalência da infecção pelo HBV e o método de transmissão variam muito a nível mundial. Nos países com uma prevalência elevada da infecção crônica pelo HBV, a mais comum via de infecção é de mãe para filho no nascimento ou de filho para filho durante os primeiros anos de vida. Nas zonas de baixa prevalência, a infecção é normalmente adquirida já na idade adulta através do uso de drogas injetáveis ou de atividade sexual de risco elevado.³ O risco de desenvolver infecção crônica pelo HBV a partir de intervalos de exposição aguda varia entre 90% nos recém-nascidos de mães infectadas pelo HBV e 25-30% em crianças com menos de 5 anos e é inferior a 10% nos adultos.¹ A imunização é a forma mais eficaz de prevenção da infecção pelo HBV e pode proporcionar uma proteção superior a 95% contra o desenvolvimento da infecção crônica.³

A quantificação do DNA do HBV é importante na avaliação e tratamento de pacientes com infecção crônica pelo HBV. As diretrizes atuais recomendam carga viral do HBV para determinar quais doentes crônicos com HBV devem ser tratados e para monitorar a sua resposta à terapêutica.^{4,5,6} Foi demonstrado que uma carga viral de linha base baixa é indicadora de uma resposta à terapêutica.⁵ Pelo contrário, uma carga viral de linha base elevada é indicadora de resistência à terapêutica, assim como de recidiva após a terapêutica e foi descoberto ser um fator de risco independente para o carcinoma hepatocelular.⁷ As atuais opções de tratamento incluem interferons, peginterferons e fármacos anti-virais, tais como, lamivudina, adefovir e tenofovir.^{5,6,8}

O DNA do HBV no soro ou plasma pode ser quantificado utilizando tecnologias de amplificação do ácido nucleico ou de amplificação do sinal.⁹ O ensaio Abbott RealTime HBV utiliza a tecnologia PCR juntamente com a detecção de fluorescência homogênea em tempo real para quantificar o DNA do HBV. A seleção de uma região altamente conservada no gene de superfície permite a detecção dos genótipos A-H. A localização da região alvo no terceiro terminal N do gene de superfície assegura que o ensaio não é influenciado pelos mutantes YMDD, mutantes HBsAg de escape ou mutantes resistentes a fármacos, já que esta região é essencial para o agrupamento e secreção de partículas subvirais e só tolera alterações estruturais menores.¹⁰

O ensaio é padronizado de acordo com o Padrão Internacional para o DNA do Vírus da Hepatite B da Organização Mundial de Saúde (OMS) (NIBSC Código 97/746)¹¹ e os resultados são apresentados em Unidades Internacionais por mL (UI/mL) ou cópias/mL.

PRINCÍPIOS BIOLÓGICOS DO PROCEDIMENTO

O ensaio Abbott RealTime HBV é composto por três kits de reagentes:

- Abbott RealTime HBV Amplification Reagent Kit
- Abbott RealTime HBV Control Kit
- Abbott RealTime HBV Calibrator Kit

O ensaio Abbott RealTime HBV utiliza a tecnologia PCR para gerar o produto amplificado a partir do genoma de DNA do HBV em amostras clínicas. Uma sequência de DNA sem relação com a sequência alvo do HBV é introduzida em cada uma das amostras no início da preparação da amostra. Esta sequência de DNA isolada é simultaneamente amplificada por PCR e serve como um controle interno (CI) para demonstrar que o processo foi corretamente executado para cada uma das amostras. A quantidade de sequência alvo do HBV presente em cada ciclo de amplificação é medida através da utilização de oligonucleotídeos marcados com fluoresceína especificamente ligados ao produto amplificado. O ciclo de amplificação no qual o sinal de fluorescência é detectado pelo Abbott *m2000rt* é inversamente proporcional ao log da concentração de DNA do HBV presente na amostra original.

Preparação da Amostra

O objetivo da preparação da amostra é extrair e concentrar o DNA alvo para tornar o alvo acessível para amplificação e remover potenciais inibidores da amplificação do extrato. Este processo é conseguido através do *m2000sp*,

um sistema automático de preparação de amostras concebido para utilizar processos de micropartículas magnéticas para a purificação dos ácidos nucleicos das amostras.

Os reagentes do Abbott *mSample Preparation System_{DNA}* (4 x 24 preparações) efetuam a lise do vírião, capturam os ácidos nucleicos e lavam as partículas para remover componentes não ligados das amostras. A proteinase K está incluída na etapa de lise para digerir proteínas associadas aos ácidos nucleicos.^{12,13} Os ácidos nucleicos ligados são eluídos e transferidos para uma placa de 96 cavidades fundas. Os ácidos nucleicos ficam assim prontos para a amplificação. O CI é utilizado em todo o procedimento de preparação da amostra e é processado juntamente com os calibradores, controles e amostras.

Preparação do Reagente e da Placa de Reação

O equipamento Abbott *m2000sp* combina os componentes do reagente de amplificação Abbott RealTime HBV (reagente de oligonucleotídeos do HBV, enzima Ampliqa Gold e reagente de ativação). O Abbott *m2000sp* dispensa a *master mix* resultante na placa Abbott de 96-Well Optical Reaction Plate juntamente com alíquotas das amostras de ácido nucleico preparadas pelo Abbott *m2000sp*. Após a aplicação manual do selo ótico, a placa está pronta para ser transferida para o Abbott *m2000rt*.

Amplificação

Durante a reação de amplificação/detecção no Abbott *m2000rt*, o DNA alvo é amplificado pela enzima Ampliqa Gold na presença de desoxinucleotídeos trifosfatos (dNTPs) e magnésio. Em primeiro lugar, os *primers* do HBV e do controle interno (CI) se ligam aos respectivos alvos e são prolongados pela polimerase. Depois de uma etapa de desnaturação, na qual a temperatura da reação é elevada acima do ponto de fusão das cadeias duplas do produto de DNA, a cadeia de DNA recém-criada é desnaturada a partir do DNA alvo.

Durante cada turno de ciclos térmicos, quando submetidos a temperaturas elevadas, os produtos de amplificação dissociam-se formando cadeias únicas e permitindo a ligação e prolongamento do primer à medida que a temperatura vai baixando. A amplificação exponencial do alvo é conseguida através de ciclos repetidos de temperaturas altas e baixas. A amplificação dos dois alvos (HBV e CI) ocorre simultaneamente na mesma reação.

A sequência alvo para o ensaio Abbott RealTime HBV encontra-se no gene de superfície do genoma do HBV. Esta região é específica do HBV e encontra-se extremamente conservada. Os primers foram concebidos para hibridizar nesta região com o menor número possível de não-correspondências entre os genótipos A-H do HBV.

A sequência alvo do CI é obtida a partir do gene *reductase* hidroxipiruvato da abóbora, *Cucurbita pepo*, e é fornecida com um plasmídeo de DNA numa solução tampão.

Detecção

A presença de produtos de amplificação do HBV é detectada durante a etapa de prolongamento/ligação através da medição da fluorescência da sonda do HBV que liga ao alvo durante a etapa de prolongamento/ligação. De modo semelhante, a presença de amplificação do CI é detectada durante a etapa de amplificação/ligação através da medição da fluorescência da sonda do CI. As sondas do HBV e do CI são oligonucleotídeos de DNA de cadeia única compostos por uma sequência de sondas com uma fração fluorescente covalentemente ligada à extremidade 5' da sonda e por uma fração desativadora covalentemente ligada à extremidade 3' da sonda.

Na ausência de sequências alvo do HBV ou do CI, a fluorescência da sonda é anulada. Na presença das sequências alvo do HBV ou do CI, as sondas do HBV ou do CI ligam-se especificamente ao seu alvo.

Durante a etapa de prolongamento/ligação, a polimerase do DNA adere ou digere nucleoticamente a sonda ligada à medida que esta se move através da cadeia modelo. Isto separa o fluoróforo do desativador, permitindo a emissão fluorescente e a detecção.

As sondas do HBV e do CI estão marcadas com um fluoróforo diferente, permitindo a detecção simultânea dos dois produtos amplificados em cada ciclo. O ciclo de amplificação no qual o sinal de fluorescência é detectado pelo Abbott *m2000rt* é inversamente proporcional ao log da concentração de DNA do HBV presente na amostra original.

EVITAR A CONTAMINAÇÃO COM ÁCIDO NUCLEICO

A possibilidade de contaminação com ácido nucleico é minimizada porque:

- O ensaio Abbott RealTime HBV realiza a amplificação PCR e a hibridização de oligonucleotídeos numa Abbott 96-Well Optical Reaction Plate selada.
- A detecção é realizada automaticamente, sem a necessidade de abrir a Abbott 96-Well Optical Reaction Plate;
- Em todas as pipetagens são utilizadas pipetas com ponteiras com barreira contra aerossóis. Depois do uso, as ponteiras de pipeta são descartadas;
- O ensaio Abbott RealTime HBV é realizado em áreas específicas separadas; consulte a seção **PRECAUÇÕES ESPECIAIS** destas Instruções de Uso.

REAGENTES

Abbott RealTime HBV Amplification Reagent Kit (Nº de Lista 2G34-90)

1. **INTERNAL CONTROL** Abbott RealTime HBV Internal Control
(Nº de Lista 2G34Y)
(4 frascos, 0,2 mL por frasco)
 - < 0,01% de plasmídeo de DNA linearizado não infeccioso numa solução tampão.
Conservantes: azida sódica e 0,15% de ProClin® 950.
2. **AMPLIFICATION REAGENT PACK** Abbott RealTime HBV Amplification Reagent Pack
(Nº de Lista 2G34)
(4 embalagens, 24 testes/embalagem)
 - 1 frasco (0,078 mL) de Enzima Amplitaq Gold (5,4 a 5,9 unidades/µL em solução tamponada com estabilizantes)
 - 1 frasco (0,918 mL) de Reagente de Oligonucleotídeos do HBV.
< 0,1% de oligonucleotídeos sintéticos (4 primers e 3 sondas) e < 0,2% de dNTPs em uma solução tamponada com um corante de referência. Conservantes: azida sódica e 0,15% de ProClin 950.
 - 1 frasco (0,778 mL) de Reagente de Ativação. 38 mM de cloreto de magnésio numa solução tamponada. Conservantes: Azida Sódica e 0,15% de ProClin 950.

Abbott RealTime HBV Control Kit (Nº de lista 2G34-80)

3. **CONTROL -** Abbott RealTime HBV Negative Control
(Nº de Lista 2G34Z)
(8 frascos x 1,3 mL por frasco)
Plasma humano negativo testado e considerado não reativo para HBsAg, DNA do HBV, RNA do HIV, RNA do HCV, anticorpos anti-HIV-1/HIV-2 e anti-HCV. Conservantes: 0,1% de ProClin 300 e 0,15% de ProClin 950.
4. **CONTROL | L** Abbott RealTime HBV Low Positive Control
(Nº de Lista 2G34W)
(8 frascos, 1,3 mL por frasco)
 - Plasma inativado termicamente reativo para DNA do HBV em plasma humano negativo. O plasma humano negativo foi testado e considerado não reativo para HBsAg, DNA do HBV, RNA do HIV, RNA do HCV, anticorpos anti-HIV-1/HIV-2 e anti-HCV. Conservantes: ProClin 300 a 0,1% e ProClin 950 a 0,15%.
5. **CONTROL | H** Abbott RealTime HBV High Positive Control
(Nº de Lista 2G34X)
(8 frascos, 1,3 mL por frasco)
Plasma inativado termicamente reativo para DNA do HBV em plasma humano negativo. O plasma humano negativo foi testado e considerado não reativo para HBsAg, DNA do HBV, RNA do HIV, RNA do HCV, anticorpos anti-HIV-1/HIV-2 e anti-HCV. Conservantes: 0,1% de ProClin 300 e 0,15% de ProClin 950.

Abbott RealTime HBV Calibrator Kit (Nº de Lista 2G34-70)

1. **CAL | A** Abbott RealTime HBV Calibrator A (Nº de Lista 2G34A)
(12 frascos, 1,3 mL por frasco)
 - < 0,01% de plasmídeo de DNA de HBV linearizado não infeccioso numa solução tampão. Conservantes: azida sódica e 0,15% de ProClin 950.
2. **CAL | B** Abbott RealTime HBV Calibrator B (Nº de Lista 2G34B)
(12 frascos, 1,3 mL por frasco).
 - < 0,01% de plasmídeo de DNA de HBV linearizado não infeccioso numa solução tampão. Conservantes: azida sódica e 0,15% de ProClin 950.

ADVERTÊNCIAS E PRECAUÇÕES

IVD Dispositivo médico para uso diagnóstico *in vitro*.

Somente para uso diagnóstico *in vitro*.

O ensaio Abbott RealTime HBV não é indicado para uso como teste de triagem para HBV em amostras de sangue, plasma ou tecidos de doadores, nem como teste de diagnóstico para confirmar a presença de infecção pelo HBV.

Utilizar apenas etanol de grau USP 190-200 (etanol a 95%-100%) para preparar o reagente de preparação da amostra *mWash2_{DNA}*. Não utilizar etanol que contenha desnaturantes.

Precauções de Segurança

Para instruções sobre precauções de segurança consulte o Manual de Operações do Abbott *m2000sp*, seção "Perigos", e o Manual de Operações do Abbott *m2000rt*, seção "Perigos".

ATENÇÃO: Esta preparação contém componentes de origem humana e/ou componentes potencialmente infecciosos. Os componentes originados de sangue humano foram testados e considerados não reativos de acordo com testes licenciados pelo FDA para anticorpos contra o HCV, anticorpos

contra o HIV-1, anticorpos contra o HIV-2 e HBsAg. O material também foi testado e considerado negativo de acordo com métodos de PCR licenciados pelo FDA para RNA do HIV-1 e RNA do HCV. Nenhum método de ensaio conhecido pode garantir de forma absoluta que produtos de origem humana ou microrganismos inativados não transmitirão infecção. Estes reagentes e as amostras humanas devem ser manuseados como infecciosos utilizando procedimentos de segurança laboratorial, tais como aqueles descritos em Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories,¹⁴ OSHA Standards on Bloodborne Pathogens,¹⁵ documento M29-A3 do CLSI¹⁶ e outras práticas apropriadas de biossegurança.¹⁷ Portanto, todos os materiais de origem humana devem ser considerados infecciosos.

Estas precauções incluem, entre outras, o seguinte:

- Usar luvas ao manusear amostras ou reagentes,
- Não pipetar com a boca.
- Não comer, beber, fumar, aplicar cosméticos ou manusear lentes de contato nas áreas onde esses materiais são manuseados.
- Limpar e desinfetar os respingos de amostras, utilizando um desinfetante tuberculicida, como hipoclorito de sódio a 1,0% ou outro desinfetante apropriado.¹⁴
- Descontaminar e descartar todos os materiais potencialmente infecciosos de acordo com os regulamentos locais, estaduais e federais.¹⁷

Os componentes dos Abbott RealTime HBV Calibrator Kit (Nº de Lista 2G34-70), Abbott RealTime HBV Control Kit (Nº de Lista 2G34-80) e o Abbott RealTime HBV Amplification Reagent Kit (Nº de Lista 2G34-90) contêm os seguintes componentes:

- 2-Metil-2H-isotiazolina-3-ona
- Azida sódica
- Massa de reação de: 5-cloro-2-metil-4-isotiazolina-3-ona
(EC nº 247-500-7) e 2-metil-2H-isotiazolina-3-ona
(EC nº 220-239-6)(3:1)
- Massa de reação de: 5-cloro-2-metil-4-isotiazolina-3-ona
(EC nº 247-500-7) e 2-metil-4-isotiazolina-3-ona
(EC nº 220-239-6)(3:1)

As seguintes advertências se aplicam:



Atenção

H317	EUH032	Podem provocar reação alérgica cutânea. Em contato com ácidos libera gás altamente tóxico.
P261		Evite respirar névoas / vapores / spray.
P280		Usar luvas de proteção / vestuário de proteção / proteção ocular.
P272		Roupas de trabalho contaminadas não devem ser permitidas fora do local de trabalho.
P333+P313		Se ocorrer irritação ou erupção cutânea: Procure orientação médica.
P302+P352		SE ENTRAR EM CONTATO COM A PELE: Lavar com água em abundância.
P362+P364		Despir as roupas contaminadas e lavá-las antes de reutilizá-las.
P501		Descartar o recipiente e seu conteúdo de acordo com os regulamentos locais.

PRECAUÇÕES ESPECIAIS

Precauções de Manuseio

O ensaio Abbott RealTime HBV destina-se unicamente ao uso com amostras de soro e plasma humano, que tenham sido manuseadas e armazenadas em tubos com tampa, de acordo com as instruções da seção **COLETA, ARMAZENAMENTO E TRANSPORTE DE AMOSTRAS PARA O LOCAL DO ENSAIO**.

Durante a preparação de amostras, é fundamental seguir as boas práticas de laboratório para minimizar o risco de contaminação cruzada entre amostras e evitar a introdução acidental de nucleases nas amostras durante e após o procedimento de extração. Técnicas apropriadas de assepsia devem ser sempre utilizadas quando se trabalha com DNA.

As reações de amplificação, como a PCR, são sensíveis à introdução acidental de produto proveniente de reações de amplificações anteriores. Poderão ocorrer resultados falso-positivos se as amostras clínicas ou os reagentes RealTime, utilizados na etapa de amplificação tiverem sido contaminados pela introdução acidental de produto de amplificação, mesmo que apenas algumas moléculas. De acordo com as boas práticas de laboratório, as medidas para reduzir o risco de contaminação no laboratório, incluem a separação física das atividades envolvidas no processo de PCR.

Áreas de Trabalho

Utilizar 2 áreas reservadas do laboratório para executar o ensaio Abbott RealTime HBV.

- A **Área de Preparação da Amostra** está reservada ao processamento de amostras (amostras de pacientes, controles e calibradores Abbott RealTime HBV) e para a adição de amostras, controles e calibradores processados na Abbott 96-Well Optical Reaction Plate. O equipamento Abbott *m2000sp* combina os componentes do reagente de amplificação Abbott RealTime HBV para criar a *master mix* de amplificação e transfere as alíquotas da *master mix* para a placa de reação. **Todos os reagentes utilizados na área de preparação da amostra devem permanecer sempre nesta área. Os aventais, pipetas, pontas de pipeta e vórtex utilizados na área de preparação da amostra devem permanecer nesta área e não deverão ser transportados para a área de amplificação. Não transportar produto de amplificação para a área de preparação da amostra.**
- A **Área de Amplificação** destina-se exclusivamente à amplificação e detecção de produto amplificado. **Aventais de laboratório e o equipamento utilizado na Área de Amplificação devem permanecer nessa área e não devem ser transportados para a Área de Preparação de Amostra.**

Os componentes de cada kit devem ser utilizados em conjunto. Não misture componentes provenientes de lotes diferentes. Por exemplo, não utilizar o controle negativo do kit de controles do lote X com os controles positivos do kit de controles do lote Y.

Não utilizar kits ou reagentes após o final do prazo de validade.

A área de trabalho e as plataformas do equipamento devem ser consideradas fontes potenciais de contaminação. Trocar as luvas após o contato com potenciais contaminantes (amostras, eluídos e/ou produto amplificado), antes de manusear os frascos novos de reagentes, controles negativos, controles positivos, calibradores ou amostras. Para informações sobre os procedimentos de limpeza do equipamento, consulte os Manuais de Operações do Abbott *m2000sp* e do Abbott *m2000rt*.

Se o processamento no equipamento Abbott *m2000sp* for cancelado, descarte todos os produtos e reagentes de acordo com o Manual de Operações do Abbott *m2000sp*. Se o protocolo de adição da *master mix* do Abbott *m2000sp* for cancelado, selar a placa Abbott 96-Well Optical Reaction Plate em um saco plástico adequado e descarte-a de acordo com a seção "Perigos" do Manual de Operações do Abbott *m2000sp*, juntamente com as luvas utilizadas para manusear a placa.

Se o processamento no equipamento Abbott *m2000rt* for interrompido ou cancelado, sele a placa Abbott 96-Well Optical Reaction Plate em um saco plástico adequado e descarte-a de acordo com a seção "Perigos" do Manual de Operações do Abbott *m2000rt*, juntamente com as luvas utilizadas para manusear a placa.

Descontaminar e descartar todas as amostras, reagentes e outros materiais biológicos potencialmente perigosos de acordo com os regulamentos locais, estaduais e federais.¹⁷ Todos os materiais devem ser manuseados de forma a minimizar a possibilidade de contaminação da área de trabalho.

Nota: Colocar a placa de reação selada na autoclave não degradará o produto amplificado e poderá contribuir para a sua liberação ao abrir a placa selada. A área do laboratório poderá ficar contaminada com o produto amplificado, caso os materiais residuais não forem devidamente manuseados e acomodados.

Contenção de Aerossóis

Para reduzir o risco de contaminação do ácido nucleico por aerossóis formados durante a pipetagem manual, devem ser utilizadas ponteiras de pipeta com barreiras de aerossóis em todas as pipetagens manuais. As ponteiras de pipeta devem ser utilizadas uma única vez. Limpe e desinfete os respingos de amostras e reagentes de acordo com as indicações do Manual de Operações do Abbott *m2000sp* e do Abbott *m2000rt*.

Contaminação e Inibição

As seguintes precauções devem ser observadas para minimizar os riscos de contaminação com DNases, contaminação cruzada entre amostras e inibição:

- Utilizar sempre vestuário de proteção adequado.
- Utilizar luvas isentas de pó.
- Troque as luvas após ter contato com potenciais contaminantes (tais como amostras, eluídos e/ou o produto amplificado).
- Para reduzir o risco de contaminação do ácido nucleico por aerossóis formados durante a pipetagem manual, devem ser utilizadas ponteiras de pipeta com barreiras de aerossóis em todas as pipetagens. O comprimento da ponteira deve ser suficiente para evitar a contaminação do corpo da pipeta. Durante a pipetagem, deve-se tomar cuidado para não encostar o corpo da pipeta na parte interna do tubo ou recipiente de amostra. Recomenda-se o uso de ponteiras de pipeta com barreira alongada contra aerossóis.
- Em TODAS as transferências manuais de líquidos, substituir as ponteiras de pipeta com barreira contra aerossóis.
- Limpar e desinfetar os respingos de amostras e reagentes de acordo com as indicações dos Manuais de Operação Abbott *m2000sp* e Abbott *m2000rt*, seção Perigos.

- Substituir qualquer tabuleiro de ponteiras descartáveis de 200 µl e 1000 µl vazio ou parcialmente utilizado por tabuleiros cheios antes de cada processamento.
- Os reagentes Abbott *mSample Preparation System_{DNA}* (4 x 24 preparações) e do Abbott Proteinase K devem ser utilizados uma única vez. Utilizar novos recipientes de reagentes, cubetas de reação e reagentes novos em cada novo ensaio Abbott RealTime HBV. No final de cada ensaio, descarte todos os reagentes remanescentes que se encontram na mesa de trabalho conforme indicado no Manual de Operações do Abbott *m2000sp* e nas instruções de uso do Abbott *mSample Preparation System_{DNA}* (4 x 24 preparações) e do Abbott Proteinase K.

INSTRUÇÕES DE ARMAZENAMENTO

Abbott RealTime HBV Amplification Reagent Kit (Nº de lista 2G34-90)



Os frascos do Abbott RealTime HBV Amplification Reagent Pack e Internal Control devem ser armazenados a -10°C ou temperatura inferior, quando não estiverem em uso. Separar, cuidadosamente, a embalagem do Abbott RealTime HBV Amplification Reagent Pack que está em uso para evitar o contato direto com amostras, calibradores e controles.

Abbott RealTime HBV Control Kit

(Nº de lista 2G34-80)



Os controles negativo e positivo Abbott RealTime HBV devem ser armazenados a -10°C ou temperatura inferior.

Abbott RealTime HBV Calibrator Kit

(Nº de lista 2G34-70)



Os calibradores A e B Abbott RealTime HBV devem ser armazenados a -10°C ou temperatura inferior.

CONDIÇÕES DE TRANSPORTE

- Abbott RealTime HBV Amplification Reagent Kit: Transportar em gelo seco.
- Abbott RealTime HBV Control Kit: Transportar em gelo seco.
- Abbott RealTime HBV Calibrator Kit: Transportar em gelo seco.

INDICAÇÃO DE INSTABILIDADE OU DETERIORAÇÃO DOS REAGENTES

Quando o valor de um controle positivo ou negativo estiver fora do intervalo esperado, isto pode indicar deterioração dos reagentes. Os resultados dos testes associados serão inválidos e as amostras devem ser repetidas. Poderá ser necessário uma nova calibração.

COLETA, ARMAZENAMENTO E TRANSPORTE DE AMOSTRAS PARA O LOCAL DO ENSAIO

Coleta e Armazenamento de Amostras

Podem ser utilizadas amostras de soro humano (incluindo soro coletado em tubos separadores de soro) e plasma humano (EDTA ACD e tubos de preparação de plasma) no ensaio Abbott RealTime HBV. Não devem ser utilizados tubos de coleta de soro contendo ativador z-clot ou um ativador de coagulação rápida semelhante. Siga as instruções do fabricante relativas ao processamento de tubos de coleta.

Amostras frescas (sangue total) podem ser mantidas durante um período máximo de 6 horas entre 2 a 30°C antes de serem centrifugadas. Após a centrifugação, separar o soro ou o plasma das células. As amostras de soro ou plasma podem ser conservadas:

- Durante um período máximo de 24 horas de 15 a 30°C.
- Durante um período máximo de 3 dias de 2 a 8°C.
- Durante um período mais prolongado a -20°C ou temperatura inferior.

Os ciclos múltiplos de congelamento/descongelamento devem ser evitados. Se a amostra estiver congelada, descongelar a uma temperatura entre 15 a 30°C ou entre 2 a 8°C. Depois de descongeladas, se as amostras não forem processadas imediatamente, podem ser armazenadas entre 2 a 8°C durante um período máximo de 6 horas.

Transporte de Amostras

Transportar as amostras congeladas em gelo seco. Para o transporte nacional e internacional, as amostras devem ser embaladas e etiquetadas de acordo com a legislação nacional e internacional aplicável ao transporte de amostras clínicas, de diagnóstico ou biológicas.

PROCEDIMENTOS DO EQUIPAMENTO

O(s) arquivo(s) de aplicação do ensaio Abbott RealTime HBV devem ser instalados nos equipamentos Abbott *m2000sp* e Abbott *m2000rt* a partir do CD-ROM Abbott RealTime HBV *m2000* System ROW Combined Application antes da realização do ensaio. Para informações detalhadas sobre a

instalação do arquivo de aplicação, consulte os Manuais de Operações do Abbott *m2000sp* e do Abbott *m2000rt*, seção Instruções de Operação.

PROCEDIMENTO DO ENSAIO ABBOTT RealTime HBV

Material Incluído

- Abbott RealTime HBV Amplification Reagent Kit (Nº de Lista 2G34-90)

Material Necessário, Mas Não Incluído

- Abbott RealTime HBV Control Kit (Nº de Lista 2G34-80)
- Abbott RealTime HBV Calibrator Kit (Nº de Lista 2G34-70)

Área de Preparação da Amostra

- Abbott *m2000sp*
 - Abbott *mSample Preparation System* _{DNA} (4 x 24 preparações) (Nº Lista 06K12-24)
 - Abbott Proteinase K (Nº de Lista 3L78-60)
 - Abbott RealTime HBV *m2000 System ROW Combined Application CD-ROM* (Nº de Lista 8L35)
 - Suportes de amostras
 - Cubetas de reação de 5 ml
 - Cubetas de reagente de 200 ml
 - Frasco da *master mix*
 - Abbott 96-Well Optical Reaction Plate
 - Abbott 96-Deep Well Plate
 - Abbott Splash-Free Support Base
 - Abbott Optical Adhesive Cover
 - Abbott Adhesive Cover Applicator
 - Tubos de amostra de fundo redondo de 12,5 x 75 mm
 - Agitador vórtex
 - Tubos de centrifugação em polipropileno de 50 ml
 - Centrífuga com capacidade para 2000 g
 - Pipetas de precisão calibradas capazes de dispensar 10 µl-1000 µl
 - Ponteiras de pipeta com barreira de aerossóis para pipetas de precisão de 20 µl-1000 µl
 - Etanol 190-200 (USP Grade) (etanol a 95-100%). Não utilizar etanol que contenha desnaturantes.
 - Pipetas sorológicas
 - Proveta graduada, 100 ml
 - Água de grau biologia molecular (Eppendorf Scientific, Inc. ou equivalente)
 - Tubos de microcentrífuga de grau biologia molecular de 1,7 ml (Dot Scientific, Inc. ou equivalente)*
 - Aplicadores com ponta de algodão (Puritan ou equivalente)*
- * Nota: estes itens são utilizados no procedimento para monitorar o laboratório quanto à presença de produto amplificado. Consulte a seção **PROCEDIMENTOS DE CONTROLE DE QUALIDADE** destas instruções de uso.

Área de Amplificação

- Abbott *m2000rt*
- Abbott RealTime HBV *m2000 System ROW Combined Application CD-ROM* (Nº de Lista 8L35)
- Abbott *m2000rt Optical Calibration Kit* (Nº de lista 4J71-93)

Outros Materiais

- Câmara de segurança biológica aprovada para uso com materiais infecciosos
- Sacos plásticos seláveis

Precauções de Procedimento

Antes de processar as amostras ler atentamente estas instruções de uso.

Os frascos dos calibradores, controle interno, controle negativo, controle positivo baixo e controle positivo alto Abbott RealTime HBV são destinados apenas para uso único e devem ser descartados após o uso.

Os tubos de amostras devem ser inspecionados quanto à presença de bolhas de ar. Se forem detectadas, removê-las com uma ponteira de pipeta esterilizada. As bolhas de reagente podem interferir com uma detecção adequada de níveis de reagente no respectivo recipiente, provocando uma aspiração insuficiente, que pode ter impacto nos resultados. **Deve ser evitada a contaminação cruzada entre amostras, utilizando uma nova ponteira de pipeta esterilizada para cada tubo.**

Utilizar as ponteiras de pipeta com barreira de aerossóis ou pipetas descartáveis uma única vez, quando pipetar amostras, controles, calibradores ou reagentes de amplificação. Para evitar a contaminação do corpo da pipeta durante a pipetagem, deve-se tomar cuidado para não encostar o corpo da pipeta na parte interna do tubo ou recipiente de amostra. Recomenda-se o uso de ponteiras de pipetas com barreira alongada contra aerossóis.

Os procedimentos de monitoramento da presença de produto amplificado podem ser encontrados na seção **PROCEDIMENTOS DE CONTROLE DE QUALIDADE** destas instruções de uso.

Para reduzir o risco de contaminação do ácido nucleico, limpe e desinfete os respingos de amostras com um desinfetante tuberculicida, como o hipoclorito de sódio a 1,0% ou outro desinfetante apropriado.

Uma curva de calibração deve ser estabelecida antes de testar amostras. O uso de calibradores e controles Abbott RealTime HBV é essencial para o bom desempenho do ensaio. Consulte a seção **PROCEDIMENTOS DE CONTROLE DE QUALIDADE** destas instruções de uso para obter mais informações.

PROTOCOLO DE ENSAIO

Área de Preparação de Amostra

A preparação e conservação de todas as amostras deve ser efetuada na área reservada à preparação da amostra. Para instruções anteriores à preparação de amostras, consultar a seção **Precauções de Manuseio** destas instruções de uso.

Para uma descrição detalhada do funcionamento do equipamento Abbott *m2000sp* e Abbott *m2000rt*, consultar os Manuais de Operação do Abbott *m2000sp* e do *m2000rt*, seção **Instruções de Operação**.

O pessoal do laboratório deve ser treinado para poder utilizar os equipamentos Abbott *m2000sp* e *m2000rt*. O operador deve ter um conhecimento abrangente sobre a execução das aplicações nos equipamentos e deve seguir as boas práticas de laboratório.

1. Em cada ensaio poderão ser processadas 48 amostras. Deve ser incluído em cada processamento um controle negativo, um controle positivo baixo e um controle positivo alto, permitindo que no máximo 45 amostras sejam processadas por ensaio.

NOTA: Caso se efetue um processamento com mais de 24 amostras, esvaziar o contentor de resíduos sólidos antes de efetuar o ensaio e substituir a embalagem de resíduos biológicos por uma nova, caso existam resíduos.

- Verificar o volume da amostra. O volume mínimo de amostra para o ensaio Abbott RealTime HBV e os requisitos associados ao suporte no Abbott *m2000sp* são:

Abbott RealTime HBV			
Volume mínimo de amostras			
Aplicação do ensaio			
Suporte	Diâmetro do tubo*	0,2 mL	0,5 mL
13 mm	11,5 mm – 14,0 mm	0,4 mL – 0,8 mL	0,7 mL – 1,2 mL
16 mm	14,5 mm – 16,0 mm	0,4 mL – 1,0 mL	0,8 mL – 1,4 mL

* Refere-se ao diâmetro externo do tubo de amostra. O volume mínimo de amostra varia de acordo com a geometria e tamanho do tubo. Para volumes de amostra recomendados, consulte o Manual de Operações do *m2000sp* e o GUIA DE REFERÊNCIA RÁPIDA PARA TAMANHOS DE TUBOS DE AMOSTRA E VOLUMES.

- Se a amostra estiver congelada, descongele-a a uma temperatura entre 15 a 30°C ou entre 2 a 8°C. Se as amostras não forem processadas imediatamente após serem descongeladas, podem ser armazenadas entre 2 a 8°C por um período máximo de 6 horas.
 - Antes de utilizar, submeter as amostras ao vórtex 3 vezes durante 2 a 3 segundos. Assegurar para que não se formem bolhas ou espuma. Se forem detectadas bolhas ou espuma, eliminá-las utilizando uma nova ponteira de pipeta esterilizada para cada tubo. **As amostras que apresentem partículas em suspensão ou turvamento devem ser centrifugadas a 2000g durante 5 minutos antes de serem analisadas.** Se for necessário, efetuar alíquotas de cada amostra para tubos ou frascos limpos. Para informações relativas ao tamanho dos tubos, consulte o Manual de Operações Abbott *m2000sp*. Quando abrir os tubos, evite tocar no interior da tampa.
2. Descongelar os controles do ensaio e o controle interno (CI) entre 15 a 30°C ou entre 2 a 8°C. Descongelar os calibradores entre 15 a 30°C ou entre 2 a 8°C apenas se for necessário efetuar uma calibração. Consulte a seção **PROCEDIMENTOS DE CONTROLE DE QUALIDADE** nestas instruções de uso.
 - Uma vez descongelados, se os calibradores, os controles e o CI não forem processados imediatamente, conservá-los de 2 a 8°C durante um período máximo de 24 horas.
 - Antes de utilizar os calibradores e os controles, submetê-los três vezes ao vórtex, durante 2-3 segundos. Certificar que não se formam bolhas ou espuma. Se forem detectadas, eliminá-las utilizando uma nova ponta de pipeta esterilizada para cada tubo. Verificar se o conteúdo dos frascos se encontra no fundo após terem sido submetidos ao vórtex, batendo os frascos cuidadosamente contra a bancada para fazer escorrer o líquido para o fundo dos frascos.
 3. Descongelar os reagentes de amplificação entre 15 a 30°C ou entre 2 a 8°C até atingir os requisitos do procedimento da *master mix* de

amplificação. Este passo pode ser iniciado antes da conclusão do procedimento de preparação da amostra.

Nota: A embalagem dos reagentes de amplificação não pode ser submetida ao vórtex.

- Uma vez descongelados, os reagentes de amplificação podem ser conservados entre 2 a 8°C, durante um período máximo de 24 horas, se não forem utilizados imediatamente.
4. Abrir a embalagem do reagente Abbott Proteinase K. Adicionar 17,15 mL de água de grau biologia molecular ao tubo de centrífuga em polipropileno de 50 mL. Pipetar 2,45 mL de Proteinase K para o recipiente de água. Homogeneizar, invertendo cuidadosamente 10 a 15 vezes. Transferir todo o conteúdo para um recipiente de reagente rotulado com o código de barras da Proteinase K. Colocar o recipiente de reagente na localização 2 do transportador #1.

NOTA: Utilizar um frasco de solução Proteinase K, um conjunto de reagentes *mSample Preparation System_{DNA}*, um frasco de CI e uma *RealTime HBV Amplification Reagent Pack* para efetuar 24 reações. Utilizar um segundo conjunto de Proteinase K e de reagentes *mSample Preparation System_{DNA}* para efetuar 25 a 48 reações, com exceção do *mMicroparticles_{DNA}*. Um frasco de *mMicroparticles_{DNA}* é suficiente para efetuar 48 reações. **Não utilizar mais do que um frasco de *mMicroparticles_{DNA}*.**

5. Abrir a embalagem de reagentes Abbott *mSample Preparation System_{DNA}*. Se forem observados cristais em qualquer frasco de reagente após a sua abertura, deixar o reagente repousar em temperatura ambiente até os cristais desaparecerem. Não utilizar os reagentes antes dos cristais se terem dissolvido.
6. Preparar o *mWash2_{DNA}* adicionando 70 ml de etanol grau USP 190-200 (etanol a 95%-100%) ao frasco de *mWash2_{DNA}*, conforme descrito nas instruções de uso do Abbott *mSample Preparation System_{DNA}*. Não utilizar etanol que contenha desnatantes.
7. Submeter o(s) frasco(s) de CI ao vórtex três vezes, durante 2 – 3 segundos, antes do uso.
8. Utilizar uma PIPETA ESPECÍFICA RESERVADA PARA O CONTROLE INTERNO para adicionar 100 µL de CI a um frasco de tampão *mLysis*. Misturar invertendo cuidadosamente o recipiente 5 a 10 vezes para minimizar a formação de espuma.
9. Inverter cuidadosamente os frascos de Abbott *mSample Preparation System_{DNA}* para garantir uma solução homogênea e colocar o seu conteúdo nos recipientes de reagente adequados segundo o Manual de Operações Abbott *m2000sp*, seção Instruções de Operação.
10. Colocar os controles positivos alto e baixo, o controle negativo, os calibradores (se aplicável) e as amostras dos pacientes no suporte de amostras do *m2000sp*.
11. Colocar os recipientes de reação de 5 ml no transportador do subsistema de 1 mL do *m2000sp*.
12. Colocar os suportes do transportador contendo os reagentes do Abbott *mSample Preparation System_{DNA}* e Proteinase K, e a Abbott 96 Deep Well Plate na mesa de trabalho do Abbott *m2000sp*, conforme indicado no Manual de Operações Abbott *m2000sp*, seção Instruções de Operação.
13. Na tela "Run Sample Extraction", selecionar o arquivo de aplicação adequado que corresponde ao volume de amostra a ser analisado. Iniciar o protocolo de extração da amostra de acordo com o descrito no Manual Operações *m2000sp*, Instruções de Operação.
 - Introduzir os valores do calibrador (necessário se não existir uma curva de calibração memorizada no *m2000rt*) e dos controles específicos do respectivo lote nos campos **Sample Extraction: Assay Details Screen**. Os valores específicos dos lotes são apresentados em cada ficha dos calibradores e controles do ensaio Abbott *RealTime HBV*.

NOTA: Verificar se os valores registrados correspondem aos valores nas respectivas fichas.

- **O protocolo de adição da *master mix* do Abbott *m2000sp* (etapa 14) deve ser iniciado no prazo de 60 minutos após a conclusão do protocolo de extração da amostra.**

NOTA: Trocar de luvas antes de manusear os reagentes de amplificação.

14. Depois de concluída a preparação da amostra, colocar os reagentes de amplificação e o frasco da *master mix* na mesa de trabalho do *m2000sp*.
 - Cada embalagem de reagente de amplificação é suficiente para executar no máximo 24 reações.
 - Verifique se os reagentes de amplificação estão completamente

descongelados antes do uso.

- Antes de abrir os reagentes de amplificação, verifique se o conteúdo dos frascos se encontra no fundo, batendo cuidadosamente os frascos verticalmente contra a bancada.
 - Retirar e descartar as tampas dos frascos de amplificação.
 - É necessária uma segunda embalagem de reagentes de amplificação, se for executar 25 a 48 reações.
15. Selecionar a placa Abbott 96 Deep Well Plate apropriada na tela "Run Master Mix Addition" referente à extração de preparação da amostra correspondente. Iniciar o protocolo de adição da *master mix* do Abbott *m2000sp*. Seguir as instruções descritas no Manual de Operações Abbott *m2000sp* seção Instruções de Operação.
 - **O protocolo *m2000rt* (etapa 20) deve ser iniciado nos 60 minutos seguintes à conclusão do protocolo de adição da *master mix* (etapa 15).**

Área de Amplificação

16. Ligar e inicializar o equipamento Abbott *m2000rt* na área de amplificação.

O Abbott *m2000rt* demora 15 minutos para aquecer.

NOTA: Retirar as luvas antes de voltar à área de preparação da amostra.

Área de Preparação da Amostra

17. Selar a Abbott 96-Well Optical Reaction Plate depois do equipamento Abbott *m2000sp* ter acabado de adicionar as amostras e a *master mix*, de acordo com o Manual de Operação Abbott *m2000sp*, seção Instruções de Operação.
18. Colocar a Abbott 96-Well Optical Reaction Plate na base de apoio Splash-Free Support Base para transferência para o equipamento Abbott *m2000rt*.
19. Exportar os resultados concluídos da Abbott 96-Well Optical Reaction Plate para um CD ou unidade de rede.

Área de Amplificação

20. Colocar a Abbott 96-Well Optical Reaction Plate no equipamento Abbott *m2000rt*. Importar o pedido de teste do Abbott *m2000sp* via CD ou unidade de rede de acordo com as instruções de importação de pedidos de teste no Manual de Operações Abbott *m2000rt* seção Instruções de Operação.

PROCEDIMENTOS PÓS-PROCESSAMENTO

1. Retirar a Abbott 96-Well Optical Reaction Plate da mesa de trabalho e descartá-la de acordo com o Manual de Operação Abbott *m2000sp*.
2. Selar a Abbott 96-Well Optical Reaction Plate em um saco plástico adequado e eliminar de acordo com o Manual de Operação Abbott *m2000rt*, juntamente com as luvas utilizadas para manusear a placa.
3. Antes de voltar a utilizar, limpar a base Abbott Splash Free Support Base, de acordo com o descrito no Manual de Operação Abbott *m2000rt*.

PROCEDIMENTOS DE CONTROLE DE QUALIDADE

Calibração Ótica do Abbott *m2000rt*

Consulte a seção "Procedimentos de Calibração" do Manual de Operações Abbott *m2000rt* para uma descrição detalhada sobre como realizar a calibração ótica do Abbott *m2000rt*.

A calibração ótica do equipamento Abbott *m2000rt* é necessária para a medição exata e distinção da fluorescência do corante durante o ensaio Abbott *RealTime HBV*.

As seguintes placas de calibração ótica Abbott *m2000rt* são utilizadas para calibrar o equipamento Abbott *m2000rt* para o ensaio Abbott *RealTime HBV*:

- Placa FAMTM (Carboxifluoresceína)
- Placa ROXTM (Carboxi-X-rodamina)
- Placa VIC[®] (corante patenteado)

Calibração do Ensaio

Uma curva de calibração é necessária para quantificar a concentração de DNA do HBV nas amostras e controles. Para gerar uma curva de calibração são analisados 2 calibradores de ensaio em réplicas de 3 (concentração de HBV [log UI por mL] versus ciclo de *threshold* [C_T] (limiar), no qual é detectado um nível relativo de sinal de fluorescência).

Os valores específicos de lote para os calibradores A e B encontram-se especificados em cada Ficha do Kit de Calibrador Abbott *RealTime HBV* e devem ser introduzidos na programação do teste quando for efetuada uma calibração. A inclinação e a interceptação da curva de calibração são calculadas e memorizadas no equipamento. A concentração de DNA do HBV em uma amostra é calculada a partir da curva de calibração memorizada. Os resultados são automaticamente apresentados na estação de trabalho do *m2000rt*.

Os controles positivos alto e baixo e o controle negativo devem ser incluídos

no processamento da calibração.

Seguir o procedimento de extração da amostra, adição de reagente, protocolos de amplificação e detecção, conforme estabelecido no Manual de Operações Abbott *m2000sp* e no Manual de Operações do Abbott *m2000rt*. Verifique se os valores de controle do ensaio observados no relatório final se encontram dentro dos intervalos especificados na Ficha do Kit de Controle do ensaio Abbott RealTime HBV.

Depois de aceita e memorizada uma calibração Abbott RealTime HBV, esta pode ser utilizada durante 6 meses. Durante este período, todas as amostras subsequentes podem ser analisadas sem calibração adicional, a menos que:

- Um kit de reagente de amplificação Abbott RealTime HBV com um novo número de lote seja utilizado.
- Um Abbott *mSample Preparation System* _{DNA} (4 x 24 Prep.) com um novo número de lote seja utilizado.
- Um arquivo de especificação da aplicação Abbott RealTime HBV para um volume de amostra diferente seja utilizado.
- Um novo arquivo de especificação da aplicação Abbott RealTime HBV seja instalado.

Detecção da Inibição

Durante uma calibração é estabelecido um parâmetro de validade de ensaio do ciclo de *threshold* do C_t [C_t].

No início da preparação da amostra é introduzida em cada amostra, calibrador e controle uma quantidade definida e consistente de C_t, sendo esta medida no equipamento Abbott *m2000rt* para demonstrar o processamento adequado da amostra e a validade do ensaio. O C_t é constituído por uma sequência de DNA sem relação com a sequência de DNA do HBV.

O ciclo de amplificação da mediana no qual o sinal de fluorescência da sequência alvo de C_t é detectado em amostras de calibração estabelece o intervalo de validade do C_t do C_t a ser atingido por todas as amostras subsequentes processadas, utilizando aquela curva de calibração.

Um alerta de erro é apresentado quando uma amostra ou controle não atinge essa especificação. Consulte o Manual de Operações do Abbott *m2000rt* para explicação das ações corretivas para este código de erro. As amostras cujo valor de C_t do C_t excedam o intervalo estabelecido devem ser novamente analisadas, começando pela preparação da amostra.

Controles Negativo e Positivo

Cada programação de teste inclui um controle negativo, um controle positivo baixo e um controle positivo alto para avaliar a validade do ensaio.

Os valores específicos do lote para um controle positivo baixo e para um controle positivo alto estão indicados em cada ficha de controles do ensaio Abbott RealTime HBV e devem ser inseridos na programação de teste quando o ensaio for executado.

Quando o resultado de um controle está fora do intervalo, uma sinalização de erro de controle é exibida. Consulte o Manual de Operações Abbott *m2000rt* para explicação das ações corretivas para este código de erro. Se os controles positivos ou negativos estiverem fora do intervalo, todas as amostras e controles desse ensaio devem ser reprocessados, começando pela preparação da amostra.

Não pode ser detectado HBV no controle negativo. A presença de HBV no controle negativo indica contaminação por outras amostras ou pelo produto amplificado introduzido durante a preparação da amostra ou durante a preparação da Abbott 96-Well Optical Reaction Plate. Para evitar contaminação, limpar os equipamentos Abbott *m2000sp* e Abbott *m2000rt* e repetir o processamento da amostra para os controles e amostras, segundo as Precauções de Procedimento. Se os controles negativos forem persistentemente reativos, contatar o representante Abbott Molecular.

Monitoramento do Laboratório Quanto à Presença de Produto de Amplificação

Recomenda-se que esse teste seja feito pelo menos uma vez por mês para monitorar as superfícies e equipamento do laboratório quanto à contaminação provocada pelo produto amplificado. É muito importante testar todas as áreas que possam ter sido expostas a amostras, controles e calibradores, controles processados e/ou produto amplificado. Isto inclui os objetos manuseados diariamente, como as pipetas, as teclas de função do Abbott *m2000sp* e Abbott *m2000rt*, as superfícies das bancadas do laboratório, microcentrifugas e adaptadores de centrífuga.

1. Adicionar 0,8 mL de água de grau biologia molecular ao tubo de microcentrifuga de 1,7 mL isento de DNases.
2. Impregnar a ponta de algodão de um aplicador (Puritan ou equivalente) na água (grau biologia molecular) do tubo de microcentrifuga.
3. Utilizando a ponta de algodão impregnada do aplicador, limpar a área a ser monitorada realizando um movimento circular. Colocar o aplicador dentro do tubo de microcentrifuga.
4. Agitar 10 vezes a ponta de algodão na água (grau biologia molecular) e, em seguida, pressionar o aplicador contra o interior do tubo de modo

que o líquido volte a escoar para a solução que se encontra no fundo do tubo de microcentrifuga. Descartar o aplicador.

5. Pipetar 0,5 mL do tampão *mWash 1* para um tubo limpo, utilizando a pipeta de uso exclusivo para o controle interno.
 6. Adicionar 20 µL do tampão *mWash 1* a cada tubo de microcentrifuga.
 7. Tampar o tubo de microcentrifuga.
 8. Testar esta amostra de acordo com a seção Procedimento do Ensaio destas instruções de uso.
 9. Transferir o líquido do tubo de microcentrifuga para um recipiente de reação de 5 mL.
 10. Adicionar água de grau biologia molecular até obter 1,5 mL.
 11. A presença de contaminação é indicada pela detecção de HBV nas amostras.
 12. Se for detectado HBV no equipamento, siga as instruções de limpeza e descontaminação fornecidas no Manual de Operação do equipamento. Se for detectado HBV nas superfícies, limpe as áreas contaminadas com solução de hipoclorito de sódio (v/v) a 1,0% e, em seguida com etanol a 70% ou água.
- Nota: As soluções com cloro podem corroer o equipamento e metais. Utilizar quantidades suficientes ou aplicações repetidas de etanol a 70% ou água até que os resíduos de cloro não sejam mais visíveis.
13. Repetir os testes da área contaminada seguindo as etapas 1 a 10.

RESULTADOS

Cálculo

A concentração de DNA do HBV em uma amostra ou controle é calculada a partir de uma curva de calibração memorizada ou de uma curva de calibração criada pelos calibradores dentro de uma calibração ou do processamento de uma amostra. O equipamento Abbott *m2000rt* informa automaticamente os resultados na estação de trabalho do Abbott *m2000rt*. Os resultados do ensaio podem ser apresentados em UI/mL ou em Log UI/mL. Os resultados do ensaio também podem ser apresentados em cópias/mL ou log cópias/mL, utilizando um fator de conversão da média 3,41 (1UI = 3,41 cópias).

Nota: O ensaio é calibrado segundo o Padrão Internacional da OMS para HBV. O fator de conversão de 3,41 é baseado num fator de conversão médio ao longo do intervalo dinâmico do ensaio.

INTERPRETAÇÃO DOS RESULTADOS

Volume da amostra	Resultado	Interpretação
0,5 mL	Não detectado	Alvo não detectado
	< 1,00 Log UI/mL ^a	Detectado ^c
	1,00 a 9,00 Log UI/mL	^d
	> 9,00 Log UI/mL	> ULQ ^e
0,2 mL	Não detectado	Alvo não detectado
	< 1,18 Log UI/mL ^b	Detectado ^c
	1,18 a 9,00 Log UI/mL	^d
	> 9,00 Log UI/mL	> ULQ ^e

^a 10 UI/mL

^b 15 UI/mL

^c Inferior ao LLQ – Limite inferior de quantificação (*lower limit of quantitation - LLQ*); O DNA do HBV não é quantificável.

^d Os resultados calculados situaram-se dentro do intervalo linear do ensaio. Se for obtido um resultado calculado, o campo "Interpretation" é deixado em branco.

^e > ULQ – superior ao limite superior de quantificação (*above upper limit of quantitation - ULQ*). Se os resultados em UI/mL forem superiores ao limite linear do ensaio, os resultados são apresentados com a seguinte indicação ">1,000,000,000 IU/mL HBV DNA."

LIMITAÇÕES DO PROCEDIMENTO

- **SOMENTE PARA USO DIAGNÓSTICO IN VITRO.**
- A otimização do desempenho deste ensaio requer a coleta, conservação e transporte adequados para o local do ensaio (consulte a seção **COLETA, ARMAZENAMENTO E TRANSPORTE DE AMOSTRAS PARA O LOCAL DO ENSAIO** destas Instruções de Uso).
- Podem ser utilizadas amostras de soro humano (incluindo soro coletado em tubos separadores de soro (SST)) e plasma humano (EDTA, ACD e tubos de preparação de plasma (PPT)) no ensaio Abbott RealTime HBV. O uso de outros anticoagulantes não foi validado para utilização com o ensaio Abbott RealTime HBV.
- O uso de amostras coletadas para tubos de soro que contenham o ativador Z-clot, ou tipos semelhantes de ativadores rápidos da coagulação, podem originar uma inibição dos resultados no ensaio RealTime HBV. Assim sendo, não devem ser utilizados tubos de coleta de soro contendo ativador Z-clot ou um ativador da coagulação rápida semelhante. No ensaio RealTime HBV podem ser utilizados tubos de

soro, tubos separadores de soro (SST) que não contenham ativador Z-clot e plasma (EDTA, ACD e tubos de preparação de plasma).

- Os equipamentos e os procedimentos do ensaio reduzem o risco de contaminação pelo produto amplificado. No entanto, a contaminação com ácido nucleico proveniente dos calibradores, controles positivos ou amostras deve ser controlada por práticas de laboratório adequadas e deverão ser cuidadosamente seguidos os procedimentos especificados nestas instruções de uso.
- Em casos raros, pode ocorrer um resultado positivo de nível muito baixo devido a contaminação cruzada durante o processamento de uma amostra adjacente com um número de cópias extremamente elevado. As taxas de contaminação em estudos representativos variaram entre 0% e 2%. De acordo com as diretrizes de tratamento, o aumento de 1 log é necessário de modo a surtir efeito no tratamento do paciente.^{22,23} Além disso, as diretrizes relativas ao tratamento requerem duas medições consecutivas elevadas antes de proceder a mudanças no tratamento do paciente.²⁴
- Uma amostra com um resultado "Não detectado" não pode ser considerada negativa para DNA do HBV.
- Tal como em todos os testes de diagnóstico, os resultados do ensaio Abbott RealTime HBV devem ser interpretados juntamente com outras informações clínicas e laboratoriais.

CARACTERÍSTICAS ESPECÍFICAS DE DESEMPENHO

As características de desempenho que se seguem foram determinadas utilizando o ensaio RealTime HBV com o procedimento de preparação de amostra de 0,5 mL, exceto quando especificado de outra forma.

Limite de Detecção (LOD – Limit of Detection)

O limite de detecção é definido como a concentração de DNA do HBV detectada com uma probabilidade igual ou superior a 95%.

Limite de Detecção, Volume de Amostra de 0,5 mL

O limite de detecção do ensaio Abbott RealTime HBV é de 10 UI/mL com o procedimento de preparação de amostra de 0,5 mL.

O limite de detecção foi determinado por meio de testes de diluição do Padrão Internacional para DNA do vírus da Hepatite B da OMS (NIBSC 97/746) preparado em plasma humano negativo para HBV. Os testes foram executados em 3 lotes de reagentes de amplificação em 3 equipamentos. Os resultados representativos da sensibilidade analítica do ensaio Abbott RealTime HBV encontram-se resumidos na Tabela 1.

Tabela 1

UI/mL	Nº testado	Nº detectado	% detectado
20,00	26	26	100
10,00	26	25	96
5,00	26	26	100
2,50	26	23	88
1,00	26	12	46
0,50	26	7	27
0,25	26	7	27
0,10	26	4	15

A análise Probit¹⁸ dos dados determinou que a concentração de DNA do HBV, detectada com uma probabilidade de 95%, foi de 6,40 UI/mL (IC de 95% 3,97 a 13,03 UI/mL).

Limite de Detecção, Volume de Amostra de 0,2 mL

O limite de detecção do ensaio Abbott RealTime HBV é de 15 UI/mL com o procedimento de preparação de amostra de 0,2 mL e foi determinado de acordo com o descrito no procedimento de preparação de amostra de 0,5 mL. Os resultados, representativos da sensibilidade analítica do ensaio Abbott RealTime HBV, estão resumidos na Tabela 2.

Tabela 2

UI/mL	Nº testado	Nº detectado	% detectado
40,00	27	27	100
20,00	27	27	100
10,00	27	26	96
5,00	27	23	85
2,50	27	12	44
1,00	27	11	41
0,50	27	6	22
0,20	27	0	0

A análise Probit dos dados determinou que a concentração de DNA do HBV, detectada com uma probabilidade de 95% foi de 10,66 UI/mL (IC de 95% 7,11 a 19,38 UI/mL).

Intervalo de Linearidade

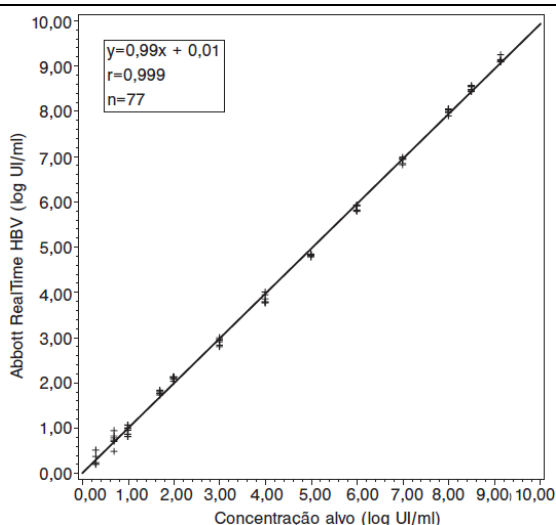
O limite superior de quantificação (*upper limit of quantitation* - ULQ) do ensaio Abbott RealTime HBV é de 1 bilhão de UI/mL e o limite inferior de quantificação corresponde ao limite de detecção (10 UI/mL para o

procedimento de preparação de amostra de 0,5 mL e, 15 UI/mL para o procedimento de preparação de amostra de 0,2 mL).

Foi testado um painel de 13 elementos preparado através da diluição de uma amostra positiva para HBV de 9,13 log UI/mL para 0,29 log UI/mL com plasma humano negativo para HBV. Foram testadas 6 réplicas de cada elemento do painel (3 réplicas por ensaio, total de 2 ensaios). Uma réplica do elemento do painel de 0,29 log UI/mL não foi detectada pelo RealTime HBV e foi excluída da análise de dados. Os resultados, representativos da linearidade do ensaio Abbott RealTime HBV, são demonstrados na Figura 1.

Foi calculada a regressão linear de mínimos quadrados conforme o documento EP6-A do CLSI.¹⁹ O ensaio RealTime HBV mostrou-se linear no plasma ao longo do intervalo das concentrações de DNA do HBV testadas.

Figura 1
Linearidade do ensaio Abbott RealTime HBV



Precisão

A precisão do ensaio Abbott RealTime HBV foi avaliada com o procedimento de preparação da amostra de 0,5 mL. Foi preparado um painel de oito elementos à base de DNA do HBV. Os elementos dos painéis 1, 4, 6 e 8 eram diluições de uma amostra de paciente de cópia elevada em plasma humano negativo. Os elementos dos painéis 2, 3, 5 e 7 eram diluições de uma amostra de paciente de cópia elevada em soro humano negativo. Foram atribuídos três lotes de reagentes de amplificação a cada um dos três equipamentos m2000. Os elementos do painel foram testados em réplicas de três em cada par de equipamentos durante cinco dias num total de 15 ensaios. A análise foi executada conforme o documento EP10-A2 do CLSI.²⁰ Foram calculados desvios padrão intra-ensaio, entre ensaios e inter-ensaio (intra-ensaio e entre ensaios). Os resultados, representativos da precisão do ensaio RealTime HBV, encontram-se resumidos na Tabela 3. O ensaio RealTime HBV apresentou um desvio padrão inter-ensaio (DP) inferior ou igual a 0,25 log UI/mL de DNA do HBV em amostras contendo concentrações de HBV entre 26 e 278 milhões UI/mL.

Tabela 3
Precisão do Abbott RealTime HBV

Elemento do Painel	n	Conc. Média (UI/mL)	Conc. Média (log UI/mL)	DP Intra-Ensaio Componentes ^a	DP Entre Ensaios Componentes ^a	DP Inter-Ensaio ^{a,b}
1	45	26	1,41	0,19	0,00	0,19
2	45	210	2,32	0,07	0,04	0,08
3	45	3.017	3,48	0,06	0,05	0,08
4	45	24.198	4,38	0,06	0,06	0,08
5	45	298.157	5,47	0,09	0,00	0,09
6	45	2.425.989	6,38	0,06	0,07	0,09
7	45	34.815.912	7,54	0,05	0,08	0,09
8	45	277.687.004	8,44	0,04	0,05	0,06

^a Desvios padrão (DP) são em log UI/mL.

^b Inter-ensaios contém os componentes intra-ensaio e entre ensaios.

Substâncias Potencialmente Interferentes

Foi avaliada a susceptibilidade do ensaio Abbott RealTime HBV à interferência de níveis elevados de substâncias endógenas. Foram testadas amostras negativas para o HBV e amostras contendo 2.933 UI/mL de DNA do HBV.

Não foi observada qualquer interferência no desempenho do ensaio Abbott RealTime HBV na análise de amostras positivas e negativas para HBV na presença das seguintes substâncias:

- Hemoglobina 500 mg/dL
- Triglicérides 3000 mg/dL
- Bilirrubina 20 mg/dL
- Proteínas 9 g/dL

Foram testados, em 5 pools, antivirais e antibióticos em concentrações superiores ou iguais aos níveis de pico do plasma ou soro. Não foi observada interferência no desempenho do ensaio Abbott RealTime HBV em nenhuma das amostras positivas e negativas para HBV na presença dos seguintes pools de fármacos:

Pool de fármacos	Fármacos testados
1	Zidovudina, saquinavir, ritonavir, claritromicina, interferon 2a, interferon 2b, didanosina
2	Sulfato de abacavir, amprenavir, peginterferon 2a, peginterferon 2b, ribavirina, entecavir, adefovir
3	Tenofovir, lamivudina, indinavir, ganciclovir, valganciclovir, aciclovir, paroxetina
4	Estavudina, efavirenz, lopinavir, enfuvirtide, ciprofloxacina, fluoxetina
5	Zalcitabina, nevirapina, nelfinavir, azitromicina, valaciclovir, sertralina

O ensaio também foi avaliado através da análise de 15 amostras clínicas positivas para dois ou mais dos seguintes marcadores virais de DNA: vírus Epstein Barr (EBV), vírus Herpes Simplex 1 (HSV-1), vírus Herpes Simplex 2 (HSV-2) e citomegalovírus (CMV). Os resultados das 15 amostras clínicas analisadas com o ensaio RealTime HBV foram negativos (não detectado).

Especificidade

A especificidade alvo do ensaio Abbott RealTime HBV é superior ou igual a 99,5%. Num estudo representativo, a especificidade foi avaliada analisando 59 amostras de soro soronegativo para HBV e 58 amostras de plasma soronegativo para HBV. As amostras foram testadas com três lotes de reagentes de amplificação num equipamento Abbott m2000. Não foi detectado DNA do HBV, resultando numa especificidade de 100% (117/117) (IC de 95%: 96,90 - 100,00% com base numa distribuição binomial).

CONTAMINAÇÃO ANALÍTICA

Foi determinada a possibilidade de contaminação através da execução de três estudos nos quais amostras positivas para HBV com um número alto de cópias foram intercaladas com amostras negativas utilizando um padrão idêntico ao de um tabuleiro de xadrez. Para estes estudos, o nível alvo para as amostras positivas para HBV com um número alto de cópias foi superior a 8 log UI/mL. A taxa de contaminação nestes estudos representativos variou entre 0% e 2%. Para resultados superiores ou iguais ao LoD, verificou-se uma taxa de contaminação geral de 0,63% (IC de 95%, 0,08% - 2,24%). Os resultados dos três estudos estão resumidos na Tabela 4.

Tabela 4

Contaminação Analítica do ensaio Abbott RealTime HBV

Estudo	Nº de Processamentos	Nº de Amostras Neg. testadas	Nº detectado	% detectado	Nº detectado (>LoD)	% detectado (>LoD)	IC 95% do detectado
1	5	100	1	1,00	0	0,00	(0,00, 3,62)
2	5	100	2	2,00	2	2,00	(0,24, 7,04)
3	6	120	2	1,67	0	0,00	(0,00, 3,03)
Geral	16	320	5	1,56	2	0,63	(0,08, 2,24)

Reatividade Cruzada

Os seguintes vírus e microrganismos foram avaliados quanto ao potencial de reatividade cruzada no ensaio Abbott RealTime HBV. Foi adicionado às amostras negativas para DNA do HBV e às amostras que continham 2.933 UI/mL de DNA do HBV, ácido nucleico purificado ou lisado viral de cada microrganismo ou vírus.

Vírus da imunodeficiência humana tipo 1	Vírus Vaccinia
Vírus da imunodeficiência humana tipo 2	Vírus polioma BK humano
Vírus linfotrópico humano de células T tipo 1	Vírus do papiloma humano tipo 16
Vírus da hepatite C	Vírus do papiloma humano tipo 18
Vírus da hepatite A	<i>Neisseria gonorrhoeae</i>
Vírus Epstein-Barr	<i>Chlamydia trachomatis</i>
Vírus herpes simplex 1	<i>Candida albicans</i>
Vírus herpes simplex 2	<i>Staphylococcus aureus</i>
Citomegalovírus	<i>Staphylococcus epidermidis</i>
Vírus herpes humano 6B	<i>Mycobacterium gordonae</i>
Vírus herpes humano 8	<i>Mycobacterium smegmatis</i>
Vírus varicela-zoster	

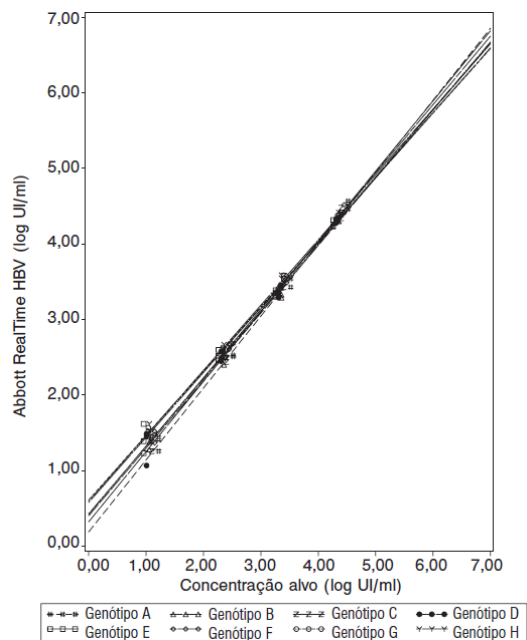
Não foi observada interferência no desempenho do ensaio Abbott RealTime

HBV em nenhuma das amostras positivas e negativas testadas na presença de potenciais reagentes cruzados.

Detecção e Quantificação de Genótipos do HBV

A capacidade do ensaio RealTime HBV para detectar e quantificar genótipos do HBV foi avaliada em dois estudos. No primeiro estudo, a linearidade da diluição foi demonstrada diluindo 8 amostras, uma de cada genótipo, do A ao H, para concentrações alvo de 4,47 log UI/mL, 3,47 log UI/mL, 2,47 log UI/mL e 1,17 log UI/mL. Foram testadas 3 réplicas de cada concentração para cada genótipo. As análises de regressão linear de mínimos quadrados para estes dados representativos são apresentadas na Figura 2. Os coeficientes de correlação variaram entre 0,995 e 0,999.

Figura 2
Abbott RealTime HBV detecção de genótipos (linearidade da diluição)

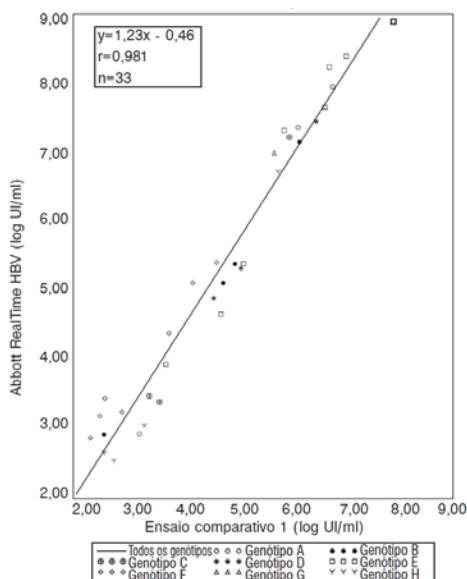


No segundo estudo, foram testadas com o ensaio RealTime HBV³³ amostras representativas de cada genótipo. Os resultados estão resumidos na Tabela 5. A correlação entre os resultados do ensaio RealTime HBV e os resultados do ensaio comparativo (ensaio comparativo 1), utilizando a análise de regressão de mínimos quadrados, é apresentada na Figura 3. A análise de comparação de métodos foi realizada conforme indicado no documento EP9-A2 do CLSI.²¹

Tabela 5

Genótipos do HBV	Nº de Amostras Testadas	Nº de Amostras Detectadas	% Detectado
A	3	3	100
B	4	4	100
C	3	3	100
D	3	3	100
E	8	8	100
F	7	7	100
G	1	1	100
H	4	4	100
Total	33	33	100

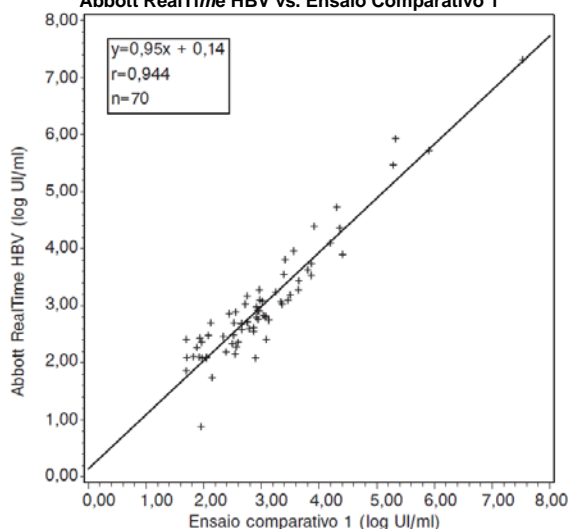
Figura 3
Abbott RealTime HBV Detecção de Genótipos



Correlação

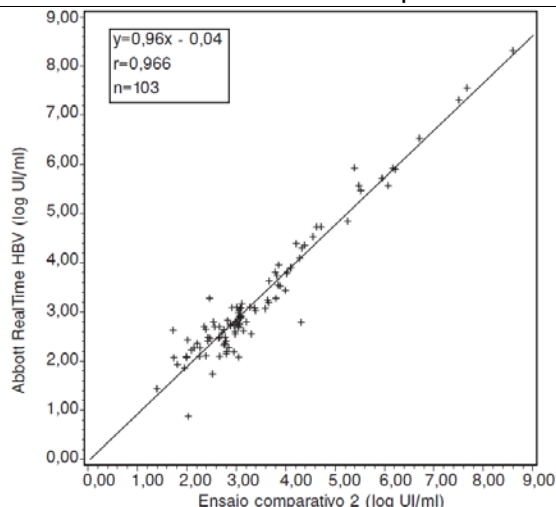
Foram testadas amostras provenientes de 79 pacientes positivos para HBV com o ensaio RealTime HBV e um ensaio comparativo (ensaio comparativo 1). A análise da comparação de métodos foi executada de acordo com a diretriz EP9-A2 do CLSI. Nove amostras apresentaram resultados acima do limite superior de detecção do ensaio comparativo e foram excluídas da análise de correlação. A análise de regressão linear de mínimos quadrados é apresentada na **Figura 4**.

Figura 4
Abbott RealTime HBV vs. Ensaio Comparativo 1



Foram testadas amostras provenientes de 106 pacientes positivos para HBV com o ensaio RealTime HBV e um ensaio comparativo (ensaio comparativo 2). Três amostras apresentaram resultados acima do limite superior de detecção do ensaio comparativo e foram excluídas da análise de correlação. A análise de regressão linear de mínimos quadrados é apresentada na **Figura 5**.

Figura 5
Abbott RealTime HBV vs. Ensaio Comparativo 2



BIBLIOGRAFIA

- Lok AS, McMahon BJ. Chronic Hepatitis B. *Hepatology* 2001; 34(6):1225-41.
- Viral Hepatitis B page. Centers for Disease Control and Prevention Web site. Available at: <http://www.cdc.gov/ncidod/diseases/hepatitis/b/index.htm>. Accessed July 26, 2006.
- Wright TL. Introduction to Chronic Hepatitis B Infection. *Am J Gastroenterol* 2006;101:S1-S6.
- Lok A, McMahon BJ, Chronic Hepatitis B: Update of Recommendations. *Hepatology* 2004;39(3):857-61.
- European Association for the Study of the Liver. EASL International Consensus Conference on Hepatitis B. *J Hepatol* 2003;39:S3-S25.
- Liaw Y-F, Leung N, Guan R, et al. Asia-Pacific consensus statement on the management of chronic hepatitis B: a 2005 update. *Liver International* 2005;25:472-89.
- Terrault N. Natural history, diagnostics, and clinical profiles of persons with chronic hepatitis B. Presented at: The 2nd Annual Clinical Care Options for Hepatitis Symposium, Annual Report; June 24, 2004; Dana Point, CA. Available at: <http://clinicaloptions.com/Hepatitis/AnnualUpdates/2004AnnualUpdate.aspx> Accessed September 22, 2006.
- Hepatitis B Foundation. HBF Drug Watch. Available at: http://www.hepb.org/professionals/hbf_drug_watch.htm. Accessed July 26, 2006.
- Mommeja-Marin H, Mondou E, Blum MR, et al. Serum HBV DNA as a marker of efficacy during therapy for chronic HBV infection: Analysis and review of the literature. *Hepatology* 2003;37(6):1309-19.
- Prange R, Nagel R, Streeck RE. Deletions in the hepatitis B virus small envelope protein: effect on Assembly and Secretion of surface antigen particles. *J Virol* 1992;66(10):5832-41.
- Saldanha J, Gerlich W, Lelie N, et al. An International Collaborative Study to Establish a WHO International Standard for HBV DNA Nucleic Acid Amplification Technology Assay. WHO Expert Committee on Biological Standardization: Fiftieth Report, Geneva, Switzerland;1999. WHO Technical Report Series No. 904;BS/99.1917.
- Boom R, Sol CJA, Heijntik R, et al. Rapid purification of hepatitis B virus DNA from serum. *J Clin Microbiol* 1991;29(9):1804-11.
- Read SJ. Recovery efficiencies of nucleic acid extraction kits as measured by quantitative LightCycler PCR. *J Clin Pathol: Mol Pathol* 2001;54:86-90.
- US Department of Health and Human Services. Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories. 5th ed. Washington, DC: US Government Printing Office; December 2009. [Also available online. Type> www.cdc.gov, search>BMBL5>look up sections III and IV.]
- US Department of Labor, Occupational Safety and Health Administration. 29 CFR Part 1910.1030. Bloodborne Pathogens.
- Clinical and Laboratory Standards Institute. Protection of Laboratory Workers from Occupationally Acquired Infections: Approved Guideline—Third Edition. CLSI Document M29-A3. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2005.
- World Health Organization. Laboratory Biosafety Manual. 3rd ed. Geneva, Switzerland: World Health Organization; 2004.
- Agresti A. Categorical Data Analysis. New York, NY: John Wiley and Sons; 1990.
- National Committee for Clinical Laboratory Standards. Evaluation of the Linearity of Quantitative Measurement Procedures: A Statistical Approach; Approved Guideline - NCCLS Document EP6-A, NCCLS: Wayne, PA, 2002.

20. National Committee for Clinical Laboratory Standards. Preliminary Evaluation of Quantitative Clinical Laboratory Methods; Approved Guideline - Second Edition. NCCLS Document EP10-A2. NCCLS: Wayne, PA, 2002.
21. National Committee for Clinical Laboratory Standards. Method Comparison and Bias Estimation Using Patient Samples; Approved Guideline - Second Edition. NCCLS Document EP9-A2, NCCLS Wayne, PA, 2002.
22. American Association for the Study of Liver Diseases Practice Guideline: Chronic Hepatitis B. *Hepatology*. 2007;45(2):507-39.
23. National Institutes of Health Consensus Development Conference Statement: Management of Hepatitis B. *Ann Intern Med*. 2009;150(2):104-10.
24. Virologic Monitoring of Hepatitis B Virus Therapy in Clinical Trials and Practice: Recommendations for a Standard Approach. *Gastroenterology*. 2008;134:405-15.

MARCAS

Abbott RealTime HBV está coberto pela patente norte-americana nº 7.015.317 atribuída a Abbott Laboratories.

Abbott *m*, *m2000*, *m2000sp* e *m2000rt* são marcas comerciais de Abbott Laboratories.

ProClin é marca comercial registrada de Rohm and Haas

AmpliTaq Gold é marca comercial registrada de Roche Molecular Systems, Inc.

FAM e ROX são marcas comerciais de Life Technologies Corporation ou suas subsidiárias nos EUA e/ou outros países.

VIC é marca comercial registrada de Life Technologies Corporation ou suas subsidiárias nos EUA e/ou outros países.

ASSISTÊNCIA TÉCNICA

Centro de Serviço ao Cliente: 0800-70-20711

Rua Michigan, 735 – Cidade Monções

04566-905 – São Paulo – SP – Brasil



Fabricado por:

Abbott Molecular, Inc.
1300 East Touhy Avenue
Des Plaines, IL 60018, EUA



Distribuído no Brasil por:

Abbott Laboratórios do Brasil Ltda.
Rua Michigan, 735, Cidade Monções
04566-905 – São Paulo – SP – Brasil
CNPJ nº 56.998.701/0001-16



Responsável Técnica:

Danielle P. Angelino
CRF-SP 31.754

Registro ANVISA nº 80146501582

Nº de lote e data de validade: vide rótulo do estojo

Data da Revisão (R11): Outubro de 2014