



Ministerio de Salud
Secretaría de Políticas, Regulación
e Institutos
A.N. M. A.T

DISPOSICIÓN N°

1011 14

BUENOS AIRES, 04 FEB. 2016

VISTO el expediente N° 1-47-2945/14-8 del Registro de la Administración Nacional de Medicamentos Alimentos y Tecnología Médica y,

CONSIDERANDO:

Que por los presentes actuados la firma WIENER LABORATORIOS S.A.I.C. solicita autorización para la venta a laboratorios de análisis clínicos del Productos para diagnóstico de uso "in vitro" denominado WL RNA-quant HIV-1/ PRUEBA DE RETROTRANSCRIPCIÓN- AMPLIFICACIÓN *IN VITRO* DE ÁCIDOS NUCLEICOS, PARA LA CUANTIFICACIÓN DE SECUENCIAS DE ARN DEL HIV-1 (TODOS LOS SUBTIPOS DEL GRUPO M) EN PLASMA HUMANO, UTILIZANDO LA TECNOLOGÍA DE REACCIÓN EN CADENA DE LA POLIMERASA EN TIEMPO REAL (qPCR) .

Que a fojas 237 consta el informe técnico producido por el Servicio de Productos para Diagnóstico que establece que los productos reúnen las condiciones de aptitud requeridas para su autorización.

Que la Dirección Nacional de Productos Médicos ha tomado la intervención de su competencia.

Que se ha dado cumplimiento a los términos que establece la Ley N° 16.463, Resolución Ministerial N° 145/98 y Disposición ANMAT N° 2674/99.

Que la presente se dicta en virtud de las facultades conferidas por el Decreto N° 1490/92 y por el Decreto N° 101/15 de fecha 16 de diciembre de 2015.



Ministerio de Salud
Secretaría de Políticas, Regulación
e Institutos
A.N. M. A.T

DISPOSICIÓN N°

1114

Por ello;

EL ADMINISTRADOR NACIONAL DE LA ADMINISTRACIÓN NACIONAL DE
MEDICAMENTOS, ALIMENTOS Y TECNOLOGÍA MÉDICA

DISPONE:

ARTÍCULO 1º.- Autorízase la venta a laboratorios de análisis clínicos del producto de diagnóstico para uso *in Vitro* denominado WL RNA-quant HIV-1/ PRUEBA DE RETROTRANSCRIPCIÓN- AMPLIFICACIÓN *IN VITRO* DE ÁCIDOS NUCLEICOS, PARA LA CUANTIFICACIÓN DE SECUENCIAS DE ARN DEL HIV-1 (TÓDOS LOS SUBTIPOS DEL GRUPO M) EN PLASMA HUMANO, UTILIZANDO LA TECNOLOGÍA DE REACCIÓN EN CADENA DE LA POLIMERASA EN TIEMPO REAL (qPCR), el que será elaborado por WIENER Laboratorios S.A.I.C. Riobamba 2944, Ciudad de Rosario, Provincia de Santa Fe (ARGENTINA) a expenderse en ENVASES POR 150 Y [300] DETERMINACIONES, CONTENIENDO: 1) Primers - probe HIV 1 (1 x 165 µl o [2 x 165 µl]); 2) Primers - probe IC (1 x 165 µl o [2 x 165 µl]); 3) Primers - probe ACTB (1 x 165 µl o [2 x 165 µl]); 4) IC RNA (1 x 600 µl o [2 x 600 µl]); 5) PC HIV 1 (1 x 800 µl o [2 x 800 µl]) y 6) NUCLEASE FREE H₂O (1 x 2 ml o [2 x 2 ml]), con una vida útil de VEINTICUATRO (24) meses desde la fecha de elaboración conservado a -20 °C y que la composición se detalla a fojas 28.

ARTICULO 2º.- Acéptense los proyectos de rótulos y Manual de Instrucciones a fojas 44 a 47, 66 a 69, 88 a 91 y 94 a 153. Desglosándose fojas 88 a 91 y 134 a 153 debiendo constar en los mismos que la fecha de vencimiento es la declarada por el elaborador impreso en los rótulos de cada partida.

ARTÍCULO 3º.- Extiéndase el Certificado correspondiente.



Ministerio de Salud
Secretaría de Políticas, Regulación
e Institutos
A.N. M. A.T

DISPOSICIÓN N°

1114

ARTICULO 4º.- LA ADMINISTRACIÓN NACIONAL DE MEDICAMENTOS, ALIMENTOS Y TECNOLOGÍA MEDICA se reserva el derecho de reexaminar los métodos de control, estabilidad y elaboración cuando las circunstancias así lo determinen.

ARTÍCULO 5º.- Regístrese, gírese a la Dirección de Gestión de Información Técnica a sus efectos, por el Departamento de Mesa de Entradas notifíquese al interesado y hágasele entrega de la copia autenticada de la presente Disposición, junto con la copia de los proyectos de rótulos, manual de instrucciones y el certificado correspondiente. Cumplido, archívese.-

EXPEDIENTE N° 1-47-2945/14-8

DISPOSICIÓN N°:

Fd

1114



Dr. ROBERTO LEDE
Subadministrador Nacional
A.N.M.A.T.

1111



04 FEB. 2016

Wiener lab.
WL RNA-quant HIV1

▽ 150



↓ -20°C

IND

Cont.

- Primers/probe HIV1 1 x → 165 ul
- Primers/probe IC 1 x → 165 ul
- Primers/probe ACTB 1 x → 165 ul
- IC RNA 1 x → 600 ul
- PC HIV1 1 x → 800 ul
- Nuclease-free H₂O 1 x 2 ml

Industria Argentina

 Wiener Laboratorios S.A.I.C.
 Riobamba 2944
 2000 Rosario - Argentina
<http://www.wiener-lab.com.ar>

Uso profesional exclusivo
 Producto Autorizado por A.N.M.A.T.
 Cert.:
 Dir. Téc.: Viviana E. Cétola
 Bioquímica

LOT



REF

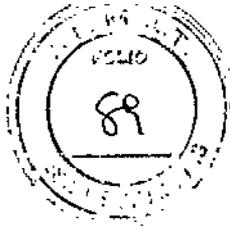
[Handwritten mark]

[Handwritten signature]

WIENER Laboratorios S.A.I.C.
[Signature]
 Dra. VIVIANA E. CETOLA
 DIRECTORA TECNICA

WIENER Laboratorios S.A.I.C.
[Signature]
 C.P.N. MARIA ROSA ROJKIN
 APODERADA

11114



Wiener lab.
WL RNA-quant HIV1

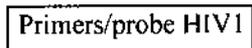
 300

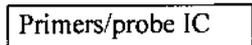


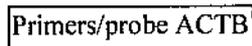
 -20°C

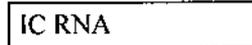


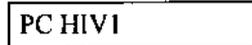


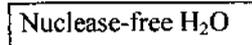
 2 x → 165 ul

 2 x → 165 ul

 2 x → 165 ul

 2 x → 600 ul

 2 x → 800 ul

 2 x 2 ml

Industria Argentina

 Wiener Laboratorios S.A.I.C.
Riobamba 2944
2000 Rosario - Argentina
<http://www.wiener-lab.com.ar>

Uso profesional exclusivo
Producto Autorizado por A.N.M.A.T.
Cert.:
Dir. Téc.: Viviana E. Cétola
Bioquímica











WIENER Laboratorios S.A.I.C.

Dra. VIVIANA E. CETOLA
DIRECTORA TÉCNICA


WIENER Laboratorios S.A.I.C.
C.P.N. MARIA ROSA ROJKIN
APODERADA

10114



Wiener lab.
WL RNA-quant HIV1

Primers/probe HIV1

→ 165 ul

↓ -20°C

IND

LOT



Wiener lab.
WL RNA-quant HIV1

Primers/probe IC

→ 165 ul

↓ -20°C

IND

LOT



Wiener lab.
WL RNA-quant HIV1

Primers/probe ACTB

→ 165 ul

↓ -20°C

IND

LOT



f.

WIENER Laboratorios S.A.I.C.

Muy
Dra. VIVIANA E. CETOLA
DIRECTORA TECNICA

WIENER Laboratorios S.A.I.C.
MAR
C.P.N. MARIA ROSA ROJMIN
APODERADA



Wiener lab.
WL RNA-quant HIV1

IC RNA

→ 600 ul

↓ -20°C

MD

LOT



Wiener lab.
WL RNA-quant HIV1

PC HIV1

→ 800 ul

↓ -20°C

MD

LOT



Wiener lab.
WL RNA-quant HIV1

Nuclease-free H₂O

2 ml

↓ -20°C

MD

LOT



WIENER Laboratorios S.A.I.C.

Dra. VIVIANA E. CETOLA
DIRECTORA TECNICA

WIENER Laboratorios S.A.I.C.
C.P.N. MARIA ROSA ROJKIN
APODERADA

WL RNA-quant HIV1

Método para Cuantificación de Genomas de todos los subtipos del grupo M del Virus de la Inmunodeficiencia Humana tipo 1 (HIV1), por Reacción en Cadena de la Polimerasa en Tiempo Real

SIGNIFICACIÓN CLÍNICA

El virus del HIV1 provoca una de las enfermedades infecciosas que más castiga a la humanidad con gran morbi-mortalidad. Es el causante del Síndrome de Inmunodeficiencia adquirida o SIDA, en el cual el sistema inmune se encuentra alterado en su funcionamiento generando inmunodeficiencia, lo que permite la aparición en el paciente de diversas infecciones oportunistas.

Se estima que unas 40 millones de personas en el mundo están infectadas con HIV1. El virus es transmitido por contacto directo entre una membrana mucosa y fluidos corporales infectados con HIV1 (sangre, semen, fluido vaginal, fluido preseminal, leche materna, etc.), ya sea a través de contacto sexual, por vía parenteral o por transmisión vertical madre-hijo.

El HIV1 es un retrovirus de la familia *Retroviridae*. El virión tiene en su genoma dos cadenas idénticas de ARN monocatenario (9,2 Kb), que dan lugar a tres genes principales: *env* (codifica las glicoproteínas de envoltura), *gag* (codifica las proteínas de la matriz, cápside y nucleocápside) y *pol* (codifica la integrasa, la proteasa y la transcriptasa reversa viral). El virus presenta alta diversidad genética y ha sido clasificado filogenéticamente en tres grupos principales: M (de *major*, que incluye la mayoría de los aislamientos virales), O (de *outliers*) y N (de *new*). A su vez, dentro del grupo M se han identificado al menos 10 subtipos distintos llamados de A a J, prevalentes en diferentes áreas geográficas.

No existe un único marcador de laboratorio que sea ideal para medir el curso de la infección por HIV1, por lo que es necesaria la evaluación de varios de ellos para el manejo clínico de los pacientes. El estado inmunológico del paciente, a través de la medición de sus células T CD4+, es fundamental para evaluar el progreso de la enfermedad. El diagnóstico virológico se basa en la detección de anticuerpos específicos, de antígenos virales circulantes, de ácidos nucleicos de HIV1 (ARN o ADN) y en el aislamiento del virus a partir de cultivos de células mononucleares.

El ARN viral, marcador de viremia activa, es detectado previo a la seroconversión y a la detección de la proteína del *core* p24. Por otra parte, la terapia antirretroviral de alta eficacia (TAAE) ha revolucionado hace unos años el seguimiento de los pacientes HIV positivos. De esta forma, la

WIENER Laboratorios S.A.I.C.


Dra. VIVIANA E. CETOLA
DIRECTORA TÉCNICA



viremia plasmática o carga viral se ha convertido en un marcador fundamental para decidir el momento oportuno para la intervención terapéutica, predecir la progresión de la enfermedad y monitorear en el tiempo la eficacia de la TAAE en el individuo infectado.

La tecnología más utilizada en la actualidad para la detección y/o cuantificación del ARN viral, es la Transcripción Reversa o Retrotranscripción seguida de amplificación por Reacción en Cadena de la Polimerasa en tiempo real (RT-qPCR).

FUNDAMENTOS DEL MÉTODO

WL RNA-quant HIV1 se basa en una prueba de retrotranscripción/amplificación *in vitro* de ácidos nucleicos, para la cuantificación de secuencias de ARN del HIV1 en plasma humano, utilizando la tecnología de Reacción en Cadena de la Polimerasa en Tiempo Real (qPCR) mediante el uso de sondas específicas tipo TaqMan®.

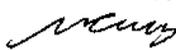
El procedimiento completo consiste en la purificación del ARN a partir de la muestra de plasma, seguido de la retrotranscripción/amplificación en una sola etapa, de regiones específicas del genoma del patógeno. El producto amplificado se detecta a través de fluorocromos, los cuales están ligados a *probes* que se unen específicamente a la secuencia que se amplifica. La fluorescencia emitida durante la amplificación, hace posible la detección y cuantificación del producto amplificado.

La función de cada componente de la reacción es la siguiente:

La **mezcla de primers/probe HIV1** (Primers/probe HIV1) es detectada a través del canal FAM (azul). El *probe* de la mezcla es del tipo TaqMan® (5'FAM, 3'BHQ1), el cual es escindido durante la amplificación separándose el fluoróforo del *quencher*. El aumento de fluorescencia resultante por acumulación del ADN templado (producto de la retrotranscripción), es detectado por el instrumento de PCR en tiempo real. Las secuencias de *primers* presentan 100% de homología con una gran variedad de secuencias de referencia clínicamente relevantes, según análisis bioinformático. Dichas secuencias pertenecen a la región *pol* (polimerasa) del genoma viral, la cual está altamente conservada a lo largo de todos los subtipos virales y es un buen marcador de detección del HIV1.

El **Control Positivo HIV1** (PC HIV1) se utiliza para generar la Curva Estándar, que sirve para determinar la cantidad absoluta de templado en la muestra a partir de datos generados por amplificación de la misma. La curva, que debe incluirse en cada prueba, se genera a partir de diluciones en serie del PC HIV1. Luego el *software* del termociclador calcula por interpolación, la cantidad absoluta de templado a partir de los datos generados por la Curva Estándar.

WIENER Laboratorios S.A.


Dra. VIVIANA E. CETONI
DIRECTORA TÉCNICA

Es necesario además incluir un **Control Negativo de reacción (NC)** para confirmar la ausencia de contaminación de los reactivos. Para esto se utiliza agua libre de nucleasas como muestra. En caso de resultado positivo para este control, se debe repetir la prueba buscando previamente las posibles fuentes de contaminación y eliminándolas.

Cuando se realiza la extracción de ARN a partir de la muestra clínica (plasma EDTA), se agrega un **Control Interno de ARN (IC RNA)** que es una fuente exógena de ARN que es co-purificada con la muestra. El mismo es un control del proceso de extracción del ARN e indica la ausencia de inhibidores en la reacción de retrotranscripción/amplificación. Para esto se utiliza una **mezcla de primers/probe IC (Primers/probe IC)**, en la cual los *primers* se encuentran en una concentración límite tal que permiten una reacción múltiple con los *primers* del templado. El *probe* de esta mezcla es del tipo TaqMan® (5'YY, 3'BHQ1), detectado a través del canal VIC (verde).

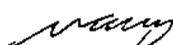
A fin de confirmar que el templado obtenido (ARN purificado a partir de la muestra) es apto para el proceso de retrotranscripción/amplificación, o sea que tiene la calidad necesaria para ser retrotranscripto y amplificado, se incluye una **mezcla de primers/probe ACTB (Primers/probe ACTB)** que detecta el gen constitutivo de Beta Actina. El *probe* de esta mezcla es del tipo TaqMan® (5'FAM, 3'BHQ1), detectado a través del canal FAM. Esto hace que esta reacción se deba llevar a cabo en forma separada de la detección del HIV1.

La amplificación del gen ACTB es opcional y es recomendable realizarla ante resultados negativos para el templado en estudio.

REACTIVOS PROVISTOS

- 1- **Primers/probe HIV1:** mezcla liofilizada de *primers* sentido y anti sentido de HIV1 y *probe* de HIV1 tipo TaqMan® (5'FAM, 3'BHQ1).
- 2- **Primers/probe IC:** mezcla liofilizada de *primers* sentido y anti sentido de Control Interno y *probe* de Control Interno tipo TaqMan® (5'YY, 3'BHQ1).
- 3- **Primers/probe ACTB:** mezcla liofilizada de *primers* sentido y anti sentido del gen Beta Actina endógeno (ACTB) y *probe* del gen ACTB tipo TaqMan® (5'FAM, 3'BHQ1).
- 4- **IC RNA:** control interno de ARN
- 5- **PC HIV1:** control positivo HIV1
- 6- **Nuclease-free H₂O:** agua libre de nucleasas

WIENER Laboratorios S.A.I.C.


Dra. VIVIANA E. CETOLA
DIRECTORA TÉCNICA

REACTIVOS Y EQUIPAMIENTO NO PROVISTOS

- Sistema de purificación de ARN viral.
- Master Mix (mezcla para la amplificación del ADN por PCR en tiempo real y para la retrotranscripción/amplificación del ARN por PCR en tiempo real (RT-qPCR) en un paso, ambas mediante el uso de sondas específicas tipo TaqMan®): TaqMan® Fast Virus 1-Step Master Mix (Applied Biosystems, Cat.4444432). La misma permite tanto la amplificación del ADN de la Curva Estándar, como la RT-qPCR en un paso del ARN purificado a partir de las muestras de plasma.
- ROX (colorante que normaliza la señal fluorescente): reactivo necesario para termocicladores que requieran su uso.
- Agua calidad biología molecular (libre de nucleasas): para utilizar en la preparación de las reacciones de retrotranscripción/amplificación (ver Procedimiento Completo del Ensayo). Tener en cuenta que el agua provista (Nuclease- free H2O) se utiliza para la reconstitución de los reactivos de este producto.
- Termociclador: IQ5® (BioRad) y StepOne®/StepOne Plus® (Applied Biosystems).
- Micropipetas de volumen variable.
- Tips con filtro libres de nucleasas.
- Tubos de microcentrífuga (x 1,5 ml) libres de nucleasas.
- Soporte de reacción acorde al Instrumento de PCR en tiempo real que se utilice (ej. microplacas " con films ópticos, tubos de PCR, etc.).
- Agitador vórtex.
- Centrífuga de mesa con rotor para tubos de 1,5 a 2 ml.
- Guantes descartables sin polvo.
- Baño de hielo y/o bloque frío (para tubos x 1,5 a 2 ml).

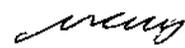
NOTA:

Este producto fue validado con los materiales anteriormente mencionados. En el caso de utilizar reactivos o instrumentos diferentes, se requerirá la validación por parte del usuario.

PRECAUCIONES

- Los reactivos son para uso diagnóstico "in vitro".
- Todas las muestras de pacientes deben manipularse como si fueran capaces de transmitir infección.

WIENER Laboratorios S.A.I.C


Dra. VIVIANA E. CETOLA
DIRECTORA TÉCNICA



- Todos los componentes deben descongelarse completamente (una vez reconstituidos), homogeneizarse y centrifugarse brevemente antes de iniciar el ensayo. Luego se recomienda mantenerlos refrigerados, especialmente las mezclas de retrotranscripción/amplificación. Estas últimas deben homogeneizarse suavemente, evitando formación de espuma.
- La preparación de la reacción de retrotranscripción/amplificación debe llevarse a cabo en baño de hielo o bloque frío.
- No usar los reactivos luego de la fecha de vencimiento.
- No intercambiar reactivos de distintos lotes ni modificar los procedimientos del ensayo.
- No emplear reactivos de origen diferente al indicado.
- Todos los reactivos y las muestras deben descartarse de acuerdo a la normativa local vigente.
- Evitar que los componentes sufran contaminación microbiana o con nucleasas, cuando se introduzcan elementos dentro de los mismos.
- El análisis y/o cuantificación de ARN requiere utilizar muestras con el ARN completamente intacto para que los resultados sean óptimos. La presencia de ARNasas es extremadamente común, resultando en una disminución de la integridad del ARN que no se encuentre protegido. Hay varias fuentes de ARNasas en el laboratorio (polen, polvo, contacto con la piel de las manos, etc.) por lo cual las condiciones de trabajo son fundamentales, como así también la conservación del ARN purificado a $\leq -70^{\circ}\text{C}$ para inhibir la actividad de estas enzimas.
- Es fundamental para el uso de este producto, contar con los conocimientos básicos en el manejo de técnicas moleculares para diagnóstico. Debido a la alta sensibilidad de la tecnología de amplificación, es necesario respetar las normas de trabajo indicadas para este tipo de análisis (áreas pre y post amplificación, flujo del trabajo, uso de material apropiado, etc.).

ESTABILIDAD E INSTRUCCIONES DE ALMACENAMIENTO

Los reactivos provistos son estables en freezer (-20°C) hasta la fecha de vencimiento indicada en la caja.

Cada componente del producto es estable 3 meses a -20°C una vez reconstituido (ver punto II del Procedimiento).

Evitar en todos los casos repetidos ciclos de congelamiento/descongelamiento (no descongelar más de dos veces), ya que pueden causar pérdida de reactividad. En caso de no usarlos regularmente, es aconsejable dividir los reactivos en alícuotas, teniendo en cuenta la utilización de material libre de nucleasas y que las mezclas de *primers/probe* requieren estar protegidas de la luz.

E.

WIENER Laboratorios S.A.I.C.


Dra. VIVIANA E. CETOLA
DIRECTORA TÉCNICA





Si fuera necesario almacenar los componentes de este producto entre 2-10°C antes de su reconstitución, el período no debe superar los 60 días.

MUESTRA

Plasma recolectado con EDTA.

- a) Recolección: en tubo estéril libre de nucleasas. Nota: pueden utilizarse dispositivos comerciales específicos para tal fin.
- b) Aditivos: EDTA como anticoagulante.
- c) Interferencias conocidas: heparina, hemólisis
- d) Estabilidad e instrucciones de almacenamiento: los ensayos moleculares son particularmente sensibles a las condiciones preanalíticas subóptimas, por lo cual la calidad de la muestra a utilizar es fundamental. Es recomendable la separación del plasma por centrifugación (entre 2500- 4000 rpm x 15-20 minutos), dentro de las 4 horas de extraída la muestra de sangre y conservar el mismo en tubo de polipropileno estéril entre -20 a -80°C hasta llevar a cabo la purificación del ácido nucleico o entre 2-10°C si dicho proceso se lleva a cabo dentro de las 48 horas. No es recomendable realizar más de un ciclo de congelamiento/descongelamiento del plasma ya que puede generar resultados erróneos, por lo cual se aconseja conservarlo en alícuotas convenientes para dar inicio a la purificación del ARN correspondiente.

No utilizar muestras con contaminación microbiana.

Si las muestras deben ser transportadas, deben embalsarse de acuerdo a las especificaciones legales relativas al envío de material infeccioso.

PROCEDIMIENTO COMPLETO DEL ENSAYO

Antes de iniciar el proceso de extracción del ácido nucleico, homogeneizar y centrifugar el plasma a una velocidad de 8000-10000 rpm durante 5 minutos.

I) Extracción de ARN a partir de plasma (EDTA): seguir las instrucciones del fabricante del sistema de extracción y purificación de ARN. Se debe agregar IC RNA (4 µl/muestra), conjuntamente cuando se agrega el RNA *carrier* que generalmente viene incluido en el sistema de purificación de ARN (ver en el punto II cómo se realiza la reconstitución del IC RNA).

El ARN obtenido se utiliza como templado de la reacción de retrotranscripción/amplificación. El mismo debe mantenerse en baño de hielo y/o bloque frío apenas es purificado, para luego conservarse hasta su uso a ≤ -70°C, evitando ciclos de congelamiento/descongelamiento (no

WIENER Laboratorios S.A.I.C.


Dra. VIVIANA E. CETOLA
DIRECTORA TÉCNICA

descongelar el ARN purificado más de una vez, por lo que se recomienda alicuotarlo aproximadamente de a 10 µl y luego congelarlo).

II) Reconstitución de los componentes del producto: Llevar los componentes a temperatura ambiente (22-25°C) por unos minutos y hacer una breve centrifugación para evitar pérdidas de los reactivos liofilizados al abrir los tubos.

Reconstituir cada componente con el Agua libre de nucleasas (Nuclease-free H₂O) provista, de acuerdo a la siguiente tabla:

Componente	Volumen de reconstitución (µl)
En el área pre-amplificación:	
Primers/probe HIV1 (tubo ámbar)	165
Primers/probe IC (tubo ámbar)	165
Primers/probe ACTB (tubo ámbar)	165
IC RNA (tapa azul)	600
En el área post-amplificación:	
PC HIV1 (tapa roja)	800

Para garantizar resuspensión total de los componentes, agitar en vórtex cada tubo durante 20-30 segundos. Mantener los reactivos reconstituidos refrigerados (en baño de hielo o bloque frío).

III) Preparación de la mezcla de reacción para la retrotranscripción/amplificación: se describe el protocolo empleando la Master Mix con la que se validó el producto (ver Reactivos y Equipamiento no provistos).

Se recomienda amplificar cada dilución de la Curva Estándar al menos por duplicado o triplicado. Incluir además un Control Negativo (NC) por duplicado. En base al número de muestras a analizar, preparar las diferentes mezclas de reacción de acuerdo a lo siguiente:

Mezcla de reacción para el templado de ARN, Curva Estándar y NC:

Componente	Volumen (µl) por cada muestra
Master Mix *	5
Primers/probe HIV1 (tubo ámbar)	1
Primers/probe IC (tubo ámbar)	1
Nuclease-free H ₂ O	5

* Esta Master Mix ya tiene ROX incluido. En caso de tener que agregarlo aparte, utilizar ROX 25 µM 0,1 µl/muestra.

WIENER Laboratorios S.A.I.C.

Viviana E. Cetola
Dra. VIVIANA E. CETOLA
DIRECTORA TÉCNICA

Si se quiere amplificar el gen de ACTB endógeno para cada muestra clínica, preparar la mezcla de reacción de acuerdo a lo siguiente:

Mezcla de reacción para el gen ACTB:

Componente	Volumen (μ l) por cada muestra
Master Mix *	5
Primers/probe ACTB (tubo ámbar)	1
Nuclease-free H ₂ O	6

*Esta Master Mix ya tiene ROX incluido. En caso de tener que agregarlo aparte, utilizar ROX 25 μ M 0,1 μ l/muestra.

Mantener las mezclas de reacción refrigeradas (en baño de hielo o bloque frío). Guardar los reactivos reconstituidos a -20°C luego de su uso.

IV) Agregar 12 μ l de cada una de las mezclas en los correspondientes pocillos/tubos de reacción, de acuerdo al esquema experimental definido y manteniendo los mismos en baño de hielo o bloque frío.

V) Agregar 8 μ l de templado o controles a los correspondientes pocillos/tubos de reacción, según lo siguiente:

- a- Templado de ARN: 8 μ l de cada uno de los ARN purificados a partir de muestras clínicas.
- b- NC: 8 μ l de agua libre de nucleasas.
- c- Curva Estándar: 8 μ l de cada dilución seriada a partir del PC HIV1 (ver más abajo

preparación de la Curva Estándar).

Volumen final de reacción: 20 μ l

Preparación de la Curva Estándar:

Nota: se recomienda en todo momento, manipular el PC HIV1 en el área post-amplificación, para evitar contaminar el resto de los reactivos.

- 1) Agregar 450 μ l de agua libre de nucleasas en 5 tubos rotulados de 2 a 6.
- 2) Agregar 50 μ l de PC HIV1 (tapa roja) en el tubo 2
- 3) Agitar con vórtex para garantizar buena homogeneización
- 4) Cambiar el tip de la micropipeta y agregar 50 μ l de la mezcla del tubo 2 al tubo 3
- 5) Agitar con vórtex para garantizar buena homogeneización
- 6) Repetir los pasos 4 y 5 hasta completar la serie de diluciones (tubo 6)

La Curva Estándar queda definida de la siguiente manera:

WIENER Laboratorios S.A.S.C

Dra. VIVIANA E. CEYOLA
DIRECTORA TÉCNICA



Curva Estándar	copias/ml
Tubo 1 (PC HIV1, tapa roja)	$1,87 \times 10^7$
Tubo 2	$1,87 \times 10^6$
Tubo 3	$1,87 \times 10^5$
Tubo 4	$1,87 \times 10^4$
Tubo 5	$1,87 \times 10^3$
Tubo 6	$1,87 \times 10^2$

La concentración del PC HIV1 equivale a $1,87 \times 10^7$ copias/ml de plasma, según el 2° Estándar Internacional de la WHO para ARN de HIV1 (NIBSC code: 97/650).

VI) Protocolo de amplificación: para la Master Mix con la que se validó el producto (ver Reactivos y Equipamiento no provistos).

Etapas	Tiempo	Temperatura	
Transcripción reversa	15 minutos	50°C	
Activación enzimática	20 segundos	95°C	
Desnaturalización	15 segundos	95°C	50 ciclos
Toma de datos*	60 segundos	60°C	

* Los datos de fluorescencia se toman en los canales FAM y VIC en los pocillos/tubos de reacción donde hay templado de ARN y NC. En el resto de los pocillos (Curva Estándar y ACTB) se toman sólo en el canal FAM.

VII) Criterios de Validación del Ensayo: para llevar a cabo el análisis de las curvas y resultados obtenidos durante la amplificación, se debe previamente evaluar si los parámetros mencionados a continuación están correctamente fijados en forma automática por el instrumento (*default*) o si es necesario fijarlos manualmente:

- Línea de Base (señal de fondo de todos los pocillos de la microplaca): es recomendable que la misma finalice (*baseline end*) 2 ó 3 ciclos por debajo del menor valor de Ct (ciclo que supera el umbral de fluorescencia) de las curvas de amplificación.
- Línea *Threshold* (valor umbral de fluorescencia): se debe fijar en la fase exponencial de las curvas de amplificación de las diferentes diluciones de la Curva Estándar.

Una vez definidos los parámetros anteriores, el ensayo se considera válido si se cumplen simultáneamente las siguientes condiciones:

1- El NC no debe presentar curvas de amplificación y en caso de haber alguna curva que supere la Línea *Threshold*, el valor de Ct debe ser ≥ 40 . En caso contrario, indica contaminación de algún componente de la reacción.

WIENER Laboratorios S.A.T.C.

Dra. VIVIANA E. CETOLA
DIRECTORA TÉCNICA

2- El PC HIV1 que corresponde al tubo 1 de la curva debe presentar un valor de Ct entre 17 y 20 (esto depende del termociclador empleado).

3- Es deseable que los replicados de cada dilución de la curva no difieran entre ellos en más de 0,8 a 1 Ct. La diferencia óptima de Ct entre un tubo de la curva y el anterior inmediato, es de 3,3.

4- Análisis del IC RNA: el valor de Ct y la señal esperados para la amplificación del IC RNA en una dada muestra, varían de acuerdo al número de copias del genoma del HIV1, a la eficiencia del proceso de purificación del ARN, al termociclador usado en la reacción, etc. Valores de Ct \leq 37 están dentro del rango esperado.

Puede ocurrir con muestras de alta carga viral, que el IC RNA no amplifique por competencia en el consumo de los reactivos involucrados, de todas maneras esto no invalida el resultado.

5- Análisis del ACTB: la señal obtenida en la amplificación de este gen para una dada muestra, es variable y depende de la cantidad y calidad de material biológico presente. Es deseable obtener valores de Ct \leq 35 para garantizar un buen templado para la reacción.

Si alguna/s de las condiciones obtenidas no cumple con las especificaciones mencionadas, omitir del análisis el/los pocillos que puedan generar desvíos y/o analizar con el criterio conveniente la necesidad o no de repetir el ensayo. Tener en cuenta que las condiciones definidas son las de un ensayo óptimo y que pueden aceptarse valores cercanos a los descriptos, analizándolos en conjunto.

VIII) Análisis e interpretación de los resultados: el software del termociclador determina automáticamente y en base a los datos que se cargaron para las diluciones seriadas de la Curva Estándar, el título de ARN de HIV1 para cada muestra clínica. Este cálculo se basa en la comparación de los valores de Ct de la muestra versus los estándares en dilución (tubos 1 a 6 de la Curva Estándar).

Se considera un resultado positivo a todo aquel que genera una curva de fluorescencia creciente con forma sigmoidea, que supera el valor de la Línea *Threshold* con un Ct $<$ 40.

Por lo tanto, los resultados se pueden interpretar de la siguiente manera:

Templado de ARN (HIV1)	IC RNA	NC	PC HIV1	Interpretación
Positivo	Positivo	Negativo	Positivo	Presencia de ARN de HIV1
Positivo	Negativo	Negativo	Positivo	Presencia de ARN de HIV1
Negativo	Positivo	Negativo	Positivo	ARN de HIV1 no detectado
Negativo	Negativo	Negativo	Negativo	Resultado inválido
Positivo	Positivo	Positivo	Positivo	Resultado inválido

WIENER Laboratorios S.A.I.C.

Viviana E. Cetola
Dra. VIVIANA E. CETOLA
DIRECTORA TÉCNICA

Positivo	Negativo	Positivo	Positivo	Resultado inválido
----------	----------	----------	----------	--------------------

ESPECIFICACIONES DEL PRODUCTO

A- Sensibilidad Analítica

Para determinar la Sensibilidad Analítica del producto WL RNA-quant HIV1, se llevaron a cabo diluciones seriadas del 2° Estándar Internacional de la WHO (NIBSC Code: 97/650), en plasma humano negativo para HIV1. Se probaron replicados de cada dilución, evaluando las veces en que se obtenía un resultado positivo. Se calculó el Índice de Positividad correspondiente para cada nivel de carga viral.

Sistema de purificación de ARN viral	2000 copias/ml	1000 copias/ml	500 copias/ml	250 copias/ml	125 copias/ml	62,5 copias/ml
QIAamp® Ultra Sens Virus Kit (Qiagen)	5+/5	5+/5	5+/5	5+/5	0+/5	0+/5
Índice de Positividad (%) →	100	100	100	100	0	0
MagNA Pure® Compact NA Isolation Kit I (Roche)	5+/5	5+/5	5+/5	5+/5	5+/5	2+/5
Índice de Positividad (%) →	100	100	100	100	100	40
MagMAX™ NA Isolation Kit (Ambion®)	9+/9	9+/9	9+/9	9+/9	8+/9	3+/9
Índice de Positividad (%) →	100	100	100	100	89	33

El WL RNA-quant HIV1 presentó un LOD (95%) que se encuentra entre 125 y 250 copias/ml, dependiendo del sistema de purificación de ARN viral utilizado.

B- Rango Lineal

Se llevaron a cabo tres estudios diferentes para determinar la Linealidad del producto WL RNA-quant HIV1:

I) A partir del HIV RNA Linearity Panel (PRD801) de SeraCare Life Sciences (Lot #116421)

El WL RNA-quant HIV1 presentó una respuesta lineal entre 34,7 (log = 1,5) y al menos 1,3 x 10⁶ (log =6,1) copias/ml de ARN de HIV1 según el panel mencionado (muestras evaluadas por duplicado), tal como se observa en la Figura 1.

S.

[Handwritten signature]

WIENER Laboratorios S.A.I.C.

[Handwritten signature]
Dra. VIVIANA E. CETOJA
DIRECTORA TÉCNICA

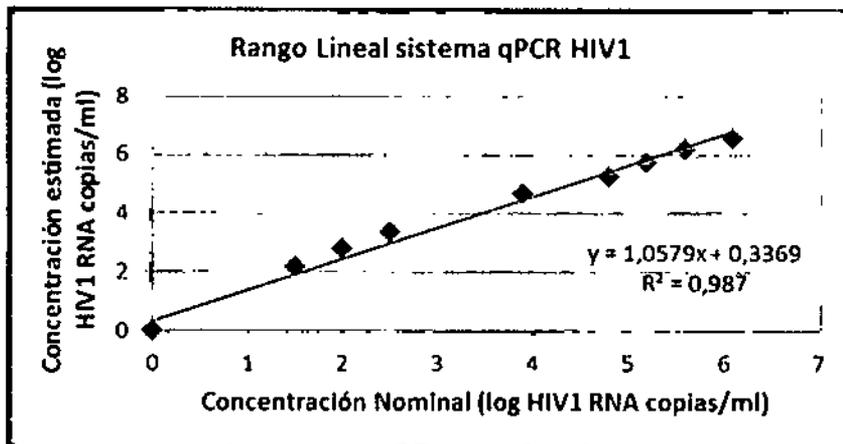


Figura 1: Linealidad del producto WL RNA-quant HIV1

II) A partir del OptiQuant HIV-1 RNA Panel (Cat. 94-2013) de Acrometrix

El WL RNA-quant HIV1 presentó una respuesta lineal entre 59 ($\log = 1,8$) y al menos $5,9 \times 10^6$ ($\log = 6,8$) copias/ml de ARN de HIV1 según el panel mencionado (muestras evaluadas por triplicado), tal como se observa en la Figura 2.

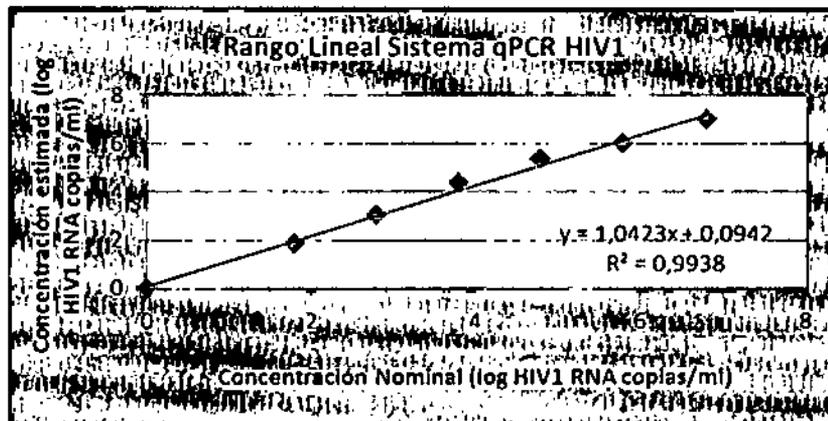


Figura 2: Linealidad del producto WL RNA-quant HIV1

III) A partir del HIV1 RNA Linearity Panel (PRD802) de SeraCare Life Sciences (Lot #121126)

Diseño del estudio:

El WL RNA-quant HIV1 presentó una respuesta lineal entre $27,6$ ($\log = 1,44$) y al menos $6,47 \times 10^6$ ($\log = 6,81$) copias/ml de ARN de HIV1 según el panel mencionado (muestras evaluadas por duplicado), tal como se observa en la Figura 3.

WIENER Laboratorios S.A.I.C.

Viviana E. Cetola
Dra. VIVIANA E. CETOLA
DIRECTORA TÉCNICA

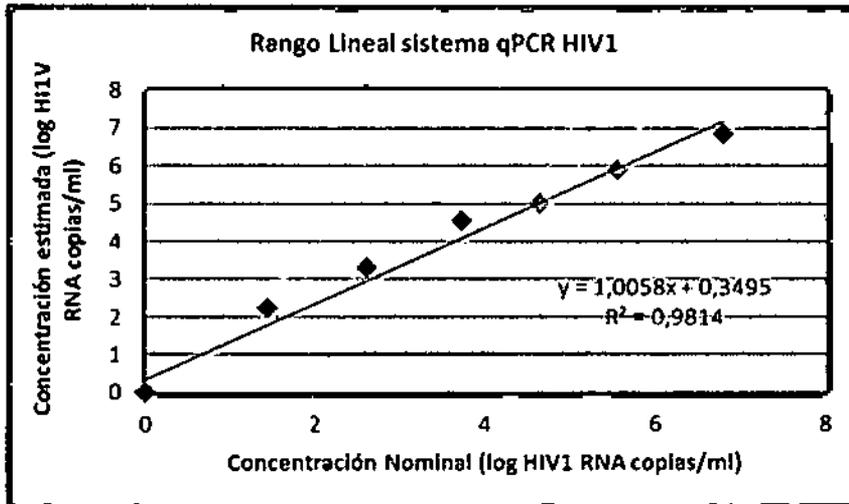


Figura 3: Linealidad del producto WL RNA-quant HIV1

C- Sensibilidad Clínica

Se evaluó la Sensibilidad Clínica del sistema partiendo de muestras HIV1 positivas con datos de carga viral obtenidos con sistema comercial referente. Se utilizaron para el estudio diferentes métodos de purificación de ARN viral.

C1- Purificación de ARN viral con QIAamp® UltraSens Virus kit (Qiagen)

Nº muestra	Sistema comercial referente		WL RNA-quant HIV1	
	copias/ml	Log ₁₀	copias/ml	Log ₁₀
HIV41	2.000	3,3	1.044	3,0
HIV40	20.000	4,3	4.634	3,7
HIV1 WHOR	21.358	4,3	4.859	3,7
HIV2 WHOR	2.136	3,3	438	2,6
HIV67	12.000	4,1	6.108	3,8
HIV76	4.940	3,7	543	2,7
HIV65	25.000	4,4	31.400	4,5
HIV70	5.300	3,7	8.320	3,9
HIV58 CEI	45.000	4,6	75.900	4,9
HIV46 CEI	3.790	3,6	1.830	3,3
HIV45 CEI	770	2,9	863	2,9
HIV44 CEI	170	2,2	ND	---
HIV28 CEI	520	2,7	385	2,6
HIV4 CEI	57	1,7	ND	---
HIV5 CEI	83	1,9	ND	---
HIV6 CEI	262	2,4	70,4	1,8
HIV15 CEI	89	1,9	311	2,5
HIV8 CEI	1.380	3,1	1.940	3,3
HIV16 CEI	134	2,1	24,2	1,4

WIENER Laboratorios S.A.I.C

Viviana E. Cetola
Dra. VIVIANA E. CETOLA
DIRECTORA TÉCNICA

HIV10 CEI	11.900	4,1	2.190	3,3
HIV12 CEI	803.000	5,9	2.250.000	6,3
HIV63 CEI	70.000	4,8	183.000	5,3
HIV64 CEI	66.200	4,8	98.500	5,0
HIV65 CEI	78.600	4,9	48.800	4,7
HIV66 CEI	528.500	5,7	377.000	5,6
HIV67 CEI	45.900	4,7	127.000	5,1
HIV68 CEI	35.360	4,5	263.000	5,4
HIV69 CEI	15.500	4,2	37.800	4,6
HIV70 CEI	6.300	3,8	26.400	4,4
HIV71 CEI	2.400	3,4	6.050	3,8
HIV72 CEI	1.130	3,0	1.340	3,1
HIV73 CEI	57.000	4,7	118.000	5,1
HIV74 CEI	9.360	4,0	27.700	4,4
HIV75 CEI	1.987	3,3	13.800	4,1
HIV76 CEI	313.000	5,5	209.000	5,3
HIV77 CEI	38.600	4,6	4.220	3,6
HIV78 CEI	1.997	3,3	13.400	4,1
HIV79 CEI	372	2,6	4.460	3,6
HIV80 CEI	15.000	4,2	33.400	4,5
HIV81 CEI	1.514	3,2	8.430	3,9
HIV82 CEI	7.000	3,8	25.300	4,4

ND: No detectable

C2- Purificación de ARN viral con MagMAX™ Viral RNA Isolation Kit (Ambion®- Applied Biosystems)

Nº muestra	Sistema comercial referente		WL RNA-quant HIV1	
	copias/ml	Log ₁₀	copias/ml	Log ₁₀
HIV63 CEI	70.000	4,8	1.000.000	6,0
HIV64 CEI	66.200	4,8	1.700.000	6,2
HIV65 CEI	78.600	4,9	1.440.000	6,1
HIV66 CEI	528.500	5,7	2.670.000	6,4
HIV67 CEI	45.900	4,7	993.000	6,0
HIV68 CEI	35.360	4,5	979.000	6,0
HIV69 CEI	15.500	4,2	210.000	5,3
HIV70 CEI	6.300	3,8	79.900	4,9
HIV71 CEI	2.400	3,4	10.400	4,0
HIV72 CEI	1.130	3,0	2.310	3,4
HIV73 CEI	57.000	4,7	287.000	5,4
HIV74 CEI	9.360	4,0	23.100	4,4
HIV75 CEI	1.987	3,3	14.900	4,2
HIV76 CEI	313.000	5,5	2.050.000	6,3
HIV77 CEI	38.600	4,6	269.000	5,4
HIV78 CEI	1.997	3,3	8.450	3,9
HIV79 CEI	372	2,6	8.760	3,9

WIENER Laboratorios S.A.I.C.

M. Viviana E. Cetola
Dra. VIVIANA E. CETOLA
DIRECTORA TÉCNICA

HIV80 CEI	15.000	4,2	70.800	4,8
HIV81 CEI	1.514	3,2	4.330	3,6
HIV82 CEI	7.000	3,8	17.100	4,2

C3- Purificación de ARN viral con MagNA Pure® Compact Nucleic Acid Isolation Kit I – Large Volume (Roche)

Nº muestra	Sistema comercial referente		WL RNA-quant HIV1	
	copias/ml	Log ₁₀	copias/ml	Log ₁₀
HIV63 CEI	70.000	4,8	1.460.000	6,2
HIV64 CEI	66.200	4,8	1.160.000	6,1
HIV65 CEI	78.600	4,9	1.480.000	6,2
HIV66 CEI	528.500	5,7	3.250.000	6,5
HIV67 CEI	45.900	4,7	1.440.000	6,1
HIV68 CEI	35.360	4,5	489.000	5,7
HIV69 CEI	15.500	4,2	1.040.000	6,0
HIV71 CEI	2.400	3,4	4.350	3,6
HIV72 CEI	1.130	3,0	7.910	3,9
HIV73 CEI	57.000	4,7	652.000	5,8
HIV74 CEI	9.360	4,0	38.200	4,6
HIV75 CEI	1.987	3,3	17.900	4,2
HIV76 CEI	313.000	5,5	1.890.000	6,3
HIV77 CEI	38.600	4,6	309.000	5,5
HIV78 CEI	1.997	3,3	10.600	4,0
HIV80 CEI	15.000	4,2	141.000	5,1
HIV81 CEI	1.514	3,2	3.050	3,5
HIV82 CEI	7.000	3,8	38.000	4,6

El WL RNA-quant HIV1 detectó todas las muestras positivas para HIV1 por el método referente, a excepción de tres muestras muy débiles que se encuentran por debajo del LOD establecido. Los sistemas de purificación de ácidos nucleicos basados en separación de partículas magnéticas, tienden a dar resultados de carga viral más altos que el método de separación con columna de sílica.

D- Estudio de Correlación con otro método comercial referente

A partir de una población de pacientes de alto riesgo para la infección por HIV1, algunos de los cuales estaban infectados e incluso algunos en tratamiento, se procesaron y analizaron las muestras correspondientes con el producto WL RNA-quant HIV1 y con el sistema comercial referente.

Muestras	Sistema comercial referente	WL RNA-quant HIV1
----------	-----------------------------	-------------------



	copias/ml	log	copias/ml	log
HIV1	TND	---	TND	---
HIV3	TND	---	TND	---
HIV4	57	1.8	1.438	2.1
HIV5	83	1.9	TND	---
HIV7	344	2.5	720	2.8
HIV8	1.380	3.1	3.201	3.5
HIV9	5.120	3.7	931,4	3.0
HIV10	11.900	4.1	2.713	3.4
HIV11	62.100	4.8	253.411	5.4
HIV12	805.000	5.9	1.296.139	6.1
HIV13	TND	---	TND	---
HIV14	TND	---	TND	---
HIV15	89	1.9	TND	---
HIV16	134	2.1	125	2.1
HIV17	3.590	3.6	521,7	2.7
HIV18	2.790	3.5	1.332,6	3.1
HIV19	10.000	4.0	3.155,7	3.5
HIV20	57.300	4.8	8.145,7	3.9
HIV21	50.400	4.7	8.113	3.9
HIV22	103.000	5.0	31.980	4.5
HIV23	14.800	4.2	535.717	5.7
HIV24	14.800	4.2	2.529.8	3.4

TND:

Nota:
Target No Detectable

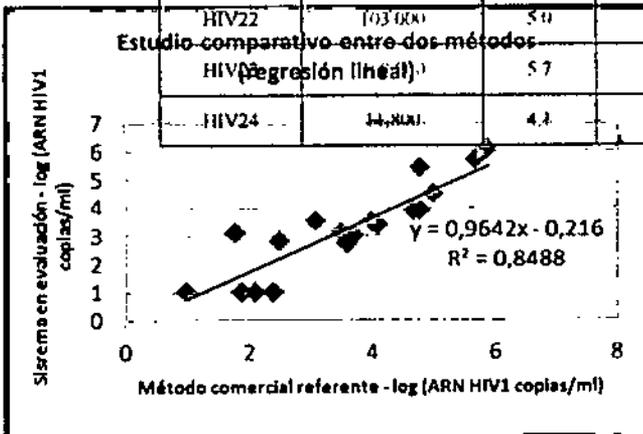


Figura 4: Estudio de correlación entre métodos

WIENER Laboratorios S.A.I.C.

Dra. VIVIANA E. CETOLA
DIRECTORA TÉCNICA

Los resultados obtenidos con el WL RNA-quant HIV1 presentaron buena correlación con el sistema comercial referente (Figura 4). No fueron detectadas las muestras ≤ 89 copias/ml (según dato del método de referencia), a excepción de la HIV4 (57 copias/ml).

E- Especificidad Clínica:

Se analizaron 86 muestras (plasma EDTA) provenientes de:

- Donantes de sangre con serología negativa para anti-HIV1.
- Paneles comerciales con muestras ARN HIV1 negativas [Acrometrix (Cat: 94-2013) y SeraCarc PRD801].
- Pacientes con dato de carga viral no detectable por sistema comercial referente.

El WL RNA-quant HIV1 presentó una especificidad clínica para la población estudiada del 100%.

F- Especificidad Analítica:

Se analizaron 30 muestras (plasma EDTA) de pacientes infectados con otras virosis.

Plasma infectado con:	Nº muestras evaluadas	WL RNA-quant HIV1
HBV	5	ND
HCV	5	4 ND y 1 HCV/HIV (+): coinfección confirmada
CMV	5	ND
HHV-6	1	ND
EBV	3	ND
BK	5	ND
HTLV1	6	ND

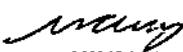
ND: no detectable

El WL RNA-quant HIV1 no presentó reactividad cruzada con estas virosis, siendo la especificidad analítica para la población estudiada, del 100%.

G- Precisión:

Se estudió la precisión del producto WL RNA-quant HIV1 de dos maneras diferentes: sin incluir e incluyendo la purificación del ácido nucleico. En ambos casos, la precisión inter e intra-ensayo fue evaluada de acuerdo a los métodos definidos en la CLSI *Guideline* EP15-A2, "User Verification of

WIENER Laboratorios S.A.I.C.


Dra. VIVIANA E. CETOLA
DIRECTORA TÉCNICA

performance for Precision and Trueness". Cada una de las 4 corridas consistió en tres replicados de cada una de tres muestras de diferentes niveles de carga viral.

I - Precisión del producto WL RNA-quant HIV1 sin tener en cuenta el proceso de purificación del ácido nucleico

Se realizó una única purificación de cada muestra y luego las diferentes mediciones se hicieron desde la retrotranscripción/amplificación hasta la detección.

Precisión intra-ensayo:

Muestra	N1		N2		N3	
Concentración Nominal de HIV1 ARN	97.000 copias/ml	5.0 log ₁₀	6.300 copias/ml	3.8 log ₁₀	750 copias/ml	2.9 log ₁₀
SD intra-ensayo	50.842,9	0,039	885,2	0,089	384,5	0,405
CV (%) intra-ensayo	8,90	0,68	15,85	2,41	70,67	16,02

Precisión inter-ensayo:

Muestra	N1		N2		N3	
Concentración Nominal de HIV1 ARN	97.000 copias/ml	5.0 log ₁₀	6.300 copias/ml	3.8 log ₁₀	750 copias/ml	2.9 log ₁₀
SD inter-ensayo	90.664,2	0,047	2.724,3	0,231	480,7	0,508
CV (%) inter-ensayo	15,88	0,82	48,78	6,24	88,35	20,07

II - Precisión del producto WL RNA-quant HIV1 teniendo en cuenta el proceso de purificación del ácido nucleico

Se realizaron 4 purificaciones independientes a partir de cada muestra y luego cada purificación se usó para la retrotranscripción/amplificación hasta la detección.

Precisión intra-ensayo:

Muestra	1 (A, B, C y D)		2 (A, B, C y D)		3 (A, B, C y D)	
Concentración Nominal de HIV1 RNA	97.000 copias/ml	5.0 log ₁₀	6.300 copias/ml	3.8 log ₁₀	750 copias/ml	2.9 log ₁₀
SD intra-ensayo	39.874,8	0,033	1.766,7	0,147	302,4	0,168
CV (%) intra-ensayo	8,50	0,58	50,47	4,31	31,33	5,76

Precisión inter-ensayo:

Muestra	1 (A, B, C y D)		2 (A, B, C y D)		3 (A, B, C y D)	
Concentración Nominal de HIV1 RNA	97.000 copias/ml	5.0 log ₁₀	6.300 copias/ml	3.8 log ₁₀	750 copias/ml	2.9 log ₁₀
SD inter-ensayo	102.000	0,091	3.433,2	0,345	525,8	0,252
CV (%) inter-ensayo	21,83	1,62	98,07	10,08	54,48	8,65

WIENER Laboratorios S.A.I.C.

Viviana E. Cetola
Dra. VIVIANA E. CETOLA
DIRECTORA TÉCNICA

H- Inclusividad:

La detectabilidad de todos los subtipos relevantes del grupo M de HIV1 está garantizada con el diseño de las secuencias de los *primers* y *probe* del producto WL RNA-quant HIV1. Estas secuencias tienen 100% de homología con un amplio rango de secuencias de referencia clínicamente relevantes, basado en un análisis bioinformático integral. El sistema no detecta los grupos N y O del HIV1.

I) HIV-1 RNA Genotypes, 1st International Reference Panel NIBSC, Code: 01/466.

Las muestras del panel no tienen valores asignados de carga viral.

Genotype panel NIBSC	WL RNA-quant HIV1 (copias/ml)	Log ₁₀
HIV49: Subtipo A, grupo M	824,8	2,92
HIV50: Subtipo B, grupo M	1.582,7	3,20
HIV51: Subtipo C, grupo M	1.049,8	3,02
HIV52: Subtipo D, grupo M	5.007,9	3,70
HIV53: Subtipo E, grupo M	2.201,3	3,34
HIV54: Subtipo F, grupo M	2.892,2	3,46
HIV55: Subtipo G, grupo M	1.486,3	3,17
HIV56: Subtipo H, grupo M	4.150,9	3,62
HIV57: Grupo N	ND	---
HIV58: Grupo O	ND	---

El WL RNA quant-HIV1 detectó todos los subtipos (de A a H) del grupo M del HIV1 y no detectó las muestras de los grupos N y O del virus.

II) HIV-1 RNA Genotype, NIBSC (Non WHO Reference Material) Code: 08/358.

Las muestras del panel no tienen valores asignados de carga viral.

Genotype panel NIBSC	WL RNA-quant HIV1 (copias/ml)	Log ₁₀
HIV120: Subtipo A, grupo M	2.590	3,41
HIV121: Subtipo B, grupo M	7.040	3,85
HIV122: Subtipo C, grupo M	1.220	3,09
HIV123: Subtipo D, grupo M	12.400	4,09
HIV124: Subtipo AE, grupo M	17.600	4,24

WIENER Laboratorios S.p.A.

Mary
Dra. VIVIANA E. GIZOLA
DIRECTORA TÉCNICA

HIV125: Subtipo F, grupo M	11.800	4,07
HIV126: Subtipo G, grupo M	7.060	3,85
HIV127: Subtipo AG-GH, grupo M	13.400	4,13
HIV128: Grupo N	ND	---
HIV129: Grupo O	ND	---

El WL RNA quant-HIV1 detectó todos los subtipos evaluados (puros y recombinantes) del grupo M del HIV1 y no detectó las muestras de los grupos N y O del virus.

BIBLIOGRAFÍA

- Haddad A, Reyes-Terán G, et al. HIV Medicine 2003. Editado por Hoffmann C. y Kaps BS. Flying Publisher. Hamburg/Kiel y Paris/Cagliari, 2003 Jan.
- Giri A, Gariglio R, Taborda M, Bortolozzi R, Mc Dermott J, et al. Análisis de distintos marcadores virológicos para el monitoreo de pacientes infectados con el virus de la inmunodeficiencia humana. VI Congreso Argentino de SIDA; 2003 Nov.20-23, Bs As. p.69.
- Gariglio R, Taborda M, Bortolozzi R, Mc Dermott J, Martini I, et al. Marcadores virológicos no convencionales en pacientes infectados con el virus de la inmunodeficiencia humana ADN HIV-T, ADN HIV-2LTR y ARN de HIV. Medicina (Bs As) 2004; 64:419-28.
- HIV/AIDS infection: an overview. National Institute of Allergy and Infectious Diseases. National Institutes of Health, URL: <http://www.aidsinfo.nih.gov>
- Cobb B, Vaks J, Do T, Vilchez R. Evolution in the sensitivity of quantitative HIV-1 viral load tests. J Clin. Virol. 52S 2011; S77-S82.
- Müller J. Real-time RT-PCR for automated detection of HIV1 RNA during blood donor screening. Chapter 20, RT-PCR Protocols: second edition, Methods in Molecular Biology vol.630. Nicola King (ed.), 2010.

TaqMan y MagNA Pure® son marcas registradas de Roche Molecular Systems, Inc.

MagMAX y Ambion son marcas registradas de Applied Biosystems Corporation

QIAamp es una marca registrada de Qiagen.

IQ5 es una marca registrada de BioRad.

StepOne/StepOne Plus son marcas registradas de Applied Biosystems.

WIENER Laboratorios S.A.S.C.

Dra. VIVIANA E. COSTANTINI
DIRECTORA TÉCNICA



Ministerio de Salud
Secretaría de Políticas, Regulación
e Institutos
A.N. M. A.T

CERTIFICADO DE AUTORIZACIÓN DE VENTA DE
PRODUCTOS PARA DIAGNOSTICO DE USO IN VITRO

Expediente nº 1-47-2945/14-8

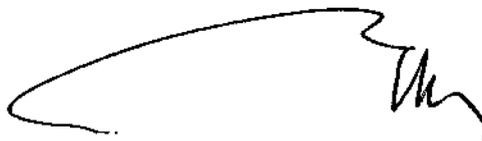
Se autoriza a la firma WIENER LABORATORIOS S.A.I.C. a comercializar el Producto para diagnóstico de uso in vitro denominado WL RNA-quant HIV-1/ PRUEBA DE RETROTRANSCRIPCIÓN- AMPLIFICACIÓN *IN VITRO* DE ÁCIDOS NUCLEICOS, PARA LA CUANTIFICACIÓN DE SECUENCIAS DE ARN DEL HIV-1 (TODOS LOS SUBTIPOS DEL GRUPO M) EN PLASMA HUMANO, UTILIZANDO LA TECNOLOGÍA DE REACCIÓN EN CADENA DE LA POLIMERASA EN TIEMPO REAL (qPCR). En ENVASES POR 150 Y [300] DETERMINACIONES, CONTENIENDO: 1) Primers - probe HIV 1 (1 x 165 µl o [2 x 165 µl]); 2) Primers - probe IC (1 x 165 µl o [2 x 165 µl]); 3) Primers - probe ACTB (1 x 165 µl o [2 x 165 µl]); 4) IC RNA (1 x 600 µl o [2 x 600 µl]); 5) PC HIV 1 (1 x 800 µl o [2 x 800 µl]) y 6) NUCLEASE FREE H₂O (1 x 2 ml o [2 x 2 ml]). Vida útil: VEINTICUATRO (24) meses desde la fecha de elaboración conservado a -20 °C. Se le asigna la categoría: venta a Laboratorios de análisis clínicos por hallarse en las condiciones establecidas en la Ley Nº 16.463 y Resolución Ministerial Nº 145/98. Lugar de elaboración: WIENER Laboratorios S.A.I.C. Riobamba 2944, Ciudad de Rosario, Provincia de Santa Fe (ARGENTINA). En las etiquetas de los envases, anuncios y prospectos deberá constar PRODUCTO PARA DIAGNOSTICO USO IN VITRO AUTORIZADO POR LA ADMINISTRACIÓN NACIONAL DE MEDICAMENTOS, ALIMENTOS Y TECNOLOGIA MEDICA. Certificado nº **008354**

//..

ADMINISTRACIÓN NACIONAL DE MEDICAMENTOS, ALIMENTOS Y TECNOLOGIA
MEDICA

Buenos Aires,

04 FEB. 2016



Firma y sello

Dr. ROBERTO LEBE
Subadministrador Nacional
A.N.M.A.T.