







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 HIV-1 é um ensaio para uso *in vitro* de transcriptase reversa associada à reação em cadeia da polimerase (RT-PCR) para a quantificação do vírus da imunodeficiência humana tipo 1 (HIV-1) em plasma humano de indivíduos infectados pelo HIV-1.

Nota: Alterações em Destaque

Legenda dos Símbolos Utilizados			
REF	Número de Lista	CAL B	Calibrador B
LOT	Número de Lote	INTERNAL CONTROL	Controle Interno
IVD	Dispositivo Médico de Uso Diagnóstico <i>In Vitro</i>	AMPLIFICATION REAGENT PACK	Kit de Reagente de Amplificação
	Prazo de Validade		Limite Superior de Temperatura
CONTROL -	Controle Negativo		Consulte as Instruções de Uso
CONTROL L	Controle Positivo Baixo		Atenção
CONTROL H	Controle Positivo Alto		Atenção
CAL A	Calibrador A		Fabricante
		EC REP	Representante autorizado na Comunidade Europeia

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

C.S.C. 0800-11-9099

NOME

Abbott RealTime HIV-1

USO PRETENDIDO:

Abbott RealTime HIV-1 é um ensaio para uso *in vitro* de transcriptase reversa associada à reação em cadeia da polimerase (RT-PCR) para a quantificação do vírus da imunodeficiência humana tipo 1 (HIV-1) em plasma humano de indivíduos infectados pelo HIV-1. O ensaio Abbott RealTime HIV-1 é indicado para uso em conjunto com dados clínicos e outros marcadores laboratoriais como indicador de prognóstico de doença, bem como para auxiliar na avaliação da resposta viral ao tratamento antirretroviral, medida através das alterações nos níveis plasmáticos do RNA do HIV-1. Este ensaio não é indicado para uso como teste de triagem para HIV-1 nem como teste diagnóstico para confirmar a presença de infecção pelo HIV-1.

RESUMO E EXPLICAÇÃO DO TESTE

O vírus da imunodeficiência humana (HIV) é o agente etiológico da Síndrome da Imunodeficiência Adquirida (AIDS).¹⁻³ Pode ser transmitido por contato sexual, exposição a sangue ou hemoderivados infectados ou através de uma mãe infectada para o feto.⁴ A síndrome aguda do HIV, caracterizada por sintomas semelhantes aos da gripe, desenvolve-se de três a cinco semanas após a infecção inicial e está associada a níveis elevados de viremia.^{5,6} De quatro a seis semanas após o aparecimento dos sintomas, a resposta imune específica ao HIV é detectável.^{7,8} Após a soroconversão, a carga viral no sangue periférico diminui e a maioria dos pacientes entra em uma fase assintomática que pode durar vários anos.⁹

A determinação quantitativa dos níveis de HIV no sangue periférico contribui significativamente para a compreensão da patogênese da infecção pelo HIV.^{10,11} e mostrou ser um parâmetro essencial no prognóstico e tratamento de pacientes infectados pelo HIV.¹²⁻¹⁷ As decisões sobre o início ou as mudanças na terapia antirretroviral são tomadas com base no monitoramento dos níveis plasmáticos de RNA do HIV (carga viral), na contagem de células T CD4+ e nas condições clínicas do paciente.^{17,18} O objetivo da terapia antirretroviral é reduzir a presença do vírus do HIV no plasma até níveis que não sejam detectados pelos testes de carga viral disponíveis.^{17,19}

Os níveis plasmáticos de RNA do HIV podem ser quantificados por tecnologias de amplificação do ácido nucleico ou de amplificação de sinais.²⁰⁻²² O ensaio Abbott RealTime HIV-1 utiliza a tecnologia de reação em cadeia da polimerase (PCR) com detecção homogênea de fluorescência em tempo real. A concepção da sonda fluorescente de cadeia parcialmente dupla possibilita a detecção dos diversos subtipos do grupo M e isolados do grupo O. O ensaio é padronizado com base em um padrão viral do *Virology Quality Assurance (VQA) Laboratory* do *AIDS Clinical Trial Group*,²³ e em conformidade com o 1º Padrão Internacional para RNA do HIV-1 (97/656) da Organização Mundial de Saúde (OMS).^{24,25} Os resultados do ensaio podem ser apresentados em cópias/mL ou Unidades Internacionais/mL (UI/mL).

PRINCÍPIOS BIOLÓGICOS DO PROCEDIMENTO

O ensaio Abbott RealTime HIV-1 é composto por três kits de reagente:

- Abbott RealTime HIV-1 Amplification Reagent Kit
- Abbott RealTime HIV-1 Control Kit
- Abbott RealTime HIV-1 Calibrator Kit

O ensaio Abbott RealTime HIV-1 utiliza a RT-PCR²⁶ para gerar o produto amplificado a partir do genoma de RNA do HIV-1 das amostras clínicas. Uma sequência de RNA sem relação com a sequência alvo do HIV-1 é introduzida em cada uma das amostras no início da preparação de amostras. Esta sequência de RNA isolada é simultaneamente amplificada por RT-PCR e serve como um controle interno (CI) para demonstrar que o processo foi realizado corretamente para cada uma das amostras. A quantidade de sequência alvo do HIV-1 presente em cada ciclo de amplificação é medida no instrumento Abbott *m2000rt* através do uso de sondas de oligonucleotídeos marcadas por fluorescência. As sondas não geram sinal se não estiverem especificamente ligadas ao produto amplificado. O ciclo de amplificação no qual o sinal fluorescente é detectado pelo Abbott *m2000rt* é proporcional ao *log* da concentração de RNA do HIV-1 presente na amostra original.

Preparação da Amostra

O objetivo da preparação da amostra é extrair e concentrar as moléculas de RNA alvo para tornar o alvo acessível para amplificação e remover potenciais inibidores da amplificação do extrato.

O Abbott *mSample Preparation System* (4 x 24 preparações) é um sistema que utiliza a tecnologia de partículas magnéticas para capturar ácidos nucleicos e lava as partículas para remover os componentes não ligados da amostra. Os ácidos nucleicos ligados são eluídos e transferidos para tubos de saída ou para uma placa de 96 cavidades fundas. Dessa forma, os ácidos nucleicos estão prontos para a amplificação. O CI é utilizado em todo o procedimento de preparação da amostra, juntamente com os calibradores, controles e amostras.

Dois sistemas de instrumentos automatizados, o Abbott *m2000sp* ou Abbott

m1000 System, podem ser utilizados na preparação de amostras para o ensaio Abbott RealTime HIV-1. O Abbott *m2000sp* fornece uma preparação automática de transferência e reação da amostra eluída na placa Abbott 96-Well Optical Reaction Plate, enquanto o Abbott *m1000 System* requer uma preparação manual de transferência e reação da amostra eluída.

Como método alternativo, as amostras podem ser preparadas manualmente, utilizando o Abbott *mSample Preparation System* e, em seguida, a preparação manual da reação.

Preparação do Reagente e da Placa de Reação

O equipamento Abbott *m2000sp* combina os componentes do reagente de amplificação Abbott RealTime HIV-1 (reagente de oligonucleotídeos do HIV-1, enzima rTth da polimerase termoestável e reagente de ativação). O Abbott *m2000sp* dispensa a *master mix* resultante na placa Abbott 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*.

Os usuários do Abbott *m1000 System* e do método de preparação manual de amostra misturam manualmente os componentes do reagente de amplificação Abbott RealTime HIV-1 para criar a *master mix* mistura principal de amplificação e transferir as alíquotas da mistura principal e as amostras eluídas para a placa de reação. Após a aplicação manual do selo ótico e a centrifugação, a placa está pronta para ser transferida para o Abbott *m2000rt*.

Amplificação

Durante a reação de amplificação no Abbott *m2000rt*, o RNA alvo é convertido em cDNA por ação da transcriptase reversa da polimerase termoestável rTth do DNA. Primeiramente, os *primers* reversos do HIV-1 e do CI se ligam aos respectivos alvos e são prolongados durante um período longo de incubação. Após uma etapa de desnaturação, na qual a temperatura da reação é elevada acima do ponto de fusão das cadeias duplas do produto cDNA:RNA, um segundo *primer* liga-se à cadeia de cDNA e é prolongado pela ação da DNA polimerase da enzima rTth, para criar um produto de DNA de cadeia dupla.

Durante cada turno de ciclos térmicos, quando submetidos a temperaturas elevadas, os produtos da amplificação se dissociam formando cadeias únicas, possibilitando a ligação e o prolongamento do *primer* à medida que a temperatura vai baixando. A amplificação exponencial do produto é conseguida através de ciclos repetidos de temperaturas altas e baixas, resultando numa amplificação das sequências alvo igual ou superior a um bilhão de dobras. A amplificação de ambos os alvos (HIV-1 e CI) ocorre simultaneamente na mesma reação.

A sequência alvo para o ensaio Abbott RealTime HIV-1 encontra-se na região *pol integrase* do genoma do HIV-1. Esta região encontra-se altamente conservada.²⁷ Os *primers* são concebidos para hibridizar até a região *pol integrase* com o menor número possível de não correspondências entre os vários subtipos.

A sequência alvo do CI é obtida a partir do gene redutase hidroxipiruvato da abóbora, *Cucurbita pepo*, e é distribuída em uma partícula de Armored RNA[®] diluída em plasma humano negativo.

Deteção

Durante os ciclos de leitura da amplificação no Abbott *m2000rt*, a temperatura é reduzida para valores ainda mais baixos, para permitir a detecção da fluorescência dos produtos da amplificação, enquanto as sondas do HIV-1 e do CI se ligam aos respectivos alvos (detecção da fluorescência em tempo real). A sonda do HIV-1 possui uma porção fluorescente que está covalentemente ligada à extremidade 5'. Um oligonucleotídeo curto (oligonucleotídeo desativador) é complementar à extremidade 5' da sonda do HIV-1 e possui uma molécula desativadora na sua extremidade 3'. Na ausência do alvo do HIV-1, a fluorescência da sonda HIV-1 é anulada através da hibridização a oligonucleotídeo desativador. Na presença da sequência alvo de HIV-1, a sonda do HIV-1 hibridiza, preferencialmente, para a sequência alvo, dissociando-se do oligonucleotídeo desativador, e permitindo assim a detecção da fluorescência.

A sonda do CI é um oligonucleotídeo de DNA de cadeia única com um fluoróforo na extremidade 5' e um desativador na extremidade 3'. Na ausência de sequências alvo do CI, a fluorescência da sonda é anulada. Na presença da sequência alvo do CI, a hibridização da sonda para as sequências complementares separa o fluoróforo e o desativador e permite a emissão e a detecção de fluorescência.

As sondas específicas do HIV-1 e do CI estão marcadas com um fluoróforo diferente, possibilitando assim a detecção simultânea de ambos os produtos amplificados em cada ciclo. O ciclo de amplificação no qual o sinal fluorescente é detectado pelo Abbott *m2000rt* é proporcional ao *log* da concentração de RNA do HIV-1 presente na amostra original.

EVITAR A CONTAMINAÇÃO COM ÁCIDO NUCLEICO

A possibilidade de contaminação com ácido nucleico é minimizada porque:

- A transcriptase reversa, amplificação PCR e a hibridização de oligonucleotídeos ocorrem em uma placa selada Abbott 96-Well Optical

Reaction Plate;

- 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 pontas com barreira contra aerossóis ou pipetas de transferência descartáveis. Depois do uso, as pontas de pipeta e as pipetas descartáveis são eliminadas;
- O ensaio Abbott RealTime HIV-1 é realizado em áreas específicas separadas; consulte a seção **PRECAUÇÕES ESPECIAIS** destas Instruções de Uso.

REAGENTES

Abbott RealTime HIV-1 Amplification Reagent Kit (Nº de Lista 2G31-90)

1. **INTERNAL CONTROL** Abbott RealTime HIV-1 Internal Control (Nº de Lista 2G31Y)
(4 frascos, 1,2 mL por frasco)
 - < 0,01% de Armored RNA não infeccioso com sequências de controle interno em plasma humano negativo. O plasma humano negativo foi testado e considerado não reativo para HBsAg, RNA do HIV, RNA do HCV, DNA do HBV, anticorpos anti-HIV-1/HIV-2 e anti-HCV. Conservantes: ProClin[®] 300 a 0,1% e ProClin 950 a 0,15%.
2. **AMPLIFICATION REAGENT PACK** Abbott RealTime HIV-1 Amplification Reagent Pack (Nº de Lista 2G31)
(4 embalagens, 24 testes/embalagem)
 - 1 frasco (0,141 mL) de Enzima rTth Polimerase Termooestável (2,9 a 3,5 unidades/µL em solução tamponada)
 - 1 frasco (1,10 mL) de Reagente de Oligonucleotídeos do HIV-1.
< 0,1% de oligonucleotídeos sintéticos (4 primers, 2 sondas e 1 oligonucleotídeo desativador) e < 0,3% de dNTPs em solução tamponada com corante de referência. Conservantes: Proclin 300 a 0,1% e ProClin 950 a 0,15%.
 - 1 frasco (0,40 mL) de Reagente de Ativação. 30 mM de solução de cloreto de manganês. Conservantes: Proclin 300 a 0,1% e ProClin 950 a 0,15%.

Abbott RealTime HIV-1 Control Kit (Nº de lista 2G31-80)

1. **CONTROL -** Abbott RealTime HIV-1 Negative Control (Nº de Lista 2G31Z)
(8 frascos, 1,8 mL por frasco)
Plasma humano negativo testado e considerado não reativo para HBsAg, RNA do HIV, RNA do HCV, DNA do HBV, anticorpos anti-HIV-1/HIV-2 e anti-HCV. Conservantes: ProClin 300 a 0,1% e ProClin 950 a 0,15%.
2. **CONTROL | L** Abbott RealTime HIV-1 Low Positive Control (Nº de Lista 2G31W)
(8 frascos, 1,8 mL por frasco)
Armored RNA não infeccioso com sequências de HIV-1 em plasma humano negativo. O plasma humano negativo foi testado e considerado não reativo para HBsAg, RNA do HIV, RNA do HCV, DNA do HBV, anticorpos anti-HIV-1/HIV-2 e anti-HCV. Conservantes: ProClin 300 a 0,1% e ProClin 950 a 0,15%.
3. **CONTROL | H** Abbott RealTime HIV-1 High Positive Control (Nº de Lista 2G31X)
(8 frascos, 1,8 mL por frasco)
Armored RNA não infeccioso com sequências de HIV-1 em plasma humano negativo. O plasma humano negativo foi testado e considerado não-reativo para HBsAg, RNA do HIV, RNA do HCV, DNA do HBV, anticorpos anti-HIV-1/HIV-2 e anti-HCV. Conservantes: ProClin 300 a 0,1% e ProClin 950 a 0,15%.

Abbott RealTime HIV-1 Calibrator Kit (Nº de Lista 2G31-70)

1. **CAL | A** Abbott RealTime HIV-1 Calibrator A (Nº de Lista 2G31A)
(12 frascos, 1,8 mL por frasco)
Armored RNA não infeccioso com sequências de HIV-1 em plasma humano negativo. O plasma humano negativo foi testado e considerado não reativo para HBsAg, RNA do HIV, RNA do HCV, DNA do HBV, anticorpos anti-HIV-1/HIV-2 e anti-HCV. Conservantes: ProClin 300 a 0,1% e ProClin 950 a 0,15%.
2. **CAL | B** Abbott RealTime HIV-1 Calibrator B (Nº de Lista 2G31B)
(12 frascos, 1,8 mL por frasco).
Armored RNA não infeccioso com sequências de HIV-1 em plasma humano negativo. O plasma humano negativo foi testado e considerado não reativo para HBsAg, RNA do HIV, RNA do HCV, DNA do HBV, anti-HIV-1/HIV-2 e anti-HCV. Conservantes: ProClin 300 a 0,1% e ProClin 950 a 0,15%.

ADVERTÊNCIAS E PRECAUÇÕES

IVD

Dispositivo médico somente para uso diagnóstico *in vitro*.

Este ensaio não é indicado para uso como teste de triagem para HIV-1 nem como teste de diagnóstico para confirmar a presença de infecção pelo HIV-1.

Precauções de Segurança

Para instruções sobre precauções de segurança consulte o Manual de Operações do Abbott m1000, seção "Segurança", Manual de Preparação de Amostras para Procedimentos de Ensaio Abbott RealTime RNA, seção "Precauções de Manuseio", ou os Manuais de Operações dos equipamentos Abbott m2000sp e Abbott m2000rt, seção "Perigo".



ATENÇÃO: Esta preparação contém componentes de origem humana e/ou componentes potencialmente infectantes. Os componentes com origem em sangue humano foram testados e considerados não reativos, através de testes aprovados pelo FDA, para anticorpos contra o HCV, anticorpos contra o HIV-1, anticorpos contra o HIV-2 e para HBsAg. O material também foi testado e considerado negativo, através de métodos PCR aprovados pelo FDA, para HIV RNA e HCV RNA. Nenhum método de ensaio pode garantir de forma absoluta que produtos de origem humana ou microrganismos inativados não transmitirão infecção. Estes reagentes e amostras humanas devem ser manuseados como sendo infecciosos utilizando procedimentos laboratoriais seguros, tais como os descritos na publicação *Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories*,²⁸ na norma *Standards on Bloodborne Pathogens* da OSHA,²⁹ no documento M29-A3 do CLSI³⁰ e outras práticas apropriadas de biossegurança.³¹ Assim sendo, todos os materiais de origem humana devem ser considerados infecciosos.

Essas precauções incluem, entre outras, o seguinte:

- Usar luvas ao manusear amostras ou reagentes,
- Não pipete 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.²⁸
- Descontaminar e descartar todos os materiais potencialmente infectantes de acordo com os regulamentos aplicáveis.³¹

Os componentes dos kits Abbott RealTime HIV-1 Amplification Reagent Kit (Nº de Lista 2G31-90), do Abbott RealTime HIV-1 Calibrator Kit (Nº de Lista 2G31-70) e do Abbott RealTime HIV-1 Control Kit (Nº de Lista 2G31-80) contêm os seguintes componentes:

- 2-Metil-2H-isotiazol-3-ona
- Massa de reação de: 5-cloro-2-metil-4-isotiazolina-3-ona (Nº CE 247-500-7) e 2-metil-2H-isotiazol-3-ona (Nº CE 220-239-6) (3:1)
- Massa de reação de: 5-cloro-2-metil-4-isotiazolina-3-ona (Nº CE 247-500-7) e 2-metil-4-isotiazolina-3-ona (Nº CE 220-239-6) (3:1)

Aplicam-se os seguintes avisos:



Atenção

H317	Pode provocar uma reação alérgica cutânea.
P261	Evite respirar as névoas/vapores/aerossóis.
P272	A roupa de trabalho contaminada não pode sair do local de trabalho.
P280	Use luvas de proteção/vestuário de proteção/proteção ocular.
P302+P352	SE ENTRAR EM CONTATO COM A PELE: Lavar com água em abundância.
P333+P313	Em caso de irritação ou erupção cutânea: consulte um médico.
P362+P364	Retirar a roupa contaminada e lavá-la antes de voltar a usar.
P501	Descarte o conteúdo/recipiente de acordo com os regulamentos locais.

PRECAUÇÕES ESPECIAIS

Precauções de Manuseio

O ensaio Abbott RealTime HIV-1 destina-se unicamente ao uso com amostras de plasma que foram 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 os riscos de contaminação cruzada entre amostras e evitar a introdução acidental de ribonucleases (RNases) nas amostras durante e após o procedimento de extração. Técnicas apropriadas de assepsia devem ser sempre utilizadas quando se trabalha com RNA. As tecnologias de amplificação, como por exemplo a PCR, são sensíveis à introdução acidental de produto proveniente de reações de amplificações anteriores. Resultados incorretos poderão ocorrer se a amostra clínica ou os reagentes RealTime utilizados na etapa de amplificação forem 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

Três áreas reservadas devem ser utilizadas dentro do laboratório para

executar o ensaio Abbott RealTime HIV-1 com o Abbott m1000 System ou a preparação manual de amostras utilizando o Abbott mSample Preparation System e o Abbott m2000rt:

- A **Área de Preparação de Reagente** é específica para a combinação dos componentes do reagente de amplificação Abbott RealTime HIV-1, para criar a *master mix* de amplificação e para transferir as alíquotas da *master mix* para a placa de reação. Aventais de laboratório, pipetas, ponteiros de pipeta e agitadores tipo vórtex utilizados na **área de preparação de reagentes** devem permanecer nesta área e não devem ser levados para a **área de preparação de amostras** nem para a **área de amplificação**.
- A **Área de Preparação de Amostras** é específica para o processamento das amostras (amostras, controles e calibradores do Abbott RealTime HIV-1) e para a adição de amostras, controles e calibradores processados na placa Abbott 96-Well Optical Reaction Plate. **Todos os reagentes utilizados na área de preparação de amostras devem permanecer sempre nessa área específica. Aventais de laboratório, pipetas, ponteiros de pipeta e agitadores tipo vórtex utilizados na área de preparação de amostras devem permanecer nesta área e não devem ser levados para a área de preparação de reagentes nem para a área de amplificação. Não transportar o produto da amplificação para a área de preparação de amostras.**
- A **Área de Amplificação** destina-se exclusivamente à amplificação e detecção de produto amplificado. Aventais de laboratório e equipamentos utilizados na **Área de Amplificação** devem permanecer nessa área e não devem ser levados para a **Área de Preparação de Reagentes** nem para a **Área de Preparação de Amostras**.

Quando forem utilizados os equipamentos Abbott m2000sp e Abbott m2000rt recomenda-se apenas a utilização de duas áreas reservadas, **Área de Preparação de Amostras e Área de Amplificação**.

Os componentes de cada kit devem ser utilizados em conjunto. Não misture componentes provenientes de kits com 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 das datas apresentadas nos rótulos do kit.

A área de trabalho e as plataformas dos aparelhos devem ser consideradas como potenciais fontes de contaminação. Troque as luvas após o contato com potenciais contaminantes (amostras, eluídos e/ou produto amplificado), antes de manusear frascos novos de reagentes, controles negativos, controles positivos, calibradores ou amostras. Para informações sobre os procedimentos de limpeza dos instrumentos consulte os Manuais de Operações do Abbott m1000, Abbott m2000sp e do Abbott m2000rt.

Se o funcionamento do Abbott m1000 System ou do equipamento Abbott m2000sp for cancelado, descarte todos os materiais e reagentes de acordo com o Manual de Operações do Abbott m1000 System ou o Manual de Operações do Abbott m2000sp. Se o protocolo de adição da *master mix* 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 funcionamento do 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.

Descontamine e descarte todos os materiais biológicos potencialmente perigosos de acordo com os regulamentos aplicáveis.³¹ 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, se os materiais residuais não forem devidamente manuseados e conservados.

Contenção de Aerossóis

Para reduzir o risco de contaminação do ácido nucleico por aerossóis formados durante a pipetagem manual, devem ser utilizadas ponteiros de pipeta com barreiras de aerossóis em todas as pipetagens manuais. As ponteiros 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 m1000 ou dos Manuais 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 RNase, 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 com ácido nucleico por aerossóis formados durante a pipetagem, devem ser utilizadas ponteiros 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 que contém a amostra. Recomenda-se o uso de ponteiros de pipeta com barreira alongada contra aerossóis.
- Em TODAS as transferências manuais de líquidos, substitua as ponteiros de pipeta com barreira contra aerossóis.
- Os reagentes Abbott mSample Preparation System (4 x 24 preparações) devem ser utilizados uma única vez. Utilizar novas cubetas de reagentes, cubetas de reação e reagentes novos em cada novo ensaio Abbott RealTime HIV-1. 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 m1000 ou no Manual de Operações do Abbott m2000sp e nas instruções de uso do Abbott mSample Preparation System (4 x 24 preparações).

INSTRUÇÕES DE ARMAZENAMENTO


Abbott RealTime HIV -1 Amplification Reagent Kit

(Nº de lista 2G31-90)

 Os frascos do kit Abbott RealTime HIV-1 Amplification Reagent Pack e Internal Control devem ser armazenados a -10°C ou temperatura inferior, quando não estiverem em uso. Separar, cuidadosamente, a embalagem de reagente de amplificação Abbott RealTime HIV-1 que está em uso para evitar o contato direto com amostras, calibradores e controles.


Abbott RealTime HIV-1 Control Kit

(Nº de lista 2G31-80)

 Os controles negativo e positivo Abbott RealTime HIV-1 devem ser armazenados a -10°C ou temperatura inferior.

Abbott RealTime HIV-1 Calibrator Kit

(Nº de lista 2G31-70)

 O Calibrador A e o Calibrador B Abbott RealTime HIV-1 devem ser armazenados a -10°C ou temperatura inferior.

CONDIÇÕES DE TRANSPORTE

- Abbott RealTime HIV-1 Amplification Reagent Kit: Transportar em gelo seco.
- Abbott RealTime HIV-1 Control Kit: Transportar em gelo seco.
- Abbott RealTime HIV-1 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, os reagentes podem estar deteriorados. Os resultados de testes associados são inválidos e as amostras devem ser novamente analisadas. Poderá ser necessária uma nova calibração do ensaio.

PROCEDIMENTOS DO INSTRUMENTO

O software dos ensaios de ácido nucleico (NAT) deve ser instalado no Abbott m1000 System antes da realização do ensaio. Para obter mais informações sobre a instalação do software NAT, consulte o Manual de Operações do Abbott m1000, seção Como Colocar em Operação.

Os arquivos de aplicação Abbott RealTime HIV-1 devem ser instalados nos sistemas Abbott m2000sp e Abbott m2000rt a partir do CD-ROM Abbott RealTime HIV-1 m2000 ROW System Combined Application antes da realização do ensaio. Para mais informações sobre a instalação dos arquivos de aplicação, consulte os Manuais de Operações do Abbott m2000sp e do Abbott m2000rt, seção Instruções de Operação.

COLETA, ARMAZENAMENTO E TRANSPORTE DE AMOSTRAS PARA O LOCAL DE TESTE

Coleta e Armazenamento de Amostras

Amostras de plasma humano (ACD-A e EDTA) podem ser utilizadas com o ensaio Abbott RealTime HIV-1. Siga as instruções do fabricante relativas ao processamento de tubos de coleta de plasma.

Amostras frescas (sangue total) podem ser mantidas durante um período máximo de 6 horas entre 15 a 30°C ou durante um período máximo de 24 horas antes da centrifugação entre 2 a 8°C, antes de serem centrifugadas.

Separar o plasma das células através da centrifugação.

Após a centrifugação, o plasma pode ser retirado das células. As amostras de plasma podem ser armazenadas durante um período máximo de 24 horas entre 15 a 30°C ou durante um período máximo de 5 dias entre 2 a 8°C.

Se for necessário armazenar amostras de plasma por um período mais longo, estas deverão ser mantidas a -70°C ou temperatura inferior.^{32,33} Deve-se evitar múltiplos ciclos de congelamento/descongelamento. Se as

amostras de plasma estiverem congeladas, descongele-as entre 15 a 30°C ou entre 2 a 8°C. Uma vez descongeladas, se não forem processadas imediatamente, as amostras de plasma poderão ser armazenadas entre 2 a 8°C durante um período máximo de 6 horas.

NOTA: As amostras de plasma não devem ser congeladas em tubos de coleta de sangue sem gel.

Transporte de Amostras

Transportar as amostras de acordo com a temperatura indicada para armazenamento e durante os períodos de tempo apresentados na seção **Coleta e Armazenamento de Amostras**, acima. 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.

PROCEDIMENTO DO ENSAIO ABBOTT RealTime HIV-1

Estas instruções de uso do Abbott RealTime HIV-1 contêm dois protocolos de ensaio:

- Amostras preparadas para amplificação usando o Abbott *m1000* System ou o método de preparação manual de amostras seguem o **PROTOCOLO DE ENSAIO I**.
- Amostras preparadas para a amplificação usando o equipamento Abbott *m2000sp* seguem o **PROTOCOLO DE ENSAIO II**.

O ensaio Abbott RealTime HIV-1 dispõe de quatro opções de volume de amostra (0,2 mL, 0,5 mL, 0,6 mL e 1,0 mL). (Consulte a etapa 6 do protocolo de ensaio e a seção **INTERPRETAÇÃO DE RESULTADOS**).

Material Incluído

- Abbott RealTime HIV-1 Amplification Reagent Kit (Nº de Lista 2G31-90)

Materiais Necessários, Mas Não Incluídos

- Abbott RealTime HIV-1 Calibrator Kit (Nº de lista 2G31-70)
- Abbott RealTime HIV-1 Control Kit (Nº de lista 2G31-80)

Para informações sobre o método de preparação manual de amostras, consulte a seção Material e Equipamento Necessário do Procedimento de Preparação Manual de Amostras para os ensaios de RNA Abbott RealTime (Nº de Lista 6L73).

Para o Abbott *m1000* System Área de Preparação de Amostra

- Abbott *m1000* System
- Abbott *mSample* Preparation System (4 x 24 prep.) (Nº de Lista 4J70-24)
- Recipientes de Reação
- Pipetas de precisão calibradas capazes de dispensar 20 a 1000 µL
- Ponteiros de pipeta com barreira contra aerossóis com capacidade para 20 a 1000 µL para pipetas de precisão
- Tubos de Amostra de 11,6 a 16 mm
- Ponteiros de pipeta descartáveis de 200 µL e 1000 µL
- Abbott 96 Deep-Well Plate (Nº de Lista 4J71-30)
- Agitador tipo vórtex
- Abbott Optical Adhesive Covers (Nº de Lista 4J71-75)
- Abbott Adhesive Cover Applicators
- Abbott Splash-Free Support Base (Nº de Lista 9K31-01)
- Recipientes de reagente
- Tubos de saída de 1,5 mL
- Centrífuga com capacidade para 5000 g

Para o Abbott *m1000* System Área de Preparação do Reagente

- Equipamento de refrigeração de bancada StrataCooler® 96
- Abbott 96-Well Optical Reaction Plate (Nº de Lista 4J71-70)
- Pipetas de precisão calibradas capazes de dispensar 20 a 1000 µL
- Ponteiros de pipeta com barreira contra aerossóis com capacidade para 20 a 1000 µL para pipetas de precisão
- Tubo ou recipiente descartável isento de RNases/DNases
- Agitador tipo vórtex

Para o equipamento Abbott *m2000sp* Área de Preparação de Amostra

- Equipamento Abbott *m2000sp*
- Abbott *mSample* Preparation System (4 x 24 prep.) (Nº de Lista 4J70-24)
- Recipientes de Reação de 5 mL
- Pipetas de precisão calibradas capazes de dispensar 20 a 1000 µL
- Ponteiros de pipeta com barreira contra aerossóis com capacidade para 20 a 1000 µL para pipetas de precisão.
- Tubos de Amostras de 11,5 a 16 mm
- Ponteiros de pipeta descartáveis de 200 µL e 1000 µL
- Agitador tipo vórtex
- Abbott Optical Adhesive Covers (Nº de Lista 4J71-75)
- Abbott Adhesive Cover Applicators
- Abbott Splash-Free Support Base (Nº de Lista 9K31-01)
- Frasco da *master mix*
- Recipientes de Reagentes de 200 mL
- Abbott 96 Deep-Well Plate (Nº de Lista 4J71-30)
- CD-ROM Abbott RealTime HIV-1 *m2000* ROW System Combined Application (Nº de Lista 1L68)

Para o equipamento Abbott *m2000sp* Área de Preparação de Amostra

- Abbott 96-Well Optical Reaction Plate (Nº de Lista 4J71-70)
- Centrífuga com capacidade para 2000g

Para o equipamento Abbott *m2000rt* Área de Amplificação

- Equipamento Abbott *m2000rt*
- CD-ROM Abbott RealTime HIV-1 *m2000* ROW System Combined Application (Nº de Lista 1L68)
- 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
- Água isenta de RNase (Eppendorf ou equivalente)[†]
- Tubos para microcentrifuga de grau de biologia molecular de 1,7 mL (Dot Scientific, Inc. ou equivalente)[†]
- Aplicadores com ponta de algodão (Puritan ou equivalente)[†]

[†]Nota: Esses três itens são utilizados no procedimento de **Monitoramento do Laboratório Quanto à Presença de Contaminação**. Consulte a seção **PROCEDIMENTOS DE CONTROLE DE QUALIDADE** destas Instruções de Uso.

Precauções de Procedimento

Leia cuidadosamente estas instruções de uso antes de processar as amostras.

Os frascos de calibradores, controle interno, controle negativo, controle positivo baixo e controle positivo alto Abbott RealTime HIV-1 são destinados apenas para uso único e devem ser descartados após o uso.

Utilizar as ponteiros de pipeta com barreira de aerossóis ou pipetas descartáveis uma única vez, quando pipetar amostras, CI 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 que contém a amostra. Recomenda-se o uso de ponteiros 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 nucléico, limpe e desinfete os respingos de amostras com um desinfetante tuberculicida, como o hipoclorito de sódio a 1,0% ou outro desinfetante apropriado.

Os calibradores e controles do ensaio Abbott RealTime HIV-1 devem ser preparados juntamente com as amostras a serem analisadas. O uso de controles e calibradores Abbott RealTime HIV-1 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 I: ABBOTT *m1000* SYSTEM OU MÉTODO DE PREPARAÇÃO MANUAL DE AMOSTRA E EQUIPAMENTO *m2000rt*

Para uma descrição detalhada sobre como executar o protocolo do Abbott *m1000* System e do equipamento Abbott *m2000rt*, consulte o Manual de Operações do Abbott *m1000* System, seção "Operação", e o Manual de Operações do Abbott *m2000rt*, seção "Instruções de Operação".

O pessoal de laboratório deve ser treinado para operar o Abbott *m1000* System e o equipamento Abbott *m2000rt*. O operador deve ter amplo conhecimento das aplicações do software e deve seguir as boas práticas de laboratório.

1. Descongelar os controles do ensaio e o CI a uma temperatura entre 15 a 30°C ou entre 2 a 8°C. Descongelar os calibradores a uma temperatura entre 15 a 30°C ou entre 2 a 8°C somente se for realizar uma calibração. Consulte a seção **PROCEDIMENTOS DE CONTROLE DE QUALIDADE** destas instruções de uso.
 - Depois de descongelados e antes de serem utilizados, os controles do ensaio, o CI e os calibradores podem ser armazenados entre 2 a 8°C durante um período máximo de 24 horas.
 - Antes de utilizar cada calibrador e cada controle, submetê-los 3 vezes ao vórtex, durante 2 a 3 segundos. Depois de submetê-los ao vórtex, assegure-se de que o conteúdo de cada frasco se encontra no fundo, batendo levemente os frascos contra a bancada para fazer com que o líquido escorra para o fundo.
2. Descongelar os reagentes de amplificação entre 15 a 30°C ou entre 2 a 8°C e armazene-os entre 2 a 8°C até serem necessários para o procedimento de amplificação da *master mix*.
 - Uma vez descongelados, os reagentes de amplificação podem ser armazenados entre 2 a 8°C durante um período máximo de 24 horas se não forem utilizados imediatamente.

NOTA: Utilizar um frasco de Tampão *mLysis*, um frasco de CI e uma embalagem de reagente de amplificação Abbott RealTime HIV-1 para efetuar 24 reações. Utilizar um segundo conjunto de reagentes para efetuar 25 a 48 reações. No equipamento Abbott *m1000* podem ser efetuadas, no máximo, 48 reações por ensaio.

Área de Preparação de Amostra

Para a preparação de amostras no Abbott *m1000* System, seguir as etapas 3 a 10. Para o método de preparação manual de amostras, consulte a seção Protocolo de Extração do Manual de Preparação de Amostras para Procedimento de Ensaios RNA Abbott RealTime (Nº de lista 6L73).

3. Inverter cuidadosamente os frascos de Abbott *mSample* Preparation para obter uma solução homogênea. Se observar cristais em qualquer

um dos frascos de reagente ao abri-los, deixe o reagente repousar em temperatura ambiente até que os cristais desapareçam. Não utilizar os reagentes antes dos cristais terem se dissolvido.

4. Antes do uso de cada CI, agite-os em vórtex 3 vezes por 2 a 3 segundos.
5. Utilizar uma **PIPETA DE PRECISÃO CALIBRADA EXCLUSIVA PARA USO COM O CONTROLE INTERNO**, para adicionar 500 µL de CI em cada frasco de Tampão *mLysis*. Misture, invertendo cuidadosamente o recipiente, de 5 a 10 vezes para minimizar a formação de espuma.
6. **Em cada ensaio poderão ser processadas 48 amostras.** Cada ensaio inclui um controle negativo, um controle positivo baixo e um controle positivo alto, permitindo assim o processamento de no máximo 45 amostras por ensaio.
 - O volume mínimo de amostra para o ensaio Abbott RealTime HIV-1 e os requisitos associados ao suporte do Abbott *m1000* System são:

Abbott RealTime HIV -1
Volume mínimo de amostras
Aplicação de ensaio

Suporte	Diâmetro do tubo*	0,2 mL	0,5 mL	1,0 mL
13 mm	11,6 mm – 14,0 mm	0,7 mL	1,0 mL	1,5 mL
16 mm	15,0 mm – 16,0 mm	1,0 mL	1,3 mL	1,8 mL

* Refere-se ao diâmetro externo do tubo de amostra.

- Se as amostras estiverem congeladas, descongele-as 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.

NOTA: Para cada amostra conservada, devem ser efetuadas as seguintes ações pela ordem descrita: **submeter primeiro a amostra ao vórtex e a seguir centrifugá-la. Se estas ações não forem realizadas nesta ordem, podem ocorrer resultados inválidos.**

- Submeter cada amostra ao vórtex 3 vezes durante 2 a 3 segundos.
 - Centrifugar as amostras a 2000g durante 5 minutos antes de colocá-las na bancada de trabalho do Abbott *m1000* System. Se for necessário, efetuar alíquotas de cada amostra para tubos ou frascos limpos. Para informações sobre o tamanho dos tubos consulte o Manual de Operações do Abbott *m1000*. Quando abrir os tubos, evite tocar no interior da tampa.
7. Colocar os calibradores (se aplicável), os controles positivos baixo e alto, o controle negativo e as amostras de pacientes no suporte de amostras do Abbott *m1000*. Siga as instruções do Manual de Operações do Abbott *m1000*, seção “Operação”, para execução de um protocolo definido pelo usuário.
 8. Colocar os Recipientes de Reação no transportador do subsistema de 1 mL do Abbott *m1000*.
 9. Colocar os reagentes Abbott *mSample Preparation System* e os tubos de saída de 1,5 mL na mesa de trabalho do Abbott *m1000* System conforme instruções do Manual de Operações do *m1000*, seção “Operação”.
 10. Iniciar o protocolo Abbott *m1000* conforme descrito no Manual de Operações, seção “Operação”. Na tela *Protocol*, selecione o arquivo de aplicação apropriado correspondente ao volume de amostra a ser testado.
 - A dispensação da *master mix* de amplificação e eluídos da amostra na Abbott 96-Well Optical Reaction Plate (etapa 17) deve ser iniciada no período de uma hora depois da conclusão da preparação da amostra.

Área de Amplificação

11. Ligar e inicializar o equipamento Abbott *m2000rt*.
NOTA: O Abbott *m2000rt* demora 15 minutos para aquecer.
12. Programar o teste Abbott *m2000rt*. Consulte a seção “Instruções de Operação” do Manual de Operações do *m2000rt*. Na tela *Protocol*, selecione o arquivo de aplicação apropriado, correspondente ao volume de amostra a ser testado.
 - Para uma calibração exata e avaliação dos controles, introduza os valores específicos do lote de calibradores (necessários, se não existir uma curva de calibração memorizada no Abbott *m2000rt*) e de controles na programação de teste. Os valores específicos dos lotes são apresentados em cada ficha dos calibradores e controles do ensaio Abbott RealTime HIV-1.

Área de Preparação de Reagentes

Todas as preparações de reagentes devem ser executadas na área exclusiva de preparação de reagentes. Antes de preparar os reagentes, consulte a seção Precauções de Manuseio destas Instruções de Uso.

NOTA: Troque as luvas antes de manusear os reagentes de amplificação.

13. Preparar a *master mix* de amplificação.
 - Cada embalagem de Reagente de Amplificação é suficiente para efetuar um máximo de 24 reações.
 - Antes de abrir os reagentes de amplificação, assegure-se de que o conteúdo dos frascos esteja no fundo, batendo levemente os frascos na bancada, na posição vertical, para que o líquido vá para o fundo dos frascos.
 - Preparar a mistura principal utilizando uma **PIPETA EXCLUSIVA PARA USO COM REAGENTES** para adicionar 271 µL de reagente de ativação do HIV-1 (Reagente 1) e 949 µL de reagente de oligonucleotídeo do HIV-1 (Reagente 2) ao frasco da enzima rTth polimerase de DNA termoestável (Reagente 3).
 - Se estiver executando 25 a 48 reações, prepare uma segunda *master mix* de amplificação com uma segunda embalagem de reagentes de amplificação.
 - O protocolo *m2000rt* (etapa 20) deve ser iniciado dentro de 40 minutos após a adição de reagente de ativação ao primeiro frasco de reagente de enzima rTth (etapa 13).
14. Pipetar o conteúdo da *master mix* do(s) frasco(s) de enzima para o tubo descartável isento de RNase/DNase e leve ao vórtex para misturar.
15. Colocar uma Abbott 96-Well Optical Reaction Plate em um StrataCooler 96 armazenado conforme indicado no manual de instruções do StrataCooler 96. Utilizando uma **PIPETA EXCLUSIVA**, dispensar alíquotas de 50 µL da mistura principal de amplificação na Abbott 96-Well Optical Reaction Plate. Um pipetador de repetição calibrado poderá ser utilizado. Verifique visualmente se foram dispensados 50 µL em cada cavidade.
16. Transferir a Abbott 96-Well Optical Reaction Plate que se encontra no StrataCooler 96 para a área de preparação de amostra.

Área de Preparação de Amostra

17. Na área de preparação de amostra, transferir 50 µL de eluído de amostra para a Abbott 96-Well Optical Reaction Plate no StrataCooler 96. Utilizar uma **ponteira de pipeta diferente para cada transferência de eluído de amostra.** Durante a transferência de cada amostra, misture a reação pipetando para cima e para baixo 3 a 5 vezes. Verifique visualmente se foram dispensados 100 µL em cada cavidade.
18. Selar a Abbott 96-Well Optical Reaction Plate de acordo com as instruções do Manual de Operações do Abbott *m2000rt*.
19. Retirar a Abbott 96-Well Optical Reaction Plate do StrataCooler 96 e colocá-la na Abbott Splash Free Support Base. Centrifugar a Abbott 96-Well Optical Reaction Plate na Abbott Splash Free Support Base a 5.000g durante 5 minutos. Transferir para a área de amplificação.
NOTA: Não transferir o StrataCooler 96 para a área de amplificação.

Área de Amplificação

20. Coloque a Abbott 96-Well Optical Reaction Plate no equipamento Abbott *m2000rt*. Na tela *Protocol*, selecione o arquivo de aplicação apropriado correspondente ao volume de amostra a ser testado. Iniciar o protocolo Abbott RealTime HIV-1 conforme descrito no Manual de Operações do Abbott *m2000rt*, seção “Instruções de Operação”.

PROCEDIMENTOS PÓS-PROCESSAMENTO

1. Limpar o StrataCooler 96 conforme descrito no manual de instruções do StrataCooler 96 e voltar a colocá-lo na área de preparação de reagentes.
2. Retirar os tubos de saída de 1,5 mL da mesa de trabalho e descarte-os de acordo com o Manual de Operações do Abbott *m1000*.
3. Selar a Abbott 96-Well Optical Reaction Plate em um saco plástico adequado e descarte-a de acordo com o Manual de Operações do Abbott *m2000rt* juntamente com as luvas utilizadas para manuseá-la.
4. Antes do próximo uso limpar a base para a placa de reação de acordo com as instruções do Manual de Operações do Abbott *m2000rt*.
5. Para os usuários do método de preparação manual de amostra, consulte a Seção “Limpeza” do Manual Sample Preparation for Abbott RealTime RNA Assays (Nº de lista 6L73).

PROTOCOLO DE ENSAIO II: EQUIPAMENTO ABBOTT *m2000sp* e EQUIPAMENTO ABBOTT *m2000rt*

Para informações detalhadas sobre como executar um protocolo de ensaio Consulte os Manuais de Operações dos instrumentos Abbott *m2000sp* e *m2000rt*, seções “Instruções de Operação”. A utilização da capacidade para 96 amostras requer a versão de software 2.0 ou superior do Abbott *m2000sp*. Favor seguir as instruções fornecidas no Manual de Operações do Abbott *m2000sp* (Nº de Lista 9K20-02) e no respectivo(s) adendo(s).

O pessoal de laboratório deve ser treinado para trabalhar com os equipamentos Abbott *m2000sp* e *m2000rt*. O operador deve ter conhecimento completo das aplicações utilizadas nos equipamentos e deve seguir as boas práticas de laboratório.

- Descongelar os controles do ensaio e o CI a uma temperatura entre 15 a 30°C ou entre 2 a 8°C. Descongelar os calibradores a uma temperatura entre 15 a 30°C ou entre 2 a 8°C somente se estiver efetuando uma calibração. Consultar a seção **PROCEDIMENTOS DE CONTROLE DE QUALIDADE** nestas Instruções de Uso.
 - Depois de descongelados e antes de serem utilizados, os controles do ensaio, o CI e os calibradores podem ser armazenados entre 2 a 8°C durante um período máximo de 24 horas.
 - Antes de utilizar cada calibrador e cada controle agite-os em vórtex 3 vezes durante 2 a 3 segundos. Depois de submetê-los ao vórtex, assegure-se de que o conteúdo de cada frasco esteja no fundo do frasco, batendo levemente os frascos contra a bancada para fazer o líquido escorrer para o fundo.
- Descongelar os reagentes de amplificação entre 15 a 30°C ou entre 2 a 8°C e armazene entre 2 a 8°C até que sejam necessários para o procedimento de amplificação da *master mix*.
 - Se os reagentes de amplificação não forem utilizados imediatamente após serem descongelados, podem ser armazenados de 2 a 8°C durante um período máximo de 24 horas.
NOTA: Utilizar um frasco de Tampão *mLysis*, um frasco de CI e uma embalagem de reagente de amplificação Abbott RealTime HIV-1 Amplification Reagent para efetuar 24 reações. Utilizar um segundo conjunto de reagentes para efetuar 25 a 48 reações, um terceiro conjunto de reagentes para efetuar 49 a 72 reações e um quarto conjunto para efetuar 73 a 96 reações **COM EXCEÇÃO DAS mMICROPARTICLES. QUANDO PROCESSAR DE 25 A 96 AMOSTRAS UTILIZAR APENAS 2 FRASCOS DE mMICROPARTICLES.**
- Inverter cuidadosamente os frascos de Abbott *mSample Preparation* para assegurar a homogeneização de seu conteúdo. Se observar cristais em qualquer um dos frascos de reagente ao abri-los, deixe o reagente repousar em temperatura ambiente até que os cristais desapareçam. Não utilizar os reagentes antes dos cristais terem se dissolvido.
- Antes do uso, submeta cada CI ao vórtex 3 vezes por 2 a 3 segundos.
- Utilizar uma **PIPETA DE PRECISÃO CALIBRADA EXCLUSIVA PARA O CONTROLE INTERNO** para adicionar 500 µL de CI a cada frasco de Tampão *mLysis*. Misture invertendo cuidadosamente o recipiente 5 a 10 vezes para minimizar a formação de espuma.
- Em cada ensaio poderá ser processado um total de 96 amostras, com exceção da aplicação de ensaio de 1,0 ml.** Cada ensaio inclui um controle negativo, um controle positivo baixo e um controle positivo alto, permitindo assim o processamento máximo de 93 amostras por ensaio. Para a aplicação de ensaio de 1,0 ml, pode ser processado um total de 48 amostras por ensaio, permitindo assim o processamento máximo de 45 amostras por ensaio.
 - O volume mínimo de amostra do ensaio Abbott RealTime HIV-1 e os requisitos associados ao suporte do Abbott *m2000sp* são:

Abbott RealTime HIV-1
Volume mínimo de amostra
Aplicação de ensaio

Supor e	Diâmetro do Tubo*	0,2 mL	0,5 mL	0,6 mL	1,0 mL
13 mm	11,5 mm - 14,0 mm	0,4 mL - 0,8 mL	0,7 mL - 1,2 mL	0,8 mL - 1,3 mL	1,2 mL - 1,7 mL
16 mm	14,5 mm - 16,0 mm	0,4 mL - 1,0 mL	0,8 mL - 1,4 mL	0,9 mL - 1,5 mL	1,3 mL - 1,9 mL

* Refere-se ao diâmetro externo do tubo de amostra. O volume mínimo de amostra varia de acordo com o formato 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 as amostras estiverem congeladas, descongele-as 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 conservadas de 2 a 8°C durante um período máximo de 6 horas.
NOTA: Para cada amostra conservada, devem ser efetuadas as seguintes ações pela ordem descrita: submeter primeiro a amostra ao vórtex e a seguir centrifugá-la. Se estas ações não forem realizadas nesta ordem, podem ocorrer resultados inválidos.
- Agitar em vórtex cada amostra por 3 vezes durante 2 a 3 segundos.
- Centrifugar as amostras a 2000g durante 5 minutos antes de colocá-las na mesa de trabalho do Abbott *m2000sp*. Se for necessário, efetuar alíquotas de cada amostra para tubos ou frascos limpos. Para mais informações sobre as dimensões dos tubos, consulte o Manual de Operações do Abbott *m2000sp*. Quando abrir os tubos, evite tocar no interior da tampa.

- Colocar os controles positivos baixo e alto, o controle negativo, os calibradores, se aplicável, e as amostras de pacientes no suporte de amostras do Abbott *m2000sp*.
- Colocar os recipientes de reação de 5 mL no transportador do subsistema de 1 mL do Abbott *m2000sp*.
- Colocar os reagentes do Abbott *mSample Preparation System* e a Abbott 96 Deep-Well Plate na mesa de trabalho do Abbott *m2000sp* conforme descrito no Manual de Operações do Abbott *m2000sp*, seção "Instruções de Operação".
- Na tela *Protocol*, selecione o arquivo de aplicação apropriado correspondente ao volume da amostra a ser testado. Iniciar o protocolo de extração da amostra conforme descrito no Manual de Operações do Abbott *m2000sp*, seção "Instruções de Operação".
 - Introduzir os valores do calibrador (necessários se não existir uma curva de calibração memorizada no *m2000rt*) e dos controles específicos do respectivo lote nos campos da tela **Sample Extraction: Worktable Setup-Calibrator and Control**. Os valores específicos dos lotes são apresentados em cada ficha dos calibradores e controles do ensaio Abbott RealTime HIV-1.
 - O protocolo de adição da *master mix* Abbott *m2000sp* (etapa 12) deve ser iniciado no período máximo de 1 hora após a conclusão da preparação da amostra.
NOTA: Trocar as luvas antes de manusear os reagentes de amplificação.
- Colocar os reagentes de amplificação e o tubo *master mix* na mesa de trabalho do Abbott *m2000sp* depois de concluída a preparação da amostra.
 - Cada embalagem de Reagente de Amplificação é suficiente para efetuar no máximo 24 reações.
 - Antes de abrir os reagentes de amplificação, assegure-se de que o seu conteúdo esteja no fundo dos frascos, batendo-os levemente contra a bancada, na posição vertical.
 - Retirar e descartar as tampas dos frascos de amplificação.
 - Uma segunda embalagem de reagentes de amplificação é necessária, se for efetuar 25 a 48 reações.
 - Uma terceira é necessária, se for efetuar 49 a 72 reações.
 - Uma quarta embalagem de reagentes de amplificação é necessária, se for efetuar 73 a 96 reações.
- Selecionar a placa de cavidades fundas adequada que corresponda à respectiva extração de preparação da amostra. Iniciar o protocolo de adição da *master mix* Abbott *m2000sp*. Siga as instruções descritas no Manual de Operações do Abbott *m2000sp*, seção "Instruções de Operação".
NOTA: O operador não deve envasar manualmente quaisquer cavidades vazias/não preenchidas na Abbott 96-Well Optical Reaction Plate.
 - Depois da conclusão da extração da amostra, o Abbott *m2000sp* enche automaticamente quaisquer cavidades vazias na Abbott 96-Well Optical Reaction Plate, quando existem mais de 48 amostras processadas num ensaio. O envase da placa não é efetuado para ensaios contendo 48 amostras ou menos.
 - Se solicitado pelo equipamento, o transportador de reagentes 2 deve permanecer no lugar, contendo, no mínimo, o recipiente de reagente para o tampão *mElution* (transportador de reagentes 2, localização 6). Se este recipiente de reagente foi retirado, colocar um novo recipiente de reagente com o rótulo do tampão *mElution* no transportador de reagentes 2, localização 6. O líquido do sistema irá ser adicionado ao recipiente de reagente e utilizado para encher as cavidades vazias. Quando este processo estiver concluído, o sistema irá continuar com a adição da *master mix*.
NOTA: As instruções do sistema para utilização da funcionalidade de envase automático de placas encontram-se no Manual de Operações do Abbott *m2000sp* (Nº de Lista 9K20-04 ou posterior), seção 5, Instruções de Operação, Extração da Amostra – Modo Fechado.
 - O protocolo Abbott *m2000rt* (etapa 16) deve ser iniciado no período máximo de 50 minutos após o início do protocolo de adição da *master mix* (etapa 12).
NOTA: Se o processamento for cancelado por qualquer motivo após a etapa 12, deve ser utilizada uma nova placa de reação ótica de 96 cavidades caso o protocolo de adição da *master mix* Abbott *m2000sp* (etapa 12) seja repetido.
- Ligar e inicializar o equipamento Abbott *m2000rt* na área de amplificação.
NOTA: O instrumento Abbott *m2000rt* requer 15 minutos para aquecimento.
NOTA: Retire as luvas antes de retornar à área de preparação de amostras.

14. Selar a Abbott 96-Well Optical Reaction Plate depois que o equipamento Abbott *m2000sp* tiver concluído a adição de amostras e *master mix* de acordo com o Manual de Operações do Abbott *m2000sp*, seção "Instruções de Operação".
15. Colocar a placa de reação ótica selada na Abbott Splash Free Support Base para transferi-la para o equipamento Abbott *m2000rt*.
16. Colocar a Abbott 96-Well Optical Reaction Plate no equipamento Abbott *m2000rt*. Na tela *Protocol*, selecione o arquivo de aplicação apropriado que corresponde ao volume da amostra a ser testado. Iniciar o protocolo Abbott RealTime HIV-1 conforme descrito no Manual de Operações do Abbott *m2000rt*, seção "Instruções de Operação".

NOTA: Se for criada manualmente programação de teste Abbott *m2000rt*, inserir as IDs da amostra nos locais correspondentes da placa PCR de acordo com a grade "Wells for Selected Plate" que se encontra na tela detalhada "PCR Plate Results" no Abbott *m2000sp*. Consulte a Seção 5 do Manual de Operações do *m2000sp*.

PROCEDIMENTOS PÓS-PROCESSAMENTO

1. Retirar a Abbott 96 Deep-Well Plate da mesa de trabalho e descartá-la de acordo com o Manual de Operações do Abbott *m2000sp*.
2. Selar a Abbott 96-Well Optical Reaction Plate em um saco plástico adequado e descartá-la de acordo com o Manual de Operações do Abbott *m2000rt* juntamente com as luvas utilizadas para manusear a placa.
3. Antes de voltar a utilizar, limpar a Abbott Splash Free Support Base de acordo com o Manual de Operações do Abbott *m2000rt*.

PROCEDIMENTOS DE CONTROLE DE QUALIDADE

Calibração Ótica do Abbott *m2000rt*

Consulte a seção "Procedimentos de Calibração" do Manual de Operações do 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 HIV-1.

As seguintes placas de calibração ótica Abbott *m2000rt* são utilizadas para calibrar o instrumento Abbott *m2000rt* para o ensaio Abbott RealTime HIV-1:

- Placa FAM™ (Carboxifluoresceína)
- Placa ROX™ (Carboxi-X-rodamina)
- Placa VIC® (corante patenteado)

Calibração do Ensaio

Consulte os Manuais de Operação dos instrumentos Abbott *m2000sp* e *m2000rt*, seção "Instruções de Operação", para descrição detalhada sobre como realizar a calibração do ensaio.

Uma curva de calibração é necessária para quantificar a concentração de RNA do HIV-1 nas amostras e controles. Para gerar uma curva de calibração são analisados 2 calibradores de ensaio em réplicas de 3 (concentração de HIV-1 versus ciclo de *threshold* [C_T] (limiar), no qual é detectado um nível reativo de sinal de fluorescência). A inclinação e a interceptação da curva de calibração são calculadas e memorizadas no equipamento. A concentração de RNA do HIV-1 em uma amostra é calculada a partir da curva de calibração memorizada. Os resultados são automaticamente apresentados na estação de trabalho do Abbott *m2000rt*.

Siga o procedimento de extração da amostra, adição da *master mix*, protocolos de amplificação e detecção, conforme estabelecido no Manual de Operações do Abbott *m1000* ou do Abbott *m2000sp* e no Manual de Operações do Abbott *m2000rt*.

Depois de aceita e memorizada uma calibração Abbott RealTime HIV-1, esta pode ser utilizada durante seis 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 HIV-1 com um novo número de lote seja utilizado.
- Um Abbott *mSample Preparation System* (4 x 24 Prep.) com um novo número de lote seja utilizado.
- Um arquivo de aplicação Abbott RealTime HIV-1 para um volume de amostra diferente seja utilizado.
- Um novo arquivo de especificação da aplicação Abbott RealTime HIV-1 seja instalado.
- Uma nova calibração ótica de corante puro dos corantes específicos do ensaio Abbott RealTime HIV-1 (FAM, VIC ou ROX) seja efetuada segundo a seção "Procedimentos de Calibração" do Manual de Operações do *m2000rt*.

Detecção da Inibição

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

No início da preparação da amostra é introduzida em cada amostra, calibrador e controle uma quantidade definida e consistente de C_I, sendo esta medida no equipamento Abbott *m2000rt* para demonstrar o processamento adequado da amostra e a validade do ensaio. O C_I é constituído por uma sequência de RNA sem relação com a sequência alvo do HIV-1.

O ciclo de amplificação da mediana no qual o sinal fluorescência da sequência alvo de C_I é detectado em amostras de calibração estabelece um intervalo de validade do C_I C_T a ser atendida por todas as amostras subsequentes processadas.

Um alerta de erro de controle é apresentado quando uma amostra ou controle não atinge essa especificação. Consulte o Manual de Operações do *m2000rt* para explicação das ações corretivas para a sinalização de erro de controle. As amostras cujo valor de C_I C_T excede 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 o controle positivo baixo e para o controle positivo alto estão indicados em cada ficha de controles do ensaio Abbott RealTime HIV-1 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 do Abbott *m2000rt* para explicação das ações corretivas para a sinalização de erro de controle. 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.

A presença do HIV-1 não deve ser detectada no controle negativo. A presença de HIV-1 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 o Abbott *m1000 System* ou 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.

Monitoramento do Laboratório Quanto à Presença de Contaminação

Recomenda-se que este 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 aos calibradores, controles e amostras processados e/ou produto de amplificação. Isto inclui os objetos manuseados diariamente, como as pipetas, o Abbott *m1000 System*, as teclas de função do Abbott *m2000sp* e Abbott *m2000rt*, as superfícies das bancadas do laboratório, microcentrífugas e adaptadores de centrífuga.

1. Adicionar 0,8 mL de água isenta de RNase a um tubo de microcentrífuga de grau de biologia molecular de 1,7 mL.
2. Impregnar a ponta de algodão de um aplicador (Puritan ou equivalente) na água isenta de RNases do tubo de microcentrífuga.
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 microcentrífuga.
4. Agitar 10 vezes a ponta de algodão na água isenta de RNase, 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 microcentrífuga. 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 microcentrífuga.
7. Tampar o tubo de microcentrífuga.
8. Testar esta amostra de acordo com a seção procedimento do ensaio destas Instruções de Uso.
 - Transferir o líquido do tubo de microcentrífuga para um recipiente de reação de 5 mL.
 - Adicionar água isenta de RNase até obter 1,5 mL.
9. A presença de contaminação é indicada pela detecção de ácido nucleico do HIV-1 nas amostras.
10. Se for detectado ácido nucleico do HIV-1 no equipamento, siga as instruções de limpeza e descontaminação fornecidas no manual de operação do equipamento. Se for detectado ácido nucleico do HIV-1 em alguma superfície, 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.

11. Repetir os testes da área contaminada seguindo as etapas 1 a 10.

RESULTADOS

Cálculo

A concentração de RNA viral do HIV-1 em uma amostra ou controle é calculada a partir da curva de calibração memorizada. O equipamento Abbott *m2000rt* informa automaticamente os resultados na estação de trabalho do Abbott *m2000rt*. Os resultados do ensaio podem ser expressos em cópias/mL, log [cópias/mL], Unidades Internacionais (UI)/mL ou log [UI/mL]; (1 UI = 0,58 cópias, 1 cópia = 1,74 UI).

INTERPRETAÇÃO DOS RESULTADOS

Volume da amostra	Resultado	Interpretação
1,0 mL	Não detectado	Alvo não detectado
	< 1,60 log [cópias/mL] ^a	Detectado
	1,60 a 7,00 log [cópias/mL]	
	> 7,00 log [cópias/mL]	> LSQ ^d
0,6 mL	Não detectado	Alvo não detectado
	< 1,60 log [cópias/mL] ^a	Detectado
	1,60 a 7,00 log [cópias/mL]	
	> 7,00 log [cópias/mL]	> LSQ ^d
0,5 mL	Não detectado	Alvo não detectado
	< 1,88 log [cópias/mL] ^b	Detectado
	1,88 a 7,00 log [cópias/mL]	
	> 7,00 log [cópias/mL]	> LSQ
0,2 mL	Não detectado	Alvo não detectado
	< 2,18 log [cópias/mL] ^c	Detectado
	2,18 a 7,00 log [cópias/mL]	
	> 7,00 log [cópias/mL]	> LSQ

^a40 cópias/mL

^b75 cópias/mL

^c150 cópias/mL

^dLSQ = limite superior de quantificação

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** nestas Instruções de Uso).
- Amostras de plasma humano (coletadas em tubos com ACD-A ou EDTA) podem ser utilizadas no ensaio Abbott RealTime HIV-1. O uso de outros anticoagulantes não foi validado com o ensaio Abbott RealTime HIV-1.
- O ensaio Abbott RealTime HIV-1 só pode ser utilizado por pessoal treinado e com conhecimentos dos procedimentos dos ensaios de diagnóstico de biologia molecular e/ou do Abbott *m1000 System*, Abbott *m2000sp* e Abbott *m2000rt*.
- 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 meio das boas práticas de laboratório e adesão cuidadosa aos procedimentos especificados nestas instruções de uso.
- Tal como em todos os testes de diagnóstico, os resultados do ensaio Abbott RealTime HIV-1 devem ser interpretados juntamente com outras informações clínicas e laboratoriais. Uma amostra com um resultado "Não detectado" não pode ser considerada como negativa para RNA do HIV-1.

CARACTERÍSTICAS ESPECÍFICAS DE DESEMPENHO

As características de desempenho foram determinadas utilizando o ensaio RealTime HIV-1 com a preparação de amostra no *m2000sp* e um volume de amostra de 1,0 mL, a menos que especificado de outra forma.

Limite de Detecção (LOD – Limit of Detection)

O limite de detecção é definido como a concentração de RNA do HIV-1 detectada com uma probabilidade igual ou superior a 95%.

Limite de Detecção, Volume de Amostra de 1,0 mL

O limite de detecção do ensaio Abbott RealTime HIV-1 é de 40 cópias/mL com o procedimento para volume de amostra de 1,0 mL.

O limite de detecção foi determinado por meio de testes de diluição de um

padrão viral do *Virology Quality Assurance (VQA) Laboratory* do *AIDS Clinical Trial Group*. As diluições foram executadas em plasma humano negativo para HIV-1. Os testes foram executados com três lotes de reagentes de amplificação em três equipamentos Abbott *m2000*. Os resultados, representativos da sensibilidade analítica do ensaio RealTime HIV-1, estão resumidos na **Tabela 1**.

Conc. (cópias/mL)	Nº testado	Nº detectado	% detectado
100	57	57	100
75	57	57	100
60	57	57	100
50	57	57	100
40	57	57	100
30	57	55	96
20	57	50	88
10	56 ^a	38	68
5	57	30	53

^a Uma das réplicas gerou uma mensagem de erro de réplica inválida e foi excluída da análise de dados.

A análise Probit dos dados determinou que a concentração de RNA do HIV-1, detectada com probabilidade de 95%, foi de 25 cópias/mL (IC 95% de 20 a 33).

Limite de Detecção, Volume de Amostra de 0,6 mL

O limite de detecção do ensaio Abbott RealTime HIV-1 é de 40 cópias/mL com o procedimento de volume de amostra de 0,6 mL.

O limite de detecção para o procedimento de volume de amostra de 0,6 mL foi determinado conforme descrito no procedimento de volume de amostra de 1,0 mL. Os resultados, representativos da sensibilidade analítica do ensaio Abbott RealTime HIV-1, estão resumidos na **Tabela 2**.

Conc. (cópias/mL)	Nº testado	Nº detectado	% detectado
100	57	57	100
75	57	56	98
60	57	57	100
50	57	54	95
40	57	54	95
30	57	55	96
20	57	44	77
10	57	27	47
5	57	13	23

A análise Probit dos dados determinou que a concentração de RNA do HIV-1, detectada com uma probabilidade de 95%, foi de 39 cópias/mL (IC 95% 33 a 49).

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

O limite de detecção do ensaio Abbott RealTime HIV-1 é de 75 cópias/mL com o procedimento de volume de amostra de 0,5 mL.

O limite de detecção para o procedimento de volume de amostra de 0,5 mL foi determinado conforme descrito no procedimento de volume de amostra de 1,0 mL. Os resultados, representativos do desempenho da sensibilidade analítica do ensaio Abbott RealTime HIV-1, estão resumidos na **Tabela 3**.

Conc. (cópias/mL)	Nº testado	Nº detectado	% detectado
100	57	57	100
75	57	57	100
60	57	54	95
50	56 ^a	52	93
40	57	47	82
30	57	46	81
20	57	42	74
10	57	26	46
5	57	21	37

^a Uma das réplicas gerou uma mensagem de erro de réplica inválida e foi excluída da análise de dados.

A análise Probit dos dados determinou que a concentração de RNA do HIV-1, detectada com uma probabilidade de 95%, foi de 65 cópias/mL (IC 95% 51 a 88).

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

O limite de detecção do ensaio Abbott RealTime HIV-1 é de 150 cópias/mL com o procedimento de volume de amostra de 0,2 mL.

O limite de detecção para o procedimento de volume de amostra de 0,2 mL

foi determinado conforme descrito no procedimento de volume de amostra de 1,0 mL. Os resultados, representativos da sensibilidade analítica do ensaio RealTime HIV-1, estão resumidos na **Tabela 4**.

Conc. (cópias/mL)	Nº testado	Nº detectado	% detectado
250	57	57	100
200	57	56	98
150	57	56	98
100	57	54	95
75	57	47	82
60	57	38	67
50	57	39	68
40	54 ^a	30	56
30	52 ^a	19	37

^a Oito réplicas foram inválidas devido a um erro do equipamento e foram excluídas da análise de dados.

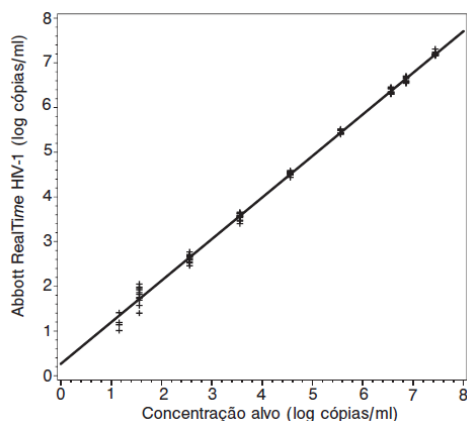
A análise Probit dos dados determinou que a concentração de RNA do HIV-1, detectada com probabilidade de 95% foi de 119 cópias/mL (IC 95% 102 a 150).

Intervalo de Linearidade

O limite superior de quantificação (LSQ) do ensaio Abbott RealTime HIV-1 é de 10 milhões de cópias/mL. O limite inferior de quantificação corresponde ao limite de detecção (40 cópias/mL para o procedimento de volume de amostra de 1,0 mL e de 0,6 mL, 75 cópias/mL para o procedimento de volume de amostra de 0,5 mL, e 150 cópias/mL para o procedimento de volume de amostra de 0,2 mL).

Foi testado um painel de nove elementos preparado através da diluição (7,44 log cópias/mL para 1,16 log cópias/mL) de Armored RNA do HIV-1 em plasma humano negativo para HIV-1. A análise da linearidade foi executada conforme a diretriz EP6-A do NCCLS.³⁴ Os resultados, representativos da linearidade do ensaio RealTime HIV-1, são demonstrados na **Figura 1**.

Figura 1



O ensaio RealTime HIV-1 demonstrou ser linear ao longo do intervalo testado (n=99, r=0,999, declive=0,93 e interceptação=0,26).

Precisão

A precisão do ensaio Abbott RealTime HIV-1 foi avaliada para o procedimento de volume de amostra de 1,0 mL utilizando os sistemas de preparação de amostras Abbott *m1000* e *m2000sp* e o método de preparação manual de amostras. O ensaio Abbott RealTime HIV-1 foi concebido para atingir um desvio padrão (DP) entre ensaios inferior ou igual a 0,25 log cópias de RNA do HIV-1 por mL para amostras contendo concentrações de HIV-1 de 500 a 5 milhões de cópias/mL. Um painel de sete elementos à base de RNA do HIV-1 foi preparado através da diluição de uma solução viral de HIV-1 (elementos 1 a 3 do painel) e de Armored RNA do HIV-1 (elementos 4 a 7 do painel) em plasma humano negativo. Para os estudos de precisão realizados com o Abbott *m1000* e com o Abbott *m2000sp*, os elementos do painel foram testados em réplicas de 5, num total de 15 ensaios, em 3 sistemas de equipamentos, com 3 lotes de reagentes de amplificação. Para o estudo de precisão realizado com o método de preparação manual de amostras, os elementos do painel foram testados em réplicas de 2 para o primeiro ensaio em cada equipamento e em réplicas de 3 para cada ensaio subsequente, num total de 15 ensaios, em 3 equipamentos Abbott *m2000rt*, com 3 lotes de reagentes de amplificação. A análise da precisão foi executada de acordo com a diretriz EP10-A2 do NCCLS.³⁵ Foram calculados desvios padrão intra-ensaio, entre ensaios e inter-ensaio (intra-ensaio e entre ensaios). Os resultados, representativos da

precisão do ensaio Abbott RealTime HIV-1, encontram-se resumidos nas **Tabelas 5, 6 e 7**.

Tabela 5

Elemento do Painel	n	Conc. Média (cópias/mL)	Conc. Média (log cópias/mL)	DP Intra-Ensaio	DP Entre Ensaios	DP Inter-Ensaios ^a
1	75	57	1,75	0,21	0,00	0,21
2	75	573	2,76	0,08	0,00	0,08
3	75	5.000	3,70	0,05	0,02	0,06
4	73 ^{b,c}	35.751	4,55	0,03	0,01	0,04
5	75	315.065	5,50	0,07	0,03	0,07
6	74 ^b	2.947.538	6,47	0,05	0,04	0,07
7	75	5.347.285	6,73	0,04	0,05	0,07

^a Inter-ensaios inclui intra-ensaio e entre ensaios.

^b Duas réplicas foram inibidas e excluídas da análise de dados.

^c RNA do HIV-1 não foi detectado em uma réplica.

Tabela 6

Elemento do Painel	n	Conc. Média (cópias/mL)	Conc. Média (log cópias/mL)	DP Intra-Ensaio	DP Entre Ensaios	DP Inter-Ensaios ^a
1	74 ^b	72	1,86	0,18	0,07	0,19
2	75	652	2,81	0,08	0,00	0,08
3	75	5.417	3,73	0,04	0,02	0,05
4	75	39.458	4,60	0,04	0,03	0,05
5	74 ^c	358.587	5,55	0,03	0,03	0,04
6	75	3.102.654	6,49	0,03	0,02	0,04
7	75	5.953.879	6,77	0,04	0,04	0,05

^a Inter-ensaios inclui intra-ensaio e entre ensaios.

^b RNA do HIV-1 não foi detectado em uma réplica.

^c Uma réplica foi inibida e excluída da análise de dados.

Tabela 7

Elemento do Painel	n	Conc. Média (cópias/mL)	Conc. Média (log cópias/mL)	DP Intra-Ensaio	DP Entre Ensaios	DP Inter-Ensaios ^a
1	40 ^b	46	1,66	0,21	0,07	0,22
2	41 ^c	471	2,67	0,11	0,09	0,14
3	42	4.474	3,65	0,05	0,10	0,11
4	42	34.503	4,54	0,02	0,06	0,07
5	42	362.283	5,56	0,04	0,08	0,09
6	42	3.597.099	6,56	0,03	0,04	0,05
7	42	6.552.825	6,82	0,05	0,05	0,07

^a Inter-ensaios inclui intra-ensaio e entre ensaios.

^b RNA do HIV-1 não foi detectado em 2 réplicas.

^c Uma réplica foi inibida e excluída da análise de dados.

Substâncias Potencialmente Interferentes

Foi avaliada a suscetibilidade do ensaio Abbott RealTime HIV-1 à interferência de níveis elevados de substâncias endógenas e de fármacos normalmente prescritos a indivíduos infectados pelo HIV-1. Foram testadas amostras negativas para o HIV-1 e amostras contendo 10.000 cópias/mL de RNA do HIV-1.

Não foi observada interferência no desempenho do ensaio Abbott RealTime HIV-1 em nenhuma das amostras positivas e negativas testadas 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*, fármacos em concentrações superiores aos níveis pico do plasma ou soro. Não foi observada interferência no desempenho do ensaio Abbott RealTime HIV-1 em nenhuma das amostras positivas e negativas testadas na presença dos seguintes *pools* de fármacos:

<i>Pool</i> de fármacos	Fármacos testados
1	Zidovudina, saquinavir, ritonavir, claritromicina, interferon 2a, interferon 2b
2	Sulfato de abacavir, amprenavir, peginterferon 2a, peginterferon 2b, ribavirina
3	Tenofovir disoproxil fumarato, lamivudina, sulfato de indinavir, ganciclovir, coridrato de valganciclovir, aciclovir
4	Estavudina, efavirenz, lopinavir, enfuvirtide, ciprofloxacina
5	Zalcitabina, nevirapina, nelfinavir, azitromicina, valaciclovir

Especificidade

A especificidade-alvo do ensaio Abbott RealTime HIV-1 é superior ou igual a 99,5% após a resolução.

A especificidade do ensaio Abbott RealTime HIV-1 foi avaliada por meio do teste de 187 amostras de plasma soronegativo para HIV-1. As amostras foram testadas em 3 sistemas Abbott m2000 com 3 lotes de reagentes de amplificação. Neste estudo representativo, não foi detectado RNA do HIV-1, e obteve-se uma especificidade de 100% (187/187) (IC 95% de 98,05 a 100,00).

A especificidade do ensaio foi avaliada posteriormente testando 70 amostras obtidas de indivíduos diagnosticados ou rastreados para uma doença auto-imune, ou sorologicamente classificados como positivos para os seguintes marcadores: lúpus eritematoso sistêmico (LES), anticorpos antinucleares (ANA), fator reumatóide (FR), HBsAg, anticorpos anti-HTLV-I/II, anti-HCV e anti-HIV-2. Não foi detectado RNA do HIV-1 em nenhuma das amostras testadas. Os resultados demonstraram que a presença de desordem auto-imune ou de marcadores sorológicos para doença auto-imune ou agentes patogênicos virais, com exceção do HIV-1, não afetam o ensaio Abbott RealTime HIV-1.

Reatividade Cruzada

Os seguintes vírus e microrganismos foram avaliados quanto ao potencial de reatividade cruzada no ensaio Abbott RealTime HIV-1. Foi adicionado às amostras negativas para RNA do HIV-1 e às amostras que continham 10.000 cópias/mL de RNA do HIV-1, ácido nucleico purificado ou lisado viral de cada microrganismo ou vírus.

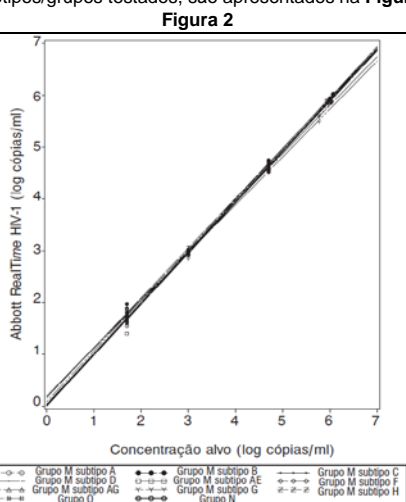
Vírus da imunodeficiência humana tipo 2	Vírus Vaccinia
Vírus linfotrópico humano de células T tipo 1	Vírus polioma BK humano
Vírus da hepatite C	Vírus do papiloma humano tipo 16
Vírus da hepatite B	Vírus do papiloma humano tipo 18
Vírus Epstein-Barr	<i>Neisseria gonorrhoeae</i>
Vírus herpes simplex 1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

Não foi observada interferência no desempenho do ensaio Abbott RealTime HIV-1 em nenhuma das amostras positivas e negativas testadas na presença de potenciais reagentes cruzados.

Deteção de Grupos e Subtipos do HIV-1

O desempenho do ensaio RealTime HIV-1 com subtipos/grupos de HIV-1 foi avaliado através da análise de transcritos de RNA purificado do grupo M (subtipos A, B, C, D, CRF01-AE, F, CRF02-AG, G e H), grupo O e grupo N e através da análise de dez amostras clínicas de cada subtipo do grupo M (A, B, C, D, CRF01-AE, F, CRF02-AG e G), e dez amostras do grupo O.

Foram testados transcritos de RNA do grupo M (subtipos A, B, C, D, CRF01-AE, F, CRF02-AG, G e H), grupo O e grupo N com as concentrações alvo de aproximadamente 6,0 log cópias/mL, 4,7 log cópias/mL, 3,0 log cópias/mL e 1,7 log cópias/mL. Três réplicas de cada concentração foram testadas para cada transcrito. Os resultados, representativos da linearidade da diluição para os 11 subtipos/grupos testados, são apresentados na **Figura 2**.



Os resultados mostraram que todos os subtipos e grupos testados foram detectados, e a linearidade da diluição foi demonstrada para todos os grupos e subtipos testados (os coeficientes de correlação variaram de 0,997 e 1,000).

Um total de 90 amostras clínicas, dez de cada subtipo do grupo M (A, B, C,

D, CRF01-AE, F, CRF02-AG, G) e grupo O, foram testadas com o ensaio RealTime HIV-1 e com 2 outros ensaios quantitativos do HIV-1 denominados Comparador 1 e Comparador 2. Os resultados estão resumidos na **Tabela 8**.

Tabela 8

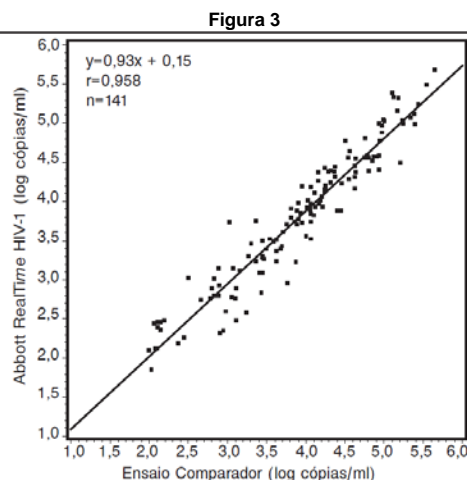
Grupo/subtipos	n	Detectado no RealTime*	Detectado no Comparador 1*	Detectado no Comparador 2*
M/subtipo A	10	10	10 (1)	10 (1)
M/subtipo B	10	10	10 (0)	10 (0)
M/subtipo C	10	10	10 (0)	10 (0)
M/subtipo D	10	10	10 (0)	10 (0)
M/subtipo AE	10	10	10 (0)	10 (0)
M/subtipo F	10	10	10 (0)	10 (0)
M/subtipo AG	10	10	10 (3)	10 (1)
M/subtipo G	10	10	10 (2)	10 (1)
Grupo O	10	10	0 (NA)	7 (7)

*Os valores entre parênteses correspondem ao número de amostras com valores quantitativos inferiores em mais de 1,00 log cópias/mL quando comparados com o ensaio Abbott RealTime HIV-1.

- O ensaio Abbott RealTime HIV-1 detectou todos os subtipos e grupos testados.
- O Comparador 1 detectou todos os subtipos do grupo M testados e não detectou as 10 amostras do grupo O.
- O comparador 2 detectou todos os subtipos do grupo M testados e 7 de 10 amostras do grupo O.
- Nenhuma amostra tinha valores quantitativos Abbott RealTime inferiores aos valores do Comparador 1 ou do Comparador 2 em mais de 1,00 log cópias/mL.
- Seis amostras do grupo M apresentaram valores quantitativos inferiores com o Comparador 1 em mais de 1,00 log cópias/mL quando comparadas com o ensaio Abbott RealTime HIV-1.
- Três amostras do grupo M e 7 amostras do grupo O apresentaram valores quantitativos inferiores com o Comparador 2 em mais de 1,00 log cópias/mL quando comparadas com o ensaio Abbott RealTime HIV-1.

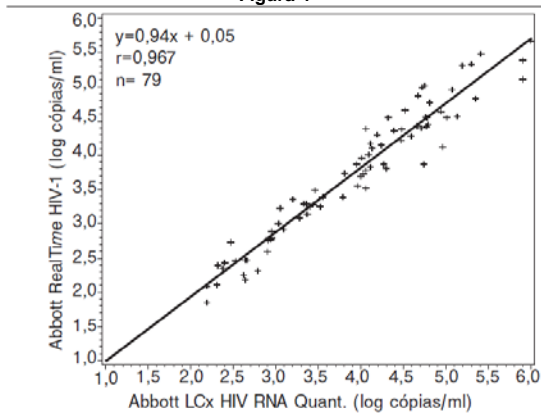
Correlação

A análise da comparação de métodos foi executada de acordo com a diretriz EP9-A2 do NCCLS.³⁶ As amostras de 141 pacientes infectados pelo HIV-1 foram testadas com o ensaio RealTime HIV-1 e um ensaio de comparação. O gráfico de correlação é apresentado na **Figura 3**.



As amostras de 79 pacientes infectados pelo HIV-1 (um subgrupo das 141 amostras testadas) foram analisadas com o ensaio Abbott LCx[®] HIV RNA Quantitative. O gráfico de correlação é apresentado na **Figura 4**.

Figura 4



Bibliografia

- Barre-Sinoussi F, Chermann JC, Rey F, et al. Isolation of a T-lymphotropic retrovirus from a patient at risk for acquired immune deficiency syndrome (AIDS). *Science* 1983;220:868-71.
- Popovic M, Sarngadharan MG, Read E, et al. Detection, isolation and continuous production of cytopathic retroviruses (HTLV-I) from patients with AIDS and pre-AIDS. *Science* 1984;224:497-500.
- Gallo RC, Salahuddin SZ, Popovic M, et al. Frequent detection and isolation of cytopathic retroviruses (HTLV-I) from patients with AIDS and at risk for AIDS. *Science* 1984;224:500-3.
- Curran JW, Jaffe HW, Hardy AM, et al. Epidemiology of HIV infection and AIDS in the United States. *Science* 1988;239:610-16.
- Daar ES, Moudgil T, Meyer RD, Ho DD. Transient high levels of viremia in patients with primary human immunodeficiency virus type 1 infection. *New Engl J Med* 1991;324:961-4.
- Clark SJ, Saag MS, Decker WD. High titers of cytopathic virus in plasma of patients with symptomatic primary HIV-1 infection. *New Engl J Med* 1991;324:954-60.
- Albert J, Abrahamsson B, Nagy K, et al. Rapid development of isolate-specific neutralizing antibodies after primary HIV-1 infection and consequent emergence of virus variants which resist neutralization by autologous sera. *AIDS* 1990;4:107-12.
- Horsburgh CR Jr, Ou CY, Jason J, et al. Duration of human immunodeficiency virus infection before detection of antibody. *Lancet* 1989;334:637-40.
- Pantaleo G, Graziosi C, Fauci AS. New concepts in the immunopathogenesis of human immunodeficiency virus (HIV) infection. *New Engl J Med* 1993;328:327-35.
- Ho DD, Neumann AU, Perelson AS, et al. Rapid turnover of plasma virions and CD4 lymphocytes in HIV-1 infection. *Nature* 1995;373:123-6.
- Wei X, Ghosh SK, Taylor ME, et al. Viral dynamics in human immunodeficiency virus type 1 infection. *Nature* 1995;373:117-22.
- Mellors JW, Rinaldo CR JR, Gupta P, et al. Prognosis in HIV-1 infection predicted by the quantity of virus in plasma. *Science* 1996;272:1167-70.
- Mellors JW, Munoz A, Giorgi JV, et al. Plasma viral load and CD4+ lymphocytes as prognostic markers of HIV-1 infection. *Ann Intern Med* 1997;126(12):946-54.
- Chene G, Sterne JA, May M, et al. Prognostic importance of initial response in HIV-1 infected patients starting potent antiretroviral therapy: analysis of prospective studies. *Lancet* 2003;362:679-86.
- Egger M, May M, Chene G, et al. Prognosis of HIV-1 infected drug patients starting highly active antiretroviral therapy: a collaborative analysis of prospective studies. *Lancet* 2002;360:119-29.
- Wood E, Hogg RS, Yip B, et al. Higher baseline levels of plasma human immunodeficiency virus type 1 RNA are associated with increased mortality after initiation of triple-drug antiretroviral therapy. *J Infect Dis* 2003;188:1421-5.
- US Department of Health and Human Services. 2004 guidelines for the use of antiretroviral agents in HIV-1 infected adults and adolescents. Available at: <http://AIDSinfo.nih.gov/guidelines>.
- Yeni PG, Hammer SM, Hirsch MS, et al. Treatment for Adult HIV Infection. 2004 Recommendations of the International AIDS Society-USA Panel. *JAMA* 2004;292:251-65.
- Perelson AS, Essunger P, Cao Y, et al. Decay characteristics of HIV-1 infected compartments during combination therapy. *Nature* 1997;387(6629):188-91.
- Mulder J, McKinney N, Christopher C, et al. Rapid and simple PCR assay for quantitation of human immunodeficiency virus type 1 RNA in plasma: application to acute retroviral infection. *J Clin Microbiol* 1994;32:292-300.
- Dewar RL, Highbarger HC, Sarmiento MD, et al. Application of branched DNA signal amplification to monitor human immunodeficiency virus type 1 burden in human plasma. *J Inf Diseases* 1994;170:1172-9.
- Van Gemen B, Kievits T, Schukink R, et al. Quantification of HIV-1 RNA in plasma using NASBA™ during HIV-1 primary infection. *J Virol Methods* 1993;43:177-87.
- Yen-Lieberman B, Brambilla D, Jackson B, et al. Evaluation of a quality assurance program for quantitation of human immunodeficiency virus type 1 RNA in plasma by the AIDS clinical trials group virology laboratories. *J Clin Microbiol* 1996;34:2695-701.
- Holmes H, Davis C, Heath A, et al. An international collaborative study to establish the 1st international standard for HIV-1 RNA for use in nucleic acid-based techniques. *J Virol Methods* 2001;92:141-50.
- Davis C, Heath A, Best S, et al. Calibration of HIV-1 working reagents for nucleic acid amplification techniques against the 1st international standard for HIV-1 RNA. *J Virol Meth* 2003;107:37-44.
- Myers TW, Gelfand DH. Reverse Transcription and DNA Amplification by a *Thermus thermophilus* DNA Polymerase. *Biochem* 1991;30:7661-6.
- Myers G, Korber B, Wain-Hobson S, et al. Human retroviruses and AIDS 1994: A compilation and analysis of nucleic acid and amino acid sequences. Los Alamos National Laboratory, Theoretical Biology and Biophysics (T10). Los Alamos, New Mexico:1994.
- 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.
- Genocchio C, Wang X, Kaplan M, et al. Effects of specimen collection, processing, and storage conditions on stability of human immunodeficiency virus type 1 RNA levels in plasma. *J Clin Microbiol* 1997;35(11):2886-93.
- Seibre K, McGavin K, Land S, et al. Stability of human immunodeficiency virus RNA in blood specimens as measured by a commercial PCR-based assay. *J Clin Microbiol* 1998;36(2):493-8.
- 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.
- 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.
- 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.

A AQUISIÇÃO DESTE PRODUTO PERMITE QUE AO COMPRADOR UTILIZÁ-LO PARA AMPLIFICAÇÃO E DETECÇÃO DE SEQUÊNCIAS DE ÁCIDO NUCLEICO EM DIAGNÓSTICO *IN VITRO* EM SERES HUMANOS. O PRESENTE DOCUMENTO NÃO FORNECE AO COMPRADOR NENHUMA PATENTE OU LICENÇA DE QUALQUER TIPO EXCETO ESTE DIREITO ESPECÍFICO DE USO. ESTA CLÁUSULA NÃO PROÍBE A REVENDA DESTE PRODUTO.

MARCAS

Armored RNA® é uma tecnologia patenteada desenvolvida em conjunto por Ambion, Inc. e Cenetron Diagnostics, LLC. Patentes norte-americanas: #5,677,124, #5,919,625, #5,939,262 e patentes pendentes. Armored RNA é marca comercial registrada de Ambion. ProClin é marca comercial registrada de Rohm and Haas. StrataCooler é marca comercial registrada de Stratagene. 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. Abbott m, m1000, m2000, m2000rt e m2000sp são marcas comerciais de Abbott Laboratories. Celera e o design Spirit são marcas comerciais registradas de Celera Corporation ou suas subsidiárias nos EUA e/ou em outros países. LCx é marca comercial registrada de Abbott Laboratories.

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 80146501493

Nº de lote e data de fabricação e validade: V. rótulo dos frascos e estojo

Data da Revisão: Agosto de 2016